

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА И БИОЛОГИЯ

УДК 617.721.6-07-092.9

© Д.К. Абсаликова, В.Б. Мальханов, Н.Е. Шевчук, 2011

Д.К. Абсаликова, В.Б. Мальханов, Н.Е. Шевчук
**ИЗУЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ПРОСТАГЛАНДИНА E2 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И
 ВЛАГЕ ПЕРЕДНЕЙ КАМЕРЫ ГЛАЗА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ
 ИММУНОГЕННОМ УВЕИТЕ КРОЛИКОВ**

ГУ «Уфимский НИИ глазных болезней» АН РБ, г. Уфа

Представлены результаты исследования системного и локального содержания простагландина E2 (ПГЕ2) в динамике при экспериментальном иммуногенном увеите (ЭИУ) кроликов. Доказано, что однократное подкожное введение кроликам нормальной лошадиной сыворотки не влияет на системный и локальный уровни простагландина E2. Развитие ЭИУ сопровождается повышением концентрации ПГЕ2 как во влаге передней камеры, так и в сыворотке крови, достигая максимальных значений на 3-7-е сутки и начиная снижаться с 21-х суток от начала заболевания.

Ключевые слова: увеит, эксперимент, кролики, простагландин E2, влага передней камеры, сыворотка крови

D.K. Absalikova, V.B. Malkhanov, N.Ye. Shevchuk
**A STUDY OF PROSTAGLANDIN E2 CONTENT IN BLOOD SERUM AND OCULAR
 ANTERIOR CHAMBER AQUEOUS HUMOR IN EXPERIMENTAL IMMUNOGENIC
 UVEITIS RABBITS**

A study results of systemic and local prostaglandin E2 (PGE2) content in rabbits obtained in the dynamic course of experimental immunogenic uveitis (EIU) are presented in the paper. A single subcutaneous administration of normal horse blood serum to rabbits was shown to be of no effect to PGE2 systemic and local levels. Experimental immunogenic uveitis development was found to be associated with an increase in PGE2 concentration in both aqueous humor and blood serum, achieving the maximum value at 3-7 days and beginning to decrease by day 21 after the disease onset.

Key words: uveitis, experiment, rabbits, prostaglandin E2, aqueous humor, blood serum.

На сегодняшний день увеиты являются одними из самых тяжелых воспалительных заболеваний глаз. По литературным данным, заболеваемость данной патологией составляет 1,5-3,8 на 10000 населения [1]. Социальная значимость определяется тем, что в основном поражаются лица молодого и трудоспособного возраста. Важно также, что заболевание часто имеет тяжелое и рецидивирующее течение, нередко приводящие к инвалидности по зрению [3, 4].

В развитии воспалительного процесса сосудистой оболочки глаза важная роль принадлежит медиаторам воспаления, а именно простагландинам (ПГ) - группе липидных физиологически активных веществ, эффективность которых можно сравнить с гормонами [7]. У человека наиболее важным биологическим медиатором является ПГЕ₂, который синтезируется в различных клетках, стимулируемых как физиологическими, так и патологическими факторами [6]. Учитывая вышеизложенные данные, актуальным является дальнейшее углубленное изучение патогенеза увеита, а именно участие ПГЕ₂ в развитии воспалительного процесса сосудистой оболочки глаза.

Цель данной работы - определить уровень простагландина E₂ во влаге передней камеры глаза и сыворотке крови при экспери-

ментальном иммуногенном увеите кроликов в динамике развития заболевания.

Материал и методы

Экспериментальные исследования были проведены на 12 кроликах (24 глаза) породы шиншилла массой тела 2,0-2,5 кг. Все кролики были мужского пола и находились на стандартном рационе питания. Осмотр экспериментальных животных проводился ежедневно в одно и то же время.

Кролики были поделены на 2 группы, по 6 животных в каждой: 1-я – опытная - с экспериментальным иммуногенным увеитом (ЭИУ), 2-я – контрольная - здоровые кролики. ЭИУ воспроизводили путем предварительной подкожной сенсibilизации нормальной лошадиной сывороткой (НЛС) - 5,0 мл и с последующим, на 9-е сутки после сенсibilизации, интравитреальным введением ее разрешающей дозы - 0,1 мл под местной анестезией (инокаин 0,4%) [5]. Животных выводили из опыта методом воздушной эмболии. Офтальмологическая картина контрольной группы животных во все сроки наблюдения соответствовала норме.

Эксперимент проводили в соответствии с общепринятыми принципами гуманности и существующими международными нормативными документами и инструкциями МЗ РФ и РАМН по работе с лабораторными животными.

ми.

Сбор образцов влаги передней камеры глаза и периферической крови, клинико-биомикроскопическое исследование глаз у экспериментальных животных выполняли до сенсibilизации, перед введением антигена в стекловидное тело на 1-, 3-, 7-, 14-, 21- и 30-е сутки развития увеита.

Взятие крови у кроликов осуществляли утром до кормления из краевой вены уха в количестве 3,0 мл с помощью стерильного шприца. Сбор влаги передней камеры (ВПК) глаза у каждого кролика проводили под местной инстилляционной анестезией (инокаин 0,4%) через парацентез с помощью инсулинового шприца. Контролем служили сыворотка крови (СК) и ВПК интактных животных.

Определение содержания простагландина E_2 в образцах ВПК и СК кроликов было проведено твердофазным иммуноферментным анализом с использованием тест-системы (R&D Systems, США) и автоматического фотометра «Multiscan» при длине волны 450 нм. Результаты исследований выражали в пг/мл.

Статистическую обработку полученных результатов проводили по стандартным методам параметрической и непараметрической статистик.

Результаты и обсуждение

Полученные данные по исследованию содержания ПГЕ₂ во ВПК и СК у кроликов с ЭИУ в динамике заболевания отражены на диаграмме.

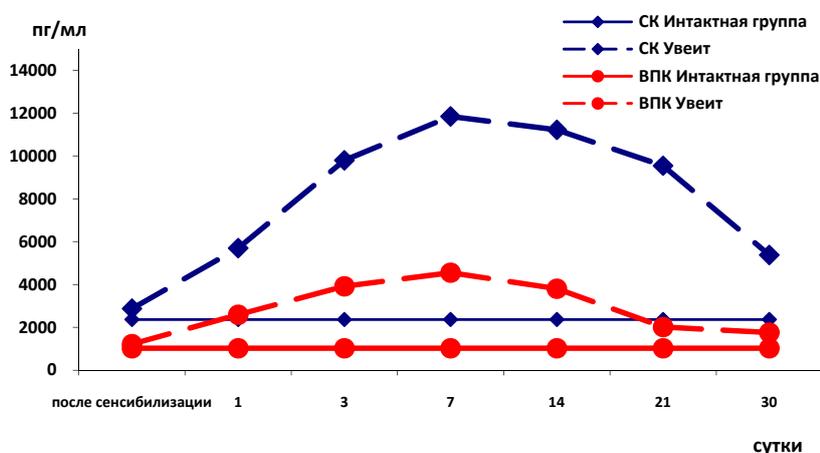


Рис. Динамика накопления простагландина E_2 в биологических образцах животных при экспериментальном иммуногеном увеите

Как видно из представленного рисунка, однократное подкожное введение нормальной лошадиной сыворотки кроликам не привело к изменениям уровня ПГЕ₂: он практически не отличался от контроля как во ВПК (1218,5±163,4 пг/мл и 1025,6±89,6 пг/мл соответственно), так и в СК (2873,9±265,2 пг/мл и 2367,9±177,8 пг/мл соответственно). Соотношение уровней ПГЕ₂ в СК и ВПК контрольной группы составило 2:3 (табл.).

Соотношение уровней ПГЕ₂ сыворотки крови и влаги передней камеры глаза при экспериментальном увеите кроликов в динамике развития заболевания

Сроки забора образцов	Соотношение уровней ПГЕ ₂	
	СК/ВПК	
После сенсibilизации	2,4	
1-е сутки	2,2	
3-и сутки	2,5	
7-е сутки	2,6	
14-е сутки	2,9	
21-е сутки	4,7	
30-е сутки	3,1	
Контроль	2,3	

После введения разрешающей дозы антигена в стекловидное тело глаза кролика развивался иммунный воспалительный процесс –

увеит, который клинически проявлялся светобоязнью, отеком век, хемозом, перикорнеальной инъекцией, отеком роговицы, преципитатами на эндотелии роговицы, опалесценцией ВПК, экссудатом в передней камере, рубезом радужной оболочки глаза, образованием синехий и экссудацией в стекловидном теле.

В динамике развития ЭИУ отмечался рост концентрации ПГЕ₂ как во ВПК, так и в СК по сравнению с контролем во все сроки заболевания ($p < 0,001$). При этом во ВПК уровень ПГЕ₂ достигал пика своей концентрации к 3-7-м суткам, в 3,8-4,4 раза превышал таковой в контроле (на 3-и сутки - 3917,6±234,2 пг/мл и на 7-е сутки - 4553,9±398,8 пг/мл) и сохранялся примерно на этом уровне в течение 11 дней (на 14-е сутки - 3804,6±196,9 пг/мл). В дальнейшем – на 21-е сутки - его содержание достоверно снижалось (2014,5±115,8 пг/мл, $p < 0,05$), однако оставалось выше контроля и на 30-й день наблюдения (1759,0±105,3 пг/мл; $p < 0,001$).

В СК количественное содержание медиатора в динамике развития увеита возраста-

ло более медленно, чем во ВПК, и становилось максимальным (в 5 раз выше контроля - $11839,4 \pm 596,4$ пг/мл; $p < 0,001$) позднее – к 7-м суткам, оставаясь без изменений в течение недели ($3804,6 \pm 196,9$ пг/мл - на 14-е сутки). В период с 21-х по 30-е сутки развития заболевания уровень ПГЕ₂ постепенно снижался по сравнению с каждым предыдущим сроком (на 21-е сутки он составил $9543,4 \pm 402$ пг/мл; $p < 0,001$), сохраняясь выше контрольного в конце периода наблюдения ($5378,2 \pm 287,9$ пг/мл; $p < 0,05$).

Исследование соотношения уровней ПГЕ₂ в СК и ВПК показало следующее: в течение 2-х недель ЭИУ оно существенно не отличалось от контроля, варьируя в пределах 2,2-2,9, при этом отмечался постепенный рост с 1-х по 14-е сутки. Затем к 21-м суткам было выявлено максимальное значение соотношения - 4,7, что было связано с более быстрым снижением содержания ПГЕ₂ во ВПК, чем в СК. И далее наблюдалось снижение этого соотношения.

Следует отметить, что через месяц после начала развития увеита уровень ПГЕ₂ по-прежнему превышал значения контроля: в СК - в 2,3 раза и ВПК – в 1,7 раза, что может свидетельствовать о незавершении воспалительного процесса к данному моменту.

Согласно данным научной литературы при травме, связанной с оперативным вмешательством по поводу возрастной катаракты, сопровождающейся имплантацией интраокулярной линзы, рост содержания ПГЕ₂ в слезе был зафиксирован на 1-е – 3-и сутки после операции, а к 7-м суткам началось его снижение [2]. Следовательно, в наших исследованиях при ЭИУ в других образцах – ВПК и СК – была отмечена аналогичная динамика накопления ПГЕ₂ в первые трое суток наблюдения, что, вероятно, связано с общими механизмами развития воспалительного процесса. Однако динамика снижения концентрации этого медиатора отличалась, что, может быть, связано

с повреждением целостности тканей и имплантацией ИОЛ в первом случае, а во втором - с действием антигена на sensibilized организм.

Таким образом, однократное подкожное введение нормальной лошадиной сыворотки кроликам не изменяло уровень ПГЕ₂ как в СК, так и во ВПК. При локальном введении разрешающей дозы лошадиной сыворотки в стекловидное тело уровень ПГЕ₂ раньше достигало своего пика во ВПК, чем в СК. При ЭИУ происходили сходные изменения в содержании ПГЕ₂ как на системном, так и на местном уровне, различаясь тем, что во ВПК содержание медиатора чуть раньше достигало своего максимального уровня (3-7-е сутки) в отличие от СК (7-е сутки), где оно сохранялось повышенным несколько дольше. Достоверное снижение уровня ПГЕ₂ как в СК, так и во ВПК начинается с 21-х суток заболевания. Вместе с тем уровень ПГЕ₂ во ВПК, снизившись к 21-м суткам, в дальнейшем практически не изменялся. Можно предположить, что изменение уровней ПГЕ₂ во ВПК и СК в определенной степени носит взаимосвязанный характер. Более быстрое его снижение во внутриглазной жидкости, вероятно, связано с меньшим объемом очагового пространства воспаления и началом восстановления функции гематоофтальмического барьера, а также нормализацией иммунного статуса интраокулярных структур.

Выводы

Однократное подкожное введение кроликам нормальной лошадиной сыворотки не влияет на системный и локальный уровни простагландина E₂. Развитие ЭИУ сопровождается повышением его концентрации как во влаге передней камеры, так и в сыворотке крови, достигает максимальных значений на 3-7-е сутки и начинает снижаться с 21-х суток от начала заболевания. Модель ЭИУ может быть полезной для доклинического отбора новых терапевтических средств.

Сведения об авторах статьи:

Абсаликова Диля Камилевна – м.н.с. отделения по изучению инфекционных заболеваний глаз

ГУ «Уфимский НИИ глазных болезней» АН РБ, адрес: г. Уфа, ул. Пушкина, 90. E-mail: Abs-2009@mail.ru.

Мальханов Владимир Борисович – д.м.н., профессор, зав. отделением

по изучению инфекционных заболеваний глаз ГУ «Уфимский НИИ глазных болезней» АН РБ,

адрес: г. Уфа, ул. Пушкина, 90. E-mail: virologicdep@mail.ru

Шевчук Наталья Евгеньевна – д.б.н., и.о. ученого секретаря ГУ «Уфимский НИИ глазных болезней» АН РБ,

адрес: г. Уфа, ул. Пушкина, 90. Тел. раб.272-67-22. E-mail: ufaeyenauka@mail.ru

ЛИТЕРАТУРА

1. Гусева, М.Р. Клинико-эпидемиологические особенности увеитов у детей / Гусева, М.Р. // Вестн. офтальм.-2004. - №1. – С. 15-19.
2. Дудич, О.Н. [и др.] Влияние противовоспалительной терапии на уровень простагландина E₂ и цитокинов в слезе пациентов после экстракции возрастной катаракты с имплантацией интраокулярной линзы / Дудич, О.Н., Коваленко Ю.Д., Коваленко Т.В. // Медицина. – 2005. - №4. – С. 53-56.
3. Катаргина Л.А., Архипова Л.Т. Увеиты: патогенетическая иммуносупрессивная терапия. - М., 2004. - 100 с.
4. Сенченко Н.Я., Шуко А.Г., Малышев В.В. Увеиты: руководство. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 144с.
5. Foss B. Experimental anaphylactic iridocyclitis // Acta Pathol. Microbiol. Scand. Suppl. 1949. – Vol. 81. – P. 65.

6. Lawrence T., Willoughby D. A., Gilroy D. W. Anti-inflammatory lipid mediators and insights into the resolution of inflammation // *Nat. Rev. Immunol.* - 2002. № 2. - P. 787–795.
7. Narumiya S., Sugimoto Y., Ushikubi F. Prostanoid receptors: structures, properties, and functions // *Physiol. Rev.* 79, 1999. – P. 1193-1226.

УДК: 616-085.38; 615.382; 615.281.8

© Ю.В. Толмосов, А.В. Цимбалов, Д.В. Блинов, А.Б. Строганов, В.Н. Мазепа, 2011

Ю.В. Толмосов, А.В. Цимбалов, Д.В. Блинов, А.Б. Строганов, В.Н. Мазепа
**ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОДУКТОВ ФОТОРАДИОЛИЗА
 ДЛЯ ИНАКТИВАЦИИ ВИРУСОВ В ПЛАЗМЕ ДОНОРСКОЙ КРОВИ**

*Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии
 имени академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород*

Разработка методов инактивации инфекционных агентов, обеспечивающих минимальный уровень риска передачи гемотрансмиссивных инфекций при введении реципиентам донорской плазмы и препаратов крови является весьма актуальным направлением развития гемотрансфузиологии. Настоящая работа была выполнена с целью оценки влияния продуктов фоторадиолиза на жизнеспособность вирусной культуры в плазме крови. Проведена инаktivация плазмы крови, содержащей культуру бактериофага *Pseudomonas aeruginosa*, при помощи аппарата для ультрафиолетового облучения крови «Надежда-02».

Ключевые слова: фоторадиолиз, инаktivация, вирусы, бактериофаг, плазма крови, вирусные гепатиты, вирус иммунодефицита человека.

Yu.V. Tolmosov, A.V. Tsimbalov, D.V. Blinov, A.B. Stroganov, V.N. Mazepa
**EFFICACY ASSESSMENT OF PHOTORADIOLYSIS
 IN VIRAL INACTIVATION OF DONATED BLOOD PLASMA**

Elaboration of infectious agents inactivation methods, minimizing the risk level of hemotransmissible infections vection in donated blood plasma and blood products transfusion recipients is discussed in the article as a hemotrasfusiology development trend of immediate interest. The present study was performed in order to evaluate the effects of photoradiolytic products on viral culture viability in blood plasma. Inactivation of *Pseudomonas aeruginosa* bacteriophage culture in blood plasma by means of «Nadezhda-02» ultraviolet radiation unit was carried out.

Key words: photoradiolysis, inactivation, viruses, bacteriophage, blood plasma, viral hepatitis, human immunodeficiency virus.

Переливание компонентов донорской крови и использование лечебных препаратов, полученных из нее, является одним из путей заражения пациентов вирусными гепатитами, ВИЧ и другими особо опасными инфекциями. Тем более, что в последние годы в группу заболеваний, передающихся при гемотрансфузиях, попали ещё более 30 “новых” инфекционных болезней человека. Вероятно, данная группа заболеваний будет продолжать увеличиваться. В этой связи весьма актуальным направлением развития гемотрансфузиологии является разработка методов инаktivации инфекционных агентов, обеспечивающих минимальный уровень риска передачи гемотрансмиссивных инфекций при введении реципиентам донорской плазмы и препаратов крови.

Существуют самые разнообразные способы инаktivации вирусных патогенов, основанные на воздействии физических, химических факторов на генетический аппарат вирусов. К физическим способам относится метод постепенной, многостадийной тепловой обработки препаратов крови фибриногена и факторов свертывания крови VIII, IX. Однако тепловые способы инаktivации не обеспечивают полноценного обезвреживания таких ви-

русных патогенов, как вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), гепатит В [1]. Также к физическим методам инаktivации вирусов относится использование гамма-облучения. Но гамма-облучение обладает инаktivующим воздействием на функционально активные и необходимые белковые компоненты плазменной фракции [2]. Химические методы инаktivации вирусов, такие как применение фенола для этих целей, задерживает высокая токсичность бензольных и им подобных соединений [2]. Наиболее актуальным направлением в сфере борьбы с вирусными патогенами в препаратах донорской крови является применение методов инаktivации, основанных на фотодинамических реакциях выделения синглетного кислорода. Наибольшее распространение в этой сфере получило использование фенотиозиновых красителей (метиленовый синий) и твердофазных фуллеренов [3, 4]. Радиолиз водных сред также ведет к образованию активных форм кислорода [5,6]. Однако использование данного явления в качестве мер по борьбе с вирусами в донорской крови не нашло отражения в научно-практической работе. В связи с этим была определена цель нашего исследования.