

МЕХАНИЗМЫ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА И ВОЗМОЖНОСТИ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ПРИ ПЕРВИЧНОЙ ГЛАУКОМЕ

И.Н. Михайцева

*ГУ "Институт глазных болезней и тканевой терапии
им.В.П.Филатова НАМН Украины" (Одесса)*

Вступление

Сегодня известно, что механизмы свободно-радикального повреждения и оксидативного стресса играют значительную роль в патогенезе первичной глаукомы, способствуя, в первую очередь, формированию глаукомной оптической нейропатии [15,22]. Образование активных атомов или молекул с неспаренными электронами на внешней орбите, так называемых свободных радикалов, постоянно происходит в организме. Но в физиологических условиях количество и скорость их образования компенсируется скоростью их ликвидации антиоксидантами. Нарушение баланса в количестве и активности прооксидантов и антиоксидантов ведет к окислительному стрессу. Этот механизм, в свою очередь, может приводить к повреждению макромолекул клетки, деструкции мембран, менять функции и способствовать гибели клеток.

По мнению ряда авторов [17,12] формирование оксидативного стресса, вызванного нестабильным глазным кровотоком, является одним из главных факторов риска глаукомной оптической нейропатии (ГОН). Поскольку именно при повторяющихся состояниях умеренной реперфузии, как следствии нестабильного кровотока, образуется большое количество свободных радикалов. Реперфузионное повреждение возникает тогда, когда кровоснабжение к тканям возвращается после периода ишемии. Именно этот механизм, вероятно, является наиболее травматичным для глазных тканей, особенно нервных структур глаза. Оксидативный стресс, который возникает в условиях реперфузии, наиболее сильно повреждает митохонд-

рии. Эти органеллы в большом количестве присутствуют в зрительном нерве, т.к. это структура с высоким потреблением энергии. Повреждение митохондрий нарушает производство ими энергии, что ведет к энергетической недостаточности нервных клеток и их дегенерации [11].

Кроме воздействия на нервную ткань, оксидативный стресс при глаукоме может вызывать дегенерацию трабекулярной сети и являться, таким образом, триггерным механизмом в повышении ВГД, изменяя пути оттока внутриглазной жидкости [21,10]. Идея о патогенетической роли оксидативного стресса в повышении ВГД поддерживается рядом исследователей. Так, показано, что у пациентов с ПОУГ наблюдается снижение общей антиоксидантной активности в камерной влаге, снижение уровня глутатиона [10,13].

Использование антиоксидантов в попытках лечения глаукомы было начато S.C. Evans применением больших доз витаминов А и С [9,16]. Предполагалось, что витамин А поддерживает дегидратированное состояние коллагена в дренажной системе глаза, а гидратация коллагеновых структур в путях оттока ведет к повышению ВГД. Высокие дозы витамина С снижают ВГД через осмотический эффект, хотя этот метод трудно назвать практически применимым для контроля за глаукомой в современных условиях.

В этой связи важно, что постепенно меняется стратегия лечения глаукомы. Отходит в прошлое подход к ее врачеванию как болезни, не связанной с остальными органами и организмом в целом. В поисках стратегии лечения этой патологии как страдания "больного органа в больном организме" использование антиоксидантов системного действия является обоснованным. При этом использование средств природного происхождения с минимальными побочными эффектами, на наш взгляд, наиболее целесообразно. В этом направлении проводятся исследования по изучению эффективности лечения глаукомы такими препаратами с антиоксидантным действием как липоевая кислота [6], производное пиридина (аналог витамина В₆) эмоксилин [1], каратиноиды экстракта гинго билоба и лютеина [4, 20].

Наше внимание при изучении возможности повышения эффективности антиоксидантного воздействия при первичной глаукоме привлекли такие биологически-активные вещества с

очень мощным антиоксидантным потенциалом как кверцетин и мелатонин. Антиоксидантные свойства биофлавоноида кверцетина обусловлены его химическим строением, которое позволяет ему противодействовать повреждающему эффекту активных форм кислорода и свободных радикалов, т.е. являться природным сквенджером. Помимо способности быть "ловушкой свободных радикалов", кверцетин предотвращает липидную пероксидацию и хелатирует ионы металлов [14]. Доказаны возможности кверцетина нейропротекторные при нейродегенеративных заболеваниях (болезни Альцгеймера и Паркинсона, эпилепсия, инсульт) и кардиопротекторные при сердечно-сосудистых заболеваниях. Механизм этой протекции связан именно с антиоксидантной активностью кверцетина [7,23,3].

Мелатонин как продукт синтеза пинеальной железы (эпифиза) и других органов, включая сетчатку, был известен, главным образом, как регулятор циркадных ритмов в организме. Недавно стали известны антиоксидантные свойства мелатонина. Он был идентифицирован как прямой сквенджер свободных радикалов [19] и непрямой антиоксидант - регулятор активности антиоксидантных ферментов [18]. Мелатонин - очень активный эндогенный антиоксидант, а его липофильные свойства позволяют ему диффундировать в различные компартменты клетки и оказывать защитное действие от цитотоксичных свободных радикалов как в цитоплазме, так и в ядре клетки. Клинические испытания показали, что антиоксидантные свойства мелатонина могут быть эффективны при лечении острых состояний (сепсис, асфиксия новорожденных) и хронических заболеваний (метаболических и нейродегенеративных болезней, онкозаболеваний, воспалений) [8].

Целью нашего исследования было изучение антиоксидантной активности препаратов кверцетина и мелатонина на модели глаукомы у кроликов.

Материалы и методы исследования

В качестве кверцетин-содержащего препарата использовали отечественный корвитин для инъекций, который представляет собой лиофилизированную субстанцию кверцетина с модификатором растворимости поливинилпирролидоном. Мы использовали также

отечественный препарат вита-мелатонин. Это синтетический аналог нейропептида мелатонина, вырабатываемого эпифизом.

Исследования проводили на кроликах, которым вызывали глаукому системным введением адреналина (метод Липовецкой Е.М. в модификации Михейцевой И.Н.) [5]. В исследовании представлены следующие группы: контрольная - здоровые животные; с развитой моделью глаукомы (МГ), с моделью глаукомы, леченной корвитином (МГК); с воспроизводимой моделью глаукомы с введением мелатонина (МГМ). Корвитин кролики группы МГК с развитой экспериментальной глаукомой получали в виде 10 ежедневных внутривенных вливаний (2% раствор препарата на изотоническом растворе) в дозе 10мг/0,5мл. Мелатонин кролики группы МГМ получали в виде водной суспензии *per os* в дозе 0,3 мг в течение 4 месяцев: весь период воспроизведения модели, а также 2 недели до и после индукции модели.

Биохимические исследования проводили в плазме крови животных. Малоновый диальдегид (МДА) определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой, суммарную антиоксидантную активность плазмы крови (СаОА) - с использованием модельной системы с линоленовой кислотой. Статистическую обработку данных проводили с использованием t-критерия.

Полученные результаты и их обсуждение

Наши исследования показателей крови, характеризующих про- и антиоксидантный статус животных при моделировании глаукомы, подтвердили наши предыдущие исследования [2] и выявили высокий уровень оксидативного стресса у животных с экспериментальной глаукомой (группа МГ). Он проявлялся повышением содержания вторичного продукта перекисления липидов МДА на 103% (в сравнении с контролем) и снижением антиоксидантного статуса, выражавшегося в уменьшении на 40% СаОА плазмы крови (табл.).

Введение кроликам группы МГК с развившимися нарушениями глазных функций и метаболических систем курса внутривенных инъекций корвитина в значительной степени купировало выраженность оксидативного стресса у них. В этой группе МДА в сравнении с контролем был повышен на 22%, а СаОА снижена на 16,1%. При сравнении выраженности оксидативного стресса

са в группе МГК с группой МГ выявлено, что под влиянием корвитина в крови кроликов с развитой глаукомой высокий уровень МДА снизился на 39,2% , а САОА повысилась на 40,3%.

Таблица

Выраженность оксидативного стресса у кроликов с МГ при воздействии кверцетин- и мелатонин-содержащих препаратов

	Группы	Статистич. Показатели	Метаболические показатели	
			МДА (нМ/мл)	САОА (мкМ/л)
I	Контр. (n = 20)	M ± m	0,58 ± 0,02	52,3 ± 0,72
II	МГ (n = 23)	M ± m p ₁ <	1,18 ± 0,03 0,001	34,0 ± 0,87 0,001
III	МГ после леч. корвитином (n = 15)	M ± m p ₁ < p ₂ <	0,71 ± 0,02 0,01 0,001	43,9 ± 0,92 0,001 0,001
IV	МГ с введ. мелатонина (n = 21)	M ± m p ₁ p ₃ <	0,66 ± 0,03 >0,05 0,001	45,4 ± 1,03 <0,01 0,001

Примечание: p₁ - сравнение с контролем; p₂ - сравнение III со II; p₃ - сравнение IV со II.

В группе МГМ длительное введение мелатонина в значительной степени предотвратило развитие оксидативного стресса при моделировании глаукомы. Так, содержание МДА через месяц после окончания 4-х месячного введения мелатонина было повышено на 13,7%, а САОА - снижено на 13,2% в сравнении с контролем. При сравнении этих показателей с группой МГ без лечения уровень МДА при действии мелатонина был ниже на 44,1%, а САОА выше на 33,5%.

Таким образом, изучение активности кверцетин-содержащего препарата корвитина и мелатонина в нашем эксперименте показало, что оба эти средства с известными антиоксидательными свойствами оказались эффективными при моделировании глаукомы у кроликов путем хронического стрессирования адреналином. Оба эти вещества проявили при воздействии на кроликов с МГ свойства прямых антиоксидантов, улавливая свободные радикалы, о чем косвенно судили по снижению в крови экспериментальных животных уровня вторичного

продукта перекисления липидов МДА. Кроме того, как кверцетин, так и мелатонин действовали в нашем эксперименте также и как непрямые антиоксиданты, активирующие антиоксидательную систему, о чем мы судили по увеличению САОА крови.

При этом мелатонин, был применен длительно в профилактически-протекторном режиме, а именно, во время индукции модели глаукомы адреналином, а также до начала и после прекращения введения адреналина. Это позволило в значительной степени остановить развитие оксидативного стресса, не допустив существенного повышения свободно-радикальных процессов и активировав систему антиоксидантной защиты.

Выводы

1. Курсовое введение 10 внутривенных инъекций кверцетин-содержащего препарата корвитин кроликам с развитой стадией модели глаукомы значительно снизило выраженность у них оксидативного стресса.

2. Профилактически-протекторное введение на протяжении 4 месяцев гормона стресс-защиты мелатонина кроликам с воспроизводимой адреналином моделью глаукомы в значительной степени предотвратило у них формирование оксидативного стресса.

3. Данные эксперимента, показавшие существенное антиоксидантное действие корвитина и мелатонина при экспериментальной глаукоме, могут служить основанием для рекомендации применения этих препаратов в клинике первичной глаукомы.

Литература

1. Краморенко Ю.С. Эмоксипин в лечении первичной глаукомы / Ю.С. Краморенко, Т.А. Добрица, З.А. Иманбаева, Е.А. Егоров // Вестн. офтальмол. - 1992. - № 1. - С. 14-17.
2. Михайцева И.Н. Оксидативный стресс и эндотелиальная дисфункция как патогенетические факторы в глаукомном процессе / И.Н. Михайцева // Патология. - 2008. - Т.5, № 3. - С. 125-126.
3. Мойбенко А.А. Эффективность водорастворимой формы кверцетина (Корвитина) при лечении острого коро-

нарного синдрому з елевацией сегмента ST / А.А. Мойбенко, А.Н. Пархоменко, С.Н. Кожухов // Журнал АМН України. - 2003. - Т.9, № 2. - С. 361-370.

4. Мошетьова Л.К. Лютеин-комплекс в лечении глаукомной оптической нейропатии / Л.К. Мошетьова, И.Б. Алексеев, А.В. Ивашина // Клиническая офтальмология. - 2005. - Т.6, № 2. - С. 67-69.

5. Пат. 61478 України. Спосіб моделювання адреналін-індукованої глаукоми у кролів / І.М. Михейцева. - Опубл. 25.07.11, Бюл. № 14.

6. Филина А.А. Антиоксидантная терапия первичной глаукомы / А.А. Филина // Вестник офтальмологии. - 1994. - Т. 110, №1. - С. 33-35.

7. Ansari M.A. Protective effect of quercetin in primary neurons against Abeta (1-42): relevance to Alzheimer's disease / M.A. Ansari, H.M Abdul., G. Joshi [et al.] // J. Nutr. Biochem. - 2009. - V.20, №4. - P. 269-275.

8. Bonnefont-Rousselot D. Melatonin: action as antioxidant and potential applications in human disease and aging / D. Bonnefont-Rousselot, F. Collin // Toxicology. - 2010. - V. 278. - P. 55-67.

9. Evans S.C. Ophthalmic nutrition and prevention of eye disorder and blindness / S.C. Evans // Nutrition Metabolism. - 1977. - V. 21. - P. 268-272.

10. Ferreira S.M. Oxidative stress markers in aqueous humor of glaucoma patients / S.M. Ferreira, S.F. Lerner, R. Brunzini [et al.] // Am. J. Ophthalmol. - 2004. - V. 137. - P. 62-69.

11. Flammer J. Glaucomatous optic neuropathy: a reperfusion injury / J. Flammer // Klin Monatsbl Augenheilkd. - 2000. - V.218. - P. 290-291.

12. Flammer J. What is the present pathogenetic concept of glaucomatous optic neuropathy? / J. Flammer, M. Mozaffarieh // Surv Ophthalmol. - 2007. - V.52. - P. 162-173.

13. Gherghel D. Systemic reduction in glutathione levels occurs in patients with primary open-angle glaucoma / D.

Gherghel, H.R. Griffiths, E.J. Hilton [et al.] // Invest Ophthalmol Vis Sci. - 2005. - V.46. - P. 877-883.

14. Harwood M. A critical review of the data related to the safety of quercetin and lack of evidence of in vivo toxicity, including lack of genotoxic/carcinogenic properties / M.Harwood, B.Danielewska-Nikiel, J.F.Borzelleca [et al.] // Food Chem Toxicol. - 2007. - V.45. - P. 2179-2205.

15. Izzotti A. The role of oxidative stress in glaucoma / A.Izzotti, A.Bagnis, S.C.Sacca // Mutat Res. - 2006. - V.612. - P. 105-14.

16. Krishna S.M. Vitamin A and primary glaucoma / S.M.Krishna, P.K.Shukla // J.Glaucoma. -1982. -V.4. -P.226-227.

17. Mozaffarieh M. Oxygen and blood flow: players in the pathogenesis of glaucoma / M.Mozaffarieh, M.Grieshaber, J. Flammer // Mol. Vis. - 2008. - V.14. - P. 224-233.

18. Reiter R.J. Melatonin reduces oxidant damage and promotes mitochondrial respiration: implications for aging / R.J.Reiter, D.X.Tan, L.C.Manchester, M.R.El-Sawi // Ann. N.Y. Acad. Sci. - 2002. - Vol. 959. - P. 238-250.

19. Reiter R.J. Melatonin: Lowering the High Price of Free radicals / R.J. Reiter // News Physiol. Sci. -2000. -Vol. 15. -P. 246-250.

20. Ritch R. Potential role gingo biloba extract in the treatment of glaucoma / R.Rithc // Med. Hypotheses - 2000. - V.54, № 2. - P. 221- 235.

21. Sacca S.C. Glaucomatous outflow pathway and oxidative stress / S.C.Sacca, Izzotti A., P.Rossi, C.Traverso // Exp. Eye Res. - 2007. - V.84. - P.389-399.

22. Tezel G. Oxidative stress in glaucoma neurodegeneration: mechanism and consequences / G.Tezel // Prog. Retin Eye Res. - 2006. - V.25, № 5 - P.490-513.

23. Vauzour D. The neuroprotective potential of flavonoids: a multiplicity of effects / D.Vauzour, K.Vafeiadou, A.Rodriguez-Mateos [et al.] // Genes Nutr. - 2008. - № 3. - P.115-126.

Резюме

Михейцева И.Н. *Механизмы оксидативного стресса и возможности антиоксидантной защиты при первичной глаукоме.*

Изучено на модели глаукомы у кроликов антиоксидантное действие водорастворимой формы кверцетина- корвитина и препарата мелатонина. Показано, что курс внутривенных инъекций корвитина существенно снизил оксидативный стресс у животных с развитой стадией экспериментальной глаукомы. Профилактически-протекторное длительное введение мелатонина на фоне индукции модели в значительной степени предотвратило развитие оксидативного стресса.

Ключевые слова: кверцетин, мелатонин, глаукома, оксидативный стресс.

Резюме

Михейцева І.М. *Механізми оксидативного стресу та можливості антиоксидантної захисту при первинній глаукомі.*

Вивчено на моделі глаукоми у кролів антиоксидантну дію водорозчинної форми кверцетину-корвітіна та препарату мелатоніну. Показано, що курс внутрішньовенних введеннь корвітіну суттєво знизив оксидативний стрес у тварин з розвитою стадією експериментальної глаукоми. Профілактично-протекторне введення мелатоніну на тлі індукції моделі значною мірою завадило розвитку оксидативного стресу.

Ключові слова: кверцетин, мелатонін, глаукома, оксидативний стрес.

Summary

Mikheyitseva I.N. *Mechanism of oxidative stress and possibilities of antioxidant protection in primary glaucoma.*

There were studied antioxidant action of water-soluble form of quercetin - corvitin and melatonin in rabbits with glaucoma model. It was shown intravenous injections of corvitin essentially decreased oxidative stress in animals with advanced stage of experimental glaucoma. Prophylactic-protective apply of melatonin on the basis of model induction in significant degree protected oxidative stress development.

Key words: quercetin, melatonin, glaucoma, oxidative stress.

Рецензент: д.мед.н., проф. К.П. Павлюченко

УДК 616.379.008.64

**ВКЛЮЧЕНИЕ ПРЕПАРАТА МАННИТ В
КОМПЛЕКСНУЮ ПРЕДОПЕРАЦИОННУЮ
ПОДГОТОВКУ БОЛЬНЫХ С ГЛАУКОМОЙ**

А.Н. Нечипоренко

Луганский областной центр глазных болезней

Вступление

Хирургическое лечение глаукомы до сих пор является наиболее эффективным методом [5,8]. Однако исходно повышенное ВГД (в Р.Н.10-20mmHg), усложняет работу хирурга и может явиться причиной различных осложнений, вплоть до экспульсивной геморрагии, что зачастую ставит хирурга перед необходимостью срочного проведения энуклеации или эвисцерации глазного яблока [1,7].

Как известно повышение ВГД, вызванное грубейшими анатомическими изменениями в дренажной системе, нарушением его гидродинамики имеет место не только в переднем, но и в заднем отрезке глазного яблока, что обусловлено увеличением объема крови во внутриглазных сосудах и возрастанию объема стекловидного тела [5,6,8]. Так как существующие инстиляционные методы, направленные на уменьшение ВГД не всегда являются эффективными, поиск методов, нормализующих гидродинамику глаза в заднем отрезке в период предоперационной подготовки, является актуальным [2,3,4].

В данном исследовании нашей целью стало уменьшение внутриглазного давления (ВГД) до оперативного вмешательства и недопущение его повышения во время операции для предупреждения интраоперационных и послеоперационных осложнений путём включения препарата Маннит в предоперационную подготовку больных с глаукомой.

Материалы и методы исследования

Оперативные вмешательства проводились у 168 больных в возрасте от 21 до 85 лет, оперируемых по поводу глаукомы,