

opti-plast

hypoalergiczny plaster
okulistyczny

Profilowane plastry z opatrunkiem
przeznaczone do korekcji wad
wzroku (niedowidzenie, zez)
oraz opatrywania ran i urazów
okolic oczu.

Produkowane są w dwóch
wymiarach

- 82 x 57 mm
- 62 x 50 mm



viscoplast
Producent: Viscoplast S.A.
51-416 Wrocław
ul. Kwizdyńska 6
tel. (071) 3248589
fax (071) 3253118



Prace oryginalne

Klinika Oczna 1998, 100 (2): 73-75
ISSN 0023-2157 Indeks 362 646

Zmiany w układzie antyoksydacyjnym cieczy wodnistej, soczewce i krwinkach czerwonych krwi obwodowej po podaniu sześćciofluorku siarki do ciała szklistego królików

Changes in the antioxidant system of aqueous humor, lens and blood red cells after SF₆ application into vitreous of rabbits

Tomasz Sztarbała, Roman Goś, Józef Kędziora¹, Jan Błaszczyk¹, Elżbieta Sibińska¹,
Monika Góralczyk

Aim: To determine the activity of superoxide dismutase, catalase and the concentration of malondialdehyde (MDA) in aqueous humor, lens and red blood cells after application of sulfur hexafluoride (SF₆) into vitreous of rabbits.

Material and methods: 0.5 ml of 100% SF₆ was injected into the vitreous of 24 rabbits of New Zealand race. The animals were randomly divided into 3 groups (of 8 rabbits each) depending on the observation day: group 1 – 2nd day of experiment, group 2 – 7th day and group 3 – 14th observation day. The control group (gr. 0) consisted of 6 rabbits that did not undergo any operations. Activity of superoxide dismutase, catalase and MDA concentration were determined in aqueous humor, lens and systemic blood erythrocytes.

Results: On the 7th day of observation an increased activity of dismutase and catalase as well as simultaneous increased MDA concentration were observed. In the lens on the 7th day the increased activity of dismutase was significant in relation to the results in the next time interval, whereas MDA concentration was significantly lower in all time intervals of the experiment in comparison with control group. In erythrocytes an increased activity of catalase was noticed on the 2nd and 14th day.

Conclusions: Increased occurrence of active oxygen species in aqueous humor leads to insufficiency of the antioxidant system and intensification of peroxidation processes, which is reflected by increased MDA concentration. However, in the lens of this experimental model a slight stimulation of antioxidant system by a small number of free radicals is observed, which provokes a reaction of sweeping them away. Efficiency of lens antioxidant system is secured by weakenings of peroxidation processes, which is expressed in minimal drop of MDA concentration.

Słowa kluczowe: ciecz wodnista, ciało szkliste, soczewka, krwinki czerwone, sześćciofluorek siarki, reaktywne formy tlenu

Key words: aqueous humor, vitreous, lens, red blood cells, sulfur hexafluoride, reactive oxygen species

W poprzednich badaniach doświadczalnych stwierdzono, że podanie sześćciofluorku siarki do ciała szklistego królików powoduje wiele zmian fizycznych i che-

micznych w jego obrębie, w tym istotne zaburzenia w układzie antyoksydacyjnym.

Celem obecnej pracy była ocena zachowania się niektórych enzymów układu antyoksydacyjnego w innych strukturach oka, a także w krwi obwodowej królika po doszkliskowym podaniu gazu.

Materiał i metodyka

Badaniami doświadczalnymi objęto 30 (60 oczu) młodych królików rasy nowozelandzkiej o wadze 3-3,5 kg. Zwierzęta losowo podzielono na cztery grupy: 24 królikom (48 oczu) podawano do ciała szkliste-

Z Kliniki Okulistycznej Szpitala Klinicznego WAM w Łodzi
Kierownik: prof. dr hab. Roman Goś

Z Zakładu Fizjologii WAM w Łodzi
Kierownik: prof. dr hab. Józef Kędziora

Adres do korespondencji (Reprint requests to):
Dr Tomasz Sztarbała
Klinika Okulistyczna Szpitala Klinicznego WAM
ul. Zeromskiego 113
90-549 Łódź

go 0,5 ml 100% sześciofluorku siarki. Grupa kontrolna (Gr. 0) obejmowała 6 królików (12 oczu), u których nie wykonywano żadnych zabiegów.

Przed zabiciem zwierząt pobierano z żyły brzożnej ucha pełną krew w ilości 2,0 ml do heparynizowanych strzykawek. Wyizolowaną masę erytrocytarną hemolizowano. W hemolizacie wykonywano oznaczenia aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (CuZn SOD) metodą Misry i Fridovicha (3), katalazy metodą Beersa i wsp. (1) i stężenia dialdehydu malonowego (MDA) metodą Placera i wsp. (4). Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej i katalazy wyrażano w U/g Hb, a stężenie dialdehydu malonowego wyrażano w uM/g Hb. Z usuniętych gałek ocznych do dalszych badań pobierano ciecz wodnistą i soczewkę.

Oznaczano aktywność dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy i stężenie dialdehydu malonowego (MDA) w cieczy wodnistej i homogenacie soczewki, a ich wartości podawano na jednostkę białka.

Statystycznego opracowania wyników dokonano za pomocą komputerowego programu SPSS.

Wyniki

Aktywność katalazy w cieczy wodnistej zwiększyła się w 7. dobie doświadczenia do 39,24±15,25 U/mg białka i było to statystycznie znaczne zarówno w odniesieniu do wyników grupy kontrolnej, jak i grupy 1 (2. doba), a także grupy 3 (14. doba). W soczewce nie stwierdzono istotnych zmian aktywności katalazy we wszystkich grupach doświadczenia (tab. I).

Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej w cieczy wodnistej gwałtownie zwiększyła się w 7. dobie doświadczenia (Gr. 2) i była to wartość znamienna statystycznie w porównaniu z aktywnością oznaczoną w 2. dobie od podania sześciofluorku siarki. W 14. dobie (Gr. 3) aktywność dysmutazy ponadtlenkowej była nadal podwyższona i wynosiła 1045±856 U/mg białka. W soczewce stwierdzono wzrost aktywności dysmutazy (SOD) w 2. i 7. dobie od podania gazu odpowiednio do wartości 57,12±12,04 i 64,33±23,61

Tabela I: Aktywność katalazy [U/mg białka] w cieczy wodnistej i soczewce królików
Table I: Activity of catalase [U/mg of protein] in aqueous humor lens of rabbits

Grupa Group	Ciecz wodnista Aqueous humor	Soczewka Lens
0 Kontrola Control	20,19±9,74	1,46±0,39
1 Druga doba 2nd day	16,12±10,40	1,98±0,38
2 Siódma doba 7th day	39,24±15,25*	1,90±0,52
3 Czternasta doba 14th day	21,00±13,38	2,01±0,72

* p<0,05 w porównaniu do pozostałych grup
p<0,05 compared to other groups

Tabela II: Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej [U/mg białka] w cieczy wodnistej i soczewce królików
Table II: Activity of superoxide dismutase [U/mg of protein] in aqueous humor and lens of rabbits

Grupa Group	Ciecz wodnista Aqueous humor	Soczewka Lens
0 Kontrola Control	678±281	47,80±9,76
1 Druga doba 2nd day	586±318	57,12±12,04
2 Siódma doba 7th day	1671±567*	64,33±23,61 3
3 Czternasta doba 14th day	1045±856	41,91±8,64

* p<0,05 w porównaniu do pozostałych grup
p<0,05 compared to other groups

Tabela III: Stężenie dialdehydu malonowego (MDA) [umol/mg białka] w cieczy wodnistej i soczewce królików
Table III: Concentration of MDA [umol/mg of protein] in aqueous humor and lens of rabbits

Grupa Groups	Ciecz wodnista Aqueous humor	Soczewka Lens
0 Kontrola Control	0,90±0,37	1,78±0,36*
1 Druga doba 2nd day	0,96±0,57	0,49±0,08
2 Siódma doba 7th day	1,71±0,89*	0,58±0,16
3 Czternasta doba 14th day	0,93±0,51	0,74±0,171

* p<0,05 w porównaniu do pozostałych grup
p<0,05 compared to other groups

Tabela IV: Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej, katalazy i stężenia MDA w krwinkach czerwonych krwi obwodowej królików
Table IV: Activity of superoxide dismutase, catalase and MDA concentration in red blood cells of rabbits

	Dysmutaza U/mg białka Dysmutase U/mg of protein	Katalaza U/mg białka Catalase U/mg of protein	MDA umol/mg białka μmol/mg of protein
0 Kontrola Control	2789±894	1,78±0,40 ^{1,3}	21,55±9,20
1 Druga doba 2nd day	3106±774	5,74±0,85	28,13±8,34
2 Siódma doba 7th day	3692±1908	3,24±0,85	22,87±9,81
3 Czternasta doba / 14th day	2933±933	4,89±1,341	29,18±4,66

U/mg białka, po czym w 14. dobie aktywność obniżyła się do 41,91±8,64 U/mg białka (tab. II).

W cieczy wodnistej stężenie MDA w 7. dobie obserwacji osiągnęło wartość 1,71±0,89 umol/mg białka i wzrost ten był statystycznie znamienny w porównaniu z pozostałymi grupami.

W soczewce natomiast stwierdzono statystycznie istotne obniżenie stężenia MDA we wszystkich grupach. Zaobserwowano tendencję do wzrostu stężenia MDA w kolejnych przedziałach czasowych doświadczenia. MDA w 14. dobie osiągnęło wartość 0,74±0,17 umol/mg białka i było znacznie wyższe niż w grupie 1 (2. doba) (tab. III).

W krwinkach czerwonych krwi obwodowej aktywność dysmutazy ponadtlenkowej oraz stężenie MDA nie wykazało statystycznie istotnych różnic pomiędzy poszczególnymi grupami, natomiast w 2. i 14. dobie doświadczenia aktywność katalazy była statystycznie wyższa niż w grupie kontrolnej (tab. IV). Stężenie dialdehydu malonowego (MDA) wzrosło w 2. dobie i po obniżeniu wartości w 7. dobie ponownie wzrosło w grupie 3 (14. doba).

Omówienie

Wstrzyknięcie sześciofluorku siarki do ciała szklistego powoduje wiele zmian w jego budowie chemicznej i właściwościach fizycznych. Wydaje się, że zmiany te są spowodowane oddziaływaniem aktywnych form tlenu i niewydolnością enzymatycznego układu antyoksydacyjnego ciała szklistego. Sześciofluorek siarki wstrzyknięty do ciała szklistego przyjmuje azot z krwi sąsiednich tkanek, co jest powodem rozprężania, a to z kolei prowadzi do wzrostu ciśnienia wewnątrzgałkowego (2). W kolejnych dniach SF₆ ulega resorpcji i całkowite wchłonięcie banki gazu obserwowaliśmy w 7. dobie doświadczenia. Procesy te doprowadzają do uszkodzenia barier oka i mogą wpływać w ten sposób na inne struktury gałki ocznej. Wyniki tej pracy potwierdzają nasze przypuszczenia.

W cieczy wodnistej jedynie w 7. dobie doświadczenia obserwowano znamienny statystycznie wzrost aktywności katalazy i dysmutazy ponadtlenkowej. W tym czasie nastąpiła normalizacja ciśnienia wewnątrzgałkowego, co wiąże się z przywróceniem prawidłowego krążenia m.in. w ciele rzęskowym. Należy zatem przypuszczać, że powstałe w wyniku reperfuzy aktywny formy tlenu pobudzały aktywność układu antyoksydacyjnego (5). Istotny statystycznie wzrost stężenia MDA w tym samym przedziale wskazuje, że nasiliły się procesy peroksydacji – a więc enzymatyczny układ antyoksydacyjny okazał się niewydolny.

W soczewce jedynie w 7. dobie obserwowano znamiennie wyższą aktywność w stosunku do wartości w kolejnych przedziałach czasowych. Aktywność katalazy natomiast we wszystkich grupach nie różniła się między sobą. Tę mniejszą zmienność aktywności układu antyoksydacyjnego w soczewce należy wiązać z faktem, że torebka soczewki stanowi osobną barierę oddzielającą ją od sąsiednich struktur. Niezwykle interesujący jest natomiast fakt, że stężenie MDA w soczewce w grupie kontrolnej było znacznie wyższe niż w pozostałych grupach. Zjawisko to można wytłumaczyć tym, że niewielka ilość aktywnych form tlenu powstałych w soczewce wzbudziła aktywność układu antyoksydacyjnego, co przy jego pełnej wydolności spowodowało znaczne obniżenie procesów peroksydacji, czego wyrazem jest spadek MDA.

Aktywność katalazy w erytrocytach krwi obwodowej istotnie zwiększyła się w 2. i 14. dobie obserwacji (w porównaniu z grupą kontrolną). Ta dwufazowość wzrostu aktywności może być odbiciem procesu wiązania azotu z krwi przez sześciofluorek siarki w początkowej fazie doświadczenia, a następnie jego wchłaniania w ostatnim przedziale czasowym.

Podsumowując, należy stwierdzić, że wstrzyknięcie sześciofluorku siarki do ciała szklistego powoduje wzrost produkcji aktywnych form tlenu w cieczy wodnistej, soczewce, a nawet w erytrocytach krwi obwodowej królików. Zmiany w układzie antyoksydacyjnym tych struktur oka składają się na całość zjawisk zachodzących po tamponadzie sześciofluorkiem siarki.

Piśmiennictwo

1. Beers R., Sizer J.W.: *Spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase*. J. Biol. Chem., 1952, 195, 133-140.
2. McPherson A.: *New and controversial aspects of vitreoretinal surgery*. C.V. Mosby, Saint Louis, 1977.
3. Misra H.P., Fridovich I.: *The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and simple assay for superoxide dismutase*. J. Biol. Chem., 1972, 247, 3170-3175.
4. Placer Z., Cushiman Z., Janson B.: *Estimation of products of lipid peroxidation, malonyl dialdehyde, in biochemical systems*. Anal. Biochem., 1966, 16, 359-364.
5. Szabo M.E., Droy-Lefaux M.T., Doly M., Carre C., Baraquet P.: *Ischaemia and reperfusion-induced Na⁺, K⁺, Ca²⁺ and Mg²⁺ shifts in the rat retina. Effects of two free radical scavengers, SOD and EGB 761*. Exp. Eye Res., 1992, 55, 39-45.

Praca wpłynęła do Redakcji 8 stycznia 1998 r. (633)