

УДК 617.713–001.37–092.9–008.9–085

Некоторые особенности углеводного обмена в роговой оболочке и коррекция его нарушений при моделированном щелочном ожоге

Р. И. Чаланова, д-р мед. наук, Т. В. Пархоменко, старший лаборант, М. Мбарки, аспирант

ДУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им.

В. П. Филатова НАМН Украины»

E-mail: r.chalanova@gmail.com

Ключевые слова: ожоги глаз, лактат, пируват, цитофлавин, эксперимент

Ключові слова: опіки очей, лактат, піруват, цитофлавін

Вступ. На підставі вмісту в обпеченій рогівці субстратів гліколізу пірувату і лактату можливо зробити висновки відносно шляху реалізації тканинного дихання при опіку очей та доцільності застосування цитофлавіну з антигіпоксичною метою.

Метою досліджень з'явилося встановлення порушень анаеробної-аеробної фаз окислення вуглеводів при опіковій травмі рогівки (за рівнем і співвідношенням лактату і пірувату) і можливості коригуючого впливу на патохімічні процеси цитофлавіну.

Матеріал і методи. Дослідження проведено на обох очах 20 кроликів з модельованим ізолюваним важким лужним опіком. В контролі з 10 по 14 добу внутрішньовенно вводили 2,5 мл фізіологічного розчину, а в основній групі — 0,5 мл цитофлавіну в 2,0 мл фізіологічного розчину. На 3, 7, 21, 30 і 45 добу здійснювали забір рогівки для проведення біохімічних досліджень.

Результати. Отримані дані свідчать про порушення аеробного типу тканинного дихання. Застосування цитофлавіну сприяє покращенню перебігу патохімічних процесів в обпеченій рогівці. Різниця між вмістом пірувату і лактату на 45 добу опікового процесу в рогівці основної групи тварин склала 1,5 %, а в контролі - 10 %.

Висновок. Встановлено пригнічення аеробної фази вуглеводного обміну і покращення його показників після застосування внутрішньовенних інфузій цитофлавіну з антигіпоксичною метою

Some peculiarities of carbohydrate metabolism in the cornea and metabolic correction of its disturbances in modeled alkaline burn of the cornea

R. I. Chalanova, T. V. Parkhomenko, M. Mbarki

State Institution The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of the NAMS of Ukraine, Odessa, (Ukraine)

Key words: eye burns, lactate, pyruvate, cytoflavin

Introduction. On the basis of the content of the substrates of glycolysis of pyruvate and lactate in the burnt cornea the conclusion may be made about the way of realization of the tissue respiration in the eye burn and efficacy of using cytoflavin with the antihypoxic aim.

Purpose of the study. To reveal disorders of the anaerobic-aerobic phases of the carbohydrate oxidation in the burn trauma of the cornea (by the level and ratio of lactate and pyruvate) and possibility of the correcting influence of cytoflavin on the pathochemical processes.

Materials and methods. The study was made in both eyes of 20 rabbits with modeled severe alkaline burn. The controls were intravenously introduced 2.5 ml of the physiological solution from 10 to 14 days; the main group was introduced 0.5 ml of cytoflavin and 2.0 ml of the physiological solution. The cornea was taken for the biochemical investigation on the 3rd, 7th, 21st, 30th and 45th day.

Results. The data obtained are evidence of disorder of the aerobic type of the tissue respiration. The application of cytoflavin contributes to improvement of the course of the pathochemical processes in the burnt cornea. The difference in the pyruvate and lactate content on the 45th day of the burn process was 1.5 % in the main group of animals and 10 % — in the controls.

Conclusion. There was established suppression of the aerobic phase of the carbohydrate metabolism and improvement of its indices after the application of intravenous injections of cytoflavin with the antihypoxic aim.

Введение. В офтальмологической практике ожог глаз рассматривается как наиболее тяжелый вид повреждений [1, 2, 5, 12, 13]. Тяжесть патологического процесса и замедление репаративных процессов в значительной мере могут быть обусловлены нарушением потребления кислорода в тканях обожженного глаза. Известно, что главной мишенью для гипоксии является энергетический обмен [3]. Это подтверждается полученными нами результатами исследований, показавшими, что моделированный изолированный ожог роговицы приводит к уменьшению содержания основного энергетического биологического субстрата АТФ в роговице ниже критической концентрации уже на 7 сутки с момента ожога [10]. При проведении биохимических исследований в динамике экспериментального ожогового процесса нами было выявлено также ингибирование активности некоторых ферментов сыворотки крови и камерной влаги, принимающих участие в углеводном обмене [8, 9]. Полученные результаты свидетельствуют о сдвиге системных и местных процессов тканевого дыхания в сторону более экономного, но менее эффективного анаэробного пути окисления глюкозы. В процессе реализации цепи последовательных реакций гликолиза образуется пируват (с одновременным образованием АТФ) [7]. При достаточном потреблении кислорода биологическими тканями пируват полностью окисляется до образования воды и двуокиси углерода, а в анаэробных условиях пируват превращается в лактат [7]. Таким образом, на основании данных о содержании в обожженной роговице субстратов гликолиза пирувата и лактата, можно судить о пути реализации тканевого дыхания при данном виде повреждений. Эти данные могут служить показателем эффективности применения внутривенных инфузий цитофлавина как антигипоксического метода лечения

Цель настоящей работы заключалась в определении степени нарушения анаэробной-аэробной фазы окисления углеводов при ожоговой травме роговицы (по уровню содержания лактата и пирувата) и возможности корректирующего воздействия цитофлавина на патохимические процессы.

Материал и методы

Исследования проведены на двух группах кроликов, у которых воспроизводили тяжелый изолированный щелочной ожог роговицы (10 % NaOH с экспозицией 10 секунд) по методике П. П. Чечина (рац. пред. № 631 от 04.05.1982 г.)

Местное лечение осуществляли инстилляциями дезинфицирующих средств и тобрадекса. В основной группе (20 кроликов, 40 глаз) с 10 по 14 сутки с момента воспроизведения моделированного щелочного ожога лечение дополнено внутривенными инфузиями 2,5 мл цитофлавина (5 инъекций). Контрольной группе (20 кроликов, 40 глаз) в эти же сроки внутривенно вводили такой же объем физиологического раствора. Наблюдение за экспериментальными животными проводили на протяжении 45 суток. Учитывали

уровень воспалительной реакции в баллах, площадь помутнения и дефекта роговицы в мм², сроки купирования признаков воспаления и заживления роговицы.

В роговице экспериментальных животных определяли содержание пирувата и лактата [4].

Принцип метода определения пирувата основан на определении убыли восстановленного НАД, который окисляется в процессе восстановления первого под действием фермента лактатдегидрогеназы. Уменьшение количества НАДН определяли спектрофотометрически при длине волны 340 нм и рассчитывали содержание пирувата [11].

Согласно принципу метода определения лактата, при окислении одного моля этого вещества под действием фермента лактатдегидрогеназы, восстанавливается 1 моль НАД с максимумом поглощения при длине волны 340 нм. По увеличению оптической плотности раствора, связанного с образованием НАДН, определяли содержание лактата [11].

Полученные данные подвергались статистической обработке с помощью пакета SPSS 11.0 [6].

Результаты и их обсуждение

Данные о содержании лактата в роговице кроликов контрольной группы (с использованием внутривенного введения 0,9 % физиологического раствора) и основной группе (с применением внутривенных инфузий цитофлавина) в условиях щелочного ожога роговицы представлены в таблицах 1 и 2.

Биохимическими исследованиями, проведенными с целью определения содержания лактата в роговицах кроликов обеих групп до ожога, установлено, что в контрольной группе этот показатель составлял $(14,32 \pm 1,15)$ мкмоль/г, а в основной группе — $(13,90 \pm 1,15)$ мкмоль/г.

Как видно из данных, представленных в таблице 1, изменение уровня содержания лактата определялось уже на 3 сутки с момента ожога. В контрольной группе животных этот показатель повысился до $(22,23 \pm 1,54)$ мкмоль/г, (что составило 155,2 % к показателю нормы до ожога), а в основной группе — до $(21,54 \pm 1,54)$ мкмоль/г, (155 % от исходных данных).

В динамике развития ожогового процесса отмечено дальнейшее повышение содержания лактата в обожженной роговице кроликов обеих групп. После 7 суток наблюдений этот показатель в роговице кроликов контрольной группы составил $(24,05 \pm 1,80)$ мкмоль/г, (167,9 %, к уровню нормы), а в основной группе — $(23,21 \pm 1,80)$ мкмоль/г, (167 % по отношению к данным до ожога) (табл. 1).

На 21 сутки наблюдений содержание лактата в контрольной группе экспериментальных животных оставалось повышенным, составляя $(21,90 \pm 1,52)$ мкмоль/г, (152,9 %) к исходному уровню), а в основной группе отмечено снижение показателя до $(16,43 \pm 1,40)$ мкмоль/г ($p < 0,05$), что на этот срок наблюдения составило 118,2 %, по сравнению с данными до ожога роговицы.

После 30 суток наблюдений уровень лактата в роговице кроликов в условиях щелочного ожога в

Таблица 1. Содержание лактата (мкмоль/г) в роговице кроликов контрольной (без лечения) и основной (применение цитофлавина) групп в условиях щелочного ожога роговицы кроликов

Сроки наблюдения	Стат. показатели	Контрольная группа	Основная группа
До ожога	n	6	6
	M±m	14,32±1,15	13,90±1,15
	p	–	–
	%	100,0	100,0
	p1	–	>0,05
	%1	100,0	97,1
3 сутки	n	5	5
	M±m	22,23±1,54	21,54±1,54
	p	<0,01	<0,01
	%	155,2	155,0
	p1	–	>0,05
	%1	100,0	96,9
7 сутки	n	5	5
	M±m	24,05±1,80	23,21±1,80
	p	<0,01	<0,01
	%	167,9	167,0
	p1	–	>0,05
	%1	100,0	96,5
21 сутки	n	5	5
	M±m	21,90±1,52	16,43±1,40
	p	<0,01	>0,05
	%	152,9	118,2
	p1	–	<0,05
	%1	100	75,0
30 сутки	n	6	6
	M±m	20,33±1,20	15,45±1,18
	p	<0,01	>0,05
	%	142,0	111,2
	p1	–	<0,05
	%1	100	76,0
45 сутки	n	7	7
	M±m	19,48±1,28	15,06±1,16
	p	<0,05	>0,05
	%	136,0	108,3
	p1	–	<0,05
	%1	100	77,3

Примечание: p — уровень значимости различий данных по отношению к данным до ожога; p1 — уровень значимости различий данных при сравнении контрольной и основной групп в зависимости от срока.

контрольной группе оставался значительно повышенным — (20,33±1,20) мкмоль/г, (142 % исходного уровня). На этот же срок наблюдения в группе кроликов с применением цитофлавина отмечалось дальнейшее снижение исследуемого показателя до (15,45±1,18) мкмоль/г, (p<0,05). По отношению к данным до ожога содержание лактата в роговице кроликов основной группы составило — 111,2 %.

Несмотря на некоторое снижение, содержание лактата в роговице животных контрольной группы на 45 сутки наблюдений остается еще значительно повышенным, в контроле оно составило (19,48±1,28) мкмоль/г, (136 % исходного уровня), а в основ-

Таблица 2. Содержание пирувата (мкмоль/г) в роговице кроликов контрольной (без лечения) и основной (применение цитофлавина) групп в условиях щелочного ожога роговицы кроликов

Сроки наблюдения	Стат. показатели	Контрольная группа	Основная группа
До ожога	n	6	6
	M±m	0,580±0,030	0,560±0,030
	p	–	–
	%	100,0	100,0
	p1	–	>0,05
	%1	100,0	96,6
3 сутки	n	5	5
	M±m	0,795±0,052	0,765±0,052
	p	<0,01	<0,01
	%	137,1	136,6
	p1	–	>0,05
	%1	100,0	96,2
7 сутки	n	5	5
	M±m	0,812±0,060	0,795±0,060
	p	<0,01	<0,01
	%	140,0	142,0
	p1	–	>0,05
	%1	100,0	97,9
21 сутки	n	5	5
	M±m	0,790±0,050	0,639±0,040
	p	<0,01	>0,05
	%	136,2	114,1
	p1	–	<0,05
	%1	100	80,9
30 сутки	n	6	6
	M±m	0,752±0,048	0,612±0,038
	p	<0,05	>0,05
	%	129,7	109,3
	p1	–	<0,05
	%1	100	81,4
45 сутки	n	7	7
	M±m	0,730±0,042	0,598±0,035
	p	<0,05	>0,05
	%	125,9	106,8
	p1	–	<0,05
	%1	100	81,9

Примечания: p — уровень значимости различий данных по отношению к данным до ожога; p1 — уровень значимости различий данных при сравнении контрольной и основной групп в зависимости от срока.

ной группе кроликов этот показатель несколько превышал уровень нормы, составляя (15,06±1,16) мкмоль/г, (108,3 % по сравнению с данными до ожога роговицы).

Данные о содержании пирувата в роговице кроликов контрольной (без лечения) и основной (применение цитофлавина) групп в условиях щелочного ожога роговицы кроликов представлены в таблице 2.

Содержание пирувата в роговице кроликов в контрольной группе до ожога составило (0,580±0,030) мкмоль/г, а в группе с применением цитофлавина — (0,560±0,030) мкмоль/г. Таким образом, по уровню активности фермента в обожжен-

ной роговице основная и контрольная группа были практически идентичными.

После нанесения ожога, на 3 сутки наблюдений, уровень пирувата в контрольной группе животных повысился ($0,795 \pm 0,052$) мкмоль/г, что составило 137,1 % от исходных данных. В основной группе этот показатель составил ($0,765 \pm 0,052$) мкмоль/г, т. е. 136,6 % по отношению к данным до ожога роговицы.

Дальнейшие исследования выявили повышение содержания пирувата в обожженной роговице кроликов обеих групп. После 7 суток наблюдений содержание пирувата в роговице в контрольной группе было повышено до ($0,812 \pm 0,060$) мкмоль/г (140 % исходного уровня), в основной до ($0,795 \pm 0,060$) мкмоль/г (142 %, а по сравнению с нормой).

После проведенного лечения на 21 сутки уровень пирувата в контрольной группе экспериментальных животных оставался повышенным и составлял ($0,790 \pm 0,050$) мкмоль/г (136,2 % по сравнению с нормой). В основной группе кроликов на этот срок наблюдения отмечено снижение показателя содержания пирувата в роговице до ($0,639 \pm 0,040$) мкмоль/г, по сравнению с данными до ожога роговицы это составило 114,1 %. $p < 0,05$.

Снижение показателя содержания пирувата в контрольной группе отмечено после 30 суток наблюдений ($0,752 \pm 0,048$) мкмоль/г, (129,7 % к уровню нормы). В группе с применением цитофлавина наблюдалось дальнейшее снижение показателя до ($0,612 \pm 0,038$) мкмоль/г, что, по отношению к данным до ожога роговицы составило — 109,3 %, ($p < 0,05$).

На 45 сутки наблюдений в контрольной группе животных содержание пирувата оставалось значительно повышенным и составляло ($0,730 \pm 0,042$) мкмоль/г, (125,9 % от исходного уровня). В основной группе кроликов этот показатель снизился практически до исходного уровня и составил ($0,598 \pm 0,035$) мкмоль/г, (106,8 % по сравнению с данными до ожога роговицы) ($p < 0,05$).

Общий анализ результатов биохимических исследований позволяет заключить, что в интактной роговице реализуются анаэробный и аэробный типы тканевого дыхания, так как до ожога в роговичной ткани определяются и пируват, и лактат. Повышение содержания обоих этих субстратов, по-видимому, свидетельствует о стимуляции в роговице обоих типов тканевого дыхания при ее ожоге. Вместе с тем, при анализе полученных данных

обращает на себя внимание более значительное повышение содержания лактата в обожженной роговице по сравнению с содержанием пирувата. Так, в контрольной группе животных на 3 сутки с момента ожога содержание лактата превышало уровень пирувата на 18 %, на 7 сутки наблюдения это различие составляло 28 %. С 21 суток после ожога в роговице кроликов контрольной группы отмечено снижение уровня обоих субстратов. Тем не менее, содержание лактата на 21 сутки наблюдения было выше, чем содержание пирувата на 16,7 %; на 30 сутки — на 12,3 %; а на 45 сутки — на 10 %. Таким образом, в различные сроки после ожогового процесса в роговице отмечается накопление конечных продуктов гликолиза, что свидетельствует о резком нарушении процессов аэробного превращения углеводов.

В условиях применения цитофлавина, начиная с 21 суток наблюдения от момента нанесения щелочного ожога, отмечается благоприятное влияние препарата на интенсивность патохимических процессов в обожженной роговице. После проведенного лечения, у кроликов основной группы разница в содержании лактата и пирувата на 21 сутки наблюдения составляет всего 4 % (в 4 раза меньше, чем в контроле). На 30 сутки наблюдения этот показатель снижается до 1,8 %, а на 45 сутки достигает 1,5 %. Это свидетельствует о заметной коррекции процессов тканевого дыхания под влиянием инфузионной терапии с применением цитофлавина.

Выводы

1. Развитие щелочного ожога вызывает резкое нарушение процессов тканевого дыхания, вследствие чего резко возрастает концентрация таких конечных метаболитов гликолиза как лактат и пируват.
2. Превалирование содержания лактата в обожженной роговице в динамике ожогового процесса свидетельствует об угнетении аэробной фазы и активации анаэробной фазы окисления углеводов. Этот факт является важным звеном механизма патохимического повреждения тканей роговой оболочки, оказывающим тормозящее воздействие на процессы посттравматической регенерации.
3. Применение метаболитной терапии в виде цитофлавина способствует более быстрой нормализации нарушенного углеводного обмена, что, несомненно, должно способствовать улучшению процессов регенерации поврежденной роговицы.

Литература

1. Бирич Т. В. Ожоги глаз / Т. В. Бирич. — Минск: Беларусь, 1979. — 137 с.
2. Волков В. В. О звеньях патогенеза ожоговой болезни глаз // «Симпозиум в лечении ожогов глаз»: Тез. Докл. — М., 1989. — С. 3—4.
3. Лукьянова Л. Д. Роль биоэнергетических нарушений в патогенезе гипоксии / Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 2004. — № 2. — С. 2—11.
4. Новые методы биохимического анализа // Изд. Ленинградского универ. — 1991. — 395 с.

5. **Пучковская Н. А.** Ожоги глаз / Н. А. Пучковская, С. А. Якименко, В. М. Непомящая. — М., «Медицина», 2001. — 256 с.
6. **Реброва О. Ю.** Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. — М.: Медиа Сфера, 2002. — С. 312.
7. Страйер Л. Биохимия / Л. Страйер. — М.: Мир, 1985. — Т.2. — С. 23
8. **Чаланова Р. И.** Исследование активности окислительно-восстановительных ферментов (лактатдегидрогеназы и глюкоза-6-фосфатдегидрогеназы) в камерной влаге при лечении экспериментального ожога роговицы внутривенными инфузиями цитофлавина / Р. И. Чаланова, С. Г. Коломийчук, М. Мбарки // 36. наук. праць. Проблеми військової охорони здоров'я. — Київ. — 2013. — № 38. — Т.1. — С.404–416.
9. **Чаланова Р. И.** Активность лактатдегидрогеназы и глюкоза-6-фосфатдегидрогеназы в крови при экспериментальном ожоге глаза в процессе применения внутривенных инфузий цитофлавина / Р. И. Чаланова, С. Г. Коломийчук, М. Мбарки // Офтальмол. журн. — 2013. — № 4. — С.81–86.
10. **Чаланова Р. И.** Содержание АТФ и глюкоза-6-фосфата в роговице при моделированном щелочном ожоге и возможность его коррекции цитофлавином / **Чаланова Р. И., Коломийчук С. Г., Байдан Е. И.,** Мбарки М., // Офтальмол. журн. — 2013. — № 5. — С.78–83.
11. **Bergmeyer H. U.** Methoden der enzymatischen Analyse. — Herausgegeben von H. U. Bergmeyer. — Berlin. — 1986. — S.2198–2203.
12. **Brodovsky S. C., McCarty C. A.** Management of alkali burns. An 11 year retrospective review // Ophthalmol. — 2000. — Vol. 107. — P. 1829–1835.
13. **Kuckelkorn R., Schrage N., Keller G.** Emergency treatment of chemical and thermal eye burns // Acta Ophthalmol. Scand. — 2002. — Vol. 80. — P. 4–10.

Поступила 11.11.2013

References

1. **Birich TV.** Eye burns. Minsk:Belarus; 1979. 173 p.
2. **Volkov VV.** On elements of eye burn disease pathogenesis. Symposium in treatment of eye burns. Theses. M.; 1989. 3–4.
3. **Lukyanova LD.** The role of bioenergetic disorders in hypoxia pathogenesis. Patologicheskaiia fiziologiia I eksperimentalnaia terapiia. 2004;2:2–11. Russian.
4. New methods of biochemical analyses. Izd. Leningradskogo univer. 1991. 395 p.
5. **Puchkovskaia NA, Yakimenko SA, Nepomyashchaia VM.** Eye Burns. M.: Meditsina; 2001. 256 p.
6. **Rebrova OYu.** Statistic analysis of medical data. Applying software package STATISTICA. M.:Media Sfera; 2002. 312 p.
7. **Chalanova RI, Kolomiichuk SG, Mbaraki M.** Investigation of the activity of redox enzymes (lactate dehydrogenase and glucose-6-phosphate dehydrogenase) in chamber liquid in treatment of experimental corneal burn with intravenous cytoflavin. Collection of scient. Papers. Problemy voiskovoi okhorony zdorovyia. Kyiv. 2013;1(38):404–16.
8. **Chalanova RI, Kolomiichuk SG, Mbaraki M.** Lactate dehydrogenase and glucose-6-phosphate in the blood in experimental eye burns in the application of intravenous cytoflavin. Oftalmol Zh. 2013;4:81–6. Ukrainian.
9. **Chalanova RI, Kolomiichuk SG, Baidan EI, Mbaraki M.** ATP content, and glucose-6-phosphate in simulated cornea alkali burn, and the possibility of its correcting by cytoflavin. Oftalmol Zh. 2013;5:78–83. Russian.
10. **Bergmeyer HU.** Methoden der enzymatischen Analyse. Berlin. 1986. S.2198–2203.
11. **Brodovsky SC, McCarty CA.** Management of alkali burns. An 11 year retrospective review. Ophthalmol. 2000;107:1829–35.
12. **Kuckelkorn R, Schrage N, Keller G.** Emergency treatment of chemical and thermal eye burns. Acta Ophthalmol. Scand. 2002;80:4–10.

Received 11.11.2013