

УДК 546.172.6-31:617.7-007.681

РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА И ЭНДОТЕЛИНА-1 В РАЗВИТИИ И ПРОГРЕССИРОВАНИИ ПСЕВДОЭКСФОЛИАТИВНОЙ ГЛАУКОМЫ

© Маркова Е.В., Баранов В.И., Юдина С.М.¹, Некрасова Т.Д.

Кафедра офтальмологии,¹ кафедра клинической иммунологии и аллергологии
Курского государственного медицинского университета, Курск
E-mail: markova_helen@rambler.ru

Целью настоящего исследования явилось изучение уровней эндотелина-1 и маркера оксида азота — нитрита (NO_2^-) в сыворотке крови и слезной жидкости пациентов с псевдоэксфолиативной глаукомой (ПЭГ) и их взаимосвязи с тонографическими параметрами. Обследованы 72 пациента (100 глаз) с псевдоэксфолиативной глаукомой (ПЭГ), из которых были образованы 3 группы в зависимости от стадии заболевания. Во всех случаях уровни внутриглазного давления (ВГД) были в пределах нормы. Контрольная группа включала 20 здоровых доноров (40 глаз). Определенные уровни нитрита (NO_2^-) в слезе и сыворотке крови были ниже, чем в группе контроля. Концентрации эндотелина-1 в сыворотке крови и слезной жидкости значительно превышали показатели в группе контроля. Выявлена линейная ассоциация между уровнями NO_2^- , эндотелина-1 и тонографическими параметрами.

Ключевые слова: оксид азота, эндотелин-1, эндотелиальная дисфункция, псевдоэксфолиативная глаукома.

THE ROLE OF NITRIC OXIDE AND ENDOTHELIN-1 IN DEVELOPING AND PROGRESSING PSEUDOEXFOLIATIVE GLAUCOMA

Markova E.V., Baranov V.I., Yudina S.M.¹, Nekrasova T.D.

Department of Ophthalmology,¹ Department of Clinical immunology and allergology
of Kursk State Medical University, Kursk

The aim of the present study was to investigate the levels of endothelin-1 and nitric oxide marker (NO_2^-) in serum and lacrimal fluid of patients with pseudoexfoliative glaucoma (PEG) and their relation to the tonographic parameters. 72 patients (100 eyes) with PEG were examined. All patients were divided into 3 groups depending on the stage. In all cases the IOP level was within normal limits. The control group included 20 healthy cases (40 eyes). The levels of NO_2^- in serum and lacrimal fluid were lower than in the control eyes. The concentrations of endothelin-1 in serum and lacrimal fluid were significantly increased in glaucoma patients compared to the controls. There was a linear association between NO_2^- , endothelin-1 levels and tonographic parameters.

Keywords: nitric oxide, endothelin-1, endothelial dysfunction, pseudoexfoliative glaucoma.

Глаукома является одной из самых распространенных форм офтальмопатологии [3, 11]. Несмотря на значительные успехи в консервативном и хирургическом лечении глаукомы, данная нозологическая форма в настоящее время остается главной причиной прогрессирующего снижения зрительных функций, приводящего к значительному ухудшению качества жизни пациентов. Следовательно, разработка новых методов диагностики глаукомы, которые позволяют выявить ее на ранней стадии, является актуальной проблемой офтальмологии.

Одним из разнообразных проявлений первичной открытоугольной глаукомы является ее сочетание с псевдоэксфолиативным синдромом (ПЭС). Значительную роль в области исследования данной патологии играют работы Д.С. Кроля. В своей докторской диссертации «Псевдоэксфолиативный синдром и эксфолиативная глаукома» он выделил основные клинические симптомы заболевания и заострил внимание на важности исследования изменений проницаемости гематофтальмического барьера, патогенеза и клиниче-

ских особенностей глаукомы при псевдоэксфолиативном синдроме [2].

Изменения в сосудистой кровотоке все больше становятся вовлеченными в патогенез глаукомы. В зарубежной и отечественной литературе все чаще высказываются предположения о нескольких возможных механизмах, вовлеченных в развитие сосудистой дисфункции у пациентов с псевдоэксфолиативной глаукомой (ПЭГ) [5, 8]. Системная сосудистая патология, включающая эндотелиальную дисфункцию, атеросклероз и вазоспазм, может способствовать развитию и прогрессированию данного вида патологии. Вместе эти состояния приводят к хронической недостаточности кровоснабжения диска зрительного нерва (ДЗН), которая способствует развитию глаукоматозной оптической нейропатии [3, 7].

В последние годы также было доказано, что сосудистый эндотелий является важным метаболически активным органом, вырабатывающим большое количество веществ, влияющих на сосудистый тонус. Его основная задача состоит в поддержании гомеостаза путем регуляции тонуса со-

судов, анатомического строения сосудов, гемостаза, местного воспаления [6].

Эндотелий продуцирует активные биохимические вещества, которые влияют на кровеносные сосуды и другие ткани. По типу действия на сосудистый тонус все вещества, вырабатываемые эндотелием можно разделить на 2 группы: оказывающие вазодилатирующее и вазоконстрикторное действие. К факторам, обладающим сосудорасширяющими свойствами, относят: оксид азота, эндотелиальный гиперполяризующий фактор, простаглицлины, адреномедуллин, монооксид углерода, натрийуретический пептид С, кинины. Выраженным сосудосуживающим действием обладают: эндотелин-1, тромбоксан А2, ангиотензин-II, простагландин Н2. Эндотелиальную дисфункцию все чаще определяют как нарушенное образование в эндотелии оксида азота (NO). Одной из важнейших причин нарушения выработки NO является избыточное образование свободных радикалов, являющихся пусковым механизмом развития оптической нейропатии [1, 10]. Вазодилатирующему действию NO противостоит эндотелин-1, самый важный и мощный сосудосуживающий фактор.

Основным методом оценки выраженности эндотелиальной дисфункции (ЭД) является оценка содержания в крови этих веществ или исследование содержания факторов, повреждающих эндотелий, уровень которых коррелирует с ЭД [4]. Из-за очень быстрого периода полураспада NO напрямую определить его содержание очень сложно. Поэтому в настоящее время чаще всего применяется косвенное исследование концентрации NO по уровню стабильного продукта его распада – нитрита (NO₂⁻). С учетом этого представляет интерес определение уровней NO₂⁻ и эндотелина-1 у пациентов с различными стадиями ПЭГ.

Цель исследования – оценить содержание эндотелина-1 и наиболее устойчивого метаболита оксида азота (NO₂⁻) в сыворотке крови и слезной жидкости пациентов с ПЭГ; выявить зависимость между маркерами дисфункции эндотелия и тонографическими параметрами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Под наблюдением находилось 72 пациента (100 глаз) с установленным диагнозом ПЭГ на разных стадиях в возрасте от 52 до 82 лет. Распределение по полу: мужчин – 35 (48%), женщин 37 (52%). В группу контроля входили 20 практически здоровых лиц, подобранных в соответствии с полом и возрастом. Критерии включения в исследование: верифицированный диагноз ПЭГ, стабилизация зрительных функций (отсутствие

прогрессии за последний год по результатам не менее двух обследований), нормализация внутриглазного давления, наличие письменного согласия на участие в клиническом исследовании.

Диагноз ПЭГ устанавливался на основании клинических проявлений заболевания, данных инструментальных методов исследования. О наличии псевдоэксфолиативного синдрома у обследованных больных судили на основании обнаружения абсолютных и косвенных признаков ПЭС.

В исследование не включались пациенты с тяжелой соматической патологией, требующие постоянной медикаментозной терапии; пациенты с сопутствующей офтальмологической патологией (миопия высокой степени, катаракта, дистрофические изменения сетчатки).

Образцы крови и слезной жидкости для последующего определения уровней эндотелина-1 и NO₂⁻ отбирали в утренние часы в одно и то же время. После центрифугирования сыворотку крови и слезную жидкость немедленно замораживали и хранили при температуре не более -35°C.

Определение уровня эндотелина-1 в образцах проводили на полуавтоматическом анализаторе для иммуноферментного анализа с использованием набора реактивов «ENDOTHELIN (1-21)» (BIOMEDICA, Австрия). Определение метаболита оксида азота (NO₂⁻) в биологических жидкостях проводилось спектрофотометрически при длине волны 540 нм, используя реакцию Грисса.

В схему исследования входили: визометрия, периметрия, тонометрия по Маклакову, биомикроскопия, офтальмоскопия, гониоскопия с линзой Гольдмана, электротонография.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием стандартного пакета прикладных программ Microsoft Excel и BioStat 2008 for Windows. Были применены методы описательной статистики (M±m) и корреляционного анализа (коэффициент корреляционного отношения Пирсона, r). Во всех процедурах статистического анализа за уровень значимости принимали p<0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проанализировав данные, полученные в ходе исследования сыворотки крови и слезной жидкости пациентов с ПЭГ, было выявлено достоверное повышение уровней эндотелина-1 в данных биологических средах (p<0,05). Уровень сывороточного эндотелина-1 был почти в 3 раза выше в группе пациентов с ПЭГ в сравнении с группой контроля. Содержание эндотелина-1 сыворотки в контрольной группе и у пациентов с ПЭГ составило

вило соответственно $0,73 \pm 0,19$ фмоль/мл и $2,13 \pm 0,82$ фмоль/мл.

Концентрации эндотелина-1в слезной жидкости у пациентов с ПЭГ так же превышали аналогичные показатели нормы в 2,3 раза ($p < 0,05$). Содержание эндотелина-1в контрольной группе составило $1,52 \pm 0,52$ фмоль/мл, в группе пациентов с ПЭГ его значения определялись на уровне $3,48 \pm 1,32$ фмоль/мл. При анализе данных не мог не остаться незамеченным тот факт, что средняя концентрация эндотелина-1в слезной жидкости превышала таковую в сыворотке крови почти в 1,5 раза.

Изучая содержание данных биологических агентов в зависимости от степени поражения зрительных функций, была прослежена четкая зависимость между концентрацией эндотелина-1 в исследуемых жидкостях и стадией заболевания (рис.1).

Рис. 1 наглядно демонстрирует, что наименьшая концентрация эндотелина-1 как в сыворотке, так и в слезной жидкости, была определена у пациентов с начальной стадией ПЭГ ($1,38 \pm 0,37$ фмоль/мл и $2,35 \pm 0,54$ фмоль/мл, соответственно). Развитая стадия характеризовалась более высоким содержанием данного вещества в биологических жидкостях. Уровни эндотелина-1 составили $1,75 \pm 0,59$ фмоль/мл в сыворотке крови и $2,93 \pm 0,37$ фмоль/мл в слезной жидкости. Максимальная концентрация данного пептида соответствовала далекозашедшей и терминальной стадиям заболевания и составила соответственно $2,6 \pm 0,78$ фмоль/мл в сыворотке и $4,16 \pm 1,42$ фмоль/мл в слезной жидкости. Эти показатели почти в 2 раза превышали значения, определенные у пациентов с I стадией ПЭГ.

У пациентов с ПЭГ среднее значение NO_2^- сыворотки крови было ниже, чем аналогичный показатель в группе контроля ($4,64 \pm 2,1$ мкмоль/л и $4,75 \pm 1,45$ мкмоль/л соответственно, $p < 0,05$). Уменьшение концентрации данного показателя

по сравнению с контрольной группой так же определялось в слезной жидкости ($4,1 \pm 1,85$ мкмоль/л и $4,28 \pm 1,78$ мкмоль/л соответственно, $p < 0,05$).

В ходе настоящего исследования, как и в случае с эндотелином-1, была выявлена связь между стадией заболевания и уровнем NO_2^- (рис. 2).

Максимальный уровень NO_2^- в сыворотке крови и слезной жидкости был зафиксирован у пациентов с начальной стадией заболевания. Концентрация NO_2^- в данной группе составила $10,4 \pm 3,94$ мкмоль/л в сыворотке и $9,12 \pm 2,59$ мкмоль/л в слезной жидкости. Полученные значения превышали аналогичные показатели в группе контроля, что, по-видимому, свидетельствует об усиленной компенсаторной реакции в ответ на повышенную выработку вазоконстрикторных факторов. В развитой стадии глаукомы уровни NO_2^- в сыворотке и слезе были приближены к показателям в контрольной группе и составили соответственно $4,35 \pm 1,47$ мкмоль/л и $3,82 \pm 1,56$ мкмоль/л, что, однако, было достоверно ниже, чем при начальной глаукоме ($p < 0,05$). В далекозашедшей и терминальной стадии заболевания концентрация NO_2^- была самой низкой и составила соответственно $2,88 \pm 1,07$ мкмоль/л и $2,44 \pm 0,8$ мкмоль/л, $p < 0,05$. По отношению к начальной стадии определяемый уровень данного метаболита был уменьшен фактически в 4 раза.

В ходе исследования была прослежена линейная корреляционная связь между уровнями исследуемых веществ в сыворотке крови и слезной жидкости. Корреляция между содержанием эндотелина-1 в сыворотке крови и слезной жидкости составила $r = 0,69$, $p < 0,05$. Между содержанием NO_2^- в сыворотке и слезе, как и в случае с эндотелином-1, определялась прямая корреляционная зависимость, которая составила $r = 0,71$, $p < 0,05$. Корреляционный коэффициент между уровнем NO_2^- и эндотелином-1 в сыворотке был равен

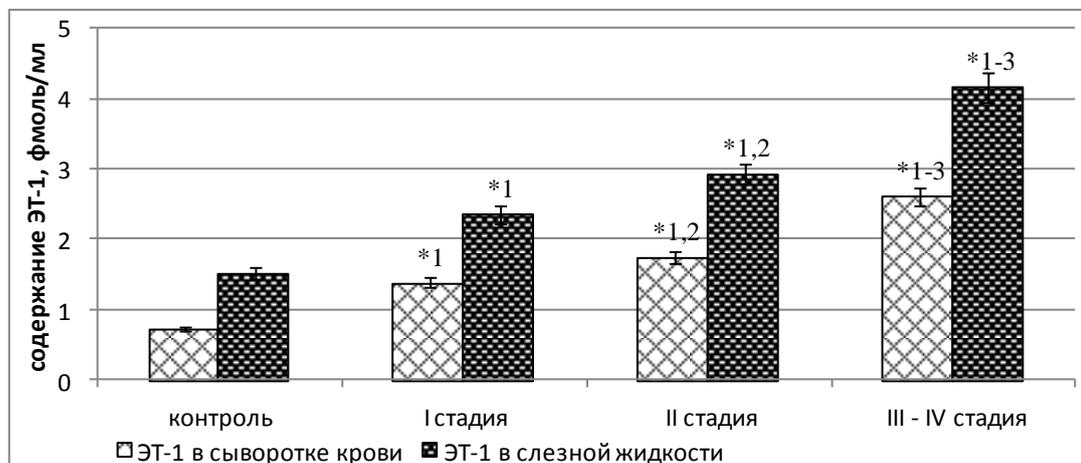


Рис. 1. Содержание эндотелина-1 в сыворотке крови и слезной жидкости пациентов с ПЭГ в зависимости от стадии заболевания.

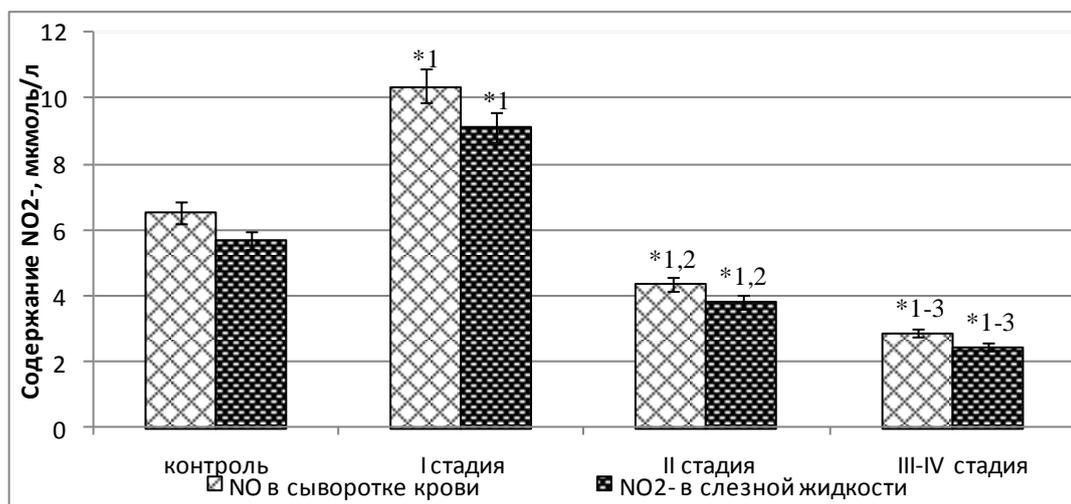


Рис. 2. Содержание NO₂⁻ в сыворотке крови и слезной жидкости пациентов с ПЭГ в зависимости от стадии заболевания.

$r = -0,61$, $p < 0,05$. При исследовании слезной жидкости также была очевидна обратная корреляционная связь между эндотелином-1 и NO₂⁻ $r = -0,56$, $p < 0,05$. Определенный интерес представляло изучение зависимости между тонографическими параметрами и основными показателями функционального состояния эндотелия. Тонографическое исследование проводилось в день взятия проб сыворотки крови и слезной жидкости при условии, что за сутки до исследования пациенты не закапывали гипотензивные капли. У обследуемых в группе контроля значения истинного ВГД и коэффициента оттока составили соответственно $16,6 \pm 2,9$ мм. рт.ст. и $0,18 \pm 0,06$ мм³/мин/мм рт.ст. Наименьшие значения Po и максимальные значения C определялись у больных с начальной стадией заболевания. Средние значения данных параметров составили соответственно $18,1 \pm 2,5$ мм рт.ст. и $0,15 \pm 0,05$ мм³/мин/мм рт.ст. ($p < 0,05$). В далекозашедшей и терминальной стадиях заболевания определялся самый высокий уровень истинного давления и самый низкий показатель коэффициента оттока ($p < 0,05$).

В результате сопоставления данных тонографических параметров с показателями эндотелиальной дисфункции были выявлены следующие корреляционные взаимосвязи.

Между эндотелином-1 сыворотки крови и слезной жидкостью определялась прямая взаимосвязь с Po ($r = 0,35$, $p < 0,05$ и $r = 0,39$, $p < 0,05$ соответственно); обратная связь с коэффициентом легкости оттока ($r = -0,35$, $p < 0,05$ и $r = -0,32$, $p < 0,05$). Между NO₂⁻ сыворотки крови и слезной жидкости так же была выявлена линейная ассоциация с тонографическими показателями. Корреляционное отношение между NO₂⁻ сыворотки крови и слезной жидкости с истинным ВГД составило соответственно $r = -0,39$, $p < 0,05$ и $r = -0,42$, $p < 0,05$. Аналогичное отношение между NO₂⁻ сы-

воротки крови и слезной жидкости и коэффициентом легкости оттока равнялось $r = 0,31$, $p < 0,05$ и $r = 0,39$, $p < 0,05$.

На основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Согласно данным нашего исследования, усиленная выработка эндотелина-1 сопровождалась снижением уровня NO₂⁻ (стабильного метаболита оксида азота). Исходя из этого, можно сделать вывод о том, что сниженный уровень NO, как и повышенный уровень эндотелина-1, способствует усилению вазоконстрикции. Измененные уровни исследуемых биологических агентов могут отражать нарушенный баланс веществ, вырабатываемых эндотелием и играющих ключевую роль в развитии эндотелиальной дисфункции.

2. Выявленная в ходе исследования зависимость между содержанием данных веществ в сыворотке крови и слезной жидкости может служить доказательством целесообразности использования слезной жидкости в ходе изучения различных аспектов патогенеза и диагностики глаукомы и других видов офтальмопатологии.

3. Полученные в ходе исследования корреляционные связи между исследуемыми показателями и тонографическими параметрами являются косвенным доказательством влияния ключевых маркеров дисфункции эндотелия на внутриглазное давление и свидетельствуют о целесообразности дальнейшего исследования этих веществ в биологических жидкостях при ПЭГ.

Постоянно появляющиеся и обновляющиеся знания о роли эндотелина-1 и NO в патогенезе ПЭГ призваны способствовать формированию принципиально новых подходов к диагностике и лечению этого заболевания, что позволит диагностировать заболевание на более ранней стадии, в ряде случаев замедлить прогрессирование болез-

ни и, как следствие, улучшить качество жизни пациента.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бакинский П.П.* Эндотелины и оксид азота: их значение в регуляции глазного кровотока и внутриглазного давления и роль в патогенезе первичной глаукомы // Вестн. офтальмол. – 1999. – № 3. – С. 33-37
2. *Кроль Д.С.* Псевдоэксфолиативный синдром и его роль в патогенезе глаукомы // Вестн. офтальмол. – 1968. – № 1. – С. 9-15.
3. *Курьшева Н.И.* Глаукомная оптическая нейропатия. – М., МЕДпресс-информ, 2006. – 136 с.
4. *Петрищев Н.Н., Власов Т. Д.* Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция / Под ред. Н.Н. Петрищева. – СПб: Изд-во СПбГМУ, 2003. – 435 с.
5. *Anderson D.R.* Introductory comments on blood flow autoregulation in the optic nerve head and vascular risk factors in glaucoma // *Surv. Ophthalmol.* – 1999. – Vol. 43. – P.5-9.
6. *Cines D.B., Pollak E.S., Buck C.A. et al.* Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorder // *Blood.* – 1998. – Vol. 9. – N 10. – P. 3527-3561.
7. *Flammer J., Orgul S.* Optic nerve blood-flow abnormalities in glaucoma. *Prog. Retin. Eye Res.* – 1998. – Vol. 17. – P. 267-289.
8. *Madden J., Growley M.* Factors in the exfoliation syndrome // *Br. J. Ophthalmol.* – 1982. – Vol. 66. – P. 432-437.
9. *Grunwald J.E., Piltz J., Hariprasad S.M., DuPont J.* Optic nerve and choroidal circulation in glaucoma // *Invest. Ophthalmol. Vis Sci.* – 1998. – Vol. 39. – P. 2329-2336.
10. *Neufeld A.* Nitric Oxide: a potential mediator of retinal ganglion cell damage in glaucoma // *Surv. Ophthalmol.* – 1999. – Vol. 43, Supp. L. – P. 129-137.
11. *Quigley H.A., Broman A.T.* The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020 // *Br. J. Ophthalmol.* – 2006. – Vol. 90. – P. 262-267.