

УДК 617.7-001.4-002-092

Я.І. Пенішкевич*Кафедра офтальмології імені Б.Л. Радзіховського (зав. – д.мед.н. Я.І. Пенішкевич) ВДНЗ України “Буковинський державний медичний університет”, м. Чернівці*

ІНТЕНСИВНІСТЬ ДЕГРАДАЦІЇ НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИХ БІЛКІВ У ВОЛОЗІ ПЕРЕДНЬОЇ КАМЕРИ ОКА ПРИ ПРОНИКНОМУ ПОРАНЕННІ ВІЙЧАСТОГО ТІЛА В ЕКСПЕРИМЕНТІ: ВПЛИВ ПРОСТАГЛАНДИНІВ ТА ІНГІБІТОРІВ СИНТЕЗУ ЕЙКОЗАНОЇДІВ

Резюме. З метою вивчення впливу простагландинів, а також інгібіторів їх синтезу на протеолітичний лізис низькомолекулярних білків у волозі передньої камери ока при проникному пораненні війчастого тіла проведено дослідження на 40 очах 40 кроликів породи Шиншила. Показано, що при проникній травмі війчастого тіла інтенсивність лізису низькомолекулярних білків не змінюється, проте колагеназна активність вологи передньої камери ока зростає впродовж всього періоду експерименту. Встановлено, що простагландини (PG) E_1 і $F_{2\alpha}$ зменшують ступінь деградації низькомолекулярних білків, простагландин E_2 підвищує інтенсивність лізису азоальбуміну за умов зниження інтенсивності протеолітичного розпаду колагену, а парацетамол, диклофенак і дексаметазон зменшують протеоліз низькомолекулярних білків, але суттєво підвищують колагеназну активність вологи передньої камери ока у кроликів з травмою війчастого тіла.

Ключові слова: око, війчасте тіло, травма, простагландини, протеоліз.

На ранніх стадіях післятравматичного запалення ока спостерігається гіперемія увеальних судин, яка супроводжується набряком і периваскулярним накопиченням поліморфонуклеарних лейкоцитів і лімфоцитів. Не виключено, що закупорка капілярів нейтрофілами – це той механізм, який відповідає за феномен відсутності відновлення току крові при експериментальній ішемії в багатьох тканинах [1, 2]. Відомо, що ішемічні ушкодження тканин характеризуються втратою клітин через некроз, коли створюються умови для неконтрольованої дії гідролітичних ферментів – і екзогенних, і тих, що вивільняються у вогнищі запалення [3].

Отже, запобігання надмірному відкладанню фібрину може попередити гіперпроліферативну реакцію травмованого ока, зменшити ймовірність утворення фіброзних шварт і пов'язаних з ними ускладнень функції ока [4].

Мета дослідження: дослідити вплив простагландинів, а також інгібіторів їх синтезу на протеолітичний лізис низькомолекулярних білків у волозі передньої камери ока при проникному пораненні війчастого тіла.

Матеріал і методи. Робота виконана на 40 очах 40 кроликів породи Шиншила масою 2,0-2,5

кг (вік – 1-1,5 року). Моделювання травми ока (проникне поранення війчастого тіла) проводили за асептичних умов мікрохірургічним лезом під епібульбарною анестезією 0,5% дікаїном поєднано з ретробульбарною анестезією 2,0% розчином новокаїну.

Простагландини (PG) E_1 , E_2 та $F_{2\alpha}$ застосовували в інстиляційних дозах відповідно: 115 нг 2 рази на день, 20 мкг одноразово і 250 нг 3 рази на день упродовж трьох діб (за виключенням $PGF_{2\alpha}$, який вводили впродовж двох тижнів). Парацетамол вводили в дозі 0,5 мг, диклофенак і дексаметазон – 0,05 мг упродовж двох тижнів (всі – шість разів в день).

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

Визначення протеолітичної активності у волозі передньої камери ока проводилося методом лізису азосполук з використанням реактивів “Simko Ltd.” (Україна). Принцип методу полягає в тому, що при інкубації азоальбуміну, азоказеїну або азоколу в лужному середовищі в присутності інгібіторів та активаторів протеолізу, які містяться у волозі передньої камери ока, відбу-

вається ензиматичний лізис азосполук, активність якого оцінюється за ступенем забарвлення інкубаційного розчину [5].

Статистична обробка отриманих даних

проведена на РС IBM 586 за допомогою "Excel-7".

Результати дослідження та їх обговорення.

За умов проникної травми війчастого тіла (табл. 1) істотних змін протеолітичного розщеплення

Таблиця 1

Динаміка змін лізису азоальбуміну (мкМ азоальбуміну на 1 мл за хв) у волозі передньої камери ока під впливом екзогенних простагландинів і при блокаді синтезу ейкозаноїдів за умов проникної травми війчастого тіла, ($\bar{x} \pm Sx$)

Серії досліджень	1 доба	3 доба	7 доба	14 доба	28 доба	60 доба
Контроль, n=5	67,39±3,61	61,50±3,66	60,00±3,14	62,04±2,52	65,71±2,81	64,62±3,53
Травма, n=5	54,99±6,60	63,02±7,00	72,18±6,73	76,69±7,12	68,71±7,97	57,28±6,06
Травма + PGE ₁ , n=5	37,48±4,72 ●●●	46,73±4,98 ●	19,84±2,12 ●●● ***	40,40±6,03 ● **	50,76±6,32	45,81±5,32 ●
Травма + PGE ₂ , n=5	77,88±8,58	100,79±9,86 ●● *	108,82±9,46 ●● *	75,56±6,46	65,28±7,82	59,60±7,12
Травма + PGF _{2α} , n=5	34,40±4,13 ●●● *	46,28±5,24 ●	51,78±6,40	58,66±6,31	62,05±6,65	54,97±6,21
Травма + парацетамол, n=5	37,77±4,13 ●●●	46,01±5,35 ●	55,18±6,03	58,61±6,27	56,09±6,25	46,98±5,12
Травма + диклофенак, n=5	32,11±3,82 ●●● *	41,19±4,59 ●● *	54,98±5,98	59,52±5,75	50,64±5,64 ●	43,04±4,83 ●
Травма + дексаметазон, n=5	34,36±4,61 ●●● *	44,68±6,06 ●	57,32±6,11	61,82±6,71	50,39±4,82 ●	44,71±5,10 ●

Примітки: ● – ступінь вірогідності різниць показників відносно контролю: ● – p<0,05; ●● – p<0,01; ●●● – p<0,001; * – ступінь вірогідності різниць показників відносно даних групи псевдолокованих тварин: * – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001; n – кількість спостережень.

низькомолекулярних (НМБ) не відбувалось. Проте в разі інстиляції в травмоване око PGE₁ спостерігалось зменшення лізису азоальбуміну (АЗА) на 7-му і 14-ту добу досліду, а PGE₂ підвищував цей показник на 3-тю і 7-му добу експерименту. Введення PGF_{2α} і дексаметазону призвело до зменшення протеолізу олігопептидів лише на 1-шу добу спостережень, парацетамол не впливав на лізис НМБ, а диклофенак зменшував розпад останніх на 1-шу та 3-тю добу досліду. Отже, проникна травма війчастого тіла не змінює протеолітичної активності вологи передньої камери (ПК) ока щодо НМБ, але її поєднання з введенням PGE₂ викликає активацію протеолізу олігопептидів. PGE₁ зменшує лізис НМБ всере-

дині експерименту, а PGF_{2α}, диклофенак і дексаметазон виявляють антипротеолітичну активність у перші три доби після проникного поранення ока. Парацетамол при травмі війчастого тіла практично не впливає на інтенсивність лізису АЗА у волозі ПК травмованого ока.

У тварин з проникним пораненням війчастого тіла (табл. 2) інтенсивність колагенолізу в травмованому оці на 1-шу добу знижувалася на 43,7%, зростала на 24,7% на 14-ту добу і була на 42,8% меншою за контроль наприкінці експерименту. PGE₁ значно збільшував лізис азоколу (АЗК) в травмованому оці, який на 1-шу і 3-тю добу лікування перевищував контроль на 34,2% та в 2,2 рази, відповідно. PGE₂ на 3-тю добу

Таблиця 2

Динаміка змін лізису азоколу (мкМ азоколу на 1 мл за хв) у волозі передньої камери ока під впливом екзогенних простагландинів і при блокаді синтезу ейкозаноїдів за умов проникної травми війчастого тіла, ($\bar{x} \pm Sx$)

Серії досліджень	1 доба	3 доба	7 доба	14 доба	28 доба	60 доба
Контроль, n=5	1,86±0,08	1,88±0,09	1,82±0,07	1,90±0,11	1,81±0,06	1,87±0,09
Травма, n=5	1,05±0,11 ●●●	1,66±0,13	2,10±0,11	2,37±0,14 ●	1,66±0,12	1,07±0,11 ●●
Травма + PGE ₁ , n=5	2,49±0,16 *** ●●	4,14±0,52 ** ●●	1,25±0,09 *** ●●	2,60±0,20 ●	2,09±0,20	1,86±0,11 ***
Травма + PGE ₂ , n=5	1,30±0,16 ●	0,36±0,04 *** ●●●	2,68±0,16 * ●●	2,01±0,13	1,28±0,16 ●	0,95±0,14 ●●●
Травма + PGF _{2α} , n=5	1,07±0,11 ●●●	1,02±0,13 ** ●●●	1,09±0,11 *** ●●●	1,96±0,14	1,34±0,13 ●	0,81±0,09 ●●●
Травма + парацетамол, n=5	1,36±0,13 ●	2,14±0,11 * ●●	2,75±0,18 * ●●	3,04±0,25 * ●●	2,06±0,14	1,32±0,13 ●●
Травма + диклофенак, n=5	1,47±0,15	2,29±0,26	2,93±0,25 * ●●	3,07±0,31 ●●	2,15±0,25	1,40±0,14 ●
Травма + дексаметазон, n=5	1,42±0,15 ●	2,22±0,18 * ●●	2,88±0,26 * ●●	3,00±0,26 ●●	2,08±0,19	1,42±0,15 ●

Примітки: ● – ступінь вірогідності різниць показників відносно контролю: ● – p<0,05; ●● – p<0,01; ●●● – p<0,001; * – ступінь вірогідності різниць показників відносно даних у псевдолікованих тварин: * – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001; n – кількість спостережень.

викликав додаткове зменшення лізису АЗК – в 4,5 раза відносно показників у псевдолікованих тварин. Варто зазначити, що PGF_{2α} на 3-тю і 7-му добу лікування викликав зниження колагенолітичної активності у волозі ПК пораненого ока (на 38,3 та 48,0% відповідно), а наприкінці дослідження лізис АЗК був у 2,3 раза меншим за контрольні показники. Усі три інгібітори метаболізму АК нормалізували інтенсивність колагенолізу на 3-тю добу лікування і значно збільшували її на 7-му і 14-ту добу експерименту. На 28-му добу лізис АЗК відповідав контролю, однак знову зменшувався наприкінці спостереження.

Отже, PGE₁, парацетамол, диклофенак і дексаметазон, але не PGF_{2α}, виявляють ефективність щодо корекції порушення колагенолізу в травмованому оці при проникному пораненні війчастого тіла, а PGE₂ викликає додаткове пригнічення колагенолітичної активності.

Висновки. 1. При проникній травмі війчастого тіла інтенсивність лізису низькомолекулярних білків не змінюється, проте колагеназна акти-

вність вологи передньої камери ока зростає впродовж всього періоду репаративної регенерації. 2. Простагландин E₁ зменшує ступінь деградації низькомолекулярних білків на сьому і чотирнадцяту доби дослідження у волозі передньої камери ока кроликів з проникною травмою війчастого тіла і одночасно значно збільшував лізис азоколу на першу і третю доби лікування, відповідно на 34,2% та в 2,2 раза. 3. Простагландин F_{2α} зменшує ступінь деградації низькомолекулярних білків у волозі передньої камери ока кроликів з проникним пораненням війчастого тіла лише на першу добу спостережень і водночас викликає зниження колагенолітичної активності на третю і сьому доби лікування на 38,3 та 48,0% відповідно. 4. Простагландин E₂ підвищує інтенсивність лізису азоальбуміну на третю і сьому доби експерименту за умов зменшення інтенсивності протеолітичного розпаду колагену на третю добу (в 4,5 раза) в тканинах ока при проникному пораненні війчастого тіла. 5. Диклофенак і дексаметазон зменшують протеоліз низькомолекулярних білків, але суттєво

підвищують колагеназну активність вологи передньої камери ока у кроликів з травмою відчасного тіла на сьому і чотирнадцяту доби експерименту.

Перспективи подальших досліджень. Проведені експериментальні дослідження доводять

зміни протеолітичної деградації низькомолекулярних білків у волозі передньої камери травмованого ока, а також необхідність її корекції сучасними медикаментозними засобами, що варто розглядати як доклінічний етап даного дослідження і потреби наступного вивчення цих процесів у клініці.

Список використаної літератури

1. *Structural and functional changes in retinal vasculature induced by retinal ischemia-reperfusion in rats* / T. Nakahara, M. Hoshino, S. Hoshino [et al.] // *Exp. Eye Res.* – 2015. – V. 135. – P. 134-145.
2. *Autolytic degradation of ocriplasmin: a complex mechanism unraveled by mutational analysis* / B. Noppen, L. Fonteyn, F. Aerts [et al.] // *Protein Eng. Des. Sel.* – 2014. – V. 27(7). – P. 215-223.
3. *Kessler E. Elastinolytic and proteolytic enzymes* / E. Kessler, M. Safrin // *Methods Mol. Biol.* – 2014. – V. 1149. – P. 135-169.
4. *Пенішкевич Я.І. Інтенсивність лізису низькомолекулярних білків у волозі передньої камери ока при проникаючому пораненні правки і райдужки в експерименті: вплив простагландинів та інгібіторів синтезу ейкозаноїдів* / Я.І. Пенішкевич // *Клін. анатом. та оператив. хірург.* – 2014. – Т. 13, № 2(48). – С. 85-88.
5. *Кухарчук О.Л. Патогенетична роль та методи корекції інтегративних порушень гормонально-месенджерних систем регуляції гомеостазу натрію при патології нирок: автореф. дис... д-ра мед. наук: 14.03.05 / Одеський мед. ін-т / О.Л. Кухарчук. – Одеса, 1996. – 37 с.*

ИНТЕНСИВНОСТЬ ДЕГРАДАЦИИ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ БЕЛКОВ ВЛАГИ ПЕРЕДНЕЙ КАМЕРЫ ГЛАЗА ПРИ ПРОНИКАЮЩЕМ РАНЕНИИ ЦИЛИАРНОГО ТЕЛА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ: ВЛИЯНИЕ ПРОСТАГЛАНДИНОВ И ИНГИБИТОРОВ СИНТЕЗА ЭЙКОЗАНОИДОВ

Резюме. С целью изучения влияния простагландинов, а также ингибиторов их синтеза на протеолитический лизис низкомолекулярных белков влаги передней камеры глаза при проникающем ранении цилиарного тела проведено исследование 40 глаз 40 кроликов породы Шиншилла. Показано, что при проникающем ранении цилиарного тела интенсивность лизиса низкомолекулярных белков не изменяется, однако колагеназная активность влаги передней камеры глаза увеличивается на протяжении всего периода эксперимента. Установлено, что PGE₁ и PGF_{2α} снижают степень деградации низкомолекулярных белков, PGE₂ повышает интенсивность лизиса низкомолекулярных белков при снижении интенсивности протеолитического распада коллагена, а парацетамол, диклофенак и дексаметазон снижают протеолиз низкомолекулярных белков, однако существенно повышают колагеназную активность влаги передней камеры глаза у кроликов с ранением цилиарного тела.

Ключевые слова: глаз, цилиарное тело, травма, простагландины, протеолиз.

EXPERIMENTAL EVALUATION OF AQUEOUS HUMOR LOW-MOLECULAR PROTEINS DEGRADATION DUE TO PENETRATING CILIARY BODY INJURY: THE INFLUENCE OF PROSTAGLANDINS AND EICOSANOIDS SYNTHESIS INHIBITORS

Abstract. With the aim to study the influence of prostaglandins and their synthesis inhibitors on proteolytic lysis of low-molecular proteins (LMP) of the anterior chamber of the eye aqueous humour due to penetrating ciliary body injury was evaluated. Examination of 40 eye of 40 chinchillas was performed. The intensity of LMP lysis due to penetrating ciliary body injury does not change, while collagen activity of aqueous humour increases throughout all the period of the experiment. PGE₁ and PG F_{2α} were found to reduce degradation degree of LMP, PG E₂ increases the intensity of LMP lysis with decreasing intensity of proteolytic collagen breakdown (cleavage). Paracetamol, diclofenac and dexamethasone decrease proteolysis of LMP, but essentially increase collagenolytic activity of anterior chamber aqueous humour of rabbit eyes due to penetrating ciliary body injury.

Key words: eye, ciliary body, injury, prostaglandins, proteolysis.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Надійшла 01.04.2015 р.

Рецензент – проф. Герасимюк І.Є. (Тернопіль)