

А.В. Верхолюмова, Е.В. Маркова, А.С. Биляк
**ИНФОРМАТИВНОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ
У ПАЦИЕНТОВ С НАРУШЕНИЕМ КРОВООБРАЩЕНИЯ
В СЕТЧАТКЕ И ЗРИТЕЛЬНОМ НЕРВЕ**

*ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет»
Минздрава России, г. Курск*

Обследованы 52 пациента (52 глаза), из них 15 пациентов с нарушением кровообращения в ветвях центральной вены сетчатки (ЦВС), 11 – с нарушением кровообращения в ЦВС, 9 – с сосудистой оптиконейропатией (СОН) по артериальному типу, 17 – с СОН по смешанному типу и 20 здоровых доноров (группа контроля).

Проведена оценка уровней эндотелина-1, метаболита оксида азота (NO^2), трансформирующего фактора роста – $\beta 1$ (ТФР- $\beta 1$) и фактора некроза опухоли- α (ФНО- α) в слезной жидкости. По сравнению с группой контроля выявлено повышение следующих показателей слезной жидкости: уровня эндотелина-1, среднего значения содержания стабильного метаболита оксида азота-нитрита, среднего содержания ФНО- α . Наиболее высокие показатели зафиксированы у пациентов с венозным характером нарушения кровообращения. У пациентов с СОН по смешанному типу выявлено повышение уровня ТФР- $\beta 1$ в 1,67 раза по сравнению с группой контроля.

Ключевые слова: эндотелиальная дисфункция, слезная жидкость, нарушение кровообращения, сетчатка, зрительный нерв.

A.V. Verkholomova, E.V. Markova, A.S. Bilyak
**INFORMATIVENESS OF LACRIMAL FLUID STUDY
IN PATIENTS WITH IMPAIRED BLOOD CIRCULATION
IN RETINA AND OPTIC NERVE**

52 patients (52 eyes) were examined: 15 patients with branch of retinal vein circulatory disorder, 11 patients with central retinal vein circulatory disorder, 9 patients with arterial type vascular optic neuropathy, 17 patients with mixed type of vascular optic neuropathy and 20 healthy donors.

Levels of endothelin -1, nitric oxide metabolite (NO^2), transforming growth factor $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were evaluated in lacrimal fluid. In comparison with control group the analysis of lacrimal fluid showed increasing of levels of endothelin-1, average level of stable metabolite of nitric oxide, average level of TNF- α . The highest levels of endothelin-1 were found in patients with venous type of circulatory disorders. An increase of transforming growth factor $\beta 1$ was noticed in patients with mixed type of vascular optic neuropathy for 1,67 times higher than in control group.

Key words: endothelial dysfunction, lacrimal fluid, circulatory disorders, retina, optic nerve.

Современная офтальмология достигла значительных высот в диагностике и лечении острой сосудистой патологии глаза. В то же время как в России, так и за рубежом отмечается рост числа заболеваний, в основе которых лежит нарушение микроциркуляции. Нарушение кровообращения в сетчатке и зрительном нерве проявляется внезапным и прогрессирующим снижением зрительных функций, что может привести к частичной или полной атрофии зрительного нерва, вторичной неоваскулярной глаукоме и, как следствие, к слабовидению и слепоте, даже несмотря на последующую ретино- и нейропротекторную терапию [2,3,4]. По данным Н.Б. Шульпиной, слепота сосудистого происхождения составляет 2,6%. В 15% случаев окклюзионные поражения сосудов сетчатки являются причиной инвалидности по зрению [8]. Согласно имеющимся данным отечественных и зарубежных исследований значительную роль в формировании и развитии сосудистых заболеваний играет дисфункция сосудистого эндотелия. Дисфункция эндотелия может быть самостоятельной причиной нарушения кровообращения, провоцируя ангиоспазм и тромбоз сосудов [10,11,12]. О функциональном состо-

янии эндотелия можно судить по спектру выделяемых им биологически активных веществ. Проведенные исследования и фундаментальные работы последних лет доказали, что изменение функций эндотелия может являться предвестником каких-либо сосудистых заболеваний и предшествовать их клиническому проявлению [13]. В диагностике заболеваний большое внимание уделяется изучению биохимического состава различных жидкостей и тканей. Предпочтительно использовать биохимически максимально приближенную к исследуемому объекту биологическую среду. Для глаза этой средой является слезная жидкость. Важно отметить, что слеза – это довольно доступная для исследования биологическая жидкость и получить ее возможно быстро, просто и неинвазивно в достаточном для исследования количестве [5,6].

Целью работы явилась оценка уровней эндотелина-1, метаболита оксида азота (NO^2), трансформирующего фактора роста – $\beta 1$ (ТФР- $\beta 1$), фактора некроза опухоли- α (ФНО- α) в слезной жидкости пациентов с нарушением кровообращения в сетчатке и зрительном нерве для установления их значения в возникновении данного вида патологии.

Материал и методы

Под наблюдением находилось 52 пациента (52 глаза) в возрасте от 42 до 79 лет (средний возраст $61,3 \pm 9,7$ года) с нарушением кровообращения в сетчатке и зрительном нерве. Диагноз нарушения кровообращения в сетчатке и зрительном нерве устанавливался на основании клинических проявлений заболевания, результатах инструментальных методов исследования (визометрии, биомикроскопии, офтальмоскопии, периметрии и др.).

В соответствии с целями исследования все испытуемые были разделены на четыре группы. В 1-ю группу вошли пациенты с нарушением кровообращения в ветвях центральной вены сетчатки – 15 человек (15 глаз), во 2-ю группу – 11 пациентов с нарушением кровообращения в центральной вене сетчатки (11 глаз), 3-ю группу составили пациенты с сосудистой оптиконеуропатией по артериальному типу в количестве 9 человек (9 глаз), 4-ю группу – 17 пациентов с сосудистой оптиконеуропатией по смешанному типу (17 глаз).

В контрольную группу вошли 20 практически здоровых лиц (40 глаз), подобранных в соответствии с исследуемыми пациентами по полу и возрасту. Критериями включения пациентов в исследование были: верифицированный диагноз нарушения кровообращения в сетчатке и зрительном нерве; наличие информированного согласия пациента о включении в исследование.

Критериями исключения из исследования служили: сопутствующая офтальмологическая патология (миопия высокой степени, дистрофические изменения сетчатки, диабетическая ретинопатия, выраженное помутнение хрусталика, глаукома); сахарный диабет, ожирение; отказ от участия в исследовании.

Слезную жидкость без предварительной анестезии в объеме 50 мкл собирали с помощью капилляра из нижнего конъюнктивального свода в утренние часы. Для стимуляции слезопродукции использовали пары нашатырного спирта. Собранные образцы слезной жидкости помещали в пластиковые пробирки типа Еррendorf и замораживали до проведения измерений.

Определение уровня эндотелина-1 в образцах проводили на полуавтоматическом анализаторе для иммуноферментного анализа с использованием набора реактивов «ENDOTELIN (1-21)» (Biomedica, Австрия).

Уровень ТФР- β 1 в слезной жидкости определяли на полуавтоматическом анализаторе для иммуноферментного анализа с использованием набора реактивов «HUMAN

ТФР- β 1 Platinum ELISA» (Bioscience, Австрия). Чувствительность метода – 4 пг/мл.

Содержание ФНО- α в слезной жидкости определяли методом иммуноферментного анализа с использованием набора для определения ФНО- α (Вектор – Бест, Россия).

Содержание оксида азота в слезе оценивали спектрофотометрически по концентрации его стабильного метаболита - нитрита (NO^2), используя реакцию Грисса.

Результаты и обсуждение

Было исследовано содержание биологически активных веществ (метаболита оксида азота и эндотелина-1) в слезной жидкости, играющих важную роль в регуляции сосудистого тонуса [13]. При проведении анализа слезной жидкости у пациентов с острыми нарушениями кровообращения в сетчатке и зрительном нерве выявлено достоверное повышение уровня эндотелина-1 ($p < 0,05$), обладающего выраженным вазоконстрикторным действием.

Концентрация эндотелина-1 в слезной жидкости у пациентов с сосудистой патологией сетчатки и зрительного нерва превышала аналогичные показатели в контрольной группе в 2,7 раза ($p < 0,05$). Установлено, что наиболее высокий уровень эндотелина-1 в слезной жидкости наблюдался в группе пациентов с сосудистой оптиконеуропатией по венозному типу ($2,35 \pm 1,39$ фмоль/мл) и при тромбозе ветвей центральной вены сетчатки ($6,51 \pm 1,19$ фмоль/мл). При анализе содержания эндотелина-1 в слезной жидкости было выявлено превышение его концентрации в 1,2 раза ($1,74 \pm 0,44$ фмоль/мл) в 3-й, и в 1,42 раза ($2,1 \pm 0,65$ фмоль/мл) в 4-й группах пациентов с сосудистой оптиконеуропатией по артериальному и смешанному типам в сравнении с аналогичными показателями у пациентов контрольной группы ($p < 0,05$). Таким образом, у больных с нарушением кровообращения в сетчатке и зрительном нерве имеет место повышение в слезной жидкости содержания эндотелина-1, наиболее выраженное у больных венозным характером нарушения кровообращения.

Среднее значение содержания стабильного метаболита оксида азота- нитрита (NO^2) в слезной жидкости больных составило $5,83 \pm 1,89$ мкмоль/л, что превышало аналогичный показатель в контрольной группе ($5,71 \pm 2,03$ мкмоль/л) ($p < 0,05$). Максимальный уровень концентрации нитрита (NO^2) слезы был зафиксирован у пациентов с сосудистой оптиконеуропатией по смешанному типу и составил $8,32 \pm 0,55$ мкмоль/л. Концентрация этого метаболита оксида азота в других группах была ниже, чем в контрольной ($p < 0,05$).

Минимальный уровень NO^2 слезы ($3,77 \pm 1,44$ мкмоль/л) определялся во 2-й группе у пациентов с сосудистой оптиконеуропатией по венозному типу.

Важное значение в диагностике функционального состояния сосудистого эндотелия имеет баланс между про- и противовоспалительными цитокинами [1,7,9]. При исследовании содержания иммуносупрессорного цитокина – трансформирующего фактора роста – $\beta 1$ (ТФР- $\beta 1$) в слезной жидкости – были получены следующие результаты: у пациентов с сосудистой оптиконеуропатией по смешанному типу уровень этого цитокина был в 1,67 раза выше его концентрации в группе контроля ($1093,4 \pm 227,3$ пг/мл и $654,5 \pm 149,7$ пг/мл соответственно) ($p < 0,05$). В других группах уровень этого цитокина был ниже, чем в контрольной ($p < 0,05$).

При определении провоспалительного цитокина в слезе – фактора некроза опухоли- α (ФНО- α) – возникли определенные трудности, так как у большинства пациентов содержание данного цитокина в слезе, вероятно, было ниже минимально определяемых значений. Фактор некроза опухоли- α определился всего у 11% исследуемых. В группе контроля концен-

трация ФНО- α составила $2,49 \pm 0,28$ пг/мл, причем положительные значения наличия этого цитокина в слезе было зафиксировано всего у 6 исследуемых. Среднее содержание ФНО- α в слезной жидкости составило $3,24 \pm 0,469$ пг/мл, что было достоверно выше аналогичного показателя в группе контроля ($2,49 \pm 0,28$ пг/мл) ($p < 0,05$). Если же оценивать значение данного показателя в слезе отдельно по группам, то значительных различий в уровнях концентраций обнаружено не было.

Выводы

1. Острое нарушение кровообращения в сетчатке и зрительном нерве сопровождалось повышением средних значений эндотелина-1 и метаболита оксида азота, являющихся важными маркерами эндотелиальной дисфункции.

2. В результате исследования установлено наличие нарушения продукции цитокинов, что свидетельствует о важной роли иммунных механизмов в формировании эндотелиальной дисфункции у пациентов с нарушением кровообращения в сетчатке и зрительном нерве. Разноречивость полученных данных может служить ориентиром для продолжения исследований в данном русле.

Сведения об авторах статьи:

Верхолотова Анна Владимировна – аспирант кафедры офтальмологии ГБОУ ВПО КГМУ Минздрава России. Адрес: 305004, г. Курск, ул. Садовая, 42-а. E-mail: anna.verholotova@mail.ru.

Маркова Елена Владимировна – ассистент кафедры офтальмологии ГБОУ ВПО КГМУ Минздрава России. Адрес: 305004, г. Курск, ул. Карла Маркса, 3. E-mail: markova_helen@rambler.ru

Бияляк Алексей Сергеевич – клинический ординатор кафедры офтальмологии ГБОУ ВПО КГМУ Минздрава России. Адрес: 305004, г. Курск, ул. Карла Маркса, 3. Тел./факс: 8(4712) 74-03-82.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васюк, Ю.А. «Цитокиновая» модель патогенеза хронической сердечной недостаточности и возможности нового терапевтического подхода в лечении декомпенсированных больных / Ю.А. Васюк, О.П. Дударенко, Е.Н. Юшук // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2006. – № 4. – С. 63-70.
2. Егоров, Е.А. Неотложная офтальмология / Е.А.Егоров, А.В. Свиринов, Е.Г. Рыбакова. – М., 2005. – 119 с.
3. Егоров, Е.А. Нейропротекция при глаукоме: современные возможности и перспективы / Е.А. Егоров, А.Ю. Брежнев, А.Е. Егоров // Клиническая офтальмология. – 2014. – № 2. – С.108-112.
4. Мошетова, Л.К. Офтальмология. Клинические рекомендации. / Л.К. Мошетова, А.П. Нестеров, Е.А. Егоров. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 256 с.
5. Содержание эндотелина-1 в слезной жидкости у больных глаукомой и пролиферативной диабетической ретинопатией / В.В. Нероев [и др.] // Сборник научных трудов научно-практической конференции с международным участием. – М., 2012. – 87 с.
6. Сенников, С.В. Методы определения цитокинов / С.В. Сенников, А.Н. Силков // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 4, № 1. – С. 22-27.
7. Симбирцев, С.В. Цитокины: классификация и биологические функции / С.В. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т. 2, № 3. – С. 16-22.
8. Танковский, В.Э. Тромбозы вен сетчатки / В.Э. Танковский. – М., 2000. – 263 с.
9. Чуров, А.В. Роль ТФР- β в формировании иммуносупрессии в онкогенезе / А.В. Чуров, Е.К. Олейник, В.М. Олейник // Цитокины и воспаление. – 2009. – Т. 8, № 3. – С. 11-15.
10. Bhatt, J. Endothelium as endocrine organ- in health and disease / J.Bhatt // Indian Journal of Applied Basic Medical Sciences. – 2000. – Vol. 2, №1.
11. Dessein, P. Biomarkers of endothelial dysfunction, cardiovascular risk factors and atherosclerosis in rheumatoid arthritis / P.Dessein, B. Joffe, S. Singh // Arthritis Res Ther. – 2005. – Vol.7, №3. – R634-R643.
12. Giles, T.D. Aspects of nitric oxide in health and disease: a focus on hypertension and cardiovascular disease / T.D. Giles // J Clin Hypertens (Greenwich). – 2006. – Vol.8, №4. – P. 2-16.
13. Hadi, H.A. Endothelium dysfunction: cardiovascular risk factors, therapy, and outcome / H.A. Hadi, C.S. Carr, J. Al Suwaidi // Vasc Health Risk Manag. – 2005. – Vol.1, №3. – P.183-198.