

**А. Ю. Герасимець<sup>1</sup>, І. І. Герасимець<sup>1</sup>, М. Р. Хара<sup>2</sup>**  
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО<sup>1</sup>  
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ В. ГНАТЮКА<sup>2</sup>

## **БІОХІМІЧНІ ЗМІНИ У ГОМОГЕНАТІ РОГІВКИ КРОЛЯ ЗА УМОВ МЕХАНІЧНОЇ НЕПРОНИКНОЇ ТРАВМИ РОГІВКИ ТА ЇЇ КОРЕКЦІЇ КЕРАТОКСЕНОІМПЛАНТАТОМ**

*Біохімічні дослідження гомогенату рогівки кролів при використанні кератоксеноімплантата показали меншу активацію пероксидного окиснення ліпідів порівняно з консервативним способом лікування. Зниження активності ферментативної ланки антиоксидантного захисту в гомогенаті рогівки проявилось більшою мірою при корекції травми хірургічним способом лікування.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** непроникна травма рогівки, пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантний захист.

**ВСТУП.** За умов нормального функціонування організму постійно підтримується динамічна рівновага між про- та антиоксидантною системами. Порушення цієї рівноваги в бік переважання генерації активних форм кисню та їх метаболітів, виснаження антиоксидантної системи і порушення її збалансованості призводять до окиснювального стресу [7, 9, 11]. Окиснювальне пошкодження тканин відіграє ключову роль у розвитку багатьох захворювань органа зору.

Визначення ролі прооксидантних та антиоксидантних систем у динаміці післятравматичного періоду при непроникному пошкодженні рогівки є важливим завданням сучасної офтальмології.

Метою даної роботи було вивчити зміни інтенсивності ліпопероксидації та антиоксидантного захисту в гомогенаті рогівки кроля за умов непроникного її поранення та при його корекції кератоксеноімплантатом.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Експериментальні дослідження проводили на статевозрілих кролях породи "Шиншила" масою від 2,5 до 3,0 кг із дотриманням норм біоетики. Для оцінки патофізіологічних змін у рогівці після непроникного її поранення тварин було поділено на дев'ять груп: контрольна група – інтактні тварини (6 кролів); 1-ша дослідна група – термін спостереження через 3 доби після

травми (6 кролів); 2-га дослідна група – через 7 днів після травми (6 кролів); 3-тя дослідна група – через 10 днів після травми (6 кролів); 4-та дослідна група – через 14 днів після травми (6 кролів); 5-та дослідна група – через 3 доби після травми та корекції кератоксеноімплантатом (6 кролів); 6-та дослідна група – через 7 днів після травми та корекції кератоксеноімплантатом (6 кролів); 7-ма дослідна група – через 10 днів після травми та корекції кератоксеноімплантатом (6 кролів); 8-ма дослідна група – через 14 днів після травми та корекції кератоксеноімплантатом (6 кролів).

Експериментальну модель пошкодження рогівки відтворювали 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 із переднім шаром строми рогівки (викроювали клапоть товщиною до 0,2 мм). Контролювали відтворення ерозії методом фарбування рогівки 0,5 % розчином флюоресцеїну. Корекцію травми ксенокератоімплантатом здійснювали шляхом пришивання його в 4 місцях (на 12, 15, 18 та 21 год) до склери через кон'юнктиву за допомогою атравматичної голки 8/0 нейлон. Упродовж терміну спостереження проводили інстиляцію розчину антибіотика фторхінолонового ряду "Вігамокс" (1 крапля 3 рази на день).

© А. Ю. Герасимець, І. І. Герасимець, М. Р. Хара, 2013.

За умов тіопентало-натрієвого знеболювання (80 мг/кг маси тіла) тварин виводили з експерименту методом повітряної емболії, після чого виконували енуклеацію ока, висікали рогівку та гомогенізували.

Активність пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) оцінювали за вмістом у гомогенаті рогівки малонового діальдегіду (МДА) [1], стан антиоксидантної системи – за активністю супероксиддисмутази (СОД) [7] і каталази [5].

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

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Зважаючи на дані таблиці, у групах тварин, яких лікували консервативним способом, вміст МДА в гомогенаті рогівки кролів після травми максимально зростав на 7 добу спостереження та поступово знижувався до рівня контрольної групи на 14 добу. При порівнянні дослідних груп між собою встановили, що концентрація МДА в гомогенаті рогівки на 7 та 10 доби була достовірно вищою у тварин, в яких не використовували ксенокератоімплантат (відповідно, на 15,7 і 6,6 %,  $p < 0,05$ ).

Активність СОД у гомогенаті рогівки кролів у дослідних групах максимально знизилась на 3 добу. Протягом 7–14 днів спостерігали поступове її зростання, проте активність залишалась достовірно меншою, ніж у контрольній групі ( $p < 0,05$ ). У групах з корекцією рогівкового поранення кератоксеноімплантатом відзначали нижчий рівень СОД порівняно з групами без корекції у відповідний термін спостереження ( $p < 0,05$ ).

Активність каталази, навпаки, в дослідних групах була істотно більшою, ніж у контролі ( $p < 0,05$ ). В її динаміці відмічали поступове зростання активності до 10–14 днів спостереження. У групах тварин без корекції травми рогівки величина досліджуваного показника в усі терміни спостереження була статистично достовірно меншою ( $p < 0,05$ ).

Отримані результати свідчать про те, що травматична виразка рогівки супроводжується вираженою інтенсифікацією ПОЛ та зниженням активності ферментативної ланки антиоксидантного захисту: СОД і каталази. Така закономірність є характерною особливістю багатьох травматичних уражень інших локалізацій [3, 4]. Це пов'язано із безпосереднім пошкодженням, розвитком запалення та гіпоксії, на тлі якої відзначають активацію ПОЛ [2]. За умов використання ксеноімплантата механізми ПОЛ та антиоксидантного захисту видозмінюються. Виражено зменшується інтенсивність ліпопероксидації, що, очевидно, пов'язано з протизапальною дією застосованого методу корекції, оскільки вміст МДА тісно пов'язаний з інтенсивністю запальної реакції [6]. Більше зниження на цьому тлі активності СОД, імовірно, пов'язане із властивістю ксеноімплантата інтенсивно залучати даний фермент для утилізації супероксиданіон-радикала. Підтвердженням цього є і менша активність каталази гомогенату рогівки в корегованих тварин, оскільки даний фермент більшою мірою залучається для нейтралізації гідрогену пероксиду, який утворюється внаслідок дисмутації СОД супероксиданіон-радикала. У цьому, очевидно, й проявляється біостимульовальна дія ксеноімплантатів рогівки, що

Таблиця – Динаміка вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в гомогенаті рогівки кроля за умов механічної травми рогівки та її корекції кератоксеноімплантатом ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )

Показник	Контроль (n=6)	Механічна травма рогівки			
		3 доба	7 доба	10 доба	14 доба
МДА, ммоль·л <sup>-1</sup>					
Некореговані	7,67±0,08	8,28±0,16*	8,93±0,2*	8,13±0,08*	7,63±0,13
Кореговані		8,15±0,23	7,72±0,08	7,63±0,14	7,78±0,10
p		p>0,05	p<0,05	p<0,05	p>0,05
СОД, %					
Некореговані	44,95±0,51	27,50±0,65*	32,68±0,87*	36,13±0,69*	39,33±0,30*
Кореговані		17,52±0,37*	19,07±0,60*	20,18±0,56*	31,28±1,99*
p		p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05
Каталаза, %					
Некореговані	12,08±0,19	31,97±0,60*	36,85±0,41*	43,42±0,37*	43,9±0,35*
Кореговані		16,65±1,00*	16,48±0,46*	20,70±0,41*	19,57±0,53*
p		p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05

Примітки:

- \* – достовірність відмінностей стосовно контрольної групи ( $< 0,05$ ).
- p – достовірність відмінностей між групами корегованих і некорегованих тварин.

показано в працях багатьох авторів при використанні ксеноімплантатів іншого походження [8, 10].

Отримані результати націлюють на поглиблене вивчення ксеноімплантації рогівки з метою корекції її механічного пошкодження.

**ВИСНОВКИ.** 1. Установлено зміни рівня малонового діальдегіду в гомогенаті рогівки експериментальних тварин за умов непроникного її пошкодження та його корекції кератоксеноімплантатом, які достовірно не відрізняються від показника контрольної групи. При консервативному лікуванні вміст малонового діальдегіду вищий, ніж у контрольній групі, з 3 до 10 доби та досягає рівня контрольної групи на 14 добу.

2. При використанні кератоксеноімплантата в гомогенаті рогівки кроля через 3 доби

посттравматичного періоду знижується активність супероксиддисмутази з наступним поступовим її зростанням до 14 доби, що наближається до рівня контрольної групи. У групах тварин, в яких застосовують тільки консервативну терапію, супероксиддисмутаза вища від показників груп з використанням ксенокератоімплантата у відповідні терміни спостереження, проте не досягає рівня контрольної групи.

3. Каталаза в гомогенаті рогівки експериментальних тварин поступово зростає до 14 доби спостереження у групах із консервативним способом лікування та з використанням ксенокератоімплантата. В групах із консервативною терапією рівень каталази вищий у відповідні терміни спостереження порівняно з групами, де застосовували операційний метод лікування.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. 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.
2. Затковська О. Я. Роль попереднього гострого емоційного стресу в перебігу комбінованої травми в експерименті / О. Я. Затковська, А. А. Гудима // Актуал. пробл. транспортної медицини. – 2011. – № 1 (23). – С. 120–123.
3. Костенко В. С. Возможности плазмафереза в комплексной терапии синдрома эндогенной интоксикации. Новый отечественный аппарат для проточного, фильтрационного плазмафереза АПФ-1 “Гемофер” / В. С. Костенко // Біль, знеболювання і інтенсивна терапія. – 2001. – № 2 (Д). – С. 57–59.
4. О влиянии антиоксидантов на выраженность эндотоксикоза при экспериментальном перитоните / А. П. Власов, Т. В. Тарасова, Г. Ю. Судакова [и др.] // Эксперим. и клин. фармакология. – 2000. – **63**, № 6. – С. 58–61.
5. Практикум по биохимии / под ред. С. Е. Северина, Т. А. Соловьевой. – М. : Изд-во МГУ, 1989. – С. 160–161.
6. Свободнорадикальные процессы в биосистемах : учеб. пособ. / [Т. Н. Попова, А. Н. Пашков, А. В. Семенихина и др.] – 2008. – 192 с.
7. Brooks D. E. Matrix metalloproteinase inhibition in corneal ulceration / D. E. Brooks, F. J. Ollivier // Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract. – 2004. – **34**, № 3. – P. 611–622.
8. Clinical outcomes of xeno-free allogeneic cultivated limbal epithelial transplantation for bilateral limbal stem cell deficiency / S. Basu, M. M. Fernandez, S. Das [et al.] // Br J Ophthalmol. – 2012. – **12**. – P. 1504–1509.
9. Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases / N. Ballatori, S. M. Krance, S. Notenboom [et al.] // Biol. Chem. – 2009. – **390**, № 3. – P. 191–214.
10. Hara H. Xenotransplantation—the future of corneal transplantation? / H. Hara, D. K. Cooper // Cornea. – 2011. – **30**, № 4. – P. 371–378.
11. Nagano T. Differential regulation of collagen degradation by rabbit keratocytes and polymorphonuclear leukocytes / T. Nagano, M. Nakamura, T. Nishida // Curr. Eye Res. – 2002. – **24**, № 3. – P. 240–243.

**А. Ю. Герасимец<sup>1</sup>, И. И. Герасимец<sup>1</sup>, М. Р. Хара<sup>2</sup>**  
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО<sup>1</sup>  
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ В. ГНАТЮКА<sup>2</sup>

## **БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ГОМОГЕНАТЕ РОГОВИЦЫ КРОЛЯ В УСЛОВИЯХ МЕХАНИЧЕСКОЙ НЕПРОНИКАЮЩЕЙ ТРАВМЫ РОГОВИЦЫ И ЕЕ КОРРЕКЦИИ КЕРАТОКСЕНОИМПЛАНТАТОМ**

### **Резюме**

*Биохимические исследования гомогената роговицы кролей при использовании кератоксеноимплантата показали меньшую активацию пероксидного окисления липидов в сравнении с консервативным способом лечения. Снижение активности ферментативного звена антиоксидантной защиты в гомогенате роговицы проявилось в большей мере при коррекции травмы хирургическим способом лечения.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** непроникающая травма роговицы, пероксидное окисление липидов, антиоксидантная защита.

**A. Yu. Herasymets<sup>1</sup>, I. I. Herasymets<sup>1</sup>, M. R. Khara<sup>2</sup>**  
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY<sup>1</sup>  
V. HNATIUK TERNOPIL NATIONAL PEDAGOGICAL UNIVERSITY<sup>2</sup>

## **BIOCHEMICAL CHANGING IN THE RABBIT CORNEAL HOMOGENATE UNDER THE MECHANICAL IMPERMEABLE INJURY AND ITS CORRECTION BY KERATOXENOIMPLANT**

### **Summary**

*Biochemical research of the rabbit corneal homogenate after using keratoxenoimplant registered the lower activation of the lipid peroxidation compared with the conservative treatment. Decrease activity of the enzymatic link of antioxidant protection in the corneal homogenate manifested to a grater extent after the usage of surgical treatment method.*

**KEY WORDS:** impermeable corneal injury, lipid peroxidation, antioxidant protection.

Отримано 18.10.13

**Адреса для листування:** А. Ю. Герасимець, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.