

**Ключові слова:** дистрофія сітківки, експеримент, протеолітичні процеси, сумарна протеолітична активність, антипротеазна активність, флогензім, вобензім.

#### Резюме

**Онищенко А.А., Савко В.В.** *Коррекция нарушений протеолитических процессов (суммарная протеолитическая и антипротеазная активность) при моделировании дистрофии сетчатки препаратами системной энзимотерапии.*

В эксперименте при моделировании дистрофического процесса изучалось протекание протеолитических процессов в сетчатке кроликов без и на фоне системной энзимотерапии. Выявлено, что Флогензим оказывает выраженное стимулирующее действие на процессы протеолиза и достоверно снижает уровень ингибиторов протеолитической системы.

**Ключевые слова:** дистрофия сетчатки, эксперимент, протеолитические ферменты, суммарная протеолитическая активность, антипротеазная активность, флогензим, вобензим.

#### Summary

**Onischenko A.A., Savko V.V.** *Correction of retinal proteolytic processes disturbances (total proteolytic and antiprotease activity) in modeling its dystrophy with systemic enzyme therapy preparation.*

There was studied the state of proteolytic processes in the retina of rabbits without and against the background of systemic enzymotherapy in the experiment in modeling the retina dystrophy. It is revealed that Phlogenzyme exerts the expressed stimulating effect on the processes of proteolysis and reliably reduces the level of the inhibitors of the proteolytic system.

**Key words:** the retina dystrophy, experiment, proteolytic processes, phlogenzyme.

*Рецензент: д.мед.н., проф. А.М. Петруня*

УДК 617.13-002:617.711-002.1

### ВЛИЯНИЕ ТИОЛОВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ ФЕРМЕНТЫ В СЛЕЗЕ И РОГОВИЦЕ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ КЕРАТОКОНЪЮНКТИВИТЕ

**А.М. Петруня, Мухамед Абдульрахман Кутайни**

*ГУ «Луганский государственный медицинский университет»*

*Луганский областной центр глазных болезней*

#### Введение

Частота метаболических поражений роговицы, как первичных наследственных, так и вторичных, связанных с роговичной, катаральной хирургией и воспалительными заболеваниями глаз в последние годы возрастает [1, 16]. Дистрофические заболевания роговицы при отсутствии систематического курсового лечения неустанно прогрессируют, что сопровождается изъязвлением роговицы, болевым роговичным синдромом и потерей зрения [6, 8, 19, 24]. Известные на сегодняшний день методы лечения являются недостаточно эффективными, поэтому представляется актуальным поиск наиболее действенных средств при лечении данного заболевания органа зрения [5, 16]. Было установлено, что особенности воспалительной реакции ткани зависят от биохимических и морфологических изменений в этой ткани. Известно, что воспалительный процесс сопровождается нарушением структурной организации мембран лизосом, что приводит к выходу гидролаз из этих внутриклеточных структур в цитозоль клетки [3, 4, 14, 20, 22]. Также установлено, что при кератите наблюдается усиление процессов перекисного окисления липидов, что имеет большое значение в увеличении проницаемости клеточных мембран и негативно влияют на антиокислительную систему [13].

В исследованиях ряда авторов при кератите обнаружено значительное снижение активности дегидрогеназ, катализирующих окислительно-восстановительные процессы на важнейших путях углеводного и белкового обмена, а также синтеза аминокислот, в частности лактат-дегидрогеназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы [9, 17, 18, 21].

Слезная жидкость, как известно, играет важную роль в метаболизме роговицы и является важной средой, которую необходимо учитывать при диагностике разных патологических процессов, происходящих в данной ткани [2, 9].

В предыдущих исследованиях нами было выявлено, что активность окислительно-восстановительных ферментов в роговице у животных с конъюнктивитом в острой фазе воспалительного процесса заметно снижалась. А в слезной жидкости в этих же условиях активность оксидоредуктаз существенно повышалась, что свидетельствовало о нарушении стабильности клеточных мембранных структур [10, 11]. Особый интерес в последнее время представляет препарат Витаинодурол. Основным действующим веществом препарата является глутатион. Результаты клинических исследований показывают, что применение Витаинодурала может на длительный срок приостановить развитие как кортикальной, так и заднекапсулярной катаракты. В отдельных случаях наблюдалось полное рассасывание заднекапсулярной катаракты. Учитывая роль конъюнктивы в физиологических и метаболических процессах, которые нарушаются при конъюнктивитах, представляется важным изучить влияние тиоловых препаратов на окислительно-восстановительные ферменты в слезе и роговице.

**Целью** данной работы стало изучение влияния тиоловых препаратов на окислительно-восстановительные ферменты в слезе и роговице при экспериментальном кератоконъюнктивите

#### **Материал и методы исследования**

Для проведения эксперимента использовали кроликов весом 2,2 – 2,7 кг. Работа с животными проводилась с учетом требований Международных рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с экспериментальными животными, которые были предложены на Совете международных медицинских организаций (1985 г.) "О мерах по дальнейшему совершенствованию форм работы с использованием экспериментальных животных".

В контрольной группе животным вводили сбалансированный солевой раствор 10 мкл, опытной группе вводили раствор липополисахарида из *Escherichia coli* – K235 путем единичной субконъюнктивальной инъекции (10 мкл) при концентрации эндотоксина 200 нг/мкл в верхний отдел бульбарной конъюнктивы. Экспериментальный кератит у животных вызывали интрастромальной инъекцией 50 мкл 0,2% эндотоксин липополисахарида на фосфатном буфере [23].

Опытные группы животных получали инстилляцию 0,1 % раствора ацетилцистеина и 5-ти кратные инстилляцию Витаинодурала (Новартис фарма С.А.С.) Он содержит: в 100 мл изотонического раствора натрия хлорида: цистеина 0,03 г, аденозинтрифосфата 0,0027 г, кислоты никотиновой 0,03 г, глутатиона 0,006 г, тиамина хлорида, кальция хлорида и магния хлорида по 0,3 г, кальция йодида 1,5 г.

Клинические признаки воспалительного процесса в конъюнктиве оценивались модифицированным тестом Draize в начале - 0 и через 2 (I срок), 4 (II срок), 24 часа (III срок).

Степень хемоза: 0 – нет хемоза, 1 – небольшой хемоз, 2 – явный хемоз, 3 – явный хемоз с воспалением более половины внутреннего века.

Обводненность: 0 – отсутствие обводненности, 1 – небольшая обводненность, 2 – обводненность с распространением на веки и ресницы, 3 – обводненность распространяется на все глазное яблоко.

Покраснение: 0 – нормальные кровеносные сосуды, 1 – ясно видные сосуды, 2 – разлитое интенсивное покраснение, отдельные сосуды трудно различимы, 3 – диффузная резко выраженная краснота.

Окончательная оценка складывалась из оценок степени хемоза, степени обводненности и степени гиперемии.

В ткани роговицы и слезной жидкости производили определение активности окислительно-восстановительных ферментов лактатдегидрогеназы, малатдегидрогеназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и глутатионпероксидазы [7, 15].

Активность окислительно-восстановительных ферментов лактатдегидрогеназы, малатдегидрогеназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и глутатионпероксидазы определяли в ткани роговицы и слезе с помощью методов спектрофотометрии с использованием оптического теста Варбурга – изменение оптической плотности окислительных и восстановительных пиридин-нуклеотидов.

Определение активности лактатдегидрогеназы произведено по методу Н. Bergmeyer, основанном на оценке скорости ферментативного окисления восстановленного никотинамидадениндинуклеотида при образовании лактата из пирувата, которая регистрировалась спектрофотометрически по уменьшению оптической плотности исследуемого раствора при длине волны 340 нм. Коэффициент вариации – 4,8%.

Определение активности малатдегидрогеназы проводили с использованием оптического теста Варбурга. Принцип расчета иден-

тичен использованному при определении активности ЛДГ. Коэффициент вариации – 4,0%.

Определение активности глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы производили по методу G. Lohr. Принцип метода основан на изменении скорости восстановления никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФ) в инкубационной среде при насыщающих концентрациях субстратов, кофакторов и оптимальном значении рН. Коэффициент вариации – 4,6%.

Принцип метода определения активности глутатионпероксидазы заключается в измерении оптической плотности инкубационной смеси при длине волны 340 нм. Коэффициент вариации – 3,0%.

Данные обрабатывались с помощью соответствующих методов статистического анализа [12].

#### Полученные результаты и их обсуждение

Данные о влиянии тиолового препарата на активность ферментов в роговице кроликов при кератите и конъюнктивите представлены в таблице 1. Как видно из представленных данных показатели активности лактатдегидрогеназы снижены во все сроки развития воспалительного процесса по сравнению с нормой – (58,42±3,50) мкмоль/г.

Во 2 срок наблюдения у животных с кератитом активность лактатдегидрогеназы была снижена до – (42,70±2,72) мкмоль/г, что составило – 73,1% по сравнению с нормой. У животных с кератитом и применением тиолового препарата активность лактатдегидрогеназы составила – (51,24±2,80) мкмоль/г, по сравнению с нормой – 87,7%, а по сравнению с группой без препарата – 120% (p<0,05).

В 3 срок наблюдения у животных с кератитом активность лактатдегидрогеназы снизилась до (51,14±3,05) мкмоль/г, что по сравнению с нормой составило - 87,5%. В группе животных с кератитом и применением тиолового препарата активность лактатдегидрогеназы составила – (53,74±3,40) мкмоль/г, по сравнению с нормой – 92%, а по сравнению с группой без препарата – 105,1%. В группе животных с кератитом и конъюнктивитом во 2 срок наблюдения активность лактатдегидрогеназы была снижена до 34,50±1,76 мкмоль/г, что по сравнению с нормой составило – 59,1%. В группе животных с кератитом и конъюнктивитом и применением тиолового препарата активность лактатдегидрогеназы составила – 40,71±2,20 мкмоль/г, по сравнению с нормой – 69,7%, а по сравнению с группой без препарата – 118% (p<0,05).

**Влияние тиолового препарата на активность ферментов в роговице кроликов при кератите и конъюнктивите (мкмоль/г ткани)**

Исследуемые показатели	Стат. показатели	Норма	Условия эксперимента			
			2 срок		3 срок	
			Без препарата	Тиоловый препарат	Без препарата	Тиоловый препарат
ЛДГ	n	8	Кератит			
	M	58,42	7	8	8	9
	m	3,50	42,70	51,24	51,14	53,74
	p1	-	<0,01	>0,05	>0,05	>0,05
	%1	100	73,1	87,7	87,5	92,0
	p2	-	-	<0,05	-	>0,05
	%2	-	100	120,0	100	105,1
ЛДГ	n	8	Кератит+конъюнктивит			
	M	58,42	8	8	7	8
	m	3,50	34,50	40,71	45,14	51,50
	p1	-	<0,001	<0,001	<0,01	>0,05
	%1	100	59,1	69,7	77,3	88,2
	p2	-	-	<0,05	-	>0,05
	%2	-	100	118,0	100	114,1
МДГ	n	8	Кератит			
	M	46,52	7	8	8	9
	m	2,32	37,70	43,96	38,82	44,32
	p1	-	<0,05	>0,05	<0,05	>0,05
	%1	100	81,0	94,4	83,4	95,3
	p2	-	-	<0,05	-	>0,05
	%2	-	100	124,6	100	114,2
МДГ	n	8	Кератит+конъюнктивит			
	M	46,52	8	8	7	8
	m	2,32	33,40	40,92	38,34	42,28
	p1	-	<0,001	>0,05	82,4	>0,05
	%1	100	71,8	88,0	<0,05	90,9
	p2	-	-	<0,05	-	>0,05
	%2	-	100	122,5	100	110,3

**Примечание:** в табл. 1-4 p<sub>1</sub> - уровень значимости различий данных по отношению к норме; p<sub>2</sub> - уровень значимости различий данных при сравнении группы «Тиоловый препарат» по отношению к группе «Без препарата».

В 3 срок наблюдения в этих условиях активность лактатдегидрогеназы была снижена до  $45,14 \pm 2,50$  мкмоль/г, что по сравнению с нормой составило – 77,3%. У животных с кератитом и конъюнктивитом и применением тиолового препарата активность лактатдегидрогеназы составила –  $51,50 \pm 3,12$  мкмоль/г, 88,2% по сравнению с нормой, а по сравнению с группой без препарата – 114,1%.

Изучая активность малатдегидрогеназы можно отметить, что исследуемый показатель во все сроки наблюдения был ниже нормы –  $46,52 \pm 2,32$  мкмоль/г.

Во 2 срок развития кератита активность малатдегидрогеназы была снижена до  $37,70 \pm 1,82$  мкмоль/г, что по сравнению с нормой составило – 81%. В группе животных с кератитом и применением тиолового препарата, активность малатдегидрогеназы составила –  $43,96 \pm 2,20$  мкмоль/г, по сравнению с нормой – 94,4%, а по сравнению с группой без препарата – 124,6%.

В 3 срок наблюдения у животных с кератитом активность малатдегидрогеназы снизилась до  $38,82 \pm 2,10$  мкмоль/г, что по сравнению с нормой составило – 83,4%. В группе животных с кератитом и применением тиолового препарата, активность малатдегидрогеназы составила –  $44,32 \pm 2,30$  мкмоль/г, по сравнению с нормой – 95,3%, а по сравнению с группой без тиолового препарата – 114,2%.

В группе животных с кератитом и конъюнктивитом во 2 срок наблюдения, активность малатдегидрогеназы была снижена до  $33,40 \pm 1,90$  мкмоль/г, что по сравнению с нормой составило – 71,8%. У животных с кератитом и конъюнктивитом и применением тиолового препарата, активность малатдегидрогеназы составила –  $40,92 \pm 2,60$  мкмоль/г, по сравнению с нормой – 88%, а по сравнению с группой без тиолового препарата – 122,5% ( $p < 0,05$ ).

В 3 срок наблюдения у животных с кератитом и конъюнктивитом, активность малатдегидрогеназы понизилась до  $38,34 \pm 2,26$  мкмоль/г, по сравнению с нормой – 82,4%. В группе животных с кератитом и конъюнктивитом и применением тиолового препарата, активность малатдегидрогеназы составила –  $42,28 \pm 2,34$  мкмоль/г, по сравнению с нормой – 90,9%, а по сравнению с группой без тиолового препарата – 110,3%.

Данные о влиянии тиолового препарата на активность ферментов в роговице кроликов при кератите и конъюнктивите представлены в таблице 2.

**Влияние тиолового препарата на активность ферментов в роговице кроликов при кератите и конъюнктивите (мкмоль/г ткани)**

Исследуемые показатели	Стат. показатели	Норма	Условия эксперимента			
			2 срок		3 срок	
			Без препарата	Тиоловый препарат	Без препарата	Тиоловый препарат
Г-6-ФДГ	n	8	Кератит			
	M	32,70	7	8	8	9
	m	2,04	24,92	30,45	27,94	31,40
	p1	-	1,30	1,50	2,06	1,80
	%1	100	<0,01	>0,05	>0,05	>0,05
	p2	-	76,2	93,1	85,4	96,0
	%2	-	-	<0,05	-	>0,05
Г-6-ФДГ	n	8	Кератит+конъюнктивит			
	M	32,70	8	8	7	8
	m	2,04	20,87	25,75	26,20	28,56
	p1	-	1,22	1,40	1,88	1,72
	%1	100	<0,001	<0,05	<0,05	>0,05
	p2	-	63,8	78,7	80,1	87,3
	%2	-	-	<0,05	-	>0,05
Глутатион-пероксидаза	n	8	Кератит			
	M	28,45	7	8	8	9
	m	1,15	22,30	26,42	25,58	27,96
	p1	-	1,18	1,20	1,15	1,34
	%1	100	<0,01	>0,05	>0,05	>0,05
	p2	-	78,4	92,9	89,9	98,2
	%2	-	-	<0,05	-	>0,05
Глутатион-пероксидаза	n	8	Кератит+конъюнктивит			
	M	28,45	8	8	7	8
	m	1,15	21,28	25,59	23,98	27,08
	p1	-	1,16	1,30	1,95	1,70
	%1	100	<0,001	>0,05	>0,05	>0,05
	p2	-	74,8	89,9	84,3	95,2
	%2	-	-	<0,05	-	>0,05

Как видно из представленных данных показатели активности глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы снижены во все сроки развития воспалительного процесса по сравнению с нормой —  $32,70 \pm 32,04$  мкмоль/г. Во 2 срок наблюдения у животных с кератитом активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы была снижена до —  $24,92 \pm 1,30$  мкмоль/г, что составило — 76,2% по сравнению с нормой. У животных с кератитом и применением тиолового препарата активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы составила —  $30,45 \pm 1,50$  мкмоль/г, по сравнению с нормой — 93,1%, а по сравнению с группой без препарата — 122,2% ( $p < 0,05$ ). В 3 срок наблюдения у животных с кератитом активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы снизилась до  $27,94 \pm 2,06$  мкмоль/г, что по сравнению с нормой составило — 85,4%. В группе животных с кератитом и применением тиолового препарата активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы составила —  $31,40 \pm 1,80$  мкмоль/г, по сравнению с нормой — 96%, а по сравнению с группой без препарата — 112,4%.

В группе животных с кератитом и конъюнктивитом во 2 срок наблюдения активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы была снижена до  $20,87 \pm 1,22$  мкмоль/г, что по сравнению с нормой составило — 63,8%. В группе животных с кератитом и конъюнктивитом и применением тиолового препарата активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы составила —  $25,75 \pm 1,40$  мкмоль/г, по сравнению с нормой — 78,7%, а по сравнению с группой без препарата — 123,4% ( $p < 0,05$ ). В 3 срок наблюдения в этих условиях активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы была снижена до  $26,20 \pm 1,88$  мкмоль/г, что по сравнению с нормой составило — 80,1%. У животных с кератитом и конъюнктивитом и применением тиолового препарата активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы составила —  $28,56 \pm 1,72$  мкмоль/г, 87,3% по сравнению с нормой, а по сравнению с группой без препарата — 109%.

Изучая активность глутатионпероксидазы можно отметить, что исследуемый показатель во все сроки наблюдения был ниже нормы —  $28,45 \pm 1,15$  мкмоль/г. Во 2 срок развития кератита активность глутатионпероксидазы была снижена до  $22,30 \pm 1,18$  мкмоль/г, что по сравнению с нормой составило — 78,4%. В группе животных с кератитом и применением тиолового препарата, активность глутатионпероксидазы составила —  $26,42 \pm 1,20$  мкмоль/г, по сравнению с нормой — 92,9%, а по сравнению с группой без препарата — 118,5%.

В 3 срок наблюдения у животных с кератитом активность глутатионпероксидазы снизилась до  $25,58 \pm 1,15$  мкмоль/г, что по сравнению с нормой составило — 89,9%. В группе животных с кератитом и применением тиолового препарата, активность глутатионпероксидазы

составила —  $27,96 \pm 1,34$  мкмоль/г, по сравнению с нормой — 98,2%, а по сравнению с группой без тиолового препарата — 109,3%.

В группе животных с кератитом и конъюнктивитом во 2 срок наблюдения, активность глутатионпероксидазы была снижена до  $21,28 \pm 1,16$  мкмоль/г, что по сравнению с нормой составило — 74,8%. У животных с кератитом и конъюнктивитом и применением тиолового препарата, активность глутатионпероксидазы составила —  $25,59 \pm 1,30$  мкмоль/г, по сравнению с нормой — 89,9%, а по сравнению с группой без тиолового препарата — 120,3% ( $p < 0,05$ ). В 3 срок наблюдения у животных с кератитом и конъюнктивитом, активность глутатионпероксидазы понизилась до  $23,98 \pm 1,95$  мкмоль/г, по сравнению с нормой — 84,3%. В группе животных с кератитом и конъюнктивитом и применением тиолового препарата, активность глутатионпероксидазы составила —  $27,08 \pm 1,70$  мкмоль/г, по сравнению с нормой — 95,2%, а по сравнению с группой без тиолового препарата — 112,9%.

Данные о влиянии тиолового препарата на активность ферментов в слезной жидкости кроликов при кератите и конъюнктивите представлены в таблице 3.

Как видно из представленных данных, показатели активности лактатдегидрогеназы в слезной жидкости повышены во все сроки развития воспалительного процесса по сравнению с нормой —  $3,52 \pm 0,28$  мкмоль/л. Во 2 срок развития экспериментального кератита у животных, активность лактатдегидрогеназы была повышена до  $4,70 \pm 0,25$  мкмоль/л, что составило 133,5% по отношению к норме. У животных с кератитом и применением тиолового препарата активность лактатдегидрогеназы составила —  $3,85 \pm 0,20$  мкмоль/л, по сравнению с нормой — 109,4%, а по сравнению с группой без препарата — 81,9% ( $p < 0,05$ ). В 3 срок наблюдения у животных с кератитом, активность лактатдегидрогеназы была повышена до  $4,20 \pm 0,35$  мкмоль/л, что составило 119,3% по сравнению с нормой. У животных с кератитом и применением тиолового препарата активность лактатдегидрогеназы составила —  $3,69 \pm 0,22$  мкмоль/л, по сравнению с нормой — 104,8%, а по сравнению с группой без применения тиолового препарата — 87,9%.

В группе животных с кератитом и конъюнктивитом, активность лактатдегидрогеназы в слезной жидкости была значительно повышена и составила —  $5,57 \pm 0,26$  мкмоль/л, по сравнению с нормой — 158,2%. У животных с кератитом и конъюнктивитом и применением тиолового препарата, активность лактатдегидрогеназы составила —  $4,36 \pm 0,25$  мкмоль/л, по сравнению с нормой — 123,8%, а по сравнению с группой без препарата — 78,3% ( $p < 0,01$ ).

**Влияние тиолового препарата на активность ферментов  
в слезной жидкости кроликов при кератите  
и конъюнктивите (мкмоль/г ткани)**

Исследуемые показатели	Стат. показатели	Норма	Условия эксперимента			
			2 срок		3 срок	
			Без препарата	Тиоловый препарат	Без препарата	Тиоловый препарат
ЛДГ	n	8	Кератит			
	M	3,52	7	8	8	9
	m	0,28	4,70	3,85	4,20	3,69
	p1	-	0,25	0,20	0,35	0,22
	%1	100	<0,01	>0,05	119,3	>0,05
	p2	-	-	<0,05	-	>0,05
	%2	-	100	81,9	100	87,9
ЛДГ	n	8	Кератит+конъюнктивит			
	M	3,52	8	8	7	8
	m	0,28	5,57	4,36	4,80	3,96
	p1	-	0,26	0,25	0,39	0,28
	%1	100	<0,001	<0,05	<0,05	>0,05
	p2	-	-	<0,01	-	>0,05
	%2	-	100	78,3	100	82,5
МДГ	n	8	Кератит			
	M	40,10	7	8	8	9
	m	2,82	50,20	42,63	46,30	41,02
	p1	-	2,45	2,30	2,90	2,72
	%1	100	<0,05	>0,05	<0,05	>0,05
	p2	-	-	<0,05	-	>0,05
	%2	-	100	84,9	100	88,6
МДГ	n	8	Кератит+конъюнктивит			
	M	40,10	8	8	7	8
	m	2,82	58,14	47,96	51,18	44,12
	p1	-	2,25	2,23	2,60	2,30
	%1	100	<0,001	<0,05	<0,05	>0,05
	p2	-	-	<0,01	-	>0,05
	%2	-	100	82,5	100	86,2

В 3 срок наблюдения в группе животных с кератитом и конъюнктивитом, активность лактатдегидрогеназы повысилась до  $4,80 \pm 0,39$  мкмоль/л, что составило — 136,4% по отношению к норме. У животных с кератитом и конъюнктивитом и применением тиолового препарата, активность лактатдегидрогеназы составила —  $3,96 \pm 0,28$  мкмоль/л, по сравнению с нормой — 112,5%, а по сравнению с группой без препарата — 82,5 %.

Изучая активность малатдегидрогеназы можно отметить, что исследуемый показатель во все сроки наблюдения был выше нормы —  $40,10 \pm 2,82$  мкмоль/л. Во 2 срок развития экспериментального кератита, активность малатдегидрогеназы в слезной жидкости повысилась до  $50,20 \pm 2,45$  мкмоль/л, что по сравнению с нормой составило — 125,2%. У животных с кератитом и применением тиолового препарата, активность малатдегидрогеназы составила —  $42,63 \pm 2,30$  мкмоль/л, по сравнению с нормой — 106,3%, а по сравнению с группой без препарата — 84,9%. В группе животных с кератитом в 3 срок наблюдений, активность малатдегидрогеназы была повышена до  $46,30 \pm 2,90$  мкмоль/л, что составило 115,5% по отношению к норме. В группе животных с кератитом и применением тиолового препарата, активность малатдегидрогеназы составила —  $41,02 \pm 2,72$  мкмоль/л, по сравнению с нормой — 102,3%, а по сравнению с группой без препарата — 88,6%. В группе животных с кератитом и конъюнктивитом во 2 срок наблюдения, активность малатдегидрогеназы в слезной жидкости повысилась до  $58,14 \pm 2,25$  мкмоль/л, что составило — 145% по сравнению с нормой. У животных с кератитом и конъюнктивитом и применением тиолового препарата, активность малатдегидрогеназы составила —  $47,96 \pm 2,23$  мкмоль/л, по сравнению с нормой — 119,6%, а по сравнению с группой без препарата — 82,5% ( $p < 0,01$ ). В 3 срок наблюдения в группе животных с кератитом и конъюнктивитом, активность малатдегидрогеназы в слезной жидкости была повышена до  $51,18 \pm 2,60$  мкмоль/л, что составило 127,6% по отношению к норме. В группе животных с кератитом и конъюнктивитом и применением тиолового препарата, активность малатдегидрогеназы составила —  $44,12 \pm 2,30$  мкмоль/л, по сравнению с нормой — 110%, а по сравнению с группой без препарата — 86,2%.

Данные о влиянии тиолового препарата на активность ферментов в слезной жидкости кроликов при кератите и конъюнктивите представлены в таблице 4. Как видно из представленных данных, показатели активности глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы в слезной жидкости повышены во все сроки развития воспалительного процесса по сравнению с нормой —  $9,86 \pm 0,80$  мкмоль/л.

**Влияние тиолового препарата на активность ферментов  
в слезной жидкости кроликов при кератите  
и конъюнктивите (мкмоль/г ткани)**

Исследуемые показатели	Стат. показатели	Норма	Условия эксперимента			
			2 срок		3 срок	
			Без препарата	Тиоловый препарат	Без препарата	Тиоловый препарат
Г-6-ФДГ	n	8	Кератит			
	M	9,86	7	8	8	9
	m	0,80	12,90	11,04	11,05	10,28
	p1	-	<0,01	>0,05	>0,05	>0,05
	%1	100	130,8	112,0	112,1	104,3
	p2	-	-	<0,05	-	>0,05
	%2	-	100	85,6	100	93,0
Г-6-ФДГ	n	8	Кератит+конъюнктивит			
	M	9,86	8	8	7	8
	m	0,80	15,24	12,58	12,07	10,82
	p1	-	<0,001	<0,05	<0,05	>0,05
	%1	100	154,6	127,6	122,4	109,7
	p2	-	-	<0,05	-	>0,05
	%2	-	100	82,5	100	89,6
Глутатионпероксидаза	n	8	Кератит			
	M	2,34	7	8	8	9
	m	0,13	2,18	2,60	2,06	2,72
	p1	-	0,14	0,13	0,17	0,15
	%1	100	>0,05	93,2	111,1	88,0
	p2	-	-	<0,05	-	<0,05
	%2	-	100	119,3	100	132,0
Глутатионпероксидаза	n	8	Кератит+конъюнктивит			
	M	2,34	8	8	7	8
	m	0,13	2,06	2,48	2,15	2,65
	p1	-	0,15	0,12	0,16	0,14
	%1	100	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	p2	-	-	<0,05	-	<0,05
	%2	-	100	88,0	106,0	91,9

Во 2 срок развития экспериментального кератита у животных, активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы была повышена до  $12,90 \pm 0,60$  мкмоль/л, что составило 130,8% по отношению к норме. У животных с кератитом и применением тиолового препарата активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы составила –  $11,04 \pm 0,56$  мкмоль/л, по сравнению с нормой – 112%, а по сравнению с группой без препарата – 85,6% ( $p < 0,05$ ). В 3 срок наблюдения у животных с кератитом, активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы была повышена до  $11,05 \pm 0,75$  мкмоль/л, что составило 112,1% по сравнению с нормой. У животных с кератитом и применением тиолового препарата активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы составила –  $10,28 \pm 0,64$  мкмоль/л, по сравнению с нормой – 104,3%, а по сравнению с группой без применения тиолового препарата – 93%.

В группе животных с кератитом и конъюнктивитом, активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы в слезной жидкости была значительно повышена и составила –  $15,24 \pm 0,67$  мкмоль/л, по сравнению с нормой – 154,6%. У животных с кератитом и конъюнктивитом и применением тиолового препарата, активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы составила –  $12,58 \pm 0,70$  мкмоль/л, по сравнению с нормой – 127,6%, а по сравнению с группой без препарата – 82,5% ( $p < 0,05$ ). В 3 срок наблюдения в группе животных с кератитом и конъюнктивитом, активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы повысилась до  $12,07 \pm 0,60$  мкмоль/л, что составило – 122,4% по отношению к норме. У животных с кератитом и конъюнктивитом и применением тиолового препарата, активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы составила –  $10,82 \pm 0,58$  мкмоль/л, по сравнению с нормой – 109,7%, а по сравнению с группой без препарата – 89,6%.

Изучая активность глутатионпероксидазы можно отметить, что исследуемый показатель был выше нормы –  $2,34 \pm 0,13$  мкмоль/л.

Во 2 срок развития экспериментального кератита, активность глутатионпероксидазы в слезной жидкости снизилась до  $2,18 \pm 0,14$  мкмоль/л, что по сравнению с нормой составило – 93,2%. У животных с кератитом и применением тиолового препарата, активность глутатионпероксидазы составила –  $2,60 \pm 0,13$  мкмоль/л, по сравнению с нормой – 111,1%, а по сравнению с группой без препарата – 119,3%.

В группе животных с кератитом в 3 срок наблюдений, активность глутатионпероксидазы была снижена до  $2,06 \pm 0,17$  мкмоль/л, что составило 88% по отношению к норме. В группе животных с кератитом и применением тиолового препарата, активность глутатионпероксидазы

составила –  $2,72 \pm 0,15$  мкмоль/л, по сравнению с нормой – 116,2%, а по сравнению с группой без препарата – 132%.

В группе животных с кератитом и конъюнктивитом во 2 срок наблюдения, активность глутатионпероксидазы в слезной жидкости снизился до  $2,06 \pm 0,15$  мкмоль/л, что составило – 88% по сравнению с нормой. У животных с кератитом и конъюнктивитом и применением тиолового препарата, активность глутатионпероксидазы составила –  $2,48 \pm 0,12$  мкмоль/л, по сравнению с нормой – 106%, а по сравнению с группой без препарата – 120,4% ( $p < 0,05$ ). В 3 срок наблюдения в группе животных с кератитом и конъюнктивитом, активность глутатионпероксидазы в слезной жидкости была повышена до  $2,15 \pm 0,16$  мкмоль/л, что составило 91,9% по отношению к норме. В группе животных с кератитом и конъюнктивитом и применением тиолового препарата, активность глутатионпероксидазы составила –  $2,65 \pm 0,14$  мкмоль/л, по сравнению с нормой – 113,2%, а по сравнению с группой без препарата – 123,3% ( $p < 0,05$ ).

Общий анализ представленных данных свидетельствует о нормализующем влиянии тиоловых препаратов на окислительно-восстановительные процессы в тканях роговицы при моделировании кератоконъюнктивита. Исследуемые тиоловые препараты оказывают выраженное антиоксидантное и мембранно-стабилизирующее действие на эпителий роговицы, что подтверждается снижением активности антиоксидантной системы ферментов в слезной жидкости в этих условиях.

#### Выводы

1. Применение тиоловых препаратов оказывает выраженное нормализующее действие на окислительно-восстановительные процессы в ткани роговой оболочки при кератоконъюнктивите. Активность лактатдегидрогеназы, маладегидрогеназы и глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы в 3 срок наблюдения, в условиях применения указанных препаратов практически нормализовался.

2. При кератоконъюнктивитах ферменты окислительно-восстановительной системы глутатиона нормализуются в большей степени при применении тиоловых препаратов. Во 2 период наблюдения, активность фермента глутатионпероксидазы достоверно повышалась под влиянием исследуемых препаратов на 20,3%.

3. Изучаемые тиоловые препараты способствуют стабилизации клеточных мембранных структур роговичного эпителия при

кератоконъюнктивите, что подтверждается значимым снижением активности маркерных окислительно-восстановительных ферментов в слезной жидкости (глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы – на 17,5%, лактатдегидрогеназы – на 21,7%, маладегидрогеназы – 17,5%). При этом антиоксидантная активность слезной жидкости под влиянием тиоловых препаратов значимо повышается за счет возрастания глутатионпероксидазы – на 20,4%

#### Литература

1. Анина Е.И. Распространенность заболеваний роговой оболочки глаза у населения Украины / Е.И. Анина // Тези доп. II Міжнародної наук. конф. офтальмологів Причорномор'я. – Одеса, 2004. – С. 14.
2. Волков О.А. Современное представление слезной жидкости, значение ее в диагностике / О.А. Волков, Л.К. Мошетьова // Рус. мед. журн. – 2004. – Т. 5, № 4. – С. 138-140.
3. Дрожжина Г.И. Вирусные заболевания роговицы и конъюнктивы / Г.И. Дрожжина // Здоров'я України. – 2002. – №5. – С. 35-36.
4. Дрожжина Г.И. Состояние протеиназно-ингибиторной системы и стабильности лизосом при решетчатой дистрофии роговицы, осложненной воспалительным процессом / Г.И. Дрожжина, Н.Ф. Леус, С.Г. Коломийчук // Офтальмол. журн. – 2003. – № 1. – С. 29-34.
5. Каменская Е.В. Эффективность медикаментозной коррекции нарушений тиолового статуса при поверхностных формах герпетического кератита: автореф. дис. канд. мед. наук: спец. 14.01.18 «Офтальмология» / Е.В. Каменская. – Одесса, 2008. – 20 с.
6. Майчук Ю.Ф. Фармакотерапия воспалительных заболеваний глаз: вчера, сегодня, завтра / Ю.Ф. Майчук // Материалы научно-практической конференции 20–21 ноября 2001 года «Актуальные вопросы воспалительных заболеваний глаз». – М., 2002. – С. 7–17.
7. Новые методы биохимического анализа. – Л.: Изд. Ленинградского ун-та, 1991. – 395 с.
8. Остаевский В.Л. Лечебное действие ингибиторов протеаз при гнойном язвенном кератите: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.18 «Офтальмология» / В.Л. Остаевский. – Одесса, 1983. – 23 с.
9. Петрович Ю.А. Дегидрогеназы в эпителии и строме роговицы при тяжелом герпетическом кератите / Ю.А. Петрович, Н.Г. Гольдфельд, Н.А. Терехина // Офтальмол. журн. – 1998. – № 1. – С. 52-54.
10. Петруня А.М. Изучение обменных процессов в роговице при экспериментальном кератите и конъюнктивите / А.М. Петруня, Мухамед

Абдульрахман Кутайни // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології: зб. наук. праць. – Київ; Луганськ, 2012. – Вип. 3 (111). – С. 205-221.

11. Петруня А.М. Исследование тиолового обмена и окислительно-восстановительных процессов в роговице при экспериментальном конъюнктивите / А.М. Петруня, Мухамед Абдульрахман Кутайни // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології: зб. наук. праць. – Київ; Луганськ, 2012. – Вип. 1 (109). – С. 259-272.

12. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю.Реброва. – М.: Медиа Сфера, 2002. – 312 с.

13. Семесько С.Г. Клиническое значение исследования антиоксидантного статуса в офтальмологии / С.Г. Семесько // Вестн. офтальмол. – 2005. – № 3. – С. 44-47.

14. Abu el-Asrar A. M. Immunopathogenesis of vernal keratoconjunctivitis / A.M. Abu el-Asrar, K. Geboes, K.F. Tabbara // Bull. Soc. Belge Ophthalmol. – 1996. – Vol. 261. – P. 15-24.

15. Bergmeyer H.U. Methoden der enzymatischen Analyse / Herausgegeben von H.U. Bergmeyer. – Berlin, 1986. – P. 2198-2203.

16. Bourcier T. Bacterial keratitis: predisposing factors, clinical and microbiological review of 300 cases / T. Bourcier, F. Thomas, V. Borderie // Br. J. Ophthalmol. – 2003. – Vol. 87. – P. 834-838.

17. Friend J. Biochemistry of the cornea / J. Friend, J.R. Hassell // The Cornea / eds. H.E. Kaufman, B.A. Barron, H.B. McDonalds. – New York: Churchill Livingstone, 1998. – P. 47-67.

18. Kahan I.L. Lactate dehydrogenase of tears and corneal epithelium / I.L. Kahan, E. Ottovay // Exp. Eye Res. – 1975. – Vol. 20. – P. 129-133.

19. Limberg M.B. A review of bacterial keratitis and bacterial conjunctivitis / M.B. Limberg // Am. J. Ophthalmol. – 1991. – Vol. 112, Suppl. 4. – P. 2S-9S.

20. Norn M.S. Peroperative protection of cornea and conjunctiva / M.S. Norn // Acta Ophthalmol. – 1981. – Vol. 59. – P. 587-594.

21. Reim M. Enzyme activities in the cornea epithelium and endothelium of different species / M. Reim, U. Hennighausen, D. Hildebrandt, R. Maier // Ophthalm. Res. – 1971. – Vol. 2. – P. 171-182.

22. Saika S. Epithelial repair. Roles of extracellular matrix / S. Saika, Y. Ohmishi // Cornea. – 2002. – Vol. 21. – P. S23-S29.

23. Trinkaus-Randall V. Quantification of stromal destruction in the inflamed cornea / V. Trinkaus-Randall, H.M. Leibowitz, W.J. Ryan // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 1991. – Vol. 32, № 3. – P. 603-609.

24. Wilson S.E. Stromal-epithelial interactions in the cornea / S.E. Wilson, J.J. Liu, R.R. Mohan // Prog. Retin Eye Res. – 1999. – Vol. 18. – P. 293-309.

### Резюме

**Петруня А.М., Мухамед Абдульрахман Кутайні.** Вплив тіолових препаратів на окисно-відновні ферменти в сльозі та рогівці при експериментальному кератокон'юнктивіті.

Представлені результати дослідження, які свідчать про нормалізуючий вплив тіолових препаратів на окислювально-відновні процеси в тканинах рогівки при моделюванні кератокон'юнктивіту. Досліджувані тіолові препарати надають виражену антиоксидантну і мембранно-стабілізуючу дію на епітелій рогівки, що підтверджується зниженням активності антиоксидантної системи ферментів в слізній рідині в цих умовах.

**Ключові слова:** тіолові препарати, ферменти, керато-кон'юнктивіт.

### Резюме

**Петруня А.М., Мухамед Абдульрахман Кутайні.** Влияние тиоловых препаратов на окислительно-восстановительные ферменты в слезе и роговице при экспериментальном кератоконъюнктивите.

Представлены результаты исследования, которые свидетельствуют о нормализующем влиянии тиоловых препаратов на окислительно-восстановительные процессы в тканях роговицы при моделировании кератоконъюнктивита. Исследуемые тиоловые препараты оказывают выраженное антиоксидантное и мембранно-стабилизирующее действие на эпителий роговицы, что подтверждается снижением активности антиоксидантной системы ферментов в слезной жидкости в этих условиях.

**Ключевые слова:** тиоловые препараты, ферменты, кератоконъюнктивит.

### Summary

**Petrunya A., Mohamed Abdulrahman Kutayni.** The impact thiol drugs to redox enzymes in tears and cornea in experimental keratoconjunctivitis.

The results of the study, indicate the normalizing effect of thiol drugs on redox processes in the tissue of the cornea in modeling keratoconjunctivitis. Investigated thiol drugs have anti-oxidant and membrane-stabilizing effect on the corneal epithelium, as evidenced by decreased activity of antioxidant enzymes in the tear fluid in these conditions.

**Key words:** thiol drugs, enzymes, kerato conjunctivitis.

**Рецензент:** д.мед.н., проф. Г.Д. Жабоедов