

ДИНАМІКА ПРОДУКТІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В КРОВІ КРОЛЯ ЗА УМОВ МЕХАНІЧНОЇ НЕПРОНИКАЮЧОЇ ТРАВМИ РОГІВКИ

ДИНАМІКА ПРОДУКТІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В КРОВІ КРОЛЯ ЗА УМОВ МЕХАНІЧНОЇ НЕПРОНИКАЮЧОЇ ТРАВМИ РОГІВКИ – Внаслідок непроникаючого поранення рогівки у крові експериментальних тварин спостерігається активація пероксидного окиснення ліпідів з максимумом зростання вмісту в сироватці крові малонового діальдегіду через 3 доби та його нормалізацією через 14 діб. Через 3 доби посттравматичного періоду виникає зниження активності ферментативної ланки антиоксидантного захисту в сироватці крові (супероксиддисмутаза і каталаза) з наступним зростанням через 14 діб, не досягаючи рівня контролю. Вміст церулоплазміну та SH-груп впродовж експерименту поступово знижуються і через 14 діб досягають мінімальної величини.

ДИНАМІКА ПРОДУКТІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ І АНТИОКСИДАНТНОЇ ЗАЩИТИ В КРОВІ КРОЛЯ ПРИ МЕХАНИЧЕСКОЙ НЕПРОНИЦАЕМОЙ ТРАВМЕ РОГОВИЦЫ – Вследствие непроницаемого ранения роговицы в крови экспериментальных животных наблюдается активация пероксидного окисления липидов с максимумом роста содержания в сыворотке крови малонового диальдегида через 3 суток и его нормализацией через 14 суток. Через 3 суток посттравматического периода возникает снижение активности ферментативного звена антиоксидантной защиты в сыворотке крови (супероксиддисмутаза и каталаза) с последующим ростом через 14 суток, не достигая уровня контроля. Содержание церулоплазмина и SH-групп в течение эксперимента постепенно снижаются и через 14 суток достигают минимальной величины.

DYNAMIC OF THE LIPID PEROXIDATION PRODUCTS AND ANTIOXIDANT PROTECTION IN THE RABBIT BLOOD BY MECHANICAL PENETRATION INJURY OF CORNEA – As a result of the penetrating injury of cornea in the blood of the experimental animals observed activation of the lipid peroxidation with a maximum increasing of the malondialdehyde content in the blood serum after 3 days and its normalization after 14 days. After 3 days of the post-traumatic period, there is reduced activity of the enzyme level of antioxidant protection in the blood serum (superoxide dismutase and catalase), followed by growth after 14 days, without reaching the level of control. Content of ceruloplasmin and SH-groups gradually reduced during the experiment and after 14 days below the minimum value.

Ключові слова: непроникаюча травма рогівки, пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантний захист.

Ключевые слова: непроницаемая травма роговицы, пероксидное окисление липидов, антиоксидантная защита.

Key words: penetrating injury of cornea, lipid peroxidation, antioxidant defense.

ВСТУП Дослідження ролі пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) в патогенезі захворювань очей стало одним із важливих напрямків сучасної офтальмології. Активація ПОЛ призводить до порушення фізико-хімічних властивостей мембран, їх ліпідного складу, токсично впливає на тканини, сприяє посиленню лізису, окисненню сульфгідрильних груп білків [10, 11]. У літературі широко висвітлено особливості ПОЛ і антиоксидантного захисту при різних захворюваннях очей, таких, як глаукома [1], катаракти [2], увеїти [4], травми очей [5], герпесу [14] тощо. Однак при ви-

разках рогівки дану проблему висвітлено недостатньо.

Метою роботи стало вивчити зміни інтенсивності ПОЛ та антиоксидантного захисту організму в умовах непроникаючого поранення рогівки у динаміці посттравматичного періоду.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Експериментальні дослідження проводили на статевозрілих кроликах породи шиншила масою від 2,5 до 3,0 кг відповідно до Женевської конвенції “International Guiding principles for Biochemical research involving animals” (Geneva, 1990). Для оцінки патофізіологічних змін в організмі та рогівці після непроникаючого її поранення тварин поділили на 5 груп: контрольна група – інтактні тварини (12 кролів); перша дослідна група – термін спостереження через 3 доби після травми (6 кролів); друга дослідна група – через 7 днів після травми (6 кролів); третя дослідна група – через 10 днів після травми (6 кролів); четверта дослідна група – через 14 днів після травми (6 кролів).

Експериментальна модель пошкодження рогівки відтворювалась на обох очах кроля під місцевою анестезією 0,5 % розчином алкану та ретробульбарною анестезією 2 % розчином лідокаїну 1,0 мл. Трепаном, діаметром 7 мм у верхній частині рогівки, наносили концентричну епітеліальну насічку, в межах якої одноразовим офтальмологічним скальпелем видаляли епітелій разом з переднім шаром строми рогівки (викроювали клапот товщиною до 0,2 мм). Контроль відтворення ерозії здійснювали методом фарбування рогівки 0,5 % розчином флюоресцеїну. Впродовж терміну спостереження проводили інстиляцію розчину антибіотика фторхінолонового ряду – “Вігамокс” (1 крапля 3 рази на день) та корнеопротектора – “Корнерегель” (1 крапля 3 рази на день).

В умовах тіопентало-натрієвого знеболювання (80 мг на кілограм маси тіла) у тварин з крайової вени вуха забирали кров, після чого виводили з експерименту методом повітряної емболії у стані глибокого тіопентало-натрієвого наркозу (100 мг на кілограм маси тіла внутрішньовенно).

Активність ПОЛ оцінювали за вмістом у сироватці крові малонового діальдегіду (МДА) [8], стан антиоксидантної системи – за активністю супероксиддисмутази (СОД) [10] і каталази [6], вмістом церулоплазміну [15] та SH-груп відновленого глутатіону при взаємодії з реактивом Елмана [7].

Результати оброблені статистично за допомогою програми STATISTICA (“StatSoft, Inc.”, США), дані обчислювалися за допомогою критерію Вілкоксона.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Як видно з таблиці 1, рівень МДА у сироватці крові кролів у посттравматичному періоді зростає, досягаючи максимуму через 3 доби з наступним зниженням до рівня контрольної групи через 14 діб. Через 3 доби його рівень був на 73,7 % ($p < 0,05$) більшим, ніж у

Таблиця 1. Динаміка продуктів пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в крові кроля за умов механічної травми рогівки ($M \pm m$)

Показник	Контроль (n=12)	Механічна травма рогівки			
		3 доба (n=6)	7 доба (n=6)	10 доба (n=6)	14 доба (n=6)
МДА, ммоль·л ⁻¹	5,51±0,11	9,57±0,14 p<0,05	8,30±0,17 p<0,05 p ₁ <0,05	7,84±0,09 p<0,05 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	5,88±0,18 p>0,05 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05 p ₃ <0,05
СОД, %	37,47±0,27	23,48±0,27 p<0,05	27,98±0,16 p<0,05 p ₁ <0,05	30,57±0,23 p<0,05 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	36,42±0,34 p<0,05 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05 p ₃ <0,05
Каталаза, %	49,45±0,33	29,80±0,84 p<0,05	34,70±0,59 p<0,05 p ₁ <0,05	36,45±0,28 p<0,05 p ₁ <0,05 p ₂ >0,05	38,63±0,27 p<0,05 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05 p ₃ <0,05
Церулоплазмін, мг·л ⁻¹	360,50±3,53	326,17±4,62 p<0,05	275,67±3,91 p<0,05 p ₁ <0,05	275,83±4,16 p<0,05 p ₁ <0,05 p ₂ >0,05	260,63±7,99 p<0,05 p ₁ <0,05 p ₂ >0,05 p ₃ >0,05
SH-групи, ммоль·л ⁻¹	78,39±0,57	42,48±1,82 p<0,05	30,62±0,26 p<0,05 p ₁ <0,05	26,37±0,72 p<0,05 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	22,93±1,26 p<0,05 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05 p ₃ >0,05

Примітки: 1) p – достовірність відмінностей стосовно контрольної групи;
 2) p₁ – достовірність відмінностей стосовно групи 3 доби спостереження;
 3) p₂ – достовірність відмінностей стосовно групи 7 доби спостереження;
 4) p₃ – достовірність відмінностей стосовно групи 10 доби спостереження.

контрольній групі. Через 7 діб рівень МДА у сироватці крові зменшився на 13,3 %, порівняно з 3 добою спостереження (p<0,05), але продовжував залишатися на 50,6 % вищим від контролю (p<0,05). Через 10 діб рівень даного показника у сироватці крові ще більше знижувався при його порівнянні з попереднім терміном дослідження та статистично достовірно відрізнявся (p₂<0,05). Через 14 діб відмічено зниження даного показника до рівня контрольної групи (p>0,05).

Активність СОД у сироватці крові кролів максимально знизилася через 3 доби посттравматичного періоду із наступним поступовим підвищенням через 14 діб до рівня контролю, проте статистично достовірно від нього відрізнялася (p<0,05). Через 3 доби величина досліджуваного показника зменшилась на 37,3 % (p<0,05) порівняно з контрольною групою. Через 7 діб активність СОД сироватки крові підвищилася на 19,1 %, порівняно з попереднім терміном дослідження (p₁<0,05), але була меншою на 25,43 % від рівня контролю (p<0,05). Через 10 діб рівень даного показника зростав порівняно із попереднім терміном дослідження (p₂<0,05). Через 14 діб порівняно з 10 добою його величина підвищилася на 19,1 % (p₃<0,05), проте не досягла рівня контролю (p<0,05).

Активність каталази в сироватці крові кролів у посттравматичному періоді максимально знижувалася через 3 доби з наступним поступовим підвищенням через 14 діб. Через 3 доби величина досліджуваного показника була на 39,7 % менше від контролю (p<0,05). Через 7 діб, порівняно з третьою добою, його

рівень зріс на 16,5 % (p₁<0,05), але не досяг величини контролю 29,8 % (p<0,05). Через 10 діб даний показник залишався на рівні 7 доби спостереження (p₂>0,05), проте його рівень на 26,3 % був нижче рівня у контрольній групі (p<0,05). Через 14 діб величина даного показника підвищилася порівняно з попереднім терміном (p₃<0,05), проте була значно меншою (на 22,9 %) від його рівня в контрольній групі (p<0,05).

Вміст церулоплазміну в сироватці крові кролів у посттравматичному періоді знижувався поступово, досягаючи мінімуму через 14 діб. Через 3 доби його величина була на 9,5 % нижчою від контролю (p<0,05), через 7 діб – на 15,5 % меншою від його рівня у попередній термін визначення (p₁<0,05) та становила 76,5 % відносно контролю (p<0,05). Через 10 діб даний показник залишався на рівні 7 доби спостереження (p₂>0,05) та становив 76,5 % від контролю (p<0,05). Через 14 діб величина даного показника незначно знизилася порівняно з попереднім терміном, на 5,5 % (p₃>0,05), але була значно меншою від рівня контрольної групи – на 27,6 % (p<0,05).

Вміст SH-груп у сироватці крові кролів у посттравматичному періоді знижувався, досягаючи мінімуму через 14 діб. Стрімке зменшення рівня SH-груп спостерігалось через 3 доби до 54,2 % від рівня контролю (p<0,05). Через 7 діб вміст SH-груп у крові знизився на 28,0 %, порівняно із попереднім терміном спостереження (p₁<0,05), та складав 39,1 % від контролю (p<0,05). Через 10 діб, відносно 7 доби спостереження, його рівень суттєво зменшився на 13,9 %

($p_2 < 0,05$) та складав лише 33,6 % його величини у контрольній групі тварин ($p < 0,05$). Через 14 діб, порівняно з попереднім терміном дослідження, концентрація SH-груп значно зменшилась – на 15,1 % ($p_3 > 0,05$) і була на 70,7 % меншою від рівня контролю ($p < 0,05$).

Отримані результати свідчать про те, що травматична виразка рогівки ока спричиняє виражений системний вплив на організм. З одного боку, це пов'язано із безпосереднім пошкодженням, виділенням медіаторів запалення та їх системним впливом, на тлі якого відмічається активація ПОЛ [13]. З іншого боку, погіршення зору, яке при цьому виникає, специфічність аферентного впливу на центральну нервову систему, ймовірно, є значним стресогенним чинником для тварини, який поглиблює системні відхилення і сприяє активації вільнорадикальних процесів [3]. Слід зауважити, що на цьому тлі виникає виснаження антиоксидантного захисту, особливо у період ранніх проявів травми, свідченням чого є зниження активності СОД, каталази, церулоплазміну та SH-груп. Якщо перші два показники суттєво зростають через 14 діб експерименту стосовно попередніх термінів спостереження, то наступних два у кінці досліду досягають своєї мінімальної величини. Очевидно, в патогенезі зазначених відхилень у ранній період ключову роль відіграє утворення активних форм кисню, в той час, як у кінці експерименту – ендотоксини, нейтралізація яких відбувається шляхом утворення парних сполук [11]. Можна припустити, що аналогічні відхилення можливі й в умовах пошкодження рогівки у клініці, що слід враховувати при виборі засобів системної корекції даного патологічного процесу.

ВИСНОВКИ 1. Внаслідок непроникаючого поранення рогівки у крові експериментальних тварин спостерігається активація пероксидного окиснення ліпідів з максимумом зростання вмісту в сироватці крові малонового діальдегіду через 3 доби та його нормалізацією через 14 діб.

2. Через 3 доби посттравматичного періоду виникає зниження активності ферментативної ланки антиоксидантного захисту сироватки крові (супероксиддисмутаза і каталаза) з наступним зростанням через 14 діб, не досягаючи рівня контролю.

3. Вміст церулоплазміну та SH-груп у сироватці крові впродовж експерименту поступово знижуються і через 14 діб досягають мінімальної величини.

Перспективними є подальші дослідження впливу непроникаючої травми рогівки на стан пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в

корнеальній тканині, динаміку гуморальної та клітинної імунної відповіді як в організмі загалом, так і у рогівці зокрема, морфологічні особливості регенераторного процесу в рогівці.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Роль перекисного окислення ліпидов в развитие глаукомы / В. Н. Алексеев, С. А. Кетлинский, Б. П. Шаронов [и др.] // Вестник офтальмологии. – 1993. – Т. 109, № 5. – С. 10–12.
2. Воскресенская Л. К. Роль перекисного окисления липидов в патогенезе старческой катаракты и её профилактика антиоксидантами : автореф. дисс. на соискание научн. степени канд. мед. наук / Л. К. Воскресенская. – М., 1985. – 30 с.
3. Затковська О. Я. Роль попереднього гострого емоційного стресу в перебігу комбінованої травми в експерименті / О. Я. Затковська, А. А. Гудима // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2011. – № 1 (23). – С. 120–123.
4. Киселева Т. Н. Значение биохимических показателей слезной жидкости для ранней диагностики и прогноза течения травматического увеита : автореф. дисс. на соискание научн. степени канд. мед. наук / Т. Н. Киселева. – Челябинск, 1995.
5. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
6. Практикум по биохимии / под ред. С. Е. Северина, Т. А. Соловьевой. – М. : Изд-во МГУ, 1989. – С. 160–161.
7. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили : в кн. : Современные методы в биохимии : под ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 66–68.
8. Влияние антиоксидантной и лазерной терапии на состояние мембран эритроцитов при экспериментальном перитоните / Д. В. Срубилин, Д. А. Еникеев, В. А. Мышкин [и др.] // Мед. вестн. Башкортостана. – 2009. – № 2. – С. 102–106.
9. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лабораторное дело. – 1985. – Вып. 11. – С. 678–681.
10. Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases / N. Ballatori, S. M. Krance, S. Notenboom [et al.] // Biol. Chem. – 2009. – Vol. 390(3). – P. 191–214.
11. Brooks D. E. Matrix metalloproteinase inhibition in corneal ulceration / D. E. Brooks, F. J. Ollivier // Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract. – 2004. – Vol. 34, № 3. – P. 611–622.
12. Nagano T. Differential regulation of collagen degradation by rabbit keratocytes and polymorphonuclear leukocytes / T. Nagano, M. Nakamura, T. Nishida // Curr. Eye Res. – 2002. – Vol. 24, № 3. – P. 240–243.
13. Imbalance in corneal redox state during herpes simplex virus induced keratitis in rabbits. Effectiveness of exogenous glutathione supply / C. Nucci, A. T. Palamara, M. R. Ciriolo [et al.] // Exp. Eye Res. – 2000. – Vol. 70, № 2. – P. 215–220.
14. Reaven G. M. The fourth Musketeer – from Alexander Dumas to Claude Bernard / G. M. Reaven // Diabetologia. – 1995. – Vol. 38. – P. 3–13.

Отримано 11.03.13