

На правах рукописи

Колесников Александр Вячеславович

**СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ПРИ РАЗНЫХ ТИПАХ
ПАТОЛОГИИ ГЛАЗА И СПОСОБЫ ЕГО КОРРЕКЦИИ**

03.01.04 – Биохимия
14.01.07 – Глазные болезни

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Рязань – 2020

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные консультанты:

доктор медицинских наук, профессор
доктор медицинских наук, профессор

Узбеков Марат Галиевич
Шишкин Михаил Михайлович

Официальные оппоненты:

Морозов Сергей Георгиевич, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», директор, заведующий лабораторией общей и перинатальной нейроиммунопатологии

Бурбаева Гульнур Шингожиевна, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр психического здоровья», заведующий лабораторией нейрехимии

Рябцева Алла Алексеевна, доктор медицинских наук, профессор, Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского», руководитель отделения офтальмологии, профессор курса офтальмологии при кафедре хирургии

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «__» _____ 2021 г. в ____ на заседании диссертационного совета Д 208.084.05 при ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, по адресу: 390026, г. Рязань, ул. Высоковольтная, д. 9

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России (390026, г. Рязань, ул. Шевченко, 34, корп. 2) и на сайте www.rzgmu.ru

Автореферат разослан «__» _____ 2021 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат медицинских наук

Короткова Н.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Снижение остроты зрения является одной из наиболее важных и социально значимых проблем медицины. Согласно систематическому обзору и мета-анализу 288 исследований, включающему 3 983 541 участников из 98 стран, в 2015 году число людей со слабым зрением составляло примерно 216,6 млн (от 98,5 до 359,1 млн). Из них 36,0 млн (от 12,9 до 65,4 млн) являлись слепыми (Flaxman S.R. et al., 2017).

Ранее проведенные исследования показали, что в патогенезе наиболее распространенных заболеваний человека, в том числе, патологии глаза, важную роль играют активные формы кислорода (АФК) (Ланкин В.З., Тихазе А.К., 2016; Колесникова Л.И. и др., 2017), взаимодействие которых с эндогенными биополимерами в ходе развития патологического процесса может приводить к гибели клетки по апоптотическому или некротическому механизму (Halliwell V., Gutteridge J.M.C, 2015; Garza-Lombó C. et al., 2020). С другой стороны, было обосновано представление об общебиологической роли АФК, определенное количество которых образуется нейрохимическими и биоэнергетическими системами клетки в нормальных условиях, имеющей существенное значение в различных сторонах жизнедеятельности клетки (Байбурина Г.А., 2016; Halliwell V., Gutteridge J.M.C., 2015).

Возрастная катаракта, как пример типичного дегенеративно-дистрофического патологического процесса занимает одно из ведущих мест в структуре снижения зрения у лиц пожилого возраста. Примерно 52,6 млн (от 18,2 до 109,6 млн) в мире страдают катарактой, при этом 12,6 млн (от 3,4 до 28,7 млн) являются слепыми (Flaxman S.R. et al., 2017). Воспалительные заболевания глаз инфекционной природы также относятся к числу наиболее распространенных патологий человека. В РФ на долю бактериальной язвы роговицы приходится до 47,3% всей воспалительной патологии роговой оболочки (Каспарова Е.А., 2015). Частота инвалидизирующих осложнений язв роговицы в виде развития десцеметоцеле, перфораций, абсцессов роговицы, эндофтальмита и

панофтальмита варьирует от 2,5% до 37,9% (Дроздова Е.А. и др., 2017). Широко распространена офтальмопатология сосудистого генеза, приводящая к необратимым изменениям в сетчатке и инвалидизирующим последствиям. В частности, окклюзия вен сетчатки имеет стандартизированную по возрасту и полу распространенность 5,2 на 1000 населения (или 16,4 млн человек), из них 4,4 на 1000 (13,9 млн человек) окклюзия региональных вен, а 0,8 на 1000 (2,5 млн) – центральных (Ho M. et al., 2016). В то же время применяемые в настоящее время средства нейропротекции малоэффективны. В литературе описана активация свободнорадикального окисления при развитии катаракты (Zhao W.J., Yan Y.B., 2018), гнойной язвы роговицы (Crupi R. et al., 2019) и нарушениях кровоснабжения в сосудах сетчатки (Chen K.H. et al., 2019). Однако, целесообразность использования антиоксидантов при данных патологиях не доказана, методология их применения не разработана. Имеются лишь отдельные, несистематизированные работы по применению преимущественно природных антиоксидантов (витамин Е, витамин С, каротиноиды) (Neha K. et al., 2019).

В связи с вышесказанным актуальной и практически значимой проблемой современной биохимии и офтальмологии является детальное изучение состояния оксидантной и антиоксидантной систем глаза при катаракте, гнойной язве роговицы и нарушении кровоснабжения сетчатки, а также разработка подходов для дифференцированного назначения антиоксидантов при данных патологиях.

Степень разработанности проблемы

Свободнорадикальное окисление и гиперпродукция АФК играют важную роль в патогенезе катаракты (Zhao W.J., Yan Y.B., 2018), гнойной язвы роговицы (Crupi R. et al., 2019) и нарушений кровоснабжения сетчатки (Chen K.H. et al., 2019). Однако, единичные исследования были посвящены оценке влияния антиоксидантов на течение данных патологий.

Показано, что розмариновая кислота (сложный эфир кофейной кислоты и 3,4-дигидроксифениллактовой кислоты) (Tsai C.F. et al., 2019), бетаин (N, N, N-

триметилглицин) (Duman R. et al., 2019) и ресвератрол (Singh A., Bodakhe S.H., 2020) замедляли прогрессирование экспериментальной катаракты.

Супероксиддисмутаза ускоряла заживление повреждения роговицы, вызванное аппликацией 1н раствора гидроксида натрия, но ухудшала течение гнойной язвы, вызванной *Staphylococcus aureus* (Alio J.L. et al., 1995), а антиоксидант винкамин при экспериментальном кератите, вызванном липополисахаридами на эпителиальных клетках роговицы человека (HCECs), повышал жизнеспособность клеток (Wu L. et al., 2018).

В ряде исследований продемонстрирована эффективность антиоксидантов, таких как витамин Е (Celebi S. et al., 2002), аскорбиновая кислота (Kuriyama H. et al., 2001) и хелатор железа дефероксамин (Gehlbach P., Purple R.L., 1994) для защиты сетчатки от ишемического-реперфузионного повреждения.

На кафедре глазных болезней ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России в течение многих лет изучаются свободнорадикальные процессы при разных типах офтальмологической патологии и разрабатываются способы их фармакологической коррекции (Колесников А.В. и др., 2011, 2012, 2013, 2014). В совместных работах с кафедрой фармакологии с курсом фармации ФДПО ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России и ФГБНУ НИИ пчеловодства протестирована антиоксидантная активность продуктов пчеловодства (маточное молочко, прополис, перга, мёд), растительных экстрактов (экстракты из смолёвки поникшей и смолевки татарской), а также некоторых синтетических веществ (ацетилцистеин, витамин-Е, убихинон). Показано, что при разных типах офтальмологической патологии окислительный стресс имеет свои особенности, а также установлено, что разные лекарственные средства влияют на разные этапы свободнорадикального окисления. На основании полученных данных высказано предположение, что назначение антиоксидантов должно быть дифференцированным в зависимости от типа патологии и от характеристик лекарственного средства. Экспериментальному подтверждению данной гипотезы и посвящена диссертационная работа.

Цель исследования – изучить в эксперименте активность и характер свободнорадикального окисления при развитии типичных патологических процессов – дегенеративно-дистрофического, воспалительного и дисциркуляторного – на моделях заболеваний глаза – катаракты, гнойной язвы роговицы, острой окклюзии сосудов сетчатки – с разработкой обоснованной тактики применения разных видов антиоксидантных соединений в соответствии с особенностями патогенеза изучаемых патологий.

Задачи исследования

1. В эксперименте на здоровых кроликах определить эффективную и безопасную антиоксидантную дозу для ткани хрусталика 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенола при инстилляции его раствора в конъюнктивальную полость.
2. Изучить активность свободнорадикального окисления и состояние антиоксидантной защиты в ткани хрусталика при экспериментальной дикват дибромид индуцированной катаракте.
3. Комплексно изучить биологические эффекты 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенола биохимическими, клиническими и морфологическими методами с оценкой свободнорадикального статуса хрусталика и терапевтического потенциала соединения при экспериментальной катаракте.
4. Исследовать активность свободнорадикального окисления и состояние антиоксидантной защиты в ткани роговицы при экспериментальной гнойной язве роговицы.
5. Комплексно изучить биологические эффекты местного применения разных доз лактоферрина при инстилляции его раствора в конъюнктивальную полость биохимическими, микробиологическими, клиническими и морфологическими методами с оценкой свободнорадикального статуса роговицы и терапевтического потенциала белка при экспериментальной гнойной язве роговицы.
6. Оценить биохимическую и терапевтическую эффективность совместного применения лактоферрина и синтетического противомикробного препарата ципрофлоксацина при экспериментальной гнойной язве роговицы.

7. Изучить активность свободнорадикального окисления, состояние антиоксидантной защиты и изменения аминокислотного статуса в ткани сетчатки при остром экспериментальном тромбозе магистральных сосудов сетчатки.

8. Комплексно изучить биологические эффекты этилового эфира N-фенилацетил-L-пролилглицина биохимическими, электрофизиологическими, клиническими и морфологическими методами с оценкой свободнорадикального статуса, аминокислотного состава сетчатки и терапевтического потенциала соединения при остром экспериментальном тромбозе магистральных сосудов сетчатки.

Методология исследования

Исследование выполнено на половозрелых кроликах самцах породы Шиншилла. Экспериментальную катаракту моделировали по методу К.С. Вhуан et al. (1991) в собственной модификации введением диквата дибромида в стекловидное тело (рацпредложение «Модификация свободно-радикальной модели катаракты» №1209 от 3.10.2006 г.). Экспериментальную гнойную язву роговицы моделировали по методике Н.А. Адамовой (1990). Для этого в сформированный трепаном дефект роговицы втирали чистую культуру золотистого стафилококка. Тромбоз сосудов сетчатки моделировали внутривенным введением фотосенсибилизатора бенгальского розового с последующим фокальным освещением белым светом височной сосудистой аркады в месте перегиба сосудов через край диска зрительного нерва (рацпредложение **Колесников, А.В.** «Способ моделирования экспериментальной ишемии сетчатки» №1305 от 27.12.2010 г.)

Выраженность окислительного стресса оценивали по концентрации малонового диальдегида (МДА), уровню безбелковых тиоловых групп (GSH), активности глутатионпероксидазы (GPx), глутатион-S-трансферазы (GT), супероксиддисмутазы (SOD) в хрусталике, роговице или сетчатке в зависимости от экспериментальной модели.

Для оценки эффективности проводимой терапии дополнительно выполняли клинические, морфологические, микробиологические и электрофизиологические исследования.

План исследования был рассмотрен и одобрен локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, протокол №12 08.04.2016 г.

Апробация результатов

Основные положения диссертации доложены, обсуждены и опубликованы в материалах: Научно-практической конференции молодых учёных, посвящённой 60-летию РГМУ (Рязань, 2004); 9-й международной школы-конференции молодых учёных «Биология – наука XXI века» (Пушино, 2005); XIII Российского Национального Конгресса «Человек и Лекарство» (Москва, 2006); Всероссийской научной конференции молодых учёных «Актуальные проблемы офтальмологии» (Москва, 2006); Всероссийской конференции, посвящённой 105-летию со дня рождения Т.И. Ерошевского (Самара, 2007); Всероссийской юбилейной научно-практической конференции «Фёдоровские чтения – 2007» (Москва, 2007); Российского общенационального офтальмологического форума (Москва, 2009); Международной научно-практической конференции по офтальмохирургии «Восток-Запад» (Уфа, 2010); III Российского общенационального офтальмологического форума (Москва, 2010); VI Международной Крымской конференции «Окислительный стресс и свободнорадикальные патологии» (Судак, Крым, Украина, 2010); Конференции по офтальмохирургии с международным участием «Восток-Запад» (Уфа, 2011); VI Всероссийской научной конференции молодых учёных с участием иностранных специалистов «Актуальные проблемы офтальмологии» (Москва, 2011); IV Всероссийского Общенационального офтальмологического форума (Москва, 2011); Всероссийской научно-практической конференции «Биохимические научные чтения памяти академика РАН Е.А. Строева» (Рязань, 2012); Научно-практической конференции по офтальмологии с международным участием «Федоровские чтения-2012» (Москва, 2012); Научно-практической конференции по офтальмологии с международным участием «Восток-Запад»

(Уфа, 2012); Научно-практической конференции с международным участием «V Российский общенациональный офтальмологический форум» (Москва, 2012); III Всероссийского научного конгресса с международным участием «Роль и место фармакотерапии в современной офтальмологической практике» (Санкт-Петербург, 2012); Научно-практической конференции с международным участием «VI Всероссийский общенациональный офтальмологический форум» (Москва, 2013); Международной научно-практической конференции «Свободные радикалы и антиоксиданты в химии, биологии и медицине» (Новосибирск, 2013); IX Международной Крымской конференции «Окислительный стресс и свободнорадикальные патологии» (Судак, Крым, Украина, 2013); Первой Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Проблемы разработки новых лекарственных средств» (Москва, 2013); IX Всероссийской научной конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы офтальмологии» (Москва, 2014); Пироговского офтальмологического форума (Москва, 2018); Пироговского офтальмологического форума с международным участием (Москва, 2019).

Апробация работы состоялась 16 ноября 2020 года на заседании кафедр биологической химии с курсом клинической лабораторной диагностики ФДПО, глазных болезней, нормальной физиологии с курсом нейрофизиологии, фармакологии с курсом фармации ФДПО, патофизиологии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

Работа поддержана грантом Президента Российской Федерации №МК-4993.2012.7

Личный вклад автора

Автором диссертационной работы выдвинута идея работы, разработан дизайн исследования, подготовлен аналитический обзор литературы, составлена программа исследования, проведены эксперименты с животными, выполнены биохимические, электрофизиологические исследования, собран материал для гистологического исследования, выполнена обработка и интерпретация

полученных данных, подготовлены публикации по диссертационной работе. В целом его личный вклад в исследование превышает 85%.

Положения, выносимые на защиту

1. Инстилляции в конъюнктивальную полость глаз здоровых кроликов 22% и 10% растворов 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенола оказывают прооксидантное действие, в то же время концентрации 2,2% и 0,22% проявляют антиоксидантную активность.

2. Моделирование прогрессирующей корковой катаракты при помощи однократного введения в стекловидное тело глаза кролика диквата дибромида приводит к активации свободнорадикального окисления, истощению антиоксидантного потенциала в ткани хрусталика и формированию типичной клинической и патоморфологической картины корковой катаракты. Инстилляции в конъюнктивальную полость глаз кроликов 2,2% и 0,22% растворов 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенола оказывают выраженное антиоксидантное и антикатарактальное действие, существенно превосходящее эффект от использования препаратов сравнения – «Офтан Катахрома» и α -токоферола ацетатата.

3. Моделирование экспериментальной гнойной язвы роговицы с использованием культуры золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* (АТСС 25923) сопровождается активацией свободнорадикального окисления и истощением антиоксидантного потенциала в ткани роговицы, формированием типичной клинической и патоморфологической картины острого гнойного воспаления роговицы.

4. Растворы лактоферрина в концентрациях от 0,5 до 5 мг/мл проявляют дозозависимое антиоксидантное действие и антимикробную активность, ускоряют заживление дефекта и предотвращают развитие осложнений. В то же время растворы в концентрациях 1,5 - 5 мг/мл нарушают последовательность развития этапов воспаления, а растворы всех изученных концентраций на этапе рубцевания способствуют чрезмерному развитию соединительной ткани. При этом наилучший биологический эффект при гнойной

язве роговицы в составе комплексной терапии с ципрофлоксацином дает лактоферрин в концентрации 0,5 мг/мл при инстилляции в конъюнктивальную полость в течение 14 дней – до момента окончания формирования полноценного слоя эпителия на дне язвы, то есть до начала формирования рубца.

5. Острая окклюзия магистральных ретинальных сосудов, вызванная интравенозным введением бенгальского розового и фокальным освещением сосудов сетчатки белым светом, сопровождается развитием каскада биохимических изменений в ткани сетчатки – активацией свободнорадикального окисления, истощением антиоксидантного потенциала, метаболической дисфункцией нейронов, накоплением глутамата, формированием типичной клинической, патоморфологической и электрофизиологической картиной. При этом внутривенное введение этилового эфира N-фенилацетил-L-пролилглицина в дозе 0,5 мг/кг массы, с последующим его внутрижелудочным введением в дозе 10 мг/кг массы три раза в день снижает выраженность окислительного стресса, улучшает функциональное состояние нейронов, нормализует концентрацию глутамата, аспартата, ГАМК и глицина и уменьшает патологические морфологические изменения сетчатки.

6. Экспериментально доказано дифференцированное, патогенетически обоснованное применение с терапевтической целью веществ с антиоксидантной активностью в зависимости от типа офтальмологической патологии (дегенеративно-дистрофическая, воспалительная или дисциркуляторная).

Научная новизна

1. Выявлена эффективная и безопасная для ткани хрусталика антиоксидантная доза 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенола при инстилляции в конъюнктивальную полость в эксперименте на здоровых кроликах.

2. Показан патологический характер повышения активности свободнорадикального окисления в ткани хрусталика при развитии экспериментальной дикват дибромид индуцированной катаракты по результатам сопоставления формирования морфологических признаков развития

заболевания с изменениями показателей свободнорадикального статуса изучаемой ткани.

3. Доказана антиоксидантная и терапевтическая эффективность местного применения 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенола в концентрациях 0,22% и 2,2% при экспериментальной дикват дибромид индуцированной катаракте, превосходящая препараты сравнения – «Офтан Катахром» и масляный раствор α -токоферола ацетата.

4. Показан патологический характер повышения активности свободнорадикального окисления в ткани роговицы при моделировании экспериментальной стафилококковой гнойной язвы роговицы по результатам сопоставления формирования морфологических признаков развития заболевания с изменениями показателей свободнорадикального статуса изучаемой ткани.

5. Установлено в ткани роговицы дозозависимое антиоксидантное действие, антимикробная и репаративная активность местного применения водного раствора лактоферрина при экспериментальной гнойной язве роговицы.

6. Разработана оптимальная схема местного применения водного раствора лактоферрина в комбинации с ципрофлоксацином при экспериментальной гнойной язве роговицы, заключающаяся в инстилляциях в конъюнктивальную полость по 2 капли 4 раза в день раствора в концентрации 0,5 мг/мл до момента окончания формирования полноценного слоя эпителия на дне язвы.

7. Разработана экспериментальная модель острой окклюзии (интравазального тромбоза) магистральных ретинальных сосудов, заключающаяся во внутривенном введении бенгальского розового и последующем фокальном освещении сосудов сетчатки белым светом и воспроизводящая основные звенья патогенеза данной патологии: метаболическую дисфункцию нейронов сетчатки, накопление глутамата и развитие окислительного стресса.

8. Показан патологический характер повышения активности свободнорадикального окисления в ткани сетчатки при полученной экспериментальной модели острой окклюзии магистральных ретинальных сосудов по результатам сопоставления формирования морфологических признаков развития заболевания, электрофизиологических изменений, аминокислотного дисбаланса с изменениями показателей свободнорадикального статуса изучаемой ткани.

9. Доказано, что применение этилового эфира N-фенилацетил-L-пролилглицина при экспериментальном тромбозе сосудов сетчатки оказывает антиоксидантное действие, улучшает функциональное состояние нейронов, нормализует концентрацию глутамата, аспартата, ГАМК и глицина, обладает протекторным эффектом в отношении гистологической структуры сетчатки.

Теоретическая и практическая значимость работы

В работе изучена активность и установлен патологический характер окислительного стресса при разных видах патологии глаза: катаракте, гнойной язве роговицы и тромбозе сосудов сетчатки.

На основании полученных результатов и особенностей патогенеза данных патологий для коррекции окислительного стресса и достижения высокого терапевтического результата подобраны вещества в эффективных и безопасных дозах, обладающие антиоксидантной активностью.

Экспериментально доказана антиоксидантная и терапевтическая эффективность применения 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенола при терапии дикват дибромид индуцированной катаракты, лактоферрина – при стафилококковой гнойной язве роговицы, этилового эфира N-фенилацетил-L-пролилглицина – при тромбозе сосудов сетчатки. Стоит отметить, что протестированные вещества по биологическим эффектам не уступали препаратам сравнения (лактоферрин – ципрофлоксацину) или даже их превосходили (2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенол – «Офтан Катахром» и α -токоферола ацетат; этиловый эфир N-фенилацетил-L-пролилглицина – пирацетам).

Полученные результаты позволяют рекомендовать изученные соединения (2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенол, лактоферрин и этиловый эфир N-фенилацетил-L-пролилглицина) для разработки лекарственных препаратов и тестирования в клинической практике в комплексной терапии катаракты, гнойной язвы роговицы и тромбоза сосудов сетчатки соответственно.

Внедрение результатов исследования в практику

Основные положения работы используются в учебном процессе при обучении студентов, клинических ординаторов на кафедре глазных болезней, фармакологии с курсом фармации ФДПО, биологической химии с курсом клинико-лабораторной диагностики ФДПО ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

Связь задач исследования с основным планом научно-исследовательских работ университета

Диссертационная работа выполнена в соответствии с тематическим планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

Сведения о публикациях по теме диссертации

Соискатель имеет 170 опубликованных работ, из них по теме диссертации 66 печатных работ, в том числе 14 – в журналах, включенных Высшей аттестационной комиссией при Минобрнауки России в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций, из них 5 – в журналах, входящих в международные цитатно-аналитические базы данных. По теме диссертации оформлено 3 рацпредложения, получено 2 патента на изобретение Российской Федерации.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 246 страницах и состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы (глава 1), материалы и методы исследования (глава 2), результаты исследования (глава 3), обсуждение полученных результатов (глава 4), заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, перечень сокращений и условных обозначений, список литературы.

Диссертация иллюстрирована 59 рисунками и 25 таблицами. Список литературы включает 86 источников отечественной и 192 – зарубежной литературы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В качестве тест-системы в исследованиях использовали 431 кролика самца породы Шиншилла, массой 3500-4000 г, в возрасте 10-13 месяцев. Работу с животными проводили в соответствии с международными правилами (Директива 86/609/ЕЕС) и правилами надлежащей лабораторной практики (приказ МЗ РФ №199н от 01.04.16).

Исследование выполнялось в три этапа: изучение влияния ионола на развитие экспериментальной катаракты, оценка эффективности лактоферрина в комплексной терапии экспериментальной гнойной язвы роговицы, возможность применения ноопепта в терапии экспериментального тромбоза сосудов сетчатки.

Для определения свободнорадикального статуса исследуемых тканей оценивали концентрацию МДА (Гаврилова В.Б., Гаврилова А.Р., Мазул Л.М., 1987), содержание GSH (Ellman G.L., 1959), активность GPx (Ланкин В.З., Гуревич С.М., 1976; Paglia D.E., Valentine W.N., 1967), GT (Keen J.N., Iakoby W.V., 1978) и SOD (Костюк В.А. и др., 1990).

Для оценки состояния структур переднего отрезка глаза – роговицы и хрусталика, использовали фокальное освещение (лампа накаливания 100 Вт, собирающая линза 20D), метод осмотра в проходящем свете (прямой офтальмоскоп) и биомикроскопию (щелевая лампа ЩЛ-2Б). Для оценки структур глазного дна применяли метод непрямой бинокулярной офтальмоскопии (офтальмоскоп Neitz Ю-α, линзы 14D и 20D).

Электрофизиологические исследования (ЭФИ) проводились на приборе Нейрософт (Россия). Исследование выполнялось в темном помещении после 20 минутной темновой адаптации. Частота стимуляции составила 1Гц, тип стимуляции – вспышка света, усиление 100 мВ (Gjörloff K. et al., 2004).

Бактериологические исследования производили соскоба со дна язвенного

дефекта бактериологической петлей, который в дальнейшем помещался в пробирку с 0,5 мл 0,9% раствора хлорида натрия. 0,1 мл полученного раствора переносился на чашку Петри с желточно-солевым агаром и тщательно растирался шпателем. Инкубирование проводили при 37 °С 48 часов.

Для оценки площади язвенного дефекта его окрашивали 1% раствором флюоресцеина, затем рассчитывали отношение окрашенной площади к площади дефекта формируемого первоначально трепаном. Глаза кроликов фотографировали цифровой камерой Canon Power Shot G5. Анализ осуществляли с использованием программы Adobe Photoshop CS 2.0.

Объектами морфологического изучения были хрусталик (катаракта), роговица (гнояная язва роговицы) и сетчатка (тромбоз ретинальных сосудов). Хрусталик фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина и заливали в целлоидин по модифицированному нами методу (рацпредложение №1133 от 02.04.2003 «Модификация обработки и заливки хрусталика глаза в целлоидин»). Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Роговицу иссекали с участком склеры в 1 мм от лимба. Образцы роговицы фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Для гистологического исследования сетчатки глазное яблоко фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина и заливали в парафин. Для визуализации структур сетчатки использовали полихромное окрашивание. Микропрепараты фотографировали с помощью цифровой камеры ЛОМО ТС-500 (Россия).

В рамках выполнения **первого этапа** исследования экспериментальные животные были рандомизированы на следующие группы и серии:

Первая группа – подбор эффективной и безопасной дозы ионола, включала пять серий опытов, по 5 кроликов (10 глаз) в каждой серии: *первая серия* – интактные кролики (норма, n=10); *вторая серия* – инстилляций растворителя (контроль) – стерильного рафинированного оливкового масла (n=10); *третья серия* – инстилляций 22% масляного раствора ионола («Sigma», Германия) (n=10); *четвертая серия* – инстилляций 10% масляного раствора ионола (n=10);

пятая серия – инстилляцией 2,2% масляного раствора ионола (n=10); *шестая серия* – инстилляцией 0,22% масляного раствора ионола (n=10). Тестируемые растворы инстиллировали в оба глаза 3 раза в день в течение 30 суток. В конце исследования животных выводили из эксперимента передозировкой золетила («Золетил 100», Virbac С.А., Франция), для биохимических исследований забирали хрусталик.

Вторая группа – изучение влияния ионола на развитие экспериментальной катаракты, включала пять серий опытов: *первая серия* – контроль патологии – животные, у которых моделировали катаракту и инстиллировали в конъюнктивальную полость стерильное рафинированное оливковое масло (n=30); *вторая серия* – стандартное лечение – инстилляцией раствора «Офтан Катахрома» («Santen OY», Финляндия) (n=24); *третья серия* – стандартное лечение – инстилляцией 10% масляного раствора α -токоферола ацетата (ООО «Фармамед», Россия) (n=24); *четвертая серия* – инстилляцией 0,22% масляного раствора ионола (n=24); *пятая серия* – инстилляцией 2,2% масляного раствора ионола (n=24). Исследуемые вещества инстиллировали в конъюнктивальную полость обоих глаз 3 раза в день с 7 суток от момента индукции катарактогенеза и проводили до конца эксперимента. Животных выводили из эксперимента для проведения биохимического анализа хрусталика на 7 (только контрольная серия), 14, 28, 42 и 56 сутки. На каждый срок изучали 3 животных (6 глаз).

Экспериментальную катаракту моделировали по методу К.С. Вhuyan et al. в собственной модификации (рацпредложение «Модификация свободно-радикальной модели катаракты» №1209 от 3.10.2006 г.) (Вhuyan К.С. et al., 1991) путём однократного интравитреального введения стерильного раствора диквата дибромида в физиологическом растворе в дозе 600 нмоль в объеме 30 мкл.

Для оценки степени помутнения хрусталика использовали фокальное освещение, метод осмотра в проходящем свете и биомикроскопия.

В конце исследования животных выводили из эксперимента. Выполняли биохимическое (определяли концентрацию МДА, уровень GSH, активность GPx и GT) и гистологическое исследование хрусталика.

В ходе выполнения **второго этапа** исследования оценивалось влияние лактоферрина на течение экспериментальной гнойной язвы роговицы. Кролики были рандомизированы на 9 групп: **1 группа** – интактные кролики (норма, n=6); **2 группа** – контроль патологии – животные, у которых моделировали экспериментальную гнойную язву роговицы и инстиллировали в конъюнктивальную полость физиологический раствор (n=48); **3 группа** – стандартное лечение – инстилляция 0,3% раствора ципрофлоксацина («Ципролет», «Д-р Редди'с Лабораторис Лтд», Индия) животным на фоне экспериментальной гнойной язвы роговицы (n=48); **4, 5, 6 и 7 группы** – инстилляции раствора лактоферрина («лактофтал», ООО «НТфарма», Россия) 0,5, 1,5, 2,5 и 5 мг/мл соответственно животным на фоне экспериментальной гнойной язвы роговицы (n=36 – в каждой группе); **8 группа** – животные, которым к стандартной терапии ципрофлоксацином прибавляли инстилляцию раствора (0,5 мг/мл) лактоферрина (n=48); **9 группа** – животные, которым к стандартной терапии ципрофлоксацином прибавляли инстилляцию раствора (0,5 мг/мл) лактоферрина, но вводили его только в течение 14 дней (n=12). Лактоферрин разводили в физиологическом растворе и инстиллировали в конъюнктивальную полость по две капли четыре раза в день.

Вторая, третья и восьмая группы – включали в себя 8 серий опытов – 1, 2, 3, 5, 7, 14, 21 и 28 сутки эксперимента (или 2, 3, 4, 6, 8, 15, 22, 29 сутки после внесения бактериальной культуры). **Четвертая, пятая, шестая и седьмая группы** – состояли из 6 серий опытов – 1, 3, 5, 7, 14 и 21 сутки эксперимента (или 2, 4, 6, 8, 15, 22 сутки после внесения бактериальной культуры). **Девятая группа** была представлена двумя сериями – 21 и 28 сутки эксперимента (или 22 и 29 сутки после внесения бактериальной культуры).

Гнойную язву роговицы моделировали по методике Н.А. Адамовой (1990). После инстилляционной анестезии 0,5% раствором проксиметакаина («Алкаин», «Alcon-Souvenir N.V.S.A», Бельгия) в центральных отделах роговицы трепаном 5 мм наносили насечку на глубину 150 мкм, роговицу расслаивал и отсепарованные слои удалялись. В полученный дефект втирали одну

стандартную петлю (10^7 - 10^8 КОЕ) чистой культуры золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

С целью оценки эффективности проводимой фармакотерапии гнойной язвы роговицы проводили бактериологический посев соскоба со дна язвенного дефекта, определение площади язвенного дефекта, гистологическое исследование в проекции язвенного дефекта, оценивали выраженности окислительного стресса (концентрация МДА, уровень GSH, активность SOD, GPx, GT) в ткани роговицы.

В ходе выполнения **третьего этапа** исследования изучалось влияние этилового эфира N-фенилацетил-L-пролилглицина (ноопепта) на течение экспериментального тромбоза сосудов сетчатки. На данном этапе животные были рандомизированы на три группы.

Первая группа – изучение влияния ноопепта на выраженность окислительного стресса при экспериментальном тромбозе сосудов сетчатки, включала четыре серии: *первая серия* – интактные животные (норма, n=6); *вторая серия* – контроль патологии – животные, у которых моделировали тромбоз сосудов сетчатки и вводили воду для инъекций (n=42); *третья серия* – стандартное лечение – введение пираретама животным на фоне экспериментального тромбоза (n=42); *четвертая серия* – введение ноопепта на фоне экспериментальной патологии (n=42). Животные выводились из эксперимента через 1, 3, 6 ч, 1, 3, 7 и 14 суток после развития тромбоза сосудов сетчатки. На каждую временную точку приходилось по 3 кролика, то есть 6 глаз (n=6).

Вторая группа – изучение влияния ноопепта на гистологическое строение сетчатки при экспериментальном тромбозе ее сосудов, включала четыре серии: *первая серия* – интактные животные (норма, n=6); *вторая серия* – контроль патологии – животные, у которых моделировали тромбоз сосудов сетчатки и вводили воду для инъекций (n=36); *третья серия* – стандартное лечение – введение пираретама животным на фоне экспериментального тромбоза (n=36); *четвертая серия* – введение ноопепта на фоне экспериментальной патологии

(n=36). Животные, выводились из эксперимента через 1, 3, 7, 14, 28 и 84 сутки после развития тромбоза сосудов сетчатки. На каждую временную точку приходилось по 3 кролика, то есть 6 глаз (n=6).

Третья группа изучение влияния ноопепта на аминокислотный состав сетчатки при экспериментальном тромбозе ее сосудов, включала три серии: *первая серия* – интактные животные (норма, n=9); *вторая серия* – контроль патологии – животные, у которых моделировали тромбоз сосудов сетчатки и вводили воду для инъекций. Кролики выводились из эксперимента через 6 ч (n=14), 12 ч (n=11), 1 день (n=5), 3 дня (n=6), 5–7 дней (n=14) и 14 дней (n=10) после моделирования патологии; *третья серия* – введение ноопепта на фоне экспериментального тромбоза сосудов сетчатки. Кроликов выводили из эксперимента через 6 ч (n=8), 12 ч (n=8), 1 день (n=8), 3 дня (n=8), 5–7 дней (n=15) и 14 дней (n=8) после моделирования патологии.

Ноопепт во всех группах вводили в виде субстанции (НИИ фармакологии имени В.В. Закусова), растворённой в воде для инъекций, сразу после моделирования тромбоза сосудов сетчатки в дозе 0,5 мг/кг массы внутривенно, а затем три раза в день внутрижелудочно в дозе 10 мг/кг массы («Ноопепт», АО «Отисифарм», Россия) (Коваленко Л.П. и др., 2002) на протяжении всего эксперимента. Пирацетам (ЗАО «Фармацевтический завод ЭГИС», Венгрия) вводили сразу после моделирования тромбоза сосудов сетчатки в дозе 2000 мг/кг массы внутривенно (Simonis A. et al., 1988), а затем три раза в день внутрижелудочно в дозе 250 мг/кг массы (Vernon M.W. et al., 1991).

Тромбоз сосудов сетчатки моделировали с использованием фотосенсибилизирующего красителя бенгальского розового («Sigma», США) (λ индукции 560 нм). Краситель вводили в ушную вену в дозе 40 мг/кг массы, после чего транспупиллярно проводили фокальное освещение белым светом височной сосудистой аркады в месте перегиба сосудов через край диска зрительного нерва с помощью бинокулярного офтальмоскопа и лупы + 14,0 D.

У животных всех групп во все сроки эксперимента проводили бинокулярную офтальмоскопию и электроретинографию. Для оценки

антиоксидантного статуса сетчатки определяли концентрацию МДА, уровень GSH, активность SOD, GPx, GT. Для оценки метаболического статуса нейронов сетчатки определяли содержание Glu, Gly, Tau, Ast, GABA.

Полученные результаты обрабатывали с помощью программы «StatSoft Statistica 13.0» и Microsoft Excel (Реброва О.Ю., 2002). Распределение данных определяли по критерию Шапиро-Уилка. В независимых выборках при нормальном распределении данных статистическую значимость различий оценивали дисперсионным анализом (ANOVA), парные сравнения осуществляли по критерию Ньюмена-Кейлса. При распределении данных, отличном от нормального, статистическую значимость различий оценивали по критерию Крускала-Уоллиса. При наличии статистической значимости, парные сравнения выполняли по критерию Манна–Уитни с поправкой Бонферрони. В связанных выборках при нормальном распределении данных достоверность различий оценивали дисперсионным анализом повторных измерений (ANOVA), парные сравнения выполняли по критерию Ньюмена-Кейлса. При ненормальном распределении достоверность различий оценивали с помощью критерия Фридмана, парные сравнения выполняли по критерию Вилкоксона с поправкой Бонферрони. Данные представлены в виде среднего арифметического и его стандартного отклонения – при нормальном распределении или в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей – при распределении, отличном от нормального.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Биологические эффекты применения 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенола (ионола) при экспериментальной катаракте

Результаты подбора эффективной и безопасной дозы ионола представлены в таблице 1. Введение растворителя (контроль) достоверно не влияло на все изучаемые показатели свободнорадикального окисления. Инстилляцией 22% и 10% раствора ионола приводили к прооксидантному действию, что проявлялось повышением в ткани хрусталика концентрации МДА, снижением уровня GSH и увеличением активности GPx. Напротив, применение 2,2% и 0,22% растворов ионола сопровождалось увеличением содержания GSH и активности GT в ткани

хрусталика, что свидетельствует об увеличении антиоксидантного потенциала ткани хрусталика при использовании данных концентраций. Поэтому для дальнейших экспериментов использовались именно эти концентрации.

Таблица 1 – Выраженность окислительного стресса в ткани хрусталика при применении разных концентраций ионола ($M \pm SD$)

Серии эксперимента	МДА, мкмоль/мг белка	GSH, мкмоль/мг белка	Активность GPx, нмоль НАДФН/мин× мг белка	Активность GT, мкмоль ХДНБ/мин× мг белка
Норма	3,4±0,55	39,41±5,33	6,53±1,37	15,98±1,92
Контроль	3,4±1,6	39,28±3,32	6,43±0,45	15,86±2,44
Ионол 22%	15,1±11,0*	13,25±2,90*	9,60±2,40*	13,43±3,27
Ионол 10%	9,1±5,0*	16,31±4,63*	7,52±0,59*	18,14±0,45
Ионол 2,2%	3,6±2,5	51,04±5,28*	6,26±0,25	27,69±1,25*
Ионол 0,22%	3,6±1,6	53,17±2,86*	6,24±0,38	25,82±0,87*

* - $p < 0,05$ – достоверные различия по сравнению с показателями интактных животных.

Развитие экспериментальной патологии сопровождалось активацией процессов ПОЛ в хрусталике, о чем свидетельствовало повышение концентрации МДА с максимумом изменений на 28 сут, снижением уровня GSH с минимальным значением на 42 сут и уменьшение активности GPx и GT с наибольшими изменениями на 56 сут (табл. 2).

Таблица 2 – Выраженность окислительного стресса в ткани хрусталика при экспериментальной катаракте ($M \pm SD$)

Серии эксперимента	МДА, мкмоль/мг белка	GSH, мкмоль/мг белка	Активность GPx, нмоль НАДФН/мин× мг белка	Активность GT, мкмоль ХДНБ/мин× мг белка
Норма	0,0034±0,00055	39,41±5,33	6,53±1,37	15,98±1,92
7 сутки	0,0199±0,0049*	34,19±4,56	7,51±2,55	17,81±1,07
14 сутки	0,0262±0,0046*	15,62±2,22*	8,07±0,26	13,06±0,88
28 сутки	0,07±0,0091*	3,24±0,43*	5,91±0,16	4,95±1,89*
42 сутки	0,0556±0,007*	1,25±0,16*	2,68±0,30*	3,94±0,76*
56 сутки	0,0283±0,0038*	2,47±0,18*	1,65±0,22*	2,02±0,66*

* - $p < 0,05$ – достоверные различия по сравнению с показателями интактных животных

Инстилляцией «Офтан Катахрома» и раствора α -токоферола ацетата существенно не влияли на концентрацию МДА и активность GT в ткани хрусталика, которые достоверно не отличались от показателей контроля, в то же время активность GPx хрусталика повышалась на 56 сутки. Дополнительно при использовании «Офтан Катахрома» концентрация GSH в хрусталике была достоверно выше показателей контроля на 42 сутки и 56 сутки (табл. 3).

Таблица 3 – Выраженность окислительного стресса в ткани хрусталика при экспериментальной катаракте на фоне лечения «Офтан Катахромом» (ОК) и α -токоферолом ацетата (α ТА) ($M \pm SD$)

Серии эксперимента	МДА, нмоль/мг белка	GSH, мкмоль/мг белка	Активность GPx, нмоль НАДФН/ мин× мг белка	Активность GT, мкмоль ХДНБ/ мин× мг белка
Норма	3,4±0,55	39,41±5,33	6,53±1,37	15,98±1,92
14 сутки ОК	28,7±9,6*	16,33±0,51*	8,19±0,90	13,51±1,01
14 сутки α ТА	28,8±5,9*	15,45 ±1,83*	8,06±0,33	13,02±0,48
28 сутки ОК	69,2±15,5*	4,03±0,20*	5,84±0,25	5,21±0,74*
28 сутки α ТА	64,8±4,6*	2,75±0,31*	5,76±0,26	5,85±0,84*
42 сутки ОК	56,1±2,7*	3,54±0,71*#	3,07±0,28*	4,14±0,41*
42 сутки α ТА	53,9±8,0*	1,46±0,16*	3,3±0,69*	3,95±0,42*
56 сутки ОК	28,2±4,3*	3,51±0,17*#	2,89±0,36*#	2,62±0,78*
56 сутки α ТА	28,0±4,0*	1,3±0,33*	2,15±0,28*#	2,26±0,84*

* - $p < 0,05$ – достоверные различия по сравнению с показателями интактных животных,

- $p < 0,05$ – достоверные различия по сравнению с показателями животных серии контроля катаракты

Применение 2,2% и 0,22% растворов ионола оказывало выраженный антиоксидантный эффект, что проявлялось в снижении концентрации МДА, повышении уровня GSH и активности GPx и GT по сравнению с показателями контроля (табл. 4).

Таблица 4 – Выраженность окислительного стресса в ткани хрусталика при экспериментальной катаракте на фоне лечения 0,22% (И0,22) и 2,2% (И2,2) раствором ионола ($M \pm SD$)

Серии эксперимента	МДА, мкмоль/мг белка	GSH, мкмоль/мг белка	Активность GPx, нмоль НАДФН/ мин× мг белка	Активность GT, мкмоль ХДНБ/ мин× мг белка
Норма	3,4±0,554	39,41±5,33	6,53±1,37	15,98±1,92
14 сутки И0,22	14,2±2,1*#	28,29±2,29*#	8,14±0,33	19,17±1,02#
14 сутки И2,2	8,0±2,8*#	31,72±2,05#	7,05±0,91	25,27±1,16*#
28 сутки И0,22	21,5±2,7*#	26,53±2,08*#	7,82±0,33#	18,03±0,63#
28 сутки И2,2	6,9±2,0*#	31,41±2,18#	6,96±0,31	37,75±3,37*#
42 сутки И0,22	15,1±1,0*#	25,88±2,28*#	7,75±0,27#	18,77±0,93#
42 сутки И2,2	6,6±1,6*#	34,49±2,49#	7,61±0,32#	27,67±0,53*#
56 сутки И0,22	7,7±1,0*#	26,56±2,27*#	5,94±0,53#	18,64±0,83#
56 сутки И2,2	5,6±0,5*#	34,11±2,41#	6,71±1,15#	26,48±2,32*#

* - $p < 0,05$ – достоверные различия по сравнению с показателями интактных животных,
- $p < 0,05$ – достоверные различия по сравнению с показателями животных серии контроля катаракты

Введение диквата дибромида в стекловидное тело приводило к развитию типичной клинической и морфологической картины катаракты. В хрусталике происходило формирование вакуолей, белковых агрегатов, водяных щелей,

участки разрушения волокон. Выраженность изменений усиливалась и достигала максимума на 56 сут. Терапия «Офтан Катахромом» и α -токоферолом ацетатом существенно не влияла на развития катаракты относительно контроля.

На фоне лечения 0,22% раствором ионола отмечалось образование вакуолей коры, формирование зон диссоциации, появление участков разрушения волокон. Однако степень изменений была существенно ниже. В 16,6% было отмечено рассасывание вакуолей, уменьшение площади диссоциации и степени зияния швов коры. Лечение 2,2% раствором ионола также было высокоэффективно. В 50,0% отмечалось рассасывание части вакуолей и белковых агрегатов, сокращение площади участков дезорганизации кортекса (рис. 1).



Рисунок 1 – Гистологическая картина хрусталика при экспериментальной катаракте, 56 сутки. Окраска гематоксилин и эозин, ув. 10 раз.

Таким образом, на основе полученных данных можно сделать вывод, что применение 0,22% и 2,2% растворов ионола в виде инстилляций в конъюнктивальную полость по две капли три раза в день является патогенетически оправданным и эффективным способом лечения катаракты.

Биологические эффекты лактоферрина при экспериментальной гнойной язве роговицы

Развитие экспериментальной гнойной язвы роговицы сопровождалось активацией процессов ПОЛ. Концентрация МДА в роговице повышалась с

третьего дня патологии по сравнению с показателями интактных животных и нормализовалась только к 14 дню патологии. Уровень GSH снижался начиная с 1 дня патологии и сохранялся сниженным до 28 дня патологии. Активности SOD и GPx уменьшались на 5 и 3 сутки и оставались ниже показателей интактных животных до 21 суток эксперимента. Активность GPx, кроме того, повышалась на 3 сутки исследования. Активность GT повышалась на 2 сутки патологии, затем снижалась на 5 и 7 сутки исследования и нормализовалась к 14 дню язвы (табл. 5).

Таблица 5 – Выраженность окислительного стресса при развитии стафилококковой гнойной язвы роговицы (M±SD)

Серии эксперимента	МДА нмоль/мг белка	GSH мкмоль/мг белка	Активность SOD ЕА/мг белка	Активность GPx нмоль НАДФН/ мин× мг белка	Активность GT мкмоль ХДНБ/ мин× мг белка
Норма	3,0±0,25	19,7±0,79	3,2±0,08	19,4±0,78	0,26±0,02
Язва 1 сутки	3,5±0,2	16,6±0,56*	2,9±0,2	18,1±0,60	0,24±0,019
Язва 2 сутки	4,1±0,25	17,4±0,58	2,9±0,13	21,4±0,57	0,32±0,019*
Язва 3 сутки	5,1±0,37*	14,8±0,53*	2,7±0,13	23,1±0,64*	0,21±0,016
Язва 5 сутки	6,0±0,36*	10,5±0,52*	1,5±0,14*	13,1±0,50*	0,17±0,018*
Язва 7 сутки	5,3±0,29*	9,1±0,45*	1,4±0,14*	16,6±0,63*	0,19±0,010*
Язва 14 сутки	4,2±0,36	15,8±0,78*	2,2±0,19*	17,2±0,55*	0,24±0,009
Язва 21 сутки	3,1±0,34	17,4±1,15*	3,15±0,08	19,6±0,63	0,29±0,007
Язва 28 сутки	3,4±0,22	20,8±1,04	3,2±0,17	21,0±0,39	0,26±0,015

* - $p < 0,05$ – достоверные различия по сравнению с показателями интактных животных

На фоне лечения ципрофлоксацином уровень МДА снижался на 5 и 7 сутки патологии по сравнению с показателями контроля, концентрация GSH повышалась на 1, 5 и 7 сутки, активность SOD уменьшалась на 2 и 3 сутки, но повышалась на 5 и 7 сутки, активности GPx и GT снижались на 2 сутки, при этом активность GPx увеличивалась на 5 сутки (табл. 6).

При инстилляции лактоферрина в концентрации 0,5 мг/мл по сравнению с животными с гнойной язвой без лечения наблюдалось снижение содержания МДА на 5, 7 и 14 сутки эксперимента. Уровень GSH превышал показатели контроля в те же сроки, а также на 21 сутки. Активность SOD была выше у животных, получавших лактоферрин на 5, 7 и 14 сутки, также как и активность GT на 5 и 7 сутки. Активность GPx на 3 сутки патологии была ниже показателей контроля, а на 5 сутки превышала их (табл. 7).

Таблица 6 – Выраженность окислительного стресса при развитии стафилококковой гнойной язвы роговицы на фоне лечения ципрофлоксацином ($M \pm m$)

Серии эксперимента	МДА нмоль/мг белка	GSH мкмоль/мг белка	Активность SOD ЕА/мг белка	Активность GPx нмоль НАДФН/ мин× мг белка	Активность GT мкмоль ХДНБ/ мин× мг белка
Норма	3,0±0,25	19,7±0,79	3,2±0,08	19,4±0,78	0,26±0,02
Язва 1 сутки	4,3±0,26*	19,5±0,80#	2,4±0,24*	19,2±0,60	0,26±0,018
Язва 2 сутки	4,9±0,43*	15,4±0,67*	2,3±0,22*#	17,1±0,88#	0,24±0,021#
Язва 3 сутки	5,3±0,33*	14,6±0,75*	2,0±0,21*#	20,1±1,25	0,18±0,018*
Язва 5 сутки	4,7±0,42*#	13,7±1,07*#	2,1±0,25*#	15,5±0,6*#	0,17±0,020*
Язва 7 сутки	3,8±0,33#	14,6±1,06*#	2,4±0,22*#	15,9±0,49*	0,22±0,021
Язва 14 сутки	3,3±0,32	17,3±1,11	2,8±0,23	18,3±0,94	0,26±0,019
Язва 21 сутки	2,7±0,19	19,5±0,74	3,3±0,2	19,3±0,79	0,26±0,015
Язва 28 сутки	3,3±0,25	20,1±0,79	3,2±0,18	19,5±0,81	0,27±0,02

* - $p < 0,05$ – достоверные различия по сравнению с показателями интактных животных, # - $p < 0,05$ – достоверные различия по сравнению с показателями животных с экспериментальной гнойной язвой

Таблица 7 – Выраженность окислительного стресса при развитии стафилококковой гнойной язвы роговицы на фоне лечения лактоферрином в концентрации 0,5 мг/мл ($M \pm SD$)

Серии эксперимента	МДА нмоль/мг белка	GSH мкмоль/мг белка	Активность SOD ЕА/мг белка	Активность GPx нмоль НАДФН/ мин× мг белка	Активность GT мкмоль ХДНБ/ мин× мг белка
Норма	3,0±0,25	19,7±0,79	3,2±0,08	19,4±0,78	0,26±0,02
Язва 1 сутки	3,4±0,14	16,3±0,55*	3,2±0,07	17,9±0,38*	0,21±0,01
Язва 3 сутки	4,4±0,14*	15,9±0,61*	3,3±0,1#	17,7±0,70*#	0,20±0,01*
Язва 5 сутки	4,2±0,18*#	17,5±0,57*#	2,7±0,13*#	17,1±0,30*#	0,21±0,01*#
Язва 7 сутки	3,5±0,18#	18,6±0,62#	2,9±0,13#	17,4±0,30*	0,23±0,01#
Язва 14 сутки	3,3±0,17#	20,1±0,55#	3,0±0,08#	18,1±0,35*	0,23±0,01
Язва 21 сутки	3,4±0,21	21,1±0,55#	3,2±0,05	21,5±0,56	0,28±0,02

* - $p < 0,05$ – достоверные различия по сравнению с показателями интактных животных, # - $p < 0,05$ – достоверные различия по сравнению с показателями животных с экспериментальной гнойной язвой

При инстиляции лактоферрина в концентрации 1,5 мг/мл по сравнению с контролем концентрация МДА была достоверно ниже с 3 по 14 сутки. Уровень GSH был достоверно его выше с 5 по 21 сутки, активность SOD на 3-14 сутки, а активность GPx и GT на 5 и 7 сутки (табл. 8).

При введении лактоферрина (концентрация 2,5 мг/мл) содержание МДА было ниже показателей контрольных животных на протяжении всего эксперимента, а уровень GSH был их выше с 3 по 21 сутки. Активность SOD

превышала показатели контроля с 5 по 14 сутки. Активности GPx и GT превышали показатели контрольных животных на 5 и 7 сутки (табл. 9).

Таблица 8 – Выраженность окислительного стресса при развитии стафилококковой гнойной язвы роговицы на фоне лечения лактоферрином в концентрации 1,5 мг/кг (M±SD)

Серии эксперимента	МДА нмоль/мг белка	GSH мкмоль/мг белка	Активность SOD ЕА/мг белка	Активность GPx нмоль НАДФН/ мин× мг белка	Активность GT мкмоль ХДНБ/ мин× мг белка
Норма	3,0±0,25	19,7±0,79	3,2±0,08	19,4±0,78	0,26±0,02
Язва 1 сутки	3,4±0,22	17,3±0,54	2,9±0,10	18,1±0,62	0,24±0,01
Язва 3 сутки	4,2±0,19*#	15,0±0,88*	3,4±0,11#	21,3±0,79*	0,24±0,02
Язва 5 сутки	3,2±0,15#	17,9±0,84#	3,2±0,14#	17,3±0,77*#	0,26±0,01#
Язва 7 сутки	3,4±0,18#	19,6±1,26#	3,7±0,18*#	19,0±0,98#	0,30±0,03*#
Язва 14 сутки	2,8±0,14#	19,1±0,74#	3,1±0,15#	17,7±0,49	0,26±0,03
Язва 21 сутки	3,5±0,24	22,3±0,81#	3,1±0,2	19,1±0,78	0,30±0,04

* - $p < 0,05$ – достоверные различия по сравнению с показателями интактных животных, # - $p < 0,05$ – достоверные различия по сравнению с показателями животных с экспериментальной гнойной язвой

Таблица 9 – Выраженность окислительного стресса при развитии стафилококковой гнойной язвы роговицы на фоне лечения лактоферрином в концентрации 2,5 мг/мл (M±SD)

Серии эксперимента	МДА нмоль/мг белка	GSH мкмоль/мг белка	Активность SOD ЕА/мг белка	Активность GPx нмоль НАДФН/ мин× мг белка	Активность GT мкмоль ХДНБ/ мин× мг белка
Норма	3,0±0,25	19,7±0,79	3,2±0,08	19,4±0,78	0,26±0,02
Язва 1 сутки	2,8±0,14#	16,7±0,63	2,7±0,14*	21,2±1,37	0,22±0,02
Язва 3 сутки	2,9±0,21#	19,3±0,96#	3,1±0,12	20,4±0,89	0,21±0,01
Язва 5 сутки	3,2±0,22#	18,8±1,14#	3,0±0,13#	18,2±0,80#	0,22±0,02#
Язва 7 сутки	3,5±0,17#	18,7±1,93#	3,5±0,09*#	19,6±0,71#	0,29±0,01#
Язва 14 сутки	3,4±0,16#	22,0±1,20#	3,0±0,12#	18,9±0,70	0,24±0,02
Язва 21 сутки	3,6±0,22*	24,0±1,50*#	3,3±0,15	20,9±1,70	0,29±0,03

* - $p < 0,05$ – достоверные различия по сравнению с показателями интактных животных, # - $p < 0,05$ – достоверные различия по сравнению с показателями животных с экспериментальной гнойной язвой

При инстилляции лактоферрина в концентрации 5 мг/мл уровень МДА достоверно снижался на 3 – 14 сутки по сравнению с показателями контрольных животных, а концентрация GSH превышала их на 3-21 сутки. Активность SOD превышала показатели контроля на 5-14 сутки, а активность GPx была ниже их на 3 сутки, но превышала на 5-14 сутки. Активность GT превышала активность у контрольных животных на 3 и 5 сутки (табл. 10).

Таблица 10 – Выраженность окислительного стресса при развитии стафилококковой гнойной язвы роговицы на фоне лечения лактоферрином в концентрации 5 мг/мл ($M \pm m$)

Серии эксперимента	МДА нмоль/мг белка	GSH мкмоль/мг белка	Активность SOD ЕА/мг белка	Активность GPx нмоль НАДФН/ мин× мг белка	Активность GT мкмоль ХДНБ/ мин× мг белка
Норма	3,0±0,25	19,7±0,79	3,2±0,08	19,4±0,78	0,26±0,02
Язва 1 сутки	3,3±0,18	18,8±0,76	2,9±0,15	18,7±0,97	0,28±0,016
Язва 3 сутки	3,4±0,15#	19,9±1,02#	2,8±0,12	17,1±0,67#	0,31±0,021#
Язва 5 сутки	2,8±0,14#	17,9±1,27#	2,9±0,11#	19,1±0,45#	0,25±0,018#
Язва 7 сутки	3,7±0,17#	20,4±1,73#	2,9±0,16#	21,7±1,15#	0,22±0,019
Язва 14 сутки	3,3±0,23#	20,4±1,09#	2,9±0,09#	20,0±0,57#	0,23±0,019
Язва 21 сутки	3,6±0,25*	25,0±1,50*#	3,1±0,15	21,9±1,70	0,32±0,021*

* - $p < 0,05$ – достоверные различия по сравнению с показателями интактных животных, # - $p < 0,05$ – достоверные различия по сравнению с показателями животных с экспериментальной гнойной язвой

В сравнении с показателями животных контрольной группы, при применении комбинации лактоферрина и ципрофлоксацина уровень МДА был ниже на 5 и 7 сутки патологии. Концентрация GSH превышала показатели контроля на 1, 5, 7 и 28 сутки. Активность SOD превышала активность фермента у животных группы контроля патологии на 5, 7 и 14 сутки. Активность GPx превышала активность данного фермента у животных контрольной группы на 1 и 5 сутки, а активность GT – на 3 и 5 сутки (табл. 11).

Таблица 11 – Выраженность окислительного стресса при развитии стафилококковой гнойной язвы роговицы на фоне лечения ципрофлоксацином и лактоферрином (концентрация 0,5 мг/мл) ($M \pm SD$)

Серии эксперимента	МДА нмоль/мг белка	GSH мкмоль/мг белка	Активность SOD ЕА/мг белка	Активность GPx нмоль НАДФН/ мин× мг белка	Активность GT мкмоль ХДНБ/ мин× мг белка
Норма	3,0±0,25	19,7±0,79	3,2±0,08	19,4±0,78	0,26±0,02
Язва 1 сутки	3,8±0,21	18,6±0,58#	3,1±0,08	21,7±0,80#	0,29±0,008
Язва 2 сутки	4,5±0,23*	15,6±0,55	2,8±0,05	20,4±1,17	0,31±0,08
Язва 3 сутки	4,1±0,30*	15,7±0,6	3,1±0,14	21,9±0,73	0,33±0,008*#
Язва 5 сутки	3,7±0,15#	17,9±0,64#	2,6±0,08*#	17,4±1,1#	0,33±0,01*#
Язва 7 сутки	3,2±0,21#	16,5±0,83#	2,3±0,18*#	16,0±0,49*	0,21±0,017*
Язва 14 сутки	2,9±0,29	18,8±0,44	3,4±0,16#	17,0±0,38	0,26±0,019
Язва 21 сутки	3,3±0,26	22,4±2,62	3,0±0,12	18,3±0,67	0,26±0,016
Язва 28 сутки	4,0±0,21	24,1±0,82*#	3,0±0,11	19,5±0,81	0,31±0,01

* - $p < 0,05$ – достоверные различия по сравнению с показателями интактных животных, # - $p < 0,05$ – достоверные различия по сравнению с показателями животных с экспериментальной гнойной язвой

При введении комбинации ципрофлоксацина и лактоферрина в концентрации 0,5 мг/мл в течение 14 дней достоверные различия получены только на 21 сутки гнойной язвы: активность GT животных на фоне лечения была меньше (табл. 12).

Таблица 12 – Выраженность окислительного стресса при развитии стафилококковой гнойной язвы роговицы на фоне лечения ципрофлоксацином и лактоферрином (концентрация 0,5 мг/мл) в течение 14 дней (M±SD)

Серии эксперимента	МДА нмоль/мг белка	GSH мкмоль/мг белка	Активность SOD ЕА/мг белка	Активность GPx нмоль НАДФН/ мин× мг белка	Активность GT мкмоль ХДНБ/ мин× мг белка
Норма	3,0±0,25	19,7±0,79	3,2±0,08	19,4±0,78	0,26±0,02
Язва 21 сутки	2,90±0,11	19,0±0,47	2,9±0,05	20,1±0,56	0,26±0,04#
Язва 28 сутки	2,95±0,08	20,6±0,52	3,1±0,06	20,5±0,41	0,28±0,009

* - $p < 0,05$ – достоверные различия по сравнению с показателями интактных животных, # - $p < 0,05$ – достоверные различия по сравнению с показателями животных с экспериментальной гнойной язвой

Инстилляцией ципрофлоксацина проявлялась снижением количества колоний золотистого стафилококка при посеве в первый по четвертый день, а на шестой день – полностью подавляло рост бактерии по сравнению со значениями контроля (рис. 2).

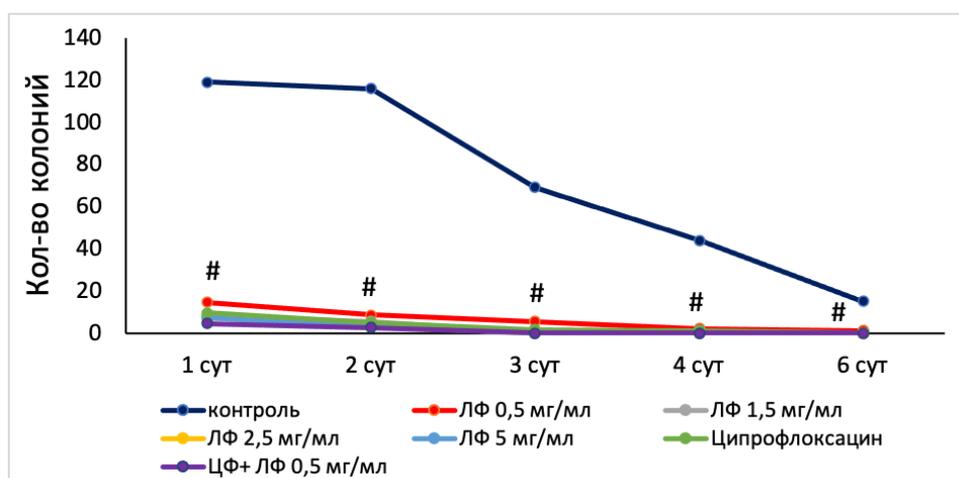


Рисунок 2 – Влияние лактоферрина, ципрофлоксацина и их комбинации на количество колоний золотистого стафилококка

Применение лактоферрина в концентрации 0,5 мг/мл приводило к снижению количества колоний золотистого стафилококка с первого по шестой день эксперимента. Использование лактоферрина в концентрациях 1,5 мг/мл, 2,5 мг/мл и 5 мг/мл приводило к снижению данного показателя с первого по второй день, а с третьего дня полностью подавляло рост микроорганизма.

Использование комбинации ципрофлоксацина и лактоферрина в концентрации 0,5 мг/мл сопровождалось снижением количества колоний золотистого стафилококка при посеве на первый и второй день, а на третьи сутки полностью подавляло рост микроорганизма.

У контрольных животных гнойная язва сформировалась в течение 24 часов после внесения культуры *Staphylococcus aureus*. С 1 по 3 сутки опыта клиническая картина соответствовала стадии инфильтрации, с 3 по 7 сутки – изъязвления, с 7 по 21 сутки – эпителизации, с 21 по 28 сутки – формирования рубца. Из стадии инфильтрации в стадию изъязвления перешли все глаза. В стадии изъязвления на 9 глазах развилось десцеметоцеле, закончившееся в 5 случаях перфорацией роговицы. В результате репаративных процессов в 16,7% случаев сформировалось облаковидное помутнение, в 50% случаев – помутнение средней интенсивности и в 33,3% случаев – интенсивное помутнение.

На фоне лечения ципрофлоксацином стадия инфильтрации в 16,7% случаев перешла в стадию эпителизации, в 82,3% случаев язвенный дефект сформировался. В стадии изъязвления на 5 глазах сформировалось десцеметоцеле, закончившееся в 1 случае перфорацией роговицы. В результате репаративных процессов в 33,3% случаев сформировалось облаковидное помутнение, в 50% случаев – помутнение средней интенсивности и в 16,7% случаев – интенсивное. Инстилляцией ципрофлоксацина сопровождалась уменьшением площади дефекта роговицы с 7 по 21 сут (табл. 13).

На фоне лечения лактоферрином (0,5 мг/мл) стадия инфильтрации в 36,7% случаев, перешла в стадию эпителизации, в 63,3% случаев язвенный дефект сформировался. В стадии изъязвления на 6 глазах сформировалось десцеметоцеле, закончившееся в 1 случае перфорацией роговицы. В результате репаративных процессов помутнения роговицы относились к средней степени (33,3%) и интенсивным (66,7%). Применение лактоферрина (концентрация 0,5 мг/мл) сопровождалось уменьшением площади дефекта роговицы с 7 по 21 сутки по сравнению с контрольной серией (табл. 13).

На фоне лечения лактоферрином (1,5 мг/мл) стадия инфильтрации в 60% случаев, перешла в стадию эпителизации, в 40% случаев язвенный дефект сформировался. В стадии изъязвления на 4 глазах сформировалось десцеметоцеле, закончившееся в 1 случае перфорацией роговицы. В 16,7% случаев наблюдалась гиперплазия эпителия. В результате репаративных процессов помутнения роговицы относились к средней степени (33,3%) и интенсивным (66,7%). Площадь дефекта роговицы с 3 по 7 сутки была достоверно ниже значений контроля (табл. 13).

Таблица 13 – Влияние лактоферрина, цiproфлорксацина и их комбинации на площадь дефекта эпителия в разные сроки гнойной язвы роговицы (M±SD)

Группы Эксперимента	% отношение площади прокрашиваемого дефекта к площади наносимого повреждения роговицы			
	3 сутки	7 сутки	14 сутки	21 сутки
гнойная язва (контроль)	51,9±1,6	96,6±2,1%	78,2±2,1%	18,6±0,9%
ципрофлорксацин	50,2±2,6	82,2±1,5#	55,8±2,4#	8,4±0,8#
лактоферрин 0,5 мг/мл	56,8±3,1	83,3±2,2#	22,9±1,4#%	18,5±1,1%
лактоферрин 1,5 мг/мл	39,0±1,2#%	73,8±2,1#%	19,4±0,3#%	10,8±1,1#
лактоферрин 2,5 мг/мл	33,6±3,4#%	73,7±2,2#%	16,7±1,7#%	15,4±3,2#%
лактоферрин 5 мг/мл	21,0±1,5#%	40,7±1,4#%	13,1±1,2#%	8,2±0,7#
ципрофлорксацин и лактоферрин 0,5 мг/мл	47,1±2,3	31,4±1,4#%	12,9±1,6#%	5,8±0,9#
ципрофлорксацин и лактоферрин 0,5 мг/мл в течение 14 дней	44,8±1,8	30,9±1,4#%	9,6±1,2#%	1,4±0,3#%

% - $p < 0,05$ – достоверные различия с показателями животных, получавшими цiproфлорксацин, # - $p < 0,05$ – достоверные различия с показателями контрольных животных

На фоне лечения лактоферрином в концентрации 2,5 мг/мл стадия инфильтрации в 56,7% случаев перешла в стадию эпителизации, в 42,3% случаев язвенный дефект сформировался. В стадии изъязвления на 2 глазах сформировалось десцеметоцеле, не закончившееся ни в одном случае перфорацией роговицы. При применении лактоферрина в концентрации 2,5 мг/мл наблюдалась гиперплазия эпителия в 44,4% случаев. В результате репаративных процессов в 16,7% сформировались помутнения роговицы средней степени, а в 82,3% – интенсивные. Лактоферрин (концентрация 2,5

мг/мл) уменьшал площадь дефекта роговицы с 3 по 21 сутки по сравнению с показателями контроля.

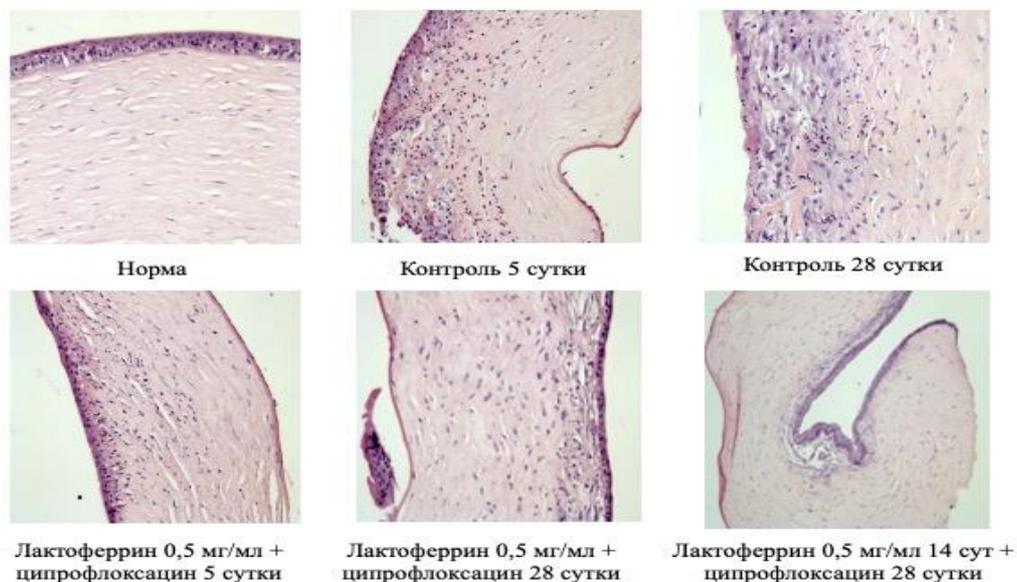


Рисунок 3 – Гистологическая картина роговицы при экспериментальной гнойной язве. Окраска гематоксиллин и эозин, ув. 10 раз.

На фоне лечения лактоферрином (в концентрации 5 мг/мл) стадия инфильтрации в 60% случаев перешла в стадию эпителизации, в 40,0% язвенный дефект сформировался. В стадии изъязвления на 2 глазах сформировалось десцеметоцеле без перфорации. При применении лактоферрина в концентрации 5 мг/мл наблюдалась гиперплазия эпителия в 44,4% случаев. В результате репаративных процессов помутнения роговицы относились к средней степени (16,7%) и интенсивным (82,3%). Площадь дефекта роговицы уменьшалась с 3 по 21 сутки по сравнению с контролем (табл. 13).

Характерной особенностью морфологической картины динамики воспаления роговицы при использовании высоких концентраций лактоферрина (1,5 мг/мл, 2,5 мг/мл и 5 мг/мл) являлось сочетание ранних стадий воспаления (альтерации и экссудации) с началом более поздней продуктивной стадии воспаления – пролиферации (регенерацией эпителия роговицы), что приводило к нарушенной (хаотичной) репаративной регенерации.

На фоне лечения комбинацией лактоферрина в концентрации 0,5 мг/мл и ципрофлоксацина стадия инфильтрации в 70% случаев, перешла в стадию эпителизации, в 30,0% случаев язвенный дефект сформировался. В стадии

изъязвления на 3 глазах развилось десцеметоцеле, не закончившееся ни в одном случае перфорацией роговицы. При применении комбинации лактоферрина и ципрофлоксацина гиперплазии эпителия отмечено не было. В результате репаративных процессов в 16,7% случаев сформировалось облаковидное помутнение, в 16,7% случаев – помутнение средней интенсивности и в 66,6% случаев – интенсивное помутнение. Использование комбинации лактоферрина и ципрофлоксацина сопровождалось уменьшением площади дефекта роговицы на 7-21 сутки по сравнению с показателями контроля. Особенностью морфологической картины наряду с ускорением регенерации являлось утолщение эпителия роговицы до 7-10 слоев и увеличение количества стромы, преимущественно за счет увеличения соединительнотканых волокон к 21 суткам эксперимента (рис. 3).

На фоне лечения комбинацией лактоферрина в концентрации 0,5 мг/мл и ципрофлоксацина, с последующей отменой лактоферрина после полной эпителизации дна язвы, стадия инфильтрации в 66,7% случаев, перешла в стадию эпителизации, в 33,3% случаев язвенный дефект сформировался. В стадии изъязвления на 4 глазах развилось десцеметоцеле без перфорации. В результате репаративных процессов в 33,3% случаев значимое помутнение роговицы отсутствовало, в 33,3% случаев сформировалось облаковидное помутнение, в 33,3% случаев – помутнение средней интенсивности. На 21-28 исследования роговица на всем протяжении имела обычное строение (рис. 3).

Использование комбинации лактоферрина (концентрация 0,5 мг/мл) и ципрофлоксацина в течение 14 дней сопровождалось уменьшением площади дефекта роговицы на 7-21 сутки по сравнению с показателями контроля (рис. 3).

Таким образом, показано, что при экспериментальной стафилококковой гнойной язве роговицы лактоферрин в разных концентрациях оказывает выраженное антибактериальное, репаративное и антиоксидантное действие. Наилучший эффект в составе комплексной терапии с ципрофлоксацином дает лактоферрин в концентрации 0,5 мг/мл, инстилляций по 2 капли 4 раза в день

при использовании в течение 14 дней – до момента окончания формирования полноценного слоя эпителия на дне язвы, то есть до начала формирования рубца.

Биологические эффекты этилового эфира N-фенилацетил-L-пролилглицина при экспериментальном тромбозе сосудов сетчатки

Развитие экспериментального тромбоза сосудов сетчатки также сопровождалось развитием окислительного стресса, что проявлялось следующими биохимическими изменениями (таблица 14).

Таблица 14 – Выраженность окислительного стресса в сетчатке при экспериментальном тромбозе ее сосудов (медиана, верхний и нижний квартили)

Серии эксперимента	МДА, нмоль/мг белка	GSH, мкмоль/мг белка	SOD, ЕА/мг белка	Активность GPx, нмоль НАДФН/мин× мг белка	Активность GT, мкмоль ХДНБ/ мин× мг белка
Норма	10,45 (9,13; 11,25)	15,60 (14,53; 16,4)	3,75 (3,40; 4,05)	15,5 (15,2; 16,0)	0,43 (0,41; 0,46)
1 час	10,85 (10,35; 11,68)	15,75 (15,28; 16,73)	4,05 (3,43; 4,63)	16,15 (15,8; 16,3)	0,46 (0,39; 0,53)
3 часа	13,35 (12,43; 14,63)*	12,85 (12,05; 13,3)*	4,0 (3,8; 4,3)	14,5 (14,0; 14,8)	0,35 (0,32; 0,39)
6 часов	12,2 (11,48; 13,4)*	13,05 (12,13; 14,25)*	2,8 (2,5; 3,03)*	14,25 (13,8; 14,6)*	0,31 (0,26; 0,34)*
1 сутки	11,6 (11,05; 12,7)	13,55 (13,08; 14,65)*	3,1 (2,83; 3,35)	14,0 (13,2; 14,7)*	0,29 (0,21; 0,32)*
3 сутки	14,75 (14,09; 16,15)*	12,85 (11,13; 13,93)*	3,05 (2,78; 3,45)	13,7 (13,0; 14,5)*	0,33 (0,27; 0,36)*
7 сутки	13,45 (12,83; 15,08);	13,2 (12,28; 14,45)*	4,1 (3,78; 4,53)	13,7 (13,0; 14,5)*	0,36 (0,25; 0,42)
14 сутки	11,8 (11,0; 12,25)	13,0 (12,2; 14,48)*	4,15 (3,90; 4,53)	14,65 (14,2; 15,3)	0,38 (0,35; 0,44)

* - $p < 0,05$ – достоверные различия по сравнению с показателями интактных животных

Концентрация МДА повышалась с первых суток патологии, достигала своего максимума на 3 сутки ишемии, а затем постепенно снижалась и уже на 14 сутки достоверно от значений нормы не отличалась. Уровень GSH снижался с 1 суток патологии и оставался пониженным вплоть до 14 дня эксперимента. Активность SOD снижалась на 3 сутки эксперимента по сравнению с интактными животными. Активности GPx и GT уменьшались через 6 часов, на 1, 3 и 7 (только GPx) сутки патологии.

На фоне введения парацетама показатели свободнорадикального окисления в сетчатке достоверно не отличались от показателей контроля (табл. 15).

Концентрация МДА у животных, получавших ноопепт, была достоверно ниже показателей контрольных животных на 3 и 7 сутки, а активность GT на 1 сутки патологии превышала их. Уровень GSH, активность SOD и GPx достоверно у контрольных животных и животных, получавших ноопепт, не различались (табл. 16).

Таблица 15 – Выраженность окислительного стресса в сетчатке при введении парацетама на фоне экспериментального тромбоза ее сосудов (медиана, верхний и нижний квартили)

Серии эксперимента	МДА, нмоль/мг белка	GSH, мкмоль/мг белка	SOD, ЕА/мг белка	Активность GPx, нмоль НАДФН/мин× мг белка	Активность GT, мкмоль ХДНБ/ мин× мг белка
Норма	10,45 (9,13; 11,25)	15,60 (14,53; 16,4)	3,75 (3,40; 4,05)	15,5 (15,2; 16,0)	0,43 (0,41; 0,46)
1 час	11,19 (10,5; 13,1)	15,5 (14,1; 16,2)	3,6 (3,4; 4,4)	15,2 (14,3; 16,7)	0,45 (0,39; 0,53)
3 часа	12,6 (11,5; 13,3)	12,8 (11,8; 14,1)	4,0 (3,3; 4,7)	15,2 (14,1; 15,9)	0,42 (0,36; 0,49)
6 часов	13,05 (11,8; 13,9)	11,9 (10,9; 14,5)*	3,6 (3,0; 3,9)	13,8 (12,5; 15,3)	0,31 (0,28; 0,49)
1 сутки	13,9 (11,9; 14,9)*	12,9 (10,9; 15,2)	3,5 (3,0; 3,7)	13,4 (12,9; 14,4)*	0,33 (0,28; 0,38)*
3 сутки	14,4 (13,4; 15,5)*%	12,8 (11,8; 13,9)*	3,3 (2,8; 3,7)	13,7 (12,3; 14,6)*	0,27 (0,21; 0,36)*%
7 сутки	12,9 (11,9; 13,9)	12,2 (11,0; 13,4)*	3,4 (3,1; 4,3)	14,1 (13,7; 14,7)*	0,3 (0,19; 0,35)*%
14 сутки	11,3 (10,4; 12,5)	14,0 (13,5; 16,0)	3,9 (3,3; 4,1)	15,1 (14,2; 15,6)	0,35 (0,31; 0,45)

* - $p < 0,05$ – достоверные различия по сравнению с показателями интактных животных, # - $p < 0,05$ – достоверные различия с показателями контрольных животных, % - $p < 0,05$ – достоверные различия с показателями животных, получавших ноопепт

В серии ишемизированных нелеченых кроликов через 6 и 12 часов после моделирования патологии отмечалось снижение уровня Glu по сравнению с показателями интактных животных. В последующем (на 5–7 и 14 сутки) развивалось резкое нарастание концентрации глутамата в сетчатке. Уровень Asp повышался только на 5-7 сутки по сравнению с показателями интактных животных. Концентрация Gly снижалась через 6 ч ишемии, нормализовывалась

через 12 ч, 1 и 3 сутки, а затем повышалась на 5-7 сутки и вновь не отличалась от показателей интактных животных на 14 сутки. Содержание Тау снижалось через 6 ч, 12 ч и 1 сутки ишемии, а в остальные сроки эксперимента достоверно от значений нормы не отличалось. Концентрация ГАВА повышалась на 1, 5-7 и 14 сутки эксперимента (табл. 17).

Таблица 16 – Выраженность окислительного стресса в сетчатке при введении ноопепта на фоне экспериментального тромбоза ее сосудов (медиана, верхний и нижний квартили)

Серии эксперимента	МДА, нмоль/мг белка	GSH, мкмоль/мг белка	SOD, ЕА/мг белка	Активность GPx, нмоль НАДФН/мин× мг белка	Активность GT, мкмоль ХДНБ/ мин× мг белка
Норма	10,45 (9,13; 11,25)	15,60 (14,53; 16,4)	3,75 (3,40; 4,05)	15,5 (15,2; 16,0)	0,43 (0,41; 0,46)
1 час	11,4 (10,25; 11,4)	15,15 (14,0; 16,2)	3,85 (3,53; 4,08)	16,15 (15,7; 16,4)	0,43 (0,39; 0,42)
3 часа	13,1 (9,88; 13,83)	13,7 (12,95; 14,03)*	3,7 (3,23; 4,250)	15,2 (14,7; 15,9)	0,37 (0,35; 0,42)
6 часов	11,85 (10,33; 12,23)	13,5 (12,73; 14,58)	3,6 (2,73; 3,98)	12,95 (12,5; 13,9)*	0,34 (0,29; 0,38)*
1 сутки	12,8 (12,0; 14,03)*	13,1 (12,3; 13,6)*	3,0 (2,88; 3,23)*	13,85 (13,5; 14,5)*	0,39 (0,33; 0,55)#
3 сутки	12,2 (10,63; 13,2)#	13,15 (11,6; 14,55)	3,6 (3,05; 4,13)	14,3 (13,3; 15,4)	0,41 (0,34; 0,46)
7 сутки	11,45 (10,93; 13,23)#	14,15 (13,23; 14,75)	3,55 (3,03; 3,90)	14,9 (13,6; 15,3)	0,48 (0,39; 0,57)
14 сутки	11,85 (10,7; 13,15)	14,3 (12,9; 16,45)	3,95 (3,8; 4,25)	15,25 (15,0; 15,32)	0,38 (0,35; 0,44)

* - $p < 0,05$ – достоверные различия по сравнению с показателями интактных животных, # - $p < 0,05$ – достоверные различия с показателями контрольных животных

При сравнении концентраций аминокислот в сетчатке в контрольной группе и группе, получавших ноопепт были получены следующие результаты. На 1, 3, 5-7 и 14 сутки концентрация Asp в сетчатке животных, получавших ноопепт, была ниже показателей контрольных животных. Концентрация Glu у животных, которым вводили ноопепт, через 6 и 12 ч была выше контроля, а на 1, 5-7 и 14 сутки была их ниже. Уровень Gly в сетчатке на фоне введения ноопепта через 6 и 12 ч ишемии был выше значений контрольных кроликов, а на 5-7 и 14 сутки был их ниже. На 3, 5-7, 14 сутки эксперимента содержание Тау в сетчатке животных при введении ноопепта было ниже значений контрольных кроликов.

Концентрация GABA в сетчатке животных, получавших ноопепт, через 6 и 12 ч ишемии превышала показатели контроля, а на 1, 3, 5-7 и 14 сутки была их ниже.

При гистологическом исследовании на 84 сутки экспериментальной патологии выявлена секторальная атрофия диска зрительного нерва, уменьшалось количество миелиновых волокон в темпоральном пучке, наблюдался ограниченный участок (до 2-3 диаметров диска зрительного нерва) диспигментированной хориоидальной атрофии. К 84 суткам на фоне применения тестируемых лекарственных препаратов в сравнении с серией контроля визуально отмечалось большая сохранность миелиновых волокон и меньшая площадь деколорации диска зрительного нерва (рис. 4).

Таблица 17 – Содержание аминокислот в сетчатке в разные сроки ишемии, мкмоль/г ткани (медиана, верхний и нижний квартили)

Серии эксперимента	Asp	Glu	Gly	Tau	GABA
Норма	0,30 (0,25; 1,26)	3,55 (3,44; 5,93)	1,92 (1,87; 2,75)	60,88 (56,0; 90,7)	1,18 (0,80; 1,48)
6 часов контроль	0,21 (0,15; 0,38)	2,14 (1,72; 2,37)*	1,08 (0,85; 1,19)*	21,97 (16,05; 23,97)*	0,82 (0,55; 0,97)
6 часов ноопепт	0,30 (0,12; 0,34)	3,74 (3,32; 4,82)#	2,46 (2,18; 2,78)#	27,33 (20,73; 28,49)*	1,32 (0,97; 1,71)#
12 часов контроль	0,20 (0,11; 0,25)	2,41 (1,83; 2,84)*	1,57 (0,97; 2,07)*	24,62 (17,45; 26,04)*	0,88 (0,75; 1,15)
12 часов ноопепт	0,18 (0,13; 0,33)	3,55 (3,29; 4,29)#	3,06 (2,53; 3,55)#	22,97 (22,04; 26,67)*	1,34 (1,16; 1,81)#
1 сутки контроль	17,05 (0,69; 17,74)	16,91 (4,09; 16,91)	16,67 (1,98; 15,53)	17,74 (16,26; 30,43)*	16,12 (2,21; 17,32)*
1 сутки ноопепт	0,22 (0,17; 0,34)#	3,86 (3,57; 4,63)#	2,58 (2,32; 2,82)	24,31 (21,08; 27,89)*	1,20 (0,89; 1,37)#
3 сутки контроль	1,05 (0,83; 4,82)	5,00 (4,40; 25,14)	1,78 (1,64; 5,24)	49,17 (45,05; 108,69)	2,05 (1,76; 7,25)
3 сутки ноопепт	0,27 (0,19; 0,31)#	4,98 (4,47; 5,77)	2,94 (2,65; 3,16)	22,95 (21,23; 24,32)*#	1,35 (1,22; 1,60)#
5-7 сутки контроль	3,88 (1,38; 6,44)*	36,15 (9,44; 44,15)*	6,91 (3,27; 8,85)*	123,64 (65,20; 142,94)	10,76 (3,15; 13,24)*
5-7 сутки ноопепт	0,49 (0,37; 0,62)#	4,78 (3,99; 5,06)#	2,52 (2,03; 2,64)#	21,15 (18,65; 24,60)*#	1,41 (1,19; 1,57)#
14 сутки контроль	3,16 (0,64; 4,35)	30,65 (6,18; 33,17)**	4,15 (2,29; 7,51)	99,13 (61,0; 147,95)	5,85 (2,05; 11,55)*
14 сутки ноопепт	0,61 (0,48; 0,69)#	4,88 (3,94; 6,09)#	2,19 (1,81; 2,65)#	26,70 (22,06; 34,08)*#	1,71 (1,22; 2,27)#

* - $p < 0,05$ – достоверные различия по сравнению с показателями интактных животных

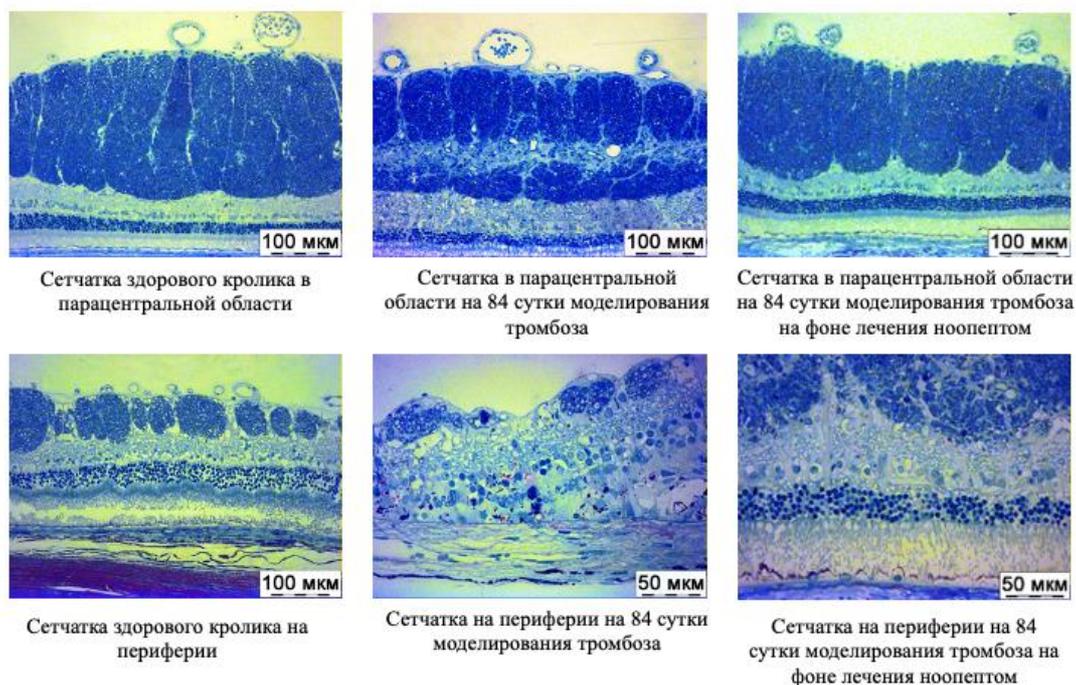


Рисунок 4 – Гистологическая картина сетчатки при экспериментальном тромбозе ее сосудов. Полихромное окрашивание, ув. 10 раз

При регистрации общей (максимальной) электроретинограммы при экспериментальном тромбозе сосудов сетчатки были получены следующие результаты. У контрольных животных амплитуда b волны на 1 сутки после моделирования тромбоза сосудов повышалась по сравнению с показателями интактных животных, а затем снижалась на 3, 10, 28, 56 и 84 сутки. При применении пирацетама отмечалось увеличение амплитуды b волны на 3 и 10 сутки по сравнению с контролем. Введение ноопепта сопровождалось снижением амплитуды b волны на 1 сутки и ее увеличением на 3, 10, 28, 56 и 84 сутки по сравнению с показателями контроля (рис. 5).

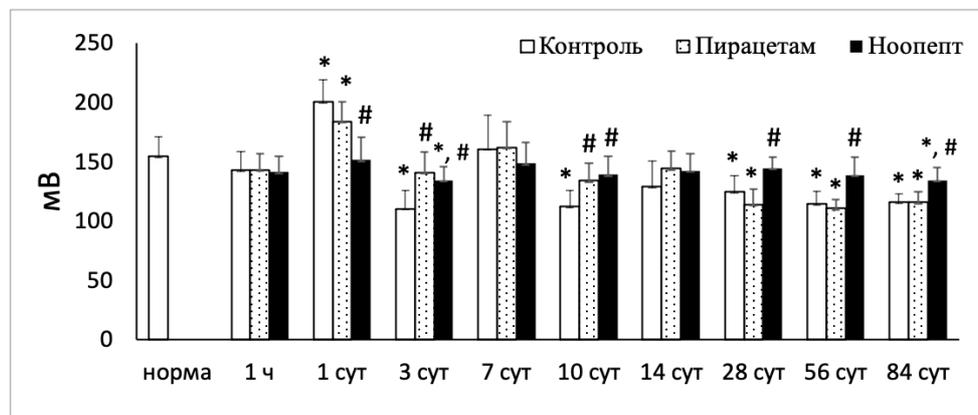


Рисунок 5 – Амплитуда b волны электроретинограммы при экспериментальном тромбозе сосудов сетчатки ($M \pm SD$)

Таким образом, установлено, что при экспериментальном тромбозе сосудов сетчатки ноопепт, при внутривенном введении, сразу после моделирования патологии в дозе 0,5 мг/кг, а затем при введении три раза в день *per os* в дозе 10 мг/кг оказывает ретинопротекторное действие, улучшает функциональное состояние нейронов, нормализует концентрацию глутамата, ГАМК, глицина и аспартата и снижает выраженность окислительного стресса в сетчатке.

Выводы

1. Подбор эффективной антиоксидантной дозы 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенола для ткани хрусталика в системе *in vivo* показал, что инстилляцией в конъюнктивальную полость глаз кроликов растворов в концентрациях 2,2% и 0,22% по две капли три раза в день в течение 30 суток улучшает антиоксидантный потенциал ткани хрусталика, что характеризуется увеличением уровня GSH и повышением активности GT. В тоже время применение растворов 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенола в концентрациях 22% и 10% сопровождается инверсией антиоксидантного эффекта в прооксидантный, который проявляется повышением концентрации МДА, снижением уровня GSH.

2. Однократное введение в стекловидное тело глаза кролика раствора диквата дибромида в дозе 600 нмоль приводит к патологической активации свободнорадикального окисления в ткани хрусталика, проявляющейся повышением уровня МДА, снижением концентрации GSH, уменьшением активности антиоксидантных ферментов GT и GPx и формированию типичной клинической и патоморфологической картины прогрессирующей корковой катаракты.

3. Инстилляцией в конъюнктивальную полость глаз кроликов 2,2% и 0,22% растворов 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенола по две капли три раза в день в течение 56 суток при экспериментальной катаракте оказывает выраженное антиоксидантное и значимое терапевтическое действие, существенно превосходящее эффекты от использования препаратов сравнения – «Офтан Катахрома» и α -токоферола ацетатата. При этом по антиоксидантной

активности 2,2% раствор 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенола превосходит 0,22% раствор.

4. Моделирование экспериментальной гнойной язвы роговицы с использованием культуры золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* (АТСС 25923) вызывает патологическую активацию свободнорадикального окисления в ткани роговицы, что сопровождается повышением концентрации МДА, снижением уровня GSH, снижением активности антиоксидантных ферментов SOD, GPx и GT.

5. Лактоферрин в концентрациях раствора 0,5 мг/мл, 1,5 мг/мл, 2,5 мг/мл и 5 мг/мл в виде инстилляций в конъюнктивальную полость по две капли четыре раза в день в течение 28 суток при экспериментальной стафилококковой гнойной язве роговицы оказывает дозозависимое антиоксидантное действие, антимикробную активность, ускоряет заживление дефекта и предотвращает развитие осложнений (десцеметоцеле, перфорация).

6. Гистологическая картина изменений тканей роговицы при экспериментальной стафилококковой гнойной язве на фоне применения лактоферрина демонстрирует усиление регенерации эпителия и образования соединительной ткани, при этом применение высоких доз 1,5 мг/мл, 2,5 мг/мл и 5 мг/мл сопровождается сочетанием морфологической картины ранних стадий воспаления (альтерации и экссудации) с более поздней продуктивной стадией – пролиферацией (регенерацией эпителия роговицы), что в конечном итоге приводит к задержке полной эпителизации дна дефекта. Применение лактоферрина во всех дозах после окончания фазы эпителизации приводит к образованию непрозрачной рубцовой ткани, интенсивность развития которой носит прямой дозозависимый характер.

7. Лактоферрин в концентрации 0,5 мг/мл в составе комплексной терапии с ципрофлоксацином оказывает наилучший терапевтический эффект при гнойной язве роговицы при использовании курса введения по 2 капли 4 раза в день в течение 14 дней – до момента окончания формирования полноценного слоя эпителия на дне язвы, то есть до начала формирования рубца. Лактоферрин,

применяемый в указанной дозе и разработанном нами курсе применения, проявляет свои положительные свойства не усиливая образование соединительной ткани и помутнения роговицы.

8. Интравенозное введение бенгальского розового и фокальное освещение сосудов сетчатки белым светом приводит к развитию типичной клинической картины острой окклюзии (тромбоза) магистральных ретинальных сосудов с нарушением микроструктуры и электрофизиологической активности сетчатки, при этом было получено воспроизведение основных звеньев патогенеза: патологической активации свободнорадикального окисления, метаболической дисфункции нейронов сетчатки и накопления глутамата.

9. При экспериментальной острой окклюзии (тромбозе) магистральных ретинальных сосудов этиловый эфир N-фенилацетил-L-пролилглицина при внутривенном введении сразу после моделирования патологии в дозе 0,5 мг/кг массы, а затем при введении три раза в день per os в дозе 10 мг/кг массы снижает выраженность окислительного стресса, улучшает функциональное состояние нейронов, нормализует концентрацию глутамата, аспартата, ГАМК, глицина; уменьшает патологические морфологические изменения в сетчатке.

10. Полученные результаты применения разработанного комплексного подхода изучения функционального и структурного статуса изучаемых тканей с применением биохимических методов оценки активности свободнорадикального окисления, состояния антиоксидантной защиты, аминокислотного статуса, морфологического, микробиологического и физиологических методов исследования позволили обосновать дифференцированное применение с терапевтической целью веществ с антиоксидантной активностью в зависимости от типа офтальмологической патологии (дегенеративно-дистрофическая, воспалительная, дисциркуляторная).

Практические рекомендации

1. Использованные экспериментальные модели (дикват дибромид индуцированная катаракта, стафилококковая гнойная язва роговицы, фотоиндуцированный бенгальским розовым тромбоз сосудов сетчатки) могут

быть рекомендованы для изучения патогенеза соответствующих заболеваний, а также для поиска новых подходов для их фармакотерапии.

2. Полученные экспериментальные данные позволяют рекомендовать проведение клинических исследований по оценке эффективности применения раствора антиоксиданта 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенола в концентрации 2,2% в виде инстилляций по две капли три раза в день с целью замедления прогрессирования катаракты.

3. Полученные результаты позволяют рекомендовать проведение клинических исследований по оценке эффективности применения лактоферрина в концентрации 0,5 мг/мл в виде инстилляций по 2 капли 4 раза в день в составе комплексной терапии с ципрофлоксацином для лечения гнойной язвы роговицы. Причем длительность применения лактоферрина составляет 14 дней, то есть до момента окончания формирования полноценного слоя эпителия на дне язвы, то есть до начала формирования рубца.

4. Полученные результаты позволяют рекомендовать проведение клинических исследований по оценке эффективности применения препарата этилового эфира N-фенилацетил-L-пролилглицина при острой окклюзии магистральных сосудов сетчатки.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Статьи в рецензируемых изданиях, входящих в Перечень ВАК при Минобрнауки России

1. Колесников, А.В. Подбор эффективной антиоксидантной дозы ионола для ткани хрусталика при местном инстилляционном введении его масляного раствора / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // **Рос. медико-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова.** – 2006. – № 2. – С.66-68.
2. Колесников, А.В. Экспериментальное исследование антикатарактальной эффективности прямого антиоксиданта ионола / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // **Кубанский научный медицинский вестник.** – 2011. – № 1 (124). – С. 174-179.
3. Колесников, А.В. Синтетический прямой антиоксидант ионол как перспективное антикатарактальное средство / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // **Рос. медико-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова.** – 2012. – № 3. – С. 158-165.
4. Колесников, А.В. Активность перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантной системы хрусталика при экспериментальной катаракте на фоне местного применения антиоксидантов / А.В. Колесников, О.И. Баренина, А.В. Шулькин. – Текст (визуальный): непосредственный // **Вестник Новосибирского государственного педагогического университета.** – 2013. – №5 (15). – С. 70-78.
5. Локальный и системный антиоксидантный статус при экспериментальной гнойной язве роговицы / А.В. Колесников, А.В. Шулькин, О.И. Баренина, В.И. Коноплева. – Текст

(визуальный) : непосредственный // **Казанский медицинский журнал**. – 2013. – Т. 94, № 4. – С. 571-575.

6. Роль окислительного стресса в патогенезе бактериальной язвы роговицы / А.В. Шулькин, **А.В. Колесников**, О.И. Баренина [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // **Рос. медико-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова**. – 2013. – № 3. – С. 148-152. – (Соавт.: М.Н. Николаев, А.А. Никифоров).

7. Роль свободных радикалов в регенерации эпителия роговицы / А.В. Шулькин, **А.В. Колесников**, М.Н. Николаев, О.И. Баренина. – Текст (визуальный) : непосредственный // **Фундаментальные исследования**. – 2013. – № 7-2. – С. 451-455.

8. **Колесников, А.В.** Свободно-радикальный статус иридоцилиарного комплекса и камерной влаги глаза при экспериментальной катаракте без лечения и на фоне местной терапии раствором ионола / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // **Рос. медико-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова**. – 2013. – № 1. – С. 101-108.

9. **Колесников, А.В.** Влияние антиоксидантов на выраженность окислительного стресса в хрусталике при экспериментальной катаракте / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // **Вестник Тамбовского университета. Серия: Естественные и технические науки**. – 2014. – Т. 19, № 4. – С. 1146-1148.

10. Влияние ацетилцистеина на выраженность корнеального окислительного стресса при экспериментальной гнойной язве роговицы / **А.В. Колесников**, М.М. Шишкин, М.Г. Узбеков [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // **Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова**. – 2014. – Т. 9, № 4. – С. 79-83. – (Соавт.: А.В. Шулькин, О.И. Баренина).

11. Глутаматная эксайтотоксичность и окислительный стресс при экспериментальном тромбозе сосудов сетчатки / **А.В. Колесников**, А.В. Шулькин, Е.Н. Якушева [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // **Нейрохимия**. – 2016. – Т. 33, № 2. – С. 1-5. (Соавт.: О.И. Баренина, М.Г. Узбеков, В.С. Кудрин, П.М. Клодт, Р.У. Островская)

12. **Колесников, А.В.** Перспективы использования прямого антиоксиданта ионола (2,6-дигидротрет-бутил-4-метилфенола) для консервативного лечения катаракты / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // **Казанский медицинский журнал**. – 2017. – Т. 98, № 5. – С. 753-758.

13. Влияние ноопепта на морфологические, электрофизиологические и биохимические изменения в сетчатке при экспериментальном тромбозе ее сосудов / **А.В. Колесников**, А.В. Шулькин, М.В. Писклова [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // **Нейрохимия**. – 2018. – Т. 35, № 1. – С. 70-76. (Соавт.: О.И. Баренина, Е.Н. Якушева, В.С. Кудрин, Р.У. Островская, М.Г. Узбеков, М.М. Шишкин).

14. Влияние ноопепта на нейрохимические изменения в сетчатке при экспериментальном тромбозе ее сосудов / **А.В. Колесников**, А.В. Шулькин, О.И. Баренина [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // **Нейрохимия**. – 2019. – Т. 36, № 1. – С. 71-77. (Соавт.: Е.Н. Якушева, В.С. Кудрин, Р.У. Островская, М.Г. Узбеков, М.М. Шишкин).

Статьи в рецензируемых изданиях, не входящих в Перечень ВАК при Минобрнауки России

15. Локальные изменения свободно-радикального статуса роговицы при экспериментальной гнойной язве / **А.В. Колесников**, О.И. Баренина, А.В. Шулькин, В.И. Коноплева. – Текст (визуальный) : непосредственный // **Наука молодых - Eruditio Juvenium**. – 2013. – №1. – С. 28-32.

Тезисы в сборниках и материалах научных конференций

16. **Колесников, А.В.** Экспериментальное воспроизведение катаракты / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // **Проблемы медицинской науки: сб. тр. молодых исследователей, посвящ. 50-летию Рязан. гос. мед. ун-та им. акад. И.П. Павлова**. – Рязань: РязГМУ, 2000. – С. 3.

17. **Колесников, А.В.** Некоторые биохимические показатели тканей глаза в норме и при дикват-индуцированной катаракте / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) :

- непосредственный // Материалы итоговой науч. студенческой конф. / редкол.: Б.И. Хубутя, О.Е. Коновалов, П.А. Чумаченко [и др.]. – Рязань: РязГМУ, 2001. – С. 3.
18. **Колесников, А.В.** Биохимические аспекты патогенеза экспериментальной дикват-индуцированной катаракты / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // Межрегион. науч. – практ. конф. молодых учёных и студентов с Междунар. участием «Санкт-Петербургские научные чтения – 2002»: сб. тез. докл. – СПб.: Человек, 2002. – С. 46 - 47.
19. **Колесников, А.В.** Изменение активности перекисного окисления липидов мембран клеточных структур хрусталика и некоторых других биохимических показателей хрусталика при дикват-индуцированной катаракте в эксперименте на кроликах / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // Материалы XXXVI Всерос. науч. конф. молодых учёных, посвящ. 300-летию образования в Сибири «Актуальные проблемы теоретической, экспериментальной и клинической медицины» / Тюмен. гос. мед. академия. – Тюмень: Издательский центр «Академия», 2002. – С. 25-26.
20. **Колесников, А.В.** Изменение биохимических показателей хрусталика при индукции катарактогенеза в эксперименте / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // Материалы юбилейной науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию клиники глазных болезней Саратовского государственного медицинского университета: в 2-х ч. / под редакцией В.В. Бакуткина. – Саратов: Издательство «Светопись», 2002. – Ч.1. – С. 96-98.
21. **Колесников, А.В.** Клинико-биохимическая характеристика экспериментальной катаракты, вызванной активацией перекисного окисления липидов мембран клеточных структур хрусталика / А.В. Колесников.–Текст (визуальный): непосредственный // Материалы 67-й межвуз. науч. конф. студентов и молодых учёных: в 2-х ч. – Курск: КГМУ, 2002.– Ч.1. – С.256-258.
22. **Колесников, А.В.** Оценка перекисного окисления липидов мембран клеточных структур хрусталика при индукции катарактогенеза в эксперименте / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // Материалы 50-й Юбил. студенческой науч. конф. с Междунар. участием, посвящ. 80-летию МГМСУ. – М.: УИО МГМСУ, 2002. – С. 91 - 92.
23. **Колесников, А.В.** Перекисное окисление липидов мембран и экспериментальное воспроизведение катаракты / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // Материалы 67-й Респ. итоговой науч. - практ. конф. студентов и молодых учёных Республики Башкортостан «Вопросы теоретической и практической медицины», посвящ. 70-летию БГМУ, Году Здоровья и 55-летию студенческого науч. о-ва БГМУ. – Уфа: БГМУ, 2002. – С. 33-34.
24. **Колесников, А.В.** Некоторые аспекты патогенеза экспериментальной катаракты / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // Актуальные вопросы общей патологии: межрегион. сб. науч. тр. / под ред. д.м.н., проф. Ю.Ю. Бяловского. – Рязань: РязГМУ, 2003. – С. 126.
25. **Колесников, А.В.** Оценка возможности применения экспериментальной дикват-индуцированной модели катаракты для изучения эффективности антикатарактальных препаратов / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // Материалы науч. – практ. конф. молодых учёных / редкол. О.Е. Коновалов, О.М. Урясьев, А.В. Соловьева; РязГМУ. – Рязань: РязГМУ, 2003. – С. 163-164.
26. **Колесников, А.В.** Антиоксидантный эффект масляных капель ионола различных концентраций в ткани хрусталика. Региональная медицинская наука: тенденции и перспективы развития / А.В. Колесников. – Текст (визуальный): непосредственный // Аспирантские чтения–2004: сборник материалов докладов V науч. конф. молодых учёных (Самара, 14 октября 2004 г.).– Самара: ООО «Офорт»; ГОУ ВПО «СамГМУ», 2004. – С. 59-60.
27. **Колесников, А.В.** Выбор оптимальной концентрации глазных масляных капель ионола, обладающей антиоксидантным эффектом в ткани хрусталика / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // Материалы науч.-практ. конф. молодых исследователей, посвящ. 60-летию РязГМУ им. акад. И.П. Павлова. – Рязань, 2004. – С.30-32.
28. **Колесников, А.В.** Направленность влияния на свободно-радикальный статус хрусталика разных доз ионола / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // Сборник

- тез. 9-й Междунар. Пушкинской школы-конференции молодых учёных «Биология – наука XXI века». – Пушино, 2005. – С. 45-46.
29. **Колесников, А.В.** Резорбтивный эффект масляных растворов 2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенола различных концентраций при их инстилляции в конъюнктивальную полость глаза / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // Материалы науч. конф. Рязан. гос. мед. ун-та им. акад. И.П. Павлова. – Рязань, 2005. – Ч.1. – С.47-48.
30. **Колесников, А.В.** Системное действие местного применения масляных глазных капель ионола различных концентраций / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // Материалы науч.-практ. конф. молодых ученых, посвящ. 60-летию со дня Победы в Великой Отечественной войне / редкол.: В.Г. Макарова [и др.]; РязГМУ. – Рязань, 2005. – С.45-46.
31. **Колесников, А.В.** Изучение терапевтической эффективности местного применения 2,2% раствора 2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенола (ионола) при катаракте в эксперименте / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // Сборник материалов XIII Рос. Нац. Конгр. «Человек и лекарство». – Москва, 2006. – С. 170-171.
32. **Колесников, А.В.** Оценка антикатарактального эффекта фенольного антиоксиданта ионола в эксперименте / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // Сборник тез. Всерос. науч. конф. молодых учёных «Актуальные проблемы офтальмологии». – Москва, 2006. – С. 32-33.
33. **Колесников, А.В.** Активность антиоксидантных глутатион-зависимых ферментов при экспериментальной катаракте / А.В. Колесников, В.Г. Макарова, М.А. Колесникова. – Текст (визуальный) : непосредственный // Ерошевские чтения: тр. Всерос. конф., посвящ. 105-летию со дня рождения Героя Социалистического Труда, лауреата Гос. премии СССР, засл. деят. науки РСФСР, чл.-корр. АМН СССР, проф. Т.И. Ерошевского. – Самара, 2007. – С. 203-206.
34. **Колесников, А.В.** Изменения глутатион-зависимого звена антиоксидантной системы хрусталика при окислительном стрессе в эксперименте / А.В. Колесников, В.Г. Макарова, М.А. Колесникова. – Текст (визуальный) : непосредственный // Фёдоровские чтения – 2007: юбил. науч.-практ. конф.: сб. тез. / под ред. Х.П. Тахчиди. – Москва, 2007. – С. 246.
35. Свободно-радикальный статус роговицы при экспериментальной гнойной язве / **А.В. Колесников**, В.И. Коноплева, О.И. Баренина [и др.]. – Текст (визуальный) : непосредственный // Российский общенациональный офтальмологический форум: сб. науч. тр. – Москва, 2009. – Т. 2. – С. 165-167.
36. **Колесников, А.В.** Изменения активности перекисного окисления липидов и состояния антиоксидантной системы роговицы при экспериментальной гнойной язве роговицы / А.В. Колесников, О.И. Баренина. – Текст (визуальный) : непосредственный // Восток-Запад: сб. науч. тр. Междунар. науч.-практ. конф. по офтальмохирургии (Уфа, 22-23 апреля 2010 г.). – Уфа, 2010. – С. 92-94.
37. **Колесников, А.В.** Системные изменения свободно-радикального статуса при экспериментальной гнойной язве роговицы / А.В. Колесников, О.И. Баренина, А.В. Щулькин. – Текст (визуальный) : непосредственный // III Рос. общенациональный офтальмологический форум: сб. науч. тр. – Москва, 2010. – Т.2. – С. 35-38.
38. Окислительный стресс в патогенезе гнойной язвы роговицы / **А.В. Колесников**, О.И. Баренина, А.В. Щулькин, В.Г. Васильев. – Текст (визуальный) : непосредственный // VI Междунар. Крымская конф. «Окислительный стресс и свободно-радикальные патологии»: тез. докл. – Судак (Украина, Крым), 2010. – С. 42.
39. Экспериментальное изучение процессов перекисного окисления липидов при гнойной язве роговицы / **А.В. Колесников**, В.И. Коноплева, О.И. Баренина, А.В. Щулькин. – Текст (визуальный) : непосредственный // Материалы науч. конф. университета, посвящ. 60-летию со дня основания РязГМУ им. акад. И.П. Павлова на Рязанской земле / [под общ. ред. М.М. Лапкина]; РязГМУ. – Рязань, 2010. – С.37-39.
40. **Колесников, А.В.** Антиоксидантный статус хрусталика при экспериментальной катаракте / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // Материалы ежегодной науч. конф. университета / под общ. ред. М.М. Лапкина; РязГМУ. – Рязань, 2011. – С. 26-29.

41. **Колесников, А.В.** Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты при экспериментальной гнойной язве роговицы / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // Сборник науч. тр. конф. по офтальмохирургии с Междунар. участием «Восток-Запад». – Уфа, 2011. – С. 317-317.
42. **Колесников, А.В.** Резорбтивное действие глазных капель Ионала / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // VI Всерос. науч. конф. молодых учёных с участием иностранных специалистов «Актуальные проблемы офтальмологии»: сб. науч. тр. / под ред. Х.П. Тахчиди. – Москва, 2011. – С. 267-268.
43. **Колесников, А.В.** Свободнорадикальный статус роговицы при стафилококковой гнойной язве в эксперименте / А.В. Колесников, В.Г. Лихванцева, О.И. Баренина. – Текст (визуальный) : непосредственный // VI Всерос. науч. конф. молодых учёных с участием иностранных специалистов «Актуальные проблемы офтальмологии»: сб. науч. тр. / под ред. Х.П. Тахчиди. – Москва, 2011. – С. 153-155.
44. **Колесников, А.В.** Экспериментальное исследование дозозависимого антиоксидантного эффекта ионала в ткани хрусталика / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // Сочетанная патология в клинической практике: сб. науч. тр., посвящ. юбилею Засл. деят. науки РФ, профессора Гармаша Владимира Николаевича / сост.: Н.К. Заигрова, Ю.А. Панфилов; под ред. О.М. Урясьева; РязГМУ. – Рязань, 2011. – С. 55-57.
45. **Колесников, А.В.** Экспериментальное моделирование тромбоза ретинальных сосудов / А.В. Колесников, О.И. Баренина. – Текст (визуальный) : непосредственный // IV Всерос. Общенациональный форум : сб. тр. науч.-практ. конф. с Междунар. участием. – Москва, 2011. – Т.1. – С. 402-404.
46. Динамика активности перекисного окисления липидов и состояния антиоксидантной системы роговицы при гнойной язве в эксперименте / **А.В. Колесников, В.И. Коноплева, О.И. Баренина, А.В. Шулькин.** – Текст (визуальный) : непосредственный // Актуальные вопросы медицинской биохимии: сб. науч. тр. по материалам Всерос. науч.-практ. конф. «Биохимические научные чтения памяти академика РАН Е.А. Строева». – Рязань, 2012. – С. 253-255.
47. **Колесников, А.В.** Антиоксидантное средство для консервативного лечения катаракты / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // Роль и место фармакотерапии в современной офтальмологической практике: III Всерос. науч. конгр. с Междунар. участием (Санкт-Петербург, 13-14 декабря 2012 г.): тез. докл. – Санкт-Петербург, 2012. – С. 225-227.
48. **Колесников, А.В.** Дозозависимый эффект ионала в ткани хрусталика при экспериментальной катаракте / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // Роль и место фармакотерапии в современной офтальмологической практике: III Всерос. науч. конгр. с Междунар. участием (Санкт-Петербург, 13-14 декабря 2012 г.): тез. докл. – Санкт-Петербург, 2012. – С. 224-225.
49. **Колесников, А.В.** Клиническая картина экспериментальной стафилококковой гнойной язвы роговицы / А.В. Колесников, О.И. Баренина. – Текст (визуальный) : непосредственный // Сборник науч. тр. науч.-практ. конф. по офтальмологии с Междунар. участием «Восток-Запад». – Уфа, 2012. – С. 337-339.
50. **Колесников, А.В.** Свободно-радикальная модель экспериментальной катаракты / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // Актуальные вопросы медицинской биохимии: сб. науч. тр. по материалам Всерос. науч.-практ. конф. «Биохимические научные чтения памяти академика РАН Е.А. Строева». – Рязань, 2012. – С. 248-252.
51. **Колесников, А.В.** Системные проявления оксидативного стресса при локальном воспалительном процессе глаза в эксперименте / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // Сборник тез. науч.-практ. конф. по офтальмологии с Междунар. участием «Федоровские чтения-2012». – Москва, 2012. – С. 138-139.
52. **Колесников, А.В.** Системный окислительный стресс при стафилококковой гнойной язве роговицы в эксперименте / А.В. Колесников, О.И. Баренина, А.В. Шулькин. – Текст (визуальный) : непосредственный // Актуальные вопросы медицинской биохимии: сб. науч.

- тр. по материалам Всерос. науч.-практ. конф. «Биохимические научные чтения памяти академика РАН Е.А. Строева».– Рязань, 2012. – С. 256-259.
53. **Колесников, А.В.** Сопоставление системных и местных изменений свободнорадикального статуса при экспериментальной гнойной язве роговицы / А.В. Колесников, А.В. Шулькин, О.И. Баренина. – Текст (визуальный) : непосредственный // V Рос. общенациональный офтальмологический форум: сб. науч. тр. науч.-практ. конф. с Междунар. участием (Москва, 3-5 октября 2012 г.) / под ред. В.В. Нероева. – Москва, 2012. – Т.2. – С. 759-762.
54. **Колесников, А.В.** Фотоиндуцированный тромбоз ретинальных сосудов в эксперименте / А.В. Колесников, О.И. Баренина, А.В. Шулькин. – Текст (визуальный) : непосредственный // Сборник науч. тр. науч.-практ. конф. по офтальмологии с Междунар. участием «Восток-Запад». – Уфа, 2012. – С. 280-281.
55. **Колесников, А.В.** Химически индуцированная модель катаракты / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // V Рос. общенациональный офтальмологический форум: сб. науч. тр. науч.-практ. конф. с Междунар. участием (Москва, 3-5 октября 2012) / под ред. В.В. Нероева. – Москва, 2012. – Т. 2. – С. 755-759.
56. Влияние ацетилцистеина на свободно-радикальный статус роговицы при экспериментальной гнойной язве / **А.В. Колесников**, А.В. Шулькин, О.И. Баренина, В.И. Коноплева. – Текст (визуальный) : непосредственный // Восток - Запад: сб. науч. тр. науч.-практ. конф. по офтальмохирургии с Междунар. участием (Уфа, 6-7 июня 2013 г.). – Уфа : ДизайнПресс, 2013. – 313-314.
57. **Колесников, А.В.** Влияние лапрота на течение экспериментальной гнойной язвы роговицы / А.В. Колесников, О.И. Баренина, А.В. Шулькин. – Текст (визуальный) : непосредственный // Первая Всерос. науч.-практ. конф. молодых ученых «Проблемы разработки новых лекарственных средств»: материалы конф. / ФГБУ "НИИ фармакологии им. В.В. Закусова РАМН". – Москва, 2013. – С. 41.
58. **Колесников, А.В.** Воспроизведение модели стафилококковой гнойной язвы роговицы в эксперименте / А.В. Колесников, О.В. Евдокимова, О.И. Баренина. – Текст (визуальный) : непосредственный // Материалы ежегодной науч. конф., посвящ. 70- летию основания РязГМУ им. акад. И.П. Павлова / под общ. ред. Засл. работника высшей школы РФ, проф. В.А.Кирюшина; РязГМУ им. акад. И.П. Павлова. – Рязань, 2013. – С. 55-57.
59. **Колесников, А.В.** Воспроизведение острой окклюзии сетчатки в эксперименте / А.В. Колесников, О.И. Баренина. – Текст (визуальный) : непосредственный // Материалы ежегодной науч. конф., посвящ. 70- летию основания РязГМУ им. акад. И.П. Павлова / под общ. ред. Засл. работника высшей школы Российской Федерации, проф. В.А.Кирюшина; РязГМУ им. акад. И.П. Павлова. – Рязань, 2013. – С. 57-59.
60. **Колесников, А.В.** Оксидативный статус роговицы при экспериментальной гнойной язве на фоне местного применения тиолового антиоксиданта / А.В. Колесников, А.В. Шулькин, О.И. Баренина. – Текст (визуальный) : непосредственный // VI Всерос. общенациональный офтальмологический форум: сб. науч.-практ. конф. с Междунар. участием (Москва, 1-3 октября, 2013 г.) / по ред. В.В. Нероева. – Москва, 2013. – Т. 2. – С. 628-633.
61. **Колесников, А.В.** Применение ацетилцистеина в комплексной терапии гнойной язвы роговицы / А.В. Колесников, А.В. Шулькин, О.И. Баренина. – Текст (визуальный) : непосредственный // Девятая Междунар. Крымская конф. «Окислительный стресс и свободно-радикальные патологии»: тез. докл. – Судак, 2013. – С. 68.
62. **Колесников, А.В.** Свободно-радикальное окисление при разных типах патологии глаза и способы его коррекции / А.В. Колесников, А.В. Шулькин, О.И. Баренина. – Текст (визуальный) : непосредственный // Свободные радикалы и антиоксиданты в химии, биологии и медицине: материалы Междунар. науч.-практ. конф. (Новосибирск, 1-4 октября 2013 г.). – Новосибирск, 2013. – С. 159-160.
63. **Колесников, А.В.** Перекисное окисление липидов иридоцилиарного комплекса при экспериментальной катаракте / А.В. Колесников. – Текст (визуальный) : непосредственный // Актуальные проблемы офтальмологии: IX Всерос. науч. конф. молодых учёных с Междунар.

участием (Москва, 18 июня 2014 г.): тезисы / под ред. проф. Б.Э. Малюгина. – Москва, 2014. – С. 142-145.

64. **Колесников, А.В.** Сравнительный анализ влияния синтетических и природных антиоксидантов на свободно-радикальный статус хрусталика при экспериментальной катаракте / А.В. Колесников, Л.Ю. Сорокина. – Текст (визуальный) : непосредственный // Точка зрения. Восток – Запад. – 2016. – № 3. – С. 35-39.

Публикации Роспатента – Патенты РФ на изобретения

65. Патент № 2297215 РФ, МПК А61К 31/03(2006.01), А61Р 27/12(2006.01). Антиоксидантное средство для лечения катаракты : №2005104750/15 : заявл. 2005.02.21 : опубл. 2007.04.20 / Макарова В.Г. (RU), **Колесников А.В.** (RU); патентообладатели: ГОУ ВПО РязГМУ МЗ РФ (RU). – Текст (визуальный) : непосредственный.

66. Патент № 2602362 РФ, МПК А61К 9/08(2006.01), А61К 38/40(2006.01), А61Р 27/02(2006.01). Способ лечения гнойной язвы роговицы : №2015141371/15 : заявл. 2015.09.30 : опубл. 2016.11.20 / **Колесников А.В.** (RU), Шулькин А.В. (RU), Баренина О.И. (RU), Якубовская Р.И. (RU), Немцова Е.Р. (RU), Панкратов А.А. (RU), Шмаров М.М. (RU), Атауллаханов Р.Р. (RU); патентообладатели: ООО «Пром-Би» (RU). – Текст (визуальный) : непосредственный.

Рацпредложения

1. **Колесников, А.В.** Модификация обработки и заливки хрусталика глаза в целлоидин: рац. предложение №1133 от 2.04.2003 г. / **А.В. Колесников**, М.Н. Мнихович, Е.С. Панкратова. – Рязань, 2003. – Текст (визуальный) : непосредственный.

2. **Колесников, А.В.** Модификация свободно-радикальной модели катаракты: рац. предложение №1209 от 3.10.2006 г. / **А.В. Колесников**. – Рязань, 2006. – Текст (визуальный) : непосредственный.

3. **Колесников, А.В.** Способ моделирования экспериментальной ишемии сетчатки: рац. предложение №1305 от 27.12.2010 г. / **А.В. Колесников**. – Рязань, 2010. – Текст (визуальный) : непосредственный.

Список сокращений

АФК – активные формы кислорода
МДА – малоновый диальдегид
ПОЛ – перекисное окисление липидов
ТБК – тиобарбитуровая кислота
Asp – аспарат
ГАВА - γ-аминомасляная кислота

Glu – глутамат
Gly – глицин
GPx – глутатионпероксидаза
GT – глутатион-S-трансфераза
SOD – супероксиддисмутаза
Tau – таурин