

**ВЛИЯНИЕ НЕЙРОТРОПНЫХ ПРЕПАРАТОВ  
НА УРОВЕНЬ ПРОДУКТОВ ПЕРЕКИСНОГО  
ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В СЕТЧАТКЕ И  
ЗРИТЕЛЬНОМ НЕРВЕ ПРИ  
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГЛАУКОМЕ**

**В. Н. Сердюк, Н. А. Малая**

*Областная клиническая офтальмологическая больница  
(Днепропетровск)*

**Введение**

Несмотря на значительные усилия, направленные в течение последних десятилетий на изучение патогенеза глаукомы и разработку новых средств ее консервативного лечения и профилактики, распространение этого заболевания продолжает возрастать. В этой связи актуальным остается поиск новых и усовершенствование существующих способов медикаментозной профилактики и лечения глаукомы [1,2,9,18]. В патогенезе данного заболевания важную роль играют изменения иммунных факторов, эластотонических свойств склеры, возраст, расовая принадлежность, сосудистая дисрегуляция, артериосклероз и т.д [3,8,11]. В настоящее время появились новые доказательства роли свободно-радикальных процессов и, в частности, перекисного окисления липидов в при развитии глаукомы. Однако эти данные касаются только механизмов нарушения путей оттока камерной влаги и в частности повреждения структуры и функции трабекулярного аппарата [13,16].

Участие процессов свободно-радикального окисления (СРО) в патогенезе глаукомы рассматривается в двух направлениях.

Во-первых, это те патологические изменения с участием активных форм кислорода и их метаболитов, которые приводят к деструктивным процессам в дренажном аппарате глаза. Существует предположение о том, что активный отток водянистой влаги может снижаться из-за повышенного содержания во влаге "аномальных метаболитов" и их токсического воздействия. Таки-

ми метаболитами, в частности, могут быть продукты перекисного окисления липидов [6,7,12,17,19]. Во-вторых, это - цитотоксическое действие свободных радикалов на сетчатку и зрительный нерв. В ходе проведения экспериментальных и клинических исследований выявлено, что все биологические, эндокринные и многие другие процессы в организме прямо или косвенно связаны со структурой и функцией биологических мембран [10,15,20].

В этой связи актуальным является поиск новых препаратов, направленных на предотвращение развития осложненных форм и рецидивов заболевания. Особый интерес в этом аспекте представляют мема и нейродар. Мема (действующее вещество - мемантин) является нейротропным препаратом, применяется при неврологических заболеваниях, обладает противопаркинсоническим и психостимулирующим действием, является производным адамантана. Блокирует NMDA-рецепторы, уменьшает поступление ионизированного кальция в нейроны. Улучшает ослабленную память, повышает способность к концентрации внимания, уменьшает утомляемость и симптомы депрессии, уменьшает спастичность скелетных мышц, вызванную заболеваниями или повреждениями мозга [14]. Нейродар - ноотропный препарат, действующим веществом которого является цитиколин. Цитиколин обладает широким спектром действия: способствует восстановлению поврежденных свободных радикалов, ингибирует действие фосфолипазы, препятствуя образованию свободных радикалов, также предотвращает гибель клеток, действуя на механизм апоптоза. Нейродар является источником холина, увеличивает синтез ацетилхолина, и стимулирует биосинтез структурных фосфолипидов в мембране нейронов.

**Цель** нашей работы заключалась в исследовании влияния нейротропных препаратов на уровень продуктов перекисного окисления липидов в сетчатке и зрительном нерве при развитии глаукоматозного процесса.

**Материалы и методы исследования**

Экспериментальные исследования проводились на 55 кроликах (массой 2,5 - 3,2 кг). Экспериментальные животные были разделены на 3 группы: 1 группа - интактные (контрольные) животные, 2 группа - опытная (с экспериментальной глаукомой), 3 группа - опытная (с экспериментальной глаукомой и

применением препаратов). Наблюдения проводились в три срока: 1-й - 3 недели, 2-й - 5 - 6 недель, 3-й - 10 недель.

Препараты применялись из расчета: мема - 5 мг/кг веса в день, нейродар - 100 мг/кг веса в день ежедневно на протяжении всего срока эксперимента. При проведении эксперимента соблюдались все рекомендации относительно исследований на животных, принятые международным сообществом при изучении зрения и офтальмологических изысканий. Все животные исследовались посредством биомикроскопии на щелевой лампе, как при отборе экспериментальных животных (исключая аномалии), так и для наблюдений в процессе эксперимента. Все животные перед экспериментом и в ходе эксперимента подвергались изменению внутриглазного давления с помощью тонометра Маклакова. Животные подвергались общей анестезии путем введения кетамина 50 мг/кг, местно применяли глазные капли 0,5 % раствор прокаина гидрохлорида, инстиллируемые в конъюнктивальный мешок за 1 минуту до инъекции. В переднюю камеру глаза все животные получали инъекции раствора гиалуроната, перед этим иглой в районе лимба отбиралось 0,15 мл камерной влаги, которая использовалась для биохимических исследований (результаты будут опубликованы позднее). Инъекции производили в правый глаз, а в левый глаз, служивший относительным контролем, вводили эквивалентное количество растворителя (сбалансированный солевой раствор), на котором готовился раствор гиалуроната. Немедленно после инъекции кролики проверялись путем биомикроскопии для оценки травмы, возможно вызываемой в процессе инъекции. Тонометрия производилась через каждые несколько часов. В конце эксперимента все кролики были забиты с помощью летальной дозы пентобарбитола натрия (100 мг на кг, вводимого в маргинальную ушную вену).

В тканях изолированной сетчатки и зрительного нерва производили определение концентрации малонового диальдегида, диеновых конъюгатов [7]. Принцип метода определения содержания малонового диальдегида состоит в том, что при температуре 100°C в кислой среде малоновый диальдегид реагирует с 2-тиобарбитуровой кислотой, образуя окрашенный триметиновый комплекс с максимумом поглощения при длине волны

532 нм. К исследуемой жидкости объемом 0,1 мл приливали 3 мл 1 % ортофосфорной кислоты (рН 2,0), 1 мл 0,6 % раствора тиобарбитуровой кислоты и 0,1 мл 0,28 % раствора сернокислого железа. Пробирки помещали в кипящую водяную баню на 60 мин. Затем пробирки охлаждали в холодной воде при 0°C - 2°C и добавляли 4 мл бутанола, тщательно перемешивали и центрифугировали 10 мин при 3 тыс. об/мин. Измеряли оптическую плотность верхней фазы на спектроколориметре "Spectol - 210" при длине волны 535 нм против бутанола.

Расчет содержания продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, проводили с учетом коэффициента молярной экстинкции малонового диальдегида -  $1,56 \cdot 10^5$  моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup> и выражали в мкмоль/мл исследуемой жидкости или мкмоль/г ткани. Коэффициент вариации - 5,2 %. Принцип метода определения диеновых конъюгатов состоит в том, что при перекисном окислении на стадии образования свободных радикалов в молекулах полиненасыщенных высших жирных кислот возникает система сопряженных двойных связей, что сопровождается появлением нового максимума в спектре поглощения 233 нм. К 0,5 мл исследуемой жидкости добавляли 4,5 мл экстрагирующей смеси гептана с изопропиловым спиртом в соотношении 1:1 (V:V). После экстракции к смеси добавляли 0,5 мл дистиллированной воды и отбирали из верхней (гептановой) фазы расслоившейся пробы 0,5 мл и смешивали с 2,5 мл этилового спирта. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре СФ-26 при 233 нм против этилового спирта. Содержание диеновых конъюгатов рассчитывали с учетом молярного коэффициента экстинкции  $2,2 \cdot 10^5$  М<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup> и выражали в мкмоль/мл исследуемой жидкости или мкмоль/г ткани.

Полученные при экспериментальных исследованиях количественные данные были подвергнуты статистическому анализу [4].

#### Полученные результаты и их обсуждение

Данные о влиянии нейротропных препаратов на содержание малонового диальдегида и диеновых конъюгатов в сетчатке и зрительном нерве при развитии экспериментальной глаукомы представлены в таблице 1.

Как видно из представленных данных концентрация малонового диальдегида в I срок развития глаукомы возрастала до

1186,25±39,46 мкмоль/г, что составило - 130,2% по сравнению с нормой (911,11±20,51) мкмоль/г. По мере развития экспериментальной глаукомы содержание продуктов перекисного окисления еще больше повышалось: во 2 срок - до 1504,29±58,91 мкмоль/г (165,1%), в 3 срок - 1920,0±59,22 мкмоль/г (210,7%). При применении нейротропных препаратов при развитии экспериментальной глаукомы, концентрация малонового диальдегида в 1 срок составила - 1002,20±40,50 мкмоль/г (110,0%), во 2 срок - 1140,71±62,44 мкмоль/г (125,2%), в 3 срок - 1423,15±64,30 мкмоль/г (156,2%), по сравнению с нормой. Сравнивая показатели содержания малонового диальдегида этой группы с группой без применения препаратов, необходимо указать, что их величины начиная со второго срока были значительно ниже и составили - 75,8% (во 2 срок) и 74,1% - в 3 срок. Изучая концентрацию диеновых конъюгатов можно отметить, что во все сроки развития экспериментальной глаукомы она повышалась, так в 1 срок она повысилась до 215,71±8,96 мкмоль/г, что составило - 119,8%, во 2 срок - до 242,86±9,18 мкмоль/г (134,9%), в 3 срок - до 278,75±13,02 мкмоль/г (154,9%), по сравнению с нормой (180,00±5,56) мкмоль/г. В условиях применения нейротропных препаратов концентрация диеновых конъюгатов в 1 срок эксперимента составила - 189,0±9,04 мкмоль/г (105,0%), во 2 срок - 207,36±10,20 мкмоль/г (115,2%), в 3 срок - 216,54±12,4 мкмоль/г (120,3%), по сравнению с нормой. При сравнении данных в группах с применением нейротропных препаратов и без таковых, можно отметить, что в 1 срок развития глаукоматозного процесса содержание диеновых конъюгатов было значительно ниже и составило - 87,6%, во 2 срок - 85,4%, в 3 срок - 77,7%. Общий анализ полученных нами результатов свидетельствует, что изучаемые препараты предотвращают резкое повышение продуктов перекисного окисления липидов в сетчатке и зрительном нерве при развитии экспериментальной глаукомы.

Оценивая полученные данные с учетом патогенетической роли продуктов перекисного окисления липидов в патогенезе заболевания, есть основания полагать, что применение нейропротекторов влияет на уровень малонового диальдегида и диеновых конъюгатов в тканях глаза при экспериментальной глаукоме, а это является

ся существенным патогенетическим звеном в механизме их защитного действия на нейроны сетчатки и зрительного нерва.

Таблица 1

**Влияние нейротропных препаратов на содержание малонового диальдегида и диеновых конъюгатов в сетчатке и зрительном нерве при развитии экспериментальной глаукомы**

Исследуемый показатель	Статистич. показатель	Норма	Условия эксперимента		
			1 срок	2 срок	3 срок
Малоновый диальдегид (мкмоль/г ткани)	Без препарата				
	n	9	8	7	8
	M	911,11	1186,25	1504,29	1920,00
	m	20,51	39,46	58,91	59,22
	p	-	<0,0001	<0,000001	<0,000001
	%	100	130,2	165,1	210,7
	p1	-	-	-	-
	%1	-	100	100	100
	Нейротропные препараты				
	n	9	8	7	8
	M	911,11	1002,20	1140,71	1423,15
	m	20,51	40,50	62,44	64,30
	p	-	>0,05	<0,01	<0,00001
	%	100	110,0	125,2	156,2
p1	-	<0,01	<0,01	<0,001	
%1	-	84,5	75,8	74,1	
Диеновые конъюгаты (мкмоль/г ткани)	Без препарата				
	n	9	8	7	8
	M	180,00	215,71	242,86	278,75
	m	5,65	8,96	9,18	13,02
	p	-	<0,01	<0,0001	<0,00001
	%	100	119,8	134,9	154,9
	p1	-	-	-	-
	%1	-	100	100	100
	Нейротропные препараты				
	n	9	8	7	8
	M	180,00	189,00	207,36	216,54
	m	5,65	9,04	10,20	12,40
	p	-	>0,05	<0,05	<0,05
	%	100	105,0	115,2	120,3
p1	-	>0,05	<0,05	<0,01	
%1	-	87,6	85,4	77,7	

**Примечание:** p - уровень значимости различий данных по отношению к норме, рассчитанный с помощью t - теста для независимых выборок; p1 - уровень значимости различий данных по отношению к группе "без препарата", рассчитанный с помощью t - теста для независимых выборок.

### Выводы

1. Применение препаратов с нейропротекторным действием в условиях моделирования глаукоматозного процесса в зна-

чительной мере предотвращает резкое повышение продуктов перекисного окисления липидов в сетчатке и зрительном нерве. Концентрация конечного метаболита перекисного окисления липидов - малонового диальдегида при этом снижается на 26% в 10 недельный срок наблюдения.

2. Выраженное нормализующее влияние изучаемых нейропротекторов на уровень малонового диальдегида и диеновых конъюгатов в тканях глаза при экспериментальной глаукоме несомненно является существенным патогенетическим звеном в механизме их защитного действия на нейроны сетчатки и зрительного нерва.

### Литература

1. Волков В. В. Трехкомпонентная классификация открыто-угольной глаукомы на основе представлений о ее патогенезе / В. В. Волков // Глаукома. - 2004. - № 1. - С. 57-67.
2. Егоров Е. А. Офтальмофармакология : рук-во для врачей / Е. А. Егоров, Ю. С. Астахов, Т. В. Ставицкая. - М.: Гэотар-мед, 2004. - 464 с.
3. Луценко Н. С. Гормонально-метаболические нарушения при первичной открыто-угольной глаукоме и патогенетическое обоснование их коррекции в комплексном лечении: автореф. дис. канд. мед. наук : спец. "Офтальмология" 14.01.18 / Н. С. Луценко. - Запорожье, 2007. - 18 с.
4. Наследов А. SPSS компьютерный анализ данных в психологии и социальных науках / А. Наследов. - Спб.: Питер, 2005. - 416 с.
5. Glutathione transferases catalyse the detoxication of oxidized metabolites of catecholamines and may serve as an antioxidant system preventing degenerative cellular processes / S. Baez, J. Seguilari, M. Widersten, A.-S. Johansson // Biochem. J. - 1997. - Vol. 324. - P. 25-28.
6. Bergamini C. M. Oxygen, reactive oxygen species and tissue damage / C. M. Bergamini, S. Gambetti, A. Dondi // Cur. Pharm. Design. - 2004. - Vol. 10 (14). - P. 1611 - 1626.
7. Bergmeyer H. U. Methoden der enzymatischen Analyse / H. U. Bergmeyer. - Berlin, 1986. - S. 2254 - 2265.
8. Boland M. V. Risk factors and open-angle glaucoma: classifications and application / M. V. Boland, H. A. Quigley // J. Glaucoma. - 2007. - V. 16, № 4. - P. 406-418.

9. Chidlow G. Pharmacological neuroprotection for glaucoma / G. Chidlow, J. P. M. Wood, R. J. Casson // Drugs. - 2007. - V. 67, № 5. - P. 725-759.

10. Heijl A. Reduction of intraocular pressure and glaucoma progression / A. Heijl, C. Leske // Arch. Ophthalmol. - 2002. - V. 120. - P. 1268-1279.

11. Honkanen R. A. Vitreous amino acid concentrations in patients with glaucoma undergoing vitrectomy / R. A. Honkanen, S. Baruah, M. B. Zimmerman // Arch. Ophthalmol. - V. 121. - P. 183-188.

12. Izzotti A. Oxidative deoxyribonucleic acid damage in the eyes of glaucoma patients / A. Izzotti, S. C. Sacca, C. Cartiglia // Am. J. Med. - 2003. - V. 114. - P. 638-646.

13. Kumar D. M. Oxidative stress in glaucoma: a burden of evidence / D. M. Kumar, N. Agarwal // J. Glaucoma. - 2007. - V. 16. - P. 334-343.

14. Kusari J. Effect of memantine on neuroretinal function and retinal vascular changes of streptozotocin-induced diabetic rats / J. Kusari, S. Zhou, E. Padillo // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. - 2007. - Vol. 48. - P. 5152-5159.

15. Lagreze W. A. Neuroprotection in ischemia of the retina an animal model / W. A. Lagreze, T. Otto, T. J. Feuerstein // Ophthalmology. - 1999. - Vol. 96, № 6. - P. 370-374.

16. Moreno M. C. A new experimental model of glaucoma in rats through intracameral injection of hyaluronic acid / M. C. Moreno, H. A. Marcos // Exp. Eye Res. - 2005. - V. 17. - P. 27-31.

17. Moreno M. C. Retinal oxidative stress induced by high intraocular pressure / M. C. Moreno, J. L. Campanelli, P. Sande // Free Radic. Biol. Med. - 2004. - V. 37. - P. 803-812.

18. Neufeld A. H. Pharmacologic neuroprotection with an inhibitor of nitric oxide synthase for the treatment of glaucoma / A. H. Neufeld // Brain Res. Bull. - 2004. - V. 62. - P. 455-459.

19. Tezel G. Proteomic identification of oxidatively modified retinal proteins in a chronic pressure-induced rat model of glaucoma / G. Tezel, X. Yang, J. Cai // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. - 2005. - V. 46. - P. 3177-3187.

20. Weber A. J. Effects of optic nerve injury, glaucoma, and neuroprotection on the survival, structure, and function of ganglion cells in the mammalian retina / A. J. Weber, C. D. Harman, S. Viswanathan // J. Physiol. - 2008. - V. 18. - P. 4393-4400.

**Резюме**

**Сердюк В. Н., Малая Н. А.** *Влияние нейротропных препаратов на уровень продуктов перекисного окисления липидов в сетчатке и зрительном нерве при экспериментальной глаукоме.*

Работа выполнена на кроликах с моделированной глаукомой. Определялись уровень малонового диальдегида и диеновых конъюгатов в тканях сетчатки и зрительного нерва в динамике развития глаукомного процесса. Полученные результаты свидетельствуют об увеличении их содержания по сравнению с нормой во все сроки контроля, а также о предотвращении резкого подъема концентрации этих метаболитов при применении нейропротекторных препаратов.

**Ключевые слова:** глаукома, малоновый диальдегид, диеновые конъюгаты, мемантин, цитиколин.

**Резюме**

**Сердюк В. М., Малая Н. О.** *Вплив нейротропних препаратів на рівень продуктів перекисного окислення ліпідів у сітківці та зоровому нерві під час експериментальної глаукоми.*

Робота була виконана на кролях з модельованою глаукомою. Визначали рівень малонового діальдегіда та дієнових кон'югатів в тканинах сітківки і зорового нерву в динаміці розвитку глаукомного процесу. Отримані результати свідчать про збільшення їх кількості у порівнянні з нормою у всі строки спостереження, а також про попередження різкого підйому концентрацій цих метаболітів при застосуванні нейропротекторних препаратів.

**Ключові слова:** глаукома, малоновий діальдегід, дієнові кон'югати, мемантин, цитіколін

**Summary**

**Serduk V., Mala N.** *The influence of neurotropic drugs on the level of lipid peroxidation in retina and optic nerve during experimental glaucoma.*

Adult rabbits with experimental glaucoma were used in this study. We studied malondialdehyde and diene conjugates concentration in the eye tissue during glaucoma process. Results suggest increase of both metabolite levels, compared to normal ranges. This influence was significantly prevented using neuroprotective drugs.

**Key words:** glaucoma, malondialdehyde, diene conjugates, memantine, citicoline.

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

# АКТУАЛЬНІ ПРОБЛЕМИ ФАРМАЦІЇ ТА ФАРМАКОТЕРАПІЇ