

Miroslawa Gralek i Wiesława A. Fogel

Układ poliaminowy w doświadczałnej retinopatii wcześniaków

Polyamine system in the experimental retinopathy of prematurity

Summary. Spermidine (SPD) and spermine (SP) concentrations and the activities of ODC and SAT have been measured in retina and lens of the rats maintained in 60% atmospheric oxygen for the first 14 days life. Hyperoxia, known to cause retardation of vessel growth, was associated with some reduction of the enzyme activities and polyamine levels.

Hasła: poliaminy, aktywność enzymów: ODC i SAT, siatkówka i soczewka szczura
Key words: polyamines, enzyme activities: ODC and SAT, retina and lens of the rat

Retinopatia wcześniaków jest wazoproliferacyjnym schorzeniem siatkówki występującym głównie u dzieci przedwcześnie urodzonych. Wg posiadanych danych retinopatia wcześniaków jest w naszym kraju przyczyną ślepoty u 8,6% dzieci i pod względem występowania zajmuje czwarte miejsce w tej statystyce. Jest to zatem problem nie tylko lekarski ale także ważny problem społeczny.

Dopiero od niedawna klinika dysponuje modelem doświadczalnym do badania retinopatii wcześniaków. Jest nim siatkówka noworodka szczura a procesy patologicznej neowaskularyzacji analogiczne do spotykanych w retinopatii wcześniaków ludzkich indukują się ekspozycją osesków szczura na wysokie stężenie tlenu. Retinopatię wywołuje się zgodnie z Ricci^{9,10} i wsp. podając noworodki szczura Wistar jedno/lub dwutygodniowej ekspozycji na mieszaninę gazów: 60% tlenu i 40% azotu a następnie przetrzymując je do wieku 3 tygodni w normalnej atmosferze. W stosunku do atmosfery wzbogaconej w tlen normoksemia tworzy warunki relatywnej hypoksemii co prowadzi do rozwoju nowotwórstwa naczyniowego, objawów retinopatii.

Istotną rolę w procesach proliferacji i różnicowania odgrywiają poliaminy, spermidyna (SPD), spermina (SP) i ich prekursor putrescyna. Jak wykazały badania eksperymentalne można poprzez zablockowa-

nie lub stymulację syntezy poliamin wpływać na intensywność procesów wzrostowych. Oznacza to, że zaburzenia układu poliamin może wpływać na morfologię i/lub funkcję tkanki czy narządu. Mechanizmy regulujące poziom poliamin w komórce mają zatem kolosalne znaczenie. Określony poziom poliamin w komórce jest wypadkową syntezy, degradacji i aktywności układów transportujących poliaminy do komórki. Uważa się, że kluczową rolę odgrywiają tu aktywności dekarboksylazy ornitynowej (ODC) odpowiedzialnej za syntezę putrescyny, dekarboksylazy S-adenozynometioninowej (SAMDC), odpowiedzialnej za syntezę zdekarboksylowanej S-adenozylometioniny, donora grupy propyloaminowej a także aktywność N-acetylotransferazy SPD/SP (SAT), enzymu acetylującego, który bierze udział w reutilizacji wyższych poliamin do syntezy niższych^{8,12}. Dane dotyczące układu poliamin w narządzie wzroku są nieliczne^{4,5}. Brak jest doniesień na temat zachowania się poliamin w procesie rozwoju siatkówki i jej unaczynienia. Nie ma danych czy ingerencja w układ poliamin może modulować patologiczną neowaskularyzację spotykaną w retinopatii wcześniaków.

Celem pracy było sprawdzenie jak wpływa hyperoksemia, pierwszy czynnik konieczny do zaistnienia retinopatii na układ poliaminowy oka.

Material i metodyka

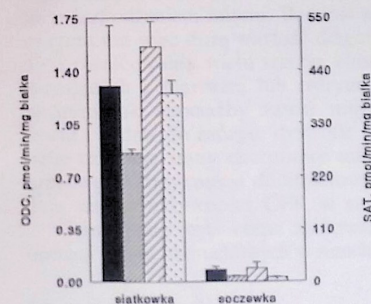
Do badań służyły noworodki szczura Wistar. Siatkówka noworodka szczura jest wysoce niedojrzała, odpowiada siatkówce płodu ludzkiego pomiędzy 24-26 tygodniem wieku ciążowego^{9,10}. Miot wraz z matką poddawano stałej ekspozycji na mieszaninę gazów: 60% tlenu i 40% azotu w inkubato-

rze. Mioty kontrolne przebywały 2 tygodnie w powietrzu atmosferycznym. Siatkówka i soczewka zostały uzyskane do badań biochemicznych w wyniku autopsji. Otrzymany materiał pulowano. Na pojedynczą próbkę składała się pula siatekówek lub soczewek pochodząca od wszystkich zwierząt w miocie (n=7-10). Do oznaczeń używano materiału z 3 pul.

Poliaminy: spermidynę i sperminę przeprowadzono w pochodne dansylowe, rozdzielano metodą HPLC na kolumnie LiChrosorb RP18 i oznaczano ilościowo spektrofotometrycznie przy długości fali wzbudzenia 338 nm i długości fali emisji równej 460 nm. Oznaczanie aktywności dekarboksylazy ornitynowej polegało na pomiarze radioaktywności odzszepionego w reakcji dwutlenku węgla; jako substrat zastosowano ornitynę znakowaną izotopem ¹⁴C w grupie karboksylowej². Oznaczanie aktywności N¹-acetylotransferazy spermidyny/sperminy polegało na zastosowaniu ¹⁴G acetylo koenzymu A jako donora grupy acetylowej i oddzieleniu produktów acetylowej spermidyny przez filtrację na bibule Whatman P81⁷.

Wyniki i omówienie

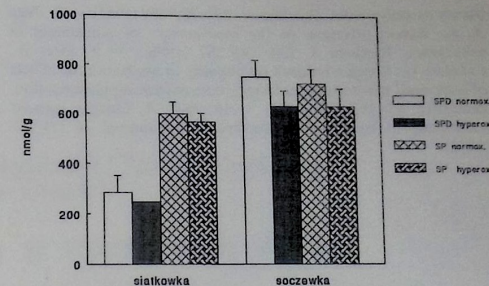
Rycina pierwsza obrazuje aktywność enzymów związanych z metabolizmem poliamin, dekarboksylazy ornitynowej (ODC) i N-acetylotransferazy spermidyny/sperminy (SAT) w normoksemii i hyperoksemii.



Ryc. 1. Aktywność dekarboksylazy ornitynowej (ODC) i N¹-acetylotransferazy spermidyno/sperminowej (SAT) w siatkówce i soczewce. Wpływ ekspozycji na tlen

W normoksemii aktywność siatkówkowej SAT przewyższa kilkakrotnie aktywność ODC. W soczewce aktywności obu enzymów są kilkunastokrotnie niższe niż w siatkówce. W warunkach hyperoksemii obserwuje się obniżenie aktywności obu enzymów. Efekt ten jest bardziej zaznaczony w siatkówce. Rycina 2 przedstawia stężenie poliamin w siatkówce i soczewce w normoksemii i hyperoksemii.

Zarówno siatkówka i soczewka zawierają poliaminy — spermidynę i sperminę.



Ryc. 2. Stężenie poliamin, spermidyny (SPD) i sperminy (DP) w siatkówce i soczewce. Wpływ ekspozycji na tlen

W stanie normoksemii poziom poliamin w siatkówce jest o 40% niższy od ich poziomu w soczewce. W siatkówce stwierdza się dwukrotnie więcej sperminy niż spermidyny podczas gdy w soczewce poziomy tych poliamin są podobne. W siatkówce osesków szczura, przebywających w atmosferze wzbogaconej do 60% w tlen, poziom poliamin obniża się o 17% w stosunku do grupy kontrolnej. Także stosunek SPD/SP, często przyjmowany za wykładnik proliferacji jest niższy.

Otrzymane wyniki choć nie są znamienne statystycznie, wyraźnie wskazują na obniżenie aktywności ODC i SAT w atmosferze wzbogaconej w tlen i korelację ze spadkiem stężenia poliamin. Przedstawione dane sugerują, że w hyperoksemii dochodzi do obniżenia procesów proliferacji w siatkówce. Jest to zbliżone z obserwacjami doświadczalnymi i klinicznymi wskazującymi na niedorozwój unaczynienia siatkówki przy przebywaniu w nadmiarze tlenu. Prezentowane wyniki są także zgodne z wynikami innych autorów^{1,3,11} stwierdzających wzrost stężenia poliamin w siatkówce młodych 14 dniowych szczurów, w okresie intensywnego wzrostu, przy spadku ich wartości u zwierząt dorosłych.

Piśmiennictwo

- Ientile R., Russo P., Macaione S.: Polyamine localization and biosynthesis in chemically fractionated rat retina. *J. Neurochem.* 47: 1365-1360 (1986).
- Kobayashi Y.: Determination of histidine decarboxylase by liquid scintillation counting of ¹⁴Co₂. *Anal. Biochem.* 5: 284-290 (1963).
- Macaione S., Calatroni A.: Polyamines and ornithine decarboxylase activity in the developing rat retina. *Life Sci.* 23: 683-689 (1987).
- Maekawa S., Hibasami H., Tsukuda T., Furusako S., Nakashima K., Yokoyama M.: Induction of spermidine/spermine N¹ acetyltransferase in needle-punctured rat lens as a model of traumatic cataract. *Biochim. Biophys. Acta.* 883: 501-505 (1986).
- Maekawa S., Hibasami H., Uji Y., Nakashima K.: Active transport and metabolic characteristics of polyamines in the rat lens. *Biochim. Biophys. Acta.* 993: 199-203 (1989).
- Mates J. M., Marquez J., Garcia-Caballero M., Nunez de Castro Sanchez-Jimenez F.: Simultaneous fluorometric determination of intracellular polyamine separated by reversed phase high performance liquid chromatography. *Agents Actions.* 33: 12-16 (1992).
- Pegg A. E., Erwin B. G.: Induction of spermidine/spermine N¹ acetyltransferase in rat

Z Oddziału Okulistyki Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi
Ordynator: prof. dr hab. Janusz Czajkowski

Z Zakładu Amin Biogennych Polskiej Akademii Nauk w Łodzi
Kierownik: prof. dr hab. Janina Wyczółkowska

Reprint requests to:

Dr med. Miroslawa Gralek

ul. Zgierska 75/81, m. 150, 91-464 Łódź

tissues by polyamines. *Biochem. J.* 231: 285-289 (1985). — 8. Pegg A. E.: Recent advances in the biochemistry of polyamines in eukaryotes. *Biochem. J.* 234: 249-262 (1986). — 9. Ricci B., Calogero G.: Oxygen-induced retinopathy in newborn rats: effects of prolonged normobaric and hyperbaric oxygen supplementation. *Pediatrics.* 82: 193-198 (1988). — 10. Ricci B.: Oxygen induced retinopathy in the rat model. *Documenta Ophthalmol.* 74: 171-177 (1990).

11. Sturman J. A., Ingolia N. A., Lindquist T. D.: Interconversion of putrescine, spermidine and spermine in goldfish and rat retina. *Life Sciens.* 19: 719-724 (1976). — 12. Tabor C. W., Tabor H.: 1,4-diaminobutane (putrescine), spermidine and spermine. *Ann. Rev. Biochem.* 45: 285-306 (1976).

Praca wpłynęła: 14.04.1995 (290)

Mirosława Gralek¹, Bazyl Bogorodzki, Janusz Czajkowski¹
i Stefania Gralek³

Kinaza kreatynowa w operacjach zez

Creatine kinase in surgery of strabismus

Summary. The paper presents results concerning serum creatine kinase (CPK) activity before and at different times following the surgery of extraocular muscles at concomitant strabismus. The operation evokes statistically significant increase of CPK activity which tends to normalize during healing processes.

Hasła: aktywność kinazy kreatynowej, mięśnie zewnętrzne oka, chirurgia zez
Key words: creatine kinase activity, extraocular muscles, strabismus surgery

Kinaza kreatynowa⁺ (CPK) jest enzymem swoistym dla mięśni, katalizującym odwracalną reakcję fosforylacji kreatyny w obecności fosforanu adenozy (AT). Najbogatszym źródłem enzymu jest mięsień sercowy, mięśnie szkieletowe i tkanka mózgowa. Elektroforetycznie daje się oddzielić od siebie trzy izoenzymy CPK charakteryzujące się specyficznością tkankową: sercowy, mięśniowy i mózgowy. Zwiększenie aktywności CPK w surowicy jest ściśle związane z uszkodzeniem mięśni. Badanie aktywności tego enzymu ma więc dużą wartość diagnostyczną w ocenie i różnicowaniu wielu stanów chorobowych przebiegających z martwicą lub ostrym zanikiem mięśniowym jak chociażby zawał mięśnia sercowego, zawał i wylew do mózgu, dystrofie mięśniowe, miopatie czy inne stany chorobowe mięśni zapalne lub urazowe. Wstrzyknięcia domięśniowe również powodują wzrost aktywności CPK w surowicy.

Celem pracy była ocena zachowania się CPK po operacji mięśni okoruchowych w zezach towarzyszących.

Material i metodyka

Badaniami objęto 88 chorych, dzieci i młodzież w wieku od 4 do 18 lat. Spośród tej grupy operacje na jednym mięśniu wykonano u 30 (34,0%) chorych.

Z Oddziału Okulistyki Centrum Zdrowia Matki Polki¹ w Łodzi

Ordynator: *prof. dr hab. Janusz Czajkowski*

Z Katedry Kliniki Okulistyki AM² w Łodzi

Kierownik: *prof. dr hab. Bazyl Bogorodzki*

Z Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej Centrum Zdrowia Matki Polki³ w Łodzi

Kierownik: *lek. med. Janina Rutnicka-Vitali*

Reprint requests to:

Dr med. Mirosława Gralek

ul. Zgierska 75/81 m. 150, 91-464 Łódź

dwa mięśnie operowano 58 (66,0%) chorym. Ogółem przeprowadzono operacje 146 mięśni. W 135 przypadkach (92%) wydłużano mięśnie, w 11 przypadkach (8%) wykonano ich resekcję. Przed operacją, w czasie jej trwania i po zabiegu, badana grupa nie otrzymywała żadnych wstrzyknięć domięśniowych. Poziom CPK w surowicy oznaczano metodą enzymatyczną stosując test Warburga — Christiana (metoda pośrednia z reakcją pomocniczą i wskaźnikową) z wykorzystaniem zestawu odczynników f. bioMérieux. Oznaczano aktywność enzymu, po przyjęciu chorych do oddziału, w pierwszej dobie po operacji oraz w przeddzień wypisu ze szpitala. W wybranych przypadkach badano CPK 3 i 6 dnia pobytu.

Wyniki i omówienie

Otrzymane wyniki opracowano statystycznie. Obliczeń dokonano przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Szczegółowe dane dotyczące średnich wartości CPK przedstawia tabela I.

Tabela I
Średnia wartość CPK

Zabieg operacyjny	CPK (U/l)		
	przed operacją	po operacji	przy wypisie
na 1 mięśniu	90,2	184,9	88,1
na 2 mięśniach	92,4	203,1	83,7
na 1 lub 2 mięśniach	91,6	196,7	85,9

Średnia wartość CPK wynosiła przed operacją 91,6 U/l. Poziom CPK w pierwszej dobie po operacji różnił się od stanu wyjściowego i był odmienny