

УДК 617.7:616.379–008.64+617.7–007.681–07+577.11(092.9)

Мембранотропное влияние гипергликемии на ткани угла передней камеры при офтальмогипертензии

В. Р. Юревич, доцент, канд. мед. наук

Львовский национальный
медицинский университет им.
Д. Галицкого; Львов (Украина)

E-mail: yurevych@te.net.ua

Вступ. Незважаючи на значний прогрес у лікуванні ускладнень з боку органа зору при цукровому діабеті, проблема профілактики і терапії даної патології продовжує залишатися недостатньо вивченою.

Мета дослідження. Вивчити стабільність лізосомальних мембран тканин кута передньої камери при офтальмогипертензії в умовах гіперглікемії.

Методи дослідження. Дослідження проводилися на 32 кроликах. Піддослідні тварини були розділені на чотири групи: перша — норма (8 кроликів), друга — тварини з діабетом в умовах офтальмогипертензії (8 кроликів), третя — тварини з діабетом (8 кроликів), четверта — тварини з офтальмогипертензією (8 кроликів). У тканинах кута передньої камери визначали активність вільної і пов'язаної форми кислоти фосфатази.

Результати. В цілому, загальний аналіз представлених результатів по вивченню співвідношення активності вільної та зв'язаної форми маркерного лізосомального ферменту — кислоти фосфатази свідчить, що розвиток офтальмогипертензії у тварин зі стрептозотоциновим діабетом призводить до значного зниження стабільності лізосомальних мембран внутрішньоклітинних структур досліджуваної тканини.

Висновки. Встановлено, що розвиток експериментальної офтальмогипертензії у кроликів викликає лабілізацію лізосомальних структур тканин кута передньої камери. Це підтверджується підвищенням активності вільної форми маркерного ферменту — кислоти фосфатази на 26,1 % і зниженням активності її пов'язаної форми на 25,3 %. Активність вільної форми маркерного ферменту зростає більш ніж на 40 %, а рівень пов'язаної форми знижується на 47,7 %. Результати цієї роботи дають підставу вважати, що гіперглікемія вчиняє негативний мембранотропний вплив на внутрішньоклітинні ультраструктури тканин кута передньої камери при розвитку офтальмогипертензії.

Ключевые слова: офтальмогипертензия, гипергликемия, ткани угла передней камеры, кислая фосфатаза

Ключові слова: офтальмогипертензия, гиперглікемія, тканини кута передньої камери, кисла фосфатаза

Введение. На сегодняшний день важной является проблема поиска новых способов сохранения зрительных функций при первичной глаукоме, особую актуальность она приобретает при лечении глаукомы у больных сахарным диабетом (СД) [1, 7].

Существует предположение, что при глаукоме и СД отмечается схожесть целого ряда звеньев патогенеза. Так, в частности, при развитии СД отчетливо установлена роль оксидативного стресса в механизмах диабетического поражения органа зрения [3, 7]. Получены также данные о роли оксидативных процессов в патогенезе оптической глаукоматозной нейропатии [4].

В то же время остается недостаточно ясной взаимосвязь между степенью активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) и состоянием антиоксидательной системы в крови, тканях дренажной системы глаз и камерной влаге при первичной открытоугольной глаукоме (ПОУГ) [2, 9]. И совершенно не изучены особенности свободно-радикального

повреждения мембранных структур тканей угла передней камеры при ПОУГ в условиях диабета.

По нашему мнению, комплексное исследование процессов ПОЛ, антиоксидантной защиты, а также структурно-функционального состояния лизосом при ПОУГ и СД представляет интерес не только в плане углубления знаний о патогенезе связанных с ними болезней, но и в отношении перспектив разработки новых методов фармакотерапии этих заболеваний.

Цель работы: изучить стабильность лизосомальных мембран тканей угла передней камеры при офтальмогипертензии в условиях гипергликемии.

Материал и методы

Экспериментальные исследования проводились на 32 кроликах (самцы) породы шиншилла (массой 2,5–3,2 кг).

Работа с животными проводилась с учетом Международных требований для биомедицинских исследований на

животных, предложенных на Совете международных медицинских научных организаций (2012 г.).

Подопытные животные были разделены на четыре группы: 1 — контроль (8 кроликов), 2 — животные с диабетом в условиях офтальмогипертензии (8 кроликов), 3 — животные с диабетом (8 кроликов), 4 — животные с офтальмогипертензией (8 кроликов). Все группы были подразделены на две подгруппы по срокам наблюдения I — 3 недели, II — 6 недель.

Методики моделирования гипергликемии, офтальмогипертензии (ОГТ), а также выведения животных из эксперимента были описаны в предыдущих работах [5, 6].

Исследуемые ткани глаза немедленно удалялись и помещались в свежеприготовленную среду, содержащую 20 mM NEPES-КОН (pH=7,5), 1,5 M MgCl₂, 0,5 mM EGTA и 250 mM сахарозы и аккуратно гомогенизировались в стеклянном гомогенизаторе с тефлоновым пестиком. После дифференциального центрифугирования гомогенатов в осадке и надосадочной жидкости определяли активность свободной и связанной форм кислой фосфатазы (КФ) [4].

Принцип метода определения активности КФ основан на СФ-метрическом измерении концентрации паранитрофенила, образующегося в результате ферментативного гидролиза паранитрофенилфосфата. Коэффициент вариации метода — 3,6 % [8].

Статистическую достоверность различий определяли по критерию Стьюдента с помощью пакета SPSS 11.0 [2].

Результаты и их обсуждение

Данные о влиянии гипергликемии на активность свободной и связанной КФ в тканях угла передней камеры у кроликов с ОГТ представлены в таблице 1. По соотношению активности свободной и связанной КФ судили о степени лабилизации лизосом.

Активность свободной КФ в тканях угла передней камеры животных с ОГТ повышалась в I срок — до 115,0 %, во второй срок — до 126,1 % относительно нормы.

При этом активность свободной КФ в тканях угла передней камеры животных с диабетом и ОГТ была повышена в I срок до — 133,7 % (p<0,01), а во 2 срок до 140,1 % по отношению к контролю (p<0,01).

Очевидно, что у животных с диабетом и ОГТ активность свободной КФ увеличивалась в значительно большей степени по сравнению с данными, когда ОГТ вызывали у животных без диабета.

В тканях угла передней камеры активность связанной КФ у животных с ОГТ была понижена в I срок — до 85,9 %, во второй срок — до 74,7 % относительно контроля (p<0,01).

У экспериментальных животных с диабетом и ОГТ активность связанной КФ в тканях угла передней камеры снизилась в I срок наблюдения — до 60,3 % (p<0,01), во 2 срок до 52,3 % по отношению к контролю (p<0,001).

В изучаемые сроки у животных с диабетом в условиях развития ОГТ наблюдалось также существенное падение активности связанной КФ, по сравнению с группой животных без ОГТ. Так, в пер-

вый срок относительное снижение составляло — 27,5 % (p<0,05), во второй срок — 30,4 % (p<0,05).

Необходимо особо отметить, что активность связанной КФ у животных с диабетом и ОГТ уменьшалась в большей степени по сравнению с данными, когда ОГТ вызывали у животных без диабета. Так, в первый срок относительное снижение составило 37,1 %, во второй срок — 37,2 % (p<0,01).

В целом, общий анализ представленных результатов по изучению соотношения активности свободной и связанной форм маркерного лизосомального фермента КФ свидетельствует, что развитие ОГТ у животных со стрептозотоциновым диабетом способствует значительному снижению стабильности лизосомальных мембран внутриклеточных структур изучаемой ткани.

Общий анализ экспериментальных данных, полученных у животных различных групп, позволяет заключить, что в условиях гипергликемии воспроизведение ОГТ приводит к наиболее резкому нарушению стабильности лизосом по сравнению с животными, когда гипертензия вызывалась у кроликов с нормальными показателями гликемии.

В механизме выявленных нами нарушений стабильности мембран внутриклеточных структур тканей угла передней камеры глаза важную роль может играть активация процессов образования свободно-радикальных форм кислорода, усиление перекисного окисления липидов и снижение потенциала антиоксидантной системы и ферментов детоксикации, что, в частности, было показано нами в предыдущих исследованиях [5, 6].

Следует подчеркнуть особую значимость обнаруженных фактов нарушения стабильности мембран лизосом, которая является существенным звеном механизма деструкции трабекулярного аппарата при развитии глаукоматозного процесса, т. к. состояние этих внутриклеточных органелл определяет скорость гидролитического расщепления макромолекул волокнистых структур трабекулярной сети (белков, мукополисахаридов и др.) [9]. Кроме того, необходимо учитывать также, что дестабилизация лизосомальных мембран является важным элементом в системе апоптоза клеточных структур, т. к. именно лизосомальные ферменты осуществляют катаболизм белковых, липидных и других биополимеров.

Выводы

1. Установлено, что при офтальмогипертензии у животных со стрептозотоциновым диабетом происходит резкое нарушение стабильности лизосом тканей угла передней камеры. Активность свободной формы маркерного фермента в этих условиях возрастает более чем на 40 %, а уровень связанной формы снижается на 47,7 %, тогда как у кроликов с нормогликемией при моделировании офтальмо-

Таблица 1. Влияние офтальмогипертензии на активность кислой фосфатазы (нкат/г ткани) в тканях угла передней камеры при экспериментальном диабете у кроликов (n=8)

Биохимич. показатели	Группы животных	Стат. пока-зат.	Условия эксперимента		
			Норма	1 срок	2 срок
Свободная форма КФ	Диабет+ Офтальмогипертензия	M±m	110,84±7,87	148,18±6,37	155,27±9,96
		p	–	<0,01	<0,01
		%	100,0	133,7	140,1
		p1	>0,05	>0,05	>0,05
		%1	101,7	107,4	105,6
		p2	>0,05	>0,05	>0,05
		%2	99,4	115,5	110,4
	Диабет	M±m	108,99±6,25	137,98±6,85	146,97±9,01
		p	–	<0,01	<0,01
		%	100,0	126,6	134,8
	Офтальмогипертензия	M±m	111,55±8,43	128,28±8,72	140,70±9,05
		p	–	>0,05	<0,05
%		100,0	115,0	126,1	
Связанная форма КФ	Диабет+ Офтальмогипертензия	M±m	38,98±3,76	23,50±1,88	20,39±1,81
		p	–	<0,01	<0,001
		%	100,0	60,3	52,3
		p1	>0,05	<0,05	<0,05
		%1	91,0	72,5	69,6
		p2	>0,05	<0,01	<0,01
		%2	89,7	62,9	62,8
	Диабет	M±m	42,82±3,31	32,40±2,58	29,30±2,55
		p	–	<0,05	<0,01
		%	100,0	75,7	68,4
	Офтальмогипертензия	M±m	43,48±2,40	37,35±3,28	32,49±2,67
		p	–	>0,05	<0,01
%		100,0	85,9	74,7	

Примечание: p — уровень значимости различий данных по отношению к группе «Контроль»; p1 — уровень значимости различий данных по отношению к группе «Диабет»; p2 — уровень значимости различий данных по отношению к группе «Офтальмогипертензия».

гипертензии эти показатели изменялись соответственно на 26,1 % и 25,3 %.

2. Результаты настоящей работы дают основание заключить, что гипергликемия оказывает негатив-

ное мембранотропное влияние на внутриклеточные ультраструктуры тканей угла передней камеры при развитии офтальмогипертензии.

Литература

1. Астахов Ю. С. Является ли сахарный диабет фактором риска развития первичной открытоугольной глаукомы / Астахов Ю. С., Крылова И. С., Шадричев Ф. Е. // Русский мед. журн. — 2005. — Т. 3. — № 2. — С. 56–59.
2. Наследов А. SPSS компьютерный анализ данных в психологии и социальных науках / Наследов А. // Спб.: Питер, 2005. — 416 с.
3. Павлюченко К. П. Окислительное повреждение пигментного эпителия сетчатки при моделировании стрептозотоцинового диабета / Павлюченко К. П., Олейник Т. В. // Офтальм. журн. — 2005. — № 3. — С. 47–49.
4. Сердюк В. Н. Состояние мембран лизосом сетчатки и зрительного нерва при развитии экспериментальной глаукомы / Сердюк В. Н. // Запорожский медицинский журнал. — № 5 (74). — 2012. — С. 57–59.
5. Юревич В. Р. Влияние гипертензии на уровень продуктов перекисного окисления липидов в тканях угла переднего отдела глаза при экспериментальном диабете / Юревич В. Р. // Офтальмол. журн. — 2015. — № 4. — С. 38–43.
6. Юревич В. Р. Активность антиоксидантных ферментов в тканях угла передней камеры и камерной влаги при экспериментальной гипертензии и стрептозотоциновом диабете / Юревич В. Р. // Харківська хірургічна школа. — 2015. — № 4. — С. 45–51.
7. Adeoti C. O. The anterior segment of the eye in diabetes / Adeoti C. O., Isawumi M. A., Ashaye A. O. // Clinical Ophthalmology. — 2012. — Vol. 6. — P. 667–671.
8. Bergmeyer H. U. Methoden der enzymatischen Analyse. — Herausgegeben von H. U. Bergmeyer. — Berlin. — 1986. — S. 2254–2265.
9. Liton P. B. Potential role of lysosomal dysfunction in the pathogenesis of primary open angle glaucoma / Liton P. B., Lin Y., Gonzales P. // Autophagy. — 2009. — Vol. 5(1). — P. 122–124.

Поступила 20.01.2016