

ДИНАМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ МЕТАБОЛИТОВ ОКСИДНОГО ЗВЕНА У БОЛЬНЫХ ПЕРВИЧНОЙ ГЛАУКОМОЙ

Курилина Е. И., Жабоедов Г. Д., Петренко О. В., Чурюмов Д. С.

Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца

Оксид азота признан главным фактором в области клеточной сигнализации и признается его участие в патогенезе первичной глаукомы. В исследовании проведена оценка степени нарушений биохимических показателей метаболитов NO в слезной жидкости у больных с глаукомой. Развитие и прогрессирование глаукомного процесса (от I до IV стадии), характеризуются выраженными нарушениями в системе синтеза оксида азота. Полученные результаты свидетельствуют об выраженных биохимических сдвигах в области клеточной сигнализации и межклеточного взаимодействия в биологических системах органа зрения и подтверждают важность сосудистого звена в патогенезе глаукомного процесса, являющегося частичным проявлением общей сосудистой патологии организма.

Ключевые слова: первичная глаукома, оксид азота (NO), биохимия слезной жидкости.

Физиологическая и патофизиологическая роль оксида азота (NO) представляется в глазу сложной и до конца неизученной [1, 2]. Оксид азота признан главным фактором в области клеточной сигнализации и межклеточного взаимодействия в биологических системах. На сегодняшний день большинством исследователей признается участие оксида азота в патогенезе и первичной глаукомы.

В тканях глаза NO синтезируется тремя изоформами NO-синтазы: конститутивными – нейрональной NOS, эндотелиальной NOS и индуцибельной NOS. В эндотелии сосудов хориоидеи и сетчатки, в цилиарных артериях и преламинарной участке зрительного нерва находится эндотелиальная изоформа NO-синтазы (eNOS). Нейрональная изоформа NO-синтазы (nNOS) представлена в периваскулярных зонах волокон зрительного нерва. В местах дезорганизации трабекулы и решетчатой пластины наблюдается накопление iNOS [3].

Оксид азота играет важную роль в гидродинамике глаза, нейротрансмиссии и регуляции кровообращения в сетчатке и зрительном нерве. Наибольший эффект оксид азота, который образуется с участием эндотелиальной или нейрональной NO-синтазы, заключается в вазодилатации и уменьшении агрегации тромбоцитов, и, таким образом, регуляции ретинального и хориоидного кровотока [4, 5].

Следует отметить, что эндотелиальная дисфункция приводит к последующему нарушению гемодинамики глаза. Этот процесс усугубляется за счет снижения биодоступности NO и увеличения продукции активных форм кислорода (АФК) и активации iNOS. Последняя, под влиянием медиаторов воспаления вызывает

нейродегенеративные изменения и апоптоз клеток сетчатки и зрительного нерва. Избыточный синтез NO может также стимулировать образование внутриглазной жидкости и быть фактором риска развития офтальмогипертензии. При определенных концентрациях оксид азота может приводить к расслаблению контрактильных элементов трабекул и расширению межтрабекулярных пространств, способствует оттока водянистой влаги [6].

Установлено также, участие NO в активации свободнорадикальных процессов – образовании токсичного соединения пероксинитрита (при взаимодействии высоких уровней NO с супероксид-анионом), который генерируется в больших количествах при ишемии при острой и хронической нейрососудистой патологии.

Оксид азота, в зависимости от условий его уровня синтеза, может оказывать как защитное действие, так и повреждающий эффект. Таким образом, можно говорить о разностороннем, дозозависимом эффекте действия NO на нейроны сетчатки и зрительного нерва и его участии в развитии основных осложнений при глаукомном процессе [7, 8].

Цель исследования: Повышение эффективности динамической диагностики глаукомы на основе оценки уровней метаболитов оксидного звена в слезной жидкости.

Материал и методы исследования

Основную группу составили больные с начальной глаукомой – 28 чел., развитой – 36 чел., далекозаведшей стадией – 32 и с терминальной – 26 чел. Возраст больных от 60 до 78 лет. В группу контроля вошли 35 больных, у которых не выяв-

лено підвищення внутріглазного тиску. По основним показателям здоров'я і віковим критеріям групи були однорідні. Среми супутніх захворювань в обох групах однаково спостерігалися: гіпертонічна хвороба, ішемічна хвороба серця, церебральний і кардіоатеросклероз. В старшій віковій групі були відзначені сенильні зміни в хрусталику (стареча катаракта) а також ангіопатія сітчатки по гіпертонічному і атеросклеротичному типу.

Всім хворим проведені біохімічні дослідження сльозної рідини: були вивчені показателі стабільних метаболітів оксиду азоту (нітрит- (NO_2^-) і нітрат- (NO_3^-) аніонів), цитруліна, мочевины (продуктів метаболізму амінокислоти L-аргініна, джерела синтезу NO), визначення «індексу оксигенації».

Кількість нітрит-аніона (NO_2^-) визначали в безбілкових пробіях колориметричної реакції з допомогою реактиву Грісса методом Гріна. Вміст нітрат-аніона (NO_3^-) визначали з допомогою спектрофотометричного методу з модифікації Коцюруба А. В. [9]. Вміст цитруліна визначали методом колориметрії. Вміст мочевины визначали колориметричним методом.

Маркер гіпоксії – «індекс оксигенації» характеризує ступінь доступності кисню в тканинах ока і розраховується по формулі:

Індекс оксигенації = [вміст нітрит-аніона] \times 1000 / [вміст нітрат-аніона + вміст мочевины]

Результати

Оцінку ступеня порушень отриманих в результаті дослідження біохімічних показателів сльозної рідини у хворих з глаукомою проводили в порівнянні з групою контролю відповідних вікових груп. Показателі контрольної групи розцінювалися як нормальні показателі для даної вікової категорії (табл. 1).

Отримані нами дані вказують на те, що з віком у здорових людей підвищуються рівні нітрит-аніона (практично в 2 рази) і достовірно знижуються рівні нітрат-аніона, за рахунок зростання неферментативних і/або ферментативних шляхів утворення NO.

При розвитку патологічних процесів і гіпоксії зв'язаних з порушенням клітинного дихання мітохондрій відбувається активація синтезу NO з L-аргініна під впливом індуктибельної форми NO-синтази [10].

По результатам нашого дослідження (табл. 1), з віком в сльозі здорових осіб спостерігається підвищення пулов як мочевины, більш ніж в 2 рази ($11,48 \pm 1,75$ нмоль/мг білка), так і цитруліна $53,40 \pm 7,45$ пмоль/мг білка по отно-

шенню до вікової групи в віці 40–50 років ($5,02 \pm 0,26$ нмоль/мг білка і $35,17 \pm 2,74$ пмоль/мг білка, відповідно). Це свідчить про активацію аргіназного шляху деградації аргініна для інтенсивного синтезу NO, високі рівні якого, можуть мати токсичний вплив на клітини, і зниження рівня природної нейропротекції [7, 8]. Активація всіх цих факторів є не останнім ланкою в патогенезі ішемічного пошкодження тканин організму при багатьох патологічних станах.

Оцінюючи «індекс оксигенації» в сльозі здорових донорів (табл. 1) слід відзначити різницю показателів в віковому аспекті. В старшій віковій групі відзначено значительне зниження (в 2 рази) цього показателя. Ці зміни «індексу оксигенації» супроводжуються достовірним підвищенням рівня нітрит-аніона і активацією альтернативних шляхів метаболізму L-аргініна з переважним індуктибельним синтезом оксиду азоту.

Вказані вище динамічні зміни можуть свідчити про можливість розвитку гіпоксії і ішемічних станів в органах і системах тканин всього організму, і в частині ока зору, інволюційного характеру.

В віковій групі пацієнтів 60–80 років спостерігається значительний зростання стабільного метаболіту NO_2^- від I до III стадії глаукоми і різке його зниження в IV стадії. Так, у пацієнтів з I стадією розвитку глаукомного процесу, вміст NO_2^- достовірно підвищується в 1,5 рази, у пацієнтів з II стадією глаукоми – практично в 3 рази, в той час як у пацієнтів з III стадією, спостерігалося значительне (в 6 раз) підвищення пула нітрит-аніона по відношенню до контрольної групи здорових донорів пожилого віку (60–80 років). В термінальній стадії глаукоми спостерігається зниження кількості NO_2^- . Оскільки, неферментативне утворення нітриту передбачає високу ступінь оксигенації клітин органів зору, то більш реальним шляхом його утворення в сльозі пацієнтів з різними стадіями глаукоми є шлях ферментативного відновлення NO_3^- до NO_2^- .

При оцінці альтернативних шляхів метаболізму L-аргініна в сльозі неопераційних пацієнтів з різними стадіями глаукоми спостерігалося значительне підвищення (по відношенню до контрольної групи здорових донорів 60–80 років віку) вмісту мочевины і цитруліна. Відповідно, можна передположити, що метаболізм аргініна в більшій мірі проходить по неокислювальному аргіназному шляху з утворенням L-орнітину і мочевины.

Висновок. Враховуючи вище викладені дані наших досліджень, розвиток глаукомного процесу (від I до IV стадії глаукоми), на фоні вікових змін, характеризується динамікою порушень в системі синтезу оксиду

Таблиця 1

Динамика изменений нитрит- и нитратанионов, цитрулина, мочевины и «индекса оксигенации» в слезе здоровых людей различного возраста, n=65

Показатель	Возраст здоровых доноров (лет)		t
	40–50	60–80	
	(M±m)		
NO ₂ , пмоль/мг белка	182,81±27,55	284,69±28,91	7,108
NO ₃ , нмоль/мг белка	56,71±8,78	34,45±4,77	2,275
Цитруллин, пмоль/мг белка	35,17±2,74	53,40±7,45	2,253
Мочевина, нмоль/мг белка	5,02±0,26	11,48±1,75	3,634
«Индекс оксигенации», усл. ед.	12,96±0,26	5,10±0,42	2,332

Примечание: t – степень достоверности разницы показателей в возрастных группах (p≤0,05)

Таблиця 2

Содержание показателей стабильных метаболитов NO – нитрит- и нитрат-анионов и продуктов альтернативных путей метаболизма L-аргинина в слезе неоперированных пациентов с ПОУГ

Условия исследования	Показатели (M±m)				
	NO ₂ - пмоль/мг белка	NO ₃ -нмоль/мг белка	Цитрулин пмоль/мг белка	Мочевина нмоль/мг белка	Индекс оксиген. усл.ед.
Здоровые доноры 60–80-ти летнего возраста (n=35)	284,69±28,91	34,45±4,77	53,40±7,45	11,48±1,75	5,10±0,42
Глаукома I стадия (n=28)	425,03±73,65*	48,86±7,12*	103,72±18,22*	14,44±2,63*	6,71±0,95
Глаукома II стадия (n=36)	836,16±114,8**	56,80±6,95**	167,80±27,89**	32,68±5,14**	10,98 ±1,91**
Глаукома III стадия (n=32)	1723,6±129,5**	40,90±5,84*	106,32±4,83*	58,55±12,01*#	7,12±1,04*
Глаукома IV стадия (n=26)	492,66±81,05*	41,06±5,04*	121,20±12,03**	43,98±16,11**	6,88±0,77

Примечание: * – изменения достоверны (p≤0,05) по отношению к группе здоровых доноров (60–80 лет) (контроль); # – изменения достоверны (p≤0,05) по отношению к группе пациентов с глаукомой I стадии

азота, которая отражает сосудистый компонент мультифакторного генеза глаукомы и есть частным проявлением общей сосудистой патологии.

Выводы

1. У здоровых людей с возрастом в слезной жидкости достоверно понижаются уровни нитрат-аниона, повышаются уровни нитрит-аниона пулов мочевины, и цитрулина Это свидетельствует об активации интенсивного синтеза NO, высокие уровни которого, могут иметь токсическое действие на клетки, и снижения уровня природной нейропротекции.

2. Динамические изменения «индекса оксигенации» могут свидетельствовать о возможности развития гипоксии и ишемических состояний в органах и системах тканей всего организма, и в частности органа зрения инволюционного характера.

3. Развитие и прогрессирование глаукомного процесса (от I до IV стадии), характеризуют выраженным нарушением в системе синтеза оксида азота. Полученные результаты свидетельствуют об выраженных биохимических сдвигах в области клеточной сигнализации и межклеточного взаимодействия в биологических системах органа зрения и подтверждает важность сосудистого звена в патогенезе глаукомного процесса, являющегося частичным проявлением общей сосудистой патологии организма.

3. Развитие и прогрессирование глаукомного процесса (от I до IV стадии), характеризуют выраженным нарушением в системе синтеза оксида азота. Полученные результаты свидетельствуют об выраженных биохимических сдвигах в области клеточной сигнализации и межклеточного взаимодействия в биологических системах органа зрения и подтверждает важность сосудистого звена в патогенезе глаукомного процесса, являющегося частичным проявлением общей сосудистой патологии организма.

Литература

- Lamping K. Interactions Between NO and cAMP in the Regulation of Vascular Tone / K. Lamping // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. – 2001. – Vol. 21. – P. 729 –730.
- Мойбенко О. О. Фундаментальні механізми дії оксиду азоту на серцево-судинну систему як основи патогенетичного лікування її захворювань / Мойбенко О. О., Сагач В. Ф., Ткаченко М. М. та ін.// Фізіологічний журнал. – 2004. – Т. 50, № 1. – С.11–30.
- Nathanson J. A. Alterations of ocular nitric oxide

- synthase in human glaucoma / J. A. Nathanson, M. McKee // Invest. Ophthalmol Vis Sci – 1995 – Vol. 36, № 9. – P. 17741784.
4. Toda N. Nitric oxide: ocular blood flow, glaucoma, and diabetic retinopathy / Toda N, Nakanishi-Toda M. // Prog Retin Eye Res. – 2007 –Vol. 26, № 3. – P. 205–238.
 5. Koss M.C. Functional role of nitric oxide in regulation of ocular blood flow// Eur J Pharmacol. – 1999. – Vol.374, № 2. – P. 161–174.
 6. Chatterjee A. Endothelial nitric oxide (NO) and its pathophysiologic regulation / Chatterjee A., Black S. M, Catravas J. D. // Vascul Pharmacol. – 2008. – Vol. 49, № 4–6. – P. 134.
 7. Жабоедов Г. Д. Исследования уровня оксида азота в слез, водянистой влаге и плазме крови в больных с первичной открытоугольной глаукомой / Г. Д. Жабоедов, Е. И. Курилина, А. В. Петренко и др. // Современные технологии лечения глаукомы: сб. науч. ст. / Под ред. Х. П. Тахчиды. – М., 2003. – С. 403–406. / Под ред. Х. П. Тахчиды. – М., 2003. – С. 403–406.
 8. Haefliger I. Nitric oxide and Endothelin in the pathogenesis of glaucoma / I. Haefliger, E. Dettmann, R. Liu, P. Meyer, C. Pr nte, J. Messerli, J. Flammer / Surv Ophthalmol –1999. – Vol. 43, № 9. – S. 51–58.
 9. Коцюруба А. В. Деклараційний патент на винахід 31600 А. 15.12.2000. – Бюл. № 7–11. Спосіб кількісного визначенні нітрит-аніону в біологічній рідині. / Коцюруба А. В., Семикопна Т. В., Вікторов О. П. та ін.
 10. Leal E.C. Inducible nitric oxide synthase isoform is a key mediator of leukostasis and blood-retinal barrier breakdown in diabetic retinopathy / Leal E. C., Manivannan A, Hosoya K, Terasaki T, Cunha-Vaz J, Ambr sio A.F, Forrester J. V. // Invest Ophthalmol Vis Sci. – 2007. – Vol. 48, № 11. – P. 5257–5265.

ДИНАМІЧНА ОЦІНКА ПОКАЗНИКІВ МЕТАБОЛІТІВ ОКСИДНОЇ ЛАНКИ У ХВОРИХ ПЕРВИННОЇ ГЛАУКОМОЮ

*Куриліна Є. І., Жабоедов Г. Д., Петренко О. В., Чурюмов Д. С.
Національний медичний університет імені О. О. Богомольця*

Оксид азоту визнаний головним фактором в області клітинної сигналізації і визнається його участь у патогенезі первинної глаукоми. У дослідженні проведено оцінку ступеню порушень біохімічних показників метаболітів NO в слізній рідині у хворих на глаукому. Розвиток і прогресування глаукомного процесу (від I до IV стадії), характеризуються вираженими порушеннями в системі синтезу оксиду азоту. Отримані результати свідчать про виражені біохімічні зрушення в області клітинної сигналізації і міжклітинної взаємодії в біологічних системах органу зору і підтверджує важливість судинного ланки в патогенезі глаукомного процесу, що є частковим проявом загальної судинної патології організму.

Ключові слова: первинна глаукома, оксид азоту (NO), біохімія слізної рідини.

DYNAMIC PERFORMANCE EVALUATION OF OXIDE METABOLITES IN PATIENTS WITH MANAGEMENT OF PRIMARY GLAUCOMA

*Kurilina E. I., Zhaboedov G. D., Petrenko O. V., Churyumov D. S.
National Medical University named after Bogomolets*

Nitric oxide considered a major factor in cell signaling and recognized its participation in the pathogenesis of primary glaucoma. In the study assessed the extent disturbances of biochemical indices of NO metabolites in the tear fluid of patients with glaucoma. The development and progression of glaucoma process (from I to IV stage) is characterized by pronounced disturbances in the system of nitric oxide synthesis. These results indicate a pronounced biochemical shifts in cell signaling and intercellular interactions in biological systems of the body, and confirms the importance of vascular care in the pathogenesis of glaucoma process, which is a partial manifestation of a common vascular disease of the body.

Keywords: primary glaucoma, nitric oxide (NO), biochemistry of tears.