Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

ДЕРЖАВНА УСТАНОВА

"ІНСТИТУТ ОЧНИХ ХВОРОБ І ТКАНИННОЇ ТЕРАПІЇ

ім. В.П. ФІЛАТОВА АМН УКРАЇНИ"

**КОНСТАНТИНОВА ВІТА КОНСТЯНТИНІВНА**

УДК 617.741-004.1-089-084

**ПРОФІЛАКТИКА РОЗВИТКУ ПІСЛЯОПЕРАЦІЙНОЇ КЕРАТОПАТІЇ**

**14.01.18 – Офтальмологія**

**АВТОРЕФЕРАТ**

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата медичних наук

Одеса - 2008

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Державній установі "Інститут очних хвороб і тканинної терапії

ім. В.П. Філатова АМН України".

|  |  |
| --- | --- |
| **Науковий керівник**: | доктор медичних наук, старший науковий співробітник **Дрожжина Галина Іванівна**, Державна установа "Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова АМН України", керівник відділу патології рогівки ока |
|  |  |
|  |  |
| **Офіційні опоненти**: | доктор медичних наук, старший науковий співробітник **ДМИТРІЄВ Сергій Констянтинович**, Державна установа "Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова АМН України", керівник відділу хірургічного лікування катаракти |
|  |  |
|  | доктор медичних наук **МОГІЛЕВСЬКИЙ Сергій Юрійович,** Донецький Національний медичний університет ім. М. Горького МОЗ України, доцент кафедри очних хвороб |

Захист відбудеться ” 09 ” червня 2009 р. о 15.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 41.556.01 в Державній установі "Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова АМН України" за адресою: 65061, Україна, м. Одеса, Французький бульвар, 49/51.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Державної установи "Інституту очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова АМН України" (65061, Україна, м. Одеса, Французький бульвар, 49/51).

Автореферат розісланий ” 06 ” травня 2009 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради,

доктор біологічних наук, професор І.П. Метеліцина

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** Рогова оболонка, як важливіший компонент оптичної системи ока, має складну структурну організацію. Епітелій та строма рогової оболонки відносно стійкі до дії факторів навколишнього середовища. Ендотелій, який складається з одного шару високоспеціалізованих клітин з особливим типом регенерації, найбільш чутливий до впливу фізичних і хімічних факторів (McKellar M. J., Elder M. J*.*, 2001; Miyazaki M., Tanaka T., Nishida T., 2000). Основними функціями ендотелію є бар'єрна і участь в активному транспорті, що забезпечує дегідратацію строми, необхідну для підтримки її прозорості. Пересування води зі строми до вологи передньої камери забезпечують ферменти, що локалізуються на боковій мембрані клітин ендотелію (Вит В.В., 2003; Miller C.A., Krachmer J.H., 1998).

При виконанні оперативних втручань, пов’язаних з маніпуляціями в передній камері, саме ендотелій рогової оболонки піддається впливу різноманітних факторів: механічних, фізичних, хімічних та ін. В теперішній час найбільш частим оперативним втручанням, що виконується в світі, є екстракція катаракти з імплантацією інтраокулярної лінзи (Веселовская З.Ф., 2002, Азнабаев Б.М., 2005, Panzardi G.*,* 2003 та ін.) В світі понад 20 мільйонів хворих на катаракту, а її питома вага в стуктурі очних захворювань за даними ВОЗ складає 42% (Малюгин Б.Э., 2006) Сьогодні, як стандарт сучасної хірургії катаракти, затвердилася ультразвукова факоемульсифікація.

Відомо, що рогівка на різних етапах цієї операції зазнає механічного, термічного та ультразвукового впливу, який виявляє пошкоджуючий ефект на її тканини. Незважаючи на значний прогрес в технології факоемульсифікації, при її виконанні існує ряд проблем, пов’язаних з негативним впливом ультразвукової енергії на тканини ока, в першу чергу на рогівку, райдужну оболонку, циліарне тіло (Agarwal A., Agarwal A., Agarwal S., 2004; Olson R.J., 2002; Sippel K.C., Pineda R., 2002).

В основі пошкоджуючого ефекту ультразвукової енергії на ендотелій рогівки при факоемульсифікації лежить безпосередня механічна дія хвильових коливань та "кавітаційних бульбашок", які при цьому утворюються (Fishkind W., 2002; Sippel K., Pineda R., 2002; Topaz M., Motiei M., Assia E., 2002). Встановлено, що при проведенні факоемульсифікації в тканинах ока утворюються вільнорадикальні форми кисню: гідроксильна, супероксидна та ін. (Cameron M.D., Poyer J.F., Aust S.D., 2001; Takahashi H., 2005). Рівень утворення цих високореакційних сполук залежить від енергетичних та часових параметрів ультразвукової енергії (Takahashi H., Sakamoto A., Takahashi R. 2002; Takahashi H., 2005) Вільні радикали ініціюють окислювальний стрес, який пошкоджує тканини та сприяють розвитку ускладнень під час та після операції.

Основним шляхом в оптимізації процедури факоемульсифікації є зниження потужності ультразвуку і тривалості його впливу на тканини ока (застосування імпульсного режиму і т.п.), а також використання різних віскоеластиків, які захищають тканини ока (Гундорова Р.А., Хорошилова-Маслова И.П., Иллатовская Л.В., 2004; Holzer M.P., Tetz M.R., Auffarth G.U., 2001; Joussen A.M., Barth U., Cubuk H., 2000).

Проте мінімальні енергетичні режими ультразвуку, які необхідні для подрібнення катарактального кришталика, все ж таки викликають утворення значної кількості вільнорадикальних форм кисню, які негативно впливають на мембранні, білкові та інші структури тканин ока [Friend J., Hassell J.R., 1998].

Виходячи з даних клінічних спостережень, при факоемульсифікації має місце пошкоджуюча дія ультразвуку на ендотелій рогівки, зміни якого залежно від функціональних резервів ендотелію і ступеня його пошкодження можуть бути зворотними або приводити до порушення бар'єрної функції ендотелію, що проявляється стійким набряком строми рогівки та розвитком такого тяжкого ускладнення як бульозна кератопатія [Ронкина Т.И., 2002; McKellar M.J., Elder M.J., 2001]. Це підтверджують дані іноземної і вітчизняної літератури, згідно яким набряк рогівки після ультразвукової факоемульсифікації спостерігається в 17-36% випадків, а псевдофакічна бульозна кератопатія є основним показанням до наскрізної кератопластики (митриев С.К., Душенчук Т.В., 2007; Inoue K., Amano S., Oshika T., 2000; Dorrepaal S., Cao K., Slomovic A., 2007).

Висока частота псевдофакічної бульозної кератопатії - 24,8-26,7% серед показань до кератопластики обумовлює необхідність вивчення факторів, що мають ушкоджуючий вплив на ендотелій рогівки, а пошук шляхів профілактики розвитку набряку рогівки після цієї операції є актуальним питанням офтальмології (Dorrepaal S., Cao K., Slomovic A., 2007).

В той же час в сучасній літературі відсутні факти відносно функціонального стану ультраструктурних компонентів ендотелію рогівки при впливі ультразвукової енергії в процесі факоемульсифікації. Крім того, дані конфокальної мікроскопії ендотелію після факоемульсифікації свідчать про пошкоджуючу дію турбулентних потоків, які генеруються факонаконечником біля ендотелію, на його структуру, що приводить до деструкції та загибелі клітин ендотелію (Fishkind W. J., 2002). Тому, крім удосконалення технології факоемульсифікації, яка здатна мінімізувати пошкодження ендотелію рогівки в процесі операції, пошук способів підвищення стійкості тканин рогівки до дії оксидативного стресу шляхом запобігання підвищеної генерації вільнорадиальних сполук є актуальною задачею.

Виходячи з викладеного вище, можна вважати, що перспективним напрямком пошуку патогенетично орієнтованих способів зниження негативного впливу ультразвука на ендотелій рогівки може бути вивчення можливості зниження інтенсивості утворення вільнорадикальних сполук в ендотелії рогівки при факоемульсифікації та підвищення стійкості мембранних структур ендотеліальних клітин до цих високореакційних сполук.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Виконана дисертаційна робота є складовою частиною науково-дослідної теми, зареєстрованої в Державній установі "Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова АМН України": "Дослідити ефективність наскрізної та пошарової кератопластики при захворюваннях ока запальної та дистрофічної етіології", 2005-2007 рр. (шифр теми 147-А/07, № держ. реєстрації 0105U000875), в якій автор була співвиконавцем.

**Мета та завдання дослідження.** Мета роботи - профілактика розвитку післяопераційної кератопатії після ультразвукової факоемульсифікації вікової катаракти шляхом застосування антиоксидантного препарату - ліпоєвої кислоти на основі отриманих нових наукових даних про роль вільнорадикальних форм кисню в механізмі пошкоджуючої дії ультразвукової енергії, що випромінює наконечник факоемульсифікатора.

Завдання дослідження.

1. Дослідити вплив ультразвукової енергії, що випромінює наконечник факоемульсифікатора, на активність мембранозв'язаних ферментів (Na+,K+-АТФаза, цитохром-С-оксидаза), окисно-відновних ферментів (лактатдегідрогеназа, малатдегідрогеназа), а також стабільність мембран лізосом ендотелію рогової оболонки в експерименті in vitro.

2. Вивчити в експерименті in vitro вплив вільнорадикальних форм кисню (перекис водню, супероксидний радикал, гідроксидний радикал), активованих ультразвуковою енергією факонаконечника на показники окисно-відновних процесів, активність Na+,K+-АТФази і супероксиддисмутази в ендотелії рогівки.

3. Вивчити в експерименті in vivo вплив різної експозиції ультразвукової енергії, що використовується при факоемульсифікації, на стан мембранозв'язаних ферментів ендотелію рогівки.

4. Дослідити іn vivo вплив прооксиданта (солі двовалентного заліза) і антиоксиданта (ліпоєва кислота) на стабільність мембран лізосом і активність мембранозв'язаних ферментів ендотелію рогівки при дії ультразвукової енергії, що випромінює факонаконечник.

5. Вивчити вплив препарата ліпоєвої кислоти на ступінь виразності запальної реакції і набряк рогової оболонки у хворих після факоемульсифікації вікової катаракти.

6. Обгрунтувати доцільність застосування препарату ліпоєвої кислоти для профілактики розвитку запальної реакції і набряку рогівки після факоемульсифікації вікової катаракти.

*Об'єкт дослідження:* вплив ультразвукової енергії, що випромінює наконечник факоемульсифікатора, на ендотелій рогової оболонки при факоемульсифікації вікової катаракти.

*Предмет дослідження:* метаболічні процеси в ендотелії рогівки, вплив антиоксиданта (ліпоєва кислота) і прооксиданта (сіль двовалентного заліза) на активність ферментів мембранних структур ендотелію рогівки в експерименті, ступінь запальної реакції і набряку рогівки у хворих після факоемульсифікації вікової катаракти і можливість зниження ступеня виразності цих клінічних показників шляхом використання препарату ліпоєвої кислоти.

*Методи дослідження:* офтальмологічні - візометрія, біомікроскопія, тонометрія, офтальмоскопія, оцінка ступеня набряку рогівки (за допомогою приладу Stray Light Metеr); біохімічні - визначення в ендотелії рогової оболонки активності Na+,K+-АТФази, цитохром-С-оксидази, лактатдегідрогенази, малатдегідрогенази, супероксиддисмутази, стабільності лізосомальних мембран; методи статистичного аналізу.

**Наукова новизна отриманих результатів.** В експерименті іn vitro одержано нові дані про інгібуючу дію ультразвукової енергії, що випромінює факонаконечник, на активність ферментів мітохондрій, про що свідчить зниження в ендотелії рогівки активності цитохром-С-оксидази на 33,3%, малатдегідрогенази на 14,8%, а також стабільності мембран лізосом (зв'язана активність кислої фосфатази знижена на 39,9%). Вперше встановлено, що в цих умовах найбільше знижується активність Na+,K+-АТФази ендотелію (на 45,6%) **-** головної ланки, що забезпечує осмотичний гомеостаз рогової оболонки.

In vitro вперше показано, що гідроксильні радикали при дії на ендотелій рогівки виявляють найбільш виразний інгібуючий ефект на активність Na+,K+-АТФази, цитохром-С-оксидази і супероксиддисмутази, яка знижена на 40,0%, 30,9% і 26,3% відповідно, що є одною з ланок механізму пошкоджуючого впливу ультразвукової енергії на ендотелій рогівки.

Вперше іn vivo показано, що додаткова генерація гідроксильного радикала за допомогою прооксиданта - іонів двовалентного заліза істотно підсилює пошкоджуючу дію ультразвукової енергії на мембранозв'язані ферменти ендотелію рогівки, що проявляється зниженням активності цитохром-С-оксидази на 24,3%, зв'язаної активності кислої фосфатази на 29,8%, Na+,К+-АТФази на 40,1% порівняно з даними без використання прооксиданта.

Іn vivo встановлено, що при збільшенні часу дії ультразвука значно зростає ступінь інгібування активності мембранних ферментів (цитохром-С-оксидази і Na+,К+-АТФази) і знижується стабільність лізосомальних мембран (при тривалості ультразвукового впливу 5 і 10 секунд зниження активності цитохром-С-оксидази складало 12,8% і 25,4%, Na+,К+-АТФази 25,0% і 35,0%, а зв'язаної активності кислої фосфатази - 20,6% і 50,1% відповідно).

В експерименті іn vivo встановлена можливість зниження пошкоджуючого впливу ультразвукової енергії, що випромінює факонаконечник, на активність мембранозв'язаних ферментів і стабільність мембран лізосом ендотелію рогівки за допомогою антиоксидантного препарату ліпоєвої кислоти, про що свідчить підвищення активності Na+,К+-АТФази на 25,6%, цитохром-С-оксидази на 20,0% і зв'язаної активності кислої фосфатази на 38,8% порівняно з даними без використання антиоксиданта.

**Практичне значення отриманих результатів.** Запропоновано застосування препарату ліпоєвої кислоти "Берлітіон"в комплексному лікуванні хворих при факоемульсифікації вікової катаракти в дозі 300 мг 2 рази на добу перорально за 3 доби до і протягом 7 діб після операції, щодозволяє знизити ступінь пошкоджуючої дії ультразвукової енергії на ендотелій рогової оболонки і клінічно проявляється на третю добу після операції достовірним зниженням інтенсивності запальної реакції, а також збільшенням кількості хворих з відсутністюознак запальної реакції за показниками "перикорнеальна ін'єкція" на 35,8%, "подразнення кон'юнктиви" - на 32,7%, "відчуття стороннього тіла" - на 31,4%.

Встановлено, що застосування препарату ліпоєвої кислоти "Берлітіон" в комплексному лікуванні хворих при факоемульсифікації вікової катаракти в запропонованій дозі на третю добу після операціїдостовірно знижує ступінь набряку рогівки (на 28,7%) і сприяє більш швидкому відновленню зорових функцій в післяопераційному періоді.

**Впровадження в практику.** Практичні аспекти дисертації використовуються у відділенні патології рогівки ока Державної установи "Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова АМН України" та в клініці офтальмології Головного військового клінічного госпіталю Міністерства Оборони України.

**Особистий внесок здобувача.** Ідея вивчення впливу ультразвукової енергії, яка використовується при факоемульсифікації вікової катаракти, на ендотелій рогівки належить докт. мед. наук, зав. відділенням патології рогівки ока Г.І. Дрожжиній. Автором самостійно проведено офтальмологічне обстеження, оперативне лікування і спостереження за хворими на вікову катаракту в клініці офтальмології Головного військового клінічного госпіталю Міністерства Оборони України м. Київі. Сумісно із співробітниками відділення патології рогівки ока і лабораторії біохімії ДУ "Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П.Філатова АМН України" пошукувач виконала експериментальні дослідження по вивченню впливу ультразвукової енергії і вільнорадикальних сполук на метаболічні процеси в ендотелії рогівки in vivo та in vitro. Автором самостійно проведено пошук наукової літератури, аналіз і статистична обробка результатів досліджень, підготовлені друкарські і дисертаційна роботи. Аналіз клінічних результатів, формулювання наукових положень і висновків проведено спільно з керівником дисертації.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертації обговорені на I науково-практичній конференції з міжнародною участю "Актуальні питання хірургічних та анестезіологічних служб Збройних Сил України" (Київ, 2006); Підсумковій науково-практичній конференції лікарів Головного військового клінічного госпіталю Міністерства Оборони України "Сучасні досягнення клінічної медицини" (Київ, 2006); Міжнародній конференції, присвяченій 100-річчю з дня народження акад. Н.О. Пучківської "Сучасні аспекти клініки, діагностики та лікування очних хвороб" (Одеса, 2008); науково-практичній конференції "Азаровские чтения: актуальные вопросы нейроофтальмологии и воспалительных заболеваний глаз" (Судак, 2008), на 2 Всеукраїнській конференції "Сучасні методи діагностики та лікування в офтальмології" (Харків, 2008 р.).

**Публікації.** Основні результати дисертації викладені в 7 наукових роботах. З них 4 статті в "Офтальмологічному журналі", 3 - в тезах доповідей на наукових конференціях.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертація написана російською мовою, викладена на 130 сторінках комп'ютерного тексту. Складається з вступу, 4 розділів, включаючи два з результатами особистих досліджень, аналізу і узагальнення результатів дослідження, висновків і списку використаних джерел, ілюстрована 9 рисунками, 15 таблицями, які займають 6 окремих сторінок. Список використаних джерел літератури містить 221 найменування і займає 22 сторінки.

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Матеріали та методи досліджень.** В експерименті було використано 55 кролів породи Шиншила вагою 2,0-2,5 кг (110 рогових оболонок): in vitro - 74 изольованих рогівки (37 тварин), in vivo - 36 очей (18 тварин).

*Експериментальні дослідження.* In vitro вивчали вплив ультразвукової енергії, що випромінює факонаконечник, на метаболічні параметри рогової оболонки (18 ізольованих рогівок очей кролів, 9 тварин; 24 рогівки, 12 тварин не опромінювали ультразвуком). Для ультразвукового опромінення використовували ультразвуковий наконечник факоемульсифікатора фірми Bausch & Lomb Millenniumtm Microsurgical System REF CX6000. На 32 ізольованих рогівках (16 здорових кролів) вивчали вплив вільнорадикальних форм кисню на метаболізм ендотелію рогової оболонки. Рогівки преінкубували в ізотонічних та ізоонкотичних розчинах, які залежно від складу, утворювали переважно одну з вільнорадикальних форм кисню (Garner M., Garner W., Spector A., 1986). В гомогенатах рогівки визначали активність ферментів: Na+,K+-АТФази, цитохром-С-оксидази (ЦСО), супероксиддисмутази (СОД), лактатдегидрогенази (ЛДГ) і малатдегідрогенази (МДГ) (Bergmeyer H.U., 1998). Вплив ультразвукової енергії на ендотелій рогівки здійснювали шляхом введення наконечника факоемульсифікатора в передню камеру через тонельний розріз рогівки ока кроля довжиною 2,6 мм з використанням віскоеластика. Застосовували ультразвук в лінійному режимі потужністю 35 Вт та частотою 28,5 кГц в перерахунку на 100% енергії протягом 5 секунд (група1) і 10 секунд (група 2). В окремій серії експеримента за добу до ультразвукового впливу тривалістю 10 секунд тварини отримували в якості антиоксиданта препарат ліпоєвої кислоти "Берлітіон" із розрахунку 100 мг на кг ваги, який вводили одноразово per os. В якості прооксиданта, що забезпечує додаткову генерацію гідроксильного радикала, використовували 0,5 мМ розчин сульфата заліза, який застосовували в інстиляціях по 2 краплі дворазово за 20 хвилин до ультразвукового впливу протягом 5 секунд (Artola A., Alio J.L., Bellot J. L., 1993) Дослідження проведені на 18 експериментальних тваринах (36 рогівок), з них 12 очей (6 кролів) використовували в якості контролю. Після ультразвукового впливу очі енуклеювали, рогівки поміщали на чашки Петрі епітеліальною стороною вниз. Ендотелій з десцеметовою мембраною після їх відокремлення від строми піддавали гомогенізації та диференційному центрифугуванню (Geroski D.H., Edelhauser H.F., 1984). Визначали активність мембранозв'язаних ферментів: Na+,K+-ATФaзи, ЦСО та зв'язаної форми кислої фосфатази (КФ) (Bergmeyer H., 1998).

*Клінічні дослідження.* Ультразвукова факоемульсифікація вікової катаракти проведена 76 пацієнтам (76 очей) віком від 62 до 86 років, чоловіків - 74, жінок – 2, серед них 39 пацієнтів склали контрольну групу і 37 - основну. Розрахунок оптичної сили ІОЛ проводили за формулою SRK II. Групи, що порівнювали, достовірно не відрізнялися за ступенем щільності ядра кришталика: за класифікацією Бурато середній ранг показника в основній групі - 39,7, в контрольній - 37,4 (р=0,599). Гострота зору до операції була від світловідчуття з правильною проекцією світла до 0,2 та складала в середньому в основній групі 0,087±0,04, в контрольній 0,074±0,05 (р=0,47). Схема предопераційної підготовки пацієнтів контрольної і основної груп була ідентичною: інстиляції індоколіра по 2 краплі 3 рази на день протягом 3 днів та за добу до факоемульсифікації - офтаквікс 2 краплі 6 разів на день. Післяопераційна схема ведення хворих в обох групах також була ідентичною - офтаквікс, індоколір, макситрол по 2 краплі 4 рази на день, дексаметазон в інстиляціях за убуваючою кожні 7 днів схемою, корнерегель на ніч. Крім того, ці пацієнти за три доби до операції і протягом 7 діб після операції отримували перорально препарат ліпоєвої кислоти "Берлітіон" по 300 мг 2 рази на добу. Всі операції факоемульсифікації вікової катаракти виконані одним хірургом на факоемульсифікаторі Legacy 20000 Everest фірми "АLCON" на базі клініки офтальмології Головного військового клінічного госпіталю Міністерства Оборони України. Обстеження хворих включало візометрію, тонометрію, біомікроскопію, ультразвукову біометрію, рефрактометрію, офтальмоскопію з використанням стандартних методів. Дослідження кришталика проводили в дифузному, прямому і прохідному світлі, оцінюючи щільність ядра кришталика до операції, виразність післяопераційної запальної реакції та набряк рогівки за розробленою нами умовною шкалою. У всіх хворих досліджували показники світлорозсіювання рогівки за допомогою прямого компенсаторного метода на приладі Stray Light Meter (Harrison J.M., Tennant T.B., Gwin M.C., 1995; Veraart H. G., van den Berg T. J., Ijspeert J. K., 1992). Хворих оглядали до операції, щоденно в перші 3 доби та на 7 добу після операції. Критеріями виключення з досліджень були: наявність cornea guttata, ендотеліальної дистрофії Фукса, глаукоми, псевдоексфоліативного синдрому, цукрового діабету, а також інтраопераційних ускладнень.

Залежно від характеру проаналізованих даних застосовували параметричні або непараметричні методи статистичного аналізу [Реброва О.Ю., 2002]. Для оцінки кількісних показників і активності ферментів розраховували середнє арифметичне (М) і помилку середнього (m), гостроти зору - середнє арифметичне і стандартне відхилення (SD). В дослідженнях двох групп за якісними показниками застосовували аналіз таблиць з розрахунком χ2 статистики Пірсона. При аналізі порядкових показників, що характеризують ступінь запальної реакції, виразність набряка рогівки та ін., за умовною шкалою використовували ранговий критерій Манна-Уітні. Достовірність відмінностей приймали як значимі при р<0,05 (95%). Статистичний аналіз проводили з використанням пакета програм SPSS 11.

**Результати та їх обговорення.**

**Дослідження механізмів пошкоджуючої дії ультразвукової енергії, що випромінює наконечник факоемульсифікатора, на ендотелій рогівки і можливості захисного ефекту ліпоєвої кислоти.**

Аналіз результатів дослідження впливу ультразвукової енергії, що випромінює факонаконечник, в експерименті in vitro, на метаболічні параметри рогової оболонки показав, що під впливом ультразвукової енергії активність Na+,К+-АТФази знижувалася на 45,6% (р<0,000), ЦСО - на 33,3% (р<0,05), МДГ - на 14,8% (р<0,009), зв'язана активність КФ - на 39,9% (р<0,000) (рис. 1).

**%**

**\***

**\***

**\***

**\***

Рис. 1. Активність ферментів ендотелію рогівки при впливі ультразвукової енергії, що випромінює факонаконечник, по відношенню до контролю (**\*** - відмінності статистично значимі, р<0,05).

Отримані дані свідчать про те, що під впливом фактора, що вивчали, знижується енергетичний потенціал аеробних окисно-відновних процесів і стабільність мембран лізосом ендотелію рогівки.

При вивченні впливу вільнорадикальних форм кисню на активність ферментів ендотелію рогівки, встановлено, що при впливі на рогівку розчином, що генерує супероксидний радикал кисню, активність Na+,К+-АТФази, ЛДГ, ЦСО в ендотелії рогівки практично не змінювалася, тільки активність СОД підвищувалася в середньому на 19,7% (р=0,003). В експериментах з преінкубацією рогівки в розчині, що генерує перекис водню, відмічено достовірне зниження в ендотелії активності Na+,К+-АТФази і ЦСО - на 25,0% (р=0,003) та 20,0% відповідно (р=0,01). При обробці рогівки розчином, в якому підтримувалася стаціонарна концентрація гідроксильного радикала, відмічено різке зниження активності Na+,К+-АТФази на 40,0% (р=0,000), а також суттєве зменшення активності ЦСО (на 30,9%, р=0,000), СОД (на 26,3%, р=0,000) і ЛДГ - на 20,1% (р=0,000) (рис. 2). В цілому, дані експериментальних досліджень свідчать про те, що найбільш виразний вплив на ендотелій рогівки мають не первинні радикали (супероксидний радикал), а радикалоутворюючі молекули - перекис водню та вторинні радикали - вільнорадикальна форма гідроксила. Це необхідно враховувати при розробці способів зниження пошкоджуючої дії вільних радикалів на ендотелій рогівки, а також застосуванні ультразвукової енергії при проведенні факоемульсифікації.

Дослідження стану ферментів мембранних структур ендотелію рогівки при різній експозиції ультразвукової енергії, що випромінює наконечник факоемульсифікатора, та додатковому впливі про- і антиоксиданта показало наступне. Після впливу ультразвуком протягом 5 секунд активність Na+,K+-ATФaзи складала 22,5±1,38, а після 10 секунд - 19,5±0,92 нкат/г, тобто знизилася на 25,0% (р=0,04) і 35,0% (р=0,01) відповідно (рис. 3).

**\***

**\***

**\***

Рис. 2. Активність ферментів ендотелію рогівки при дії вільнорадикальних форм кисню в % по відношенню до контролю (**\*** - відмінності статистично значимі, р<0,05).

**%**

**\***

**\***

**\***

**\***

**\***

**\***

**\***

**\***

**\***

**\***

**%**

Рис. 3. Активність мембранозв'язаних ферментів ендотелію рогівки при різній тривалості впливу ультразвукової енергії факоемульсифікатора в % по відношенню до контролю (**\*** - відмінності статистично значимі, р<0,05).

При визначенні ЦСО в ендотелії рогівки відмічена тенденція до зниження активності ферменту до 15,7±0,48 нкат/г (р=0,07) після 5 секунд впливу ультразвукової енергії та подальше зниження активності до 13,5±1,18 нкат/г **(**на 25,4%) після 10 секунд впливу ультразвуком (р=0,001). Визначення зв'язаної активності КФ виявило достовірне зниження активності ферменту як після 5, так і після 10 секунд впливу ультразвуком: активність ферменту складала 5,4±0,37 (р=0,01) і 3,4±0,26 (р=0,001) нкат/г вологої тканини відповідно, тобто знизилась на 20,6% и 50,0%, після 5 і 10 секунд впливу ультразвуком відповідно.

Таким чином, представлені результати свідчать про те, що під впливом ультразвукової енергії, що випромінює наконечник факоемульсифікатора, в ендотелії рогової оболонки достовірно знижується активність Na+,K+-АТФази та порушується стабільність лізосомальних мембран ендотелію. Ступінь виявлених порушень залежить від тривалості ультразвукового впливу.

Дослідження, що проведені з використанням додаткового до ультразвуку впливу прооксиданта - сульфата заліза (табл. 1), виявили більш виразні зміни активності Na+,K+-АТФази - зниження на 40,1% (р=0,001) порівняно з даними, що отримали без використання прооксиданта. В цих же умовах активність ЦСО та зв'язана активність КФ знижувалася відповідно на 24,2% (р=0,01) і 29,3% (р=0,01).

*Таблиця 1*

Активність ферментів ендотелію рогівки (нкат/г вологої тканини) при впливі ультразвука (група 1) і додатковому впливі прооксиданта сульфата заліза (група 1+Fe)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Стат. показники | Na+,K+-АТФаза | Цитохром-С-оксидаза | Кисла фосфатаза |
| група 1 | група 1+Fe | група 1 | група 1+Fe | група 1 | група 1+Fe |
| nMmσp | 622,501,383,39- | 613,480,411,000,001 | 615,70,481,18- | 611,90,380,90,001 | 65,400,370,91- | 63,820,200,480,01 |

При використанні берлітіона в умовах впливу на рогівку ультразвуком і прооксидантом (табл. 2), відмічено підвищення активності досліджуваних ферментів в ендотелії рогівки: Na+,K+-АТФази на 25,6% (р=0,03), ЦСО - на 20,0% (р=0,01), зв'язаної активності КФ - на 38,8% (р=0,03) в порівнянні з даними без використання антиоксиданта.

*Таблиця 2*

Активність ферментів ендотелію рогівки (нкат/г вологої тканини) при впливі ультразвука (група 2) і додатковому впливі антиоксиданта берлітіона (група 2+Б)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Стат. показники | Na+,K+-АТФаза | Цитохром-С-оксидаза | Кисла фосфатаза |
| група 2 | група 2+Б | група 2 | опит 2+Б | група 2 | група 2+Б |
| nMmσp | 619,500,922,26- | 624,500,902,200,03 | 613,500,481,18- | 616,200,661,610,02 | 63,400,260,64- | 64,720,200,480,03 |

Отримані результати свідчать про підвищення стійкості ферментних систем ендотелію рогівки до пошкоджуючої дії ультразвукової энергії, яку випромінює факонаконечник, при використанні препарату "Берлітіон", що виражаєтьсяу стабілізації лізосомальних мембран (статистично достовірне підвищення зв'язаної активності КФ) та підвищенні активності мембранозв'язаних ферментів - Na+,K+-АТФази і ЦСО в ендотелії рогівки.

**Вплив препарату ліпоєвої кислоти "Берлітіон" на виразність набряку рогової оболонки, ступінь запальної реакції і стан зорових функцій після факоемульсифікації вікової катаракти.**

Дані, які отримані при вивченні ступеня набряку рогівки у пацієнтів основної та контрольної груп після ультразвукової факоемульсифікації вікової катаракти показали, що виразність набряку рогової оболонки, яку оцінювали за допомогою біомікроскопії, через добу після операції у хворих контрольної групи достовірно перевищувала показники в основній групі - середній ранг 51,42 і 24,88 (р=0,0001) відповідно. Через 3 доби після операції виразність набряку також була значно вище у хворих контрольної групи в порівнянні з основною - середній ранг 54,67 і 21,46 (р=0,0001) відповідно. Таким чином, як на першу, так і на третю добу після факоемульсифікації набряк рогівки був менш виражений у пацієнтів основної групи.

Результати визначення світлорозсіювання рогівки показали, що на першу добу після операції показники світлорозсіювання у хворих контрольної групи були достовірно вище, ніж в основній групі,складаючи 130,67±1,81 і 108,47±2,38 умовних одиниць відповідно (р=0,0001). Через три доби ці показники в контролі також достовірно перевищували значення світлорозсіювання у пацієнтів основної групи (120,92±2,46 і 86,22±2,53 відповідно, р=0,0001).

Таким чином, аналіз клінічних даних показав, що у хворих, при лікуванні яких застосовували берлітіон, вже в перший день після операції спостерігався менш виразний (на 17,0%) набряк рогівки в порівнянні з пацієнтами контрольної групи. Дані, що отримали через 3 доби після операції, також свідчать про більш швидке зниження ступеня набряку рогівки у хворих основної групи - на 28,7%.

Аналіз показників ступеня запальної реакції у пацієнтів основної та контрольної груп в різні строки післяопераційного періода свідчить про значно менш виразну інтенсивність запалення у хворих на вікову катаракту, які отримували препарат ліпоєвої кислоти "Берлітіон". Вже через добу після операції в контрольній групі спостерігалася більш виразна запальна реакція за ознакою "перикорнеальна ін'єкція" в порівнянні з основною групою - середній ранг показника - 50,05 і 26,32 (р=0,0001). На 2 і 3 добу ці відміннності залишалися достовірними, про що свідчить вищий середній ранг, який характеризує ознаку, що вивчали, в контрольній групі (47,03 і 45,12) порівняно з основною групою (29,5 і 31,53).

Аналіз ступеня перикорнеальної ін'єкції, що спостерігалася після факоемульсифікації в порівнюваних групах показав, що вже на першу добу після операції в основній групі у 13 хворих (35,1%) відмічено відсутність перикорнеальної ін'єкції, а в контрольній групі перикорнеальна ін'єкція спостерігалася у всіх пацієнтів. В цей же строк спостереження з першим ступенем перикорнеальної ін'єкції в основній групі було 23 хворих (62,2%), в контрольній - 21 (53,8%), з другим ступенем - 1 хворий в основній (2,7%) і 17 - в контрольній (43,6%). Крім того, в контрольній групі зареєстровано двоє пацієнтів з виразною перикорнеальною ін'єкцією (3 ступінь). Через 3 доби після факоемульсифікації у 97,3% пацієнтів в основній групі перикорнеальна ін'єкція була відсутня, слабкий ступінь виразності цього показника спостерігався лише у 1 хворого. В контрольній групі значення цього показника відповідне фізіологічній нормі мали 24 хворих (61,5%), а 15 (38,5%) - слабовиразну перикорнеальну ін'єкцію в верхній треті очного яблука. Різниця в кількості хворих з відсутністю цього показника на 3 добу після факоемульсифікації - 35,8% вірогідна (р=0,0004).Відмінності у співвідношенні кількості хворих з відсутністю перикорнеальної ін'єкції на 3 добу після факоемульсифікації в порівнювальних групах достовірні χ2=12,5, р=0,0004. Отримані дані свідчать про значно менш виразне запалення в післяопераційному періоді у хворих, які отримували берлітіон.

Гострота зору після факоемульсифікації вікової катаракти суттєво підвищувалась у пацієнтів як в основній, так і в контрольній групі. Однак, у пацієнтів основної групи в післяопераційному періоді як в першу, так і на 3 добу гострота зору була достовірно вище в порівнянні з контрольною - 0,543±0,20 і 0,243±0,11 (р=0,0001), а також 0,364±0,13 і 0,649±0,20 (р=0,0001), відповідно.

Оцінюючи представлені результати в комплексі з отриманими нами експериментальними даними про стан мембранозв'язаних ферментів при дії вільних радикалів кисню і ультразвукової енергії, що випромінює факонаконечник, та захисної дії антиоксиданта ліпоєвої кислоти можна заключити, що застосування препарату ліпоєвої кислоти "Берлітіон" виявляє захисну дію на рогову оболонку.

Результати дослідження виразності суб'єктивних ознак запальної реакції показали (табл. 3), що вже на першу добу після факоемульсифікації суб'єктивна ознака "подразнення кон'юнктиви" в основній групі була менш виражена - середній ранг - 33,55 в порівнянні з контрольною групою - 43,19 (р=0,003). На 3 добу ця спрямованість зберігалася - подразнення кон'юнктиви в основній групі було нижче, ніж в контрольній - середній ранг 31,81 і 44,85 (р=0,000), відповідно. Відчуття стороннього тіла в оці, як в першу, так і на 3 добу після операції було нижче в групі пацієнтів, при лікуванні яких застосовували берлітіон. Про це свідчить менший середній ранг - 32,47, який характеризує цю ознаку, порівняно з контролем 44,22 (р=0,001). На 3 добу після факоемульсифікації зміни цієї ознаки мали ту ж спрямованість - виразність відчуття стороннього тіла в оці була нижче в основній групі в порівнянні з контрольною - середній ранг 32,38 та 44,31 відповідно (р=0,006). Як у першу, так і на 3 добу після операції відчуття світлобоязні було менш виражено в основній групі порівняно з контролем - середній ранг показника - 34,00 і 42,77 (р=0,008) та 33,85 і 42,91 (р=0,039), відповідно.

Вивчення виразності проявлення суб'єктивних ознак запальної реакції показало, що в першу добу після операції подразнення кон'юнктиви було відсутнє у одного пацієнта основної групи (2,7%), в контрольній групі хворих з відсутністю даної ознаки не спостерігалося. Подразнення кон'юнктиви слабкого ступеня в верхній третині очного яблука (1 бал) зареєстровано у 25 хворих (67,5%) основної і у 18 хворих (46,2%) контрольної групи. Помірно виразне подразнення кон'юнктиви

*Таблиця 3*

Виразність суб'єктивних ознак запальної реакції ока у хворих після факоемульсифікації вікової катаракти

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Ознаки запальної реакції | Стат. показники | До операції | 1 доба після операції | 3 доби після операції |
| контроль-на група | основна група | контроль-на група | основна група | контроль-на група | основна група |
| Подраз-нення кон'юн-ктиви | nMean RankSum RanksUp | 3938,501501,50-- | 3738,501424,50721,501,000 | 3943,191684,50-- | 3733,551241,50538,500,0028 | 3944,851749,00-- | 3731,811177,00474,000,000 |
| Відчуття сторон-нього тіла в оці | nMean RankSum RanksUp | 3938,501501,50-- | 3738,501424,50721,501,000 | 3944,221724,50-- | 3732,471201,50498,500,001 | 3944,311728,00-- | 3732,381198,00495,000,006 |
| Світло-боязнь | nMean RankSum RanksUp | 3938,501501,50-- | 3738,501424,50721,501,000 | 3942,771668,00-- | 3734,001258,00555,000,008 | 3942,911673,50-- | 3733,851252,50549,500,039 |

(2 бали) спостерігалося у 11 хворих (29,7%) основної і у 21 (53,8%) контрольної групи. На 3 добу після факоемульсифікації у 14 пацієнтів (37,8%) основної групи подразнення кон'юнктиви зареєстровано не було, в контрольній групі відсутність даної ознаки спостерігалася у 2 хворих (5,1%), різниця в кількості хворих з відсутністю цього показника -32,7% вірогідна (р=0,0013). Подразнення кон'юнктиви в 1 бал спостерігалося у 23 хворих (83,2%) основної і у 36 хворих (92,3%) контрольної групи. Подразнення кон'юнктиви, відповідне 2 балам, було відсутнє у всіх пацієнтів основної групи, а в контрольній - було у одного пацієнта. Відмінності у співвідношенні кількості хворих з відсутністю подразнення кон'юнктиви на 3 добу після факоемульсифікації достовірні χ2= 12,8, р=0,0016.

Відчуття стороннього тіла в першу добу після операції відсутнє у 7 хворих (18,9%) основної групи, в контрольній групі відсутність даної ознаки відмічена у 1 хворого (2,6%). Відчуття стороннього тіла слабкого ступеня (1 бал) спостерігалося у 30 хворих (81,0%) основної групи і у 31 хворого контрольної групи (79,5%). Дана ознака виразністю в 2 бали в основній групі не спостерігалася, а в контрольній вона була зареєстрована у 7 хворих (17,9%). На 3 добу після факоемульсифікації відчуття стороннього тіла було відсутнє у 23 хворих (62,2%) основної групи, в контрольній - у 12 (17,9%). Різниця в кількості хворих з відсутністю цього показника запальної реакції на 3 добу після факоемульсифікації - 31,4% вірогідна (р=0,0013). Скарги на відчуття стороннього тіла слабкого ступеня пред'являли 14 хворих основної групи (37,8%) і 27 (69,2%) контрольної групи. Помірно виразне відчуття стороннього тіла, присутнє постійно (2 бали), в обохпорівнюваних групахне відмічено. Відмінності у співвідношенні кількості хворих з відсутністю відчуття стороннього тіла на 3 добу після факоемульсифікації достовірні: χ2=6,3, р=0,0012.

Світлобоязнь була відсутня в першу добу після операції у 9 хворих (24,3%) основної групи і спостерігалася у 2 пацієнтів (5,1%) контрольної групи. Скарги на світлобоязнь слабкого ступеня (1 бал) пред'являли 28 пацієнтів (75,1%) основної і 35 пацієнтів (89,7%) контрольної групи. Скарги на помірно виразну світлобоязнь (2 бали) пацієнти основної групи не пред'являли, а в контролі пред'являли двоє хворих (5,1%). На 3 добу після факоемульсифікації світлобоязнь відсутня у 24 хворих (64,9%) основної групи, в контрольній - у 16 (41,0%). Скарги на світлобоязнь слабкого ступеня пред'являли 13 пацієнтів (35,1%) основної і 23 (59,0%) контрольної групи. Помірно виразна світлобоязнь (2 бали) відсутня у всіх пацієнтів основної і контрольної груп. Відмінності у співвідношенні кількості хворих з відсутністю світлобоязні на 3 добу після факоемульсифікації складали 23,9% і носили характер тенденції χ2= 3,4, р=0,06.

Таким чином, отримані результати свідчать про можливість зниження пошкоджуючого впливу ультразвукової енергії, що випромінює факонаконечник, при факоемульсифікації вікової катаракти, на ендотелій рогової оболонки шляхом застосування препарату ліпоєвої кислоти "Берлітіон". Пероральне застосування берлітіона в дозі 300 мг 2 рази на добу за 3 доби до факоемульсифікації і протягом 7 діб після операції в комплексному лікуванні хворих підвищує стійкість ферментних систем ендотелію рогівки, які забезпечують осмотичні параметри рогової оболонки, що проявляється вже на третю добу достовірним зниженням ступеня післяопераційного набряку рогівки (на 28,7%), запальної реакції (збільшення кількості хворих з відсутністю ознак запальної реакції за показниками "перикорнеальна ін'єкція" на 35,8%, "подразнення кон'юнктиви" - на 32,7%, «відчуття стороннього тіла» - на 31,4%) і сприяє більш швидкому відновленню гостроти зору.

**ВИСНОВКИ**

1. Пошкодження ендотелію рогової оболонки при ультразвуковій факоемульсифікації вікової катаракти знижує результативність її хірургічного лікування. Незважаючи на постійне удосконалення технології факоемульсифікації, набряк рогівки після цієї операції спостерігається в 17-36% випадків, а псевдофакічна бульозна кератопатія є основним показанням до кератопластики. Встановлення механізмів пошкоджуючої дії ультразвука, що випромінює факонаконечник, на ендотелій рогівки та пошук шляхів зниження цього впливу відкриває перспективи для використання препаратів, що гасять вільнорадикальні сполуки кисню, утворення яких при факоемульсифікації доказано експериментально.

2. Іn vitro встановлено значне зниження в ендотелії рогівки активності Na+,К+-АТФази (на 45,6%), окислювально-відновних ферментів мітохондрій (цитохром-С-оксидази на 33,3%, малатдегідрогенази на 14,8%), а також лабілізація мембран

лізосом ендотелію рогівки (зв'язана активність кислої фосфатази знижена на 39,9%) під впливом ультразвукової енергії, що випромінює наконечник факоемульсифікатора.

3. В експерименті іn vitro вперше показано, що гідроксильні радикали виявляють найбільш виразний сповільнюючий ефект на активність Na+,K+-АТФази, цитохром-С-оксидази і супероксиддисмутази ендотелію рогівки, яка знижена на 40,0%, 30,9% і 26,3% відповідно, що є однією з ланок механізму пошкоджуючої дії ультразвукової енергії на ендотелій рогівки.

4. Іn vivo встановлено, що додаткова генерація гідроксильного радикалу за допомогою прооксиданта (двовалентного заліза) підсилює пошкоджуючу дію ультразвукової енергії, що випромінює факонаконечник, на мембранозв'язані ферменти ендотелію рогівки. Найбільш чутливим ферментом є Na+,К+-АТФаза, активність якої знижується на 40,1%, а також цитохром-С-оксидаза і кисла фосфатаза, активність яких знижується на 24,3% і 29,8% відповідно.

5. В експерименті in vivo встановлено, що збільшення тривалості дії ультразвукової енергії викликає більш виразне зниження активності цитохром-С-оксидази, Na+,К+-АТФази і стабільності мембран лізосом (при тривалості ультразвукового впливу 5 і 10 секунд зниження активності цитохром-С-оксидази складало 12,8% і 25,4%, Na+,К+-АТФази 25,0% і 35,0%, а зв'язаної активності кислої фосфатази - 20,6% і 50,1% відповідно).

6. Застосування антиоксидантного препарату ліпоєвої кислоти "Берлітіон" в експерименті in vivo зменшує ступінь пошкоджуючого впливу ультразвукової енергії, що випромінює факонаконечник, на ендотелій рогівки, про що свідчить підвищення активності Na+,K+-АТФази на 25,6%, цитохром-С-оксидази на 20,0%, зв'язаної активності кислої фосфатази на 38,8% у порівнянні з такими даними без застосування антиоксиданта.

7. При проведенні факоемульсифікації вікової катаракти застосування антиоксидантного препарату ліпоєвої кислоти "Берлітіон" зменшує порушення осмотичних властивостей рогової оболонки в післяопераційному періоді, що проявляється зниженням ступеня набряку рогівки на 28,7% (за даними світлорозсіювання рогівки) на 3 добу після операції.

8. Застосування препарату ліпоєвої кислоти "Берлітіон" при проведенні факоемульсифікації вікової катаракти в дозі 300 мг 2 рази на добу перорально за 3 доби до і протягом 7 діб після операції дозволяє знизити ступінь пошкоджуючої дії ультразвукової енергії на ендотелій рогової оболонки, що клінічно проявляється на третю добу після операції достовірним зниженням інтенсивності запальної реакції, а також збільшенням кількості хворих з відсутністю ознак запальної реакції за показниками "перикорнеальна ін'єкція" на 35,8%, "подразнення кон'юнктиви" - на 32,7%, "відчуття стороннього тіла" - на 31,4% і сприяє більш швидкому відновленню зорових функцій в післяопераційному періоді.

**ПЕРЕЛІК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Дрожжина Г.И. Действие свободно-радикальных соединений на метаболизм эндотелия роговицы / Г.И. Дрожжина, В.К. Константинова // Офтальмологический журнал. - 2006. - № 3 (1). - С. 138-140.

Особисто автором проведено аналіз результатів біохімічних досліджень та статистична обробка отриманих результатів.

2. Дрожжина Г.И. Воздействие ультразвуковой энергии факоэмульсификатора на биохимические показатели эндотелия роговой оболочки / Г.И. Дрожжина, В.К. Константинова // Офтальмологический журнал. - 2006. - № 6. - С. 35-38.

Особисто автором проведено аналіз літератури, даних біохімічних досліджень та статистична обробка одержаних результатів.

3. Дрожжина Г.И. Влияние ультразвука, используемого при факоэмульсификации, на изменение активности мембрано-связанных ферментов эндотелия роговицы в эксперименте / Г.И. Дрожжина, В.Я. Усов, В.К. Константинова **//** Офтальмологический журнал. - 2007. - № 4. - С. 33-36.

Особисто автором проведено аналіз літератури, даних біохімічних досліджень та статистична обробка результатів дослідження.

4. Константинова В.К. Влияние липоевой кислоты на состояние роговой оболочки при факоэмульсификации возрастной катаракты / В.К. Константинова, Г.И. Дрожжина // Офтальмологический журнал. - 2007. - № 5. - С. 27-32.

Особисто автором проведено клінічне обстеження та хірургічне лікування хворих – ультразвукова факоемульсифікація вікової катаракти, статистична обробка і аналіз отриманих результатів.

5. Константинова В.К. Влияние различной экспозиции ультразвука, используемого при факоэмульсификации на активность мембрано-связанных ферментов эндотелия роговицы / В.К. Константинова, Г.И. Дрожжина // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук ипрактического здравоохранения: Труды Крымского государственного медицинского университета им. С.И. Георгиевского. - Симферополь, 2008. - Т. 144, Ч. II. - С. 174-175.

6. Константинова В.К. Возможности повышения устойчивости эндотелия роговицы к повреждающему влиянию ультразвука при факоэмульсификации возрастной катаракты / В.К. Константинова // Сучасні аспекти клініки, діагностики та лікування очних хвороб: Матеріали Міжнар. наук. конф., присвяченої 100-річчю з дня народження академіка Н.О. Пучківської, 29-30 травня 2008 р. - Одеса, 2008. - С. 79-80.

7. Константинова В.К. Влияние препарата липоевой кислоты "Берлитион" на выраженность субъективных признаков воспалительной реакции после факоэмульсификации возрастной катаракты / В.К. Константинова, Г.И. Дрожжина // Сучасні методи діагностики та лікування в офтальмології: Матеріали другої Всеукраїнської конф., 19-20 червня 2008 р. - Харків, 2008. - С. 58-61.

**АНОТАЦІЯ**

**Константинова В.К. Профілактика розвитку післяопераційної кератопатії. - Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.18 - офтальмологія. - Державна установа "Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П.Філатова АМН України", Одеса, 2008.

Дисертація присвячена профілактиці розвитку післяопераційної кератопатії шляхом застосування антиоксидантного препарату на основі виявлення ролі вільнорадикальних форм кисню в механізмі пошкоджуючої дії ультразвукової енергії на ендотелій рогівки при факоемульсифікації вікової катаракти. Іn vitro встановлено зниження в ендотелії рогівки активності Na+,К+-АТФази на 45,6%, цитохром-С-оксидази на 33,3%, малатдегідрогенази на 14,8%, а також лабілізація мембран лізосом ендотелію рогівки (зв'язана активність кислої фосфатази знижена на 39,9%) під впливом ультразвуку, що випромінює наконечник факоемульсифікатора. Додаткова генерація гідроксильного радикала підсилює дію ультразвука, що проявляється зниженням активності цитохром-С-оксидази на 24,3%, зв'язаної активності кислої фосфатази на 29,8%, Na+,К+-АТФази на 40,1% порівняно з даними без використання прооксиданта. Іn vivo доведена можливість зниження пошкоджуючого впливу ультразвука за допомогою препарату ліпоєвої кислоти, про що свідчить підвищення активності Na+,К+-АТФази на 25,6%, цитохром-С-оксидази на 20,0% і зв'язаної активності кислої фосфатази на 38,8% в ендотелії рогівки. Застосування препарату ліпоєвої кислоти "Берлітіон" в комплексному лікуванні хворих на вікову катаракту достовірно знижує ступінь запальної реакції, набряку рогівки, сприяє більш швидкому відновленню зорових функцій в післяопераційному періоді.

**Ключові слова:** ендотелій рогівки, факоемульсифікація вікової катаракти, ультразвук, вільні радикали, антиоксидант берлітіон.

**АННОТАЦИЯ**

**Константинова В.К. Профилактика развития послеоперационной кератопатии. - Рукопись.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.18 - офтальмология. - Государственное учреждение "Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П.Филатова АМН Украины", Одесса, 2008.

Диссертация посвящена проблеме профилактики развития послеоперационной кератопатии в результате ультразвуковой факоэмульсификации возрастной катаракты путем применения антиоксидантного препарата - липоевой кислоты на основе полученных новых научных данных о роли свободнорадикальных форм кислорода в механизме повреждающего действия ультразвуковой энергии, которую излучает наконечник факоэмульсификатора.

В эксперименте in vitro (74 изолированных роговицы) изучали влияние ультразвуковой энергии, излучаемой факонаконечником, на метаболические параметры роговой оболочки. Для ультразвукового облучения использовали ультразвуковой наконечник факоэмульсификатора фирмы Bausch & Lomb Millenniumtm Microsurgical System REF CX6000. Кроме того, исследовали влияние свободнорадикальных форм кислорода на метаболизм эндотелия роговой оболочки. В гомогенатах роговицы определяли активность ферментов: Na+,K+-АТФазы, цитохром-С-оксидазы, супероксиддисмутазы, лактатдегидрогеназы и малатдегидрогеназы.

Исследования влияния ультразвуковой энергии на эндотелий роговицы in vivo проведены на 18 экспериментальных животных. В отдельной серии эксперимента за сутки до ультразвукового влияния продолжительностью 10 секунд животные получали в качестве антиоксиданта препарат липоевой кислоты "Берлитион". В качестве прооксиданта, обеспечивающего дополнительную генерацию гидроксильного радикала, использовали 0,5 мМ р-р сульфата железа. В эндотелии роговой оболочки определяли активность мембраносвязанных ферментов: Na+,K+-ATФaзы, цитохром-С-оксидазы и связанной формы кислой фосфатазы.

В клинике ультразвуковая факоэмульсификация возрастной катаракты проведена 76 пациентам. Обследование больных включало визометрию, тонометрию, биомикроскопию, ультразвуковую биометрию, рефрактометрию, офтальмоскопию. Исследования хрусталика проводили в диффузном, прямом и проходном свете, оценивая плотность ядра хрусталика до операции, выраженность послеоперационной воспалительной реакции и отек роговицы по разработанной нами условной шкале. У всех больных определяли показатели светорассеивания роговицы с помощью прямого компенсаторного метода. Послеоперационная схема ведения больных включала офтаквикс, индоколир, макситрол, дексаметазон в инстилляциях, корнерегель. Кроме того, пациенты основной группы за трое суток до операции и на протяжении 7 суток после операции получали перорально препарат липоевой кислоты "Берлитион" по 300 мг 2 раза в сутки.

Іn vitro установлено снижение в эндотелии роговицы активности Na+,К+-АТФазы на 45,6%, цитохром-С-оксидазы на 33,3%, малатдегидрогеназы на 14,8%, а также лабилизация мембран лизосом (связанная активность кислой фосфатазы снижена на 39,3%) под влиянием ультразвука, который излучает наконечник факоэмульсификатора. Впервые показано, что в этих условиях наиболее снижается активность Na+,K+-АТФазы эндотелия (на 45,6%) **-** главного звена, которое обеспечивает осмотический гомеостаз роговой оболочки.

In vitro впервые показано, что гидроксильные радикалы при действии на эндотелий роговицы проявляют наиболее выраженный ингибирующий эффект на активность Na+,K+-АТФазы, цитохром-С-оксидазы и супероксиддисмутазы, которая снижена на 40,0%, 30,9% и 26,3% соответственно, что является одним из звеньев механизма повреждающего влияния ультразвуковой энергии на эндотелий роговицы.

Впервые іn vitro показано, что дополнительная генерация гидроксильного радикала с помощью прооксиданта - ионов двухвалентного железа существенно повышает повреждающее действие ультразвуковой энергии на мембраносвязанные ферменты эндотелия роговицы, что проявляется снижением активности цитохром-С-оксидазы на 24,3%, связанной активности кислой фосфатазы на 29,8%, Na+,К+-АТФазы на 40,1% по сравнению с данными без использования прооксиданта.

In vivo установлено, что при увеличении времени действия ультразвукового фактора значительно повышается степень ингибирования активности мембранных ферментов (цитохром-С-оксидазы и Na+,К+-АТФазы) и снижается стабильность лизосомальных мембран: при длительности ультразвукового влияния 5 и 10 секунд снижение активности цитохром-С-оксидазы составляло 12,8% и 25,4%, Na+,К+-АТФазы 25,0% и 35,0%, а связанной активности кислой фосфатазы - 20,6% и 50,1% соответственно.

В эксперименте іn vivo доказана возможность снижения повреждающего влияния ультразвуковой энергии на активность мембраносвязанных ферментов и стабильность мембран лизосом эндотелия роговицы с помощью препарата липоевой кислоты, о чем свидетельствует повышение активности Na+,К+-АТФазы на 25,6%, цитохром-С-оксидазы на 20,0% и связанной активности кислой фосфатазы на 38,8% в сравнении с данными без использования антиоксиданта.

При проведении факоэмульсификации возрастной катаракты применение антиоксидантного препарата липоевой кислоты "Берлитион" способствует снижению выраженности отека роговицы на 28,7% на 3 сутки после операции (по данным светорассеивания роговицы).

Применение препарата липоевой кислоты "Берлитион" при проведении факоэмульсификации возрасной катаракты в дозе 300 мг 2 раза в сутки перорально за 3 суток до и на протяжении 7 суток после операции позволяет снизить степень повреждающего действия ультразвуковой энергии на эндотелий роговой оболочки, что характеризуется достоверным снижением интенсивности воспалительной реакции, а также увеличением количества больных с отсутствием признаков воспалительной реакции по показателям "перикорнеальная инъекция" на 35,8%, "раздражение конъюнктивы" - на 32,7%, "ощущение инородного тела" - на 31,4%, а также способствует более быстрому восстановлению зрительных функций в послеоперационном периоде.

**Ключевые слова:** эндотелий роговицы, факоэмульсификация возрастной катаракты, ультразвук, свободные радикалы, антиоксидант берлитион.

**SUMMARY**

**Konstantynova V.K. Postoperative keratopathy prophylaxis**. - Manuscript.

Thesis for a candidate’s degree by speciality 14.01.18 - оphthalmology. - State institution "The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy, Academy of Medical Sciences of Ukraine", Odessa, 2008.

The thesis is devoted to postoperative keratopathy prophylaxis by antioxidant preparation on basis of oxygen free radical form’s detection in mechanism of ultrasonic energy’s damaging effect on corneal endothelium in case of senile cataract phacoemulsification. In vitro the activity decreasing was established in corneal endothelium and lysosomal membranes as follows: Na+,К+-ATPhase - 45,6%, cytochrome-C-oxidase - 33,3%, malatedehydrogenase for 14,8%; lysosomal membranes labilization (decreasing activity of acid phosphatase bound activity on 39?3%) under ultrasound influence, which phacoemulsificator tip radiates, was determined too. Additional hydroxyl radical generation intensifies ultrasound action, which associates by decrease cytochrome-C-oxidase action on 24,3%, acid phosphatase bound activity on 29,8%, Na+,К+-ATPhase on 40,1% as compared with data without prooxidant. In vivo the possibility of ultrasound damaging effect reduction was proved using lipoic acid, associated with increased activities of Na+,К+- ATPhase on 25,6%, cytochrome-C-oxidase activity on 20,0% and acid phosphatase bound on 38,8% in corneal endothelium. Application of preparation “Berlition” in complex treatment of patients with senile cataract decreases inflammations, corneal edema, also promotes more rapid visual function restoration.

**Key words:** cornea endothelium, age cataract phacoemulsification, ultrasound, free radicals, antioxidant berlition.

1. Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>