

Б. С. КАСАВИНА, Т. В. УХИНА, Т. К. ДЕМИНА

МЕМБРАНЫ ЛИЗОСОМ ТКАНЕЙ ГЛАЗА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НЕКОТОРЫХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

(Представлено академиком А. И. Опариным 4 VIII 1975)

Многие патологические состояния органа зрения связаны, как известно, с нарушением состояния мембран и изменением активности и локализации лизосомальных ферментов ⁽¹⁾. За последние годы было показано, что некоторые вещества, в частности гормоны, могут вызывать подобные изменения, действуя на лизосомальные гидролазы ⁽²⁾. В настоящее время для лечения заболеваний органа зрения применяется целый ряд лекарственных препаратов, действие которых на лизосомы не изучено.

Задачей настоящей работы явилось исследование влияния некоторых биологических активных веществ на состояние лизосомальных мембран тканей глаза.

Для исследования взяты четыре биологически активных вещества: α -токоферол, простагландин $F_{2\alpha}$, АТФ и глюконат кальция. Все четыре препарата влияют на состояние мембран, причем два из них (АТФ и глюконат кальция) применяются в офтальмологии.

Работа была проведена на 110 кроликах-самцах породы шиншилла весом 2–2,5 кг. Препараты вводили внутрибрюшинно в следующих дозах (на кг веса): токоферол 10 мг, АТФ 120 мг, глюконат кальция 40 мг. Простагландин вводили внутривенно в дозе 20 мкг на 1 кг веса. Животных забивали через 1 час после введения препарата. Определяли общую и свободную активности β -галактозидазы и β -глюкозидазы, а также активность гиалуронидазы в склере, роговице, цилиарном теле, камерной влаге и стекловидном

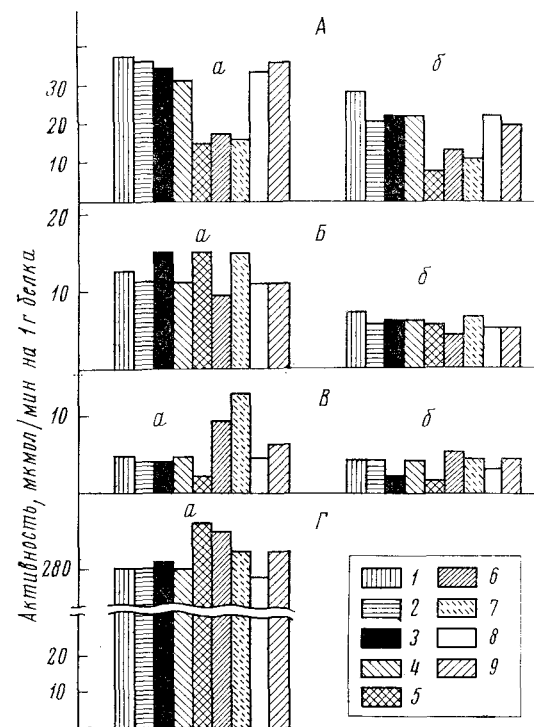


Рис. 1. Влияние фармакологических веществ на активность гиалуронидазы в роговице (А), склере (Б), цилиарном теле (В) и камерной влаге (Г). а — активность гиалуронидазы в гомогенатах, б — во фракциях. 1 — контроль, 2 — токоферол, 3 — токоферол и ДОКСА, 4 — АТФ, 5 — АТФ и ДОКСА, 6 — простагландин $F_{2\alpha}$, 7 — простагландин $F_{2\alpha}$ и ДОКСА, 8 — глюконат кальция, 9 — глюконат кальция и ДОКСА

геле. Также были поставлены опыты с совместным введением исследуемых веществ с дезоксикортикостеронацетатом (ДОКСА) и контрольные опыты с внутрибрюшинным и внутривенным введением кроликам физиологического раствора.

Методы определения активностей ферментов и фракционирования указаны в предыдущих работах ⁽³⁻⁵⁾. В табл. 1 и на рис. 1 приведены статистически достоверные ($P < 0,05$) результаты опытов по влиянию

Таблица 1

Влияние фармакологических веществ на активность гликозидаз некоторых тканей глаза ($M \pm m$)

	Контроль	Токоферол	АТФ	Простагландин P _{2a}	Глюконат кальция
Роговица					
β -Галактозидаза					
общая	$0,79 \pm 0,09$ $0,42 \pm 0,03$	$0,79 \pm 0,01$ $0,39 \pm 0,03$	$0,64 \pm 0,01$ $0,31 \pm 0,01$	$0,56 \pm 0,05$ $0,30 \pm 0,01$	$0,90 \pm 0,06$ $0,43 \pm 0,01$
свободная	$0,72 \pm 0,01$ $0,39 \pm 0,01$	$0,69 \pm 0,05$ $0,43 \pm 0,03$	$0,55 \pm 0,05$ $0,23 \pm 0,02$	$0,50 \pm 0,02$ $0,28 \pm 0,02$	$0,75 \pm 0,03$ $0,32 \pm 0,01$
β -Глюкозидаза					
общая	$0,68 \pm 0,01$ $0,42 \pm 0,03$	$0,67 \pm 0,02$ $0,40 \pm 0,01$	$0,64 \pm 0,03$ $0,39 \pm 0,03$	$0,32 \pm 0,01$ $0,26 \pm 0,01$	$0,67 \pm 0,01$ $0,40 \pm 0,02$
свободная	$0,40 \pm 0,05$ $0,25 \pm 0,01$	$0,44 \pm 0,04$ $0,25 \pm 0,01$	$0,36 \pm 0,05$ $0,26 \pm 0,03$	$0,16 \pm 0,02$ $0,11 \pm 0,01$	$0,41 \pm 0,10$ $0,15 \pm 0,03$
Склера					
β -Галактозидаза					
общая	$2,40 \pm 0,03$ $1,30 \pm 0,05$	$2,10 \pm 0,04$ $1,00 \pm 0,02$	$2,10 \pm 0,10$ $0,96 \pm 0,05$	$1,36 \pm 0,03$ $0,70 \pm 0,05$	$2,67 \pm 0,06$ $1,40 \pm 0,06$
свободная	$2,40 \pm 0,06$ $1,20 \pm 0,06$	$2,10 \pm 0,04$ $0,83 \pm 0,02$	$1,80 \pm 0,06$ $1,00 \pm 0,10$	$1,36 \pm 0,05$ $0,90 \pm 0,03$	$2,40 \pm 0,03$ $1,00 \pm 0,10$
β -Глюкозидаза					
общая	$0,98 \pm 0,01$ $0,53 \pm 0,01$	$0,96 \pm 0,05$ $0,55 \pm 0,02$	$0,77 \pm 0,03$ $0,33 \pm 0,10$	$0,65 \pm 0,04$ $0,33 \pm 0,02$	$0,99 \pm 0,05$ $0,60 \pm 0,01$
свободная	$0,30 \pm 0,01$ $0,16 \pm 0,01$	$0,30 \pm 0,02$ $0,16 \pm 0,02$	$0,34 \pm 0,15$ $0,15 \pm 0,08$	$0,34 \pm 0,05$ $0,20 \pm 0,01$	$0,40 \pm 0,03$ $0,25 \pm 0,01$
Цилиарное тело					
β -Галактозидаза					
общая	$1,20 \pm 0,01$ $0,80 \pm 0,01$	$1,17 \pm 0,06$ $0,84 \pm 0,04$	$1,10 \pm 0,20$ $0,68 \pm 0,02$	$1,40 \pm 0,03$ $0,70 \pm 0,01$	$1,45 \pm 0,10$ $0,75 \pm 0,03$
свободная	$0,76 \pm 0,01$ $0,51 \pm 0,01$	$0,87 \pm 0,01$ $0,37 \pm 0,01$	$0,68 \pm 0,03$ $0,41 \pm 0,10$	$0,90 \pm 0,05$ $0,62 \pm 0,02$	$0,87 \pm 0,02$ $0,41 \pm 0,03$
β -Глюкозидаза					
общая	$1,10 \pm 0,07$ $0,67 \pm 0,10$	$1,00 \pm 0,20$ $0,74 \pm 0,01$	$1,10 \pm 0,08$ $0,74 \pm 0,01$	$1,25 \pm 0,10$ $0,52 \pm 0,02$	$1,24 \pm 0,05$ $0,60 \pm 0,03$
свободная	$0,35 \pm 0,01$ $0,23 \pm 0,02$	$0,3 \pm 0,01$ $0,20 \pm 0,02$	$0,34 \pm 0,04$ $0,28 \pm 0,01$	$0,50 \pm 0,06$ $0,20 \pm 0,01$	$0,37 \pm 0,02$ $0,20 \pm 0,02$

Примечание. Приведены средние из результатов 6—8 опытов. Над чертой — активность гликозидаз в гомогенате, под чертой — активность гликозидаз в лизосомальной фракции.

исследуемых веществ на ткани глаза. Оказалось, что испытанные препараты действуют на мембраны лизосом исследуемых тканей органа зрения по-разному. Введение токоферола не вызывает изменения активности β -глюкозидазы во всех исследованных тканях, а также активности β -галактозидазы в роговице; однако в склере и цилиарном теле свободная активность β -галактозидазы по сравнению с контролем уменьшается, причем в цилиарном теле это снижение выражено сильнее. Активность гиалуронидазы при воздействии токоферола практически не изменяется ни в гомогенате, ни в лизосомах склеры и цилиарного тела, тогда как в лизосомах роговицы она уменьшается. По-видимому, это свидетельствует о том, что токоферол может способствовать связыванию β -галактозидазы с мембраной лизосомы склеры и цилиарного тела. Однако при совместном введении токоферола и ДОКСА, который, как нами было показано (⁵),

лабилизирует лизосомальные мембраны тканей глаза, активность изучаемых гликозидаз во всех исследуемых тканях мало отличается от контрольных значений. Очевидно, токоферол может играть определенную роль в защите мембран лизосом от лабилизирующего влияния некоторых агентов, в данном случае ДОКСА.

В отличие от токоферола, простагландин $F_{2\alpha}$ вызывает лишь некоторое снижение активности β -галактозидазы в роговице и незначительное повышение свободной активности этого фермента в цилиарном теле. В склере активность β -галактозидазы снижается, но возрастает процент свободной активности к общей, что говорит об уменьшении связывания этого фермента с лизосомальными мембранами склеры. Активности β -гликозидазы изменяются аналогично. Гиалуронидазная активность уменьшается в склере и роговице и увеличивается в цилиарном теле. Под влиянием простагладина $F_{2\alpha}$ появляется активность β -галактозидазы и β -гликозидазы в стекловидном теле и камерной влаге (до 0,4 мкмоль/мин на 1 г белка), не обнаруживаемая там в норме. При этом активность гиалуронидазы появляется в стекловидном теле (до 2,5 мкмоль/мин на 1 г белка), а в камерной влаге она увеличивается до 290 мкмоль/мин на 1 г белка. Исходя из полученных результатов, можно предположить, что простагландин $F_{2\alpha}$ действует, в основном, стабилизирующе на мембраны лизосом роговицы и лабилизирующе на мембраны склеры и цилиарного тела, а также увеличивает их проницаемость. При совместном введении простагландина $F_{2\alpha}$ и ДОКСА активности ферментов отличаются от нормы гораздо меньше, чем при действии только одного ДОКСА.

Как показали опыты с АТФ, этот препарат не вызывает значительных изменений активностей ферментов. Однако при совместном введении АТФ и ДОКСА наблюдается снижение гиалуронидазы в цилиарном теле и повышение ее в роговице и склере. При этом происходит также выброс свободных гликозидаз во влагу и стекловидное тело, чем можно, вероятно, объяснить снижение гиалуронидазы в цилиарном теле. По-видимому, АТФ может стимулировать лабильзацию лизосомальных мембран и повышение их проницаемости, происходящее под воздействием ДОКСА. Также под действием АТФ происходит усиление влияния простагландина на ткани глаза. Это выявляется в опытах с совместным введением простагландина $F_{2\alpha}$ и АТФ. При введении кроликам глюконата кальция обнаруживается увеличение связывания β -галактозидазы с мембраной лизосом склеры, роговицы и цилиарного тела, а также увеличение прочности связи с лизосомальной мембраной роговицы и уменьшение ее в склере. При совместном введении глюконата кальция и ДОКСА активности гликозидаз почти не отличаются от нормы. Таким образом, в результате проведенных опытов оказалось, что испытанные вещества можно, по-видимому, разделить на три группы: вещества, непосредственно действующие на мембраны, стабилизирующие их или лабилизирующие (простагландин $F_{2\alpha}$ и глюконат кальция); вещества, защищающие мембраны от лабилизирующего влияния некоторых других препаратов (токоферол); вещества, являющиеся, вероятно, посредниками в действии на мембраны других препаратов (АТФ).

Полученные данные, по-видимому, могут способствовать изучению некоторых аспектов механизма действия различных лекарственных препаратов на мембраны тканей.

Московский научно-исследовательский институт глазных болезней им. Гельмгольца

Поступило
16 VII 1975

ЛИТЕРАТУРА

- ¹ R. von Nilius, Wien Zs. Med. Ihre Grenzgeb., v. 51, 572 (1970). ² E. M. Burden, C. M. Yates, Exp. Eye Res., v. 12, 159 (1971). ³ Б. С. Касавина, В. М. Дронова, Н. И. Кислякова, ДАН, т. 218, № 1, 230 (1974). ⁴ B. S. Kassavina, N. B. Chesnokova, Exp. Eye Res., v. 15, 1 (1973). ⁵ Б. С. Касавина, Т. В. Ухина, Т. К. Демина, ДАН, т. 222, № 1, 236 (1975).