

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 617.7-007.681-008.9-074

Е.Ю. Опенкова¹, Э.Н. Коробейникова², В.С. Рыкун¹, Г.А. Винькова³

АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ У БОЛЬНЫХ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМОЙ

¹Кафедра глазных болезней ГБОУ ВПО ЧелГМА Минздрава России; ²ЦНИЛ ГБОУ ВПО ЧелГМА Минздрава России; ³клиника ГБОУ ВПО ЧелГМА Минздрава России, Челябинск

У 94 больных первичной открытоугольной глаукомой проведено исследование уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови и слезе, состояния конечных продуктов перекисного окисления липидов и активности каталазы в слезной жидкости, а также показателей липидного обмена в крови. У больных глаукомой в сравнении с группой контроля выявлен высокий уровень в крови атерогенных липидов, в слезе обнаружено увеличение количества малонового диальдегида (МДА) и снижение активности каталазы, а также повышение концентрации оксида азота и его метаболитов в сыворотке крови и в слезной жидкости. Это свидетельствует об активации свободно-радикального окисления, угнетении антиоксидантной системы защиты, наличии эндотелиальной дисфункции при данной патологии.

Ключевые слова: глаукома, слезная жидкость, сыворотка крови, оксид азота, перекисное окисление липидов, липидный обмен, антиоксидантная защита

Ye.Yu. Openkova, E.N. Korobeinikova, V.S. Rykun, G.A. Vinkova

THE ANALYSIS OF STATUS OF BIOCHEMICAL INDICATORS IN BLOOD SERUM AND LACRIMAL FLUID IN PATIENTS WITH PRIMARY OPEN-ANGLE GLAUCOMA

The study used the sample of 94 patients with primary open-angle glaucoma. The analysis was applied to determine the level of nitric oxide metabolites in blood serum and tear, condition of end products of lipid peroxidation and activity of catalase in lacrimal fluid and also indicators of lipid metabolism in blood. The higher level of atherogenic lipids in blood was detected in the group of patients with glaucoma as compared with control group. The patients with glaucoma also characterized by increased amount of malonic dialdehyde in tear, decreasing activity of catalase and increase of concentration of nitric oxide and its metabolites in blood serum and lacrimal fluid. These occurrences testify the activation of free radical oxidation, suppression of antioxidant system of defense and presence of endothelium dysfunction under this kind of pathology.

Key words: glaucoma, lacrimal fluid, blood serum, nitric oxide, lipid peroxidation, lipid metabolism, antioxidant defense

В настоящее время первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) представляет собой весьма актуальную проблему в офтальмологии, так как является основной причиной необратимой слепоты и инвалидности по зрению среди лиц зрелого возраста [2, 8, 9].

Несмотря на успехи, достигнутые в лечении ПОУГ, многие стороны заболевания нуждаются в дальнейшей разработке. В частности, становится очевидным тот факт, что без всестороннего исследования биохимических процессов, происходящих при глаукоме, представления о патогенезе заболевания не могут быть полными [1]. В офтальмологической литературе встречаются сообщения о биохимических исследованиях при ПОУГ в крови, камерной влаге, но крайне недостаточны сведения о слезной жидкости [4, 7, 11]. В то же время оценка слезной жидкости (СЖ) при патологии глаз более адекватна, чем исследование сыворотки крови, поскольку состав слезы в наибольшей мере отражает метаболические процессы, протекающие локально в глазу [1].

Целью работы явилась оценка в сыворотке крови и слезе больных ПОУГ метаболитов оксида азота, состояния конечных продуктов перекисного окисления

липидов (ПОЛ) и активности каталазы (К) в СЖ, а также показателей липидного обмена в крови.

Материалы и методы. Под наблюдением находились 94 пациента, страдающих ПОУГ, из них 32 мужчины и 62 женщины. Больные распределены на 4 идентичные по возрасту группы в зависимости от стадии заболевания: в 1-ю группу вошло 29 пациентов с I (начальной) стадией ПОУГ одного или обоих глаз, во II соответственно – 25 больных со II (развитой) стадией болезни, в III – 22 человека с III (далекозашедшей) и терминальной (5 глаз) стадией, к 4-й группе мы отнесли 18 пациентов с преглаукомой. У 22 больных наблюдалось сочетание стадий глаукомы на обоих глазах. В 50 глазах глаукома была компенсирована (19 глаз – I стадия заболевания, 19 глаз – II стадия, 12 – III стадия глаукомы). В то же время в 65 глазах компенсация в момент обследования не наблюдалась (I стадия – 22 глаза, II стадия – 23 глаза, III стадия – 20 глаз). Средний возраст составил 64,3±9,44 года. В контрольную группу вошло 24 практически здоровых человека аналогичного возраста.

Для диагностики ПОУГ использовали общеизвестные офтальмологические методики: компьютерную периметрию, биомикроскопию диска зрительного нерва, тонографию, гониоскопию, при необходимости диагностические пробы и ультразвуковую доплерографию сосудов орбиты. Все пациенты осмотрены кардиологом липидного центра клиники медицинской академии, по рекомендации которого проводили до-

Для корреспонденции:

Опенкова Елена Юрьевна, аспирант каф. глазных болезней
Адрес: 454014, Челябинск, Комсомольский пр-т, 69/188
Телефон: 8(351) 742-58-61
E-mail: elenavinkova@yandex.ru

полнительные обследования общего состояния: ЭКГ, эхографию сердца, ультразвуковую доплерографию (УЗДГ) сонных артерий.

Выбор биохимических показателей для исследования был обусловлен следующими обстоятельствами. Из литературных источников [2, 6] и полученных нами результатов следует, что ПОУГ развивается у пациентов с сердечно-сосудистой патологией, преимущественно гипертонической болезнью, атеросклерозом, которые вызывают нарушение гемодинамики в сосудах глаза [9]. Доказано, что эндотелий кровеносных сосудов, в том числе капилляров, обладает значительной метаболической активностью. Наряду с эндотелинами в регуляции сосудистого тонуса и кровотока участвует оксид азота (NO) – радикал, образующийся в сосудистом эндотелии из L-аргинина при участии фермента NO-синтетазы [13, 14]. Не исключается влияние NO и на течение глаукомы [1]. Для исследования показателей липидного обмена забор крови производили натощак через 12–14 ч голодания. Слезу собирали атравматично с помощью микрокапилляра, не касаясь глазного яблока. Достоинством этого метода является неинвазивность получения СЖ.

Для определения уровня стабильных метаболитов оксида азота в крови и слезе использовали метод Н.Л. Емченко и соавт. [3], принцип которого основан на цветной реакции Грисса после восстановления нитритов губчатым кадмием. Результаты выражали в мкмоль/л. Использовались адаптированные нами к малому объему СЖ методики определения содержания ТБК-активных продуктов (малонового диальдегида, МДА) перекисного окисления липидов [5]. Результат выражали в нмоль/мл. Активность каталазы определялась по модифицированной методике М.А. Королюка [5]. Активность каталазы в слезе выражали в мкат/л. Уровни общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП) сыворотки крови определяли ферментативным методом на биохимическом анализаторе Solar-PF 1215 с применением наборов реагентов фирмы "Labsystems" (Финляндия). Результаты измеряли на анализаторе Stat Fax (США). Уровень холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП) вычисляли по формуле Фридвалда [12]. Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с помощью электронных таблиц Microsoft Office Excel. Полученные в процессе исследования результаты представлены в виде $\bar{X} \pm m$. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. У 92,5% пациентов была установлена гипертоническая болезнь, которая в 23% случаев сочеталась с ишемической болезнью сердца, стенокардией. При этом у 10% пациентов отмечена желудочковая экстрасистолия, у 27% – хроническая сердечная недостаточность. Изменения сосудов нижних конечностей выявлены у 14% больных, сахарный диабет 2-го типа был у 6,5%. Стеноз общей сонной артерии (ОСА), обусловленный образованием склеротических бляшек в сосудистой стенке, был обнаружен у 46,4% больных, сужение просвета сосудов в области бифуркации ОСА зарегистрировано у 17,8% пациентов. Стеноз внутренней сонной артерии отмечен у 67,8% пациентов.

Учитывая названные выше обстоятельства, мы предприняли исследования показателей липидного обмена в крови наших больных. За целевые уровни липидов крови принимали показатели, рекомендованные Всероссийским научным обществом кардиологов (2007): ОХС $< 4,5$ ммМ/л, ХС ЛПНП $< 2,5$ ммМ/л., ТГ $< 1,7$ ммМ/л, ХС ЛПВП > 1 ммМ/л для мужчин и $> 1,2$ ммМ/л для женщин.

В каждой из четырех групп наблюдаемых больных были отмечены признаки дислипотеинемии (ДЛП). Так, в 1-й группе наблюдения уровень ОХС составил в среднем $6,39 \pm 0,31$ ммМ/л, во 2-й – $6,45 \pm 0,56$ ммМ/л, в 3-й – $5,61 \pm 0,24$ ммМ/л, у больных преглаукомой – $5,54 \pm 0,18$ ммМ/л. Уровень ХС ЛПНП по группам составил: $4,3 \pm 0,32$, $4,47 \pm 0,51$, $3,66 \pm 0,22$ и $3,52 \pm 0,19$ ммМ/л. При этом выявлено достоверное увеличение уровня ОХС ($p < 0,005$), ХС ЛПНП ($p < 0,05$), ТГ ($p < 0,02$) в группе больных с начальной стадией ПОУГ. Обнаружено снижение уровня ХС ЛПВП ($p < 0,001$) и увеличение уровня ТГ ($p < 0,001$) в группе больных с далеко зашедшей стадией ПОУГ; также установлено увеличение содержания ТГ ($p < 0,05$) и ХС ЛПОНП ($p < 0,02$) в сыворотке крови больных преглаукомой. В то же время уровень ОХС и ХС ЛПНП у больных преглаукомой был достоверно ниже, чем у пациентов с глаукомой ($p < 0,01$ и $p < 0,02$ соответственно). Таким образом, отмеченные нами изменения липидного обмена в сыворотке крови у обследованных больных носили атерогенный характер, но при этом у пациентов с ПОУГ эти изменения были более выражены, чем у лиц, не страдающих глаукомой.

Известно, что длительная гиперлипотеинемия (ГЛП) приводит к активации свободно-радикального окисления (СРО) и накоплению продуктов ПОЛ, что оказывает негативное влияние на гемодинамику [10], в том числе в сосудах глаза. Подобные нарушения являются причиной формирования эндотелиальной дисфункции. В связи с тем что в регуляции сосудистого тонуса и кровотока участвует NO, мы провели сравнительное исследование содержания конечных метаболитов NO в сыворотке крови и СЖ у больных ПОУГ. За норму содержания метаболитов NO в сыворотке крови принимали результаты, полученные при обследовании 24 практически здоровых людей, у которых уровень NO составил $18,56 \pm 0,81$ мкмоль/л, нитритов – $3,3 \pm 0,18$ мкмоль/л, нитратов – $15,26 \pm 1,15$ мкмоль/л. Наши исследования позволили обнаружить при ПОУГ существенные изменения содержания метаболитов NO в сыворотке крови. Так, средний уровень NO составил $20,69 \pm 0,60$ мкмоль/л. При этом нами отмечено достоверное ($p < 0,05$) повышение содержания нитритов (NO₂), которое достигло $6,76 \pm 0,15$ мкмоль/л в сравнении с контрольной группой. Уровень нитратов в среднем составил $13,93 \pm 1,90$ мкмоль/л. Из табл. 1 следует, что у больных глаукомой отмечается достоверное увеличение содержания нитритов во всех стадиях болезни, включая преглаукому. Уровень нитратов в крови при преглаукоме и в I стадии ПОУГ изменялся незначительно, но во II и III стадиях заболевания достоверно снижался. В то же время мы не смогли установить четкую зависимость полученных изменений от степени компенсации внутриглазного давления (ВГД).

Таблица 1

Содержание NO и его метаболитов в сыворотке крови больных глаукомой в зависимости от стадии глаукомы

Стадия глаукомы (n)	NO, мкмоль/л	NO ₂ , мкмоль/л	NO ₃ , мкмоль/л
I (21)	22,09±0,90*	6,23±0,26**	15,87±0,80
II (20)	19,90±1,80	6,72±0,80**	12,20±1,13*
III–IV (22)	17,70±0,30	6,59±0,13**	11,12±0,80*
Преглаукома (18)	23,09±0,88*	7,50±0,30**	15,56±0,70
Контроль (24)	18,56±0,80	3,30±0,18	15,26±1,15

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,02$, p – достоверность отличий от нормы, n – количество больных.

В отличие от этого в СЖ нам удалось проследить достаточно четкую связь полученных изменений не только со стадией процесса, но и со степенью компенсации ВГД. Из данных табл. 2 видно, что уровень NO в СЖ повышается постепенно от стадии к стадии и достигает максимума в III стадии глаукомы. При этом среднее содержание нитритов в отличие от изменений этого показателя в сыворотке крови имеет тенденцию к снижению в I–II стадии и при преглаукоме, но достоверно повышается в заключительных стадиях заболевания. Результаты изучения содержания нитратов в СЖ неоднозначны: при I стадии уровень нитратов несколько повышается, во II стадии и особенно при преглаукоме – снижается, но достоверный подъем среднего уровня данного показателя отмеча-

ется в III стадии. Прослеживается зависимость и от степени компенсации ВГД. Из табл. 2 видно, что более значительные изменения содержания метаболитов NO в СЖ выявляются при некомпенсированном офтальмотонусе, что закономерно для финальных стадий глаукомы ($p < 0,05$).

Таким образом, наличие ДЛП и высокий уровень NO и его метаболитов в сыворотке крови и особенно в СЖ у обследованных нами больных свидетельствуют об активации СРО. Создаются условия для стимуляции синтеза NO путем индукции индуцибельной NO-синтазы, что приводит к накоплению NO, который начинает оказывать прямое токсическое действие на системном и клеточном уровнях.

В метаболизме NO важная роль отводится продуктам ПОЛ. В условиях активации СРО происходит избыточное потребление NO, что усугубляет эндотелиальную дисфункцию. О состоянии СРО судили по содержанию МДА в СЖ больных. Нами было обнаружено достоверное увеличение по сравнению с нормой содержания МДА во всех стадиях болезни, в том числе при преглаукоме (табл. 3). Четкая зависимость этих изменений от степени компенсации ВГД не отмечена. На этом фоне наблюдалось угнетение активности каталазы в СЖ. Достоверное снижение ее активности в сравнении с группой здоровых людей отмечено во II и III стадиях глаукомного процесса. Одновременно активность каталазы без компенсации ВГД во всех стадиях глаукомы была выше, чем при компенсированном

Таблица 2

Содержание NO и его метаболитов в слезе больных ПОУГ

Стадия глаукомы (n)	Степень компенсации ВГД (n)	NO, мкмоль/л		NO ₂ , мкмоль/л		NO ₃ , мкмоль/л	
		зависимость от ВГД	по группе	зависимость от ВГД	по группе	зависимость от ВГД	по группе
I (41)	Компенсация (19)	7,79±0,6	9,52±0,3	2,09±0,71	2,39±0,6	5,84±0,2	6,42±0,31
	Нет компенсации (22)	11,09±0,5**		2,86±0,35		7,29±0,42**	
II (42)	Компенсация (19)	9,64±0,48	12,16±0,7**	2,84±0,5	2,37±0,38	4,95±0,21*	5,19±0,38
	Нет компенсации (23)	12,44±0,62**		2,25±0,16		5,25±0,33	
III (32)	Компенсация (12)	12,63±0,2**	14,36±0,5**	3,66±0,44*	4,2±0,3**	5,33±0,4	7,67±0,45**
	Нет компенсации (20)	13,25±0,32**		3,76±0,28**		6,33±0,24*	
Преглаукома (21)			10,57±0,4**		2,34±0,3		4,93±0,09
Контроль (24)			8,9±0,8		2,83±0,31		5,68±0,15

Примечание. Здесь и в табл. 3: n – количество глаз.

Таблица 3

Содержание МДА и активность каталазы в слезе больных ПОУГ

Стадия (n)	Степень компенсации ВГД (n)	Содержание МДА, нмоль/мл	Содержание МДА по группе, нмоль/мл	Активность каталазы, мкат/л	Активность каталазы по группе, мкат/л
I (41)	Компенсация (19)	27,7 ± 0,7*	31,3 ± 0,52*	1,91 ± 0,2	1,98 ± 0,3
	Нет компенсации (22)	30,13 ± 0,63*		1,96 ± 0,15	
II (42)	Компенсация (19)	28,9 ± 0,4*	27,85 ± 0,51*	1,69 ± 0,2*	2,14 ± 0,22
	Нет компенсации (23)	27,6 ± 0,6*		2,2 ± 0,31	
III (32)	Компенсация (12)	24,5 ± 0,2*	22,4 ± 0,12*	1,4 ± 0,1*	1,9 ± 0,14*
	Нет компенсации (20)	23,3 ± 0,32*		1,8 ± 0,17*	
Преглаукома (21)		30,6 ± 0,48*		2,06 ± 0,18	
Контроль (24)		10,36 ± 0,65		2,6 ± 0,36	

давлении, но в то же время ниже, чем в группе сравнения. Низкая активность каталазы в СЖ, особенно в заключительных стадиях глаукомы, может свидетельствовать о дисбалансе в работе клеточных ферментов антиоксидантной защиты (АОЗ) и об увеличении продукции пероксида водорода – аллостерического ингибитора супероксиддисмутазы.

В результате нарушается процесс утилизации супероксидного анион-радикала, что способствует образованию новых, реакционноспособных активных форм кислорода. При этом значительно повышается риск образования пероксинитрита, что нарушает ведущий молекулярный механизм регуляции тонуса сосудистой стенки, в том числе сосудов глаза.

Заключение. Проведенные исследования позволяют заключить, что у больных ПОУГ имеет место нарушение липидного обмена. Высокий уровень атерогенных липидов, ТБК-активных продуктов, NO свидетельствует об активации СРО, угнетении АОЗ, модификации ЛПНП, наличии эндотелиальной дисфункции. Исследование слезной жидкости дает более значительную информацию, чем сыворотка крови, о нарушении молекулярно-приспособительных реакций и может иметь не только диагностическое, но и прогностическое значение и определять характер комплексной терапии ПОУГ. Имеет значение и тот факт, что получение для исследования СЖ является неинвазивным методом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бунин А.Я. В кн.: Глаукома на рубеже тысячелетий: итоги и перспективы: Материалы Всероссийской науч.-практ. конф. М.; 1999: 9–12.
2. Волков В.В. Глаукома при псевдонормальном давлении. М.; 2001.
3. Емченко Н.Л., Цыганенко О.И., Ковалевская Т.В. Клиническая лабораторная диагностика. 1994; 6: 19–20.
4. Жабоедов Г.Д., Курилина Е.И., Петренко О.В. В кн.: Глаукома: проблемы и решения: Материалы Всероссийской науч.-практ. конф. М.; 2004: 53–5.
5. Коробейникова Э.Н. Метод. рекомендации. Челябинск; 2002.
6. Кунин В.Д., Свирина Т.А. В кн.: Глаукома на рубеже тысячелетий: итоги и перспективы: Материалы Всероссийской науч.-практ. конф. М.; 1999: 28.
7. Курьшова Н.И., Томилова И.К., Кадыкова Е.Л. и др. Вестник офтальмологии. 2001; 5: 34–7.
8. Либман Е.С., Чумаева Е.А., Шахова Е.В., Елькина Я.С. В кн.: Глаукома: проблемы и решения: Материалы Всероссийской науч.-практ. конф. М.; 2004: 430–2.
9. Нестеров А.П. Глаукома. М.; 2008.
10. Тутов В.Н. Клиническая лабораторная диагностика. 2010; 2: 3–13.
11. Черных В.В. Глаукома. 2005; 4: 20–3.
12. Friedwald W.T., Levy R.I. Clin. Chem. 1972; 18: 499–502.
13. Moreno M.C., Campanelli J., Sande P. Free Radic. Biol. Med. 2004; 6: 3803–12.
14. Polansky J. Invest. Ophthalmol. 1984; 25 (Suppl.): 122.

Поступила 09.08.12

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 617.51-001.4-07:616.154:577.175.823]-078.33

Н.В. Селянина, Ю.В. Каракулова, О.Ю. Ненашева

ЗНАЧЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ СЕРОТОНИНА КРОВИ И ЛИКВОРА В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

Кафедра неврологии лечебного факультета им. проф. В.П. Первушина, курс клинической лабораторной диагностики при кафедре терапии и семейной медицины ФПК и ППС ГБОУ ВПО Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е.А. Вагнера Минздрава России

У 72 больных с черепно-мозговой травмой легкой и средней степени тяжести в остром периоде изучали содержание серотонина сыворотки крови и спинно-мозговой жидкости. Выявили повышение уровня серотонина сыворотки крови в зависимости от степени тяжести травмы, что может служить методом дифференциальной диагностики сотрясения и ушиба головного мозга.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, серотонин

N.V. Seliyanina, Yu.V. Karakulova, O.Yu. Nenasheva

THE VALUE OF IMMUNE ENZYME TESTING OF QUALITATIVE CONTENT OF BLOOD SEROTONIN AND LIQUOR, IN DIFFERENTIATE DIAGNOSTIC OF CRANIOCEREBRAL INJURY

The sample of 72 patients with craniocerebral injury of light and medium degree in acute period was used to study the content of serotonin in blood serum and spinal liquor. The increase of the level of serotonin in blood serum depending on degree of severity of trauma was established. This occurrence can be used as a technique of differential diagnostic of concussion and contusion of brain.

Key words: craniocerebral injury, serotonin

Для корреспонденции:

Селянина Наталья Васильевна, канд. мед. наук, доцент
Адрес: 614016, Пермь, ул. Куйбышева, 71/1, 13
Телефон: 8-908-250-42-23
E-mail: nselyanina@mail.ru

Серотонинергическая нейромедиаторная система головного мозга является одной из активно функционирующих нейротрансмиттерных систем, принимающих участие в регуляции болевых и вегетативных феноменов. В настоящее время выделено и