

© Коллектив авторов, 2013
УДК 617.713-003.93:616-008.9

РОЛЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ПАТОГЕНЕЗЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЯЗВЫ РОГОВИЦЫ

А.В. Щулькин, А.В. Колесников, О.И. Баренина, М.Н. Николаев, А.А. Никифоров

Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, г. Рязань

В статье рассмотрены современные представления о роли свободно-радикальных процессов в физиологии роговицы и микроорганизмов. Обсуждается роль окислительного стресса в патогенезе бактериальной язвы роговицы. Делается обзор исследований по применению антиоксидантов для лечения бактериальной язвы.

Ключевые слова: окислительный стресс, антиоксиданты, бактериальная язва роговицы.

Слепота и слабовидение являются одной из наиболее важных и социально значимых проблем медицины. Согласно последним данным, число людей со слабовидением во всем мире составляет примерно 285 миллионов. Из них 39 миллионов – это люди со снижением зрения до 10–20% от оптимального. При этом инфекционные заболевания роговицы – это одна из главных причин резкого снижения зрения, как во всем мире, так и в развитых странах в частности [19]. Данные обстоятельства делают необходимым разработку оптимизированных подходов к фармакотерапии данной патологии, что невозможно сделать без детального изучения их патогенеза. В настоящее время важное значение в развитии многих заболеваний придают свободно-радикальным процессам. В данном обзоре рассматривается роль продукции свободных радикалов в патогенезе бактериальной язвы роговицы.

Роговица и окислительный стресс

Роговица представляет собой прозрачную аваскулярную ткань, что позволяет ей пропускать свет к заднему отрезку глаза. Эта ткань постоянно подвергается воздействию всего спектра света, в том числе и ультрафиолетового (УФ) диапазона. УФ свет является известным эколо-

гическим фактором, который способствует образованию свободных радикалов [25]. Роговица, поглощает большую часть УФ света, попадающего на глаз, что приводит к воздействию на ткани роговицы свободных радикалов.

В здоровой роговице эволюционно выработался ряд защитных механизмов препятствующих вредному воздействию активных форм кислорода. Установлено, что 20-40% растворимых белков роговицы приходится на альдегиддегидрогеназы (ALDH3), которые непосредственно поглощают УФ свет и инактивируют цитотоксические альдегиды (в том числе малоновый диальдегид), образующиеся в результате УФ индуцированного перекисного окисления липидов [10]. Кроме того, установлено, что альдегиддегидрогеназа является поставщиком НАДН в роговице, который является поставщиком протонов, необходимых для функционирования антиоксидантных ферментов [13].

Исследования на животных показали, что альдегиддегидрогеназа играет важную роль в защите роговицы от УФ-света. Мыши с недостаточностью данного фермента особенно восприимчивы к УФ-индуцированной патологии [18].

Помимо этого, роговица богата антиоксидантными ферментами, такими как

супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза и глутатионредуктаза, а также низкомолекулярными антиоксидантами – аскорбиновой кислотой, глутатионом, витамином Е, ферритином, которые участвуют в защите роговицы от свободных радикалов [8].

Из них, наибольшую роль в антиоксидантной защите, как было показано, играет аскорбиновая кислота (содержится в высоких концентрациях в центре роговицы, прямо напротив зрачка) и супероксиддисмутаза. Каталаза и глутатионпероксидаза играют второстепенную роль [21]. Однако, при развитии окислительного стресса, сначала снижается активность каталазы, затем, глутатионпероксидазы, и в конце супероксиддисмутаза, тем самым увеличивая содержание H_2O_2 , и вызванное им повреждение роговицы [25]. Причем снижение активности супероксиддисмутаза предшествует повышению уровня малонового диальдегида – конечного продукта перекисного окисления липидов [20].

Недавно обнаружено, что ряд белков, выделенных в роговице и названных кристаллинами из-за высокой гомологии с белками хрусталика, помимо структурной функции еще участвует и в защите роговицы от свободных радикалов. В частности показано, что кристаллины могут самостоятельно связывать свободные радикалы, а также продуцировать НАДФН [24].

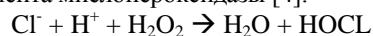
Окислительный стресс при бактериальном кератите

При бактериальном кератите в роговице можно выделить две основные группы источников свободных радикалов – экзогенные и эндогенные. Из экзогенных генераторов свободных радикалов, как и в здоровой роговице, основную роль играет ультрафиолетовое излучение солнечного света [22]. Повреждение эпителия роговицы, развитие воспалительного процесса значительно снижает активность антиоксидантной системы эпителия, что приводит к чрезмерной генерации активных форм кислорода и, как следствие, к развитию окислительного стресса.

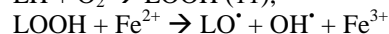
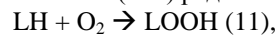
К эндогенным источникам свободных радикалов относятся макрофаги крови, инфильтрирующие ткань роговицы при воспалении [12], а также моноциты, нейтрофилы, эозинофилы, эндотелиальные, гладкомышечные и другие клетки [6]. В них в ходе функционирования НАДФН₂-оксидазного комплекса, молекула кислорода восстанавливается за счет НАДФН₂ до супероксидного анион-радикала:



Другой мощный эндогенный окислитель – хлорноватистая кислота (НОСl) – образуется в процессе активации нейтрофилов-микрофагов и моноцитов-макрофагов в результате функционирования фермента миелопероксидазы [4]:



Кроме того, при воспалении, в ходе образования арахидоновой кислоты, при действии фосфолипаз и ее метаболизма через цикло – и липоксигеназные пути, при синтезе простагландинов и лейкотриенов, происходит образование активных форм кислорода, в том числе, наиболее короткоживущего и токсичного гидроксилрадикала [4]. Синтезируемые при липоксигеназном окислении липидные гидропероксиды также могут легко разлагаться с образованием агрессивных алкоксильных (LO^{\cdot}) радикалов:



Активные формы кислорода вызывают непосредственное повреждение стромальных гликозаминогликанов с последующим нарушением их свойств [9], что приводит, в конечном итоге, к разрушению роговицы и язвообразованию [16].

После атаки стромальных гликозаминогликанов активными формами кислорода они становятся менее устойчивыми к протеолизу тканевыми ферментами и фагоцитирующими клетками. В норме тройная спиральная структура коллагена, основного структурного вещества роговицы, резистентна к деградации большинства протеаз. Активные формы кислорода вызывают окислительную деградацию коллагеновых фибрилл типа I, что является первым этапом разрушения

коллагена, а на втором происходит энзиматический протеолиз этих окисленно-модифицированных молекул [17].

Исходя из изложенного, становится понятным целесообразность применения антиоксидантов при гнойной язве роговицы.

В то же время на культуре клеток роговичного эпителия и клеток хрусталика показано, что H_2O_2 в низких концентрациях стимулирует рост и заживление эпителиальных клеток роговицы с активацией EGF-рецептора и снижением активности Src (pY416), FAK (Y576) и vinculin (Y1065) [23].

Применение антиоксидантов при гнойной язве роговицы

В настоящее время известно достаточно большое количество антиоксидантных лекарственных препаратов, которые воздействуют как на разные свободные радикалы, так и на разные этапы развития окислительного стресса.

Учитывая одну из ведущих ролей супероксиддисмутазы (СОД) в антиоксидантной системе защиты роговицы, изучению применения препаратов именно на ее основе посвящено большое количество исследований.

При местном применении 0,2% раствора супероксиддисмутазы, при кератите, вызванном аппликацией 1 нормального раствора гидроксида натрия, происходило ускорение заживления повреждения роговицы, что дало возможность авторам сделать вывод об ее положительном влиянии [7].

Но применение теми же авторами 0,2% раствора супероксиддисмутазы при экспериментальной гнойной язве, вызванной *Staphylococcus aureus* на фоне снижения выраженности окислительного стресса, определяемого по хемилюминесценции люминола, приводило к усилению инфильтрации роговицы и существенно не влияло на клиническое течение репаративных процессов [11].

С другой стороны, в исследовании ряда авторов [15] применение препаратов СОД улучшало течение кератита у морских свинок, вызванного *Pseudomonas aeruginosa* в течение первых 6 дней, предотвращая пе-

нетрацию роговицы, и уменьшая повреждение эпителия под воздействием полиморфноядерных лейкоцитов.

Аналогичные результаты получены и в исследовании [14], при применении препаратов СОД и ацетилированной СОД (дольше удерживается на поверхности клеток) при экспериментальном кератите, вызванном липополисахаридом. На фоне введения антиоксидантов происходило снижение воспаления только в течение 6 дней эксперимента, в остальные сроки данный показатель от значений контроля не отличался.

Роль антиоксидантов в жизнедеятельности бактерий

Окислительный стресс – важнейший экологический стимул для многих патогенных бактерий. В течение инфекционного процесса бактерии часто подвергаются воздействию реактивных форм кислорода, продуцируемых неспецифической иммунной системой хозяина. Для выживания в условиях как макроорганизма, так и окружающей среде резистентность к реактивным формам кислорода является важной характеристикой для выживания.

Разные ферменты, участвующие в нейтрализации свободных радикалов, такие, как каталаза, пероксидаза, супероксиддисмутаза (СОД) и т. п., защищают микроорганизмы от экзогенных и эндогенных свободных радикалов. После внедрения в организм микроорганизмы сталкиваются с первой линией защитной системы организма – неспецифическими факторами иммунитета, одним из которых является фагоцитоз. При этом фагоциты уничтожают поглощенные микроорганизмы с помощью свободных кислородных радикалов, таких как супероксидный ион, гидроксильный радикал, синглетный кислород, оксид азота и др. Они же, в свою очередь, могут нейтрализоваться антиоксидантной системой микроорганизмов, в частности каталазой и СОД. Таким образом, микроорганизмы приобретают резистентность и адаптацию к характерному для фагоцитов окислительному стрессу, вследствие чего они выживают в очаге воспаления, а нередко и внутри фагоцитов [2, 5].

Установлено также, что в ходе инфекционного процесса (при переходе из фазы альтерации к фазе персистенции) активность СОД и каталазы-пероксидазы *S. Aureus* увеличивается. Это указывает на важную роль данных ферментов в устойчивости стафилококков к кислородозависимым бактерицидным механизмам нейтрофильных фагоцитов [1].

Так, для штаммов *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Candida albicans*, обладающих максимальной активностью каталазы и СОД, характерна относительно высокая выживаемость внутри макрофагов по сравнению со штаммами с минимальной активностью этих ферментов [3].

Таким образом, развитие бактериальной гнойной язвы сопровождается активацией продукции активных форм кислорода, что на начальных этапах носит защитный характер, направленный на ликвидацию чужеродных микроорганизмов. Но чрезмерная продукция активных форм кислорода приводит и к повреждению ткани роговицы, что проявляется, в конце концов, образованием язвенного дефекта. Поэтому, применение современных антиоксидантов в комплексной терапии инфекционных заболеваний должно носить таргетный (целевой) характер, направленный на подавление повреждений и стимуляцию репарации тканей макроорганизмов с одной стороны и ослабление защитных механизмов микроорганизмов с другой. Разработка оптимизированной патогенетически ориентированной схемы применения антиоксидантов при гнойной язве роговицы позволит существенно улучшить течение патологического процесса, а также снизить риски тяжёлых осложнений, приводящих к слепоте.

Литература

1. Брудастов Ю.А. Активность каталазы и супероксиддисмутаза *staphylococcus aureus* при их персистировании в макроорганизме / Ю.А. Брудастов, Т.С. Сборец, Д.Г. Дерябин // Журн. микробиологии. – 2001. – № 2. – С. 13-16.
2. Курбанов А.И. Антиоксидантные ферменты микроорганизмов как потенциальные факторы патогенности / А.И. Курбанов // Междунар. мед. журн. – 2009. – №1. – С. 136-139.
3. Курбанов А.И. Роль каталазы и супероксиддисмутаза микроорганизмов при их фагоцитозе макрофагальными клетками / А.И. Курбанов, З.О. Караев // Биомед. – 2005. – № 3. – С. 44-45.
4. Ланкин В.З. Свободнорадикальные процессы в норме и при заболеваниях сердечно-сосудистой системы / В.З. Ланкин, А.К. Тихазе, Ю.Н. Беленков. – М.: РКНПК МЗ РФ, 2001. – 78 с.
5. Рябиченко Е.В. Роль активных форм кислорода, генерируемых фагоцитами, в патогенезе заболеваний / Е.В. Рябиченко, В.М. Бондаренко, В.В. Рябиченко // Журн. микробиологии. – 2000. – № 4. – С. 65-71.
6. Amanso A.M. Differential roles of NADPH oxidases in vascular physiology and pathophysiology / A.M. Amanso, K.K. Griendling // Front. Biosci. – 2012. – Vol. 1, №4. – P. 1044-1064.
7. Antioxidant therapy in the treatment of experimental acute corneal inflammation / J.L. Alio [et al.] // Ophthalmic. Res. – 1995. – Vol. 27, № 3. – P. 136-143.
8. Cabrera M.P. Antioxidants and the Integrity of Ocular Tissues / M.P. Cabrera, R.H. Chihuailaf // Veter. Med. Inter. – 2011. – URL: <http://ukpmc.ac.uk/articles/PMC3140028/>.
9. Carubelli R. Role of active oxygen species in corneal ulceration. Effect of hydrogen peroxide generated in situ / R. Carubelli, R.E. Nordquist, J.J. Rowsey // Cornea. – 1990. – Vol. 9, № 2. – P. 161-169.
10. Detection of aldehyde dehydrogenase activity in human corneal extracts / T.D. Gondhowiardjo [et al.] // Curr. Eye. Res. – 1991. – Vol. 10. – P. 1001-1007.
11. Effect of topical antioxidant therapy on experimental infectious keratitis / J.L. Alio [et al.] // Cornea. – 1995. – Vol. 14, № 2. – P. 175-179.
12. Effects of topical vitamin E on corneal superoxide dismutase, glutathione peroxidase activities and polymorphonuclear

- leucocyte infiltration after photorefractive keratectomy / A. Bilgihan [et al.] // *Act. Ophthalmol. Scand.* – 2003. – Vol. 81, № 2. – P. 177-180.
13. Effect of UVB radiation on corneal aldehyde dehydrogenase / L. Uma [et al.] // *Curr. Eye Res.* – 1996. – Vol. 15, № 6. – P. 685-690.
14. Inhibition of Corneal Inflammation by an Acylated Superoxide Dismutase Derivative / E. Ando [et al.] // *Inves. Ophthalm. Visual. Sc.* – 1990. – Vol. 31, № 10. – P. 1963-1967.
15. Lecithin-bound superoxide dismutase in the prevention of neutrophil-induced damage of corneal tissue / K. Matsumoto [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 1998. – Vol. 39, № 1. – P. 30-35.
16. Ma J. Mechanisms of corneal ulceration / J. Ma, C. Dohlman // *Ophthalmol. Clin. North. Am.* – 2002. – Vol. 15, № 1. – P. 27-33.
17. Mukhopadhyay C.K. Free metal ion-independent oxidative damage of collagen. Protection by ascorbic acid / C.K. Mukhopadhyay, I.B. Chatterjee // *J. Biol. Chem.* – 1994. – Vol. 269, № 48. – P. 30200-30205.
18. Pappa A. Corneal and stomach expression of aldehyde dehydrogenases: from fish to mammals / A. Pappa, N.A. Sophos, V. Vasiliou // *Chem. Biol. Interact.* – 2001. – Vol. 130-132. – P. 181-191.
19. Pascolini D. Global estimates of visual impairment: 2010 / D. Pascolini, S.P. Mariotti // *Br. J. Ophthalm.* – 2012. – Vol. 96, № 5. – P. 614-618.
20. Qian Y. The role of oxygen free radical in experimental keratitis / Y. Qian, J. Wu // *Zhonghua. Yan. Ke. Za. Zhi.* – 1998. – Vol. 34, № 2. – P. 149-151.
21. Ringvold A. Distribution of ascorbate in the anterior bovine eye / A. Ringvold, E. Anderssen, I. Kjonniksen // *Invest. Ophthalm. Vis. Sc.* – 2000. – Vol. 41, № 1. – P. 20-23.
22. Superoxide dismutase isoenzymes in the normal and diseased human cornea / A. Behndig [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2001. – Vol. 42, № 10. – P. 2293-2296.
23. The physiological role of reactive oxygen species (ROS) in lens and corneal epithelial cells / M. Lou [et al.] // *Act. Ophthalm.* – 2011. – Vol. 89, Is. 248.
24. The role of corneal crystallins in the cellular defense mechanisms against oxidative stress / N. Lassen [et al.] // *Semin. Cell. Develop. Biol.* – 2008. – Vol. 19, Is. 2. – P. 100-112.
25. UV rays, the prooxidant/antioxidant imbalance in the cornea and oxidative eye damage / S. Čejková [et al.] // *Physiol. Res.* – 2004. – Vol. 53, № 1. – P. 1-10.

THE ROLE OF OXIDATIVE STRESS IN THE PATHOGENESIS OF THE BACTERIAL CORNEAL ULCER

A.V. Shchulkin, A.V. Kolesnikov, O.I. Barenina, M.N. Nikolaev, A.A. Nikiforov

In the article the current ideas of a role of free radical processes in physiology of a cornea and microorganisms are surveyed. The role of an oxidative stress in the pathogenesis of the bacterial corneal ulcer is discussed. The review of researches on the application of antioxidants for treatment of a bacterial ulcer is done.

Key words: *oxidative stress, antioxidants, bacterial corneal ulcer.*

Колесников Александр Вячеславович – канд. мед. наук, доцент кафедры глазных и ЛОР-болезней.

E-mail: kolldoc@mail.ru.

Работа выполнена при поддержке гранта президента РФ № МК-4993.2012.7