

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УДК 617.713-001.4-089.843:611.841.2:599.731.1-092.12]-092.9

©А. Ю. Герасимець, А. А. Гудима, І. І. Герасимець

ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського”

РЕАКЦІЯ КЛІТИННОЇ ЛАНКИ ІМУННОЇ СИСТЕМИ ОРГАНІЗМУ В ПОСТТРАВМАТИЧНОМУ ПЕРІОДІ ПРИ КОНСЕРВАТИВНОМУ ЛІКУВАННІ ТА КОРЕКЦІЇ КЕРАТОКСЕНОІМПЛАНТАТОМ НЕПРОНИКАЮЧОГО ПОРАНЕННЯ РОГІВКИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН

РЕАКЦІЯ КЛІТИННОЇ ЛАНКИ ІМУННОЇ СИСТЕМИ ОРГАНІЗМУ В ПОСТТРАВМАТИЧНОМУ ПЕРІОДІ ПРИ КОНСЕРВАТИВНОМУ ЛІКУВАННІ ТА КОРЕКЦІЇ КЕРАТОКСЕНОІМПЛАНТАТОМ НЕПРОНИКАЮЧОГО ПОРАНЕННЯ РОГІВКИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН – Внаслідок непроникаючого поранення рогівки за умов консервативного лікування у крові тварин рівень Т-лімфоцитів знижувався у всі терміни спостереження, разом з тим, як за умов корекції кератоксеноімплантатом їх рівень був нижчим контрольної групи лише на 3 та 7 доби. Кількість Т-хелперів при обох способах лікування була нижчою показника контрольної групи протягом усіх термінів спостереження. На 3 та 7 доби спостереження рівень Т-супресорів знижувався, а в наступні терміни спостерігалось його зростання. Кількість натуральних кілерів та В-лімфоцитів протягом усього періоду спостереження була нижчою від контролю у групі з консервативним способом лікування.

РЕАКЦИЯ КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА ИМУННОЙ СИСТЕМЫ ОРГАНИЗМА В ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМ ПЕРИОДЕ ПРИ КОНСЕРВАТИВНОМ ЛЕЧЕНИИ И КОРЕКЦИИ КЕРАТОКСЕНОИМПЛАНТАТОМ НЕПРОНИЦАЕМОГО РАНЕНИЯ РОГОВИЦЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ – Вследствие непроницаемой травмы роговицы при ее консервативном лечении в крови животных уровень Т-лимфоцитов во все сроки наблюдения, в то же время при корекции кератоксеноімплантатом их уровень был ниже контрольной группы только на 3 та 7 сутки. Количество Т-хелперов при обоих способах лечения было ниже показателей контрольной группы в течение всех сроков наблюдения. На 3 та 7 сутки наблюдения уровень Т-супресорів снижался, а в последующие сроки наблюдения отмечали его рост. Количество натуральных киллеров и В-лимфоцитів в течение всего периода наблюдения было ниже контроля в группе с консервативным способом лечения.

REACTION OF THE CELL STAGE OF THE IMMUNE SYSTEM IN THE POSTTRAUMATIC PERIOD WITH CONSERVATIVE TREATMENT AND CORRECTION OF THE IMPERMEABLE WOUNDS OF THE CORNEA OF EXPERIMENTAL ANIMALS BY KERATOXENOIMPLANT – As a result of the not penetrating corneal injury under the conditions of conservative treatment in animal blood level of T lymphocytes decreased in all periods of observation while under the conditions of correction keratoxenoimplant their level was lower than the control group only at 3 and 7 days. The number of T-helper cells in both methods of treatment was lower than index of the control group throughout all periods of observation. At 3 and 7 days of observation level of T-suppressor cells decreased, and in subsequent periods of observation was observed its growth. The number of natural killers and B-lymphocytes throughout the all observation period was lower than in the control group of conservative treatment.

Ключові слова: непроникаюча травма рогівки, клітинний імунітет, Т-лімфоцити.

Ключевые слова: непроницаемая травма роговицы, клеточный иммунитет, Т-лимфоциты.

Key words: impermeable corneal injury, cellular immunity, T-lymphocytes.

ВСТУП Дослідження імунної реакції організму на чужорідну тканину в патогенезі захворювань очей є важливим напрямком у сучасній офтальмології. Механічна травма тканин, порушення фізико-хімічних властивостей мембран ведуть до відповіді імунної системи на отримане пошкодження [1, 2, 5]. У літературі широко висвітлено особливості імунної відповіді організму при таких захворюваннях очей, як увеїти [3], герпес [1] та інших. Однак при непроникаючому пораненні рогівки ця проблема висвітлена недостатньо [6, 7], а при корекції кератоксеноімплантатом практично не зустрічалась.

Метою роботи стало вивчити реакцію клітинної ланки імунної системи організму в умовах непроникаючого поранення рогівки та при його корекції кератоксеноімплантатом у динаміці посттравматичного періоду.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Експериментальні дослідження проводили на статевозрілих кролях породи шиншила масою від 2,5 до 3,0 кг відповідно до дотримання норм біоетики. Для оцінки патофізіологічних змін у рогівці після непроникаючого її поранення тварин поділили на 3 групи: контрольна група – інтактні тварини (6 кролів); перша дослідна група – непроникаюче поранення та консервативне лікування, термін спостереження через 3, 7, 10 та 14 діб після травми (24 кролі); друга дослідна група – непроникаюче поранення та корекція кератоксеноімплантатом, термін спостереження через 3, 7, 10 та 14 діб після травми (24 кролі).

Експериментальну модель пошкодження рогівки відтворювали на обох очах кроля під місцевою анестезією 0,5 % розчином алкаїну та ретробульбарною анестезією 2 % розчином лідокаїну 1,0 мл. Нанесли концентричну епітеліальну насічку діаметром 7 мм, видаляли епітелій разом з переднім шаром строми товщиною до 0,2 мм. Корекцію травми ксенокератоімплантатом здійснювали пришиванням його в 4 місцях до склери через кон'юнктиву. Впродовж терміну спостереження проводили інстиляцію розчину антибіотика фторхінолонового ряду – моксифлоксацин 0,3 % (1 крапля 3 рази на день). У групі з консервативним способом лікування, окрім інстиляції моксифлоксацину 0,3 % (1 крапля 3 рази на день), використовували корнеопротектор – корнерегель 4 рази на день.

Показники клітинного імунітету визначали за методом Bunders M [12] на проточному цитофлуориметрі Erics-XL виробництва Beckman Coulter (США).

Результати оброблені статистично за допомогою програми STATISTICA (“StatSoft, Inc.”, США), дані обчислювались за допомогою критерію Манна-Уїтні.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Як видно з таблиці 1, кількість Т-лімфоцитів у крові

Таблиця 1. Динаміка клітинної ланки імунного захисту в крові кролів у посттравматичному періоді при консервативному лікуванні та корекції кератоксеноімплантатом ($M \pm m$)

Показник	Контроль (n=12)	Механічна травма рогівки			
		3 доба (n=6)	7 доба (n=6)	10 доба (n=6)	14 доба (n=6)
(Т-лімфоцити)					
Консервативне лікування	29,00±0,35	21,83±0,31 [*]	24,50±0,22 [*]	24,67±0,21 [*]	26,00±0,37 [*]
Ксенорогівка		25,70±0,20 [*]	25,50±0,40 [*]	27,50±0,70	29,00±0,40
p		p<0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05
CD 4 (Т-хелпери)					
Консервативне лікування	20,83±0,30	14,67±0,21 [*]	13,67±0,21 [*]	16,33±0,21 [*]	15,67±0,21 [*]
Ксенорогівка		16,83±0,31 [*]	17,84±0,31 [*]	17,50±0,77 [*]	19,67±0,34 [*]
p		p<0,05	p<0,05	p>0,05	p<0,05
CD 8 (Т-супресори)					
Консервативне лікування	9,67±0,19	8,33±0,33	6,83±0,31 [*]	9,33±0,21	9,67±0,33
Ксенорогівка		7,50±0,22 [*]	7,17±0,17 [*]	11,34±0,42 [*]	11,17±0,48 [*]
p		p>0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05
CD 4/8					
Консервативне лікування	2,17±0,03	1,77±0,06 [*]	2,02±0,11	1,75±0,04 [*]	1,62±0,04 [*]
Ксенорогівка		2,25±0,07	2,49±0,07 [*]	1,56±0,11 [*]	1,78±0,09 [*]
p		p<0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05
CD 16 (натуральні кілери)					
Консервативне лікування	5,83±0,24	4,67±0,21	3,33±0,21 [*]	3,33±0,33 [*]	3,50±0,22 [*]
Ксенорогівка		3,50±0,22 [*]	4,33±0,21 [*]	5,17±0,31	5,33±0,21
p		p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05
CD 22 (В-лімфоцити)					
Консервативне лікування	12,50±0,26	10,33±0,33 [*]	9,17±0,31 [*]	8,67±0,21 [*]	7,17±0,40 [*]
Ксенорогівка		9,17±0,31 [*]	10,67±0,33 [*]	12,17±0,31	13,33±0,33
p		p>0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05

Примітки: 1) ^{*} – достовірність відмінностей стосовно контрольної групи <0,05;

2) p – достовірність відмінностей групи без використання ксенокератоімплантанта та групи з корекцією травми ним.

кролів у посттравматичному періоді в групі з консервативним лікуванням була нижчою контрольної групи протягом усіх термінів спостереження (p<0,05). Цей показник досяг мінімального значення на 3 добу, будучи на 24,3 % нижчим від групи інтактних тварин, та поступово зростав, наближаючись до їх рівня. У групі тварин з корекцією травми кератоксеноімплантатом рівень CD 3 у крові був нижчим контролю на 3 та 7 доби експерименту (p<0,05). На 3, 10 та 14 доби у групі з хірургічним способом лікування кількість Т-лімфоцитів була вищою на 17,7 %, 11,5 % та 11,5 % відповідно (p<0,05), ніж у групі консервативно лікованих тварин.

Як видно з таблиці 1, у групі тварин із консервативним та хірургічним методом лікування кількість Т-хелперів у сироватці крові кролів у посттравматичному періоді був достовірно нижчим показника контрольної групи (p<0,05) протягом усіх термінів спостереження. Досліджуваний показник у групі без використання ксенокератоімплантата досягнув свого мінімуму на 7 добу спостереження (34,4 % нижче інтактних тварин). При корекції травми рогівки ксенокератоімплантатом рівень CD 4 був нижчим групи контролю на 3 та 7 доби експерименту (p<0,05), проте вищим на 14,7 % та 30,5 % (p<0,05) показника групи консервативно лікованих тварин у відповідні терміни спостереження. У групі з хірургічним способом лікування кількість Т-хелперів була вищою від групи з консервативним лікуванням на 3, 7 та 14 доби (p<0,05).

Виходячи з даних таблиці 1, кількість CD 8 у сироватці крові кролів без корекції у посттравматичному

періоді максимально знизилась на 7 добу експерименту (на 29,4 % p<0,05), а на 3, 10 та 14 доби досліджуваний показник статистично не відрізнявся від контрольної групи тварин (p>0,05). У групах з корекцією рогівкового поранення кератоксеноімплантатом відмічено максимальне зниження Т-супресорів у сироватці крові на 3 та 7 доби (22,6 % та 25,9 % відповідно, p<0,05). Однак на 10 та 14 доби досліджуваний показник зріс та був вищим контрольної групи на 17,3 % і 15,5 % відповідно (p<0,05). У групі з хірургічним способом лікування кількість Т-супресорів була вищою від групи з консервативним лікуванням на 7 та 14 доби (p<0,05).

За даними таблиці 1, імунорегуляторний індекс у посттравматичний період при консервативному методі лікування травми рогівки був нижчим від контрольної групи на 3, 10 та 14 доби спостереження (p<0,05), а на 7 добу експерименту шуканий показник достовірно не відрізнявся від групи інтактних тварин (p>0,05). У групі тварин із корекцією травми хірургічним способом співвідношення CD 4/8 зросло на 3 добу експерименту на 3,7 % (p>0,05), на 7 добу – на 14,7 % (p<0,05), порівняно з інтактними тваринами, проте стало нижчим на 10 та 14 доби на 28,2 % та 17,9 % відповідно (p<0,05). Між собою групи з різними тактиками лікування достовірно різнились на 3 та 7 доби, вищим дане співвідношення було в групі, де використали ксенокератоімплантат (p<0,05).

Як видно з даних таблиці 1, кількість натуральних кілерів у крові піддослідних тварин у посттравматичному періоді при некорегованій травмі рогівки зни-

зилась поступово та досягла мінімуму на 7 та 10 доби експерименту (на 39,3 % порівняно з контрольною групою, $p < 0,05$), на 14 добу вона незначно зросла, проте залишалась нижчою від групи інтактних тварин ($p < 0,05$). При корекції кератоксеноімплантатом досліджуваній показник знизився максимально на 3 добу (40,0 % нижче контролю, $p < 0,05$), зріс на 7 добу на 23,7 %, порівняно з попереднім терміном спостереження, залишаючись достовідно меншим, у групі інтактних тварин ($p < 0,05$). На 10 та 14 доби експерименту кількість CD 16 наближалась до показників групи інтактних тварин та статистично від неї не відрізнялась ($p > 0,05$). У групі з хірургічним способом лікування кількість натуральних кілерів була вищою від групи з консервативним лікуванням на 7, 10 та 14 доби ($p < 0,05$).

Як видно з таблиці 1, кількість В-лімфоцитів у групі тварин без корекції травми кератоксеноімплантатом достовірно поступово зменшується з 3 доби експерименту, досягаючи свого мінімуму на 14 добу ($p < 0,05$). При хірургічному способі лікування найменшу кількість CD 22 відмічено на 3 добу експерименту, а на 10 та 14 доби спостереження концентрація CD 22 наближалась до показників групи інтактних тварин та статистично від неї не відрізнялась ($p > 0,05$). На 7, 10 та 14 доби шуканий показник статистично відрізнявся між групами із різними методиками лікування ($p < 0,05$) у відповідні терміни спостереження.

Таким чином, внаслідок непроникаючого поранення рогівки за умов консервативного лікування у крові тварин рівень Т-лімфоцитів знижується у всіх термінах спостереження. При корекції кератоксеноімплантатом у крові експериментальних тварин рівень Т-лімфоцитів є нижчим контрольної групи лише на 3 та 7 доби, а в наступні терміни спостереження не відрізняється від контролю. У групах із використанням корекції кератоксеноімплантатом даний показник є достовірно вищим від консервативної групи на 3, 10 та 14 доби. Кількість Т-хелперів при двох способах лікування була нижчою показника контрольної групи протягом усіх термінів спостереження. При корекції травми рогівки кератоксеноімплантатом рівень CD 4 був вищим, ніж у групі з консервативною методикою лікування на 3, 7 та 14 доби експерименту. В умовах цього експерименту кількість CD 8 при консервативному способі лікування достовірно знизився лише на 7 добу спостереження. При оперативному ліванні даний показник на 3 та 7 доби зменшився, порівняно з групою інтактних тварин, а на 10 та 14 доби він над нею переважає. Це призводить до зниження імунорегуляторного індексу в посттравматичному періоді при консервативному методі лікування в усі терміни спостереження, окрім 7 доби. Кількість натуральних кілерів при консервативному ліванні знижується поступово з 7 доби експерименту. При корекції кератоксеноімплантатом концентрація CD 16 зменшується максимально на 3 добу, після чого спостерігається поступове зростання і на 10 та 14 доби, в даній групі тварин, кількість натуральних кілерів статистично не

відрізнялась від контрольної групи. Кількість В-лімфоцитів при консервативному способі лікування поступово зменшується з 3 до 14 доби експерименту порівняно з контрольною групою. При хірургічному ліванні найменша кількість CD 22 відмічається на 3 добу експерименту, а на 10 та 14 доби спостереження концентрація не відрізняється від групи інтактних тварин.

ВИСНОВКИ 1. Механічна непроникаюча травма рогівки кроля супроводжується порушенням клітинного імунітету, що проявляється статистично значущим, стосовно контрольної групи, зниженням вмісту в крові тварин із консервативним лікуванням популяції лімфоцитів CD 3, CD 4 та CD 22 протягом усього експерименту, CD 8 – на 7 добу, CD 16 – на 7–14 доби ($p < 0,05$).

2. У групах тварин, де використовували кератоксеноімплантат, кількість CD 3, CD 16 та CD 22 на 10 та 14 доби статистично не відрізнялась ($p > 0,05$), CD 4 – наближалась ($p < 0,05$), CD 8 – перевищувала ($p < 0,05$) показники контрольної групи.

3. Швидше наближення досліджуваних показників у групі, де використовували ксенокератоімплантат до групи інтактних тварин, дає можливість говорити про швидше наближення до вихідного рівня імунної системи, порівняно із групою, де використовували лише консервативне лікування.

Перспективними є подальші дослідження впливу непроникаючої травми рогівки за умов корекції кератоксеноімплантатом на стан імунної системи організму загалом та морфологічні особливості регенераторного процесу в рогівці зокрема.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Дронов М. М. Состояние иммунитета у больных с травмами и заболеваниями роговицы / М. М. Дронов, Ю. И. Пирогов // Вестн. офтальмол. – 1991. – № 3. – С. 48–52.
2. Киселева Т. Н. Значение биохимических показателей слезной жидкости для ранней диагностики и прогноза течения травматического увеита : автореф. дисс. на соискание научн. степени канд. мед. наук / Т. Н. Киселева. – Челябинск, 1995.
3. Пирогов Ю. И. Клинико-иммунологическое обоснование применения иммунокорректоров при кератопластике / Ю. И. Пирогов // Офтальмохирургия и терапия. – 2001. – № 1. – С. 45–49.
4. Шаимова В. А. Бактериальный кератит. Клинико-иммунологические особенности течения, прогноза, лечения разных форм заболевания : автореф. дисс. на соискание научн. степени док. мед. наук : 14.00.36; 14.00.08 / В. А. Шаимова. – Челябинск, 2007. – 42 с.
5. Imbalance in corneal redox state during herpes simplex virus induced keratitis in rabbits. Effectiveness of exogenous glutathione supply / C. Nucci, A. T. Palamara, M. R. Ciriolo [et al.] // Exp. Eye Res. – 2000. – Vol. 70, № 2. – P. 215–220.
6. Bosscha M. I. The efficacy and safety of topical polymyxin B, neomycin and gramicidin for treatment of presumed bacterial corneal ulceration / M.I. Bosscha // Br. J. Ophthalmol. – 2004. – Vol. 88 – P. 25–28.
7. Prada J. Tumour necrosis factor alpha and interleukin 6 gene expression in keratocytes from patients with rheumatoid corneal ulcerations / J. Prada // Br. J. Ophthalmol. – 2003. – Vol. 87. – P. 548–550.

Отримано 29.08.14