

ВЛИЯНИЕ ЖЕЛЕЗОСОДЕРЖАЩИХ ИНОРОДНЫХ ТЕЛ НА ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В РОГОВИЦЕ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ТРАВМАТИЧЕСКОГО КЕРАТИТА

В. Я. Усов, канд. мед. наук, с.н.с., **Т. М. Жмудь**, асп.

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

Авторами встановлено, що запальний процес в рогівці за наявності чужорідних тіл призводить до значного зниження функцій окислювально-відновних ферментів в її тканині. При цьому найбільш різке зниження активності спостерігається з боку лактатдегідрогенази — цитозольного ферменту, не пов'язаного з мембранними структурами.

Порівнюючи ступінь зниження активності окислювально-відновних ферментів при впровадженні різних чужорідних тіл в рогову оболонку, необхідно відзначити, що чужорідні тіла, які містять в собі залізо, викликають різкіше порушення функцій ферментів.

Ключевые слова: травматический кератит, инородные тела, окислительно-восстановительные процессы, эксперимент

Ключові слова: травматичний кератит, сторонні тіла, окислювально-відновні процеси, експеримент

Введение. Заболевания глаз, связанные с травмами, относятся к широко распространенным и занимают одно из первых мест по обращаемости населения. С травматическими повреждениями и последующими воспалительными реакциями связано до 80 % случаев временной нетрудоспособности, до 50 % — стационарных больных, до 10–30 % развития слепоты, причем в последней группе значительное место принадлежит кератитам и кератоувеитам [3, 5, 11, 12].

Показано в частности, что на долю травм и ожогов роговицы приходится 68–70 % всех повреждений и ранений глаза, больные с инородными телами роговицы составляют 37 %, а осложнения выявлены в 7 % из них, и в связи с этим вопросы повышения эффективности лечения больных с травматическими кератитами, обусловленными инородными металлическими телами, весьма актуальны [2, 3, 5, 8, 10, 15, 16, 20, 21].

В этой связи необходимо отметить, что лечение травматических кератитов, вызванных наличием инородных тел в роговице, направлено на их удаление и предупреждение вторичной инфекции. При этом, как правило, инородные тела представляют собой смесь металлов и их соединений, большой процент из которых составляет железо. При действии ионов железа происходит повреждение клеток путем блокирования белков и мембранных структур органелл клеток, в частности, лизосом. С целью блокирования повреждающего действия в организме катионов металлов используют комплексообразующие соединения — лекарственные средства, которые образуют с катионами металлов стойкие, малодиссоциирующие комплексы (хелаты). На этом базируется обезвреживающее действие

препаратов при таких заболеваниях легких, как сидероз или халькоз. По данным Р. А. Гундоровой и соавт., (2009) частота попадания в глаз магнитных инородных тел составляет 85–90 % всех внутриглазных осколков, амагнитных — 10–15 %, а развитие сидероза встречается в 22,2 % случаев. Сидероз — это патологический процесс, который наблюдается при продолжительном пребывании в тканях глаза железосодержащих инородных тел. Суть процесса заключается в медленном растворении железосодержащего обломка, в пропитывании тканей глаза неорганическими и органическими солями железа и прочном соединении их с белковыми структурами клеток. Медикаментозное лечение сидероза глаза дает незначительный эффект [1,4,14,17,18,19]. В то же время в литературе отсутствуют сведения о влиянии железосодержащих инородных тел на метаболические процессы в самой роговице.

В этой связи **целью работы** было изучение влияния железосодержащих инородных тел на один из основных метаболических параметров — окислительно-восстановительные процессы в роговице при моделировании травматического кератита.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ. Экспериментальные исследования проводились на 20 кроликах породы шиншилла массой 1,5–2,0 кг, в возрасте от 6 месяцев до 1,5 лет. При проведении эксперимента соблюдались все рекомендации относительно исследований на животных, принятые международным сообществом и обязательные при выполнении офтальмологических изысканий. Все животные исследовались посредством биомикроскопии на щелевой лампе как при отборе экспериментальных животных (исключая аномалии), так и для наблюдений в процессе эксперимента.

Техника операции для моделирования проникновения инородного тела в роговицу (металлический или стеклянный осколок) заключалась в следующем. После обработки операционного поля раствором хлоргексидина, инстилляционной анестезии раствором дикаина 0,25 % в условиях гексеналового наркоза вводили векорасширитель. Выполняли разметку зоны роговицы для введения инородного тела. С помощью скребца производили послойный надрез роговицы на 1/3 ее толщины в центральной, парацентральной и паралимбальной областях. С помощью круглого ножа через выполненные надрезы производили локальное 2x2 мм послойное расслаивание роговицы кролика. Предварительно простерилизованное инородное тело (металлическую стружку) или стеклянный осколок с помощью пинцета вводили в подготовленное таким образом пространство роговицы кролика. Инстилляцией дезинфицирующих капель с последующим накладыванием ватно-марлевого пушка на глаз завершали хирургическое вмешательство.

В послеоперационном периоде кролики обследовались в течение первой недели ежедневно и два раза в месяц в последующем. Сроки наблюдения прооперированных животных составили от двух дней до одного года. В тканях изолированной роговицы, измельченной в гомогенизаторе, определяли активность ферментов лактатдегидрогеназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, глутамат-дегидрогеназы.

Активность лактатдегидрогеназы определяли с использованием спектрофотометра «Spekol-210» («Карл Цейс», Германия) в 1 см кюветках при 37°C и длине волны 340 нм. Активность фермента выражали в нкат/г ткани [9]. Коэффициент вариации 4,8 %.

Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы определяли по скорости восстановления НАДФ в инкубационной среде при насыщающих концентрациях глюкозо-6-фосфата и НАДФ и оптимальном значении pH [13]. Измерения оптической плотности исследуемого раствора также проводили на спектрофотометре «Spekol-210».

Активность глутаматдегидрогеназы определяли по изменению количества восстановленной формы пиридиннуклеотида, которое эквивалентно количеству использованного в реакции субстрата [7].

Оптическую плотность проб измеряли через каждые 15 с в течение 2 мин в термостатируемой кювете на спектрофотометре «Spekol-210» Активность глутаматдегидрогеназы выражали в нкат/г ткани. Коэффициент вариации 4,3 %.

Полученные данные использовали для вычисления активности ферментов в исследуемых пробах крови и тканях по формуле:

$$A = \Delta E \cdot V \cdot K / \Delta t \cdot v \cdot 6,22, \text{ где}$$

A — активность фермента, выраженная в нкат/г ткани или в мккат/л плазмы крови;

$\Delta E / \Delta t$ — изменение оптической плотности раствора за минуту;

V — общий объем реакционного раствора в кювете;

v — вносимый объем тканевого экстракта;

6,22 — молярный коэффициент экстинкции;

K — коэффициент пересчета активности фермента в нкат/г ткани или в мккат на 1л гемолизата крови, с учетом фактора разведения тканевого экстракта. Коэффициент вариации 4,6 %.

Данные биохимических показателей обрабатывались с помощью соответствующих методов статистического анализа [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. Итоги изучения активности окислительно-восстановительных ферментов в роговице глаз при моделировании кератита, представлены в таблице 1.

Таблица 1

Активность окислительно-восстановительных ферментов в роговице глаз кроликов при моделировании кератита

Исследуемый показатель	Статистич. показатель	Условия эксперимента		
		Норма	Кератит (стекло)	Кератит (железо)
Лактатдегидрогеназа (нкат/г ткани)	n	10	7	8
	M	156,00	51,14	37,00
	m	6,70	3,89	1,44
	p1	—	<0,0001	<0,0001
	%1	100	32,8	23,7
	p2	—	—	<0,01
Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (нкат/г ткани)	n	10	7	8
	M	12,30	7,86	5,75
	m	0,68	0,59	0,37
	p1	—	<0,001	<0,0001
	%1	100	63,9	46,7
	p2	—	—	<0,01
Глутаматдегидрогеназа (нкат/г ткани)	n	10	7	8
	M	80,50	46,14	36,50
	m	3,02	1,83	1,16
	p1	—	<0,0001	<0,0001
	%1	100	57,3	45,3
	p2	—	—	<0,001
	%2	—	100	79,1

Примечание: p₁ — уровень значимости различий данных по отношению к норме, рассчитанный с помощью t — теста для независимых выборок; p₂ — уровень значимости различий данных при сравнении группы «Кератит (железо)» по отношению к группе «Кератит (стекло)», рассчитанный с помощью t — теста для независимых выборок. %1 — относительная активность ферментов по отношению к норме, %2 — относительная активность ферментов при сравнении группы «Кератит (железо)» по отношению к группе «Кератит (стекло)».

Изучая активность лактатдегидрогеназы, можно отметить ее достоверное снижение в обеих группах по сравнению с нормой (156,00±6,70) нкат/г ткани. Так в группе «кератит + стекло» активность снизилась до (51,14±3,89) нкат/г ткани, что составило 32,8 % от нормы. В группе «кератит + железо» отмечается еще большее снижение активности изучаемого фермента до (37,00±1,44) нкат/г ткани, что составило 23,7 %.

Исследование активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы выявило ее понижение в роговице глаз кроликов при различных условиях моделирования кератита. Активность фермента в группе «кератит + стекло» снижена до (7,86±0,59) нкат/г ткани (63,9 %) по сравнению с нормой — (12,30±0,68) нкат/г ткани, при этом степень достоверности различий довольно высокая — p<0,001. В группе «кератит + железо» также наблюдается снижение активности глюкозо-6-

фосфатдегидрогеназы до $(5,75 \pm 0,37)$ нкат/г ткани, что составило 46,7 %.

Активность глутаматдегидрогеназы также достоверно снижалась в обеих группах животных с моделированным кератитом. В группе «кератит + стекло» активность фермента была ниже нормы и составила $(46,14 \pm 1,83)$ нкат/г ткани (57,3 %), а в группе «кератит + железо» — $(36,50 \pm 1,16)$ нкат/г ткани, что составило 45,3 %.

Заключение. В целом, анализируя результаты проведенных исследований, можно заключить, что воспалительный процесс в роговице при наличии инородных тел приводит к значительному снижению функций окислительно-восстановительных ферментов в ее ткани. При этом наиболее резкое ингибирование активности отмечается со стороны лактатдегидрогеназы — цитозольного фермента, не связанного с мембранными структурами.

Сравнивая степень снижения активности окислительно-восстановительных ферментов при внедрении различных инородных тел в роговую оболочку, необходимо отметить, что железосодержащие инородные тела вызывают более резкое нарушение функций ферментов. В последнем случае активность снижена более чем на 21–28 % по сравнению со стеклянными осколками ($p < 0,01$). По всей вероятности в механизме такого различия лежит более высокий уровень свободно-радикальных соединений, генерируемых ионами железа, т.к. известно, что свободные радикалы могут повреждать биологически активные молекулы — ферменты [13].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Аветисов Э. С.** Сидероз глаза / Э. С. Аветисов. Справочник по офтальмологии. — М., «Медицина», 1978, 376 с.
2. **Бабайлова О. М.** Психокоррекция при тяжелой травме органа зрения. / О. М. Бабайлова // Поражения органа зрения. Материалы юбилейной научной конференции, посвященной 190-летию основания кафедры офтальмологии Военно-медицинской академии. — Санкт-Петербург, 2008. — С. 19 — 20.
3. **Гундорова Р. А.** Травмы глаза [Р. А. Гундорова, В. В. Нероева, В. В. Кашникова]. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. — 560с.
4. **Дамбите Г. Р.** Металлоз глаза и его лечение. [Дамбите Г. Р.] — Москва: Медицина, 1971. — 195с.
5. **Караева Г. З.** Лечебная тактика при травмах роговицы / Г. З. Караева // Поражения органа зрения. Материалы юбилейной научной конференции, посвященной 190-летию основания кафедры офтальмологии Военно-медицинской академии. — Санкт-Петербург, 2008. — С. 78.
6. **Наследов А.** SPSS компьютерный анализ данных в психологии и социальных науках. // СПб.: Питер, 2005. — 416 с.
7. **Прохорова М. И.** Методы биохимических исследований. — Ленинград: Изд-во Ленинградского университета. — 1982. — 272 с.
8. **Сухина Л. А.** Эффективность применения лечебной кератопластики аутосклерой при травматических повреждениях роговицы / Л. А. Сухина, М. Б. Перекрестов, И. В. Сухина // Поражения органа зрения. Материалы юбилейной научной конференции, посвященной 190-летию основания кафедры офтальмологии Военно-медицинской академии. — Санкт-Петербург, 2008. — С. 161–162.
9. **Bergmeyer H. U., Bernt E.** Lactatdehydrogenase. UV-Test mit Pyruvat und NADH. In: Methoden der enzymatischen Analyse/Herausgegeben von H. U. Bergmeyer. — Berlin: Akademie-Verlag. — 1970. — S. 533-538.
10. **Hirano K, Ito Y, Suzuki T, et al.** Optical coherence tomography for the noninvasive evaluation of the cornea. *Cornea* -2001. — Vol. 20. — P. 281–289.
11. **Huang Y., Meek K. M.** Swelling studies on the cornea and sclera: the effects of pH and ionic strength // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* — 1999. — Vol. 39. — P. 1765–1774.
12. **Liu Z, Huang A.J, Pflugfelder S. C.** Evaluation of corneal thickness and topography in normal eyes using the Orbscan corneal topography system. *Br. J. Ophthalmol.* — 1999. — Vol. 83. — P. 774–778.
13. **Lohr G. W., Waller H. D.** Glucose-6- phosphat-Dehydrogenase. In:
14. *Methoden der enzymatischen Analyse / Herausgegeben von H. U. Bergmeyer.* — Berlin: Akademie- Verlag. — 1970. — S. 599-606.
15. **Ramos-Esteban J.** The use of Tissucol Glue in corneal surgery // *Techniques in Ophthalmol.* — 2006. — Vol. 4. — № 1. — P. 30–34.
16. **Kucerova R., Ou J., Lawson D.** et al. Cell Surface Glycoconjugate Abnormalities and Corneal Epithelial Wound Healing in the Pax6+/- Mouse Model of Aniridia-Related Keratopathy // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* — 2006. — Vol. 47, № 12. — P. 5276–5282.
17. **Wilson S. E., Churasia S. S., Medeiros F. W.** Apoptosis in the Initiation, Modulation and Termination of the Corneal Wound Healing Response // *Exp Eye Res.* — 2007. — Vol. 85, № 3. — P. 305–311.
18. **Troost F. J., Saris W. H., Haenen G. R.** et al. New method to study damage and antioxidants in the human small bowel: effects of iron application. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* — 2003. — Vol. 285. — P.354–359.
19. **Wirbelauer C., Winkler J., Bastian G. O.** et al. Histopathological correlation of corneal diseases with optical coherence tomography // *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* — 2002. — Vol. 240, № 9. — P. 727–734.
20. **Walter Sekundo, Peter Seifert, Berthold Seitz et al.** Long term ultrastructural changes in human corneas after tattooing with non-metallic substances. *Br. J. Ophthalmol.* — 1999. — Vol. 83. — P. 219–224.
21. **Xiang Ma and Haydee E. P. Bazan.** Increased Platelet-Activating Factor Receptor Gene Expression by Corneal Epithelial Wound Healing // *Invest. Ophthalmol. and Vis. Sci.* — 2000. — Vol. 41. — P. 1696–1702.
22. **You L., Kruse F. E., Vulker H. E.** Neurotrophic Factors in the Human Cornea // *Invest Ophthalmol Vis. Sci.* — 2000. — Vol. 41. — P. 692–702.

Поступила 04.08.2010.

Рецензент д-р мед. наук, проф. Э. В. Мальцев

INFLUENCE OF IRON-CONTAINING FOREIGN BODIES ON OXIDATION-REDUCTION PROCESSES IN THE CORNEA IN MODELING OF TRAUMATIC KERATITIS

Usov V. Ya., Zhmud T. M.

Odessa, Ukraine

It is established by the authors that the inflammatory process in the cornea in presence of foreign bodies results in the considerable decrease of the functions of oxidation-reduction enzymes in its tissue. Comparing the degree of decrease of oxidation-reduction enzyme activity in introduction of different foreign bodies in the cornea, it is necessary to mark that iron-containing foreign bodies cause sharper parafunction of the enzymes.



УДК 617.7–007.681–021.5–089–091.8

ШЛЯХ ВІДТОКУ ВНУТРІШНЬООЧНОЇ РІДИНИ, СТВОРЕНИХ ВНАСЛІДОК ВИКОНАННЯ НОВИХ МОДИФІКАЦІЙ АУТОСКЛЕРАЛЬНОГО ЦИКЛОГОНІОДРЕНУВАННЯ

С. А. Якименко, д-р мед. наук, проф., П. О. Костенко, лікар,

О. В. Артёмов, канд. мед. наук

ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМН України»

Разработаны и изучены в эксперименте модификации аутосклерального циклогониодрирования (СЦГД) — дубликатурой ленты аутосклеры с включением в ее толщу кетчута (СЦГД+К), дубликатурой ленты аутосклеры с включением аминиотической мембраны (СЦГД (Д+А).

Гистоморфологически установлено, что данные модификации позволяют создать дополнительные пути оттока внутриглазной жидкости в супрахориоидальное пространство, что патогенетически обосновывает применение их у больных с признаками органического блока путей оттока внутриглазной жидкости на всех их уровнях (склеральном, угла передней камеры и зрачкового блока). Все вышеприведенное позволяет рекомендовать их к широкому применению не только при вторичной рефрактерной глаукоме, но и при других формах рефрактерных глауком.

Ключевые слова: вторичная рефрактерная послеожоговая глаукома, аутосклеральное циклогониодрирование

Ключові слова: вторинна рефрактерна післяопікова глаукома, аутосклеральне циклогоніодренування

Актуальність проблеми. Вторинна глаукома у хворих з тяжкими наслідками опіків очей, за даними літератури, розвивається в 15–46,1 % випадків [8, 15, 16].

В. В. Войно-Ясенецький і Е. І. Ключева показали, що глаукома на очах з наслідками тяжких опіків, як і більшість видів вторинної глаукоми, має ретенційний характер і обумовлена головним чином рубцевими змінами шляхів відтоку внутрішньоочної рідини [3,5]. Це підтверджується також даними електронної тонографії, виявленими у хворих з вторинною глаукомою, що перенесли хірургічне втручання. А. М. Шапкина, на підставі клініко-морфологічних і гістологічних досліджень 19 очей, видалених з приводу вторинної глаукоми в терміни від 2 місяців до 47 років після опіку, відзначила виражені рубцеві зміни в передньому відділі ока: різке звуження передньої камери, аж до її облітерації, облітерацію кута передньої камери, склероз і гомогенізацію корнеосклеральних тра-

бекул, у 9 випадках була виявлена глибока глаукоматозна екскавація зорового нерва [10]. Ці дані корелюють з морфологічними змінами, виявленими нами прижиттєво у хворих після важких опіків очей та з грубими рубцевими змінами переднього відділу ока, встановленими шляхом використання ультразвукового сканування А/В сканером Cine-Scan [12].

Лікування вторинної післяопікової глаукоми є дуже складною і не вирішеною проблемою. Традиційні антиглаукоматозні фістулізуючі операції, метою яких є утворення субкон'юнктивальних або інтрасклеральних додаткових шляхів відтоку внутрішньоочної рідини (ВОР), при післяопіковій глаукомі часто неможливі або малоефективні, тому що сформовані за допомогою цих втручань шляхи відтоку у рубцево зміненій після опіку склері та кон'юнктиві внаслідок вираженої фібропластичної

© С. А. Якименко, П. О. Костенко, О. В. Артёмов, 2010