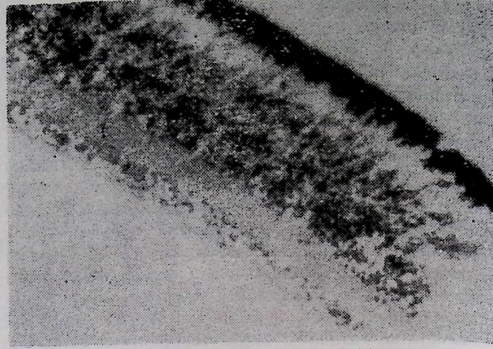


Ryc. 2. Siatkówka świnki morskiej dorosłej z grupy zatrutowanej tlenkiem węgla na obecność i rozmieszczenie kwasów nukleinowych. Barwienie metodą Bracheta, pow. ok. 250 X.



Ryc. 3. Siatkówka młodej świnki morskiej z grupy zatrutowanej tlenkiem węgla na obecność kwasów nukleinowych. Barwienie metodą Bracheta, pow. ok. 250 X.

z naszych badań, wśród plejady różnych czynników patogennych zawartych w śląskim środowisku również tlenek węgla posiada swój udział w zjawiskach powodujących zaburzenia funkcji układu wzrokowego.

PIŚMIENNICTWO

1. Górnicki B., Dębiec B.: Vademecum pediatrii. (PZWL, Warszawa 1990). — 2. Gumińska M.: Chemiczne substancje toksyczne w środowisku i ich wpływ na zdrowie człowieka. (Polska Akademia Nauk, Wrocław 1990). — 3. Krygiel A., Godlewski H.: Skrypt metod

histochemicznych. (Polskie Towarzystwo Histochemików, Warszawa 1984). — 4. Marhold J.: Prehled prumyslove toxicologie. Anorganické Látky. (Avicenum Zdravotnické Nekladatelství, Praha 1980). — 5. Niebrój T.: Wpływ zatrucia tlenkiem węgla na zmiany cytochemiczne w siatkówce świnki morskiej. Klin. oczna 39: 7—11 (1969). — 6. Okeda R., Funata N., Song S. J., Higashino F., Takano T., Yokoyama K.: Comparative study on pathogenesis of selective cerebral lesions in carbon monoxide poisoning and nitrogen hypoxia in cats. Acta Neuropathol. (Berlin) 56: 265 (1982). — 7. Pearse E. A. C.: Histochemia teoretyczna i stosowana. (PZWL, Warszawa 1957).

Praca wpłynęła: 9.05.1991 (nr 5733).

JERZY TOCZOŁOWSKI, TADEUSZ WOLSKI i KATARZYNA KLAMUT-SORY

Wpływ środków hamujących powstawanie rodników wodorotlenowych na gojenie się doświadczalnego owrzodzenia rogówki

Uważa się, że uszkodzenie rogówki w przebiegu jej owrzodzenia jest wynikiem bezpośredniego działania urazu lub procesu chorobowego, do którego dołącza się destrukcyjny wpływ powstających następnie enzymów proteolitycznych. Wykazano jednak, że u zwierząt, u których enzymy te były podawane bezpośrednio do tkanki, ich działanie było stosunkowo niewielkie^{1,4}. W ostatnich latach zwrócono więc uwagę na destrukcyjną czynność rodników wodorotlenowych, które uszkadzają tkankę we wczesnym okresie zapalenia^{10,11}. Wolne rodniki wodorotlenowe mogą z kolei zwiększać aktywność enzymów proteolitycznych, eliminując one bowiem niektóre z ich inaktywatorów^{1,4}.

Podczas wydzielenia dużej ilości tlenu przez komórki zapalne dochodzi do powstania rodników nadtlenowych, ale w uszkodzeniu tkanki zasadniczą rolę odgrywiają tworzące się następnie rodniki wodorotlenowe i kwas podchloraowy, które wykazują silne działanie cytotoxiczne¹². Obserwowano, że środki, które hamują powstawanie rodników wodorotlenowych działają także korzystnie w niektórych stanach zapalnych gałki ocznej^{3,8,11}. W przedstawionych badaniach postanowiono więc zastosować środek zmniejszający tworzenie się wolnych rodników wodorotlenowych w przebiegu doświadczalnego owrzodzenia rogówki. Jako lek został użyty, wykazujący działanie antyoksydacyjne, 60% roztwór wodny dimetylosulfotlenku (DMSO), który zakraplano do worka spojówkowego oka z owrzodzeniem rogówki wywołanym drogą kauteryzacji.

Celem pracy jest zatem prześledzenie wpływu stosowanego miejscowo 60% roztworu wodnego DMSO na przebieg gojenia się doświadczalnego owrzodzenia rogówki wytworzonego po oparzeniu termicznym.

BADANIA WŁASNE

Badania przeprowadzono na 6 królikach o wadze 2,5—3,0 kg. W znieczuleniu ogólnym ketalarem wytworzono drogą kauteryzacji owrzodzenie rogówki na oku prawym i lewym na przestrzeni zaznaczonej trepanem o średnicy 5 mm. Następnie zakraplano do worka spojówkowego oka prawego 60% wodny roztwór dimetylosulfotlenku 4 razy dziennie i 0,5% roztwór atropiny 2 razy dziennie. Do oka lewego, które było okiem kontrolnym, zakraplano tylko 0,5% roztwór atropiny 2 razy dziennie. Obserwacje biomikroskopowe gojenia się rogówki przeprowadzono codziennie przez okres 5 dni. Rogówki do badań histologicznych i histochemicznych były pobierane w 3 i 5 dniu obserwacji za każdym razem od 3 zwierząt. Pobrane rogówki utrwalano w

INFLUENCE OF COMPOUNDS INHIBITING THE FORMATION OF HYDROXIDE RADICALS ON THE HEALING OF EXPERIMENTAL CORNEAL ULCERATION

The 60 per cent water solution of dimethyl sulfoxide (DMSO) was used in the investigations. It was instilled into the conjunctival sac of an eye with experimental corneal ulceration. The dimethyl sulfoxide is inhibiting the formation of hydroxide radicals which cause a damage of the tissue in the course of inflammation. Clinical observations as well as histochemical and histopathological examinations showed that ulcerations treated by dimethyl sulfoxide healed faster than those from the control group and reactions to acid mucopolysaccharides returned more rapidly to normal values.

HASŁA: owrzodzenie rogówki, rodniki wodorotlenowe, dimetylosulfotlenek, przebieg gojenia

KEY WORDS: corneal ulceration, hydroxide radicals, dimethyl sulfoxide, healing

pływie *Backera*, a następnie cięto w mikrotomie mroźeniowym na skrawki grubości 10 μm. Do badań histologicznych skrawki barwiono hematoksyliną i eozyną. Badania histochemiczne dotyczyły mukopolisacharydów kwaśnych (MPSK), które wykrywano za pomocą reakcji barwnej wg *McManusa* i barwieniem metachromatycznym 0,5% roztworem zakwaszonego błękitu toluidyny o pH 4,5⁵. Przeprowadzono również odpowiednie kontrole tych metod.

Po przeprowadzonej kauteryzacji obserwowaliśmy owrzodzenie o średnicy około 5 mm zajmujące środek rogówki. Gałka oczna wykazywała przekrwienie mieszane średniego stopnia.

Owrzodzenie rogówki oka prawego, do którego zakraplano roztwór DMSO i roztwór atropiny, szybciej oczyszczało się i szybciej pokrywało się nabłonkiem w porównaniu z owrzodzeniem rogówki kontrolnej. W 3 dniu obserwacji średnica owrzodzenia oka prawego wynosiła 2,0—2,5 mm, a owrzodzenie rogówki lewego oka posiadało średnicę około 3,0—4,0 mm. W 3 dniu obserwacji pobrano rogówki od 3 królików do badań histologicznych i histochemicznych. W 5 dniu obserwacji wszystkie owrzodzone rogówki na oku prawym zagoiły się, a owrzodzenia rogówki oka lewego u 2 królików wykazywały ubytki barwiące się fluorescencją o średnicy około 0,5 mm, a u 1 o średnicy 1 mm. Obserwowaliśmy również, że w oku prawym, do którego zakraplano 60% roztwór dimetylosulfotlenku, szybciej ustępowały objawy przekrwienia gałki ocznej.

W preparatach histologicznych pobranych w 3 dniu obserwacji z rogówki oka prawego widoczne było owrzodzenie pokrywające się od obwodu nabłonkiem. W pobliżu owrzodzenia występował dość obfity naciek drobnokomórkowy oraz obrzęk istoty właściwej obejmujący jej powierzchnię warstwy (ryc. 1).

W preparatach histologicznych pobranych w tym samym dniu z rogówki zwierząt grupy kontrolnej widoczna była wolniejsza odnowa nabłonka rogówki. W obrę-

Z Oddziału Okulistycznego Wojewódzkiego Szpitala Nr 2 w Lublinie, ordynator: prof. dr med. Jerzy Toczolowski i z Zakładu Farmakognozji z Pracownią Technologiczną AM w Lublinie, kierownik: prof. dr hab. Tadeusz Wolski

Reprint requests to: Prof. dr med. Jerzy Toczolowski, ul. Łukowska 77; 20-723 Lublin, Poland

bie owrzdzenia widoczne znaczne uszkodzenia warstw powierzchniowych rogówki, naciek drobnokomórkowy oraz obrzęk istoty właściwej (ryc. 2).

W 5 dniu obserwacji owrzdzenie rogówki oka prawie pokryło się nabłonkiem. W pobliżu zagojonego



Ryc. 1. Obraz histologiczny owrzdzenia rogówki w 3 dniu stosowania DMSO. Odnawiający się nabłonek pokrywa od obwodu owrzdzenie. W pobliżu owrzdzenia widoczny naciek drobnokomórkowy oraz obrzęk istoty właściwej rogówki. Barwienie H+E. Pow. 400×.



Ryc. 2. Obraz histologiczny owrzdzenia rogówki z grupy kontrolnej w 3 dniu obserwacji. Słabo zaznaczone procesy odnowy nabłonka. Widoczne znaczne uszkodzenie warstw powierzchniowych rogówki, naciek drobnokomórkowy oraz obrzęk istoty właściwej. Barwienie H+E. Pow. 400×.



Ryc. 3. Rogówka w 5 dniu stosowania roztworu DMSO. Owrdzenie pokryło się nabłonkiem. W istocie właściwej utrzymuje się obrzęk. Barwienie H+E. Pow. 400×.



Ryc. 4. Obraz histologiczny rogówki z grupy kontrolnej w 5 dniu obserwacji. Widoczne nie zagojone owrzdzenie rogówki pokryte częściowo nabłonkiem oraz obrzęk istoty właściwej. Barwienie H+E. Pow. 400×.

owrzdzenia utrzymywał się dość znaczny obrzęk istoty właściwej (ryc. 3).

W preparatach histologicznych pobranych w tym samym dniu z rogówki oka lewego widoczne było niezagojone owrzdzenie pokrywające się częściowo nabłonkiem. W powierzchniowych warstwach istoty właściwej w pobliżu owrzdzenia utrzymywał się znaczny obrzęk tkanki (ryc. 4).

W preparatach histochemicznych rogówek pobranych w 3 dniu obserwacji stwierdzaliśmy w pobliżu owrzdzenia rozległe osłabienie odczynów na mukopolisacharydy kwaśne. Osłabienie to obejmowało warstwy powierzchniowe i głębsze istoty właściwej. Nie stwierdzaliśmy wyraźnych różnic między rogówkami pobranymi z gałki ocznej, do której zakraplano roztwór dimetylosulfotlenku, a rogówkami z lewej, kontrolnej gałki ocznej. Przy reakcji PAS wg *McManusa* rogówka wykazywała barwę słabo różową w pobliżu owrzdzenia i w głębszych warstwach istoty właściwej. Barwienie błękitem toluidyny wykazywało w warstwach powierzchniowych istoty właściwej barwienie ortochromatyczne, a w warstwach głębszych, w dalszej odległości od owrzdzenia widoczna była metachromazja beta.

W preparatach histochemicznych rogówek pobranych w 5 dniu badań obserwowano w rogówkach oka prawego powracanie prawidłowych odczynów na mukopolisacharydy kwaśne. Przy reakcji PAS rogówka wykazywała barwę fioletowo-różową. Barwienie ortochromatyczne występowało jedynie w bezpośrednim sąsiedztwie zagojonego owrzdzenia, w pozostałych częściach rogówki widoczne było barwienie metachromatyczne. Rogówki oka lewego natomiast wykazywały utrzymujące się jeszcze osłabienie odczynów na MPSK obejmujące warstwy istoty właściwej w pobliżu owrzdzenia i w nieco dalszej od niego odległości. W miejscach tych stwierdzano barwę słabo różową przy reakcji PAS oraz ortochromazję po barwieniu błękitem toluidyny.

OMÓWIENIE

Dimetylosulfotlenek został wprowadzony do lecznictwa w latach 60-tych. Początkowo był on używany jako środek przeciwzapalny i przeciwbólowy. Jego charakterystyczną cechą jest szybkie przechodzenie przez nieuszkodzone błony biologiczne oraz wzrost przepuszczalności barier tkankowych i komórkowych dla niektórych,

rozpuszczalnych w nim substancji¹³. W ostatnich latach zwrócono uwagę na działanie hamujące powstawania wolnych rodników tlenowych wywierane przez DMSO².

Dimetylosulfotlenek jest lekiem mało toksycznym. Wykazano, że roztwory o stężeniu niższym niż 66% nie podrażniają gałki ocznej i nie uszkadzają rogówki⁸. W przeprowadzonych przez nas badaniach został zastosowany 60% roztwór dimetylosulfotlenku. Obserwacje wykazały, że owrzdzenie rogówki, do którego zakraplano DMSO goiło się szybciej, niż owrzdzenia rogówek kontrolnych. W 5 dniu obserwacji wszystkie owrzdzenia po stosowaniu dimetylosulfotlenku uległy zagojeniu, natomiast w grupie kontrolnej utrzymywały się w tym czasie jeszcze ubytki rogówki o średnicy około 0,5–1,0 mm. Badania histologiczne wykazywały również szybsze oczyszczanie się owrzdzenia i rozrost nabłonka w grupie leczonej DMSO.

Przeprowadzając badania histochemiczne stwierdziliśmy, że prawidłowe odczyny na mukopolisacharydy kwaśne, które są jednym z pierwszych objawów gojenia się rogówki, pojawiały się szybciej po zastosowaniu 60% roztworu dimetylosulfotlenku.

Podobne wyniki podają także *Rao* i współpracownicy⁴. Uzyskali oni szybsze ustępowanie objawów *uveitis phakoanaphylactica* po dootrzewnowych wstrzyknięciach DMSO u szczurów. *Skrypuch* i współpracownicy¹¹ również obserwowali przyspieszenie gojenia się rogówki po oparzeniu zasadą pod wpływem stosowanego miejscowo roztworu dimetylosulfotlenku.

Uważa się, że dimetylosulfotlenek wywiera swój korzystny wpływ przez hamowanie procesu powstawania uszkadzających tkankę rodników wodorotlenowych. Inne antyoksydanty wykazują podobne działanie. Katalaza i peroksydaza glutajonowa, w badaniach doświadczalnych nad czynnością wolnych rodników tlenowych, działały ochronnie na śródbłonek rogówki i na naczyniówkę^{3,7,9}. Także kwas askorbinowy swój korzystny wpływ w wielu schorzeniach zapalnych może wywierać dzięki posiadaniem silnym właściwościom antyoksydacyjnym⁶.

Wyrażany jest także pogląd, że dimetylosulfotlenek, tak jak i inne środki wiążące tlen, może oddziaływać na produkty przemiany kwasu arachidonowego, tj. na

cyklooksygenazę i lipoksygenazę, które są mediatorami procesów zapalnych w organizmie¹.

W każdym razie przedstawione badania wykazują, że 60% wodny roztwór dimetylosulfotlenku wpływa korzystnie na przebieg gojenia się rogówki po oparzeniu termicznym. Być może środek ten mógłby być stosowany wraz z innymi lekami, a dzięki posiadanym właściwościom szybkiego przenikania przez błony biologiczne mógłby zwiększać działanie tych leków. Potrzebne są do tego dalsze badania i obserwacje.

PIŚMIENNICTWO

1. *Carp H., Janoff A.*: In vitro suppression of serum elastase inhibitory capacity by reactive oxygen species generated by phagocytosing polymorphonuclear leucocytes. *J. Clin. Invest.* 63: 793–797 (1979).
2. *Del Maestro L., Thaw H., Björk J.*: Free radicals as mediators of tissue injury. *Acta Physiol. Scand. (Suppl.)* 492: 492–493 (1980).
3. *Hull D., Green K., Thomas L.*: Hydrogen peroxide-mediated corneal endothelial damage. *Invest. Ophthalmol.* 25: 1246–1253 (1984).
4. *Matheson N.R., Wong P.S., Travis J.*: Enzymatic inactivation of human alpha-1-proteinase inhibitor by neutrophil myeloperoxidase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 8: 402–409 (1979).
5. *Pearse A.G.*: Histochemistry theoretical and applied, II, 228–280 (Churchill, London 1961).
6. *Pfister R.R.*: Chemical injuries of the eye. *Ophthalmology* 90: 1246–1253 (1983).
7. *Rao N.A., Calandra A.J., Tran T., Marak G.E. jr.*: Role of oxygen radicals in immune complex mediated intraocular inflammation. *Invest. Ophthalmol.* 26: suppl. 98 (1985).
8. *Rao N.A., Bowe B.E., Sevanian A.*: Modulation of lens induced uveitis by dimethyl sulfoxide. *Ophthalmol.* Res. 18: 193–198 (1986).
9. *Rao N.A., Calandra A.J., Sevanian A.*: Modulation of lens induced uveitis by superoxide dismutase. *Ophthalmol.* Res. 18: 41–46 (1986).
10. *Rehan A., Johnson K.J., Wiggins R.C.*: Evidence for the role of oxygen radicals in acute nephrotic nephritis. *Lab. Invest.* 51: 396–403 (1979).
11. *Skrypuch O.W., Tokarewicz A.C., Willis N.R.*: Effects of dimethyl sulfoxide on a model corneal alkali injury. *Can. J. Ophthalmol.* 22: 17–20 (1987).
12. *Weiss S.J., Lobuglio A.F.*: Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury. *Lab. Invest.* 47: 5–18 (1982).
13. *Wolski T.*: Badania nad rozpuszczalnością dimetylosulfotlenku (DMSO) w ciekłych układach trójskładnikowych. Rozprawa doktorska. (AM, Lublin 1965).

Praca wpłynęła: 26.03.1991 (nr 5725).