

УДК 577.1752/.7:6147/713-001]-092.9

Я. І. ПенішкевичВищий державний навчальний заклад
України "Буковинський державний
медичний університет", м. Чернівці**ВПЛИВ ПРОСТАГЛАНДИНІВ ТА
ІНГІБІТОРІВ ЇХ СИНТЕЗУ НА
ПРОТЕОЛІТИЧНУ ДЕГРАДАЦІЮ
НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИХ БІЛКІВ У
ВОЛОЗІ ПЕРЕДНЬОЇ КАМЕРИ ОКА
КРОЛИКІВ ПРИ ПОДВІЙНОМУ
ПРОНИКНОМУ ПОРАНЕННІ СКЛЕРИ****Ключові слова:** око, склера, трав-
ма, простагландини, протеоліз.**Резюме.** З метою вивчення впливу простагландинів, а також інгібіторів їх синтезу на протеолітичну активність вологи передньої камери ока при подвійному проникному пораненні склери проведені досліді на 40 очах 40 кроликів породи Шиншила. Показано, що інтенсивність лізису низькомолекулярних білків (НМБ) не змінюється, проте колагеназна активність вологи передньої камери ока зростає протягом всього періоду спостереження. Встановлено, що простагландини (PG) E1 і PGF2 зменшують ступінь деградації низькомолекулярних білків, PGE2 підвищує інтенсивність лізису азоальбуміну за зниження інтенсивності протеолітичного розпаду колагену, а парацетамол, діклофенак і дексаметазон зменшують протеоліз низькомолекулярних білків, але суттєво підвищують колагеназну активність вологи передньої камери ока у кроликів з подвійним проникним пораненням склери.**Вступ**

Тривале вивільнення біологічно активних речовин, внаслідок післятравматичного запалення ока, сприяє пошкодженню ендотелію капілярів і венул. У випадках легкого ушкодження, через гематоофтальмічний бар'єр (ГОб) проникають низькомолекулярні білки (НМБ) - альбуміни, а при більш тяжких ушкодженнях - глобуліни та фібриноген, що викликає утворення інтраокулярних фіброзних мембран і тяжів [5 Bastiaans, 8 Kessler]. Причинами розвитку сполучної тканини можуть бути процеси організації запальних ексудатів, гемофтальму та сторонніх тіл; хронічні післятравматичні увеїти, трансформація епітелію капсули пошкодженого кришталика тощо [3, 9, 13, 11]. Отже, порушення цілісності структур ГОб викликає надлишковий розвиток фіброзної тканини, що може призвести не тільки до втрати зору, а навіть до прогресуючої атрофії очного яблука [4, 7].

Мета роботи

Вивчити вплив простагландинів, а також інгібіторів їх синтезу на протеолітичну деградацію низькомолекулярних білків у волозі передньої камери ока при подвійному проникному пораненні склери.

Матеріал і методи

Робота виконана на 40 очах 40 кроликів породи Шиншила масою 2-2,5 кг (вік - 1-1,5 року). Мо-

© Я.І.Пенішкевич, 2015

делювання травми ока (подвійне проникне поранення склери) проводили за асептичних умов мікрохірургічним лезом під епібульбарною анестезією 0,5% дікаїном в поєднанні з ретробульбарною анестезією 2,0% розчином новокаїну.

Простагландини (PG) E1, E2 та F2 застосовували в інстиляційних дозах відповідно: 115 нг 2 рази на день, 20 мкг одноразово і 250 нг 3 рази на день протягом трьох діб (за виключенням PGF2, який вводили протягом двох тижнів). Парацетамол вводили в дозі 0,5 мг, діклофенак і дексаметазон - 0,05 мг протягом двох тижнів (всі - шість разів в день).

Забір вологи передньої камери (ПК) 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, відбувається ензиматичний лізис азосполук, активність якого оцінюється за ступенем забарвлення інкубаційного розчину [1].

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

Обговорення результатів дослідження

При подвійній проникній травмі склери лізис азоальбуміну (АЗА) (табл. 1) на 14-ту добу експерименту зазнав незначного, на 29,3%, підвищення відносно контролю. PGE₁ майже не впливав на лізис АЗА (зменшення його інтенсивності спостерігалось лише на 7-му добу); PGE₂ підсилював лізис АЗА з чотириденним періодом післядії, а PGF_{2α} зменшував інтенсивність розпаду НМБ тільки на 1-шу добу лікування. Парацетамол не змінював лізису олігопептидів у волозі ПК травмованого ока, а диклофенак і дексаметазон пригнічували протеолітичну деградацію НМБ протягом 14-ти та на 28 добу, відповідно.

Лізис азоколу (АЗК), який свідчить про інтенсивність розпаду колагену становив в контролі - 1,86 0,08 азоколу на 1 мл/хв. Подвійне проникне поранення склери призводило до істотного пригнічення колагеназної активності у волозі ПК травмованого ока (табл. 2): лізис азоколу був меншим за контроль на 22,8 - 61,6% на 14-ту і на 60-ту доби, відповідно. PGE₁ збільшував інтенсивність

колагенолізу в травмованому оці тільки в період безпосередньої дії - на 1-шу і 3-тю добу лікування (на 70,8 та 77,2%, відповідно). PGE₂ різко знижував колагенолітичну активність у волозі ПК пораненого ока (в 3,9 разу) на 3-тю добу, а на 7-му добу показник досягав контрольних величин. PGF_{2α} сприяв нормалізації колагенолізу в травмованому оці на 3-тю, 7-му і 28-му добу лікування та викликав його підвищення відносно контролю на 41,4% на 14-ту добу експерименту. При використанні парацетамолу, диклофенаку та дексаметазону інтенсивність колагенолізу не відрізнялася від контрольних величин з 3-ої по 14-ту добу лікування.

Морфологічно встановлено, що основним ускладненням після повторної травми ока стає формування фіброзних мембран на внутрішній та зовнішній поверхні сітківки [12]. Відмічено запальні зміни в хоріоїдеї, з руйнуванням пігментного епітелію та міграцією його клітин у скловидне тіло [6]. При імуногістохімічному дослідженні виявлена експресія HLA-антигенів, комплексу

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 подвійної проникної травми склери, (x±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	57,30±6,16	63,07±6,38	74,41±7,03	80,20±7,12	62,95±6,10	51,54±6,21
Травма + PGE ₁ , n=5	40,11±4,88	47,05±5,28	40,34±6,02 **	61,11±6,52	55,57±5,86	57,79±6,02
Травма + PGE ₂ , n=5	91,59±7,06 **	108,82±9,46 **	103,07±9,84 *	77,84±7,45	66,44±8,54	64,21±7,58
Травма + PGF _{2α} , n=5	35,52±3,95 *	47,44±5,20	57,09±6,09	60,72±6,78	56,15±6,02	46,97±6,22
Травма + парацетамол, n=5	42,40±5,02	47,19±5,56	54,94±6,03	62,99±5,87	53,83±5,43	43,53±4,53
Травма + диклофенак, n=5	36,65±4,37 *	43,50±5,60 *	46,99±5,14 *	56,14±5,85 *	48,74±4,80	41,29±5,51
Травма + дексаметазон, n=5	34,36±3,93 *	40,06±5,51 *	44,62±5,31 **	51,51±5,29 *	43,49±4,73 *	38,95±5,11

Примітки:

• - ступінь достовірності різниць показників відносно контролю:

● - p<0,05; ●● - p<0,01; ●●● - p<0,001;

* - ступінь достовірності різниць показників відносно даних групи псевдолікованих тварин:

* - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001;

n - число спостережень.

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 подвійної проникної травми склери, ($x \pm Sx$)

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	0,76±0,08	1,19±0,13	1,35±0,13	1,47±0,14	1,00±0,11	0,72±0,08
Травма + PGE1, n=5	1,30±0,13 **	2,10±0,21 **	1,03±0,11	1,42±0,14	0,96±0,11	0,61±0,08
Травма + PGE2, n=5	0,83±0,08	±0,21 **	1,83±0,13 *	1,23±0,13	0,83±0,09	0,54±0,09
Травма + PGF2α, n=5	1,07±0,11	1,54±0,15	1,77±0,19	2,69±0,22 **	1,56±0,14 *	0,93±0,09
Травма + парацетамол, n=5	0,95±0,11	1,52±0,13	1,89±0,18 *	2,06±0,18 *	1,16±0,13	0,83±0,09
Травма + диклофенак, n=5	1,05±0,11	1,77±0,13 **	1,99±0,15 *	2,13±0,20 *	1,30±0,14	0,95±0,11
Травма + дексаметазон, n=5	1,02±0,11	1,66±0,13 *	1,94±0,13 *	2,04±0,11 *	1,25±0,13	0,88±0,11

Примітки:

- - ступінь достовірності різниць показників відносно контролю;
- - $p < 0,05$; •• - $p < 0,01$; ••• - $p < 0,001$;
- * - ступінь достовірності різниць показників відносно даних у псевдолікованих тварин:
- * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$; n - число спостережень.

імуноглобулінів А, G, М клітинами пігментного епітелію та накопичення S-антигену в сітківці та хоріоїдеї. Отже, розвиток проліферативної вітреоретинопатії з наступним тракційним відшаруванням сітківки відбувається на тлі автоімунних порушень [10, 11]. Патогенетичні механізми та клінічні прояви травматичного відшарування сітківки поліморфні, проте основним чинником, що визначає тяжкість стану ока, стає інтенсивність проліферативного компонента [7]. Усе зазначене переконує про необхідність розробки патогенетично спрямованих методів лікування післятравматичного запалення ока [2].

Висновки

1. При подвійній проникній травмі склери інтенсивність лізису низькомолекулярних білків вологи передньої камери ока кроликів не змінюється, проте колагеназна активність істотно пригнічується: лізис азоколу менше за контроль на 58,9 - 61,6%, відповідно, з першої по шестидесяту доби спостереження, відповідно.

2. Простагландин E_1 зменшує лізис азоальбуміну лише на сьому добу; проте збільшує інтенсивність колагенолізу в травмованому оці тільки в період безпосередньої дії - на першу і третю доби лікування (на 70,8 та 77,2%, відповідно).

3. Простагландин $F_{2\alpha}$ зменшує ступінь деградації низькомолекулярних білків у волозі передньої камери ока кроликів із подвійною проникною травмою склери тільки на першу добу лікування і сприяє нормалізації колагенолізу в травмованому оці на третю, сьому і двадцять восьму доби.

4. Простагландин E_2 підвищує інтенсивність лізису азоальбуміну з чотириденним періодом післядії, і різко знижує колагенлітичну активність у волозі передньої камери пораненого ока (в 3,9 разу) на третю добу лікування.

5. Парацетамол, диклофенак і дексаметазон зменшують протеолітичну деградацію низькомолекулярних білків вологи передньої камери ока протягом чотирнадцяти та на двадцять восьму добу, відповідно; разом з цим в незначній мірі (з третьої по чотирнадцяту добу) підвищують кола-

геназну активність вологи передньої камери ока кроликів з подвійною проникною травмою склери.

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.

Література. 1. 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. - Одеса, 1996. - 37 с. 2. Пенішкевич Я.І. Інтенсивність лізису низькомолекулярних білків у волозі передньої камери ока при проникному пораненні правки і райдужки в експерименті: вплив простагландинів та інгібіторів синтезу ейкозаноїдів / Я.І. Пенішкевич // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. - 2014. - т. 13. - №2(48). - С. 85 - 88. 3. Компоненты регуляции фибринолиза и ангиогенеза на примере ожоговой невааскуляризации роговицы у кроликов / Чеснокова Н.В., Айсина Р.Б., Мухамедова Л.И. и др. // Вестник офтальмологии. - 2012. - Т.128(4). - С.62-65. 4. Azuma M. Calpain protease causes hypoxia-induced proteolysis in cultured human retina. / Azuma M., Hammond K.B., Nakajima E., Shearer T.R. // Curr. Eye Res. - 2014. - V.39(4). - P.421-424. 5. Factor Xa and thrombin stimulate proinflammatory and profibrotic mediator production by retinal pigment epithelial cells: a role in vitreoretinal disorders? / Bastiaans J., van Meurs J.C., van Holten-Neelen C., et al. // Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. - 2013. - V.251(7). - P.1723-1733. 6. Plasminogen in proliferative vitreoretinal disorders. / Esser P., Heimann K., Bartz-Schmidt K.U., et al. // Br. J. Ophthalmol. - 1997. - V.81(7). - P.590-594. 7. Resveratrol inhibits epithelial-mesenchymal transition of retinal pigment epithelium and development of proliferative vitreoretinopathy. / Ishikawa K., He S., Terasaki H., et al. // Sci. Rep. - 2015. - V.10(5). - P.16386. 8. Kessler E. Elastolytic and proteolytic enzymes. / Kessler E., Safrin M. // Methods Mol. Biol. - 2014. - V.1149. - P.135-169. 9. Bacillus cereus-induced permeability of the blood-ocular barrier during experimental endophthalmitis. / Moyer A.L., Ramadan R.T., Novosad B.D., et al. // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. - 2009. - V.50(8). - P.3783-3793. 10. Inhibition of choroidal fibrovascular membrane formation by new class of RNA interference therapeutic agent targeting periostin. / Nakama T., Yoshida S., Ishikawa K., et al. // Gene Ther. - 2015. - V. 22(2). - P. :127-137. 11. Autolytic degradation of ocriplasmin: a complex mechanism unraveled by mutational analysis. / Noppen B., Fonteyn L., Aerts F., et al // Protein Eng. Des. Sel. - 2014. - V.27(7). - P.215-223. 12. Anatomic and functional outcomes of retinectomy for the management of complicated retinal detachment with proliferative vitreoretinopathy. / Tranos P., Vakalis A., Asteriadis S., et al. // Ther. Clin. Risk Manag. - 2015. - V. 3(11). - P. 1515-1521. 13. Trypsin-mediated enzymatic degradation of type II collagen in the human vitreous. / van Deemter M., Kuijjer R., Harm Pas H., et

all. // Mol. Vis. - 2013. - V.20(19). - P.1591-1599.

ВЛИЯНИЕ ПРОСТАГЛАНДИНОВ И ИНГИБИТОРОВ ИХ СИНТЕЗА НА ПРОТЕОЛИТИЧЕСКУЮ ДЕГРАДАЦИЮ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ БЕЛКОВ ВО ВЛАГЕ ПЕРЕДНЕЙ КАМЕРЫ ГЛАЗА КРОЛИКОВ ПРИ ДВОЙНОМ ПРОНИКАЮЩЕМ РАНЕНИИ СКЛЕРЫ

Я.И.Пенішкевич

Резюме. С целью изучения влияния простагландинов, а также ингибиторов их синтеза на протеолитическую активность влаги передней камера глаза при двойном проникающем ранении склеры проведено исследование 40 глаз 40 кроликов породы Шиншилла. Показано, что интенсивность деградации низкомолекулярных белков не изменяется, однако коллагеназная активность влаги передней камеры глаза увеличивается на протяжении всего периода эксперимента. Установлено, что PGE1 и PGF2 α снижают степень деградации низкомолекулярных белков, PGE2 повышает интенсивность лизиса азоказеина при снижении интенсивности протеолитического распада коллагена, а парацетамол, диклофенак и дексаметазон снижают протеолиз низкомолекулярных белков, однако незначительно повышают коллагеназную активность влаги передней камеры глаза у кроликов с двойным ранением склеры.

Ключевые слова: глаз, склера, травма, простагландины, протеолиз.

THE INFLUENCE OF PROSTAGLANDINS AND THEIR SYNTHESIS INHIBITORS ON AQUEOUS HUMOUR LOW-MOLECULAR PROTEINS DEGRADATION INTENSITY OF RABBITS EYE DUE TO DOUBLE PENETRATING SCLERAL INJURY

Ya.Penishkevich

Abstract. The influence of prostaglandins and their synthesis inhibitors on proteolytic degradation activity of rabbits aqueous humour due to double penetrating scleral injury was evaluated. The intensity of low-molecular proteins degradation does not change, while collagen activity of aqueous humour increases throughout all period of experiment. PGE1 and PGF2 α reduce degradation degree of low -molecular proteins, PGE2 increases the intensity of asocasein degradation, therefore decreasing intensity of proteolytic collagen cleavage. Paracetamol, diclofenac and dexamethasone decrease the proteolysis of low -molecular proteins, but increase collagenolytic activity of anterior chamber aqueous humour in rabbit eyes due to double penetrating scleral injury.

Key words: eye, sclera, injury, prostaglandins, proteolysis.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi

Clin. and experim. pathol. - 2015. - Vol.14, №4 (54). - P.121-124.

Надійшла до редакції 15.11.2015

Рецензент – проф.В.М. Коновчук

© Я. І. Пенішкевич, 2015