

СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ КЛЕТОЧНОЙ ЭНЕРГЕТИКИ В ОФТАЛЬМОЛОГИИ

Ильмира Рифовна Газизова*

Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа

Реферат

Нарушение функций митохондрий, отвечающих за энергетический метаболизм клетки, играет важную роль в развитии многих заболеваний органа зрения. Среди болезней органа зрения с доказанной митохондриальной патологией выделяют болезнь Лебера, связанную с мутациями митохондриальной дезоксирибонуклеиновой кислоты. В статье представлен обзор литературных данных об изысканиях современных способов и средств коррекции нарушения функций митохондрий при воспалительных и нейродегенеративных глазных заболеваниях. Описаны потенциальные методы заместительной терапии и защиты митохондрий от агрессивного воздействия свободных радикалов. При помощи генных технологий достигают повышения количества ферментов антиоксидантной защиты в клетках сетчатки глаза. Современные авторы делают акцент на возможностях применения митохондриально-адресованных антиоксидантов. В эксперименте исследовали возможность контроля основных звеньев апоптозного каскада и сокращения гибели ганглионарных клеток сетчатки при помощи генной терапии. Восстановление баланса кальция и мембранного потенциала митохондрий при явлении эксайтотоксичности показано при использовании блокаторов кальциевых каналов. Самым перспективным направлением в коррекции нарушений клеточной энергетики в офтальмологии мы считаем генную терапию дисфункции митохондрий.

Ключевые слова: клеточная энергетика, митохондрии, глазные болезни, генная терапия, апоптоз, окислительный стресс, эксайтотоксичность.

MODERN POSSIBILITIES FOR CORRECTION OF DISTURBANCES OF CELLULAR ENERGETICS IN OPHTHALMOLOGY *I.R. Gazizova, Bashkir State Medical University, Ufa, Russia.* Disturbances in the mitochondrial functions that are responsible for energy metabolism of the cell, plays an important role in the development of many diseases of the eye. Among diseases of the vision organ the one with sufficient evidence of mitochondrial pathology is Leber's release, which is associated with mutations of the mitochondrial deoxyribonucleic acid. This article provides an overview of the published literature on the research investigations of modern methods and means of correction of mitochondrial dysfunction during inflammatory and neurodegenerative diseases of the eye. Describe were the potential methods of replacement therapy and protection of mitochondria from the aggressive effects of free radicals. With the help of gene technology an increase in the number of antioxidant enzymes in the cells of the retina can be achieved. Recent authors have focused on the possibility of using mitochondria-targeted antioxidants. The possibility of controlling the main links of the apoptotic cascade and reducing the loss of retinal ganglion cells using gene therapy has been investigated in an experiment. Restoration of the balance of calcium and mitochondrial membrane potential in the phenomenon of excitotoxicity has been shown by using calcium channel blockers. We believe that gene therapy of mitochondrial dysfunction is the most promising trend for the correction of cellular energetic disturbances in ophthalmology. **Keywords:** cellular energetics, mitochondria, eye diseases, gene therapy, apoptosis, oxidative stress, excitotoxicity.

В последнее время в медицине интенсивно развивается так называемое «метаболическое» направление, рассматривающее изменения клеточного энергетического обмена на различных уровнях как основу или фон многих заболеваний, в том числе и офтальмологических [2, 3, 5, 8, 10].

Ключевыми органеллами, ответственными за клеточную энергетику, служат митохондрии, основная функция которых — аэробное биологическое окисление (тканевое дыхание) с накоплением энергии в виде макроэргических фосфатных соединений (аденозинтрифосфата, креатинфосфата и др.), то есть окислительное фосфорилирование. Открытие в последние годы ведущей роли митохондрий в чувствительности к лекарственным средствам, их ключевой роли в старении, апоптозе и нейродегенеративных расстройствах привело к созданию «митохондриальной медицины» [2, 3, 6, 8, 10, 18, 29].

Среди заболеваний органа зрения с доказанной митохондриальной дисфункцией особо

выделяется атрофия зрительного нерва Лебера [7, 27]. Заболевание начинается, как правило, в возрасте от 18 до 30 лет, передаётся по материнской линии и проявляется быстро или постепенно развивающимся двусторонним снижением центрального зрения. Данное заболевание развивается в результате точечных мутаций в генах митохондриальной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), субъединиц кодирования комплекса ферментов окислительного фосфорилирования [4, 26, 29].

Митохондрии служат главным источником супероксидных анионов в клетках. В ходе транспорта электронов к молекулярному кислороду от 1 до 5% электронов в цепи дыхания теряются, участвуя в формировании супероксид-аниона. Количество супероксидов и перекисное окисление липидов увеличиваются в ходе апоптоза [6, 14, 18, 26].

Современные возможности антиоксидантной терапии

В 2003 г. группа академика В.П. Скулачёва начала разработку нового митохондриально-адресованного антиоксиданта. Тестируемые

Адрес для переписки: ilmira_ufa@rambler.ru

ими ранее соединения — липофильные катионы (например, ионы фосфония), способные адресно проникать в митохондрии, движимые электрическим полем на митохондриальной мембране. В 1974 г. такие соединения были названы известным американским биохимиком Д. Грином «ионами Скулачёва». Было сконструировано и синтезировано вещество SkQ1, эффективность которого оказалась выше предыдущих аналогов в сотни раз [24, 33].

Исследования влияния SkQ1 при глазных заболеваниях проводили на крысах линии OXYS, страдающих от постоянного окислительного стресса. К 3-му месяцу жизни у этих животных развивается катаракта и проявляются признаки патологии сетчатки. SkQ1 не только препятствовал дистрофии сетчатки, но также улучшал её функциональное состояние, которое определяли с помощью электроретинографии. В отсутствие SkQ1 сетчатка старых (24-месячных) крыс линии OXYS не отвечала электрическим сигналом на вспышку света, что указывало на практически полную слепоту животного. В то же время животные, получавшие с пищей SkQ1, показывали гораздо лучший ответ сетчатки на вспышку света, близкий к результатам молодых (3-месячных) крыс [1, 24].

Для изучения действия SkQ1 при воспалительных заболеваниях глаз, которые сопровождаются сильнейшим окислительным стрессом, в эксперименте был воспроизведён увеит. Его вызывали иммунизацией кролика арестином — белком фоторецепторных клеток. Заболевание приводило к слепоте, после чего в один глаз инстиллировали 250 нМ SkQ1 4 раза в день. Спустя несколько дней признаки воспаления нивелировались, животные начинали видеть, но только тем глазом, в который инстиллировали SkQ1. Та же процедура предотвращала развитие увеита, если капли давали в период иммунизации. При этом успеха достигали в 100% случаев — как при предотвращении увеита, так и при лечении уже развившейся болезни [1, 24].

В литературе сообщают о применении антиоксидантов [ретинол, витамин Е, аскорбиновая кислота, витамин Е + ретинол (аевит), метилэтилпиридинол (эмоксипин)] для лечения глаукомной нейрооптикопатии. Также было показано, что естественные антиоксиданты, содержащие супероксиддисмутазу (эрисод), играют ключевую роль в антиоксидантной защите организма, предотвращают развитие адrenaлин-индуцированной глаукомы у кроликов. Иностранные же авторы не спешат применять антиоксиданты в лечении нейродегенеративных расстройств [11, 30]. На первом месте стоит задача защиты митохондрий как основного источника активных форм кислорода [21, 22].

Повышение уровня ферментов антиоксидантной защиты

Неврит зрительного нерва сопровождается окислительным стрессом [15, 19]. Для повышения уровня антиоксидантной защиты было

апробировано экзогенное введение ферментов (каталазы) при воспалении зрительного нерва в эксперименте. Однако был выявлен ряд неудобств. Во-первых, вводить каталазу необходимо ежедневно, учитывая период полураспада. Во-вторых, молекула фермента с высоким молекулярным весом проходит через гематоэнцефалический барьер только в активный период воспаления [15].

В связи с этим был найден способ повысить синтез эндогенных антиоксидантных ферментов с помощью доставки в клетку вирус-опосредованной комплементарной ДНК (кДНК), кодирующей синтез каталазы. В эксперименте *in vitro* было продемонстрировано, что в эндотелиальных клетках человека через 1 день после введения комплекса вирусной кДНК каталазы её количество увеличивается в 4 раза по сравнению с исходным [16].

Кроме того, продемонстрировано увеличение уровня антиоксидантной защиты вирус-опосредованной передачей человеческих генов каталазы *in vivo* у животных с воспалением зрительного нерва на фоне экспериментального аллергического энцефалита. Рекombинантный аденоассоциированный вирус, содержащий человеческий ген каталазы, вводили в головку зрительного нерва правого глаза мышей с невритом. Через 1 мес активность каталазы увеличивалась приблизительно в 2 раза. После инъекций отмечали уменьшение демиелинизации на 38%, отёка зрительного нерва — на 29%, клеточной инфильтрации — на 34%, нарушения гематоэнцефалического барьера — на 64%, содержания H_2O_2 — на 61% [17].

Для длительной защиты зрительного нерва от демиелинизации необходим перенос гена, кодирующего синтез фермента антиоксидантной защиты. С этой целью морским свинкам с индуцированным экспериментальным аллергическим энцефалитом вводили рекombинантный ген AAB, штамм I3, трансдуцированный с репортёром LacZ-SV40 полиА гена и гуманизированный зелёным флуоресцирующим белком (GFP) репортёрного гена [17]. Сохранение активности каталазы в головке зрительного нерва было высоким с 1-й недели после однократной внутривидовой инъекции и сохранялось в течение 1 года, однако уже со 2-12-й недели эксперимента прослеживалось снижение количества фермента.

Генная терапия мутаций митохондриальной ДНК (митДНК)

Разработка патогенетических методов лечения митохондриальной дисфункции, связанных с накоплением мутантной митДНК, в частности генной терапии, ещё находится в стадии экспериментов [11, 13]. Одно из наиболее перспективных направлений генной терапии — попытка изменить уровень гетероплазмы путём или селективного ингибирования репликации митохондрий, или разрушения мутантной митДНК [13, 19, 32].

Гены митохондрий кодируют две группы

признаков — работу дыхательных систем и устойчивость к антибиотикам и токсинам [31]. Экспрессию белков в митохондриях исследуют уже более 15 лет [13]. Сообщают об успешных попытках внедрения GFP в митохондриях культивируемых клеток и первичных гепатоцитов с применением вирусного вектора [28]. Если этот метод работает в условиях эксперимента *in vivo*, то он может в последующем дать возможность исправления патологических состояний путём генной терапии в митохондриях при болезни Лебера, связанной с мутациями митДНК.

Возможности контроля апоптоза

Множество ключевых этапов апоптоза происходит в митохондриях, включая высвобождение активаторов каспазы (таких, как цитохром C), синтез про- и антиапоптотических белков семейства Bcl-2 [11, 14, 18]. На сегодняшний день накоплены доказательства апоптоза ганглионарных клеток сетчатки при глаукоме [9, 23]. Апоптоз происходит в аксонах зрительного нерва у животных с экспериментальной глаукомой [9, 34]. Также продемонстрированы доказательства апоптоза нейроцитов сетчатки глаза у больных первичной открытоугольной глаукомой [12, 34].

Возможность применения генной терапии для контроля основных звеньев апоптотного каскада изучали при экспериментальной глаукоме у крыс. При интравитреальном введении векторов AAV с антиапоптотическим геном его белок Bcl-XL был обнаружен в клетках сетчатки: фоторецепторах, пигментном эпителии сетчатки, ганглионарных волокнах [20]. AAV вектор-опосредованная экспрессия Bcl-XL в ганглионарных волокнах сетчатки у крыс привела к мощной нейропротекции зрительного нерва при повышенном внутриглазном давлении [12].

Исследована возможность контроля активации каспаз. Для этого использовали рекомбинантный аденоассоциированный вирус, несущий ген BIRC4, продукт которого является мощным ингибитором каспаз. Это привело к выраженной защите аксонов зрительного нерва в условиях длительного воздействия повышенного внутриглазного давления у крыс [12].

Считают, что антагонисты NMDA-рецепторов снижают эксайтотоксичность путём стабилизации клеточных мембран [25]. В эксперименте на обезьянах при длительном повышении внутриглазного давления отмечено замедление гибели аксонов зрительного нерва при введении мемантина (антагониста медиаторов NMDA-рецепторов). У животных длительно сохранялись зрительные функции, при регистрации электроретинограммы были выявлены лишь незначительные изменения [35].

Основные препараты, применяемые при митохондриальных нарушениях

Лечение метаболических расстройств — одна из сложных проблем современной медицины. 670

Важная характеристика энерготропной терапии — её комплексность. В нашей стране такие комплексы активно разрабатывают в Московском научно-исследовательском институте педиатрии и детской хирургии (Николаева Е.А.). Лекарственные компоненты, как правило, включают группы препаратов: переносящие электроны в дыхательной цепи (витамины K₁ и K₃, коэнзим Q₁₀, янтарная кислота, цитохром C), кофакторы энергообмена (витамины PP, B₁, B₂, липоевая кислота, биотин, карнитин), уменьшающие степень лактат-ацидоза (димефосфон), антиоксиданты. При этом на первое место по значимости выдвигаются такие препараты, как L-карнитин, коэнзим Q₁₀, цитохром C и их комплексы с другими вышеперечисленными лекарственными средствами [5].

Из изложенного можно заключить, что нарушение функций митохондрий, отвечающих за энергетический метаболизм клетки, играет определённую роль в развитии многих заболеваний органа зрения. Самым перспективным направлением в коррекции нарушений клеточной энергетики в офтальмологии мы считаем генную терапию дисфункции митохондрий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Архипова Л.Т., Архипова М.М., Бакеева Л.Е. и др. Производное пластохинона, адресованное в митохондрии, как средство, прерывающее программу старения. Связанные с возрастом заболевания глаз. SkQ возвращает зрение слепым животным // Биохимия. — 2008. — Т. 73, №12. — С. 1641–1654.
2. Вельтишев Ю.Е., Темина П.А. Митохондриальные болезни. Наследственные болезни нервной системы. — М.: Медицина, 1998. — Т. 4. — 409 с.
3. Газизова И.Р. Митохондриальная патология и глаукома // Глаукома. — 2011. — №4. — С. 58–65.
4. Поздняков О.М., Бабакова Л.Л., Гехт Б.М. Митохондриальные цитопатии // Журн. неврол. и психиатр. — 2007. — №2. — С. 64–69.
5. Сухоруков В.С. Нарушения клеточного энергообмена у детей // Рос. вестн. перинатол. и педиатр. — 2002. — Т. 47, №5. — С. 44–50.
6. Bredesen D.E., Rao R.V., Mehlen P. Cell death in the nervous system // Nature. — 2006. — Vol. 443 — P. 796–802.
7. Brown M.D., Trounce I.A., Jun A.S. et al. Functional analysis of lymphoblast and cybrid mitochondria containing the 3460, 11778, or 14484 Leber's hereditary optic neuropathy mitochondrial DNA mutation // J. Biol. Chem. — 2000. — Vol. 275 — P. 39831–39836.
8. Browne S.E., Beal M.F. The energetics of Huntington's disease // Neurochem. Res. — 2004. — Vol. 29. — P. 531–546.
9. Calandrella N., Scarsella G., Pescosolido N. et al. Degenerative and apoptotic events at retinal and optic nerve level after experimental induction of ocular hypertension // Mol. Cell. Biochem. — 2007. — Vol. 301, N 1–2. — P. 155–163.
10. Carelli V., Ross-Cisneros F.N., Sadun A.A. Mitochondrial dysfunction as a cause of optic neuropathies // Prog. Retin. Eye Res. — 2004. — Vol. 23, N 1. — P. 53–89.
11. Danesh-Meyer H.V. Neuroprotection in glaucoma: recent and future directions // Curr. Opin. in Ophthalmol. — 2011. — Vol. 22, N 2. — P. 78–86.
12. Demetriades A.-M. Gene therapy for glaucoma // J. of Glaucoma. — 2011. — Vol. 22, N 2. — P. 73–77.
13. D'Souza G.G., Weissig V. Approaches to mitochond-

drial gene therapy // *Curr. Gene Ther.* — 2004. — Vol. 4, N 3. — P. 317–328.

14. Green D.R., Reed J.C. Mitochondria and apoptosis // *Science.* — 1998. — Vol. 281. — P. 1309–1312.

15. Guy J. New therapies for optic neuropathies: development in experimental models // *Neuroophthalm. J.* — 2000. — Vol. 11, N 6. — P. 421–429.

16. Guy J., Qi X., Hauswirth W.W. Adenoassociated viral-mediated catalase expression suppresses optic neuritis in experimental allergic encephalomyelitis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1998. — Vol. 95. — P. 13847–13852.

17. Guy J., Qi X., Wang H. et al. Adenoviral gene therapy with catalase suppresses experimental optic neuritis // *Arch. Ophthalmol.* — 1999. — Vol. 117. — P. 1533–1539.

18. Kroemer G., Reed J.C. Mitochondrial control of cell death // *Nat. Med.* — 2000. — Vol. 6. — P. 513–519.

19. Kujoth G.C., Hiona A., Pugh T.D. et al. Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging // *Science.* — 2005. — Vol. 309, N 5733. — P. 481–484.

20. Malik J.M., Shevtova Z., Bahr M., Kugler S. Long-term *in vivo* inhibition of CNS neurodegeneration by Bcl-XL gene transfer // *Mol. Ther.* — 2005. — Vol. 11. — P. 373–381.

21. Mihara K., Omura T. Protein import into mammalian mitochondria // *Methods Enzymol.* — 1995. — Vol. 260. — P. 302–310.

22. Murphy M.P., Smith R.A. Targeting antioxidants to mitochondria by conjugation to lipophilic cations // *Annu Rev. Pharmacol. Toxicol.* — 2007. — Vol. 47. — P. 629–656.

23. Nucci C., Tartaglione R., Cerulli A. et al. Retinal damage caused by high intraocular pressure-induced transient ischemia is prevented by coenzyme Q10 in rat // *Int. Rev. Neurobiol.* — 2007. — Vol. 82. — P. 397–406.

24. Plotnikov E.Y., Chupyrkina A.A., Jankauskas S.S. et al. Mechanisms of nephroprotective effect of mitochondria-targeted antioxidants under rhabdomyolysis and ischemia/reperfusion // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2011. — Vol. 1812, N 1. — P. 77–86.

25. Rego A.C., Oliveira C.R. Mitochondrial dysfunction

and reactive oxygen species in excitotoxicity and apoptosis: implications for the pathogenesis of neurodegenerative diseases // *Neurochem. Res.* — 2003. — Vol. 28, N 10. — P. 1563–1574.

26. Ricci J.E., Gottlieb R.A., Green D.R. Caspase-mediated loss of mitochondrial function and generation of reactive oxygen species during apoptosis // *J. Cell Biol.* — 2003. — Vol. 160, N 1. — P. 65–75.

27. Riordan-Eva P., Sanders M.D., Govan G.G. The clinical features of Leber's hereditary optic neuropathy defined by the presence of a pathogenic mitochondrial DNA mutation // *Brain.* — 1995. — Vol. 118. — P. 319–337.

28. Rizzuto R., Brini M., Pizzo P. et al. Chimeric green fluorescent protein as a tool for visualizing subcellular organelles in living cells // *Curr. Biol.* — 1995. — Vol. 5. — P. 635–642.

29. Schapira A.H. Mitochondrial disorders // *Biochem. Biophys. Acta.* — 1999. — Vol. 1410. — P. 99–102.

30. Sheu S.S., Nauduri D., Anders M.W. Targeting antioxidants to mitochondria: a new therapeutic direction // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2006. — Vol. 1762. — P. 256–265.

31. Shoffner J.M., Wallace D.C. Oxidative phosphorylation diseases: disorders of two genomes // *Adv. Hum. Genet.* — 1990. — Vol. 19. — P. 267–330.

32. Srivastava S., Moraes C.T. Manipulating mitochondrial DNA heteroplasmy by a mitochondrial targeted endonuclease // *Human Mol. Genet.* — 2001. — Vol. 10. — P. 3093–3099.

33. Stefanova N.A., Fursova A.Zh., Kolosova N.G. Behavioral effects induced by mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 in Wistar and senescence-accelerated OXYS rats // *J. Alzheimers Dis.* — 2010. — Vol. 21, N 2. — P. 479–491.

34. Tatton W.G., Chalmers-Redman R.M., Tatton N.A. Apoptosis and anti-apoptosis signalling in glaucomatous retinopathy // *Eur. J. Ophthalmol.* — 2001. — Vol. 11, N 12. — P. 12–22.

35. Volbracht C., van Beek J., Zhu C. et al. Neuroprotective properties of memantine in different *in vitro* and *in vivo* models of excitotoxicity // *Eur. J. Neurosci.* — 2006. — Vol. 23, N 10. — P. 2611–2622.

УДК 616.381-002-089.48-06-035

К ВОПРОСУ О ДРЕНИРОВАНИИ БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ

Ерикен Калымгиреевич Салахов*

Казанская государственная медицинская академия

Реферат

В статье рассмотрены основные вопросы дренирования брюшной полости, виды дренажей и дренажных устройств. Исход хирургических вмешательств на органах брюшной полости во многом зависит от эффективного дренирования. До сих пор продолжают споры о методах дренирования, форме и материале дренажа, показаниях и частоте использования. При решении вопроса о дренировании брюшной полости нужно определить оптимальный способ, эффективность и возможные осложнения.

Дренирование брюшной полости служит необходимым и важным завершающим этапом многих операций, а иногда и основным методом оперативного вмешательства. Кроме того, при дренировании брюшной полости нужно знать и об отрицательных сторонах дренажа и осложнений. Существуют трудности в оценке результативности дренирования брюшной полости.

Ключевые слова: дренирование, брюшная полость, перитонит, хирургическое лечение, дренажные трубки, показания, осложнения.

REGARDING THE ISSUE OF ABDOMINAL DRAINAGE E.K. Salakhov. *Kazan State Medical Academy, Kazan, Russia.* The article discusses with main questions regarding drainage of the abdominal cavity, the types of drains and drainage devices. The outcome of surgery on the abdominal organs is largely dependent on effective drainage. There is still debate regarding the drainage techniques, shape and drainage material, indications and frequency of use. In deciding whether abdominal drainage is needed it is necessary to determine the most optimal method, its effectiveness and possible complications. Abdominal drainage is a necessary and important final stage of many operations, and sometimes the