

УДК 617.713-002-001.11-071/-074-085:615.835-78

Сакович В. Н¹, Острикова Т. А.²

¹Государственное учреждение «Днепропетровская медицинская академия Украины»,
Днепропетровск, Украина

²Днепропетровская клиническая больница железнодорожного транспорта Филиал
«Центра охраны здоровья» Публичное Акционерное Общество «Укрзалізниця»,
Днепропетровск, Украина

Sakovich V.¹, Ostriкова T.²

¹State agency "Dnepropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnepr,
Ukraine

² Dnepropetrovsk Clinical Hospital of Railway Transport Branch of «Health Protection Center»
Public Joint Stock Company «Ukrzaliznytsia», Dnepr, Ukraine

Контакты: ул. 30й Иркутской дивизии,66, Днепр, Украина, 49072;
ostrikovatana@gmail.com; +380506508281

СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЙ СТАТУС СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ В ПРОЦЕССЕ ЛЕЧЕНИЯ ТРАВМАТИЧЕСКОГО КЕРАТИТА

Free radical status of tear fluid in the treatment of traumatic keratitis

Резюме

Представлены данные о метаболических нарушениях в слезной жидкости у больных с травматическим кератитом. Заболевание сопровождается активизацией процесса перекисного окисления нейтральных и фосфолипидов в слезной жидкости. Применение ГБО в комплексном лечении способствовало уменьшению продуктов свободнорадикального окисления, повышению продуктов антиоксидантной защиты в слезной жидкости, что способствует более быстрому затиханию воспалительного процесса, ускорению эпителизации роговицы, сокращению срока лечения пациентов с травматическим кератитом..

Ключевые слова: травматический кератит, перекисное окисление липидов, антиоксидантная активность, гипербарическая оксигенация.

Resume

The data on metabolic disturbances in the tear fluid of patients with traumatic keratitis. The disease is accompanied by activation of peroxidation of phospholipids and neutral in the tear fluid. The use of HBO in complex treatment contributed to the reduction of products of free radical oxidation, to increase the products of antioxidants protection in the lacrimal fluid, which contributes to faster fading of the inflammatory process, acceleration of epithelization of the cornea, shortening the treatment period for patients with traumatic keratitis.

Key words: traumatic keratitis, lipid peroxidation, antioxidant activity, hyperbaric oxygenation.

ВВЕДЕНИЕ

Заболевания роговичной оболочки глазного яблока остаются одной из главных причин снижения зрения [1]. Объясняется это тем, что роговица, как внешняя оболочка глаза, часто подвергается влиянию физических, химических и инфекционных факторов. Наиболее распространенной патологией роговичной оболочки являются воспалительные заболевания (кератиты) [2]. Около 70% пациентов с кератитами и язвами роговицы приходится на молодой возраст [3,4], что значительно повышает социальную значимость заболевания.

Проведенные многочисленные клинические исследования подтвердили высокую эффективность гипербарической оксигенации (ГБО) при лечении различной глазной патологии [5,6]. Гипербарический кислород действует не только как способ для улучшения состояния микроциркуляции и ликвидации последствий гипоксии в тканях, но и оказывает положительное влияние на анаэробную флору конъюнктивы, проявляет иммунокорректирующее действие, реализует седативный, гипосенсибилизирующий эффект, активизирует репаративные процессы в тканях, усиливает действие ряда медикаментозных препаратов (противовоспалительных, антиоксидантных), позволяющих сократить их дозы, сроки лечения пациентов. Кроме того, кислород выступает в качестве общего адаптогена, повышающего сопротивление организма к разным стрессовым воздействиям. Исследования последних лет позволяют утверждать, что положительный эффект ГБО не является прямым следствием ликвидации гипоксии, а обусловлен влиянием гипербарического кислорода на систему адаптации организма на всех ее уровнях от системного до клеточного и молекулярного [7,8]. Одним из направлений влияния гипербарической оксигенации на организм является повышение эффективности систем антиоксидантной защиты, обеспечивающих сохранение высокой устойчивости

организма в случаях, когда развитие патологических состояний сопряжено с активизацией свободнорадикальных процессов [7-11]. Кроме того, необходимо учитывать, что методы лекарственной терапии кератитов, направленные на максимальную компенсацию нарушенных метаболических процессов, не всегда могут обеспечить эту компенсацию. Расширению представлений о патогенетических механизмах развития травматического кератита, оценке эффективности консервативной терапии традиционным методом и при использовании дополнительной оксигенации способствуют исследования слезной жидкости (СЖ). Слезная жидкость является многокомпонентным секретом с динамично изменяющимся составом при разной патологии глаза. Одним из важных информированных показателей СЖ являются ее анти- и прооксидантные свойства [9]. В доступной литературе недостаточно освещены вопросы изменения антиоксидантной активности СЖ, процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) при лечении травматического кератита разными методами, в том числе и при применении ГБО.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить степень нарушения баланса «оксидант–антиоксидант» и перекисного окисления нейтральных и фосфолипидов в слезной жидкости пациентов с травматическим кератитом при комплексном лечении с применением дополнительной оксигенации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Биохимические исследования проводились у 69 пациентов с травматическим кератитом и 14 клинически здоровых людей (для определения показателей нормы). В комплексное лечение больных основной и контрольной группы включали: офлоксацин 0,3% по 1 капле 6-4 раза в день, таурин 4% по 2 капли 4 раза в день, декспантенол 5% по 1 капле геля в конъюнктивальный мешок 4 раза в день, метилэтилпиридинол 1% по 0,5 парабульбарно 1 раз в день. При лечении пациентов основной группы (33 пациента, 33 глаза) в комплексную терапию дополнительно назначили ГБО, ежедневно в течении 40 минут при режиме 1,2 ата в барокамере «Ока» (6 – 10 дней). В слезной жидкости пациентов определяли прооксидантную активность (ПОА) и антиоксидантную активность (АОА). Принцип метода основан на способности СЖ ингибировать/активировать скорость реакции автоокисления адреналина в щелочной среде, связанной с генерацией супероксидных радикалов, и оценивается как антиоксидантная активность, а активация реакции в присутствии СЖ – как прооксидантная [8,9].

Определили в СЖ содержание продуктов перекисного окисления липидов (диеновых конъюгатов - ДК, оксодиеновых конъюгатов – ОДК, триеновых конъюгатов - ТК, оснований Шиффа – ШО). Принцип метода основан на определении содержания

продуктов ПОЛ (ДК, ОДК, ТК, ШО) по поглощению липидным экстрактом (гептан – изопропанольной смесью) монохроматического светового потока в УФ - области спектра. В гептановой фазе определяли активность ПОЛ нейтральных липидов, а в изопропанольной – фосфолипидов (в гептане экстрагируются в основном нейтральные липиды, а в изопропаноле –фосфолипиды). Относительное содержание продуктов ПОЛ выражали в условных единицах индексов окисления (относительно оптической плотности изолированных двойных связей в ненасыщенных липидах при длине волны 220 нм) в виде соотношения: $\frac{E_{232}}{E_{220}}$ - относительное содержание ДК; $\frac{E_{268}}{E_{220}}$ - относительное содержание ОДК; $\frac{E_{278}}{E_{220}}$ - относительное содержание ТК; $\frac{E_{400}}{E_{220}}$ - относительное содержание шиффовых оснований [8,9].

Полученные данные статистически обрабатывали с помощью пакета SPSS 11.0. Для статистического сравнения двух совокупностей использовали тест Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Слезная жидкость в норме характеризовалась определенной антиоксидантной активностью, поскольку тормозила скорость автоокисления адреналина (таблица 1). У всех пациентов с травматическим кератитом до лечения отмечалось отсутствие АОА СЖ и появление в слезе ПОА, о чем свидетельствует изменение направления действия СЖ на реакцию автоокисления адреналина (прооксидантная активность составила 960,5 и 972,7 ус.ед/мл, $p < 0,05$). Это, на наш взгляд, обусловлено истощением антиоксидантных свойств СЖ и значительным увеличением в слезе веществ с прооксидантной активностью, некомпенсированном усилении свободнорадикальных процессов, являющихся важным звеном в формировании органной дисфункции при травматических кератитах [8-10]. После лечения пациентов контрольной группы традиционным методом с использованием антиоксиданта (метилэтилпиридинол1%) АОА СЖ была достоверно меньше на 35,39% по сравнению с нормой ($p < 0,05$), в то время как при лечении ГБО АОА в слезной жидкости приближается к норме. По сравнению с традиционным методом лечения пациентов с травматическим кератитом применение ГБО повышает АОА слезной жидкости на 32,81% ($p < 0,05$). Это можно объяснить угнетением ПОЛ и увеличением антиоксидантной защиты СЖ, что согласуется с литературными данными [8-10] .

У пациентов с травматическим кератитом установлена активизация процессов свободнорадикального окисления липидов. При исследовании содержания продуктов ПОЛ в норме отмечается увеличение их в изопропанольной фазе относительно гептановой фазы: ДК – на 44,12% , ТК – на 38,27% , ОДК- 38,14%, ШО – на 64%

($p < 0,05$) При травматическом кератите в начале лечения происходило увеличение продуктов ПОЛ в обоих фазах относительно нормы, но наибольшее увеличение наблюдалось ДК и ТК: в изопропанол ДК увеличились на 74,60% в контрольной группе и 76,87% в основной группе ($p < 0,05$), ТК – на 36,16% в контрольной группе и 30,26% в основной группе ($p < 0,05$). В гептане ДК и ТК увеличились соответственно на 40,52% в контрольной группе и 43,79% в основной группе ($p < 0,05$) и на 53,06% в контрольной группе и 55,61% в основной группе ($p < 0,05$). После лечения травматического кератита разными методами относительно начала лечения наблюдалось понижение продуктов ПОЛ, но наиболее существенное понижение происходило при лечении с использованием ГБО. Так, понижение ДК, ТК, ШО в изопропанол составило соответственно 26,42%, 14,15%, 71,05% в основной группе и 4,62%, 4,53%, 53,49% в контрольной группе, а в гептане – 19,89%, 28,69%, 84,00% в основной группе и 4,12%, 8,70% и 43,75% в контрольной группе ($p < 0,05$) соответственно.

Анализ показателей ПОЛ в обоих фазах основной и контрольной групп показало наибольшее понижение ДК и ШО в пределах 19,21% - 13,16% (изопропанол) и 12,53% - 28,00% (гептан) по сравнению с нормой ($p < 0,05$).

Результатом снижения свободнорадикального окисления под действием ГБО в основной группе является улучшение в уровнях молекулярных продуктов перекисного окисления липидов: отмечается тенденция к снижению концентрации ДК на 19,29% (изопропанол) и 12,53% (гептан) ($p < 0,05$), достоверно снижается уровень ТК на 8,62% (изопропанол) и 16,46% (гептан) ($p < 0,05$) и концентрация ОШ на 13,15% (изопропанол) и 28,00% (гептан) ($p < 0,01$). Следовательно, при применении ГБО прерывается образование ОШ на уровне превращения первичных продуктов ПОЛ во вторичные.

В результате снижения образования ОШ достоверно ($p < 0,001$) возрастает коэффициент окисления ($K_{ок} = \text{ОДК}/\text{ШО}$) с 5,70 до 6,92 (изопропанол) и с 6,63 до 7,90 (гептан), что свидетельствует об уменьшении направленности процесса в сторону образования конечных продуктов ПОЛ. В связи с тем, что ОШ являются токсичными продуктами, разрушающими структуру клеточных мембран, включение ГБО, выполняющего функцию и антиоксиданта, в комплексное лечение травматического кератита патогенетически обосновано.

Применение ГБО позволило достичь восстановления прооксидантно - антиоксидантного баланса, нормализации уровней ТК, ОШ и коэффициента окисления в основной группе пациентов по сравнению с показателями нормы ($p < 0,05$), что мы не наблюдали в группе контроля.

Дальнейшее изучение состояния системы АОА с определением содержания ее некоторых компонентов у пациентов с травматическим кератитом с применением ГБО позволит определить новые подходы к диагностике, адекватному лечению, мониторингу эффективности терапии данной патологии.

Таблица 1

Биохимические показатели в динамике лечения травматического кератита

Биохимические показатели	Норма, n=14	До лечения		После лечения	
		Контрольная группа, n=36	Основная группа, n=33	Контрольная группа, n=36	Основная группа, n=33
АОА/ПОА ус.ед/мл	-544,36 ±16,33/0,0	0,0/+960,5 ±28,20*	0,0/+972,7 ±29,40*	-842,50 ±22,08/0,0**	-566,1 ±29,81/0,0**
ДК, изо	0,441±0,026	0,770±0,04*	0,780±0,04*	0,736±0,028**	0,617±0,025**
ДК, гепт	0,306±0,018	0,430±0,030*	0,440±0,034*	0,413±0,030**	0,367±0,015**
ОДК, изо	0,297±0,018	0,340±0,050	0,344±0,052	0,339±0,022	0,300 ±0,017
ОДК, гепт	0,215±0,013	0,272±0,019	0,277±0,020	0,230 ±0,015	0,217 ±0,014
ТК, изо	0,271±0,012	0,369±0,031*	0,371±0,032*	0,353±0,012**	0,325±0,011**
ТК, гепт	0,196±0,009	0,300±0,011*	0,305±0,01*	0,276±0,011	0,237 ±0,009
ШО, изо	0,041±0,0007	0,066±0,0025*	0,065±0,0026*	0,047±0,0013	0,043 ±0,0011
ШО, гепт	0,025±0,0001	0,046±0,0016*	0,046±0,0016*	0,032±0,0014**	0,030 ±0,0002**

Примечание: *P<0,05 - вероятности разницы по сравнению с нормой; **P<0,05– вероятность разницы между содержанием продуктов ПОЛ до/после лечения разными методами

ВЫВОДЫ.

1. Изучение влияния консервативной терапии с применением ГБО у пациентов основной группы с травматическим кератитом (33 больных, 33 глаз) показало, что после лечения обнаружено достоверное уменьшение концентрации конъюгатов: нейтральных липидов - на 19,89% - 84,00% и фосфолипидов - на 14,15% - 71,05%) на фоне достоверного повышения антиоксидантной защиты по сравнению с контрольной группой. .
2. Применение ГБО способствовало уменьшению продуктов свободнорадикального окисления, повышению продуктов антиоксидантной защиты в слезной жидкости, что приводит более быстрому затиханию воспалительного процесса, ускорению эпителизации роговицы, сокращению срока лечения пациентов с травматическим кератитом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Колединцев М.Н. Современные методы анализа слезной жидкости/ М. Н.Колединцев М.Н., Майчук Н.В.// Новое в офтальмологии. – 2002. - №4. – с. 32-37.
2. Чернякова Т.В. Новые технологии в диагностике офтальмологических заболеваний / Т. В. Чернякова// Клиническая офтальмология. – 2006. – Т.7. – №2. – С. 54-59.
3. Гундорова Р. А. Современная офтальмотравматология / Р. А. Гундорова, А. В. Степанов, Н.Ф. Курбанова. М.:Медицина, 2007. –256 с.
4. Сакович В. Н. Применение флогэнзима в лечении герпетических кератитов/ В.Н.Сакович, Т.С.Никитчина, Б.Д. Щербаков //Международный научно - практический журнал . Офтальмология. Восточная Европа.-2012.-№ 2.- С 141-145.
5. Гусова М. К. Токсическое поражение зрительного нерва при интоксикации алкоголем: автореф. дис. на соискан. научн. степени канд. мед. наук: спец.14.00.08. «Глазные болезни», 14.00.45.»Наркология»/ М. К. Гусова . – М.,2008. –15 с.
6. Елисеева Е.В. Гипербарическая оксигенация в офтальмологии/Е. В. Елисеева/Учебное пособие - Караганда, 2010.- 48с.
7. Безнос О.В. Методические подходы и интерпретация биохимических исследований слезной жидкости/ О. В. Безнос, Н. Б. Чеснокова // РОЖ. – 2012. – №2. – С. 101 - 106.
8. Мошетова Л.К. Современное представление о слезной жидкости, значение ее в диагностике/Л. К. Мошетова, О. А. Волков// Клиническая офтальмология. -2004.Т. 5, № 4. - С. 138–139.
9. Терехина Н. А. Ферментативный анализ слезы при вирусном кератите/Н. А. Терехина,

Ю. А. Петрович// Клиническая лабораторная диагностика. - 1994. №6. - С. 15-17.

10. Хышиткуев Б.С.. Диагностическое значение исследований слезной жидкости при диабетической ретинопатии (обзор литературы)/ Б. С. Хышиткуев, М. В. Макименя, С. А. Козлов // Клин. лаб. диагн. – 2006. – №3. – С. 34-36.

11. Therond P. Biomarkers of oxidative stress: an analytical approach/ P. Therond , D. Bonnefont-Rousselot , A. Davit-Spraul A. // Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.— 2000.— Vol. 3, № 5.— P. 373–38