

### ДИНАМІКА ПРОДУКТІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В КРОВІ КРОЛЯ ЗА УМОВ МЕХАНІЧНОЇ НЕПРОНИКАЮЧОЇ ТРАВМИ РОГІВКИ ТА ПРИ ЇЇ КОРЕКЦІЇ КЕРАТОКСЕНОІМПЛАНТАТОМ

ДИНАМІКА ПРОДУКТІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В КРОВІ КРОЛЯ ЗА УМОВ МЕХАНІЧНОЇ НЕПРОНИКАЮЧОЇ ТРАВМИ РОГІВКИ ТА ПРИ ЇЇ КОРЕКЦІЇ КЕРАТОКСЕНОІМПЛАНТАТОМ – За умови непроникаючої травми рогівки та її корекції кератоксеноімплантатом ми відмічали меншу активацію пероксидного окиснення ліпідів (малоновий діальдегід) порівняно з консервативним способом лікування. Зниження активності ферментативної ланки антиоксидантного захисту в сироватці крові (супероксиддисмутаза та каталаза) теж проявилось меншою мірою при корекції травми. Вміст церулоплазміну в сироватці крові у групах з використанням кератоксеноімплантата протягом експерименту поступово зростає, у групах без корекції спостерігали його поступове зниження. Концентрація SH-груп знизилась за умов використання кератоксеноімплантата меншою мірою порівняно з групами без хірургічної корекції.

ДИНАМИКА ПРОДУКТОВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В КРОВИ КРОЛИКА ПРИ МЕХАНИЧЕСКОЙ НЕПРОНИЦАЕМОЙ ТРАВМЕ РОГОВИЦЫ И ПРИ ЕЕ КОРРЕКЦИИ КЕРАТОКСЕНОИМПЛАНТАТОМ – При непроницаемой травме роговицы и ее коррекции кератоксеноимплантатом мы отмечали меньшую активацию пероксидного окисления липидов (малоновый диальдегид) по сравнению с консервативным способом лечения. Снижение активности ферментативного звена антиоксидантной защиты в сыворотке крови (супероксиддисмутаза и каталаза) тоже проявилось в меньшей степени при коррекции травмы. Содержание церулоплазмينا в сыворотке крови в группах с использованием кератоксеноимплантата в течение эксперимента постепенно возрастало, в группах без коррекции наблюдали его постепенное снижение. Концентрация SH-групп снизилась при использовании кератоксеноимплантата в меньшей степени по сравнению с группами без хирургической коррекции.

DYNAMICS OF THE LIPID PEROXIDATION PRODUCTS AND ANTIOXIDANT PROTECTION OF THE RABBIT BLOOD UNDER THE MECHANICAL IMPERMEABLE CORNEAL INJURY AND AT THE ITS CORRECTION BY KERATOXENOIMPLANT – In the conditions of the impermeable corneal injury and its correction by the Keratoxenoimplant we noted the lower activation of the lipid peroxidation (malondialdehyde) compared with the conservative treatment. Reduced activity of the antioxidant enzyme level in serum (superoxide dismutase and catalase) also manifested to a lesser extent under the injury correction. The content of ceruloplasmin in the serum of groups with Keratoxenoimplant usage during the experiment gradually increased, in the groups without correction observed his gradual decline. Concentration of the SH-groups decreased when using the Keratoxenoimplant to a lesser extent compared with groups without surgical correction.

**Ключові слова:** непроникаюча травма рогівки, пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантний захист.

**Ключевые слова:** непроницаемая травма роговицы, пероксидное окисление липидов, антиоксидантная защита.

**Key words:** impermeable corneal injury, lipid peroxidation, antioxidant protection.

**ВСТУП** Дослідження ролі пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) в патогенезі захворювань очей є од-

ним із важливих напрямків сучасної офтальмології. Активація ПОЛ призводить до порушення фізико-хімічних властивостей мембран, їх ліпідного складу, токсично впливає на тканини, сприяє посиленню лізису, окисненню сульфгідрильних груп білків [10, 11]. У літературі широко висвітлено особливості ПОЛ і антиоксидантного захисту при різних захворюваннях очей, таких, як глаукома [1], катаракти [2], увеїти [4], травми очей [5], герпесу [14] та інших. Однак при виразках рогівки дану проблему висвітлено недостатньо, а при їх корекції кератоксеноімплантатом практично не зустрічалась.

Метою роботи стало вивчити зміни інтенсивності ПОЛ та антиоксидантного захисту організму в умовах непроникаючого поранення рогівки та при його корекції кератоксеноімплантатом у динаміці посттравматичного періоду.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ** Експериментальні дослідження проводили на статевозрілих кролях породи шиншила масою від 2,5 до 3,0 кг відповідно до Женевської конвенції International Guiding principles for Biochemical research involving animals (Geneva, 1990). Для оцінки патофізіологічних змін в організмі та рогівці після непроникаючого її поранення тварин поділили на 9 груп: контрольна група – інтактні тварини (12 кролів); перша дослідна група – термін спостереження через 3 доби після травми (6 кролів); друга дослідна група – через 7 днів після травми (6 кролів); третя дослідна група – через 10 днів після травми (6 кролів); четверта дослідна група – через 14 днів після травми (6 кролів); п'ята дослідна група – термін спостереження через 3 доби після травми та корекції кератоксеноімплантатом (6 кролів); шоста дослідна група – через 7 днів після травми та корекції кератоксеноімплантатом (6 кролів); сьома дослідна група – через 10 днів після травми та корекції кератоксеноімплантатом (6 кролів); восьма дослідна група – через 14 днів після травми та корекції кератоксеноімплантатом (6 кролів).

Експериментальна модель пошкодження рогівки відтворювалась на обох очах кроля під місцевою анестезією 0,5 % розчином алкаїну та ретробульбарною анестезією 2 % розчином лідокаїну 1,0 мл. Трепаном, діаметром 7 мм у верхній половині рогівки, наносили концентричну епітеліальну насічку, в межах якої одноразовим офтальмологічним скальпелем видаляли епітелій разом з переднім шаром строми рогівки (викорювали клапоть товщиною до 0,2 мм). Контроль відтворення ерозії здійснювали методом фарбування рогівки 0,5 % розчином флюоресцеїну. Корекції травми ксенокератоімплантатом здійснювали пришиванням його в 4 місцях (о 12, 15, 18 та 21 год) до склери через кон'юнктиву за допомогою атравматичної голки 8/0 нейлон виробництва ООО “Микрохирур-

гя глаза” и “Контур”. Впродовж терміну спостереження проводили інстиляцію розчину антибіотика фторхінолонового ряду – “Вігамокс” (1 крапля 3 рази на день).

В умовах тіопентало-натрієвого знеболювання (80 мг на кілограм маси тіла) у тварин з крайової вени вуха забирали кров, після чого виводили з експерименту методом повітряної емболії.

Активність ПОЛ оцінювали за вмістом у сироватці крові малонового діальдегіду (МДА) [8], стан антиоксидантної системи – за активністю супероксиддисмутази (СОД) [10] і каталази [6], вмістом церулоплазміну [15] та SH-груп відновленого глутатіону при взаємодії з реактивом Елмана [7].

Результати оброблено статистично за допомогою програми STATISTICA (“StatSoft, Inc.”, США), дані обчислювали за допомогою критерію Вілкоксона.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ** Як видно з таблиці 1, у групах тварин без корекції рівень МДА у сироватці крові в посттравматичному періоді максимально зростав на 3 добу спостереження та поступово знижувався до рівня контрольної групи на 14 добу. При цьому на 3–10 доби був статистично достовірно більшим, ніж у контрольній групі ( $p < 0,05$ ). При корекції травми рогівки ксенокератоімплантатом рівень МДА істотно перевищував контроль на 3 і 7 доби та досягав рівня контрольної групи на 10 і 14 доби. У групах тварин з некорегованою травмою рогівки концентрація МДА у сироватці крові на 3, 7 та 10 доби була достовірно вищою (43,0, 19,6 та 37,3 % відповідно), порівняно з групами, де використовували ксенокератоімплантат ( $p < 0,05$ ). На 14 добу рівень

МДА в групах з корекцією ксенокератоімплантатом та без неї, а також у групі інтактних тварин достовірно не відрізнялися ( $p > 0,05$ ).

Активність СОД у сироватці крові кролів у групах тварин без корекції в посттравматичному періоді максимально знизилась на 3 добу, протягом 7, 10 та 14 діб спостерігали її поступове зростання, проте активність залишалась достовірно меншою від контрольної групи ( $p < 0,05$ ). У групах з корекцією рогівкового поранення кератоксеноімплантатом ми відмічали максимальне зниження СОД на 3 добу, проте даний показник на 19,6 % був вищим від групи без корекції у відповідний термін спостереження ( $p < 0,05$ ). На 7 добу при корекції ксенокератоімплантатом ми спостерігали зростання даного показника на 11,0 %, порівняно з попереднім терміном спостереження, який був на 19,6 % вищим групи без корекції у відповідний термін спостереження ( $p < 0,05$ ). У групах з корекцією ксенокератоімплантатом на 10 та 14 добу спостереження активність СОД була на рівні контролю та навіть дещо вищою за нього. Порівняно з групами без корекції, на 10 та 14 доби вона була достовірно вищою ( $p < 0,05$ ).

Активність каталази в крові кролів у посттравматичному періоді при некорегованій травмі рогівки знижувалась максимально на 3 добу та поступово зростала до 14 доби, залишаючись достовірно нижчою порівняно з контрольною групою. У групах тварин з корекцією кератоксеноімплантатом активність каталази на 3 добу достовірно знижувалась на 9,0 % з наступним зростанням на 7 та 10 доби на 24,9 та 21,51 % відповідно, порівняно з 3 добою, що було вищим від контрольної групи. На 14 добу даний показник зни-

**Таблиця 1. Динаміка продуктів пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в крові кроля за умов механічної травми рогівки та її корекції кератоксеноімплантатом ( $M \pm m$ )**

Показник	Контроль (n=12)	Механічна травма рогівки			
		3 доба (n=6)	7 доба (n=6)	10 доба (n=6)	14 доба (n=6)
МДА, ммоль·л <sup>-1</sup>					
Некореговані	5,51±0,11	9,57±0,14*	8,30±0,17*	7,84±0,09*	5,88±0,18
Кореговані		6,69±0,23*	6,94±0,20*	5,71±0,26	5,86±0,12
p		p<0,05	p<0,05	p<0,05	p>0,05
СОД, %					
Некореговані	37,47±0,27	23,48±0,27*	27,98±0,16*	30,57±0,23*	36,42±0,34*
Кореговані		30,16±2,18*	33,47±0,46*	38,33±0,86	38,73±0,47*
p		p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05
Каталаза, %					
Некореговані	49,45±0,33	29,80±0,84*	34,70±0,59*	36,45±0,28*	38,63±0,27*
Кореговані		45,37±1,97*	56,67±1,12*	55,13±0,90*	48,57±0,33*
p		p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05
Церулоплазмін, мг·л <sup>-1</sup>					
Некореговані	360,50±3,53	326,17±4,62*	275,67±3,91*	275,83±4,16*	260,83±7,99*
Кореговані		478,50±13,91*	456,33±12,29*	517,67±20,28*	524,17±17,33*
p		p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05
SH-групи, ммоль·л <sup>-1</sup>					
Некореговані	78,39±0,57	42,48±1,82*	30,62±0,26*	26,37±0,72*	22,93±1,26*
Кореговані		59,29±4,48*	62,95±1,86*	66,25±0,48*	69,85±2,34*
p		p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05

Примітки: 1) \* – достовірність відмінностей стосовно контрольної групи,  $p < 0,05$ ; 2) p – достовірність відмінностей групи без використання ксенокератоімплантата та групи з корекцією травми ним.

звився на 11,9 % відносно 10 доби спостереження та був достовірно меншим контрольної групи та показника в даний період спостереження у групі з корегованою травмою рогівки. У групах з корекцією ксенокератоімплантатом на 3, 7 та 10 доби спостереження активність каталази була достовірно вищою, ніж у групах тварин без корекції у відповідні терміни спостереження (відповідно на 52,2; 63,3; 51,2 %,  $p < 0,05$ ). На 14 добу в групі з корекцією ксенокератоімплантатом досліджуваний показник був достовірно нижчим, ніж у групі інтактних тварин та у групі тварин без корекції у відповідний термін спостереження.

Вміст церулоплазміну в крові кролів у посттравматичному періоді при некорегованій травмі рогівки знижувався поступово, починаючи з 3 доби експерименту (на 9,5 % – 3 доба, 23,5 % – 7, 10 доби відносно контрольної групи,  $p < 0,05$ ) та досяг мінімального значення (на 27,7 % нижче показника групи інтактних тварин,  $p < 0,05$ ) на 14 добу. При корекції кератоксеноімплантатом рівень церулоплазміну в крові кролів у посттравматичному періоді зростає поступово (на 32,7 % – 3 доба, 26,6 % – 7 доба та 43,6 % – 10 доба відносно контрольної групи,  $p < 0,05$ ), досягаючи максимуму (45,4 % вище контрольної групи,  $p < 0,05$ ) на 14 добу. В групі з використанням кератоксеноімплантата рівень церулоплазміну достовірно був вищим від показників контрольної групи та групи з консервативним лікуванням непроникаючої травми рогівки у відповідні терміни спостереження ( $p < 0,05$ ).

У групах без корекції травми кератоксеноімплантатом, вміст SH-груп у крові кролів поступово достовірно знижувався відносно контрольної групи, досягаючи мінімуму на 14 добу експерименту. При корекції кератоксеноімплантатом концентрація SH-груп у крові кролів досягла мінімуму на 3 добу (на 24,3 % нижче контролю,  $p < 0,05$ ) та поступово підвищувалась на 7, 10 та 14 доби. На 14 добу вміст SH-груп залишався нижчим від показника контрольної групи ( $p < 0,05$ ).

Отримані результати свідчать про те, що травматична виразка рогівки за умов її корекції кератоксеноімплантатом та без неї спричиняє системний вплив на організм. З одного боку, це пов'язано із безпосереднім пошкодженням, реакцією організму на чужорідне тіло, виділенням медіаторів запалення та їх системним впливом, на тлі якого відмічається активація ПОЛ [13]. З іншого боку, погіршення зору, яке при цьому виникає, призводить до специфічного аферентного впливу на центральну нервову систему, ймовірно, є значним стресогенним чинником для тварини, який поглиблює системні відхилення і сприяє активації вільнорадикальних процесів [3]. Слід зауважити, що на тлі використання ксенокератоімплантата виникає помірне зниження активності антиоксидантного захисту, порівняно з консервативним способом лікування непроникаючої травми рогівки, особливо у період ранніх проявів травми, свідченням чого є помірне зниження активності СОД, каталази, SH-груп. Якщо СОД і SH-групи суттєво зростають у групах з використанням ксенокератоімплантата, через 14 діб експерименту стосовно попередніх термінів спостереження, то каталаза у кінці досліджу є навіть нижчою за показник контрольної групи. Очевидно у патогенезі зазначених

відхилень у ранній період ключову роль відіграє можливий дезінтоксикаційний вплив кератоксеноімплантата, разом з тим, як у кінці експерименту з'являються ендотоксини, нейтралізація яких відбувається шляхом утворення парних сполук [11]. Можна припустити, що аналогічні відхилення можливі й в умовах пошкодження рогівки та при застосуванні кератоксеноімплантата у клініці, що слід враховувати при виборі засобів системної корекції даного патологічного процесу.

**ВИСНОВКИ** 1. Внаслідок непроникаючого поранення рогівки за умов корекції кератоксеноімплантатом, порівняно з консервативним лікуванням, у крові експериментальних тварин спостерігаємо меншу активацію пероксидного окиснення ліпідів з максимумом зростання вмісту в сироватці крові малонового діальдегіду на 7 добу та його нормалізацією на 10 добу, в групі без використання ксенокератоімплантата нормалізація малонового діальдегіду настає на 14 добу спостереження.

2. У групах тварин, де використовували кератоксеноімплантат, через 3 доби посттравматичного періоду виникає зниження активності ферментативної ланки антиоксидантного захисту сироватки крові (супероксиддисмутаза) та SH-груп з наступним зростанням на 14 добу, що наближається до контрольного рівня у групі з використанням кератоксеноімплантата. В групі, де використовували тільки консервативну терапію, супероксиддисмутаза не досягає контрольної групи, а концентрація SH-груп є втричі нижчою від показника інтактних тварин та групи з корегованою травмою рогівки на 14 добу експерименту.

3. Каталаза в крові зменшується на 3 добу посттравматичного періоду, зростає на 7, 10 і 14 доби, однак залишається нижчою за показник контролю в групах тварин з консервативною терапією непроникаючого поранення рогівки. У групах тварин, де використовували кератоксеноімплантат, зниження активності каталази спостерігається на 3 добу експерименту, на 7 та 10 доби активність каталази зростає вище рівня контролю та знижується нижче нього на 14 добу.

4. Вміст церулоплазміну в сироватці крові при використанні ксенокератоімплантата впродовж експерименту поступово зростає, досягаючи максимальних значень на 14 добу, разом з тим, як при консервативному способі лікування його рівень поступово знижується.

**Перспективними є подальші дослідження** впливу непроникаючої травми рогівки за умов корекції кератоксеноімплантатом на стан пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в корнеальній тканині, динаміку гуморальної та клітинної імунної відповіді як в організмі загалом, так і у рогівці зокрема, морфологічні особливості регенераторного процесу в рогівці.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Роль перекисного окислення ліпідів в развитие глаукомы / В. Н. Алексеев, С. А. Кетлинский, Б. П. Шаронов [и др.] // Вестник офтальмологии. – 1993. – Т. 109, № 5. – С. 10–12.
2. Воскресенская Л. К. Роль перекисного окисления липидов в патогенезе старческой катаракты и её профилактика антиоксидантами : автореф. дисс. на соискание научн. степени канд. мед. наук / Л. К. Воскресенская. – М., 1985. – 30 с.
3. Затковська О. Я. Роль попереднього гострого емоційного стресу в перебігу комбінованої травми в експерименті /

О. Я. Затковська, А. А. Гудима // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2011. – № 1 (23). – С. 120–123.

4. Киселева Т. Н. Значение биохимических показателей слезной жидкости для ранней диагностики и прогноза течения травматического увеита : автореф. дисс. на соиск. научн. степени канд. мед. наук / Т. Н. Киселева. – Челябинск, 1995.

5. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.

6. Практикум по биохимии / под ред. С. Е. Северина, Т. А. Соловьевой. – М. : Изд-во МГУ, 1989. – С. 160–161.

7. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили : в кн. : Современные методы в биохимии ; под ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 66–68.

8. Влияние антиоксидантной и лазерной терапии на состояние мембран эритроцитов при экспериментальном перитоните / Д. В. Срубиллин, Д. А. Еникеев, В. А. Мышкин [и др.] // Мед. вестн. Башкортостана. – 2009. – № 2. – С. 102–106.

9. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических

материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лабораторное дело. – 1985. – Вып. 11. – С. 678–681.

10. Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases / N. Ballatori, S. M. Krance, S. Notenboom [et al.] // Biol. Chem. – 2009. – Vol. 390(3). – P. 191–214.

11. Brooks D. E. Matrix metalloproteinase inhibition in corneal ulceration / D. E. Brooks, F. J. Ollivier // Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract. – 2004. – Vol. 34, № 3. – P. 611–622.

12. Nagano T. Differential regulation of collagen degradation by rabbit keratocytes and polymorphonuclear leukocytes / T. Nagano, M. Nakamura, T. Nishida // Curr. Eye Res. – 2002. – Vol. 24, № 3. – P. 240–243.

13. Imbalance in corneal redox state during herpes simplex virus induced keratitis in rabbits. Effectiveness of exogenous glutathione supply / C. Nucci, A. T. Palamara, M. R. Ciriolo [et al.] // Exp. Eye Res. – 2000. – Vol. 70, № 2. – P. 215–220.

14. Reaven G. M. The fourth Musketeer – from Alexander Dumas to Claude Bernard / G. M. Reaven // Diabetologia. – 1995. – Vol. 38. – P. 3–13.

Отримано 02.04.13