

МЕТОДЫ КОРРЕКЦИИ ИЗМЕНЕНИЙ ФУНКЦИЙ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ПРОНИКАЮЩЕМ РАНЕНИИ ГЛАЗА

*Черешнев В.А., Гаврилова Т.В., Шилов Ю.И., Черешнева М.В.,
Гейн О.Н., Лобанова Н.Л., Пономарева Т.Б., Медведева С.Ю.*

г. Пермь, г. Екатеринбург

В настоящее время методам терапии травматического повреждения глаза уделяется пристальное внимание. Несмотря на большие успехи микрохирургической техники и применение современных лекарственных препаратов используемые схемы терапии не позволяют снизить частоту осложнений и связанной с ними инвалидизации пациентов трудоспособного возраста, что в конечном итоге приводит к выраженному экономическому ущербу в том числе и в развитых странах. Разработка новых схем лечения проникающего ранения глаза (ПРГ), не имеющих зарубежных аналогов, с включением в комплексную терапию высокоэффективных отечественных иммуномодуляторов представляется актуальной. Решение этой проблемы невозможно без создания экспериментальных моделей для доклинической оценки эффективности методов терапии.

Цель настоящей работы - обобщение данных по механизму изменения функций иммунной системы при проникающем ранении глаза и подходам к иммунокоррекции с использованием отечественных иммуномодуляторов.

Материал и методы. Экспериментальные исследования выполнены в оригинальной модели [1] на самцах крыс популяции Wistar и нелинейных белых крыс. Все исследования проводили в соответствии с международным соглашением об экспериментах на животных. Ранение правого глаза наносили животным опытных групп в специально сконструированном приспособлении-фиксаторе под местной анестезией 2% раствором новокаина с помощью микролезвия в области лимба (пограничная область между склерой и роговицей). При этом происходило ранение роговицы, склеры, сосудистого тракта. Во всех случаях наблюдалось истечение внутриглазной жидкости и стекловидного тела, а также крови в переднюю камеру и стекловидное тело, повреждение хрусталика. Контрольным животным проводили только местную анестезию. Для моделирования локального иммунного ответа животных

сенсibilизировали эритроцитами барана (10^8 клеток вводили подкожно в подошвенную поверхность правой стопы) в разные сроки ПРГ. На 4 сутки после сенсibilизации вводили разрешающую дозу антигена (10^9 эритроцитов барана подкожно в правую стопу, в левую контрольную стопу - 0,1 мл изотонического раствора NaCl). Через 24 ч (5 сутки иммунного ответа) оценивали гуморальный ответ по числу антителообразующих клеток (АОК) в регионарном (правом подколенном) по отношению к месту иммунизации и отдаленном (левом подколенном) лимфатических узлах, селезенке методом локального гемолиза в геле агарозы; выраженность иммунного воспаления при реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) путем регистрации толщины (инженерным микрометром) опытной и контрольной стопы; изменение числа ядродержащих клеток (ЯСК) в органах лимфомиелоидного комплекса. Фагоцитарную активность клеток регионарного лимфатического узла, перитонеальных фагоцитов, лейкоцитов периферической крови оценивали по отношению к формализированным эритроцитам барана. В отдельных сериях эксперимента оценивали фагоцитарную активность лейкоцитов периферической крови неиммунизированных животных. Исследование патоморфологических изменений глаз проводили на срезах толщиной в 3-5 микрон, которые окрашивали гематоксилином и эозином, на коллагеновые волокна - по ван-Гизону, на эластические волокна - по Вейгерту. Морфометрическую оценку гистологических срезов осуществляли с помощью окулярной стереометрической сетки Г.Г. Автандилова. При изучении влияния миелопептидов на иммунный ответ миелопид, миелопептиды МП-1 и МП-3 вводили трехкратно через день по 0,06 мг/кг массы тела внутрибрюшинно. У неиммунизированных животных эти препараты вводили пятикратно через день: миелопид подкожно по 0,06 мг/кг, МП-1 и МП-3 по 0,04 мг/кг массы тела внутрибрюшинно. Полиоксидоний неиммунизированным животным вводили по 0,1 мг/кг подкожно через 7 ч, на 2-е, 4-е, 6-е и 8-е сутки после нанесения травмы, а при изучении иммунного ответа - в той же дозе через 7 ч, на 2-е и 4-е сутки. Иммуномодуляторы вводили как отдельно, так и совместно с препаратами стандартной терапии: антибиотиками, глюкокортикоидами, нестероидными противовоспалительными

препаратами. Статистический анализ результатов проводили с использованием методов описательной статистики, дисперсионного анализа, апостериорных критериев Дункана (post-hoc Duncan's test) и наименьшей значимой разности (post-hoc Fisher LSD test) для множественного сравнения между группами.

Результаты. Установлено, что направленность изменения антителообразования и реакции ГЗТ зависит от срока травмы. При введении сенсibiliзирующей дозы эритроцитов барана через 7 ч после нанесения травмы выявляется супрессия реакции ГЗТ и антителопродукции, а при сенсibiliзации на 9 сутки травматического периода - их активация. Указанная закономерность носит универсальный характер, т.к. сходные изменения выявлены при исследовании пролиферативного ответа лимфоцитов в культурах с фитогемагглютинином у пострадавших с ПРГ [3]. В раннем травматическом периоде (на 1-3 сутки после ранения) отмечено его выраженное снижение, в то время как в позднем (12-14 сутки травмы) - повышение, несмотря на проводимую терапию с включением глюкокортикоидов. В развитии выявленных системных изменений функций иммунной системы при ранении глаза важную роль, по-видимому, играют не только внутрисистемные механизмы, обусловленные феноменом "иммунного отклонения, связанного с передней камерой глаза" [4], но и стрессорные реакции, развивающиеся в ответ на угрозу утраты информационно важного органа [2]. Подтверждением значимости последних является выявленное нами в экспериментальной модели ПРГ повышение чувствительности фагоцитирующих клеток через 3 ч после нанесения ранения к супрессивному действию бета-адренергических агонистов в системе *in vitro*. У пациентов с ПРГ в раннем травматическом периоде отмечается усиление супрессивного действия агониста бета-адренорецепторов гексопреналина сульфата на пролиферативный ответ лимфоцитов при его внесении в культуры [3].

Введение препаратов стандартной терапии усиливает супрессию антителообразования, включение в терапию травмированных животных миелопида и МП-1 нивелирует угнетение антителогенеза. Совместное применение миелопептидов с препаратами стандартной терапии не отменяет супрессию реакции гиперчувствительности замедленного типа у травмированных животных при введении тимусзависимого

ксеноантигена. Миелопептиды не отменяют снижение клеточности регионарного и отдаленного лимфатических узлов, селезенки и тимуса, вызванное препаратами стандартной терапии при ПРГ. Миелопептиды отменяют ряд эффектов травмы и стандартной терапии на функции фагоцитирующих клеток периферической крови, модулируют функции перитонеальных мононуклеарных фагоцитов и фагоцитарную активность клеток регионарного по отношению к месту иммунизации лимфатического узла. Включение миелопида и МП-3 в комплексную терапию приводит к снижению воспалительной клеточной инфильтрации в рубце и перифокальных тканях, ускоряет формирование зрелых волокнистых структур в рубце, способствует эпителизации зоны повреждения роговицы при ПРГ. Выявленные эффекты миелопептидов подтверждаются клиническими исследованиями, проведенными у пострадавших с ПРГ тяжелой степени [3], в которых показано, что включение миелопида в комплексную терапию способствует сохранению супрессии пролиферативного ответа лимфоцитов на Т-клеточный митоген.

Показано, что полиоксидоний обладает выраженной иммуномодулирующей активностью, в частности, изменяет динамику показателей функций фагоцитирующих клеток периферической крови. Он отменяет некоторые отрицательные эффекты глюкокортикоидов, входящих в стандартную терапию, нивелирует отдельные стрессорные и травматические нарушения. Гистологические и морфометрические исследования показали, что включение полиоксидония в комплексную терапию оптимизирует течение травматического процесса по параметрам наименьшей инфильтрации зоны повреждения и по структуре рубца, способствует более полному завершению развития клеточных реакций при воспалении, уменьшает содержание в инфильтрате эмигрирующих полиморфноядерных лейкоцитов и увеличивает количество фибробластов. Преобладание у животных, получавших полиоксидоний в комплексе со стандартной терапией, в воспалительном инфильтрате шварты фибробластов над другими клетками в относительном выражении при отсутствии полиморфонуклеаров свидетельствует о завершении экссудативной фазы воспаления и переходе к процессу пролиферации клеток соединительной ткани, т.е. к репарации, что подтверждается особенностями морфологической картины этой зоны.

Следовательно, использование полиоксидония в комплексе со стандартной терапией при ранении глаза является более благоприятным для оптимизации процесса воспаления и формирования структурированной рубцовой ткани. Установлено, что введение одного полиоксидония и этого препарата в комбинации со стандартной терапией приводит к угнетению реакции ГЗТ, что с учетом возможности развития при ПРГ аутоиммунного гранулематозного воспаления является положительным эффектом. Включение полиоксидония в комплексную терапию повышает чувствительность фагоцитирующих клеток к бета-адренергической регуляции в системе *in vitro*.

Заключение. Включение миелопида, миелопептида МП-3, полиоксидония в терапию при проникающем ранении глаза позволяет оптимизировать травматическое воспаление и изменение функций иммунной системы при проникающем ранении глаза.

Список литературы.

1. Черешнева М.В., Шилов Ю.И., Баданина О.Н. и др. Иммунокоррекция при ранении глаза. - Екатеринбург: УрО РАН, 2001. - 147 с.
2. Черешнева М.В., Шилов Ю.И., Гаврилова Т.В. и др. // Вестн. офтальмологии. - 2006. - № 2. - С. 42-46.
3. Чуприна В.В., Шилов Ю.И., Гаврилова Т.В. и др. // Офтальмоиммунология: Итоги и перспективы: Материалы Всероссийск. науч.-практ. конф. М., 2007. - С. 346-348.
4. Saban D.R., Cornelius J., Masli S. et al. // *Molecular Vision*. - 2008. - Vol. 14. - P. 2435-2442.

Работа поддержана грантами РФФИ 08-04-00424-а и 08-04-00517-а, Программами Президиума РАН "Молекулярная и клеточная биология" и Интеграционного проекта УрО РАН совместно с СО РАН.