

# Вплив донора сірководню на внутрішньоочний тиск у щурів

І.М. Михейцева, Т.І. Сіроштаненко

ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України», Одеса;  
e-mail: mda@soborka.net

*Досліджували вплив 1%-го розчину гідросульфиду натрію (NaHS) на внутрішньоочний тиск (ВОТ) у інтактних щурів та при моделюванні офтальмогіпертензії за допомогою тривалого системного введення адреналіну. Донор сірководню при одноразовому застосуванні у вигляді крапель у порожнину ока викликав гіпотензивний ефект, який був доволі слабкий при нормотензії та яскраво виявлений у разі офтальмогіпертензії. Тривале введення за схемою гідросульфиду натрію на тлі введення індуктора моделі адреналіну значною мірою попереджувало зростання ВОТ у щурів. Робиться висновок, що сірководень бере участь у регуляції гідродинаміки ока і підтримці нормального рівня ВОТ.*

*Ключові слова: сірководень; NaHS; модель офтальмогіпертензії; внутрішньоочний тиск; гіпотензивний ефект.*

## ВСТУП

Тривалий час сірководень був відомим виключно як токсичний забруднювач навколишнього середовища. Останнім часом його почали вивчати як регулятор багатьох процесів в організмі. Показано, що він продукується в деяких тканинах ссавців і надає різні фізіологічні ефекти [1]. Спочатку було відомо про участь ендogenous гідросульфиду в нейрональних процесах [2]. Пізніше встановлено його вплив на клітини гладеньких м'язів [3], а також те, що сірководень викликає релаксацію гладеньких м'язів судин, активуючи АТФ-залежні калієві канали [4]. Вивчається роль сірководню в регуляції кров'яного тиску [5, 6].

Нормальний внутрішньоочний тиск (ВОТ) – важлива складова гомеостазу. Підтримка його рівня забезпечується складним механізмом регуляції руху внутрішньоочної рідини. Порушення цього процесу є патогенетичним фактором розвитку таких очних захворювань, як глаукома. У механізмах регуляції ВОТ задіяні структури циліарного

тіла і трабекулярної мережі. Гідродинаміка очей здійснюється за участю гладеньком'язових клітин цих структур. Тому доволі ймовірним регулятором цих процесів може бути молекула сірководню. Однак на сьогоднішній день щодо участі  $H_2S$  у регуляції функцій очей літературних даних дуже мало. Існують окремі відомості, що він може викликати фармакологічні ефекти в тканинах очей ссавців, змінювати симпатичну і глутаматергічну нейротрансмісію, відігравати регуляторну роль у процесах сигнальної трансдукції в очах [7]. Є повідомлення про наявність ферментів, які здійснюють біосинтез сірководню в очних тканинах [8, 9]. На відміну від вивчення значення і впливу сірководню в нервовій і серцево-судинній системі, практично відсутні дослідження, спрямовані на встановлення фармакологічного ефекту цієї речовини на ВОТ, його потенційних можливостей у впливі на вивільнення і/або доступність нейротрансмітерів у передньому відділі ока, а також прямої дії сірководню на гладеньком'язові структури очей. Виявлення регуляторної функції сірководню в оці, впливу

© І.М. Михейцева, Т.І. Сіроштаненко

його на ВОР або виявлення його в фізіологічній концентрації в передньому відділі ока дало змогу розширити уявлення про механізми формування підвищеного офтальмотонусу при очній гіпертензії різної етіології, а також патогенезі глаукоми і відкрило б нові перспективи в лікуванні цих захворювань.

Мета нашої роботи – вивчити вплив донора сірководню (натрію гідросульфід) на ВОР щурів в умовах формування офтальмогіпертензії.

## МЕТОДИКА

Дослідження були проведені на 30 дорослих щурах (понад 9 міс) лінії Вістар обох статей масою 200–300 г, згідно з «Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986). ВОР щурам вимірювали апланатичним тонометром з масою плунжера 2 г. Відбитки у лінійних одиницях вимірювали за допомогою окуляр-лінзи зі вбудованою лінійкою (МПБ-2). Перерахунок на одиниці ртутного стовпчика проводили за формулою Головіна [10]. ВОР вимірювали під місцевою анестезією 0,5%-м розчином алкаїну.

Очну гіпертензію у щурів викликали внутрішньоочеревинним введенням розчину адреналіну за розробленою нами схемою [11,12]. Всього було зроблено по 20 ін'єкцій кожному щуру тричі на тиждень через день, у дозі від 10 до 15 мкг на 100 г маси тварини. У декількох серіях експерименту вивчали вплив сірководню на ВОР у здорових щурів і щурів з підвищеним офтальмотонусом. Як донор сірководню застосовували 1%-й розчин натрію гідросульфід (NaHS) у фізіологічному розчині.

У привчених до рук експериментаторів щурів визначали фоновий ВОР. Тварин розділили на 2 групи по 15 щурів у кожній і провели кілька серій експерименту. Спочатку гідросульфід натрію інстилювали одноразово в обидва ока здорових щурів і вимірювали

ВОР через 30, 60, 180 хв після закапування. Далі тваринам I групи моделювали очну гіпертензію. Вони впродовж 6 тиж отримували розчин адреналіну. Цим щурам проводили моніторинг ВОР як у період моделювання, так і після. Через місяць по закінченні ін'єкцій на тлі високого ВОР щурам I групи одноразово закапали розчин NaHS і виміряли рівень офтальмотонусу через 30, 60 і 180 хв після закапування.

Щурам II групи протягом 2 тиж щодня раз у день закапували розчин NaHS по одній краплі в обидва ока. В кінці цієї серії експерименту також виміряли ВОР. На тлі інстиляцій донора сірководню щурам почали вводити адреналін. Розчин NaHS інстилювали в очі одночасно з ін'єкціями адреналіну протягом 2 тиж двічі на тиждень. Наступні 2 тиж щури отримували тільки адреналін. Останні 2 з 6 тиж моделювання очної гіпертензії щурам знову двічі на тиждень закапували розчин NaHS. У ці періоди і пізніше після припинення введення адреналіну періодично вимірювали офтальмотонус. Через місяць після закінчення ін'єкцій адреналіну щури II групи знову отримували інстиляції в око донора сірководню щодня протягом 5 днів, після чого їм вимірювали ВОР.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Під час експерименту було показано, що донор сірководню вплинув на офтальмотонус тварин. У першій серії експерименту вивчено вплив однократної дії NaHS на ВОР щурів і оцінено ступінь цього впливу у здорових тварин і тварин з офтальмогіпертензією (табл.1). Показано, що через 30 хв після інстиляцій розчину NaHS у групі здорових щурів ВОР було знижено незначно (на 4,8%), а в групі з очною гіпертензією - на 27%. Через 1 год це зниження становило 8,4 і 36,2% відповідно. Через 3 год після інстиляцій розчину NaHS рівень ВОР у щурів з гіпертензією був нижче від вихідного на 34,8%, а у здорових ця різниця була статистично незначущою.

Слід відмітити, що вплив сірководню на ВОТ у тварин з високим рівнем офтальмотонусу був набагато більше виражений, ніж у щурів з нормальним тиском. Якщо у здорових тварин з нормальним вихідним рівнем офтальмотонусу при одноразовому закапуванні 1%-го розчину NaHS це зниження було мінімальним, то при розвинутій очній гіпертензії воно було досить помітним – більш ніж на третину від вихідного рівня. Таку різницю в ефекті NaHS на здорових очах і з гіпертензією, вважаємо, можна пояснити різним станом тонусу гладеньком'язових клітин судин і дренажної зони очей. У здорових очах є нормальний тонус гладеньких м'язів як судин, так і структур дренажної зони, тоді як в очах з гіпертензією адреналін створив підвищений контрактильний фон. Дія сірководню на очну гідродинаміку могла бути зумовлена його здатністю знижувати саме підвищений тонус цих структур.

На наступному етапі експерименту тривалі введення в кон'юнктивальну порожнину очей щурів при моделюванні офтальмогіпертензії, що відтворюється системним введенням адреналіну, розчину гідросульфиду натрію в профілактично-лікувального режимі значною мірою запобігло підвищенню ВОТ. У табл. 2 представлено результати офтальмотонусу в двох групах. У I групі з очною гіпертензією відзначено динамічне підвищення ВОТ. Через 2 тиж моделювання (введення адреналіну) очний показник підвищився на 27,7%, через 4 – на 48%, через 6 тиж - на 40% від вихідних значень. Тиск в оці продовжував підвищуватись і по закінченні введення адреналіну. Через

тиждень після припинення ін'єкцій його значення перевищило вихідні на 58%, залишаючись на цьому рівні весь період спостереження (ще 1 міс). Динаміка офтальмотонусу в групі II, що отримувала донор сірководню у вигляді очних інстиляцій до початку і під час адреналінових ін'єкцій, була іншою, підвищення ВОТ було значно менш вираженим.

Через 2 тиж експерименту ВОТ у цих тварин був підвищеним на 27,3% від вихідного, через 4 тиж – на 22%, через 6 – на 16%. Через тиждень після закінчення введення препаратів (як адреналіну, так і натрію гідросульфиду) він був вищим від початкового на 15%, але через 4 тиж без інстиляцій NaHS вже перевищував вихідні значення на 37%.

Порівнюючи значення ВОТ між двома експериментальними групами, відзначили, що через 4 тиж моделювання і наступні терміни спостереження різниця рівня цього показника була високовірогідною. Починаючи з цього періоду в групі, що отримувала донор сірководню, рівень офтальмотонусу був статистично значимо нижчим, ніж у групі з очною гіпертензією без закапування. Так, ця різниця між групами через 4 тиж введення препаратів становила 21,2%, через 6 тиж - 20,5%. Після закінчення моделювання через тиждень припинення введення препаратів в II групі ВОТ був нижчим, ніж в I групі на 30,4%, через 4 тиж - на 18,2%.

На завершальному етапі експерименту через 4 тиж після закінчення введення препаратів (адреналіну, гідросульфиду натрію) тваринам II групи на тлі початку підйому

**Таблиця 1. Динаміка внутрішньоочного тиску у щурів здорових і з офтальмогіпертензією після одноразового закапування в око 1%-го розчину NaHS (M±m)**

Група щурів	Вихідне значення	Після закапування через		
		30 хв	60 хв	180 хв
Здорові	19,0±0,22	18,1±0,24**	17,4±0,37***	18,4±0,37
З офтальмогіпертензією (адреналін)	29,3±1,08	21,4±0,96*	18,7±0,5*	19,1±0,41*

Примітки: тут і в табл. 2 \* P <0,001; \*\* P <0,02; \*\*\* P <0,01 порівняно з вихідним значенням.

**Таблиця 2. Внутрішньоочний тиск у щурів в хронічному експерименті при моделюванні офтальмогіпертензії з інстиляцією і без 1%-го розчину NaHS**

Схема досліджу	Вихідні значення	Під час введення препаратів			Після закінчення введення препаратів через	
		2 тиж	4 тиж	6 тиж	1 тиж	4 тиж
Введення адреналіну	19,1±0,3	24,4±0,7*	28,3±0,9*	26,8±0,7*	30,3±0,9*	30,7±0,7*
Введення адреналіну і NaHS	18,3±0,4	23,3±0,8*	22,3±0,5***	21,3±0,7**	21,1±0,3**	25,1±0,6***

офтальмотонусу, знову 5 діб закапували в порожнину ока розчин NaHS. Вимірювання показали гіпотензивну дію препарату і на цьому етапі експерименту. Офтальмотонус у цих тварин знизився з  $25,1 \pm 0,6$  до  $19,7 \pm 0,5$  мм рт.ст. (на 21,5%). Тривалість цього зниження була незначною і через 2-3 доби ВОТ повернувся до рівня 25-26 мм рт.ст. Однак цей показник залишався достовірно нижчим, ніж у групі, що не одержувала донор сірководню.

Таким чином, сірководень, що надходить в камеру ока з його донором NaHS, впливав на очну гідродинаміку, значною мірою знижуючи розвиток офтальмогіпертензії через вплив на дренажну систему ока. Дія сірководню на шляхи відтоку рідини в очах могла бути пов'язаною з його здатністю впливати на гладеньку мускулатуру і викликати вазодилатацію. Така здатність молекули сірководню була показана для гладеньком'язових клітин раніше [13]. Ця активність дигідросульфідів визначена дією на  $K_{ATP}$ -канали [4, 14].

Kulkarni та співавт. [15] показали, що донор сірководню гідросульфід натрію знижував концентрацію норадреналіну і адреналіну в ізольованих препаратах райдужки – циліарного тіла з очей свині. Було відмічено релаксуючу дію NaHS і  $Na_2S$  на гладенькі м'язи циліарного тіла і райдужки. Констрикція цих м'язів, викликана карбохолом, знімалася при дії донора сірководню. Автори дійшли висновку, що інгібуюча дія цих речовин в ізольованих райдужках свині залежить від біосинтезу сірководню за участю ферментів цистеїн- $\gamma$ -ліази і цистеїн- $\beta$ -

синтази [16]. В очах кроликів з нормотензією було показано вплив двох донорів сірководню GYY4137 і ACS67 в зниженні симпатичної нейроредрачі в судинній мережі очей [17]. Автор припускає, що такий вплив може викликати зниження вмісту норадреналіну і релаксацію м'язів райдужної оболонки. Це призводить до збільшення простору між трабекулярною мережею, що в свою чергу, ймовірно, знижує офтальмотонус.

У нашому експерименті тривала гіперадреналінемія могла викликати суттєве скорочення гладеньком'язової мускулатури, звуження просвіту судин і трабекулярної мережі та розвиток офтальмогіпертензії. Донор сірководню при однократному місцевому введенні цим тваринам знижував ВОТ на третину, тоді як у щурів з нормальним тиском очей ефект був незначним. Тривале введення за схемою розчину NaHS при формуванні моделі очної гіпертензії значною мірою запобігло підвищенню офтальмотонусу в дослідних тварин, надавши розслаблюючу дію на дренажні структури очей і перешкоджаючи утворенню утруднення відтоку внутрішньоочної рідини.

## ВИСНОВКИ

1. Одноразові інстиляції 1%-го розчину донора сірководню гідросульфідів натрію в порожнину ока щурів з офтальмогіпертензією істотно знижували у них ВОТ. Гіпотензивний ефект зберігався понад 3 год. Подібна дія для очей з нормальним тиском

була слабовиражена.

2. Тривалі інстиляції розчину NaHS щурам при моделюванні адреналінової офтальмогіпертензії значною мірою запобігли підвищенню ВОТ.

3. Сірководень бере участь у регуляції гідродинаміки ока і підтримці нормального рівня ВОТ.

**И.Н. Михейцева, Т.И. Сироштаненко**

### **ЭФФЕКТ ДОНОРА СЕРОВОДОРОДА НА ВНУТРИГЛАЗНОЕ ДАВЛЕНИЕ У КРЫС**

Исследовали влияние 1%-го раствора гидросульфида натрия (NaHS) на внутриглазное давление (ВГД) у интактных крыс и при моделировании офтальмогипертензии с помощью длительного системного введения адреналина. Донор сероводорода при однократном введении в виде капель в полость глаза вызвал гипотензивный эффект, который был довольно слабым при нормотензии и ярко выраженным при офтальмогипертензии. Длительное введение по схеме раствора NaHS на фоне введения индуктора модели адреналина в значительной степени предотвратило рост ВГД. Делается вывод, что сероводород принимает участие в регуляции гидродинамики глаза и поддержании нормального уровня офтальмотонуса. Ключевые слова: сероводород; NaHS; модель офтальмогипертензии; внутриглазное давление; гипотензивный эффект.

**I.N. Mikheyitseva, T.I. Siroshstanenko**

### **EFFECT OF HYDROGEN SULPHIDE DONOR ON INTRAOCULAR PRESSURE IN RATS**

It has been investigated the effect of a 1% solution of sodium hydrosulfide NaHS on intraocular pressure (IOP) in intact rats and during modeling them of ocular hypertension, using prolonged systemic administration of adrenaline. A single administration of hydrogen sulphide donor as drops into cavity of the eye has caused the hypotensive effect, which was pretty weak in the normotensive eyes and pronounced in the eyes with ocular hypertension. Long-term administration of NaHS solution by the scheme, during administration of adrenaline as a model inductor, has largely prevented IOP rise. It done conclusion that hydrogen sulphide is involved in the regulation of eye hydrodynamics and maintaining normal levels of IOP. Key words: hydrogen sulphide; NaHS; ocular hypertension model; intraocular pressure; hypotensive effect.

*The Filatov State Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy NAMS of Ukraine, Odesa*

### **REFERENCES**

1. Kamoun P. Endogenous production of hydrogen sulfide in mammals. *Amin Acids*. 2004; 26:243-54.
2. Abe K, Kimura H The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *J Neurosci*. 1996; 16: 1066-71.
3. Hosoki R, Matsuki N, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997; 237: 527-31.
4. Tang G, Jang G, Wu L, Liang W, Wang R. Direct stimulation of KATP channels by exogenous and endogenous hydrogen sulfide in vascular smooth muscle cells. *Mol Pharmacol*. 2005; 68: 1757-64.
5. Wagner CA. Hydrogen sulfide: a new gaseous signal molecule and blood pressure regulator. *J Nephrol*. 2009; 22 (2): 173-6.
6. Sagiraju Sowmya, Yada Swathi, Ai Ling Yeo et al. Hydrogen sulfide: Regulatory role on blood pressure in hyperhomocysteinemia. *Vasc Pharmacol*. 2010; 53(3-4): 138-43.
7. Ohia SE, Opere CA, Monjok EM, Kouamou G, Leday AM, Njie-Mbye YF. Role of hydrogen sulfide production in inhibitory action of L-cysteine on isolated porcine irides. *Curr Eye Res*. 2010; 35(5):402- 7.
8. Pong WW, Stouracova R, Frank N, Kraus JP, Eldred WD. Comparative localization of cystathionine beta-synthase and cystathionine gamma-lyase in retina: differences between amphibians and mammals. *J Comp Neurol*. 2007; 505(2):158-65.
9. Persa C, Osmotherly K, Chao-Wei Chen K, Moon S, Lou MF. The distribution of cystathionine beta-synthase (CBS) in the eye: implication of the presence of a trans-sulfuration pathway for oxidative stress defense. *Exp Eye Res*. 2006; 83(4):817-23.
10. Shevalev VE. Hyperbolic ruler to measure tonogram. *Ophthalmol J*. 1947; 3:140-144.
11. Mikheyitseva I. N. Glaucoma modeling and adrenalin stress. *Clin Exp Med Res J*. 2014; 4:427-37
12. Mikheyitseva I. N. Method of modeling of increased intraocular pressure in rats. *Ukr. patent №38446*, 2009.
13. Kimura H, Nagai Y, Umenura K, Kimura Y. Physiological roles of hydrogen sulfide: synaptic modulation, neuroprotection, and smooth muscle relaxation. *Antioxid Redox Signal*. 2005;7:795-803.
14. Szabu C. Hydrogen sulphide and its therapeutic potential. *Nat Rev Drug Discov*. 2007; 6:917-35.
15. Kulkarni KH, Monjok EM, Zeyssig R, et al. Effect of hydrogen sulfide on sympathetic neurotransmission and catecholamine levels in isolated porcine iris-ciliary body. *Neurochem Res*. 2009; 34(3):400-6.
16. Monjok E, Kulkarni K et al. Inhibitory action of hydrogen sulfide on muscarinic receptor-induced contraction of isolated porcine irides. *Exp Eye Res*. 2008; 87: 612 -6 .
17. Salvi A. Effect of hydrogen sulfide donors on sympathetic neurotransmission and intraocular pressure of the eye. *Thesis of Dissertation*, 2013.

*Матеріал надійшов до редакції 01.07.2016*