



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ ORIGINAL ARTICLES

Научная статья

УДК 617.713-001.37

DOI: <https://doi.org/10.25276/2410-1257-2024-3-20-26>

© Кирсанова И.В., Мохова С.А., Колесников А.В., Шулькин А.В., 2024

Влияние местного применения раствора лактоферрина на уровень цитокинов и показатели окислительного стресса при щелочных ожогах роговицы

И.В. Кирсанова, С.А. Мохова, А.В. Колесников, А.В. Шулькин

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Рязань, Россия

РЕФЕРАТ

Цель. Изучить особенности иммунологического и свободнорадикального статуса роговицы при ее щелочном ожоге и возможности его коррекции с помощью лактоферрина.

Материал и методы. Экспериментальная работа выполнена на 45 кроликах-самцах породы «Советская шиншилла». Животные были разделены на 3 серии: норма, моделирование щелочного ожога и инстилляцией физиологического раствора, моделирование щелочного ожога и инстилляцией лактоферрина (раствор 2,5 мг/мл по 1 капле 3 раза в день). Экспериментальная модель щелочного ожога роговицы воспроизводилась по методу Обенбергера в модификации. Животные выводились из эксперимента через 1, 3, 5, 7, 14, 21 и 28 суток после моделирования ожога. На каждую временную точку приходилось по 3 кролика (6 глаз). На каждом сроке наблюдения в гомогенате роговицы определяли свободнорадикальный и иммунологический статус.

Результаты. Моделирование щелочного ожога вызывало типичную клиническую картину данной патологии, которая сопровождалась активацией свободнорадикальных процессов (повышением уровня ТБК-реактивных продуктов, карбонильных производных белков, снижением активности супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы) и развитием воспалительной реакции (повышением концентрации ФНО-1 α , ИЛ-14, ИЛ-10, TGF-1 β). Применение раствора лактоферрина человека 2,5 мг/мл ускорило заживление дефекта роговицы кролика и способствовало профилактике развития осложнений (предотвращало развитие перфораций). Данный эффект был обусловлен антиоксидантной активностью (снижение уровня ТБК-реактивных продуктов, карбонильных производных белков, повышение активности антиоксидантных ферментов) и влиянием на баланс цитокинов. Так, лактоферрин повышал уровень провоспалительного цитокина ФНО-1 α и не одинаково влиял на содержание противовоспалительных цитокинов (повышал ИЛ-10, снижал ИЛ-4, разнонаправленно действуя на TGF-1 β).

Заключение. Местное применение 2,5 мг/мл раствора лактоферрина при щелочном ожоге роговицы оказывает выраженное терапевтическое действие за счет антиоксидантной активности и влияния на баланс цитокинов.

Ключевые слова: щелочной ожог роговицы, лактоферрин, свободнорадикальный и иммунологический статус роговицы

Для цитирования: Кирсанова И.В., Мохова С.А., Колесников А.В., Шулькин А.В. Влияние местного применения раствора лактоферрина на уровень цитокинов и показатели окислительного стресса при щелочных ожогах роговицы. Точка зрения. Восток – Запад. 2024;11(3): 20–26. doi: <https://doi.org/10.25276/2410-1257-2024-3-20-26>
Автор, ответственный за переписку: Светлана Алексеевна Мохова, sveflanamohova2000@gmail.com

Original articles

The effect of topical application of lactoferrin solution on cytokine levels and oxidative stress indicators in corneal alkaline burns

I.V. Kirsanova, S.A. Mokhova, A.V. Kolesnikov, A.V. Shchul'kin

Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia

ABSTRACT

Purpose. To study the features of the immunological and free radical status of the cornea in its alkaline burn and the possibility of its correction with lactoferrin.

Material and methods. The experimental work was performed on 45 male rabbits of the Soviet Chinchilla breed. The animals were divided into 3 series: norm, modeling of alkaline burn and instillation of saline solution, modeling of alkaline burn and instillation of lactoferrin (solution 2.5 mg/ml 1 drop 3 times a day). The experimental model of alkaline corneal burn was reproduced using the Obenberger method in modification. The animals were removed from the experiment through 1, 3, 5, 7, 14, 21 and 28 days after the simulation of the burn. There were 3 rabbits (6 eyes) for each time point. At each follow-up period, the free radical and immunological status was determined in the corneal homogenate.

Results. Modeling of alkaline burn caused a typical clinical picture of this pathology, which was accompanied by activation of free radical processes (increased levels of TBC-reactive products, carbonyl derivatives of proteins, decreased activity of

superoxide dismutase and glutathione peroxidase) and the development of an inflammatory reaction (increased concentrations of TNF-1 α , IL-14, IL-10, TGF-1 β). The use of a human lactoferrin solution of 2.5 mg/ml accelerated the healing of the rabbit cornea defect and prevented the development of complications (prevented the development of perforations). This effect was due to an antioxidant effect (a decrease in the level of TBK-reactive products, carbonyl derivatives of proteins, an increase in the activity of antioxidant enzymes) activity and effect on cytokine balance. Thus, lactoferrin increased the level of the proinflammatory cytokine TNF-1 α and did not have the same effect on the content of anti-inflammatory cytokines (increased IL-10, decreased IL-4, acting in different directions on TGF-1 β).

Conclusion. Topical application of 2.5 mg/ml of lactoferrin solution for alkaline corneal burn has a pronounced therapeutic effect due to its antioxidant activity and effect on the balance of cytokines.

Key words: corneal alkaline burn, lactoferrin, free radical and immunological status of the cornea

For quoting: Kirsanova I.V., Mokhova S.A., Kolesnikov A.V., Shchul'kin A.V. The effect of topical application of lactoferrin solution on cytokine levels and oxidative stress indicators in corneal alkaline burns. Point of view. East – West. 2024;11(3): 20–26. doi. <https://doi.org/10.25276/2410-1257-2024-3-20-26>

Corresponding author: Svetlana A. Mokhova, svetlanamohova2000@gmail.com

АКТУАЛЬНОСТЬ

Одним из наиболее тяжелых травматических повреждений органа зрения является ожог роговицы. Распространенность ожогов роговицы зависит от степени развития стран и составляет от 11,5 до 22,1% всех травм органа зрения [1, 2].

Для повышения эффективности терапии поврежденных роговицы, разработки новых способов лечения необходимо детальное изучение патогенеза данной патологии. Например, в последнее время все большее внимание уделяется изучению иммунологического и свободнорадикального статуса роговицы как ключевого биохимического процесса, участвующего в патогенезе развития поврежденных роговицы [3].

Известно, что от баланса провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, а также от выраженности окислительного стресса во многих случаях зависит исход заболевания [4]. Например, чрезмерное повышение уровней провоспалительных цитокинов и активация процессов свободнорадикального окисления могут приводить к развитию перфорации роговицы, и наоборот, слабое повышение содержания провоспалительных цитокинов и активация продукции свободных радикалов могут приводить к хронизации процесса и чрезмерному развитию соединительной ткани при инфекционных язвах роговицы [5–7].

Лактоферрин (ЛФ) – железосвязывающий гликопротеин, представитель семейства белков трансферринов. В его состав входит около 700 аминокислотных остатков. Одиночная полипептидная цепь собрана в два симметричных шаровидных N- и C-концевых полипептидных фрагмента, которые соединены α -спиралью. Каждый из этих фрагментов способен связывать по одному иону железа [8].

Сочетание антибактериальных и антиоксидантных свойств делает ЛФ перспективным препаратом для лечения системных заболеваний. В ряде исследований были доказаны его противовирусные и противовоспалительные свойства, а также способность ускорять заживление ран кожи. Антиоксидантные свойства ЛФ обусловлены его способностью связывать железо, блокируя развитие реакций Фентона и Хабера–Вайса [9]. ЛФ обладает как бактериостатическими, так и бактерицидными свойствами, в связи с чем он является важным

компонентом неспецифической системы защиты глаза человека.

Было выявлено противовоспалительное действие ЛФ, реализующееся путем угнетения синтеза конвертазы С3 системы комплемента. Бактерицидное действие обусловлено способностью ЛФ непосредственно взаимодействовать с поверхностью бактериальной стенки грамотрицательных бактерий, связываясь с анионным липидом А липополисахарида клеточной стенки. В результате такого взаимодействия повреждается бактериальная мембрана. В экспериментальных работах была доказана антибактериальная активность ЛФ в отношении таких бактерий, как *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp. и *Pseudomonas* spp. [10].

Ранее было показано, что ЛФ является эффективным средством для лечения гнойной язвы роговицы, которое снижало выраженность окислительного стресса, улучшало клиническое течение, снижало процент осложнений. Однако влияние на баланс цитокинов при данной патологии не оценивалось [11–13].

ЦЕЛЬ

Изучить особенности иммунологического и свободнорадикального статуса роговицы при ее щелочном ожоге и возможности его коррекции с помощью местного применения раствора ЛФ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на базе ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. Протокол исследования был рассмотрен и одобрен на заседании комиссии по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных (№17 от 07.11.2018). В качестве тест-системы использовали 45 кроликов-самцов породы «Советская шиншилла», массой 3000–3500 г, в возрасте 9–12 месяцев. Животных закупили в специализированном питомнике Филиал «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России и имели необходимые ветеринарные свидетельства. Кроликов содержали в конвенциональном виварии университета в индивидуальных клетках.

Манипуляции на глазных яблоках проводили под топической анестезией 0,4% оксибупрокаина. Эвтаназию животных осуществляли путем передозировки золе-

лом (Директива Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63 по охране животных, используемых в научных целях).

Исследование включало следующие опытные серии:

– 1-я серия (сравнение) – интактные животные без моделирования патологии и экспериментальных воздействий;

– 2-я серия (контроль) – животные, у которых моделировали щелочной ожог роговицы и инстиллировали в конъюнктивальную полость физиологический раствор;

– 3-я серия (основная группа) – коррекция свободнорадикальных и иммунологических нарушений была представлена животными, у которых моделировали щелочной ожог роговицы и инстиллировали в конъюнктивальную полость раствор ЛФ (2,5 мг/мл).

Животных выводили из эксперимента через 1, 3, 5, 7, 14, 21 и 28 суток после моделирования ожога роговицы. На каждую временную точку приходилось по 3 кролика, т.е. 6 глаз ($n=6$). Физиологический раствор и раствор ЛФ применялись 3 раза в день в виде инстилляций по 1 капле в каждый глаз каждый день.

Экспериментальная модель щелочного ожога роговицы у кроликов воспроизводилась по модифицированному методу Обенбергера. На роговицу кроликов на 20 с помещали диск фильтровальной бумаги в виде круга диаметром 6 мм, смоченный 5% раствором гидроксида натрия.

После эвтаназии животных проводилась энуклеация глазных яблок. Роговицу высекали с участком склеры в 1 мм от лимба, измельчали и гомогенизировали в изотоническом фосфатном буфере в пропорции 1:10. Полученный гомогенат центрифугировали при 1800 g (Eppendorf, Германия) в течение 10 мин. Супернатант замораживали при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ и хранили до выполнения анализа.

Для определения свободнорадикального статуса роговицы оценивали концентрацию веществ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-реактивных продуктов), карбонильных производных белков, активности супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (G-per).

Выраженность иммунологических нарушений в роговице анализировали по уровню фактора некроза опухоли (ФНО-1 α), интерлейкинов (ИЛ) 4, 10, трансформирующего рогового фактора бета-1 (TGF-1 β), которые анализировали методом иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью коммерческих наборов Cloud-Clone (КНР). Полученные значения пересчитывали на 1 мг белка, который определяли методом Брэдфорда с помощью коммерческого набора (Thermo Fisher, США).

Полученные данные анализировали с помощью программы Statistica 10.0 (Stat Soft Inc., США). Характер распределения данных оценивали с помощью критерия Шапиро–Уилка. Так как во всех случаях распределение данных было отличным от нормального, результаты представлены в виде медианы и нижнего и верхнего квартилей (МЕ [Q1; Q3]), а для оценки статистической значимости применялись непараметрические критерии – при сравнении более чем двух групп критерий Крускала–Уоллиса, в дальнейшем попарные сравнения выполняли с помощью критерия Манна–Уитни с поправкой Бонфер-

рони; при сравнении двух групп – критерий Манна–Уитни *U*. При вероятности ошибки первого рода $p<0,05$ различия между группами считались статистически значимыми.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У животных контрольной группы на 1-е сутки эксперимента отмечалась смешанная инъекция бульбарной конъюнктивы, которая сохранялась до 5–7 суток. На 2–7-е сутки отмечали отек роговицы вне зоны ожога. Полная эпителизация роговицы у животных контрольной группы наблюдалась с 8-х по 15-е сутки (в среднем на $10,2\pm 2,4$ сутки). Перфорации развились в 2 глазах на 13-е и 16-е сутки. На 28-е сутки на всех глазах наблюдалось развитие грубых помутнений роговицы.

Применение раствора ЛФ человека ускоряло заживление роговицы кролика. В частности, восстановление нормального эпителия роговицы на фоне его применения у всех животных произошло к 7-му дню после ожога (рис. 1, 2). При этом ни у одного животного не было зафиксировано перфораций. Смешанная инъекция бульбарной конъюнктивы отмечалась с 1-х суток и сохранялась до 3–5 суток, отек роговицы вне зоны ожога наблюдался со 2-х по 6-е сутки. Кроме того, проведенное нами ранее гистологическое исследование показало, что применение раствора ЛФ приводит к восстановлению структуры стромы роговицы и снижению выраженности воспалительной инфильтрации зоны дефекта и лимба [14], что клинически проявлялось отсутствием неоваскуляризации и формированием менее грубых помутнений роговицы у животных основной группы.

Моделирование щелочного ожога сопровождалось развитием окислительного стресса в роговице. Концентрация ТБК-реактивных продуктов повышалась с 1-х суток патологии, достигая максимума к 7-м суткам, при этом в 2,5 раза ($p<0,05$) превышая показатели нормы. Далее она постепенно снижалась и к 28 суткам достоверно не отличалась от значений у интактных животных (табл. 1).

Содержание карбонильных производных белков также повышалось на 3, 5, 7 и 14-е сутки после моделирования ожога на 8,54, 29,55, 20,16 и 28,58% соответственно, статистически достоверно превосходя значения нормы, а затем оно снижалось, и на 21-е и 28-е сутки становилось даже ниже значений у интактных животных на 6,99 и 37,03% ($p<0,05$) соответственно.

Отмечалось снижение активности антиоксидантных ферментов в роговице. Активность СОД уменьшалась на всех сроках наблюдения с минимальными значениями на 7-е сутки – на 46,79% ($p<0,05$) ниже значений нормы. Также значительно снижалась активность глутатионпероксидазы на 5, 7 и 14-е сутки на 25,46, 25,21 и 39,46% по сравнению с нормой соответственно ($p<0,05$).

Уровень провоспалительного цитокина ФНО-1 α достигал максимальных значений уже на 1-е сутки развития ожога и сохранялся повышенным к 28-м суткам эксперимента. Содержание противовоспалительного цитокина ИЛ-10 также увеличивалось с 1-го дня ожоговой травмы, достигая пика на 3-и сутки – в 2 раза превышая значения у интактных животных. При этом показатели данного



Рис. 1. Динамика клинической картины щелочного ожога в контрольной группе

Fig. 1. Dynamics of the clinical picture of alkaline burns in the control group



Рис. 2. Динамика клинической картины щелочного ожога в основной группе

Fig. 2. Dynamics of clinical picture of alkali burn in the main group

Таблица 1

Влияние лактоферрина на выраженность окислительного стресса при щелочном ожоге роговицы (ME [Q1; Q3])

Table 1

Effect of lactoferrin on the severity of oxidative stress in alkaline corneal burn (ME [Q1; Q3])

Исучаемый показатель Parameter	Серии эксперимента Experimental series	Норма Norm	Сутки эксперимента Day of experiment						
			1	3	5	7	14	21	28
ТБК-реактивные продукты, нмоль/мг белка TBARS, nmol/mg of protein	Контроль Control	2,29 [2,18-2,35]	3,08 [2,79; 3,39]*	5,495 [5,39; 5,92]*	5,695 [5,49; 5,91]*	5,79 [5,73; 6,00]*	5,695 [5,49; 5,91]*	3,64 [3,41; 4,46]*	2,47 [2,41; 2,485]
	Лактоферрин Lactoferrin		2,86 [2,31; 3,01]	3,46 [3,04; 3,87]*#	4,53 [4,37; 4,6]*#	4,87 [4,54; 5,09]*	5,02 [4,7; 5,3]*#	3,81 [3,54; 3,95]*	2,03 [1,81; 2,23]
Карбонилы, нмоль/мг белка Carbonyls, nmol/mg of protein	Контроль Control	3,16 [2,93; 3,2]	2,6 [2,54; 2,7]*	3,43 [3,39; 3,6]*	4,0937 [4,21; 4,32]*	3,797 [3,664; 4,23]*	4,063 [3,919; 4,143]*	2,939 [2,918; 3,078]*	1,99 [1,901; 2,032]*
	Лактоферрин Lactoferrin		5,69 [5,57; 5,71]*#	5,05 [5,0; 5,11]*#	4,06 [3,94; 4,08]*	2,13 [2,08; 2,35]*#	2,03 [2,0; 2,13]*#	2,5 [2,4; 2,63]*#	2,92 [2,76; 2,98]#
СОД, ЕА/мг белка SOD, U/mg of protein	Контроль Control	3,12 [3,07; 3,14]	2,97 [2,81; 3,05]	2,63 [2,54; 2,66]*	1,87 [1,82; 1,91]*	1,66 [1,58; 1,91]*	1,76 [1,7; 1,81]*	2,4 [2,34; 2,45]*	2,25 [2,22; 2,52]*
	Лактоферрин Lactoferrin		3,0 [2,92; 3,13]	2,78 [2,62; 2,99]*	1,81 [1,71; 1,99]*	2,42 [2,37; 2,51]*#	2,5 [2,37; 2,53]*#	2,96 [2,79; 3,12]#	3,14 [3,1; 3,16]#
G-рег, нмоль НАДФН/ мин × мг белка GPx, nmol NADPH/ min × mg of protein	Контроль Control	19,36 [17,88; 23,19]	19,56 [18,16; 21,48]	17,68 [16,07; 20,47]	14,43 [13,16; 15,24]*	14,48 [13,92; 15,13]*	11,72 [10,94; 14,39]*	17,96 [12,88; 21,47]	22,12 [21,41; 22,54]
	Лактоферрин Lactoferrin		23,22 [23,07; 23,39]#	20,12 [19,75; 20,67]	18,32 [16,09; 19,47]#	15,15 [14,19; 17,21]*	16,33 [12,4; 17,76]*	22,67 [19,83; 23,89]*	21,17 [20,74; 22,41]

Примечание: *p<0,05 – статистически значимые различия с показателями нормы; # – статистически значимые различия с показателями контроля.

Note: *p<0,05 – statistically significant changes versus norm; # – statistically significant differences versus control values.

Таблица 2

Влияние лактоферрина на концентрацию цитокинов при щелочном ожоге роговицы (ME [Q1; Q3])

Table 2

Effect of lactoferrin on cytokine concentrations in alkaline corneal burn (ME [Q1; Q3])

Исследуемый показатель Parameter	Серии эксперимента Experimental series	Норма Norm	Сутки эксперимента Day of experiment						
			1	3	5	7	14	21	28
ФНО-1α, пг/мг белка TNF-1 α, pg/mg of protein	Контроль Control	120,19 [109,36-123,73]	240,36 [235,24; 244,88]*	150,65 [148,02; 156,31]*	170,64 [169,23; 172,22]*	169,24 [162,85; 173,62]*	175,75 [173,62; 178,12]*	107,89 [100,26; 116,57]	219,62 [211,59; 233,075]*
	Лактоферрин Lactoferrin		300,07 [297,26; 303,54]**	217,84 [213,72; 225,47]**	180,55 [176,38; 186,56]*	180,72 [171,16; 184,18]**	221,19 [210,35; 229,52]**	219,95 [208,93; 234,47]**	199,43 [190,16; 213,73]*
ИЛ-4, пг/мг белка IL-4, pg/mg of protein	Контроль Control	39,78 [36,65; 41,09]	39,72 [39,45; 40,28]	48,07 [47,33; 48,37]*	47,46 [46,94; 49,395]*	34,92 [34,69; 35,56]*	27,09 [26,65; 27,41]*	38,44 [38,24; 38,83]	38,6 [38,49; 39,05]
	Лактоферрин Lactoferrin		38,61 [37,69; 39,28]	42,29 [39,92; 43,05]#	41,11 [38,44; 42,46]**	37,75 [36,89; 38,45]#	28,17 [27,59; 28,9]*	30,86 [30,41; 32,05]**	33,0 [31,64; 34,42]**
ИЛ; 10, пг/мг белка IL; 10, pg/mg of protein	Контроль Control	6,21 [5,59; 6,3]	7,76 [7,27; 7,89]	12,97 [12,29; 13,59]*	10,55 [9,89; 11,26]	10,3 [10,13; 11,14]*	8,97 [8,63; 9,14]*	8,47 [7,92; 8,63]*	8,016 [7,32; 8,09]*
	Лактоферрин Lactoferrin		12,65 [12,39; 12,71]*	12,73 [11,93; 13,06]*	16,28 [15,98; 16,52]**	10,83 [10,19; 11,21]*	11,53 [11,01; 11,84]**	9,32 [9,26; 9,37]*	7,707 [7,43; 8,31]*
TGF-1β, пг/мг белка TGF-1β, pg/mg of protein	Контроль Control	34,57 [34,21; 36,15]	51,16 [49,14; 51,835]*	54,41 [52,3; 55,04]*	60,87 [60,23; 61,26]*	63,03 [60,79; 65,21]*	45,53 [44,78; 46,91]*	43,77 [43,61; 46,12]*	46,12 [42,88; 47,98]*
	Лактоферрин Lactoferrin		42,67 [41,74; 43,43]**	38,20 [36,17; 38,60]#	44,11 [42,94; 46,29]**	68,5; [68,39; 68,78]**	61,91 [61,36; 62,36]**	53,27 [52,96; 53,56]**	49,32 [48,96; 50,5]**

Примечание: * p<0,05 – статистически значимые различия с показателями нормы; # – статистически значимые различия с показателями контроля.

Note: *p<0,05 – statistically significant changes versus norm; # – statistically significant differences versus control values.

цитокина оставались повышенными до 28 суток. Уровень TGF-1β также существенно увеличивался при щелочном ожоге на протяжении всего эксперимента, максимально превышая значения нормы на 5-е и 7-е сутки – соответственно на 76,08 и 63,03% (p<0,05). Концентрация противовоспалительного цитокина ИЛ-4 повышалась только на 3-и и 5-е сутки на 20,84 и 19,31% соответственно, а затем она снижалась, но на 7-е и 14-е сутки оставаясь все же значительно выше в сравнении с показателями нормы (p<0,05). Полученные результаты свидетельствуют о развитии окислительного стресса и воспалении при моделировании щелочного ожога роговицы (табл. 2).

Применение ЛФ для коррекции свободнорадикальных и воспалительных нарушений приводило к следующим результатам. Он оказывал антиоксидантное действие, о чем свидетельствует меньшее повышение уровня ТБК-реактивных продуктов и карбонильных производных белков по сравнению с показателями контроля на всех сроках наблюдения (табл. 1).

ЛФ также ускорял восстановление активности СОД,

в частности, она снижалась только на 5, 7 и 14-е сутки и далее достоверно от значений нормы не отличалась. На 21-е и 28-е сутки уровень СОД был достоверно выше показателей животных контрольной группы. Кроме того, ЛФ повышал активность G-рег, которая снижалась только на 7-е и 14-е сутки относительно группы интактных животных (табл. 1).

При изучении влияния ЛФ на цитокиновый статус роговицы были получены следующие результаты. Уровень ФНО-1 также достоверно превышал показатели нормы на протяжении всего эксперимента. Более того, на 1, 3, 7, 14 и 21-е сутки он даже превышал показатели, зафиксированные у контрольных животных (табл. 2).

Концентрация ИЛ-10 на фоне применения ЛФ была выше значений интактных животных на всех сроках наблюдения, а на 1, 5, 14-е сутки она достоверно превышала контрольные значения. Концентрация ИЛ-4 на фоне применения ЛФ повышалась на 7-е сутки эксперимента по сравнению с нормой, но уже на 14–28-е сутки была ниже ее. При этом уровень ИЛ-4 был ниже значений кон-

троля на 3, 5, 21 и 28-е сутки, но выше него на 7-е сутки (табл. 2).

Содержание TGF-1 β на фоне лечения ЛФ с 1-х по 28-е сутки было выше показателей нормы. С 1-х по 5-е сутки концентрация данного фактора была ниже показателей контрольной группы, а с 7-х по 28-е сутки – выше их.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что ЛФ повышает уровень провоспалительного цитокина ФНО-1 α и может разнонаправленно влиять на содержание противовоспалительных цитокинов.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании изучено состояние свободнорадикального и иммунологического статуса роговицы при моделировании щелочного ожога роговицы и проведено тестирование возможности коррекции возникших биохимических нарушений с помощью ЛФ.

Было показано, что при моделировании щелочного ожога происходит активация свободнорадикального окисления и развитие окислительного стресса, о чем свидетельствовало повышение уровня ТБК-реактивных продуктов, карбонильных производных белков, снижение активности антиоксидантных ферментов СОД и G-per. Максимальные изменения отмечались на 5–7-е сутки патологии.

В норме повышенная продукция активных форм кислорода (АФК) компенсируется активацией защитных антиоксидантных ферментов, тогда как при ожогах данный баланс нарушается, что приводит к избытку свободных радикалов. Так, установлено, что сразу после воздействия щелочи на ткань роговицы усиливается синтез АФК [15, 16] и снижается экспрессия и активность антиоксидантных ферментов альдегиддегидрогеназы 3A1 в эпителии роговицы, СОД и G-per [17, 18].

В нашем исследовании также было показано, что развитие щелочного ожога роговицы сопровождается развитием выраженной воспалительной реакции, которая проявлялась повышением концентрации в ткани роговицы как провоспалительного ФНО-1 α , так и противовоспалительных (ИЛ-4, ИЛ-10, TGF-1 β) цитокинов. Аналогичные результаты были получены и рядом других авторов [19, 20].

Считается, что при повреждении клеточных мембран, высвобождаются различные медиаторы, в том числе ИЛ, хемокины, и инициируется иммунологическая реакция в роговице [21].

В настоящем исследовании для коррекции свободнорадикальных и иммунологических нарушений применялся ЛФ. Терапевтическая эффективность местного применения раствора ЛФ в концентрации 2,5 мг/мл в виде инстилляций по 1 капле 3 раза в день при экспериментальном щелочном ожоге роговицы в настоящем исследовании проявлялась ускорением эпителизации дефекта, профилактикой развития осложнений (перфораций). При этом ЛФ оказывал антиоксидантное действие, влияя на баланс цитокинов. В частности, он повышал уровень провоспалительного цитокина ФНО-1 α , при этом не одинаково влиял на содержание противовоспалительных цитокинов, например, повышал ИЛ-10, снижал ИЛ-4 и разнонаправленно действовал в отношении TGF-1 β .

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в настоящем исследовании было установлено, что развитие щелочного ожога роговицы сопровождается развитием окислительного стресса (повышением уровня ТБК-реактивных продуктов и карбонильных производных белков, снижением активности СОД и G-per), а также выраженной воспалительной реакции – повышением уровня ФНО-1 α , ИЛ-10, TGF-1 β . Применение ЛФ в инстилляциях оказывает выраженный терапевтический эффект, что проявляется ускорением заживления, профилактикой развития осложнений (перфораций роговицы), снижением выраженности окислительного стресса, изменением баланса про- и противовоспалительных цитокинов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Graca M, Sarantopoulos K, Horn DB. Chemical toxic exposures and chronic ocular pain. *Front Toxicol.* 2023;5: 1188152. doi: 10.3389/ftox.2023.1188152
2. Soleimani M, Naderan M. Management Strategies of Ocular Chemical Burns: Current Perspectives. *Clin Ophthalmol.* 2020;14: 2687–2699. doi: 10.2147/OPTH.S235873
3. Ong HS, Riau AK, Yam GH, et al. Mesenchymal Stem Cell Exosomes as Immunomodulatory Therapy for Corneal Scarring. *Int J Mol Sci.* 2023;24(8): 7456. doi: 10.3390/ijms24087456
4. Fagoonee S, Saccu G, Bussolati B. Innovative stem cell-based strategies for corneal wound healing: A step forward. *Mol Ther.* 2023;31(8): 2307–2308. doi: 10.1016/j.yimthe.2023.07.009.
5. Park JH, Kim M, Yim B, Park CY. Nitric oxide attenuated transforming growth factor- β induced myofibroblast differentiation of human keratocytes. *Sci Rep.* 2021;11(1): 8183. doi: 10.1038/s41598-021-87791-x
6. Shahriary A, Sabzevari M, Jadidi K, Yazdani F, Aghamollaei H. The Role of Inflammatory Cytokines in Neovascularization of Chemical Ocular Injury. *Ocul Immunol Inflamm.* 2022;30(5): 1149–1161. doi: 10.1080/09273948.2020.1870148
7. Приходько В.А., Оковитый С.В. Возможности и перспективы антиоксидантной терапии в лечении заболеваний глаз. *Медицинский совет.* 2022;(23): 263–273. [Prikhodko VA, Okovityi SV. Possibilities and prospects for antioxidant therapy in ocular diseases. *Meditinskiy sovet = Medical Council.* 2022;(23): 263–273. (In Russ.)] doi: 10.21518/2079-701X-2022-16-23-263-273
8. Vagge A, Senni C, Bernabei F, Pellegrini M, Scordia V, Traverso CE, Giannaccare G. Therapeutic Effects of Lactoferrin in Ocular Diseases: From Dry Eye Disease to Infections. *Int J Mol Sci.* 2020 Sep 12;21(18): 668. doi: 10.3390/ijms21186668
9. Kruzel ML, Zimecki M, Actor JK. Lactoferrin in a Context of Inflammation-Induced Pathology. *Front Immunol.* 2017;8: 1438. doi: 10.3389/fimmu.2017.01438
10. Janssen H, Hancock RE. Antimicrobial properties of lactoferrin. *Biochimie.* 2009 Jan;91(1): 19–29. doi: 10.1016/j.biochi.2008.05.015
11. Колесников А.В., Немцова Е.Р., Шишкин М.М., Шулькин А.В., Баренина О.И., Кирсанова И.В. Влияние лактоферрина на течение экспериментальной гнойной язвы роговицы. *Офтальмология.* 2023;20(1): 128–135. [Kolesnikov AV, Nemtsova ER, Shishkin MM, Shchul'kin AV, Barenina OI, Kirsanova IV. Lactoferrin Influence on the Course of Suppurative Corneal Ulcer. *Ophthalmology in Russia.* 2023;20(1): 128–135. (In Russ.)] doi: 10.18008/1816-5095-2023-1-128-135

12. Колесников А.В., Баренина О.И., Шулькин А.В., Коноплева В.И. Локальные изменения свободнорадикального статуса роговицы при экспериментальной гнойной язве. Наука молодых (Eruditio Juvenium). 2013;1: 28–32. [Kolesnikov AV, Barenina OI, Shchul'kin AV, Konopleva VI. Lokal'nye izmeneniya svobodnoradikal'nogo statusa rogovicy pri ehkspierimental'noj gnojnoj yazve. Nauka molodykh (Eruditio Juvenium). 2013;1: 28–32. (In Russ.)]
13. Шулькин А.В., Колесников А.В., Баренина О.И., Николаев М.Н., Никифоров А.А. Роль окислительного стресса в патогенезе бактериальной язвы роговицы. Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова. 2013;21(3): 148–152. [Shchul'kin AV, Kolesnikov AV, Barenina OI, Nikolaev MN, Nikiforov AA. Rol' oksitel'nogo stressa v patogeneze bakterial'noj yazvy rogovicy. Rossijskij mediko-biologicheskij vestnik im. akademika I.P. Pavlova. 2013;21(3): 148–152. (In Russ.)] doi: 10.17816/PAV-LOVJ20133148-152
14. Колесников А.В., Немцова Е.Р., Черданцева Т.М., Кирсанова И.В., Кислякова Т.Д. Влияние раствора лактоферрина человека на гистологические изменения роговицы кролика при щелочных ожогах. Казанский медицинский журнал. 2024;105(1): 90–98. [Kolesnikov AV, Nemcova ER, Cherdanceva TM, Kirsanova IV, Kislyakova TD. Vliyanie rastvora laktoferrina cheloveka na gistologicheskie izmeneniya rogovicy krolika pri shchelochnykh ozhogakh. Kazanskij medicinskij zhurnal. 2024;105(1): 90–98. (In Russ.)] doi: 10.17816/KMJ115265
15. Kubota M, Shimmura S, Kubota S, et al. Hydrogen and N-acetyl-L-cysteine rescue oxidative stress-induced angiogenesis in a mouse corneal alkali-burn model. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2011;52(1): 427–433. doi: 10.1167/iovs.10-6167
16. Cejka C, Cejkova J. Oxidative stress to the cornea, changes in corneal optical properties, and advances in treatment of corneal oxidative injuries. Oxid Med Cell Longev. 2015;2015: 591530. doi: 10.1155/2015/591530
17. Salman IA, Kiziltunc A, Baykal O. The effect of alkali burn on corneal glutathione peroxidase activities in rabbits. Turkish journal of medical sciences. 2011;41(3): 483–486. doi: 10.3906/sag-0910-376
18. Arima T, Igarashi T, Uchiyama M, Kobayashi M, Ohsawa I, Shimizu A, Takahashi H. Hydrogen promotes the activation of Cu, Zn superoxide dismutase in a rat corneal alkali-burn model. Int J Ophthalmol. 2020 Aug 18;13(8): 1173–1179. doi: 10.18240/ijo.2020.08.01
19. Ghasemi H, Javadi MA, Ardestani SK, et al. Alteration in inflammatory mediators in seriously eye-injured war veterans, long-term after sulfur mustard exposure. Int Immunopharmacol. 2020;80: 105897. doi: 10.1016/j.intimp.2019.105897
20. Wang Z, Yang Y, Yang H, et al. NF-κB feedback control of JNK1 activation modulates TRPV1-induced increases in IL-6 and IL-8 release by human corneal epithelial cells. Mol Vis. 2011;17: 3137–3146.
21. Дроздова Е.А., Ильинская Е.В. Иммуниет органа зрения. Медицинский вестник Башкортостана. 2016;11(1-

61): 159–162. [Drozdova EA, Il'inskaya EV. Immunitet organa zreniya. Meditsinskii vestnik Bashkortostana. 2016;11(1-61): 159–162. (In Russ.)]

Информация об авторах

Кирсанова Ирина Владимировна, ассистент кафедры глазных болезней ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, kirsanova-iv@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2851-0972>

Мохова Светлана Алексеевна, студентка 6 курса педиатрического факультета ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, svetlanamohova2000@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5502-1648>

Колесников Александр Вячеславович, д.м.н., доцент, заведующий кафедрой глазных болезней ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, kolldoc@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9025-5258>

Шулькин Алексей Владимирович, д.м.н., доцент, профессор кафедры фармакологии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, alekseyshulkin@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1688-0017>

Information about the authors

Irina V. Kirsanova, assistant of the Department of Eye diseases Ryazan State Medical University, kirsanova-iv@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2851-0972>

Svetlana A. Mokhova, 6th year student of the Pediatric Faculty Ryazan State Medical University, svetlanamohova2000@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5502-1648>

Aleksandr V. Kolesnikov, MD, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor Ryazan State Medical University, Head of the Department of Eye diseases Regional Clinical Hospitals names N.A. Semashko, kolldoc@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9025-5258>

Aleksey V. Shchul'kin, MD, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Professor of the Department of Pharmacology Ryazan State Medical University, alekseyshulkin@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1688-0017>

Вклад авторов:

Кирсанова И.В. – сбор, анализ и обработка материала, статистическая обработка данных, написание текста, редактирование.

Мохова С.А. – написание текста, редактирование.

Колесников А.В. – концепция и дизайн работы.

Шулькин А.В. – концепция и дизайн работы, написание текста, окончательное утверждение версии, подлежащей публикации.

Author's contribution:

Kirsanova I.V. – collection, analysis and processing of material, statistical data processing, writing, editing.

Mokhova S.A. – writing text, editing.

Kolesnikov A.V. – the concept and design of the work.

Shchul'kin A.V. – the concept and design of the work, the writing of the text, the final approval of the version to be published.

Финансирование: Авторы не получили финансирование при проведении исследования и написании статьи.

Funding: The authors received no specific funding for this work.

Конфликт интересов: Отсутствует.

Conflicts of Interest: None.

Поступила: 15.05.2024

Переработана: 05.08.2024

Принята к печати: 07.08.2024

Originally received: 15.05.2024

Final revision: 05.08.2024

Accepted: 07.08.2024