

Я.І. ПенішкевичБуковинський державний медичний
університет, м. Чернівці**ВПЛИВ ПРОСТАГЛАНДИНІВ ТА
ІНГІБІТОРІВ ЇХ СИНТЕЗУ НА
ПРОТЕОЛІТИЧНУ АКТИВНІСТЬ ВОЛОГИ
ПЕРЕДНЬОЇ КАМЕРИ ОКА КРОЛИКІВ
ПРИ ПРОНИКНОМУ ПОРАНЕННІ
РОГІВКИ****Ключові слова:** око, рогівка, травма,
простагландини, протеоліз.**Резюме.** З метою вивчення впливу простагландинів, а також інгібіторів їх синтезу на протеолітичну активність вологи передньої камери ока при проникному пораненні рогівки проведені дослідження на 40 кроликах породи Шиншила. Показано, що при проникній травмі рогівки інтенсивність лізису низько- і високомолекулярних білків не змінюється, проте колагеназна активність вологи передньої камери ока зростає протягом всього періоду репаративної регенерації. Встановлено, що простагландини E_1 і $F_{2\alpha}$ зменшують ступінь деградації низько- і високомолекулярних білків, простагландин E_2 підвищує інтенсивність лізису азоальбуміну і азоказеїну за зниження інтенсивності протеолітичного розпаду колагену, а парацетамол, диклофенак і дексаметазон зменшують протеоліз низько- і високомолекулярних білків, але суттєво підвищують колагеназну активність вологи передньої камери ока у кроликів з травмою рогівки.**Вступ**

При проникних пораненнях ока, особливо при обширних, загоєння ран відбувається внаслідок утворення в них грануляційної тканини, яка може розвиватися не тільки в області рани, але й за ходом раньового каналу, ув глибину очного яблука, що супроводжується фіброзною організацією крововиливів. Загоєння проникних ран рогівки характеризується загальними закономірностями репаративної регенерації сполучної тканини і перебігає у три періоди: травматичного запалення, проліферації та формування і перебудови сполучної тканини. Останній період супроводжується явищами клітинного розпаду, резорбції надмірно утворених колагенових структур поряд із процесами фібриногенезу, що тривають [2]. Це має важливе значення для патогенетичної орієнтації лікувального процесу, особливо в разі недостатньої резорбції колагенових структур, що призводить до утворення великого грубого рубця або шварти [3]. З іншого боку, різке підвищення активності і концентрації протеїназ в тканинах ока призводить до виразкоутворення, а нерідко і до перфорації рогівки [3,4].

Мета роботи

Вивчити вплив простагландинів, а також інгібіторів їх синтезу на протеолітичну активність вологи передньої камери ока при проникному пораненні рогівки.

Матеріал і методи

Робота виконана на 40 кроликах породи Шиншила масою 2-2,5 кг (вік - 1-1,5 року). Моделювання травми ока (проникнене поранення рогівки) проводили за асептичних умов мікрохірургічним лезом під епібульбарною анестезією 0,5% дікаїном в поєднанні 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 протягом трьох діб (за виключенням $PGF_{2\alpha}$, який вводили протягом двох тижнів). Парацетамол вводили в дозі 0,5 мг, диклофенак і дексаметазон - 0,05 мг протягом двох тижнів (усі - шість разів у день).

Забір вологи передньої камери ока проводили за асептичних умов під епібульбарною анестезією 0,5% дікаїном у 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

Встановлено, що в порівнянні з контролем ($67,39 \pm 3,61$ мкМ азоальбуміну на 1 мл/хв; $n=5$) інтенсивність лізису низькомолекулярних білків у волозі передньої камери травмованого ока практично не змінювалася (табл. 1). Простагландин E_1 дещо зменшував ензиматичний розпад азоальбуміну (достовірно - на 3-тю, 7-му і 28-му добу спостережень), тоді як PGE_2 , навпаки, значно посилював ступінь протеолізу азоальбуміну на 1-шу і 3-тю доби лікування. $PGF_{2\alpha}$ зменшував цей показник на початку спостережень, а парацетамол, диклофенак і дексаметазон викликали

тривале пригнічення ензиматичної деградації низькомолекулярних білків (з першої до 7-14-ї доби лікування).

Інтенсивність лізису азоказеїну (в контролі - $71,87 \pm 4,29$ мкМ азоказеїну на 1 мл/хв; $n=5$) у волозі передньої камери травмованого ока суттєвих змін не зазнавала (табл. 2), але на 14-ту доби експерименту достовірно ($p < 0,05$) перевищувала контрольні дані. PGE_1 зменшував ензиматичний розпад високомолекулярних білків лише в початковий період лікування, в той час як $PGF_{2\alpha}$ значно знижував лізис азоказеїну впродовж двох тижнів. На 1-шу і 3-тю доби застосування PGE_2 інтенсивність деградації азоказеїну зростала і поступово знижувалася після відміни препарату. Парацетамол, диклофенак і дексаметазон приблизно в однаковому ступені зменшу-

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 рогівки, ($\bar{x} \pm Sx$)

Серії досліджень	1 доба	3 доба	7 доба	14 доба	28 доба	60 доба
Контроль, $n=5$	$67,39 \pm 3,61$	$61,50 \pm 3,66$	$60,00 \pm 3,14$	$62,04 \pm 2,52$	$65,71 \pm 2,81$	$64,62 \pm 3,53$
Травма, $n=5$	$51,85 \pm 6,08$	$62,87 \pm 6,13$	$68,78 \pm 6,52$	$72,31 \pm 6,43$	$63,07 \pm 6,38$	$46,05 \pm 5,97$
Травма + PGE_1 , $n=5$	$36,24 \pm 4,23$ ●●●	$41,59 \pm 6,11$ ● *	$23,52 \pm 2,43$ ●●● ***	$66,32 \pm 9,98$	$41,30 \pm 6,27$ ● *	$30,14 \pm 5,75$ ●●●
Травма + PGE_2 , $n=5$	$93,63 \pm 10,01$ ● *	$109,67 \pm 10,22$ ●● *	$95,06 \pm 9,70$ ●●	$74,44 \pm 6,37$	$64,13 \pm 6,64$	$59,60 \pm 6,72$
Травма + $PGF_{2\alpha}$, $n=5$	$33,25 \pm 3,65$ ●●● *	$42,34 \pm 6,02$ ● *	$49,25 \pm 5,44$	$54,49 \pm 5,40$	$45,90 \pm 5,26$	$48,14 \pm 5,28$
Травма + парацетамол, $n=5$	$35,53 \pm 4,14$ ●●●	$46,28 \pm 5,5$ ●	$51,51 \pm 5,29$	$54,51 \pm 5,89$	$52,69 \pm 5,74$	$44,62 \pm 5,31$
Травма + диклофенак, $n=5$	$29,76 \pm 3,94$ ●●● *	$38,95 \pm 5,2$ ●● *	$46,98 \pm 5,28$ *	$51,54 \pm 4,85$ *	$47,11 \pm 4,90$ ●	$37,76 \pm 4,27$ ●●
Травма + дексаметазон, $n=5$	$32,08 \pm 3,82$ ●●● *	$41,20 \pm 4,35$ ●● *	$45,81 \pm 5,32$ *	$53,80 \pm 5,83$	$44,69 \pm 5,12$ ●●	$40,06 \pm 4,68$ ●●

Примітки (тут і в наступних таблицях):

- - 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 азоказеїну (мкМ азоказеїну на 1 мл за хв) у волозі передньої камери ока під впливом екзогенних простагландинів і при блокаді синтезу ейкозаноїдів за умов проникної травми рогівки, ($x \pm Sx$)

Серії досліджень	1 доба	3 доба	7 доба	14 доба	28 доба	60 доба
Контроль, n=5	71,87±4,29	63,06±2,58	65,76±2,88	63,29±2,56	66,69±3,21	68,42±3,34
Травма, n=5	60,64±4,24	72,08±6,78	81,22±5,52	84,77±4,78	68,92±4,39	61,82±4,46
Травма + PGE ₁ , n=5	46,73±5,91 ●●	35,50±3,91 ●●● **	61,15±4,27 *	72,85±5,06	62,64±4,56	57,84±4,66
Травма + PGE ₂ , n=5	89,18±8,82 *	132,24±8,08 ●●● **	105,98±8,95 ●●	83,11±7,26 ●	74,46±7,61	67,41±6,08
Травма + PGF _{2α} , n=5	43,40±5,75 ●● *	50,58±5,46 *	57,67±5,45 *	63,74±5,96 *	54,67±5,63	47,09±5,87 ●
Травма + парацетамол, n=5	42,11±4,38 ●● *	48,04±4,56 ● *	53,22±4,38 ● **	55,70±4,32 **	48,42±4,50 ● *	47,25±5,88 ●
Травма + диклофенак, n=5	36,07±4,84 ●●● **	42,05±4,92 ●● **	49,31±4,94 ● **	62,55±5,14 *	55,35±5,22	48,31±5,13 ●
Травма + дексаметазон n=5	39,64±3,52 ●●● **	43,34±3,16 ●● **	51,71±3,17 ● **	63,61±3,45 **	58,09±3,43	51,07±3,27 ●●

вали протеоліз високомолекулярних білків відразу після призначення і до 14-ї - 28-ї діб лікування.

Лізис азоколу, який свідчить про інтенсивність розпаду колагену (в контролі - $1,86 \pm 0,08$ азоколу на 1 мл/хв; n=5), зростав з 7-ї по 28-ту добу спостережень (табл. 3), що дещо посилювалося під впливом PGE₁ та PGE₂ - відповідно на 3-тню та 7-му доби спостережень. Проте на 7-му добу лікування PGE₂ майже в 2 рази зменшував інтенсивність лізису колагену. PGF_{2α}, парацетамол, диклофенак і дексаметазон значно збільшували колагеназну активність у волозі передньої камери травмованого ока аж до 14-ї доби лікування, коли відбувалося зменшення інтенсивності лізису азоколу, але до кінця періоду спостережень цей показник залишався вищим за контрольні дані.

Таким чином, отримані дані свідчать, що при експериментальному проникному пораненні рогівки інтенсивність тканинного протеолізу в травмованому оці зростає тільки за лізисом азоколу, а жоден з препаратів, що вивчалися не володіє здатністю зменшувати колагеназну активність вологи передньої камери травмова-

ного ока. Разом з тим, PGE₁, PGF_{2α}, парацетамол, диклофенак і дексаметазон пригнічують протеолітичний розпад низько- і високомолекулярних білків. Зменшення лізису азоколу під впливом PGE₂ на 7-му добу лікування вказує на провідну роль цього простаноїду в регуляції протеолітичної деградації колагену, що є одним з патогенетичних ланцюгів у розвитку фіброзних ускладнень післятравматичного запального процесу в оці [2].

Відомо, що загоєння ран рогівки відбувається внаслідок регенерації власних тканин, а також запальних елементів (фібрин). Вже в перші хвилини після травми рана заповнюється фібрином, серед ниток якого через 2 - 3 год з'являються клітини, що мігрували в цю зону (фіброцити і фібробласти). Крім того, особлива роль у синтезі колагенових волокон належить рогівковому епітелію, що володіє спроможністю колагеноутворення без впливу мезенхімальних клітин [4,5]. Отже, підвищення колагеназної активності вологи передньої камери ока при травмі рогівки є адекватним механізмом, що запобігає надмірному фіброзо-

Таблиця 3

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 рогівки, ($\bar{x} \pm Sx$)

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	0,72±0,06 ●●●	0,95±0,11 ●●●	1,12±0,08 ●●●	1,16±0,08 ●●●	1,07±0,09 ●●●	0,96±0,09 ●●●
Травма + PGE ₁ , n=5	0,86±0,05 ●●●	1,49±0,11 ● **	0,60±0,07 ●●● **	1,08±0,08 ●●●	0,86±0,09 ●●●	0,72±0,09 ●●●
Травма + PGE ₂ , n=5	0,76±0,11 ●●●	0,61±0,11 ●●●	1,43±0,11 ● *	1,19±0,13 ●●	0,93±0,11 ●●●	0,83±0,12 ●●●
Травма + PGF _{2α} , n=5	0,88±0,11 ●●●	1,27±0,08 ●● *	1,43±0,11 ● *	1,72±0,15 *	1,42±0,13 ●	1,35±0,15 ●
Травма + парацетамол, n=5	0,88±0,11 ●●●	1,36±0,14 ● *	1,50±0,14 *	1,57±0,15 *	1,19±0,15 ●●	1,00±0,11 ●●●
Травма + диклофенак, n=5	1,07±0,13 ●●● *	1,36±0,14 ● *	1,52±0,15	1,66±0,15 *	1,35±0,15 ●	1,12±0,13 ●●
Травма + дексаметазон, n=5	1,02±0,11 ●●● *	1,32±0,12 ●●	1,47±0,13 ● *	1,60±0,16 *	1,30±0,15 ●	1,07±0,13 ●●

генезу.

Таким чином, залежно від періоду і локалізації запалення в оці переважає той чи інший білковий субстрат: некротична тканина, фібрин, згусток крові або організований тромб, колаген, що розвивається або сформована рубцева тканина. У тісному зв'язку з білковим субстратом знаходяться різноманітні, згідно субстратної специфічності дії протеолітичні ферменти, взаємодія яких повинна визначати спрямованість лікування - активація або гальмування протеолізу, фібринолізу і колагенолізу [6,7,8]. В разі не інфікованої проникної травми рогівки без гіфеми пригнічувати колагеназну активність тканин травмованого ока не доцільно [2].

Висновки

1. При проникній травмі рогівки інтенсивність лізису низько- і високомолекулярних білків не змінюється, проте колагеназна активність вологи передньої камери ока зростає протягом всього періоду репаративної регенерації.

2. Простагландини E₁ і F_{2α} зменшують ступінь деградації низько- і високомолекулярних білків у волозі передньої камери ока кролів з проникною травмою рогівки.

3. Простагландин E₂ підвищує інтенсивність лізису азоальбуміну і азоказеїну за зменшення інтенсивності протеолітичного розпаду колагену в тканинах ока при проникному пораненні рогівки.

4. Парацетамол, диклофенак і дексаметазон зменшують протеоліз низько- і високомолекулярних білків, але суттєво підвищують колагеназну активність вологи передньої камери ока у кролів з травмою рогівки.

Перспектива подальших досліджень

Будуть продовжені пошуки в наміченому науковому напрямку.

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. Вплив простагландинів E₁, E₂ та F_{2α} стероїдних і несте-

роїдних протизапальних препаратів на колагенолітичну активність у волозі передньої камери ока, при проникній травмі рогівки, обтяженій гіфемою // Медицина сьогодні і завтра. - 2002. - №1. - С. 65-67. 3. Balasubramanian S.A., Mohan S., Pye D.C., et al. Proteases, proteolysis and inflammatory molecules in the tears of people with keratoconus // Acta Ophthalmol.- 2012. - vol. 90(4). - p.303-309. 4. Chen R.N., Lee L.W., Chen L.C., et al. Wound-healing effect of micronized sacchachitin (mSC) nanogel on corneal epithelium // Int. J. Nanomedicine.- 2012. - vol. 7. - p.4697-4706. 5. Karring H., Runager K., Thøgersen I.B., et al. Composition and proteolytic processing of corneal deposits associated with mutations in the TGFBI gene // Exp. Eye Res. - 2012. - vol.96(1). - p.163-170. 6. Lichtenstein A., Minogue P.J., Beyer E.C., et al. Autophagy: a pathway that contributes to connexin degradation // J. Cell Sci. - 2011.- vol. 124(Pt 6). - p.910-920. 7. Robinson P.M., Smith T.S., Patel D., et al. Proteolytic processing of connective tissue growth factor in normal ocular tissues and during corneal wound healing // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.- 2012.- № 53(13). - P.8093-8103. 8. Su S.P., Lyons B., Friedrich M., et al. Molecular signatures of long-lived proteins: autolytic cleavage adjacent to serine residues // Aging Cell. - 2012. - vol. 11(6).- p.1125-1127.

ВЛИЯНИЕ ПРОСТАГЛАНДИНОВ И ИНГИБИТОРОВ ИХ СИНТЕЗА НА ПРОТЕОЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ВЛАГИ ПЕРЕДНЕЙ КАМЕРЫ ГЛАЗА КРОЛИКОВ ПРИ ПРОНИКАЮЩИХ РАНЕНИЯХ РОГОВИЦЫ

Я.И. Пенішкевич

Резюме. С целью изучения влияния простагландинов, а также ингибиторов их синтеза на протеолитическую активность влаги передней камеры глаза при проникающем ранении роговицы проведены опыты на 40 кроликах породы Шиншилла. Показано, что при проникающей травме роговицы интенсивность лизиса низко-и высокомолекулярных белков не меняется, однако колагеназная активность влаги передней камеры глаза растет в течение всего периода репаративной регенерации. Установлено, что простагландины E₁ и F_{2α} уменьшают степень деградации низко-и высокомолекулярных белков, простагландин E₂ повышает интенсивность лизиса азоальбумину и азоказеина снижения интенсивности протеолитического распада коллагена, а парацетамол, диклофенак и дексаметазон

уменьшают протеолиз низко-и высокомолекулярных белков, но существенно повышают колагеназную активность влаги передней камеры глаза в кроликов с травмой роговицы.

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

EFFECT OF INHIBITORS PROSTAGLANDINS AND THEIR SYNTHESIS ON THE PROTEOLYTIC ACTIVITY ANTERIOR CHAMBER OF RABBIT EYES IN PENETRATING WOUNDS CORNEA

Ya.I. Penishkevych

Abstract. The influence of prostaglandins and their synthesis inhibitors on proteolytic activity of rabbits aqueous humor with penetrating corneal injury was evaluated. The intensity of low- and high-molecular proteins lysis due to penetrating corneal injury does not change, while collagen activity of aqueous humor increases throughout all period of reparative regeneration. Prostaglandins E₁ and F_{2α} reduce degradation degree of low - and high-molecular proteins, prostaglandin E₂ facilitates (raises) the intensity of asoalbumin and asocasein lysis, therefore decreasing intensity of proteolytic collagen disintegration (cleavage). Paracetamol, diclofenac and dexamethasone decrease (reduce) the proteolysis of low- and high-molecular proteins, but essentially raise collagenolytic activity of anterior chamber aqueous humor of rabbit eyes with penetrating corneal injury.

Key words: eye, the cornea, trauma, prostaglandins, proteolysis.

Bukovyna State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol.- 2014.- Vol.13, №2 (48).-P.99-103.

Надійшла до редакції 01.06.2014

Рецензент – проф. В.Ф. Мислицький

© Я.И. Пенішкевич, 2014