

611.438.41.1.66.46-018+612.

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ MatrixVisum И MATRIX LENS НА НЕЙРОАМИННЫЙ СОСТАВ СЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА

Любовцева Л.А; Волкова Л.П., Любовцева Е.В., Засорина Л.В., Волков АВ

*Чувашский государственный университет им. И.Н.Ульянова, Чебоксары,.
ЧУОО ВО МУ «РЕАВИЗ», Москва*

Введение

Актуальной проблемой офтальмологии является поиск методов повышения эффективности лечения и профилактики глазных заболеваний. Перспективным направлением в этой области является поиск способов активации неспецифических реакций саморегуляции. Одним из таких методов служит биоэнергетическое воздействие на орган зрения. К ним относятся отечественные разработки, обеспечивающие поддержание электрической неравновесности мембран и органелл клеток с активацией энергетической системы организма. Одними из препаратов этой серии являются отечественные разработки - MatrixVisum и MatrixLens. Эти препараты созданы на основе биокаталитически-активной воды и обеспечивают поддержание электрической неравновесности мембран и органелл клеток. Они способствуют стабильности системы антиоксидантной защиты клеток, активации и регуляции работы внутриклеточных структур, и селективной экспрессии оперонов ДНК, управляющих клеточным циклом и дифференцировкой клеток. В каждом внутреннем органе существует группы клеток, осуществляющие местную нейроаминную регуляцию данного органа. Вследствие чего необходимо выявить, существуют ли данные нейроамины в продуктах слезных желез – слезе и как они изменяются при введении

созданных препаратов. Опосредованно можно выявить, могут ли данные препараты изменить автономную регуляцию глаза [1-6]..

Цель. Изучить влияние препаратов MatrixVisum и MatrixLens на содержание нейроаминов в слезе и их эффективность при глазной патологии.

Задачи.

1. Определить содержание нейроаминов в слезе здоровых лиц.
2. Выявить влияние однократного воздействия MatrixVisum и MatrixLens на содержание нейроаминов в слезе здоровых лиц.
3. Определить динамику содержания нейроаминов и микрофлоры в слезе пациентов с конъюнктивитом под влиянием MatrixLens за 8 дней инстилляций препарата в конъюнктивальную полость.

Материал исследования

На первом этапе нами исследовались добровольцы - 5 мужчин студентов 20 - 25 лет. У них бралась слеза, из которой делали последовательно 3 мазка. В середине мазок являлся интактным, по нему сверялся цифровой материал с воздействием изучаемых веществ (MatrixVisum и MatrixLens). На один крайний мазок капали одним препаратом, на другой с другого конца – другим. Далее применяли соответствующие методы исследования.

На втором этапе исследования были взяты 5 здоровых мужчин студентов, и 5 с воспалительными процессами глаза. Им по 2 раза, утром в 9.00 и вечером в 17.00 закапывали по одной капле в течение 8 дней MatrixLens. Такую же процедуру проделали с 5 девушками студентами, но у них результаты оказались очень разными, очевидно, в связи с разным содержанием гормонов в результате месячного цикла.

Методы исследования

1. Люминесцентно-гистохимический метод Кросса с соав. (1972) для выявления тканевого гистамина. Метод определения гистамина в тканях и мазках основан на реакции паров орто-фталевого альдегида с гистамином, в ходе которой образуется флюоресцирующее соединение производных имидазолилэтиламина. Мазки слезы на покровном стекле, на которую капали или MatrixVisum или MatrixLens после холодной сушки под вентилятором обрабатывали в предварительно разогретой камере парами ортофталевого альдегида в термостате при $T=100^{\circ}\text{C}$ в течение 10 секунд. Далее мазки слезы помещали в другую камеру с парами воды при $T=100^{\circ}\text{C}$ на 2 мин, затем высушивались в термостате при $T=70^{\circ}\text{C}$ в течение 5 минут. Рассматривали полученные препараты под люминесцентным микроскопом ЛЮМАМ-4 в течение первых 7 часов, далее свечение гасло. При исследовании мазков под люминесцентным микроскопом образовавшийся комплексный продукт дает при большом содержании гистамина желтое свечение, при среднем – зеленое, малом – голубое.

2. Для избирательного выявления нервных и ненервных аминоксодержащих структур слезы применялся люминесцентно-гистохимический метод Фалька-Хилларпа (1969) в модификации Е.М. Крохиной. На предметное стекло также делали 3 мазка слезы, на мазки, находящиеся с одного и другого края предметного стекла капали препаратами или MatrixVisum или MatrixLens. После холодной сушки под вентилятором, мазки на предметном стекле ставили в предварительно разогретую с параформальдегидом камеру. Мазки на стекле в камере находились в течение 60 мин при температурном режиме термостата 80°C и затем заключались в полистирол. Приготовленные таким образом стеклянные гистологические препараты рассматривались под люминесцентным микроскопом ЛЮМАМ-6, при этом продукты конденсации катехоламинов с формальдегидом дают ярко-зеленую флуоресценцию, а карболины, которые в подобных реакциях формируют серотонин – белое и

желтое свечение.

3. Количественно концентрации гистамина, КА и СТ в тканях оценивались с применением микрофлуориметрической насадки к люминесцентному микроскопу ФМЭЛ-1А (В.Н. Карноухов, 1978; В.Л. Калмыков, 1982). Параметры снимались с измерительной части усилителя вольтметра при напряжении 800 вольт с зондом 0,5. Замер интенсивности свечения производился в единицах флуоресценции - условные единицы (у. е.). Свет от люминесцирующего препарата шёл на интерференционный светофильтр с определённой длиной волны пропускающего света. При определении концентрации гистамина применяли интерференционный фильтр N 7 (на длине волны 515 нм), катехоламинов - N 6 (480 нм), СТ - N 8 (525 нм), гепарина - N 9 (540 нм). Были использованы фильтры: СС-2, СЗС, БС-8-2, и запирающий фильтр ЖС-18. Люминесцентные методы исследования позволяют обнаружить в структурах присутствие вещества до 10 пкг и обладают пространственной избирательностью, обеспечивающей возможность оценить локализацию вещества в микроструктурах. Для удобства обработки цифровые значения умножали на 100.

Результаты собственных исследований.

Состояние нейроаминов в слезе в норме и под влиянием препаратов Matrix Lens и Matrix Visum представлены в табл.1 и на рис.1.

Таблица 1.

Результаты исследования после однократного введения лекарственного препарата Matrix Lens и Matrix Visum

Воздействия	Гистамин(7)	Катехоламины(6)	Серотонин(8)
Введение MatrixLens	0,07до 0,09 7 - 9	0,07до 0,11 7 - 11	0,03до 0,04 3 - 4
Введение. Matrix Visum	0,06до 0,07 6 - 7	0,04до 0,047 4,0 - 4,7	0,05 до 0,06 5 - 6
Норма	0,05 до 0,06	0,05	0,04до 0,05

Примечание: 1-я строчка – абсолютные цифры в у. е. 2-я строка – данные полученные цифры умноженные на 100.

Нами найдено, что после введения MatrixLens через 15 минут увеличивается содержание гистамина и КА. После введения MatrixVisum увеличивается содержание гистамина и незначительно – СТ, но в меньшей степени, чем при введении MatrixLens. В слезе без воздействия имеется очень небольшое содержание всех 3-х аминов, но меньше всего СТ. MatrixLens уменьшает его содержание. (Рис.1).

При однократном введении повышение нейроаминов было незначительно, поэтому они на структуру глаза влияют слабо.

При многократном утреннем и вечернем закапывании MatrixLens в течение недели его действие проявляется по-разному. Как у здоровых студентов, так и с воспалительными процессами наблюдается небольшая резь после закапывания. У здоровых людей через 0,5 часа резь проходит. У людей с воспалительными процессами наступает улучшение состояния. Проясняется видение, уходит резкая боль, но небольшая боль остается до 1,5 – 2 часов. При постоянном применении такой процесс остается до 3 суток. Далее наступает привыкание (адаптация) и с последующим закапыванием, боли не ощущается. Отрицательное действие препарата проявляется в том, что если этот препарат применять более 7 дней, начинаются чувствоваться болевые ощущения постоянно. При измерении артериального давления, оно увеличивается на 10 единиц.

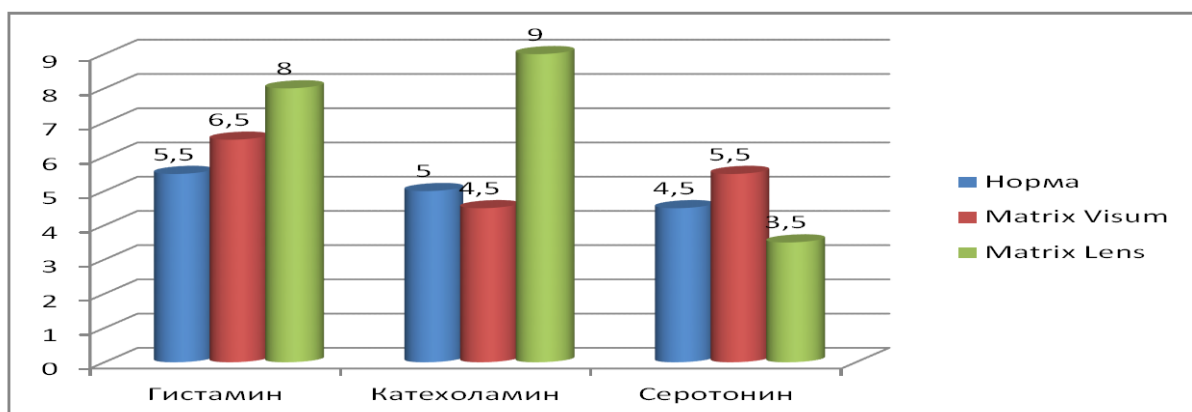


Рис.1. Динамика нейромедиатора в слезе под влиянием MatrixVisum и Matrix Lens.

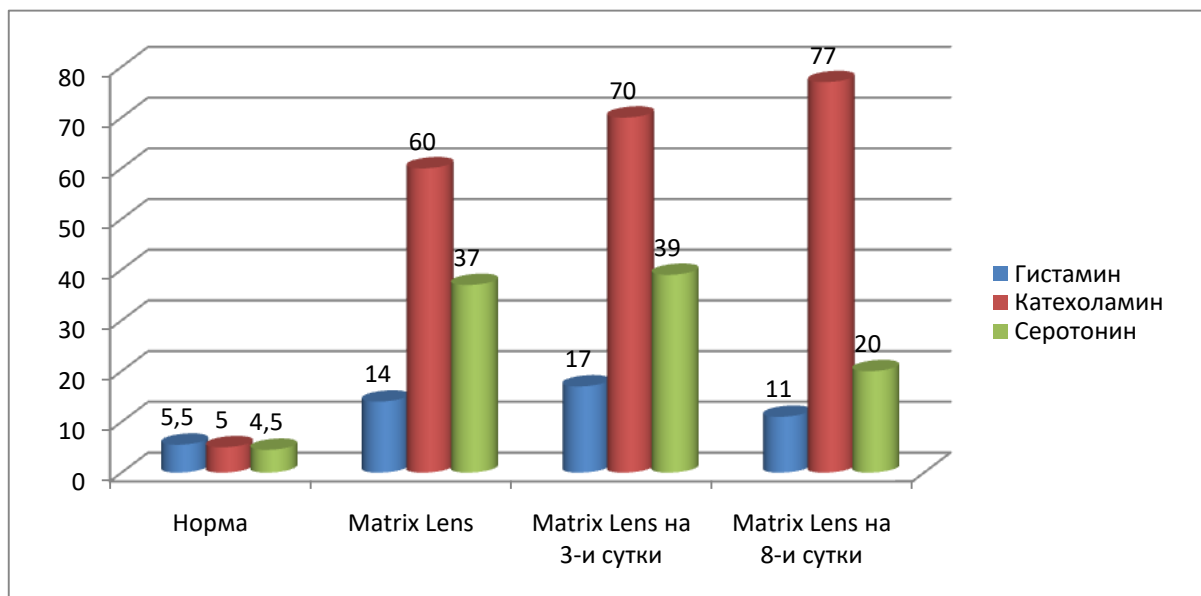


Рис.2. Динамика нейромедиаторов у лиц с конъюнктивитом.

При исследовании слезы на нейромедиаторы, нами обнаружена разница в содержании этих веществ у здоровых и больных пациентов. Происходит повышение некоторых нейромедиаторов до 3-х дней (табл.2, рис.2.). Таким образом, после введения MatrixLens через 15 минут увеличивается содержание гистамина и КА. После введения препарата MatrixVisum. Увеличивается содержание гистамина и незначительно – СТ, но в меньшей степени, чем при введении MatrixLens. В слезе без воздействия имеется очень небольшое содержание всех 3-х аминов, но меньше всего СТ (Рис.). MatrixLens уменьшает его содержание. Повышение нейромедиаторов незначительно, поэтому они на структуру глаза практически влияют слабо. Но это всего лишь однократное введение.

Из сказанного следует, что препараты MatrixLens и MatrixVisum активируют неспецифические реакции саморегуляции в организме, эффективны, безопасны и могут быть рекомендованы для профилактики и повышения эффективности лечения глазных заболеваний. При использовании препарата MatrixLens на здорового и больного человека он

воздействует неоднозначно. До 3-х суток препарат оказывает болезненное ощущение вначале, но оказывает регулирующее воздействие до 7 дней. С 8-го дня его применение не рекомендуется. Препарат оказывает воздействие на ССС, увеличивая давление на 10 единиц. Снимает воспалительный процесс в глазу при воспалении.

Таблица 2.

Динамика нейромедиаторов в слезе здоровых и при конъюнктивите под влиянием MatrixLens (обобщающая таблица)

	Гистамин (7)	КА (6)	СТ (8)
Введение. MatrixLens Одни сутки у здоровых	7 до 9	7 до 11	3 до 4
Однократное Введение MatrixLens с воспалением	11 до 17	5 1 до 70	34 до 39
Единое введение, норма	5 до 6	5 до 5,2	4 до 5
Введение. MatrixLens До 8 суток у здоровых	1.(Первое введение) от 7 до 9. Происходит постепенное нарастание содержания гистамина на 5 у.е.. На 3-и сутки содержание гистамина максимально. Увеличение почти в 5 раз. До недели постепенное снижение. И на 8-й	7 до 11 Постоянное медленное нарастание КА	От 3 до 4 у.е. До 3-х дней имеет лишь небольшую тенденцию к увеличению. На 3-и сутки содержание СТ максимально снижено. На 4-й день наблюдается резкое увеличение его концентрации. И на таком уровне остается на все время исследования.

	день происходит снова увеличение.		Появляются плазмоциты, вырабатывающие иммуноглобулины.
Введение MatrixLens при воспалении	От 11 до 17 у.е. . В слезе имеются макрофаги, лимфоциты, плазмоциты. При закапывании препарата воспалительный процесс снижается. Уменьшается бактериальная флора. В белочной оболочке сосуды расширены и оболочка приобретает красный цвет белочная оболочка. Нарастание гистамина идет до 3-х суток. Далее наблюдается его снижение.	51до 70 Постепенное нарастание содержания КА на 20 у.е. На 3-и сутки резкое снижение и далее постепенно увеличение. Плазмоциты содержат КА.	От 34 до 39. До 3-х суток увеличение в 3-х случаях из 5-ти. Далее снижение.

Выводы

1. В слезе здоровых лиц содержатся нейроамины: гистамин -5,5 у.е., КА - 5,0 у.е., СТ - 4,5 у.е.
2. Однократное воздействие MatrixLens увеличивает в слезе здоровых лиц содержание гистамина до 8 и КА до 9 у.е. MatrixVisum увеличивает содержание гистамина до 6,5у.е. и уменьшает содержание СТ до 3,5у.е.

3. При конъюнктивите MatrixLens в течение 7 дней активирует нейромедиаторы в слезе, оказывает противовоспалительное действие, и уменьшает содержание патогенной микрофлоры.

4. После 7 дней применение данного препарата нежелательно.

Литература

- 1.Калмыков В.Л. Современные методы определения катехоламинов и серотонина / В.Л. Калмыков М. Лаб. Дело. -1982. №7. – С. 31-36.
- 2.Карнаухов В.Н. Люминесцентный спектральный анализ клетки. / В.Н. Карнаухов М. Наука. - 1978. – 208 с.
- 3.Кветной И.М. Нейроиммуноэндокринология тимуса / И.М.Кветной //СПб.: Из-во ДЕАН.- 2005. – 175 с.
- 4.Любовцева Л.А. Люминесцентно-гистохимическое исследование аминокислотосодержащих структур костного мозга, тимуса и крови при действии нейромедиаторов и антигенов. Чебоксары. ЧГУ. 1993. 99 с.
- 5.Cross S.A., Ewen S.W., Rost E.W. A. Study of the methods available for the cytochemical localization of histamine by fluorescence induced with o-phthalaldehyde or acetaldehyde // J. Histochem. 1971. №6. P.471 -476.
- 6.Falck B., Hillarp N.A., Thieme G. and Torp A. Fluorescence of catecholamines and related compounds condensed with formaldehyde. J. Histochem. Cytochem, 1962, v. 10, p. 348-354.