

УДК 617.7-001.4:577.115:577.152.193-08-019

ВПЛИВ ЕКЗОГЕННИХ ПРОСТАГ ЛАНДИНІВ І БЛОКАТОРІВ СИНТЕЗУ ЕЙКОЗАНОЇДІВ НА ПРОЦЕСИ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ В ОЦІ КРОЛИКА З ПОДВІЙНОЮ ПРОНИКНОЮ ТРАВМОЮ СКЛЕРИ

Пенішкевич Я.І., Кухарчук О.Л., Кучук О.П.
Буковинська державна медична академія, м. Чернівці

Ключові слова: травма, око, ліпіди; окислення, простагландини

Вступ. В останні роки активно вивчається роль процесів ліпопероксидації в механізмах очної патології. Показано, що збільшення вмісту вільних радикалів кисню і зниження активності ферментів антиоксидантного захисту в скловидному тілі корелює з розвитком проліферативної вітре ретинопатії [15]. Встановлений зв'язок між змінами електроретинограми та інтенсивністю пероксидації ліпідів при пошкодженні сітківки ока [11], доведена роль ліпопероксидації в катарактогенезі [12], у віковій дегенерації макули [14], загибелі клітин ока за механізмами апоптозу [9] та в патогенезі діабетичної мікроангіопатії [10]. Разом з тим, питання змін пероксидного окиснення ліпідів при травмі ока вивчені недостатньо: немає повідомлень про вплив продуктів окислювального метаболізму арахідонової кислоти на процеси ліпопероксидації, не з'ясовані ефекти інгібіторів цикло-ліпоксигенази на стан систем антиоксидантного захисту в травмованому оці.

Мета роботи. Вивчити вплив простагландинів та інгібіторів синтезу ейкозаноїдів на інтенсивність процесів ліпопероксидації і стан ферментативного

антирадикального захисту у волозі передньої камери ока з подвійною проникною травмою склери.

Матеріал і методи. Робота виконана на 40 кроликах породи Шиншила масою 2-2,5 кг (вік - 1-1,5 року). Моделювання травми ока (подвійне проникне поранення склери) проводили за асептичних умов мікрохірургічним лезом під епібульбарною анестезією 0,5% дикаїном в поєднанні з ретробульбарною анестезією 2,0% розчином новокаїну.

Простагландини (PG) E₁, E₂ та F_{2α} вводили методом інстиляції в дозах відповідно: 115 нг 2 рази на день, 20 мкг одноразово та 250 нг 3 рази на день протягом трьох діб (за виключенням PGF_{2α}, який вводили протягом двох тижнів). Парацетамол вводили в дозі 0,5 мг, диклофенак і дексаметазон - 0,05 мг протягом двох тижнів (всі - шість разів в день).

Забір вологи передньої камери ока проводили за асептичних умов під епібульбарною анестезією 0,5% дикаїном в динаміці 60-ти денного спостереження.

Рівень дієвих кон'югатів визначали за методом В.Б.Гаврилова, М.І.Мишкорудної [2], малонового альдегіду - за методом І.Д.Стальної, Т.Г.Гарішвілі [5]. Активність супероксиддисмутази досліджували за методом С.Чеварі та співавторів [6], глутатіонпероксидази - за методикою І.Ф.Мещишена [4].

Статистична обробка отриманих даних проведена на РС IBM 586 за допомогою "Excel-7".

Результати та їх обговорення. Встановлено, що відносно контролю ($0,49 \pm 0,03$ нмоль/мг білка; $n=36$) вміст дієвих кон'югатів (ДК) у волозі передньої камери травмованого ока значно зростав в перші три доби спостереження (табл. 1), з 7-ої доби дещо знижувався, але залишався високим аж до 60-ої доби експерименту. PGE₁ викликав зменшення рівня ДК вже на першу добу лікування, тоді як PGE₂, навпаки, сприяв збільшенню інтенсивності ліпопероксидації. Парацетамол, диклофенак і дексаметазон знижували пероксидне окиснення ліпідів в гострому післятравматичному періоді, але наприкінці лікування вміст ДК у волозі передньої камери ока не відрізнявся від даних у нелікованих тварин.

Рівень малонового альдегіду (МДА, в контролі - $0,22 \pm 0,01$ нмоль/мг білка; $n=36$) у волозі передньої камери травмованого ока на початку експерименту також збільшувався (табл. 2) і сягав максимуму на 3-тю добу спостережень. PGE₁ в цей період знижував кількість МДА у волозі передньої камери ока на 25,5%, PGF_{2α} - на 72,5%, тоді як PGE₂ збільшував інтенсивність ліпопероксидації в 1,8 рази. Парацетамол, диклофенак і дексаметазон приблизно в однаковому ступені зменшували вміст МДА у волозі передньої камери травмованого ока впродовж двох тижнів лікування. Проте на 28-му та 60-ту доби цей показник від даних нелікованих тварин не відрізнявся і перевищував контрольний рівень.

Щодо активності СОД (табл. 3), яка забезпечує нейтралізацію супероксиданіон-радикалу (в контролі - $0,90 \pm 0,05$ од/мг білка/год; $n=36$), слід зазначити її зменшення у волозі передньої камери в гострому післятравматичному періоді з наступним поступовим збільшенням з 7-ої доби спостережень. Під впливом PGE₁ активність СОД зростала вже на початку експерименту, але з відміною препарату знижувалася. PGE₂ значно пригнічував активність СОД протягом всього періоду лікування, а PGF_{2α}, навпаки, сприяв збільшенню інтенсивності реакції дисмутації. Парацетамол, диклофенак і дексаметазон були більш ефективними в плані підвищення активності СОД всередині лікування.

Динаміка змін активності ГПО практично повністю відповідала змінам активності СОД (табл. 4).

Таким чином, отримані дані свідчать, що PGE₂ збільшує інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів за зниженням активності су пероксиддисмутази і глутатіонпероксидази, PGE₁ проявляє потужний антиоксидантний ефект в гострому післятравматичному періоді, а парацетамол, диклофенак і дексаметазон більш ефективні всередині розвитку післятравматичного запального процесу.

Відомо, що на усіх стадіях запалення в його патогенезі приймають участь поліморфноядерні лейкоцити. Накопичуючись в запальних ексудатах, вони відіграють першорядну роль в процесах фагоцитозу і репаративної регенерації. Разом з тим, моноцити-макрофаги здатні пошкоджувати тканини внаслідок надлишкової генерації активних форм кисню в мієлопероксидазній реакції [3]. Тому особливого значення набуває стан антирадикальних ферментів в інтактних тканинах ока, які забезпечують їх захист від "оксидативного стресу" [1].

Таблиця 1

Динаміка змін вмісту дієвих кон'югатів (нмоль/мг білку) у волозі передньої камери ока під впливом екзогенних простагландинів та при блокаді синтезу ейкозаноїдів за умов подвійної проникної травми склери ($\bar{x} \pm Sx$)

Серії досліджень	1 доба	3 доба	7 доба	14 доба	28 доба	60 доба
Контроль, n=5	2 01±0 11	2,89±0 16	1 41±0 08	0 99±0 06	0 85±0 04	0 65±0 03
ПГЕ ₁ , n=5	1,62±0,16	1,31±0,17 ***	0,64±0,13 ***	1,07±0,09	0,73±0,04	0,63±0,06
ПГЕ ₂ , n=5	3,02±0,19 **	5,01±0,51 **	3,02±0,56 *	1,81±0,12 ***	0,79±0,07	0,67±0,08
ПГФ _{2α} , n=5	2,59±0,14 **	1,61±0,11 ***	0,96±0,07 **	0,61±0,05 **	0,87±0,03	0,45±0,02 **
Парацетамол, n=5	1,26±0,06 ***	1,89±0,11 ***	0,86±0,04 ***	0,75±0,03 **	0,67±0,08	0,61±0,05
Диклофенак, n=5	1,02±0,12 ***	1,52±0,13 ***	0,91±0,11 **	0,75±0,10	0,67±0,09	0,57±0,08
Дексаметазон, n=5	1,11±0,13 ***	1,59±0,15 ***	0,86±0,08 **	0,71±0,08 *	0,61±0,08 *	0,56±0,07

Примітка.

p - ступінь вірогідності різниць показників відносно контролю (травма ока без лікування):

* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$. n - число спостережень.

Таблиця 2

Динаміка змін вмісту малонового альдегіду (нмоль/мг білку) у волозі передньої камери ока під впливом екзогенних простагландинів та при блокаді синтезу ейкозаноїдів за умов подвійної проникної травми склери ($\bar{x} \pm Sx$)

Серії досліджень	1 доба	3 доба	7 доба	14 доба	28 доба	60 доба
Контроль, n=5	1 18±0 11	1,49±0,11	0 91±0 05	0 75±0 03	0,61±0,03	0 49±0,02
ПГЕ ₁ , n=5	1,49±0,11	1,11±0,10 *	0,79±0,03	1,67±0,13 ***	0,71±0,04	0,45±0,06
ПГЕ ₂ , n=5	1,43±0,08	2,71±0,33 **	1,37±0,25	1,03±0,15	0,73±0,04 *	0,62±0,07
ПГФ _{2α} , n=5	0,55±0,05 ***	0,41±0,06 ***	0,32±0,06 ***	0,21±0,03 ***	0,28±0,04 ***	0,21±0,05 ***
Парацетамол, n=5	0,71±0,04 **	0,92±0,05 **	0,56±0,04 ***	0,51±0,06 **	0,48±0,06	0,42±0,06
Діклофенак, n=5	0,62±0,08 **	0,83±0,11 **	0,61±0,08 *	0,52±0,06 **	0,47±0,07	0,37±0,07
Дексаметазон, n=5	0,61±0,08 **	0,83±0,12 **	0,65±0,07 *	0,55±0,07 *	0,46±0,07	0,36±0,07

Примітка.

p - ступінь вірогідності різниць показників відносно контролю (травма ока без лікування):

* - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001. n - число спостережень.

Таблиця 3

Динаміка змін активності супероксиддисмутази (Од/мг білку/год) у волозі передньої камери ока під впливом екзогенних простагландинів та при блокаді синтезу ейкозаноїдів за умов подвійної проникної травми склери ($\bar{x} \pm Sx$)

Серії досліджень	1 доба	3 доба	7 доба	14 доба	28 доба	60 доба
Контроль, n=5	0 65±0 03	0,55±0,03	0 76±0 03	0 86±0 03	0,89±0,04	0 81±0 02
ПГЕ ₁ , n=5	1,08±0,11 **	1,57±0,22 *	0,69±0,03	1,01±0,10	1,13±0,12	0,69±0,07
ПГЕ ₂ , n=5	0,35±0,02 ***	0,15±0,02 ***	0,46±0,06 **	0,55±0,06 **	0,66±0,09 *	0,63±0,09
ПГФ _{2α} , n=5	1,86±0,12 ***	1,59±0,13 ***	0,99±0,11	0,96±0,12	1,16±0,14	0,98±0,13
Парацетамол, n=5	0,75±0,08	0,85±0,08 **	1,05±0,08 *	1,19±0,09 **	1,19±0,15	0,99±0,11
Діклофенак, n=5	0,85±0,07 *	0,95±0,07 ***	1,26±0,11 **	1,39±0,11 ***	1,45±0,14 **	1,18±0,21
Дексаметазон, n=5	0,79±0,07	0,91±0,07 **	1,15±0,07 **	1,25±0,09 **	1,31±0,12 *	1,08±0,15

Примітка.

p - ступінь вірогідності різниць показників відносно контролю (травма ока без лікування):

* - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001. n - число спостережень.

Таблиця 4

Динаміка змін активності глутатіонпероксидази (Од/мг білку/год) у волозі передньої камери ока під впливом екзогенних простагландинів та при блокаді синтезу ейкозаноїдів за умов подвійної проникної травми склери ($\bar{x} \pm Sx$)

Серії досліджень	1 доба	3 доба	7 доба	14 доба	28 доба	60 доба
Контроль, n=5	0 61±0 05	0 45±0 06	0,71±0 07	1,02±0,06	1 06±0 12	0 75±0 07
ПГЕ ₁ , n=5	1,21±0,13 **	1,15±0,13 **	0,65±0,06	0,98±0,06	0,83±0,07	0,45±0,06 *
ПГЕ ₂ , n=5	0,45±0,05	0,21±0,04 **	0,35±0,05 **	0,65±0,07 **	0,68±0,07 *	0,56±0,07
ПГФ _{2α} , n=5	2,55±0,22 ***	1,92±0,14 ***	1,73±0,13 ***	1,48±0,14 *	1,21±0,11	0,91±0,10

Парацетамол, n=5	0,65±0,05	0,75±0,07 *	1,05±0,10 *	1,36±0,10 *	1,37±0,11	0,94±0,08
Діклофенак, n=5	0,86±0,09 *	0,89±0,09 **	1,25±0,12 **	1,54±0,12 **	1,57±0,12 *	1,03±0,13
Дексаметазон, n=5	0,75±0,05	0,79±0,09 *	1,11±0,10 *	1,39±0,11 *	1,42±0,11	1,01±0,11

Примітка.

p - ступінь вірогідності різниці показників відносно контролю (травма ока без лікування):

* - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001. n - число спостережень.

Пошук нових антиоксидантів для клініки очних хвороб набуває все більшої актуальності [7,13], що потребує нових даних щодо про- або протиоксидантні властивості очних препаратів, які впливають на метаболізм арахідонової кислоти, оскільки встановлено, що активація простагландин G (H)-синтетази супроводжується генерацією пероксидів в тканинах ока [8].

Висновки. 1. Висока інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів при подвійній проникній

травмі ока зберігається протягом двох місяців. 2. PGE₂ збільшує інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів за умов зниження активності супероксиддисмутази глутатіонпероксидази впродовж всього післятравматичного періоду. 3. PGE₁ проявляє потужний антиоксидантний ефект в гострому післятравматичному періоді, а парацетамол, діклофенак і дексаметазон більш ефективні всередині розвитку післятравматичного запального процесу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Варфоломеев С.Д., Мевх А.Т., Муратов В.К. и др. Простагландин- и тромбоксансинтетазы. Механизмы ингибирования лекарственными препаратами // Молекулярные основы действия ферментов. - М.: Медицина, 1985. - 207 с.
2. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. - 1983. - № 3. - С.33-36.
3. Даниличев В.Ф. Патология глаз. Ферменты и ингибиторы. - Слб.: Стройлеспечать. - 1996. - 240 с.
4. Мешишен И.Ф. Метод определения активности глутатион-S-трансферазы в крови / Применение ферментов в медицине. - Симферополь, 1987. - С.135.
5. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / Современные методы в биохимии. - М.: Медицина, 1977. - С.66-68.
6. Чевари С., Чаба И., Секкей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биохимических материалах // Лаб. дело. - 1985. - № 11. - С. 678 - 681.
7. Giardino I., Fard A.K., Hatchell D.L., Brownlee M. Aminoguanidine inhibits reactive oxygen species formation, lipid peroxidation, and oxidant-induced apoptosis // Diabetes.-1998.-V.47,№7.-P.1114-1120.
8. Hanna N., Peri K.G., Abran D., Hardy P., Doke A., Lachapelle P., Roy M.S., Orquin J., Varma D.R., Chemtob S. Light induces peroxidation in retina by activating prostaglandin G/H synthase // Free Radic.Biol.Med.-1997.-V.23,№6.-P.885-897.
9. Krishnamoorthy R.R., Crawford M.J., Chaturvedi M.M., Jain S.K., Aggarwal B.B., Al-Ubaidi M.R., Agarwal N. Photo-oxidative stress down-modulates the activity of nuclear factor-kappaB via involvement of caspase-1, leading to apoptosis of photoreceptor cells // J.Biol.Chem.-1999.-V.5(274),№6.-P.3734-3743.
10. Paget C., Lecomte M., Ruggiero D., Wiernsperger N., Lagarde M. Modification of enzymatic antioxidants in retinal microvascular cells by glucose or advanced glycation end products // Free Radic.Biol.Med.-1998.-V.1(25), №1.-P.121-129.
11. Qingfen T., Xirang G., Weijing Y., Jianduan L., Yingli D., Zhimin H. An experimental study on damage of retina function due to toxicity of carbon disulfide and lipid peroxidation // Acta Ophthalmol.Scand.-1999.-V.77,№3.-P.298-301.
12. Reddy G.B., Bhat K.S. Protection against UVB inactivation (in vitro) of rat lens enzymes by natural antioxidants // Mol.Cell.Biochem.-1999.-V.194,№1-2.-P.41-45.
13. Siu A.W., Reiter R.J., To C.H. The efficacy of vitamin E and melatonin as antioxidants against lipid peroxidation in rat retinal homogenates // J.Pineal.Res.-1998.-V.24,№4.-P.239-244.
14. Spaide R.F., Ho-Spaide W.C., Browne R.W., Armstrong D. Characterization of peroxidized lipids in Bruch's membrane // Retina.-1999.-V.-19,№2.-P.141-147.
15. Verdejo C., Marco P., Renau-Piqueras J., Pinazo-Duran M.D. Lipid peroxidation in proliferative vitreoretinopathies // Eye.-1999.-V.-13,№2.-P.183-188.

SUMMARY

THE INFLUENCE OF EXOGENOUS PROSTAGLANDINS AND EICOSANOIDS SYNTHESIS BLOCKERS ON TISSUE LIPID PEROXIDATION IN A RABBIT EYE WITH DOUBLE PENETRATING INJURY OF SCLERA

Ya.I.Peniskevych, O.L.Kukharchuk, O.P.Kuchuk

The influence of prostaglandins (PG) E₁, E₂, F_{2α}, paracetamol, diclofenak and dexamethasone on lipid peroxidation intensity and activity of the antiradical enzymes of the eye anterior chamber aqueous humor in the treatment dynamics was

investigated in experiments on the rabbits with a double penetrating injury of the sclera. It was shown, that duration of the lipid peroxidation processes' activation after eye injury reaches 60 days. It was established, that PGE₂ increases the dien conjugations content against the background of superoxide dismutase (SD) and glutathione peroxidase (GP) activities reduction. PGE₁, paracetamol, diclofenak and dexamethasone decrease the lipid peroxidation activity with increase of SD- and GP- activity, and PGF_{2α} has a maximum effect of the induction of the antioxidant defense system enzymes activity.

Key words: injury, eye, lipids, oxidation, prostaglandins