

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο ήλιος αποτελεί την κύρια πηγή οπτικής ακτινοβολίας στη φύση εκπέμποντας υπεριώδη (UV), ορατή και υπέρυθη ακτινοβολία (IR), μεγάλο ποσοστό των οποίων φθάνει στην επιφάνεια της Γης. Υπάρχουν όμως παράλληλα και τεχνητές πηγές οπτικής ακτινοβολίας όπως π.χ. κλίβανοι, θερμάστρες, λάμπες, συσκευές ψησίματος κ.α. στις οποίες είναι δυνατόν να είναι εκτεθειμένα διάφορα άτομα, ηθελημένα ή μη, και η έκθεση τους αυτή σε συγκεκριμένες περιπτώσεις να ξεπερνά κατά μεγάλο βαθμό τα «φυσιολογικά» επίπεδα. Αρκετές μελέτες έχουν συσχετίσει την έκθεση στην IR με πρόκληση διαφόρων βλαβών στους ιστούς του οφθαλμού, συμπεριλαμβανομένων της καταρρακτογένεσης, των θερμικών εγκαυμάτων του κερατοειδούς και του αμφιβληστροειδή και του δερματικού ερυθήματος *ab igne*.

Παρόλ'αυτά, λίγα είναι γνωστά μέχρι στιγμής για τους μηχανισμούς πρόκλησης των βλαβών αυτών από την IR, σε αντίθεση με την UV, όπου αρκετές έρευνες έχουν αποδείξει την συμμετόχη μορίων του εξωκυττάρριου χώρου, μεταξύ αυτών και των μεταλλοπρωτεϊνών (MMPs), στις βλαπτικές επιδράσεις της. Έρευνες πάντως σε ινοβλάστες δέρματος ανθρώπου δείχνουν ότι και η IR, όπως ακριβώς και η UV, φαίνεται να ασκεί τις βλαπτικές επιδράσεις της με παρόμοιο τρόπο, επηρεάζοντας δηλαδή κι αυτή μόρια του εξωκυττάρριου χώρου, όπως είναι οι MMPs.

Είναι γνωστό ότι οι MMPs ενοχοποιούνται σε διάφορες παθήσεις των ιστών του οφθαλμού, όπως σε καταρρακτογένεση, στην ξηροφθαλμία, στις αποπτώσεις του κερατικού επιθηλίου, ενώ παράλληλα κι άλλα μόρια του εξωκυττάρριου χώρου, όπως οι γλυκοζαμινογλυκάνες (GAGs), φαίνεται να συμμετέχουν σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις του οφθαλμού, όπως στην δημιουργία καταρράκτη και οιδήματος του κερατοειδούς. Ωστόσο, δεν υπάρχουν μέχρι στιγμής εργασίες που να έχουν μελετήσει τον πιθανό μηχανισμό πρόκλησης βλαβών στον οφθαλμό από την IR και την επίδραση που μπορεί να επιφέρει η έκθεση σε IR στις MMPs και τις GAGs.

Σε αυτό το πλαίσιο σχεδιάστηκε η παρούσα εργασία, με στόχο την μελέτη της επίδρασης της οξείας και χρόνιας έκθεσης της IR σε μόρια του εξωκυττάρριου χώρου και συγκεκριμένα στην MMP-2, την MMP-9 και τις GAGs (θειική κερατάνη, θειική δερματάνη, θειική χονροϊτίνη, θειική ηπαράνη, υαλουρονικό οξύ και ηπαρίνη) στον κερατοειδή και τον κρυσταλλοειδή φακό κονίκλων. Για την οξεία έκθεση χρησιμοποιήθηκαν δύο ομάδες των τεσσάρων κονίκλων. Η πρώτη ομάδα δεν ακτινοβολήθηκε και αποτέλεσε την ομάδα των μαρτύρων για τη δεύτερη ομάδα, της οποίας τα πειραματόζωα εκτέθηκαν στην IR για δώδεκα ώρες. Παράλληλα, στους δεξιούς οφθαλμούς των κονίκλων αμφοτέρων των ομάδων έγινε ενστάλαξη οφθαλμικών σταγόνων θειικής δικλοφενάκης 0,1%, με σκοπό να προσδιορισθεί ο ρόλος της αναστολής της κυκλοοξυγενάσης (COX), χρησιμοποιώντας ως μάρτυρες τους αριστερούς οφθαλμούς των κονίκλων. Όσον αφορά στη μελέτη της χρόνιας έκθεσης, χρησιμοποιήθηκαν δύο ομάδες των τριών κονίκλων. Η πρώτη αποτέλεσε την ομάδα των μαρτύρων, ενώ η δεύτερη εκτέθηκε σε IR για διάστημα τεσσάρων μηνών. Η ακτινοβολήση διαρκούσε τέσσερις ώρες ημερησίως και πραγματοποιούνταν κάθε εργάσιμη μέρα εξαιρουμένων των Σαββατοκύριακων. Κατόπιν αναισθητοποίησης των πειραματόζωων, ακολούθησε λήψη του κερατοειδούς και του κρυσταλλοειδούς

φακού έκαστου. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε ζυμογραφία ζελατίνης για τον προσδιορισμό της δραστηριότητας των ζελατινασών (MMP-2, MMP-9), καθώς και απομόνωση των GAGs και μέτρηση των ουρωνικών οξέων στα δείγματα, τα οποία τελικά ηλεκτροφορήθηκαν σε οξικές κυτταρίνες για την ποιοτική και ποσοτική ανίχνευση των GAGs.

Η ζυμογραφία ζελατίνης έδειξε δραστηριότητα κυρίως της pro-MMP-2 στα δείγματα από τον κερατοειδή και τον κρυσταλλοειδή φακό. Η IR διαπιστώθηκε ότι επάγει στατιστικά σημαντικά τη δραστηριότητα της pro-MMP-2 στον κερατοειδή και τον φακό τόσο στην οξεία όσο και στην χρόνια έκθεση, ενώ η θειική δικλοφενάκη δεν φαίνεται να αναστέλλει στατιστικά σημαντικά την επαγόμενη από την οξεία έκθεση σε IR δραστηριότητα αυτή της pro-MMP-2 στον φακό και τον κερατοειδή.

Όσον αφορά τις GAGs, στα δείγματα του κερατοειδή ανιχνεύτηκε σε μεγαλύτερο ποσοστό θειική κερατάνη και σε μικρότερα ποσοστά θειική ηπαράνη και θειική χονδροϊτίνη, ενώ στα δείγματα του φακού διαπιστώθηκαν κατά κύριο λόγο η θειική ηπαράνη και η θειική δερματάνη. Η χρόνια έκθεση σε IR δε φάνηκε να επηρεάζει ποσοτικά ή ποιοτικά της GAGs στον κερατοειδή και τον φακό. Η οξεία έκθεση σε IR δεν προκάλεσε καμιά ποσοτική ή ποιοτική μεταβολή στις GAGs στον κερατοειδή, ενώ στον κρυσταλλοειδή φακό διαπιστώθηκε ότι επάγει στατιστικώς σημαντικά το ποσό της θειικής ηπαράνης, με τη χρήση της δικλοφενάκης να προκαλεί μικρή, αν κι όχι στατιστικά σημαντική, μείωση του ποσού της θειικής ηπαράνης που επάγεται από την IR. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής δείχνουν ότι η έκθεση σε IR μπορεί να επιφέρει αλλαγές σε μόρια του εξωκυτταρίου χώρου στον κερατοειδή και τον κρυσταλλοειδή φακό κονίκλων, όπως είναι οι MMPs και οι GAGs. Συγκεκριμένα και η χρόνια και η οξεία έκθεση σε IR οδήγησε σε επαγωγή της δραστηριότητας της pro-MMP-2 τόσο στον φακό όσο και στον κερατοειδή, όπως επίσης η οξεία έκθεση σε IR αύξησε το ποσό της θειικής ηπαράνης στον φακό, με τη χρήση της δικλοφενάκης να μην μπορεί να αναστείλει στατιστικώς σημαντικά τις επιδράσεις αυτές κατά την οξεία έκθεση, όπου και μελετήθηκε. Αναλογιζόμενοι τις βιολογικές δράσεις των παραπάνω μορίων, αλλά και την αποδεδειγμένη βιβλιογραφικά συμμετοχή τους στην πρόκληση διαφόρων βλαβών στον κερατοειδή και τον κρυσταλλοειδή φακό, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, επιχειρήθηκε μια πρώτη συσχέτιση της έκθεσης σε IR και της πρόκλησης διαφόρων βλαβών στον οφθαλμό, καθώς και μια προσπάθεια αποσαφήνισης των πιθανών μηχανισμών πρόκλησης των βλαβών αυτών και συμβολής στον τομέα ανίχνευσης προληπτικών ή και θεραπευτικών μέτρων έναντι των βλαπτικών αυτών επιδράσεων της IR.

Λέξεις κλειδιά: Κερατοειδής, υπέρυθη ακτινοβολία, κρυσταλλοειδής φακός, κυκλοξυγενάση.

ABSTRACT

Sun is the main source of optical radiation in nature, emitting ultraviolet (UV), visible and infrared radiation (IR), large amount of which reaches Earth's surface. There are also artificial sources of IR radiation, such as furnaces, heaters, lamps etc, that many people are exposed to, deliberately or not, and this exposure can sometimes exceed "normal" limits. Several studies have tried to correlate the exposure to IR with several damages to ocular tissues, including cataract formation, corneal and retinal thermal burns and dermal erythema ab igne.

Nevertheless, little is known so far about the mechanisms involved in IR-induced tissue damages, in contrast to UV, where the interference of extracellular molecules, including matrix metalloproteinases (MMPs) have already been proven by many studies. Recent studies, however, using human dermal fibroblast, show that, similar to UV, IR probably exerts its harmful effects by affecting extracellular molecules, including MMPs.

It is known that MMPs are implicated in various diseases of ocular tissues, such as cataractogenesis, dry eye, corneal epithelial apoptosis, while other extracellular matrix molecules, such as glycosaminoglycans (GAGs), also appear to participate in various pathological ocular conditions, such as cataract formation and corneal edema. However, no work so far has studied the possible mechanism of IR-induced harmful effects to the eye and IR-exposure impact on MMPs and GAGs.

In this context, the objective of our study was to investigate the effect of acute and chronic exposure to IR on rabbit corneal and crystalline lens MMP-2, MMP-9 and GAGs (keratan sulfate, dermatan sulfate, chondroitin sulfate, heparan sulfate, hyaluronic acid and heparin). Two groups of four rabbits were used for acute exposure. The first group, which was not irradiated, was the control group for the second, the rabbits of which were exposed to IR for twelve hours. Furthermore, diclofenac sodium eye drops 0.1% were instilled in the right rabbit eye of both groups in order to determine the role of cyclooxygenase inhibition, using as controls the left eyes of the rabbits. As far as chronic exposure is concerned, two groups of three rabbits were used. The first was the control group, while the second was exposed to IR for a period of four months. The irradiation was lasting four hours and was taking place every working day except weekends. The cornea and the crystalline lens of each animal were extracted after anaesthesia, followed by gelatin zymography, in order to determine gelatinase activity (MMP-2, MMP-9), and GAGs isolation and measurement of uronic acids, which were finally electrophoresed on cellulose acetate membranes for the qualitative and quantitative analysis of GAGs.

Gelatin zymography revealed mainly pro-MMP-2 activity in all samples. IR was found to induce the activity of corneal and lens pro-MMP-2 in a statistically significant manner, after both acute and chronic exposure, while diclofenac sodium did not appear to inhibit this induction during acute IR exposure, where the role of which was investigated.

As far as GAGs are concerned, keratan sulphate was mainly detected in corneal samples followed by heparan sulfate and chondroitin sulfate, whereas in lens samples heparan sulfate and dermatan sulfate were found predominantly. Chronic exposure to IR did not appear to have any effect on corneal and lens GAGs. Acute exposure to IR induced the amount of lens heparan sulfate in a statistically significant manner, whereas there were no quantitative or qualitative changes to be

detected in corneal samples. The use of diclofenac sulfate did not appear to affect acute IR exposure effects.

In conclusion, the results of this study suggest that chronic IR exposure induced corneal and crystalline lens pro-MMP-2. Regarding acute IR exposure, an up-regulation of corneal and lens pro-MMP-2, as well as lens heparan sulphate amount was reported, with the use of diclofenac sodium to be unable to inhibit or reduce IR induced effects in a statistically significant manner. Considering the biological roles of these molecules and their scientifically proven participation in many ocular diseases, as previously mentioned, a first attempt was made to correlate them with IR exposure, so as to exploit possible mechanisms involved in various pathological ocular conditions and to contribute to the field of preventive and therapeutic solutions against IR potentially harmful effects.

Key words: Cornea, infrared radiation, crystalline lens, cyclooxygenase inhibition.