

13. Hissin, P. J. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues / P. J. Hissin, H. Russel // Anal. Biochem. – 1976. – Vol. 74, № 1. – P. 214–226.

14. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов / Г.И. Клебанов [и др.] // Лабораторное дело. – 1988. – № 5. – С. 59–62.

## **ХАРАКТЕР ИЗМЕНЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ БЕЛКА И ЧИСЛА ЛЕЙКОЦИТОВ ВО ВЛАГЕ ПЕРЕДНЕЙ КАМЕРЫ ГЛАЗ КРОЛИКОВ С ИММУНОГЕННЫМ УВЕИТОМ ПРИ ПАРЕНТЕРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ АЦЕТИЛЦИСТЕИНА**

**Мармыш В. Г., Курстак И. А.**

*Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь*

**Актуальность.** Актуальность, социальная и медицинская значимость проблемы увеитов на современном этапе обусловлена широкой распространённостью заболевания, тяжёлым рецидивирующим течением, нередко приводящим к инвалидности по зрению, преимущественным поражением лиц молодого и трудоспособного возраста, а также недостаточной изученностью и сложностью этиопатогенеза данной патологии. При выборе тактики лечения пациентов с увеитами важнейшей проблемой является выявление этиологических факторов и основных патогенетических звеньев заболевания. Однако даже при самом тщательном обследовании установить истинную причину увеита не удастся в 30% [1] – 70% случаев [2,3]. Базовая патогенетическая терапия увеитов заключается в применении глюкокортикостероидов, нестероидных противовоспалительных средств (НПВС), в более тяжелых случаях – иммунодепрессантов [2,3,4,5,6]. Однако глюкокортикоиды, обладая выраженным противовоспалительным действием, имеют целый ряд существенных побочных эффектов, приводящих к тяжелым осложнениям локального (развитие катаракты, глаукомы и др.) и системного характера (артериальная гипертензия, диабет, синдром Кушинга, остеопороз). Побочное действие оказывают и НПВС, особенно на желудочно-кишечный тракт. К значительным нарушениям иммунного статуса может привести терапия цитостатиками, иммунодепрессантами [3,4,7,8].

Таким образом, сложность этиологической верификации увеитов, наличие серьезных побочных эффектов у препаратов, используемых в стандартных протоколах лечения, делает весьма актуальным поиск новых эффективных и безопасных терапевтических средств, оказывающих воздействие на основные патогенетические механизмы развития увеитов и обладающих противовоспалительным эффектом. На сегодняшний день ацетилцистеин (АЦЦ) является одним из наиболее перспективных фармакологических средств для коррекции окислительного стресса.

са при воспалительных заболеваниях, сопровождающихся истощением внутриклеточного пула глутатиона. Однако в литературе нет сведений о парентеральном применении ацетилцистеина для коррекции окислительного стресса в тканях глаза при увеите, отсутствуют данные, указывающие на способность ацетилцистеина проникать через гематофтальмический барьер.

**Цель.** Изучить характер изменений показателей воспаления (белка, с-реактивного белка, числа лейкоцитов) во влаге передней камеры глаз кроликов с экспериментальным иммуногенным увеитом (ЭИУ), а также влияние на данные показатели парентерального введения препарата ацетилцистеина и оценить его противовоспалительное действие при увеите.

**Методы исследования.** Экспериментальное исследование проведено на 25 кроликах (50 глаз) породы шиншилла, массой 2,5-3,0 кг. Все кролики были мужского пола и находились на стандартном рационе питания. Животные были разделены на 5 групп (по 5 кроликов в каждой). В первую группу вошли интактные кролики, которые выступали в качестве контрольной группы (Контроль-1). У остальных животных (20 кроликов) воспроизводили ЭИУ путем двукратного введения нормальной лошадиной сыворотки: первую дозу (5 мл) вводили подкожно с целью сенсибилизации, вторую дозу (0,07 мл) – интравитреально, в оба глаза на 9-е сутки после первой [9]. Животные с развившимся ЭИУ были разделены на 4 группы: в 1-ой группе (Контроль-2) животные получали ежедневно внутримышечно плацебо (физиологический 0,9% раствор хлорида натрия) в течение 3 суток; во 2-ой группе (Опыт-2) животные получали ежедневно внутримышечно инъекции препарата ацетилцистеин (из расчета 40 мг/кг) в течение 3 суток; в 3-ей группе (контроль-3) животные получали ежедневно внутримышечно плацебо (физиологический 0,9% раствор хлорида натрия) в течение 7 суток; в 4-ой группе (опыт-3) животные получали ежедневно внутримышечно инъекции препарата ацетилцистеин (из расчета 40 мг/кг) в течение 7 суток. Кролики из групп контроль-2 и опыт-2 были выведены из эксперимента на 3-и сутки, из групп контроль-3 и опыт-3 – на 7-е сутки путем внутривенного введения смертельной дозы тиопентала натрия.

При выведении из эксперимента производился забор влаги передней камеры инсулиновым шприцом через парацентез. Собранный материал сразу же помещался в пробирки (эппендорф) с последующим исследованием концентрации белка, С-реактивного белка и общего количества лейкоцитов, как индикаторов локального воспалительного процесса.

Подсчет количества лейкоцитов в водянистой влаге передней камеры глаза кролика осуществлялся в камере Горяева унифицированным способом, описанным Камышниковым В.С. и соавторами [10]. Принцип метода основан на подсчете лейкоцитов в 1 мкл крови при постоянном ее разведении и определенном объеме счетной камеры. Учитывая, что индивидуальной нормы лейкоцитов во влаге передней камеры глаза у кроликов нет, значения лейкоцитов для последующей

статистической обработки не переводились в единицы СИ, во избежание погрешности при приведении к большим объемам исследуемого материала.

Результаты подсчета лейкоцитов в пяти больших квадратах камеры Горяева суммировали и производили вычисление их количества в 1 мкл водянистой влаги по формуле:  $X = (a \times 4000 \times 20) / 80$ , где X – число лейкоцитов в 1 мкл влаги передней камеры (ПК) глаза; a – число лейкоцитов, посчитанных в 5 больших квадратах камеры Горяева; 80 – количество малых квадратов; 20 – разведение влаги передней камеры глаза; 4000 – множитель, приводящий результат к объему 1 мкл крови, исходя из объема малого квадрата (1/4000 мкл).

Количественное определение белка (альбумина) в жидкости передней камеры глаза определяли методом спектрофотометрии с использованием набора реагентов для определения альбумина фирмы «Анализ Мед Пром» (Беларусь) на оборудовании Architect c8000 (США).

Уровень С-реактивного белка (мг/мл) во влаге передней камеры глаза определяли иммунотурбидиметрическим методом с помощью набора реагентов «С-реактивный белок» фирмы «BeckmanColter» (Ирландия) на оборудовании AU-680 (Ирландия). С помощью данного набора реагентов возможно измерение концентраций С-реактивного белка в диапазоне 4-480 мг/л. Если концентрация С-реактивного белка была ниже определяемого набором реагента порога, то использовался набор реагентов «С-реактивный белок Латекс», позволяющий определять очень низкие концентрации С-реактивного белка в биологическом материале. Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием пакетов статистических программ StatSoft STATISTICA10.0. Данные представлены в виде  $M \pm m$ , где M – среднее арифметическое в выборочной совокупности, m – стандартная ошибка среднего. Сравнительный анализ произведен с помощью критерия Манна Уитни.

**Результаты и их обсуждение.** После интравитреального введения разрешающей дозы антигена у кроликов развивался иммунный воспалительный процесс в глазу, который протекал как острое экссудативное воспаление всех отделов увеального тракта с выраженными изменениями биохимических показателей во влаге передней камеры (таблица). Имело место значительное возрастание концентрации альбумина, С-реактивного белка и увеличение числа лейкоцитов, что свидетельствует о нарушении гематофтальмического барьера, повышении проницаемости сосудов. Уровень данных изменений отражают степень выраженности воспалительного процесса.

Таблица – Сравнительная характеристика уровня лейкоцитов, общего белка и С-реактивного белка во влаге передней камеры в группах животных с увеитом без лечения (плацебо) и группах животных с применением АЦЦ

| Признак   | Контроль-1<br>(интакт.)<br>n=10 | Увеит 3 суток                    |                                 |     | Увеит 7 суток                    |                                 |     |
|---|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|-----|----------------------------------|---------------------------------|-----|
|   |                                 | Контроль-2<br>(без леч.)<br>n=10 | Опыт-2<br>(с прим. АЦЦ)<br>n=10 | p   | Контроль-3<br>(без леч.)<br>n=10 | Опыт-3<br>(с прим. АЦЦ)<br>n=10 | p   |
| Лейкоциты<br>число лейкоц. в<br>1 мкл влаги<br>ПК | 0,4±0,22                        | 286,9±5,38                       | 173,7±2,73                      | *** | 277,5±3,45                       | 96±2,62                         | *** |
| Альбумин<br>мг/мл                                 | 1,11±0,05                       | 69,27±0,78                       | 28,46±0,15                      | *** | 60,49±0,53                       | 16,62±0,12                      | *** |
| С-реактивный<br>белок (СРБ)<br>мг/мл              | 0,47±0,03                       | 8,31±0,24                        | 4,83±0,08                       | *** | 7,44±0,18                        | 2,43±0,09                       | *** |

\* - при  $p \leq 0,05$ ; \*\* - при  $p \leq 0,01$ ; \*\*\* - при  $p \leq 0,001$

Как следует из полученных данных, в группах животных, получавших в качестве лечения ежедневные внутримышечные инъекции АЦЦ, как на 3-и (Опыт-2), так и на 7-е сутки (Опыт-3) степень выраженности воспалительного процесса была достоверно ниже, чем в соответствующих группах животных, не получавших лечения (Контроль-2 и Контроль-3, соответственно). В группе животных, получавших лечение препаратом АЦЦ, количество лейкоцитов во влаге передней камеры уменьшилось в 1,6 ( $p \leq 0,001$ ) раз на 3-и сутки и в 2,9 ( $p \leq 0,001$ ) раз на 7-е сутки ЭИУ в сравнении с животными без лечения. Концентрация общего белка снизилась в 3,5 ( $p \leq 0,001$ ) раз на 3-и сутки и в 6,2 ( $p \leq 0,001$ ) раза на 7-е сутки в сравнении с группами животных, не получавших лечения. Концентрация СРБ уменьшилась в 2,1 ( $p \leq 0,001$ ) раза на 3-и сутки и в 3,8 ( $p \leq 0,001$ ) раза на 7-е сутки по сравнению с группами животных, получавших плацебо.

#### **Выводы.**

1. ЭИУ сопровождается резким повышением концентрации белка (в основном за счет фракции альбуминов), с-реактивного белка, а также количества лейкоцитов во влаге передней камеры глаза. У животных, получавших в качестве лечения парентерально препарат ацетилцистеин, данные показатели были достоверно ниже, чем у животных без лечения.

2. Парентеральное введение ацетилцистеина кроликам с ЭИУ существенно снижает степень выраженности воспалительной реакции, что подтверждает противовоспалительный эффект ацетилцистеина при данной патологии, а так же дает основание рекомендовать его применение в составе комплексной терапии увеитов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Устинова, Е. И. Классификации эндогенных увеитов / Е. И. Устинова // Офтальмологические ведомости. – 2016. – Т.9, № 2. – С. 74 – 80.
2. Арбенъва, Н. С. Ретроспективный анализ структур увеитов по данным Новосибирского филиала МНТК «Микрохирургия глаза» / Н. С. Арбенъва, Т. А. Чехова, В. И. Братко, А. Н. Трунов, В. В. Черных // Практическая медицина. – 2017. – Т. 2, № 9. – с. 25 – 28.
3. Arand, M. L. Melatonin as a Therapeutic Resource for inflammatory visual Diseases / M. L. Arand, M. F. Fleitas, H. Dieguez, A. Iaguinandi, P. H. Sande, D. Dorfman, R. F. Rosenstein // Curr Neuropharmacol. – 2017. – Vol.15, № 7. – P. 951 – 962.
4. Аветисов, С.Э. Офтальмология. Национальное руководство / С. Э. Аветисов. – М. : 2008. – 1017 с.
5. Дроздова, Е.А. Современные аспекты в лечении переднего увеита при ревматических заболеваниях / Е.А. Дроздова // Офтальмология. – 2005. – Т. 2, № 3. – С. 44 – 50.
6. Barry, R. J. Pharmacotherapy for uveitis: current management and emerging therapy / R. J. Barry, Q. D. Nguyen, R. W. Lee, P. I. Murray, A. K. Denniston // Clin Ophthalmol. – 2014. - Vol. 8. – P. 1891 – 1911.
7. Gallego-Pinazo, R. Update on the principles and novel local and systemic therapies for the treatment of non- infections uveitis / R. Gallego-Pinazo, R. Dolz-Marco, S. Martinez-Castillo, J. F. Arevcelo, M. Diaz-Liopis // Inflamm Allegry Drug Targets. – 2013. – Vol. 12, № 1. – P. 38 – 45.
8. Jabs, D.A. Approach to the diagnosis of the uveitides / D. A. Jabs, J. Busingye //Am J Ophthalmol. – 2013. – Vol. 156, № 2. – P. 228 – 236.
9. Нероев, В.В. Моделирование иммуногенного увеита у кроликов / В. В. Нероев, Г. А. Давыдова, Т. С. Перова // Бюл. Эксп. Биол. Мед. – 2006. – Т. 142, № 11. – С. 598–600.
10. Камышников, В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. / В. С. Камышников. – 2-е изд. – Мн. : Беларусь, 2002.

### **СОСТОЯНИЕ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В ТКАНЯХ ПЕРЕДНЕГО СЕГМЕНТА ГЛАЗА У КРОЛИКОВ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ИММУНОГЕННЫМ УВЕИТОМ ПРИ ПАРЕНТЕРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ АЦЕТИЛЦИСТЕИНА**

**Мармыш В. Г.**

*Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь*

**Актуальность.** Актуальность, социальная и медицинская значимость проблемы увеитов на современном этапе обусловлена широкой распространённостью