

УДК 617.7-002.3:616.981.25-092.9-085.849.19:615.33

## Динаміка змін імунного статусу кроликів при екзогенному стафілококовому ендодальміті з використанням антимікробної фотодинамічної терапії з метиленовим синім та інтравітреального введення антибіотика

О. В. Зборовська, д-р мед. наук, Н. Б. Курильців, аспірант

ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМН України»  
E-mail: rakhmanovanb@yahoo.com

**Ключові слова:** стафілококовий ендодальміт, імунна відповідь, експеримент, антимікробна фотодинамічна терапія, метиленовий синій, ванкомицин

**Ключевые слова:** стафилококковый эндофтальмит, иммунный ответ, эксперимент, антимикробная фотодинамическая терапия, метиленовый синий, ванкомицин

**Введение.** Проблема изучения влияния антимикробной фотодинамической терапии (АФДТ) с 0,1 % метиленовым синим (МС) самостоятельно и в комбинации с интравитреальным введением (ИВ) антибиотика на иммунный статус кроликов при экзогенном стафилококковом эндофтальмите является актуальной.

**Цель:** провести сравнительный анализ динамики местного и общего иммунитета кроликов при экзогенном стафилококковом эндофтальмите с использованием АФДТ с 0,1 % МС и ИВ 1,0 мг ванкомицина самостоятельно, а также с использованием этих методик в комплексе.

**Материал и методы.** В эксперименте проведено исследование на четырех группах кроликов (породы шиншилла) с моделированным экзогенным стафилококковым эндофтальмитом: I — без лечения, II — АФДТ з 0,1 % МС, III — ИВ 1,0 мг ванкомицина, IV — АФДТ з МС и ИВ 1,0 мг ванкомицина.

**Результаты.** Во II и III группах кроликов динамика иммунного статуса не отличалась, нормализация показателей иммунитета происходила на 21–30 дни эксперимента, тогда как в IV группе животных — уже с 10 дня исследования.

**Вывод.** Комплексное использование АФДТ с 0,1 % МС и ИВ 1,0 мг ванкомицина дает возможность уже с 10 дня эксперимента достичь нормализации иммунологических показателей кроликов и устранения аутоиммунного компонента воспалительного процесса. В то же время, при использовании данных методов лечения по отдельности этот результат наблюдается только с 21 дня эксперимента.

## Dynamics of immune response to exogenous *Staphylococcus aureus* endophthalmitis with using antibacterial photodynamic therapy with methylene blue and intravitreal antibiotic in a rabbit model

Zborovska O. V., Kuryltsiv N. B.

The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of Ukrainian National medical academy, Odessa, Ukraine

**Key words:** *Staphylococcus aureus* endophthalmitis, immune response, experiment, antibacterial photodynamic therapy, methylene blue, Vancomycin

**Introduction.** It is necessary to study the influence of antibacterial photodynamic therapy (APDT) with 0.1 % methylene blue (MB) alone and in combination with intravitreal injection (IVI) of the antibiotic on the immune response to exogenous *Staphylococcus aureus* endophthalmitis.

**Purpose:** to make a comparative analysis of the dynamics of local and general immune response to exogenous *Staphylococcus aureus* endophthalmitis with using APDT with 0.1 % MB and IVI of 1.0 mg Vancomycin independently, as well as using these techniques in the complex.

**Material and methods.** In the experimental study four groups of rabbits are presented: I — without using any treatment, II — APDT with 0.1 % MB, III — IVI of 1.0 mg Vancomycin, IV — APDT with 0.1 % MB and IVI of 1.0 mg Vancomycin.

**Results:** In the groups II and III dynamics of immune response did not differ, the normalization of the indices of immunity occurred at 21–30 days of the experiment, when the IV group of animals from the 10-day study.

**Conclusions.** Using of APDT with 0.1 % MB and IVI of 1.0 mg Vancomycin together led to normalization of immune status of rabbit and elimination from the inflammatory process autoimmune component from day 10. At the same time, using these methods separately led to the same result, but only from the day 21.

**Вступ.** В наш час приділяється немало уваги вивченню та пошуку нових методів лікування інфекційних захворювань, в тому числі бактерійного ендодфальміту, оскільки існує ряд факторів, що спричиняють недостатню ефективність антибактеріальної дії традиційних методів лікування. Прогрес в галузі молекулярної біології, медицини та лазерних технологій на початку двадцятого століття визначив досягнення в розробці перспективних методів антимікробної терапії багатьох захворювань. Серед цих методів ми виділяємо антимікробну фотодинамічну терапію (АФДТ) [5]. Розвиток бактерійного ендодфальміту, як будь-якого інфекційного захворювання, є результатом складної взаємодії збудника і захисних систем організму (в тому числі системи імунного захисту). Питання імунного статусу при інфекційному ендодфальміті та впливу на нього різних методів лікування недостатньо вивчене в наш час.

Тому, **метою** нашого дослідження було провести порівняльний аналіз динаміки місцевої та загальної імунної відповіді у кроликів з екзогенним стафілококовим ендодфальмітом при використанні АФДТ з 0,1 % МС та інтравітреального введення (ІВ) 1,0 мг ванкоміцину самостійно, а також при застосуванні цих двох методик в комплексі.

### Матеріал і методи

Проведено експериментальне дослідження на 120 здорових кроликах (породи шиншила), масою тіла 2,5–3 кг. Усі тварини знаходились в однакових стандартних умовах та на стандартному раціоні харчування. Всім тваринам (240 очей) було введено інтравітреально 0,1 мл культури музейного штаму мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 25923F-49 ( $1,5 \times 10^5$  КОЕ/см<sup>3</sup>), і змодельовано екзогенний стафілококовий ендодфальміт [3]. Далі всі тварини були поділені на чотири групи (по 30 кроликів в кожній). В I групі (контрольній) — без проведення лікування, в II групі — проводилась антимікробна фотодинамічна терапія з 0,1 % метиленовим синім, в III групі — інтравітреальне введення 1,0 мг ванкоміцину, в IV групі — антимікробна фотодинамічна терапія з 0,1 % метиленовим синім та інтравітреальне введення 1,0 мг ванкоміцину.

Імунологічний статус оцінювали в усіх тварин перед інфікуванням (ми позначимо це, як 0 день експерименту) та у дні виводу тварин з експерименту (на 3, 7, 10, 14, 21 та 30 дні). Дослідження загального імунологічного статусу на лабораторних тваринах проводилося за стандартною методикою, запропонованою лабораторією імунології ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМН України», за допомогою методів прискореної первинної оцінки імунологічного статусу. Для цього з маргінальної вухної вени кролика був проведений забір венозної крові. Методика включала визначення кількості лейкоцитів, лімфоцитів, Т-лімфоцитів, Т--хелперів, Т--супресорів, В-лімфоцитів, фагоцитуючих нейтрофілів (ФН), розеткоутворюючих нейтрофілів (РУН), а також індексу навантаження імунітету (ІНІ) та імунорегуляторного індексу (ІРІ) [1,2]. Дослідження місцевого імунітету реалізувалось за допомогою цитологічного дослідження кон'юнктиви (кількість епітеліальних клітин та пластів на 100 клітин, кількість під-

типів лейкоцитів на 100 клітин в лейкоцитарній формулі та індекс співвідношення кількості лейкоцитів і лімфоцитів ( ІСЛ/ЛІМ) [4].

Статистична обробка отриманих даних проводилась за допомогою комп'ютерної програми «Statistica 10.0». Були обчислені середня арифметична величина (М) та стандартна помилка середнього (m). Достовірною вважали різницю при  $p \leq 0,05$  (за t — критерієм Стьюдента).

### Результати дослідження та їх обговорення

В усіх чотирьох досліджуваних групах тварин вже на 2 добу після інюкуляції *Staphylococcus aureus* були відмічені перші клінічні прояви ендодфальміту (кон'юнктивальна ін'єкція, хемоз, набряк рогівки), розвиток якого підтверджувався активною імунною відповіддю вже на 3 добу експерименту. При оцінці динаміки загального імунного статусу кроликів враховували неспецифічну, клітинну та гуморальну ланки імунітету, та результати аналізували комплексно. Неспецифічну імунну відповідь характеризували: абсолютна кількість лейкоцитів, відносна та абсолютна кількість фагоцитуючих нейтрофілів, відносна кількість розеткоутворюючих нейтрофілів (РУН) та індекс навантаження імунітету (ІН). В контрольній групі кроликів у всі дні експерименту відмічається значима різниця вищевказаних показників з іншими трьома групами. В групі з використанням комбінованого лікування нормалізація кількості лейкоцитів та РУН відбулась на 14 добу експерименту, ФН — на 30 та ІНІ — на 21 добу дослідження. В II та III групах показники неспецифічного імунітету поступово нормалізувались до 30 доби експерименту. Порівняльні дані вищевказаних показників в динаміці у всіх групах представлені у таблицях 1, 2, 3 та на рис. 1.

При вивченні клітинної ланки імунітету, враховувались абсолютна та відносна кількість лімфоцитів, Т-лімфоцитів, Т-лімфоцитів-хелперів, Т-лімфоцитів-супресорів, а також їх співвідношення (ІРІ). Підвищення рівня ІРІ характеризує включення в запальний процес автоімунного компоненту, який є руйнівним для тканин ока. Це спо-

**Таблиця 1.** Абсолютна кількість лейкоцитів ( $10^9$ /л) у кроликів з екзогенним стафілококовим ендодфальмітом без лікування, з застосуванням АФДТ з 0,1 % метиленовим синім та інтравітреального введення 1,0 мг ванкоміцину ( $M \pm m$ )

| Дні | Лейкоцити |          |           |             |
|-----|-----------|----------|-----------|-------------|
|     | I         | II       | III       | IV          |
| 0   | 4,3±0,1   | 4,7±0,2  | 4,7±0,01* | 4,9±0,01*°  |
| 3   | 8,6±0,1   | 7,7±0,2* | 9,2±0,1** | 9,5±0,1**°  |
| 7   | 11,0±0,4  | 10,0±0,3 | 9,4±0,1   | 8,0±0,2*    |
| 10  | 11,0±0,2  | 8,1±0,3* | 8,3±0,3*  | 5,7±0,02**° |
| 14  | 11,0±0,3  | 6,4±0,5* | 6,2±0,4*  | 5,0±0,02**° |
| 21  | 10,0±0,4  | 6,1±0,3* | 6,1±0,1*  | 5,7±0,4*    |
| 30  | 9,0±0,3   | 6,0±0,3* | 5,0±0,4*  | 4,7±0,4**   |

Примітка: \* —  $p < 0,05$  в порівнянні з I групою, ° —  $p < 0,05$  в порівнянні з II групою, \*\* —  $p < 0,05$  в порівнянні з III групою.

## Експериментальні дослідження

**Таблиця 2.** Абсолютна та відносна кількість фагоцитуючих нейтрофілів ( $10^9/л$ , %) у крові кроликів з екзогенним стафілококовим ендодальмітом без лікування, з застосуванням АФДТ з 0,1 % метиленовим синім та інтравітреального введення 1,0 мг ванкомицину ( $M \pm m$ )

| Дні | Фагоцитуючі нейтрофіли |                |                  |                  |                           |                            |                            |                            |
|-----|------------------------|----------------|------------------|------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|     | I                      |                | II               |                  | III                       |                            | IV                         |                            |
|     | $10^9/л$               | %              | $10^9/л$         | %                | $10^9/л$                  | %                          | $10^9/л$                   | %                          |
| 0   | $1,7 \pm 0,03$         | $53,1 \pm 1,1$ | $1,7 \pm 0,06$   | $54,4 \pm 0,7$   | $1,6 \pm 0,03$            | $52,2 \pm 0,8$             | $1,8 \pm 0,05$             | $53,0 \pm 0,6$             |
| 3   | $3,4 \pm 0,06$         | $62,8 \pm 0,3$ | $3,2 \pm 0,03^*$ | $72,0 \pm 0,3^*$ | $3,6 \pm 0,08$            | $67,2 \pm 0,6^{* \square}$ | $3,8 \pm 0,06^{* \square}$ | $68,1 \pm 0,7^{* \square}$ |
| 7   | $4,5 \pm 0,03$         | $82,4 \pm 0,7$ | $4,1 \pm 0,06^*$ | $66,3 \pm 1,0^*$ | $4,0 \pm 0,05^*$          | $63,6 \pm 0,8^{* \square}$ | $3,2 \pm 0,07^{* \square}$ | $59,6 \pm 0,7^{* \square}$ |
| 10  | $4,7 \pm 0,1$          | $82,3 \pm 0,5$ | $3,1 \pm 0,03^*$ | $56,4 \pm 0,7^*$ | $3,4 \pm 0,1^{* \square}$ | $57,5 \pm 0,6^*$           | $2,3 \pm 0,07^{* \square}$ | $54,3 \pm 0,6^{* \square}$ |
| 14  | $4,3 \pm 0,05$         | $73,5 \pm 0,8$ | $1,9 \pm 0,07^*$ | $57,3 \pm 1,2^*$ | $2,9 \pm 0,1^{* \square}$ | $56,7 \pm 1,1^*$           | $1,9 \pm 0,06^{* \square}$ | $54,7 \pm 0,9^*$           |
| 21  | $3,9 \pm 1,1$          | $72,1 \pm 1,0$ | $2,0 \pm 0,1^*$  | $58,2 \pm 1,0^*$ | $2,5 \pm 0,1^{* \square}$ | $59,9 \pm 2,0^*$           | $2,0 \pm 0,09^{* \square}$ | $55,3 \pm 1,4^*$           |
| 30  | $3,0 \pm 0,08$         | $63,6 \pm 1,5$ | $2,4 \pm 0,02^*$ | $56,5 \pm 0,9^*$ | $2,2 \pm 0,2^*$           | $59,4 \pm 2,4$             | $1,7 \pm 0,1^{* \square}$  | $54,1 \pm 0,6^*$           |

Примітка: \* —  $p < 0,05$  в порівнянні з I групою, ° —  $p < 0,05$  в порівнянні з II групою, □ —  $p < 0,05$  в порівнянні з III групою.

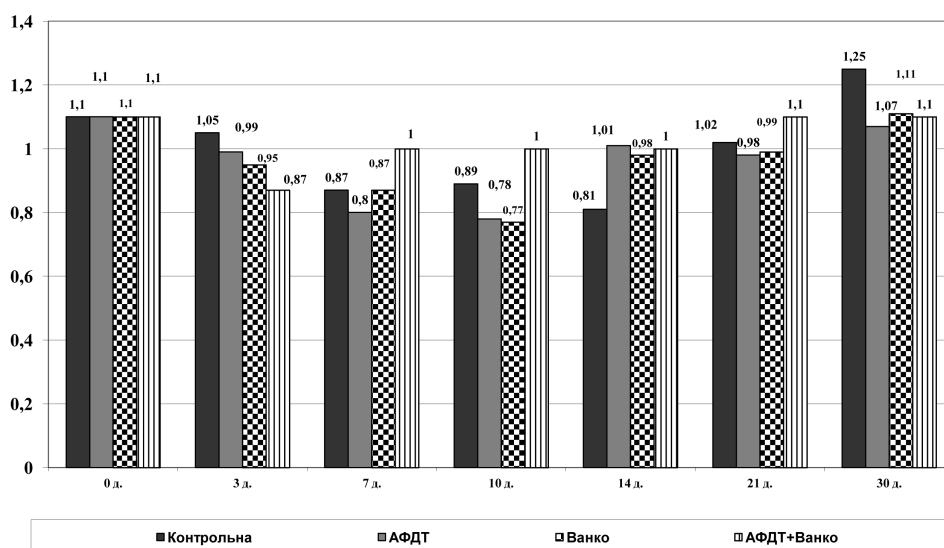
**Таблиця 3.** Відносна кількість розеткоутворюючих нейтрофілів (%) в крові кроликів з екзогенним стафілококовим ендодальмітом без лікування, з застосуванням АФДТ з 0,1 % метиленовим синім та інтравітреального введення 1,0 мг ванкомицину ( $M \pm m$ )

| Дні | РУН            |                  |                            |                            |
|-----|----------------|------------------|----------------------------|----------------------------|
|     | I              | II               | III                        | IV                         |
| 0   | $56,4 \pm 0,9$ | $55,1 \pm 0,6$   | $54,1 \pm 0,5^*$           | $55,2 \pm 0,7$             |
| 3   | $61,8 \pm 0,7$ | $67,3 \pm 0,7^*$ | $67,5 \pm 0,6^*$           | $67,9 \pm 0,6^*$           |
| 7   | $81,0 \pm 0,4$ | $73,2 \pm 1,0^*$ | $64,0 \pm 1,0^{* \square}$ | $59,8 \pm 0,7^{* \square}$ |
| 10  | $84,8 \pm 0,6$ | $62,1 \pm 0,8^*$ | $63,1 \pm 1,0^*$           | $57,6 \pm 0,6^{* \square}$ |
| 14  | $69,5 \pm 0,8$ | $67,4 \pm 0,9$   | $57,7 \pm 0,9^*$           | $57,4 \pm 1,0^{* \square}$ |
| 21  | $67,4 \pm 0,6$ | $60,3 \pm 1,7^*$ | $58,4 \pm 0,9^*$           | $53,6 \pm 0,9^{* \square}$ |
| 30  | $63,4 \pm 1,0$ | $52,2 \pm 1,7^*$ | $53,4 \pm 1,8^*$           | $53,8 \pm 0,3^*$           |

Примітка: \* —  $p < 0,05$  в порівнянні з I групою, ° —  $p < 0,05$  в порівнянні з II групою, □ —  $p < 0,05$  в порівнянні з III групою.

стерігається в усіх досліджуваних групах, але швидко зникає в IV групі кроликів (вже на 7 добу) та поступово нормалізується в II та III групах на 30 та 21 дні відповідно (табл. 7). Крім того, пригнічення лімфоцитозу відбувається вже на 14 добу експерименту при використанні комбінованого лікування, до 21 доби при використанні АФДТ з 0,1 % МС та до 30 доби — після інтравітреального введення 1,0 мг ванкомицину (табл. 4–6).

Гуморальну ланку імунітету в нашому випадку характеризували показники абсолютної та відносної кількості В-лімфоцитів (табл. 8). Дана ланка імунітету переважає при бактерійній інфекції з позаклітинним існуванням, в тому числі при стафілококовій інфекції. В усіх групах відмічався В-лімфоцитоз



**Рис. 1.** Порівняльний аналіз індексу навантаження імунітету у кроликів з екзогенним стафілококовим ендодальмітом без лікування, з застосуванням АФДТ з 0,1 % метиленовим синім та інтравітреального введення 1,0 мг ванкомицину

**Таблиця 4.** Абсолютна та відносна кількість лімфоцитів ( $10^9/л$ , %) у крові кроликів з екзогенним стафілококовим ендoftальмітом без лікування, з застосуванням АФДТ з 0,1 % метиленовим синім та інтравітреального введення 1,0 мг ванкомицину ( $M \pm m$ )

| Дні | Лімфоцити |          |          |           |           |             |             |             |
|-----|-----------|----------|----------|-----------|-----------|-------------|-------------|-------------|
|     | I         |          | II       |           | III       |             | IV          |             |
|     | $10^9/л$  | %        | $10^9/л$ | %         | $10^9/л$  | %           | $10^9/л$    | %           |
| 0   | 1,0±0,01  | 26,2±0,8 | 1,0±0,01 | 26,0±0,5  | 1,0±0,01  | 24,6±0,5    | 1,0±0,01    | 25,2±0,7    |
| 3   | 2,6±0,01  | 32,7±0,4 | 2,5±0,1  | 34,6±0,4* | 2,8±0,1** | 32,4±0,6    | 2,7±0,1     | 32,5±0,5    |
| 7   | 3,1±0,1   | 36,2±0,6 | 3,6±0,1* | 34,4±0,6* | 2,9±0,1°  | 33,6±0,7*   | 2,7±0,01**□ | 32,0±0,7**° |
| 10  | 3,8±0,01  | 38,8±0,4 | 3,2±0,1* | 32,8±0,6* | 2,8±0,1** | 31,3±0,5*   | 2,0±0,1**□  | 28,0±0,7**□ |
| 14  | 3,0±0,1   | 36,5±0,7 | 3,1±0,1  | 27,7±1,0* | 3,0±0,1   | 32,5±1,0**° | 1,9±0,01**□ | 27,1±0,7**□ |
| 21  | 2,7±0,1   | 35,1±0,8 | 2,0±0,1* | 26,8±1,1* | 2,1±0,01* | 32,7±1,3°   | 1,2±0,1**□  | 27,1±1,1**□ |
| 30  | 2,2±0,2   | 29,5±0,9 | 1,1±0,1* | 25,0±0,6* | 1,3±0,2*  | 26,4±0,9*   | 1,1±0,01*   | 26,2±0,4*   |

Примітка: \* —  $p < 0,05$  в порівнянні з I групою, ° —  $p < 0,05$  в порівнянні з II групою, □ —  $p < 0,05$  в порівнянні з III групою.

**Таблиця 5.** Абсолютна та відносна кількість Т-лімфоцитів ( $10^9/л$ ; %) у крові кроликів з екзогенним стафілококовим ендoftальмітом без лікування, з застосуванням АФДТ з 0,1 % метиленовим синім та інтравітреального введення 1,0 мг ванкомицину ( $M \pm m$ )

| Дні | Т-лімфоцити |          |            |           |            |            |             |             |
|-----|-------------|----------|------------|-----------|------------|------------|-------------|-------------|
|     | I           |          | II         |           | III        |            | IV          |             |
|     | $10^9/л$    | %        | $10^9/л$   | %         | $10^9/л$   | %          | $10^9/л$    | %           |
| 0   | 0,7±0,03    | 61,8±1,1 | 0,7±0,04   | 62,0±0,9  | 0,8±0,01*  | 61,6±1,1   | 0,9±0,03*   | 62,2±0,7    |
| 3   | 1,4±0,01    | 62,8±0,6 | 1,4±0,02   | 67,2±0,7* | 2,3±0,06** | 67,3±0,5*  | 2,3±0,03**  | 57,7±0,5**□ |
| 7   | 2,1±0,003   | 76,5±0,1 | 2,5±0,04*  | 70,2±1,0* | 2,1±0,04   | 65,2±0,8** | 0,9±0,02*   | 61,8±0,6**□ |
| 10  | 2,8±0,01    | 76,1±0,6 | 1,3±0,02*  | 65,4±0,6* | 1,3±0,01*  | 63,3±1,0*  | 0,9±0,05**□ | 62,6±1,0**° |
| 14  | 2,3±0,04    | 72,1±2,9 | 1,2±0,07*  | 59,6±0,9* | 1,4±0,07** | 59,9±0,8*  | 1,0±0,05**□ | 63,2±0,9**° |
| 21  | 1,8±0,01    | 67,7±0,7 | 1,05±0,07* | 59,0±1,2* | 1,2±0,04*  | 58,3±1,4*  | 0,7±0,01*   | 63,1±1,1**□ |
| 30  | 1,3±0,03    | 68,8±0,9 | 0,9±0,05*  | 59,4±1,3* | 1,0±0,07*  | 60,6±1,2*  | 0,8±0,06*   | 62,2±1,3*   |

Примітка: \* —  $p < 0,05$  в порівнянні з I групою, ° —  $p < 0,05$  в порівнянні з II групою, □ —  $p < 0,05$  в порівнянні з III групою.

**Таблиця 6.** Відносна кількість Т-лімфоцитів-хелперів та Т-лімфоцитів-супресорів ( $10^9/л$ ; %) у крові кроликів з екзогенним стафілококовим ендoftальмітом без лікування, з застосуванням АФДТ з 0,1 % метиленовим синім та інтравітреального введення 1,0 мг ванкомицину ( $M \pm m$ )

| Дні | Т-лімфоцити-хелпери |           |             |             | Т-лімфоцити-супресори |           |            |             |
|-----|---------------------|-----------|-------------|-------------|-----------------------|-----------|------------|-------------|
|     | I                   | II        | III         | IV          | I                     | II        | III        | IV          |
|     | %                   | %         | %           | %           | %                     | %         | %          | %           |
| 0   | 43,2±1,0            | 44,1±1,0  | 43,5±1,1    | 41,7±1,0    | 17,4±0,6              | 18,6±0,5  | 17,8±0,3   | 17,6±0,6    |
| 3   | 58,0±1,1            | 72,0±2,1* | 62,4±1,7**° | 60,4±1,7°   | 10,9±0,2              | 14,0±0,4* | 10,7±0,3°  | 9,8±0,3**□  |
| 7   | 63,9±1,5            | 57,4±2,4* | 56,5±1,3*   | 52,2±1,7**□ | 11,3±0,3              | 12,0±0,4  | 10,6±0,2°  | 14,3±0,5**□ |
| 10  | 85,8±3,1            | 49,5±0,8* | 52,0±2,2*   | 40,4±1,5**□ | 11,8±0,4              | 13,5±0,4* | 13,7±0,4*  | 15,5±0,5**□ |
| 14  | 62,9±2,9            | 37,5±1,0* | 43,0±1,7**° | 42,7±1,2**° | 13,9±0,6              | 12,3±0,5* | 14,7±0,6°  | 16,1±0,5**□ |
| 21  | 63,8±3,3            | 43,0±1,3* | 37,1±1,2**° | 42,7±1,9**□ | 10,6±0,5              | 15,1±0,7* | 13,1±0,8*  | 16,8±0,6**□ |
| 30  | 71,0±3,0            | 44,2±2,4* | 44,4±2,9*   | 44,8±1,6*   | 12,4±1,2              | 18,2±0,7* | 15,8±0,7** | 18,2±1,0**□ |

Примітка: \* —  $p < 0,05$  в порівнянні з I групою, ° —  $p < 0,05$  в порівнянні з II групою, □ —  $p < 0,05$  в порівнянні з III групою.

**Таблиця 7.** Імунорегуляторний індекс у кроликів з екзогенним стафілококовим ендoftальмітом без лікування, з використанням Ванкомицину та АФДТ з 0,1 % метиленовим синім ( $M \pm m$ )

| Групи | 0 день  | 3 день     | 7 день     | 10 день    | 14 день    | 21 день    | 30 день  |
|-------|---------|------------|------------|------------|------------|------------|----------|
| I     | 2,4±0,1 | 5,4±0,1    | 5,7±0,1    | 7,3±0,1    | 4,5±0,1    | 6,1±0,3    | 3,8±0,3  |
| II    | 2,6±0,1 | 5,2±0,1    | 4,8±0,2*   | 3,7±0,1*   | 3,1±0,1*   | 2,9±0,1*   | 2,4±0,1* |
| III   | 2,6±0,1 | 5,9±0,2**° | 5,4±0,1**° | 3,7±0,1*   | 2,9±0,1*   | 2,9±0,2*   | 2,8±0,2* |
| IV    | 2,5±0,1 | 6,2±0,2**□ | 3,7±0,1**□ | 2,7±0,1**□ | 2,7±0,1**° | 2,6±0,1**□ | 2,5±0,1* |

вже з 3 доби дослідження, без повернення до норми в контрольній групі, що є свідченням генералізації з переходом в хронізацію внутрішньоочного запалення. В той же час в II та III групах показник нор-

ми В-лімфоцитів спостерігався на 30 добу, а в IV групі — з 21 доби експерименту (табл.8).

Крім того, були проаналізовані показники місцевого імунітету чотирьох досліджуваних груп. При

оцінці цитології кон'юнктиви контрольної групи кроликів кількість епітеліальних клітин та пластів була зменшена на всі дні дослідження (3, 7, 14, 21, 30), кількість лімфоцитів виросла в 1,5 рази на 3, 7, 10 та 14 день дослідження, нейтрофілів була підвищена в 2,5–3 рази у всі дні. У всіх полях зору з 3 дня та до кінця експерименту в контрольній групі спостерігалась велика кількість некротичних та бактеріальних клітин, що не відмічалось у решті груп вже з 7 дня дослідження. В IV групі вже з 10 доби кількість лімфоцитів та з 14 доби нейтрофілів відповідає нормі, що спостерігалось на 21 та 30 доби в II та III групах (табл.9).

Індекс співвідношення лейкоцитів до лімфоцитів в усіх групах мав тенденцію до зменшення, в I групі не повернувся до норми, а в II та III групах поступово нормалізувався до 30 доби дослідження, тоді як в групі з комбінованим лікуванням

(IV) це відмічалось вже з 21 доби експерименту (табл.10).

Отже, в контрольній групі кількісна характеристика всіх показників імунограми мала тенденцію до зростання до 14 дня експерименту та скачків до 30 дня дослідження, запальний процес мав тенденцію до генералізації, а в подальшому і хронізації. А саме, про генералізацію запального процесу з абсцедуванням свідчили наступні зміни: до 10 дня експерименту значне зростання лейкоцитозу, місцевого та загального нейтрофіліозу, збільшення кількості Т-лімфоцитів, збереження високої кількості фагоцитів при зниженні їхньої адгезивної функції. Про хронізацію внутрішньоочного запалення в контрольній групі також свідчили і наступні лабораторні ознаки: збереження лейкоцитозу до кінця експерименту, підвищення абсолютної, відносної кількості лімфоцитів та високий рівень ІРІ до кінця експери-

**Таблиця 8.** Абсолютна та відносна кількість В-лімфоцитів ( $10^9/л.$ , %) у крові кроликів з екзогенним стафілококовим ендoftальмітом без лікування та з використанням АФДТ з 0,1 % метиленовим синім ( $M \pm m$ )

| Дні | В-лімфоцити |          |           |           |            |            |              |             |
|-----|-------------|----------|-----------|-----------|------------|------------|--------------|-------------|
|     | I           |          | II        |           | III        |            | IV           |             |
|     | $10^9/л$    | %        | $10^9/л$  | %         | $10^9/л$   | %          | $10^9/л$     | %           |
| 0   | 0,08±0,04   | 7,4±0,4  | 0,1±0,04* | 9,5±0,4*  | 0,1±0,05*  | 9,4±0,5    | 0,1±0,004*   | 9,8±0,5     |
| 3   | 0,3±0,01    | 12,5±0,3 | 0,3±0,02  | 12,4±0,2  | 0,4±0,01** | 15,2±0,5** | 0,6±0,007**□ | 16,2±0,4**□ |
| 7   | 0,2±0,01    | 7,5±0,2  | 0,7±0,03* | 19,7±0,6* | 0,4±0,02** | 16,8±0,5** | 0,3±0,1**□   | 12,0±0,4**□ |
| 10  | 0,2±0,06    | 6,0±0,2  | 0,3±0,02* | 13,0±0,6* | 0,3±0,01*  | 13,9±0,4*  | 0,2±0,01     | 10,2±0,4**□ |
| 14  | 0,4±0,01    | 17,5±0,7 | 0,2±0,01* | 9,5±0,6*  | 0,2±0,02*  | 11,1±0,6** | 0,1±0,08**□  | 10,8±0,6**□ |
| 21  | 0,4±0,04    | 14,8±0,9 | 0,2±0,09* | 8,0±0,9*  | 0,2±0,03*  | 10,8±0,7** | 0,1±0,06**□  | 9,2±0,5**□  |
| 30  | 0,3±0,01    | 12,8±0,8 | 0,2±0,01* | 8,3±0,5*  | 0,2±0,03*  | 8,6±0,9*   | 0,09±0,06**□ | 9,8±1,1**□  |

Примітка: \* —  $p < 0,05$  в порівнянні з I групою, ° —  $p < 0,05$  в порівнянні з II групою, □ —  $p < 0,05$  в порівнянні з III групою.

**Таблиця 9.** Відносна кількість лімфоцитів (%) та нейтрофілів (%) в мазках-відбитках кон'юнктиви кроликів з екзогенним стафілококовим ендoftальмітом без лікування, з застосуванням АФДТ з 0,1 % метиленовим синім та інтравітреального введення 1,0 мг ванкомицину ( $M \pm m$ )

| Дні | Лімфоцити, % |           |            |             | Нейтрофіли, % |           |            |             |
|-----|--------------|-----------|------------|-------------|---------------|-----------|------------|-------------|
|     | I            | II        | III        | IV          | I             | II        | III        | IV          |
| 0   | 25,6±0,7     | 25,7±0,6  | 24,0±0,8   | 24,3±0,7    | 18,8±0,5      | 20,2±0,7  | 18,9±0,8   | 19,4±0,8    |
| 3   | 38,6±0,2     | 26,8±0,2* | 33,0±0,6** | 35,2±0,7**□ | 50,6±0,2      | 40,3±0,2* | 51,5±0,9°  | 51,5±0,9°   |
| 7   | 40,2±0,3     | 37,8±0,6* | 35,3±0,6** | 29,3±0,6**□ | 53,5±0,5*     | 40,1±1,0* | 41,3±0,8*  | 26,2±0,9**□ |
| 10  | 41,6±0,3     | 35,4±0,3* | 32,5±0,7** | 24,2±0,6**□ | 48,0±0,3      | 32,3±0,4* | 27,0±1,4** | 32,3±0,4**□ |
| 14  | 36,0±0,5     | 31,6±0,7* | 30,0±0,9*  | 23,9±0,7**□ | 42,6±0,7      | 27,7±1,0* | 29,5±0,7*  | 20,6±0,5**□ |
| 21  | 37,2±1,4     | 24,7±0,8* | 24,9±1,1*  | 24,6±0,8*   | 52,8±0,6      | 24,7±0,5* | 21,7±0,5** | 21,0±1,0**  |
| 30  | 28,7±0,2     | 24,0±1,2* | 23,6±0,7*  | 25,8±1,8*   | 26,7±0,4      | 21,5±1,1* | 21,2±0,9*  | 22,7±1,3*   |

Примітка: \* —  $p < 0,05$  в порівнянні з I групою, ° —  $p < 0,05$  в порівнянні з II групою, □ —  $p < 0,05$  в порівнянні з III групою.

**Таблиця 10.** Індекс співвідношення лейкоцитів до лімфоцитів в мазках-відбитках кон'юнктиви кроликів з екзогенним стафілококовим ендoftальмітом без лікування, з застосуванням АФДТ з 0,1 % метиленовим синім та інтравітреального введення 1,0 мг ванкомицину ( $M \pm m$ )

| Групи | 0 день      | 3 день      | 7 день      | 10 день    | 14 день     | 21 день    | 30 день   |
|-------|-------------|-------------|-------------|------------|-------------|------------|-----------|
| I     | 1,5±0,01    | 0,8±0,01    | 0,7±0,01    | 0,8±0,01   | 0,8±0,01    | 0,9±0,01   | 0,9±0,01  |
| II    | 1,2±0,01*   | 0,6±0,01*   | 0,9±0,01*   | 0,9±0,01*  | 0,9±0,01*   | 1,0±0,01*  | 1,1±0,01* |
| III   | 1,3±0,01**  | 0,7±0,01**  | 0,9±0,01*   | 1,0±0,01** | 1,0±0,01**  | 1,1±0,01** | 1,1±0,01* |
| IV    | 1,25±0,01** | 1,0±0,01**□ | 1,0±0,01**□ | 1,2±0,1**□ | 1,2±0,01**□ | 1,2±0,1**□ | 1,2±0,1*  |

менту, показник ІНІ починав рости в кінці експерименту, збільшення кількості В-лімфоцитів відбувалося на ранніх стадіях. Крім того, зсуви імунограми на пізніх стадіях менш виражені, ніж на ранніх. Жодний показник як загального, так і місцевого імунного статусу не повернувся до норми.

В решті трьох груп динаміка змін імунного статусу була схожа, тільки відрізнялась по термінам досягнення норми показників. Так, спостерігалась заміна нейтрофільної фази імунної відповіді на лімфоцитарну вже в стадії розпалу, та в стадії реконвалесценції лімфоцитоз поступово знижувався до повної нормалізації. В період розпалу клінічних проявів ендoftальміту ІРІ досягнув високих показників за рахунок високого відсоткового складу Т-хелперів, а в період реконвалесценції показник зменшився, за рахунок наростання Т-супресорів. Комплексне застосування антимікробної фотодинамічної терапії з 0,1 % метиленовим синім та інтравітреального 1,0 мг ванкоміцину при лікуванні експериментального стафілококового ендoftальміту призвело до швидкої нормалізації показників імунного статусу кроликів (з 10 дня експерименту),

виключення з процесу автоімунного компоненту, що дозволяє зберегти зоровий аналізатор експериментальних тварин. Подібної картини вдалося досягти в II та в III групах кроликів, але з 21 дня експерименту.

### Висновки

1. В групі тварин з експериментальним стафілококовим ендoftальмітом, які не отримували лікування, внутрішньоочне запалення мало швидкий деструктивний характер з гіперактивною імунною відповіддю, що призводило до втрати ока як анатомічного органа.

2. В групах кроликів, де проводились АФДТ з 0,1 % МС або інтравітреальне введення 1,0 мг ванкоміцину самостійно, з 21 доби дослідження відбувалась поступова нормалізація показників місцевого та загального імунного статусу.

3. Комплексне використання АФДТ з 0,1 % МС та ІВ 1,0 мг ванкоміцину дозволяє вже з 10 доби експерименту досягти нормалізації показників імунного статусу кроликів та виключення з запального процесу автоімунного компоненту.

### Література

1. Глузман Д. Ф. Диагностическая иммуноцитохимия опухолей / Д. Ф. Глузман, А. М. Складенко, В. А. Нагорная. — К. : Морион, 2003. — 136 с.
2. Дегтяренко Т. В. Адаптационное значение иммунного гомеостаза при глазных заболеваниях / Т. В. Дегтяренко // Офтальмол. журн. — 1997. — № 1. — С. 1–4.
3. Зборовская А. В. Экспериментальная модель бактериального эндoftальмита / Зборовская А. В., Кустрин Т. Б., Насинник И. О. // Офтальмол. журн. — 2011. — № 4. — С. 81–83.
4. Кульбаба О. Г. Зміни місцевого імунітету при лікуванні хворих на герпетичний кератит / Кульбаба, О. Г. // Офтальмологический журнал — 2007. — № 6 — С.42–45.
5. Malik Z. Antimicrobial and antiviral activity of porphyrin photosensitization / Malik Z., Ladan H., Nitzan Y., Smetana Z. // Photodynamic therapy of cancer — 1994 — P. 305–312.

Поступила 08.01.2014

### References

1. Gluzman DF, Sklyarenko AM, Nagornaya VA. Diagnostic immunocytochemistry of tumors. K.:Morion; 2003. 136 p.
2. Degtyarenko TV. Adaptive significance of immune homeostasis in eye diseases. Ophthalmol Zh. 1997;1:1–4.
3. Zborovskaya AV, Kustrin TB, Nasinnik IO. The experimental model of bacterial endophthalmitis. Ophthalmol Zh. 2011;4:81–3.
4. Kulbaba OG. Changes in local immunity in the treatment of herpetic keratitis patients. Ophthalmol Zh. 2007;6:42–5.
5. Malik Z, Ladan H, Nitzan Y, Smetana Z. Antimicrobial and antiviral activity of porphyrin photosensitization. Photodynamic therapy of cancer. 1994;305–12.

Received 08.01.2014