

ВЛИЯНИЕ ЛИПОФЛАВОНА НА СОСТОЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНО — ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В СЕТЧАТКЕ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ЕЕ ДИСТРОФИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ВОЗДЕЙСТВИЕМ СВЕТА ВЫСОКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ

Ю. В. Уманская, аспирант, **А. А. Путиенко**, ст. н. сотр., д. мед. н

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова АМН Украины»

При моделюванні у 26 кроликів (52 ока) дистрофічного процесу в сітківці, викликаного дією світла високої інтенсивності, вивчена активність кислоти фосфатази, яка не седиментує, а також активність загальної кислоти фосфатази, глутатіонпероксидази, супероксиддисмутази і каталази. Виявлено значне підвищення активності кислоти фосфатази, яка не седиментує, до 134% відносно контролю, що свідчить про порушення цілісності лізосомальних мембран сітківки при дії світлового чинника. Відмічена активація ферментативної антиоксидантної системи сітківки при застосуванні ліпофлавонону на тлі світлової дії, яка виявлялася підвищенням активності супероксиддисмутази і каталази. Виявлена стабілізуюча дія препарату на лізосомальні мембрани клітин пігментного епітелію сітківки.

Отримані дані є підставою для застосування ліпофлавонону в клініці з метою стабілізації прогресу дистрофічних процесів в сітківці, зокрема, при віковій макулодистрофії.

Ключевые слова: дистрофия сетчатки, свет высокой интенсивности, окислительно-восстановительные процессы, липофлавонон, эксперимент.

Ключові слова: дистрофія сітківки, світло високої інтенсивності, окислювально-відновні процеси, ліпофлавонон, експеримент.

Введение. Разработка новых способов лечения дистрофических заболеваний сетчатой оболочки глаза, в том числе возрастной макулодистрофии (ВМД), является одной из актуальных задач современной офтальмологии. В патогенезе ВМД ведущая роль отводится процессам свободно-радикального повреждения тканей, в результате которых развивается стойкий окислительный стресс центральной зоны сетчатки [1,3,7,8]. Исходя из современных данных литературы, окислительный стресс резко ускоряет процессы апоптоза — прежде всего пигментного эпителия (ПЭ), затрагивая также фоторецепторы и ганглиозные клетки. [9-12].

Одним из возможных путей защиты сетчатки от патологического воздействия свободных радикалов, по данным Коок D. и соавт., Hanneken A. и соавт., Chida M и соавт., является применение природных антиоксидантов биофлавоноидов [9-11].

Maher P. и соавт., исследуя in vitro антиоксидантный эффект целого ряда этих соединений, показали, что добавление их к культуре ПЭ, подвергавшейся воздействию гидропероксида водорода, позволяет сохранить функциональную активность этих клеток в 80 — 100% случаев по сравнению с контролем. При этом токсического эффекта флавоноидов на ПЭ отмечено не было. Авторы также обнаружили положительный эффект этих соединений, заключающийся в экспрессии протеинов, которые обеспечивают дополнительную защиту от оксидативного стресса. Из девяти изучаемых флавоноидов (7 природных и двух синтетических), одним из наиболее эффективных оказался кверцетин [12].

По данным Коок D и соавт., кверцетин in vitro существенно замедляет клеточную смерть ПЭ, находящегося в условиях оксидативного стресса, за счет снижения активности фермента апоптоза — каспазы-3 и уменьшения уровня белка кавеолина-1 [11].

Применение этого соединения на начальных стадиях заболеваний центральной зоны сетчатки, в частности ВМД, может быть высоко эффективным.

Наше внимание привлек препарат липофлавонон, который представляет собой композицию природного фосфатидилхолина (лецитина) и биофлавоноида кверцетина. Липосомальная форма препарата способствует свободному проникновению через биомембраны к патологическому очагу, снижению токсичности и пролонгированному действию [2].

Экспериментальные исследования, направленные на изучение антиоксидантного действия липофлавонона, основным компонентом которого является кверцетин, в условиях моделирования дистрофического процесса сетчатки ранее не проводились.

Таким образом, целью исследования явилось изучение влияния липофлавонона на состояние окислительно-восстановительных процессов в сетчатке при экспериментальном моделировании ее дегенеративно-дистрофического процесса воздействием света высокой интенсивности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. Под наблюдением находилось 26 кроликов (52 глаза) породы шиншилла, массой 1,5 — 2 кг, которые содержались в

стандартных условиях вивария. Животные были подразделены на 4 группы: I — контрольная, 6 кроликов (12 глаз), II — опытная, 6 кроликов (12 глаз) в которой животные получали липофлавоны (в/в струйно вводили 0,6 мл эмульсии липофлавона, приготовленной непосредственно перед употреблением, всего 10 инъекций, с последующими инстилляциями этого препарата по 1 капле 4 раза в день в течение 16 недель от начала эксперимента), III — опытная, 7 кроликов (14 глаз), у которых моделировалась дегенерация сетчатки, IV — опытная, 7 кроликов (14 глаз), которые на фоне моделирования дегенерации сетчатки получали препарат липофлавоны по той же схеме, что и во второй группе.

Для моделирования дегенеративно-дистрофического процесса в сетчатке животных, их облучали светом высокой интенсивности в течение светового дня с 9 до 18 часов в квадратной комнате площадью 10 кв. м в условиях кондиционирования воздуха дуговой ртутно-вольфрамовой лампой типа ДРФ -1000 (длина волны 350 — 1150 нм, плотность потока световой энергии 30 мВт на см², напряжение 220 В, мощность 1000Вт). Лампа была размещена в центре комнаты на равном расстоянии от потолка и от пола. Животные находились в клетках с решетчатыми боковыми стенками, задняя стенка была оклеена фольгой серебряного цвета [4]. Длительность облучения составила 28 недель.

Животных выводили из эксперимента в состоянии глубокого наркоза

(1 мл 10% раствора тиопентала натрия на кг массы) методом воздушной эйболии.

Глаза были энуклеированы на льду при температуре 0 — 5°C. Для исследования использовали сетчатку, из которой готовили гомогенат с 0,9% раствором хлорида натрия в соотношении 1:9 (вес:объем).

В сетчатке экспериментальных животных изучали неседиментируемую активность кислой фосфатазы, активность общей кислой фосфатазы, глутатионпероксидазы, супероксиддисмутазы и каталазы [5,6].

Полученные данные обрабатывались в программе «Statistica 5,5» с использованием критерия Стьюдента для независимых выборок.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. Анализ развития дистрофических изменений на глазном дне у различных экспериментальных групп свидетельствовал о том, что развитие хориоретинальных очагов в заднем полюсе глаза достоверно чаще происходило у животных, которые не получали липофлавоны — как по срокам появления первых признаков дистрофии сетчатки, так и по степени их выраженности.

Результаты изучения активности ряда биохимических показателей в сетчатке после 28 недель облучения в различных условиях эксперимента представлены в таблице 1.

При световом воздействии в течение 28 недель отмечалось значительное повышение неседиментируемой активности кислой фосфатазы — до 134% относительно контроля, свидетельствующее о нарушении целостности лизосомальных мембран сетчатки у экспериментальных животных. При применении липофлавона без светового воздействия отмечена тенденция к стабилизации лизосомальных мембран сетчатки, а при применении на фоне светово-

го воздействия липофлавона отмечалось значимое снижение неседиментируемой активности кислой фосфатазы до 87,4%, что связано со стабилизацией мембран лизосом сетчатки при действии препарата.

Общая активность кислой фосфатазы во всех экспериментальных группах колебалась в пределах нормы.

Следует отметить, что при применении липофлавона наблюдалась тенденция к активации ферментативной антиоксидантной системы сетчатки глаза по отношению к контрольной группе животных.

При применении света высокой интенсивности через 28 недель происходила существенная активация глутатионпероксидазы в сетчатке, что составляло 132,8% относительно контрольных величин ($p < 0,05$). По-видимому, это связано с интенсификацией процессов перекисного окисления липидов на фоне сниженной активности супероксиддисмутазы и каталазы в сетчатке экспериментальных животных. Так, активность супероксиддисмутазы и каталазы была значительно снижена по отношению к контролю (до 55,6% и 61,9% соответственно) ($p < 0,001$).

Оценивая действие липофлавона при его использовании на фоне действия светового фактора, следует отметить, что активность супероксиддисмутазы и каталазы достоверно отличалась от соответствующих показателей в группе животных только со световым воздействием, составляя 122,8% и 119,6% соответственно ($p < 0,05$).

Также необходимо подчеркнуть, что несмотря на применение препарата, активность как супероксиддисмутазы, так и каталазы была достоверно ниже нормы, составляя 68,4% и 74,1% соответственно ($p < 0,01$).

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о протекторном действии липофлавона на структуры сетчатки при воздействии света высокой интенсивности, что проявляется повышением активности супероксиддисмутазы и каталазы, активно участвующих в процессах детоксикации продуктов перекисного окисления липидов и в свободно-радикальных процессах

Проведенные исследования позволили сделать следующие выводы:

1. Препарат липофлавоны оказывает стабилизирующее влияние на лизосомальные мембраны клеток ПЭ сетчатки при моделировании дистрофического процесса в ней.

2. Применение липофлавона оказывает выраженный антиоксидантный эффект, что обусловлено его способностью активировать ферменты эндогенной антиоксидантной защиты, а именно, участвующие в процессах детоксикации продуктов перекисного окисления липидов и свободно-радикальных процессах. Препарат способствует устранению продуктов перекисидации, защищая липидный биослой клеточных мембран от повреждения

Активность окислительно-восстановительных ферментов при моделировании дегенеративно-дистрофических процессов в сетчатой оболочке глаз кроликов без и на фоне применения препарата липофлавон.

Биохимические показатели	Статист. показатели	Исследуемые группы			
		контрольная	применение липофлавона	световое воздействие	световое воздействие + липофлавон
Неседментируемая активность кислой фосфатазы (нкат/г)	n	12	12	14	14
	M±m	104,6 ± 8,3	88,9 ± 7,2	140,2 ± 6,3	122,6 ± 5,7
	p ₁	-	>0,05	<0,01	>0,05
	% ₁	100,0	85,0	134,0	117,2
	p ₂	-	-	-	<0,05
Общая активность кислой фосфатазы (нкат/г)	n	12	12	14	14
	M±m	182,6 ± 14,3	189,7 ± 13,5	188,4 ± 13,6	184,5 ± 12,08
	p ₁	-	>0,05	>0,05	>0,05
	% ₁	100,0	103,9	103,2	101,0
	p ₂	-	-	-	>0,05
Активность глутатионпероксидазы (нкат/г)	n	12	12	14	14
	M±m	514,2 ± 45,7	608,8 ± 52,6	682,9 ± 54,3	643,7 ± 50,7
	p ₁	-	>0,05	<0,05	>0,05
	% ₁	100,0	118,4	132,8	125,2
	p ₂	-	-	-	>0,05
Активность супероксид-дисмутазы (нкат/г)	n	12	12	14	14
	M±m	35,4 ± 2,5	43,7 ± 3,4	19,7 ± 1,4	24,2 ± 1,5
	p ₁	-	>0,05	<0,001	<0,001
	% ₁	100,0	123,4	55,6	68,4
	p ₂	-	-	-	<0,05
Активность каталазы (нкат/г)	n	12	12	14	14
	M±m	45,2 ± 2,8	52,2 ± 3,9	28,0 ± 1,7	33,5 ± 1,8
	p ₁	-	>0,05	<0,001	<0,01
	% ₁	100,0	115,5	61,9	74,1
	p ₂	-	-	-	<0,05
Активность каталазы (нкат/г)	n	12	12	14	14
	M±m	45,2 ± 2,8	52,2 ± 3,9	28,0 ± 1,7	33,5 ± 1,8
	p ₁	-	>0,05	<0,001	<0,01
	% ₁	100,0	115,5	61,9	74,1
	p ₂	-	-	-	<0,05
Активность каталазы (нкат/г)	n	12	12	14	14
	M±m	45,2 ± 2,8	52,2 ± 3,9	28,0 ± 1,7	33,5 ± 1,8
	p ₁	-	>0,05	<0,001	<0,01
	% ₁	100,0	115,5	61,9	74,1
	p ₂	-	-	-	<0,05

Примечание: p₁ — уровень значимости различий по отношению к норме, рассчитанный с помощью t — теста для независимых выборок; p₂ — уровень значимости различий по отношению к данным «Световое воздействие», рассчитанный с помощью t — теста для независимых выборок.

3. Полученные данные могут являться основанием для применения липофлавона в клинике с целью стимуляции защитных антиоксидантных систем и, как следствие, профилактики прогрессирования дистрофических процессов в сетчатке при ВМД.

ЛИТЕРАТУРА

1. Журавлева Л. В. Антиоксиданты растительного происхождения в комплексном лечении больных возрастной макулярной дегенерацией. // Тезисы докладов. «Макула». — 2008. — С. 364.
2. Ковалев В. Б., Ковган В. В., Колчина Е. Ю. Механизмы лечебного действия биофлавоноида кверцетина (обзор литературы) //Український медичний альманах. — 1999. — Т. 2 — №4. — С. 176-184.
3. Корниловский И. М. Особенности антиоксидантной защиты сетчатки и патогенеза макулодистрофии. // Тезисы докладов. «Макула». — 2006. — С. 336.
4. Леус Н. Ф., Савко В. В., Юревич О. Ю. Световое повреждение сетчатой оболочки при снижении уровня

5. глутатиона в организме // Офтальмол. журн. — 2004. — №5. — С. 67 — 70.
6. Модель М. А. К определению активности глутатионпероксидазы // Вопросы мед. химии. — 1989. — №4. — С. 132-133.
7. Меньшиков К. Ф., Делекторская Л. Н., Золотницкая Р. П. Лабораторные исследования в клинике. Справочник. — М: Медицина. — 1987. — 368 с.
8. Солдатова А. М. Роль свободнорадикальных окислительно-восстановительных процессов и видимого света в патогенезе склеротических макулодистрофий и ее дифференцированное лечение: Автореф. дисс. доктора мед. наук. — Одесса, 1992.
9. Харинцева С. В., Голуб Л. А. Состояние системы «ПОЛ — антиоксидантная защита» у больных макулярной дегенерацией. // Тезисы докладов. «Макула». — 2008. — С. 435.
10. Chida M, Suzuki K, Nakanishi-Ueda T, Ueda T, et al. In vitro testing of antioxidants and biochemical end-points in bovine retinal tissue // Ophthalmic Res. — 1999. — № 31. — V. 6. — P. 407 — 415.

10. Hanneken A, Lin FF, Johnson J, Maher P. Flavonoids protect human retinal pigment epithelial cells from oxidative-stress-induced death // Invest Ophthalmol Vis Sci. — 2006. — № 47. — V. 7. — P. 3164 — 3177.
11. Kook D, Wolf AH, Yu AL, et al. The protective effect of quercetin against oxidative stress in human RPE in vitro // Invest Ophthalmol Vis Sci. — 2008. — № 49. — V. 4. — P. 1712 — 1720.
12. Maher P, Hanneken A. Flavonoids protect retinal ganglion cells from oxidative-stress-induced death // Invest Ophthalmol Vis Sci. — 2005. — № 46. — V. 12. — P. 4796 — 4803.

Поступила 6.08.2009
Рецензент д-р мед. наук, проф.
Н. Ф. Леус

INFLUENCE OF LIPOFLAVONE ON THE OXIDATIVE-REDOX POTENTIAL OF RETINA AT THE MODEL OF ITS DYSTROPHIC PROCESS BY INFLUENCE OF LIGHT OF HIGH INTENSITY

Umanskaya Ju. V., Putienko A. A.

Odessa, Ukraine

At a model of 26 rabbits (52 eyes) of dystrophic process in a retina, caused by the influence of light of high intensity the unsedimentated activity of acidic phosphatase, activity of general acidic phosphatase, glutathione peroxydase, superoxide dismutase and catalase is studied. It was found, the considerable increase of the unsedimentated activity of acidic phosphatase up to 134% in compare with control group, testifying to violation of integrity of lysosomal membranes of retina at the influence of light factor. Activation of the enzyme antioxidant system of retina was revealed due to application of lipoflavone, which showed up by the increase of activity of superoxide dismutase and catalase.

Findings are background for application of lipoflavone in a clinic for stabilizing of progress of dystrophic processes in a retina, in particular, at age-related macular degeneration.



Обзоры литературы

УДК 617.7-007.681 (048.8)

СУЧАСНИЙ ПОГЛЯД НА НЕОВАСКУЛЯРНУ ГЛАУКОМУ

І. М. Безкоровайна, канд. мед. наук, доцент

Кафедра офтальмології ВДНЗ УМСА

В обзорной статье представлены данные современной литературы по классификации, патогенезу и клинко-морфологическим изменениям, характерным для вторичной неоваскулярной глаукомы

Ключевые слова: неоваскулярная глаукома, патогенез, гипоксия.

Ключові слова: неоваскулярна глаукома, патогенез, гіпоксія.

Вступ. Вторинна неоваскулярна глаукома являється найбільш тяжкою формою глаукомного процесу, підпадаючи під третій ступінь рефрактерності[3]. Термін «неоваскулярна глаукома» (НВГ) був запропонований Weiss D. I. із співав. в 1963 р. [20] Останнім часом, у зв'язку із зростанням судинної патології організму, збільшенням продовжуваності життя населення в економічно розвинених країнах, покращенням якості діагностики (флуоресцентна ангиографія, доплерографія, гоніоскопія та ін.) виявляється все більша кількість хворих на цю складну, інвалідизуючу патологію [10]. Процес її розвитку веде до сліпоті, виснажливого болювого синдрому та послідувочої загибелі ока, різко погіршуючи якість життя пацієнтів. Виникнення неовас-

кулярної глаукоми пов'язане з ішемією внутрішніх шарів сітківки внаслідок первинного захворювання і супроводжується рубезом райдужки та кута передньої камери, що робить малоефективними традиційні антиглаукомні втручання.

Неоваскулярна глаукома може розвиватися внаслідок цілого ряду інтра- та екстраокулярних захворювань. Серед інтраокулярних причин на перший план виходять діабетична ретинопатія і оклюзуючі захворювання судин сітківки (в першу чергу тромбоз центральної вени сітківки) [9]. Менш частими причинами розвитку рубезу райдужки та неоваскулярної глаукоми є відшарування сітківки, запальні

© І. М. Безкоровайна, 2010