

Полученные данные свидетельствуют о предельных возможностях работы гексозоминофосфатного шунта клеток под действием токсических продуктов сокультивируемых вариаций поскольку показатели количества образования свободных радикалов без индукции были намного выше (рис. 2, 3).

Заключение

Таким образом, результаты исследования показывают, что в перитонеальных макрофагах мышей, инфицированных сокультивируемыми вариациями, происходит более выраженная способность к восстановлению НСТ, чем при инфицировании их монокультурами, что отражает дефекты кислородзависимых механизмов бактерицидности ассоциаций условно-патогенных энтеробактерий.

Следовательно, это может служить предпосылкой к отнесению ассоциаций условно-патогенных микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae* к этиологически значимым. При воздействии монокультур не происходит подавление фагоцитоза, а при добавлении сокультивируемых вариаций идет его усиление, что наглядно показывает НСТ-тест. Это свидетельствует о том, что *Enterobacter spp.* + *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.* + *Serratia spp.*, *Citrobacter spp.* + *Serratia spp.*, *Enterobacter spp.* + *E.coli*, *Citrobacter spp.* + *E.coli*, *Serratia spp.* + *E.coli*, *Proteus spp.* + *Enterobacter spp.*, *Proteus spp.* + *Citrobacter spp.*, *Proteus spp.* + *Serratia spp.*, *Proteus spp.* + *E.coli* не истощают резервные возможности фагоцитов.

Сведения об авторах статьи:

Габидуллин Юлай Зайнуллович – д.м.н., доцент кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: guz010877@mail.ru.

Лазарева Анна Юрьевна – студентка ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: lazarevaayu@mail.ru.

Градусова Мария Юрьевна – студентка ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: gradusova.maria@mail.ru.

Гибзав Нуршат Нургаринович – к.м.н., врач ГБУЗ РБ ГДКБ №17. Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Свободы, 29.

Суфияров Ринат Сабитович – д.м.н., профессор кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: rinat_suf@mail.ru.

Туйгунов Марсель Маратович – д.м.н., профессор, зав. кафедрой микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: tuygunov@mail.ru.

ЛИТЕРАТУРА

- Brinkman, V. Neutrophil extracellular traps kill bacteria / V. Brinkman // Science. – 2004. – Vol. 303. – P. 1532-1535.
- Tundidor-Bermudez, A.M. A xanthogranulomatous psoas abscess 4 years after nephrectomy for xanthogranulomatous pyelonephritis / A.M.Tundidor-Bermudez, D. Brene-Padron // Arch. Esp. Urol. – 1993. – Vol. 46. – P.428-429.
- Ашмарин, И.П. Статистические методы в микробиологических исследованиях / И.П. Ашмарин, А.А. Воробьев. – СПб.: Изд-во Мед. литературы, 1962. – 180 с.
- Бухарин, О.В. Экологическая детерминированность внутривидового разнообразия патогенных бактерий / О.В. Бухарин, В.А. Гриценко // Микробиология. – 2000. – №1. – С.103-105.
- Долгушин, И.И. Нейтрофилы и гомеостаз / И.И. Долгушин, О.В. Бухарин. – Екатеринбург: УрОРАН, 2001. – С. 18-24.
- Долгушин, И.И. Нейтрофильные внеклеточные ловушки / И.И. Долгушин, Ю.С. Андреева, А.И. Рыжкова. – М., 2009. – С. 9-89.
- Маянский, А.Н. НАДФН-оксидаза нейтрофилов: активация и регуляция // Цитокины и воспаление. – 2007. – Т. 6, № 3. – С. 3-13.
- Сурикова, Е.В. Факторы персистенции клебсиелл / Е.В. Сурикова // Микробиология. – 1994. – № 5 (приложение). – С. 104-106.
- Хуснутдинова, Л.М. Межбактериальные взаимодействия на слизистой оболочке миндалин человека: дисс. ... канд. мед. наук. – Оренбург, 2004. – 144 с.
- Шишкова, Ю.С. Роль нейтрофилов в формировании колонизационной резистентности слизистых оболочек: автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. – Челябинск, 2010. – 38 с.

УДК 617.713

© Г.Х. Зайнутдинова, Г.М. Казакбаева, Л.И. Халимова, 2017

Г.Х. Зайнутдинова, Г.М. Казакбаева, Л.И. Халимова ПРЕПАРАТ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПОВРЕЖДЕНИЙ ЭПИТЕЛИЯ РОГОВИЦЫ ГБУ «Уфимский НИИ глазных болезней АН РБ», г. Уфа

Для исследования целостности корнеэпителия при травмах и повреждениях роговицы традиционно используют раствор флуоресцеина и реже бенгальский розовый. Однако эти препараты не всегда имеются в арсенале специалистов. Поэтому для выявления дефектов роговичного эпителия в качестве красителей стали применять колларгол или рибофлавин. Целью данного исследования стало изучение возможности применения раствора рибофлавина с гидроксипропилметилцеллюлозой для диагностики повреждений эпителия роговицы. В эксперименте изучено разработанное офтальмологическое средство, содержащее 1% раствор рибофлавина мононуклеотида с 1% гидроксипропилметилцеллюлозой (ГПМЦ), в сравнении с 1% раствором флуоресцеина (контроль) и 1% раствором рибофлавина мононуклеотида с 20% декстраном.

Выявлена высокая окрашивающая способность полимерсодержащих растворов рибофлавина с декстраном и с ГПМЦ в сравнении с водным флуоресцеином, что связано с образованием устойчивой пленки на поверхности роговицы. Сравнительное изучение средств с рибофлавином / декстраном и рибофлавином / ГПМЦ показало более значимую эффективность последнего за счет стабильной прекорнеальной красящей пленки благодаря вязкости раствора и оптимальной концентрации рибофлавина мононуклеотида в слоях передней стромы. При этом отсутствовал дегидрирующий эффект роговицы,

обусловленный обезвоживающим действием раствора рибофлавина с декстраном. Таким образом, использование офтальмологического средства, содержащего 1% рибофлавина моноклеотида и 1% ГПМЦ, обеспечивает эффективную и продолжительную биомикроскопию поврежденных участков эпителия роговицы.

Ключевые слова: роговица, рибофлавин, эпителий.

G.Kh. Zainutdinova, G.M. Kazakbaeva, L.I. Khalimova

MEDICATION FOR DIAGNOSTICS OF CORNEAL EPITHELIAL DAMAGE

To study the integrity of corneal epithelium in case of injuries and damages of the cornea solution of fluorescein and less frequently rose Bengal are traditionally used. However, these drugs are not always available for the specialists. Therefore, to identify defects of the corneal epithelium collargol or Riboflavin as dyes were started to be used. The aim of this study was to investigate the possibility of applying a solution of Riboflavin with hydroxypropyl methylcellulose to diagnose damage to the corneal epithelium. The experiment studied a designed eye care product containing a 1% solution of Riboflavin mononucleotide with 1% hydroxypropyl methylcellulose (HPMC), compared with a 1% solution of fluorescein (control) and 1% solution of Riboflavin mononucleotide and 20% dextran.

The study revealed a high coloring ability of the polymer-containing solutions of Riboflavin with dextran and HPMC in comparison with an aqueous fluorescein, which is associated with the formation of the stable film on the surface of the cornea. Comparative study of medications with Riboflavin / dextran and Riboflavin / HPMC showed greater effectiveness of the latter due to stable precorneal coloring film because of the viscosity of the solution and the optimal concentration of Riboflavin mononucleotide in the layers of the anterior stroma. However, there was no dehydrogenating effect of the cornea due to the dehydrating action of a solution of Riboflavin with dextran. Thus, the use of eye care products that contain 1% of Riboflavin mononucleotide and 1% HPMC provides effective and long-lasting biomicroscopy for damaged areas of the corneal epithelium.

Key words: cornea, riboflavin, epithelium.

Исследование целостности эпителия роговицы с использованием медицинских красителей является одним из основных способов современной офтальмодиагностики. Этот метод прост в исполнении, его отличают доступность и информативность. В офтальмологической практике окрашивание роговой оболочки чаще всего применяется для биомикроскопии повреждений корнеального эпителия вследствие травм и глазных заболеваний, в частности кератитов и кератоконъюнктивитов различной этиологии. Кроме этого, красители традиционно используются при подборе жестких газопроницаемых контактных линз [1].

На протяжении многих лет для окрашивания роговицы с целью выявления ее дефектов использовался раствор флуоресцеина. Однако этот препарат не всегда имеется в арсенале специалистов. В тех случаях, когда невозможно выполнить флуоресцеиновую пробу, используют другие красители, например бенгальский розовый, колларгол или рибофлавин [2]. Последний в качестве 1% раствора был предложен в комбинации с полимерным соединением – декстран, который пролонгирует эффект окрашивания [3]. Следует отметить, что использование декстрана в качестве вспомогательного вещества для этих целей имеет определенные недостатки, в частности, полимер оказывает обезвоживающее воздействие на роговицу и снижает ее толщину [4,5]. Это обстоятельство существенно уменьшает степень диффузии рибофлавина в поверхностные слои стромы, что в свою очередь способствует ухудшению эффекта контрастирования поврежденных участков эпителия роговицы.

Цель исследования – изучение возможности применения офтальмологического

средства с рибофлавином и гидроксипропилметилцеллюлозой для диагностики повреждений эпителия роговицы при травмах и заболеваниях.

Материал и методы

Нами было разработано средство для диагностики повреждений эпителия роговицы следующего состава: 1% рибофлавина моноклеотида и 1% гидроксипропилметилцеллюлоза (ГПМЦ) на изотонической буферной основе. Готовый раствор имел вязкость ~ 2000 мПа·сек.

Экспериментальные исследования проведены на 6 кроликах (12 глаз) породы шиншилла, которые были разделены на 3 группы (по 2 кролика – 4 глаза в каждой): в первой в качестве красителя роговицы использовали 1% раствор флуоресцеина (контроль), во второй – 1% раствор рибофлавина моноклеотида с 20% декстраном, в третьей – 1% раствор рибофлавина моноклеотида с 1% ГПМЦ. Анестезиологическое пособие выполнялось посредством внутримышечного наркоза препаратом «Ксиланит» (НИТА ФАРМ, Россия) в дозе 20-30 мг/кг. Для моделирования опытного повреждения роговой оболочки под местной анестезией (0,4% раствор оксибупрокаина – «Инокаин») на роговицу обоих глаз кролика трепаном диаметром 6 мм наносили стандартные травмы.

Всем животным проводили пахиметрию, офтальмоскопию и биомикроскопию, в том числе с использованием кобальтового синего светофильтра.

Статистическая обработка полученных данных была проведена с помощью программы Statistika 6.0 в виде определения среднего значения и стандартного отклонения ($M \pm SD$). Различия между исследуемыми группами

определялись с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни.

Результаты и обсуждение

Для окрашивания роговицы 1% водным флуоресцеином (контроль) были необходимы инстилляций 2-3 капель раствора. Для визуализации экспериментальной травмы роговицы после закапывания требовалось удаление излишков красителя физраствором. При этом четкое прокрашивание роговицы глаза кролика было возможно в течение 3-4 минут, так как водный флуоресцеин быстро удалялся с поверхности роговицы. В ряде случаев имело место нехарактерное «фоновое» окрашивание (ложноположительный результат). По данным пахиметрии толщина роговицы по сравнению с ее исходным состоянием (387 ± 18 мкм) при использовании раствора флуоресцеина не изменялась.

Использование растворов 1% рибофлавина мононуклеотида (вторая и третья группы) и в том, и в другом случае требовало инстилляций всего 1 капли данного средства. Стабильная пленка, образуемая на поверхности роговицы за счет вязкости растворов, обеспечивала контрастное окрашивание корнеальной травмы, сопоставимое по своей интенсивности с флуоресцеином. При этом не регистрировалась маскировка поврежденных участков эпителия роговицы, очевидно, ввиду выраженной диффузии рибофлавина в строму.

Сравнительное изучение средств с рибофлавином и декстраном (вторая группа) и рибофлавином и ГПМЦ (третья группа) показало более высокую эффективность последнего. При инстиляции раствора во второй группе наблюдалось менее четкое окрашивание поврежденной зоны роговицы по причине более низкой вязкости раствора, а также ввиду меньшего содержания рибофлавина в поверхностных слоях стромы, что связано с обезвоживанием и уплотнением роговицы, обусловленных дегидрирующим действием декстрана [6]. При этом данные проведенной нами пахиметрии в этой опытной группе ука-

зывают на снижение толщины роговицы до 344 ± 15 мкм (на 11%) уже в течение первых 5 минут после инстилляций.

Закапывание раствора рибофлавина и ГПМЦ в третьей группе обеспечило проведение более качественной биомикроскопии повреждений роговой оболочки в течение 30 минут вследствие стабильной прекорнеальной красящей пленки благодаря вязкости раствора и оптимальной концентрации рибофлавина мононуклеотида в слоях передней стромы. При этом следы красителя обнаруживались на поврежденных участках роговицы глаза кролика в течение 60 минут после применения. Толщина роговицы в третьей группе по завершении инстилляций по данным пахиметрии осталась без изменений. Стабильное состояние и толщина роговицы после обработки ее 1% рибофлавином мононуклеотидом с 1% гидроксипропилметилцеллюлозой не препятствовали проникновению в строму через поврежденные участки эпителия рибофлавина, выступающего в качестве красящего компонента. Соответственно, более высокая концентрация рибофлавина мононуклеотида в слоях роговицы по сравнению со второй группой обеспечивала более четкую визуализацию дефектов роговой оболочки. Следует отметить, что повышение вязкости раствора за счет введения в его состав ГПМЦ позволяет исключить этап вымывания красителя физиологическим раствором из конъюнктивальной полости глаза и пролонгировать терапевтическое воздействие рибофлавина на поврежденную роговицу.

Таким образом, использование офтальмологического раствора, содержащего 1% рибофлавина мононуклеотида и 1% гидроксипропилметилцеллюлозу, обеспечивает качественную и продолжительную биомикроскопию поврежденных участков корнеоэпителия в эксперименте, что после соответствующих клинических наблюдений позволит применять его как эффективное и доступное средство для окрашивания дефектов роговицы.

Сведения об авторах статьи:

Зайнутдинова Гузель Халитовна — д.м.н., зав. отделением восстановительной хирургии глаз у детей ГБУ УфНИИ ГБ АН РБ. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Пушкина, 90. Тел./факс: 8(347) 255-07-12. E-mail: ufaeyedetskoe@mail.ru.

Казакбаева Гюлли Мухаррамовна — врач-офтальмолог ГБУ «Уфимский НИИ глазных болезней АН РБ». Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Пушкина, 90. Тел./факс: 8(347) 273-03-72. E-mail: gyullibikbova@gmail.com.

Халимова Лилия Илюсовна — врач-офтальмолог ГБУ «Уфимский НИИ глазных болезней АН РБ». Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Пушкина, 90. Тел./факс: 8(347) 255-07-12. E-mail: liloptalmo@gmail.com.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мягков, А.В. Применение красителей для диагностики повреждений эпителия роговицы и конъюнктивы у пользователей контактными линзами в оптике / А.В. Мягков, Е.Е. Соголовская // Вестник оптометрии. — 2007. — № 3. — С. 53-60.
2. Бикбова, Г.М. Препарат для диагностики травм и заболеваний роговицы глаза / Г.М. Бикбова, Р.А. Казакбаев, Т.А. Халимов // Патент РФ № 2552318. — 2015.
3. Халимов, Т.А. Результаты применения рибофлавина для диагностики травм и заболеваний роговицы / Т.А. Халимов, Р.А. Казакбаев, Г.М. Бикбова // Современные технологии в офтальмологии. — 2014. — № 4. — С. 76-77.

4. Бикбов, М.М. Ультрафиолетовый кросслиндинг роговицы / М.М. Бикбов, А.Р. Халимов, Э.Л. Усубов // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2016. – Т. 71, № 3. – С. 224-232.
5. Уровень рибофлавина во влаге передней камеры глаза при использовании фотосенсибилизаторов на различной полимерной основе (экспериментальное исследование) / А.Р. Халимов [и др.] // Вестник Волгоградского гос. мед. университета. – 2013. – Т. 4, № 48. – С. 195-198.
6. Халимов, А.Р. Рибофлавин+полимер целлюлозы – новое средство для насыщения роговицы при ультрафиолетовом кросслиннге коллагена / А.Р. Халимов, Н.Е. Шевчук, Г.М. Казакбаева // Сборник материалов X съезда офтальмологов России. – М.: Офтальмология, 2015. – С. 201.

УДК 617.713
© А.Р. Халимов, 2017

А.Р. Халимов
**ПРЕКОРНЕАЛЬНАЯ ПЛЕНКА РИБОФЛАВИНА В СИСТЕМЕ
УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО КРОССЛИНКИНГА РОГОВИЦЫ.
EX VIVO-ИССЛЕДОВАНИЕ**
ГБУ «Уфимский НИИ глазных болезней АН РБ», г. Уфа

В статье представлены сведения по влиянию прекоorneальной пленки рибофлавина на степень ультрафиолетовой абсорбции роговицы в процессе выполнения УФ-кросслинкинга в эксперименте. Модель УФ-сшивания (370 нм, 3 мВт/см²) воспроизводилась на свиных роговицах с использованием препаратов 0,1% рибофлавина для их насыщения: в 1-й группе с изотоническим раствором, во 2-й – с 20% декстраном, в 3-й – с 1,0% гидроксипропилметилцеллюлозой (ГПМЦ). Изменения показаний УФ-поглощения систем роговица – рибофлавин – прекоorneальная пленка и роговица – рибофлавин регистрировались устройством УФ-тестер. Установлено, что роговица, обработанная изотоническим раствором рибофлавина или раствором рибофлавина с ГПМЦ, обладала наиболее выраженным УФ-абсорбирующим эффектом за счет активной пенетрации фотосенсибилизатора в строму. При этом вязкие растворы, имеющие в своем составе ГПМЦ или декстран, свой защитный эффект дополнительно реализовывали за счет устойчивой прекоorneальной рибофлавиновой пленки. Уменьшение коorneальной толщины вследствие обезвоживающего действия декстрана способствовало снижению светоабсорбирующих свойств роговицы, которое компенсировалось посредством стабильной пленки, образованной рибофлавином и декстраном. Изотонический раствор рибофлавина образует неустойчивый поверхностный слой фотосенсибилизатора, что требует его более частых инстилляций.

Ключевые слова: роговица, рибофлавин, ультрафиолетовое сшивание (кросслиндинг), прекоorneальная пленка.

A.R. Khalimov
RIBOFLAVIN FILM IN UV CORNEAL CROSS-LINKING. EX VIVO STUDY

The article presents information on the effect of precorneal film of Riboflavin on the degree of UV absorption of the cornea in the process of performing UV cross-linking experiment. Model of UV crosslinking (370 nm, 3 mW/cm²) was reproduced on porcine corneas with the use of drugs of 0.1% Riboflavin for saturation: in the 1st group, the isosmotic solution, 2nd – 20% dextran, 3rd – 1.0% hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). Variation in the readings of the UV absorption of the system «cornea – Riboflavin – precorneal film and cornea – Riboflavin» was registered by the device «UV tester». It is established that the cornea, treated with isosmotic solution of Riboflavin or a solution of Riboflavin with HPMC had the most pronounced UV-absorbing effect due to the active penetration of the photosensitizer into the stroma. Herewith, viscous solutions, having in its composition HPMC or dextran, implemented its protective effect by sustainable precorneal riboflavin film. The decrease in corneal thickness due to the dehydrating action of dextran contributed to the decline of light-absorbing properties of the cornea, which was offset by stable film formed by Riboflavin and dextran. Isosmotic solution of Riboflavin forms an unstable surface layer of the photosensitizer that require more frequent instillation.

Key words: cornea, riboflavin, UV cross-linking, precorneal film.

Последнее десятилетие ультрафиолетовое сшивание (кросслиндинг) роговицы успешно применяется с целью приостановки прогрессирования кератэктазий. Способ основан на комбинированном воздействии рибофлавина, выступающего в качестве фотосенсибилизатора, и ультрафиолетового (УФ) излучения с длиной волны 370 нм на роговую оболочку глаза [1]. В результате происходит повышение прочностных свойств роговицы, обусловленное сшивками компонентов основного вещества стромы.

Техника УФ-кросслинкинга постоянно совершенствуется, однако приоритетными в ней неизменно остаются безопасность и эффективность процедуры, которые могут быть обеспечены в первую очередь за счет содер-

жания интрастромального рибофлавина. Последний, наряду с повышением фоточувствительности тканей, способен влиять на величину коorneальной УФ-абсорбции, оказывая защитный эффект для внутриглазных структур [2]. В свою очередь степень насыщения роговицы рибофлавином зависит от концентрации закапываемого раствора, продолжительности и частоты его инстилляций [3]. Кроме этого, на светопропускающую способность стромы в процессе УФ-сшивания роговицы может влиять также и пленка, образуемая на поверхности роговицы после инстилляций фотосенсибилизатора.

Цель исследования – оценить величину УФ-абсорбции роговицей, насыщенной растворами для ультрафиолетового кросслинкин-