

# Роль оксида азота и свободно-радикального окисления в патогенезе посттравматической субатрофии глаза

КАМИЛОВ Ф.Х., ГАЗДАЛИЕВА Л.М.

ФГУ «Всероссийский Центр глазной и пластической хирургии Росздрава»  
ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет Росздрава»

Уфа, Россия

*РЕФЕРАТ.* В статье представлены материалы, характеризующие изменения содержания конечных стабильных метаболитов оксида азота в слезной жидкости и плазме крови в зависимости от периода и тяжести проникающей травмы глаза и ее исходов. Показано, что травма глаза и развитие ПТУ сопровождается интенсификацией свободно-радикального окисления с повышением в плазме крови продуктов липопероксидации, уровень которых зависит от тяжести травмы. Выявлен характер изменений уровня продукции NO, интенсивности свободно-радикальных процессов и состояния антиокислительной защиты при субатрофии и после оперативного лечения с биндажом глазного яблока с применением биоматериалов Аллоплант и реваскуляризации цилиарного тела.

*КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:* субатрофия глаза, посттравматическая, патогенез, биоматериал Аллоплант, свободно-радикальное окисление

## ВВЕДЕНИЕ

### *Актуальность проблемы*

Травматизм органа зрения остается актуальной проблемой офтальмологии. Последствия травм органа зрения занимают первое место в структуре причин первичной инвалидности по зрению в России составляя 22,8 % [Н.М. Эфендиев, 1998].

Несмотря на достижения современной офтальмотравматологии в области реконструктивной микрохирургии и фармакотерапии, позволившие значительно улучшить анатомические и функциональные исходы после травмы, раневой процесс в 14-28 % случаев осложняется вялотекущим воспалительным процессом, а в 12-18 % – развитием внутриглазной инфекции [Р.А. Гундорова и др., 1996]. Поскольку травмы глаза чаще отмечаются у людей молодого (до 40 лет – 78-92,56 %), наиболее

трудоспособного возраста и приводят к резкому снижению зрения и, как правило, к инвалидности, социальная значимость глазного травматизма чрезвычайно высока [И.Б. Алексеева, 1985; Р.А. Гундорова и др. 1986; Л.Ф. Галимова, 1998].

Посттравматический увеит (ПТУ) является наиболее частым [Т.А. Гурджян, 1988; Л.К. Яхницкая, 1992] и серьезным осложнением прободных ранений глаза, одним из факторов риска развития субатрофии глазного яблока [Л.Т. Архипова и др., 1979; Е.Н. Вериго, 1985; Н.С. Зайцева и др., 1991]. В России отмечается постепенный рост удельного веса субатрофии в структуре тяжелых посттравматических осложнений с 7-22 % [Е.Н. Вериго, 1986] до 29,6-36,9 % [Р.А. Гундорова и др., 1994; П.В. Макаров, 1994]. Субатрофия глаза после травмы является наиболее частой причиной удаления органа зрения в связи с опасностью симпатического воспаления [Вериго Е.Н., 1986; Мошетьова Л.К., 1993]. Травматический

увеит и субатрофия глазного яблока представляют собой взаимосвязанный процесс, поэтому решение проблемы развития субатрофии невозможно без рассмотрения ключевых вопросов патогенеза травматического увеита.

В литературе сравнительно полно описаны морфологические изменения раневого процесса, охарактеризована роль иммунных и других медиаторов воспаления, обоснована аутоиммунная теория развития ПТУ [Л.Т. Архипова, 1985, 1999; Е.И. Волик, 2000; О.С. Слепова, 1998; М.В. Черешнева, 1996], показана значимость нарушений регионарной гемодинамики, системного и местного метаболизма и иммунитета [Г.А. Винькова, 2000; Т.Н. Киселева, 1995]. В то же время многие стороны этой проблемы остаются недостаточно выясненными. Раскрытие молекулярных механизмов развития тяжелых осложнений проникающих ранений глаза может явиться основой для поиска новых путей патогенетического лечения, поскольку высокий уровень эндотелиальной дисфункции, случаев затяжных форм течения ПТУ указывает на недостаточную эффективность имеющихся методов терапии. Своевременная диагностика осложнений прободных травм глаза, расширение арсенала объективных методов прогнозирования характера течения и исходов ПТУ остается актуальным.

Особое внимание исследователей привлекает оксид азота (NO), являющийся одним из ведущих факторов в области клеточной сигнализации и межклеточного взаимодействия. Так, NO регулирует сосудистый тонус, ингибирует агрегацию тромбоцитов и их адгезию к клеточной стенке, стимулирует ангиогенез, функционирует как сигнальная молекула в нервной системе, обладает цитотоксическим действием, участвуя, таким образом в противомикробном, противовирусном и противоопухолевом иммунитете [А.Ф. Ванин, 1998, 2000; В.П. Реутов, 2003; S. Moncada, 1991].

На сегодняшний день не вызывает сомнения участие молекулы NO в патогенезе ряда заболеваний глаз, например диабетической ретинопатии, тромбоза вен сетчатки, увеитов, глаукомы и др. [М.М. Архипова, 2000; О.А. Горбачева, 2002; С.М. Косакян, 2002; Н.И. Курышева с соав., 2001; J. Cjrbett, 1992; I.F. Haefliger, J. Flamer, 1998; H. Hammes, 1991; Y. Kozak, 1998; G. Donati, C. Pournaras, 1998, 1999 и др.].

С этих позиций представляют интерес данные, характеризующие роль NO в патогенезе тяжелых осложнений после проникающих ранений глазного яблока.

### *Цель исследования*

Определить роль оксида азота в патогенетических механизмах развития посттравматической субатрофии глазного яблока на основе определения уровня конечных метаболитов NO, показателей интенсивности свободно-радикальных процессов и уровня цитокинов у больных с проникающими ранениями глаза.

### *Задачи исследования*

1. Определить уровень конечных стабильных метаболитов оксида азота (NOx) – нитрит/нитратов в слезе и плазме крови у экспериментальных животных с проникающими ранениями глаз в разные сроки после травмы.
2. Изучить изменения содержания стабильных метаболитов оксида азота, показателей оксидантно-антиоксидантной системы слезной жидкости и плазмы крови больных в разные сроки после травмы, при субатрофии глазного яблока и у пациентов, перенесших операцию реваскуляризации цилиарного тела и бандажа глазного яблока с применением биоматериала Аллоплант на субатрофичном глазу в ближайшие и отдаленные сроки.
3. Определить содержание цитокинов провоспалительного (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО $\alpha$ ) и противовоспалительного (ИЛ-4) действия в раннем периоде после проникающего ранения, посттравматической субатрофии глазного яблока и после комплекса хирургического лечения с использованием биоматериалов Аллоплант для бандажа глазного яблока и реваскуляризации цилиарного тела в ближайшие и отдаленные сроки.
4. Изучить гидродинамические изменения в субатрофичных глазах до и после хирургического лечения и провести корреляционный анализ полученных показателей с уровнем конечных стабильных метаболитов оксида азота и показателями свободно-радикальных процессов.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Экспериментальное исследование выполнено на 20 кроликах породы шиншилла массой 2,0-2,5 кг. Животные содержались в одинаковых условиях, на стандартной диете в виварии. При проведении опытов соблюдали положения Хельсинской декла-

рации о гуманном отношении к животным. В первую группу вошли 10 кроликов (10 глаз) с проникающим ранением роговицы, во вторую – 10 кроликов (10 глаз) с проникающим ранением роговицы и склеры. Проникающую рану длиной 5 мм наносили лезвием скальпеля под эпibuльбарной анестезией (инстилляции 0,4% инокаина). Слезную жидкость и кровь исследовали до начала эксперимента, затем на 1, 3, 7, 14, 20 сутки после нанесения раны. По окончании эксперимента животных подвергали эвтаназии воздушной эмболией сосудов. Глаза энуклеировали. Ткани глаза препарировали и гомогенизировали на холоду.

В основу клинической части работы положены результаты обследования 110 больных с травмами глаза (110 глаз), находившихся на стационарном лечении во Всероссийском Центре глазной и пластической хирургии (80 глаз), III микрохирургическом отделении реабилитации лиц с травмами органа зрения Уфимского НИИ глазных болезней (30 глаз), в период с 2003 по 2006 годы. Возраст больных колебался от 15 до 50 лет, основную группу составили мужчины 90% (99 человек), женщины – 10% (11 человек). Контрольную группу (25 человек) составили здоровые лица, не страдающие офтальмологическими заболеваниями.

Степень тяжести проникающей травмы оценивали по Лебехову П.И. (1974): легкая – I степень – 10 человек (9 %), средней тяжести – II степень – 22 человека (20 %), тяжелая – III степень – 44 человека (40 %), особо тяжелая – IV степень – 34 человека (31 %).

Первичная хирургическая обработка ран по поводу проникающего ранения проводилась в основном в день поступления и лишь в 18 случаях – в отсроченный период. Все наблюдаемые получали консервативную терапию в условиях стационара: инстилляцию антисептических препаратов, кортикостероидов в конъюнктивальную полость; парабuльбарное введение антибиотиков и кортикостероидов; перорально – нестероидные противовоспалительные и десенсибилизирующие препараты.

При изучении клинической картины посттравматической субатрофии глазного яблока использовали классификацию, предложенную Р.А. Гундоровой, В.Н. Беглярбековым (1982). Больных с I стадией развития субатрофии было 12 человек (30,77%); субатрофией 2 стадии – 15 человек (38,46%); субатрофией 3 стадии – 12 человек (30,77%).

Для лечения субатрофии глаза во Всероссийском Центре глазной и пластической хирургии г. Уфы

разработана и широко применяется операция бандажа глазного яблока с применением дермального аллотрансплантата, способного создать каркас для склеры с целью предупреждения ее сморщивания и деформации, восстановления формы и объема глазного яблока [Э.Р. Мулдашев, 1994]. Аллотрансплантат имеет форму разорванного кольца с шириной полоски 6-8 мм, внутренним диаметром 12 мм и толщиной (в зависимости от стадии субатрофии) от 0,5 до 3 мм. Суть техники операции состоит в том, что аллотрансплантат укладывается вокруг роговицы на склере и в натянутом положении фиксируется эписклеральными швами. Эта операция, проведенная в комплексе с реваскуляризацией цилиарного тела [Л.Ф. Галимова, 1998], позволяет сохранить глаз как анатомический орган.

При обследовании органа зрения пациентов применялись традиционные методики: визометрия, биомикроскопия, офтальмоскопия, тонометрия, периметрия, электрофизиологические исследования, ультрозвуковая биометрия, в некоторых случаях гониоскопия.

Для решения поставленных задач определяли: уровень оксида азота в плазме крови и слезной жидкости по методу Емченко Н.Л. с соавт. (1994) адаптированный нами к малым объемам, путем регистрации конечных стабильных метаболитов оксида азота – нитритов/нитратов, после их восстановления губчатым кадмием по реакции Грисса; интенсивность процессов свободнорадикального окисления и антиокислительную активность биологических сред изучали методом регистрации хемилюминесценции (ХЛ) [Р.Р. Фархутдинов, С.Г. Семеско, 2002] на приборе ХЛМ-003.

Измерение продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-продукты), проводили по методу, описанному Карпищенко А.И. (1999).

Цитокины ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-4, ИЛ-6, ФНО $\alpha$  определяли твердофазным иммуноферментным методом [А.В. Ягода и др., 2000], с использованием коммерческих тест-систем ТОО «Протеиновый контур», г. Санкт-Петербург. Исследования проводили в Центральной научно-исследовательской лаборатории ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет Росздрава».

Статистическую обработку полученных результатов проводили с применением профессионального пакета Biostat, который включал вариационную статистику, определение t-критерия Стьюдента, линейный корреляционный анализ [Автандилов Г.Г., 1990].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для оценки влияния тяжести проникающей травмы глазного яблока на интенсивность продукции NO были проведены эксперименты на кроликах. Одной группе животных наносили ранение роговицы, другой – корнеосклеральное проникающее ранение. Нанесение ранения приводило к резкому снижению уровня NO<sub>x</sub> в слезной жидкости и менее выраженному в плазме крови (табл. 1), наиболее заметному на 3-7 сутки.

В 1-й группе животных содержание NO<sub>x</sub> восстанавливалось до контрольного уровня к 14-20 суткам. На этот же период у животных при биомикроскопии переднего отрезка глазного яблока наблюдалось формирование фиброзно-рубцовой ткани с регенерацией эпителия роговицы. У животных 2-й группы с более тяжелой травмой статистически значимое снижение содержания NO<sub>x</sub> затягивалось до 14-х суток эксперимента, а на 20-е сутки было значительно увеличено. В целом, полученные

**Таблица 1.** Динамика изменений содержания метаболитов оксида азота (мкмоль/л) в слезной жидкости и плазме крови при экспериментальной проникающей травме глазного яблока у кроликов, M±m

Группа	n	В слезной жидкости				
		1 день	3 день	7 день	14 день	20 день
Проникающее ранение роговицы (1-я группа)	10	5,13±0,70 p < 0,05	3,20±0,26 p < 0,01	5,38±0,5 p < 0,05	6,81±0,71 p > 0,05	11,21±0,62 p > 0,05
Корнеосклеральное проникающее ранение (2-я группа)	10	10,19±0,96 p > 0,05 p1 < 0,001	1,39±0,13 p < 0,001 p1 < 0,001	1,98±0,35 p < 0,01 p1 < 0,001	2,66±0,43 p < 0,01 p1 < 0,001	17,43±1,19 p < 0,01 p1 < 0,01
Контроль	20	9,35±0,92				
		в плазме крови				
Проникающее ранение роговицы (1-я группа)	5	21,09±0,93 p > 0,05	18,91±0,56 p < 0,05	20,17±0,72 p > 0,05	21,82±0,61 p > 0,05	24,56±0,82 p > 0,05
Корнеосклеральное проникающее ранение (2-я группа)	5	19,87±0,72 p > 0,05 p1 > 0,05	16,52±0,61 p < 0,01 p1 < 0,05	17,32±0,44 p < 0,01 p1 < 0,05	21,06±0,44 p > 0,05 p1 > 0,05	27,00±0,55 p < 0,05 p1 > 0,05
Контроль	10	23,04±1,04				

Примечание: p – различия по сравнению с контролем, p1 – между 1 и 2 группами

результаты свидетельствуют о зависимости концентрации стабильных конечных метаболитов NO в слезной жидкости и плазме крови после проникающего ранения глазного яблока от сроков течения раневого процесса и тяжести поражения.

Исследование Fe-индуцированной хемилюминесценции гомогенатов тканей глаза также выявили статистически значимое по сравнению с контролем падение светосуммы, величины быстрой вспышки и спонтанной светимости от тяжести травмы, свидетельствующие о снижении к 20-м суткам наблюдения процессов свободнорадикального окисления и повышении антиокислительной защиты.

Зависимость интенсивности продукции NO от тяжести травмы глаза была установлена и при исследовании конечных стабильных продуктов оксида азота в слезной жидкости и плазме крови у больных. В таблице 2 представлены результаты опреде-

ления NO<sub>x</sub> в слезной жидкости травмированного глаза в динамике развития раневого процесса. Как видно, на протяжении всех дней исследования наблюдались статистически значимые различия между содержанием NO<sub>x</sub> у больных I – II степени травмы с группами пациентов с тяжелой (III степень) и особо тяжелой (IV степень) травмами.

При более легких травмах глаза содержание NO<sub>x</sub> в слезе восстанавливалось к 14-15 суткам, а у больных с III и IV степенями проникающих ранений глаза низкий уровень оксида азота сохранялся в течение 2-х недель наблюдения.

В плазме крови статистически значимое снижение NO<sub>x</sub> относительно группы здоровых лиц наблюдалось лишь у пациентов с IV степенью тяжести проникающего ранения глазного яблока.

Снижение продукции NO<sub>x</sub>, по данным некоторых авторов [И.Ю. Малышев, Е.Б. Манухина, 1998; 2000],

**Таблица 2.** Уровень NO<sub>x</sub> в слезной жидкости в зависимости от тяжести проникающей травмы глазного яблока (M±t, мкмоль/л)

Группы	n	Время наблюдения			
		1-3 день	7-8 день	14-15 день	21-22 день
По степени травмы	110				
I + II	40	1,5±0,03*	1,9±0,1*	2,4±0,08 p > 0,05	4,5±0,2*
III	40	1,2±0,15* p1 > 0,05	1,4±0,2* p1 < 0,05	1,9±0,07* p1 < 0,001	8,5±1,2* p1 < 0,01
IV	30	1,0±0,05* p1 < 0,001 P2 > 0,05	1,1±0,3* p1 < 0,05 P2 > 0,05	1,3±0,2* p1 < 0,001 P2 < 0,01	9,1±1,08* p1 < 0,001 P2 > 0,05
Контроль	25	2,39±0,2			

Примечание: \* p – различия с контрольной группой; p1 – различия с группой I + II ст.; p2 – различия между группами III ст. и IV ст.

наблюдается при чрезмерном повреждающем воздействии факторов агрессии, в то время как увеличение продукции NO<sub>x</sub>, как правило, указывает на реактивность иммунного ответа при воспалительном процессе.

В посттравматическом периоде по клиническим признакам исследуемые нами пациенты были разделены на две группы – с благоприятным и неблагоприятным исходом ПТУ. Группу с неблагоприятным

исходом в основном составили пациенты, получившие тяжелую III ст. тяжести и особо тяжелую IV ст. тяжести проникающую травму глаза. В группу с благоприятным исходом вошли, как правило, лица с легкой и средней (I + II) степенью тяжести. Наиболее информативными для прогноза исхода проникающего ранения глазного яблока оказались показатели уровня NO<sub>x</sub> в первые трое суток после травмы (табл. 3).

**Таблица 3.** Уровень NO<sub>x</sub> (мкмоль/л) в плазме крови и слезной жидкости у больных в ранний посттравматический период после проникающего ранения глаза с благоприятным и неблагоприятным исходом (M ± t, мкмоль/л)

Показатель мкмоль/л	Контроль n=25	Проник. ранен. 1-3 сутки с благоприят. исходом, n=40	Проник. ранен. 1-3 сутки с неблагоприят. исходом, n=39
NO <sub>x</sub> слезы	2,39±0,2	1,54±0,04 p < 0,001	0,95±0,009 p < 0,001 p <sub>1</sub> < 0,001
NO <sub>x</sub> плазмы крови	20,6±2,8	14,7±2,6 p > 0,05	12,2±1,7 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05

Примечание: p – различия с группой контроля; p<sub>1</sub> – различия между группами

В группе с благоприятно закончившимся проникающим ранением (глаз сохранился как орган, имеется зрение > 0,2) уровень NO<sub>x</sub> в слезе достоверно снижался в 1,5 раза (1,54±0,04 мкмоль/л, p < 0,001) относительно группы здоровых лиц. А в плазме крови снижение содержания NO<sub>x</sub> оказалось статистически незначимым (14,7±2,6 мкмоль/л, p > 0,05).

В группе с неблагоприятно закончившимся проникающим ранением глазного яблока (затяжной посттравматический увеит, субатрофия глаза, зрение < 0,2) концентрация NO<sub>x</sub> в слезной жидкости определялась существенно низкой (0,95±0,009 мкмоль/л, p < 0,001), была в 2,5 раза меньше, чем у группы здоровых лиц (2,39±0,2 мкмоль/л). В плазме крови также наблюдалось снижение уровня NO<sub>x</sub>

в 1,6 раза (p < 0,05) по сравнению с контрольной группой. Статистически различимой оказалось снижение содержания NO<sub>x</sub> в слезной жидкости в группе с неблагоприятным исходом по сравнению с благоприятной.

В целом, результаты исследований позволили прийти к важному положению – при концентрации конечных стабильных метаболитов NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup> в слезной жидкости 1,1 мкмоль/л и выше прогноз исхода ПТУ можно оценивать как благоприятный, а при концентрации NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup> в слезной жидкости равной 1,0 мкмоль/л или ниже – как неблагоприятный.

Из 110 пациентов, перенесших проникающую травму глаза, благоприятный исход наблюдался у

71 человека, неблагоприятный – у 39 лиц, у которых развилась субатрофия глазного яблока.

Развитие посттравматической субатрофии прежде всего было связано с тяжестью и особенностями перенесенных прободных ранений глаза, которые осложнялись выпадением оболочек и стекловидного тела, травматической катарактой, гемофтальмом и кровоизлиянием в стекловидное тело и др.

У больных с посттравматической субатрофией (таблица 4) наблюдали статистически значимое повышение уровня  $NO_x$  в слезе в 2,9 раза по сравнению с здоровыми лицами. В плазме крови повышение  $NO_x$  оказалось статистически незначимым.

На 10 сутки после операции ревазуляризации цилиарного тела и бандажа глазного яблока с применением биоматериала Аллоплант содержание  $NO_x$  в слезе оперированных больных оказалось по-

**Таблица 4.** Уровень  $NO_x$  (мкмоль/л) в плазме крови и слезной жидкости при посттравматической субатрофии глазного яблока и после хирургического лечения с применением биоматериала Аллоплант

Показатель мкмоль/л	Контроль n=25	Субатрофия глаза, n=39	После операции 10 сутки, n=39	После операции 2-3 года, n=39
$NO_x$ слезы	2,39±0,2	6,9±0,5 p < 0,001	10,8±2,04 p < 0,001 p <sub>1</sub> > 0,05	19,47±1,8 p < 0,001 p <sub>1</sub> < 0,001
$NO_x$ плазмы крови	20,6±2,8	24,5±0,48 p > 0,05	26,6±0,36 p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,01	30,2±3,77 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05

Примечание: p – достоверность различия с группой контроля; p<sub>1</sub> – до и после оперативного лечения

вышенным в 4,5 раза в плазме крови в 1,3 раза по сравнению с группой здоровых лиц.

Через 2-3 года, после хирургического лечения с применением биоматериала, определялось статистически значимое увеличение уровня  $NO_x$  в слезной жидкости и плазме крови: в 8,1 раза и в 1,4 раза соответственно по сравнению с группой здоровых лиц.

При сравнении уровня стабильных конечных продуктов оксида азота в слезной жидкости оперированной группы с группой больных до операции оказались статистически значимо высокими в 2,8 раза (19,47±1,8 мкмоль/л, p<sub>1</sub> < 0,001), а в плазме крови увеличение было не достоверным (p<sub>1</sub> > 0,05).

Столь выраженное продолжительное повышение уровня  $NO_x$  в слезной жидкости оперированного глаза, может быть следствием гиперпродукции  $NO$  цилиарным телом после его оперативной ревазуляризации, а также длительно сохраняющихся скрытых воспалительных и/или регенера-

тивных процессов, связанных с использованием дермального аллотрансплантата для бандажа глазного яблока, способствующего восстановлению его формы и объема.

Литературные данные свидетельствуют о важности изменений в системе ПОЛ-антиоксиданты при посттравматическом увеите [Г.А. Винькова и др., 2000], в частности выявлена декомпенсация антиоксидантной защиты при переходе посттравматического воспалительного процесса в хронический, вялотекущий. В этой связи у больных с проникающими ранениями глаз в слезной жидкости и плазме крови были изучены процессы свободно-радикального окисления и состояния антиокислительной защиты.

Изучение уровня в плазме крови ТБК-продуктов выявило прямую зависимость интенсивности липопероксидации от тяжести травмы: чем тяжелее тяжесть ранения глаза, тем выше накопление ТБК-продуктов (таблица 5).

**Таблица 5.** Уровень ТБК-продуктов в плазме крови у больных с проникающими ранениями глаз различной степени тяжести (нмоль/мл)

Степень тяжести травмы	n	Сроки исследования			
		1-3 день	7-8 день	14-15 день	21-22 день
I + II	30	3,3±0,09*	3,5±0,08*	3,06±0,08*	2,78±0,18
III	25	5,2±0,02* p <sub>1</sub> < 0,001	5,3±0,06* p <sub>1</sub> < 0,001	5,4±0,2* p <sub>1</sub> < 0,001	5,0±0,1* p <sub>1</sub> < 0,001
IV	20	5,8±0,3* p <sub>1</sub> < 0,05 p <sub>2</sub> > 0,05	6,0±0,07* p <sub>1</sub> < 0,001 p <sub>2</sub> < 0,001	6,1±0,01* p <sub>1</sub> < 0,001 p <sub>2</sub> < 0,01	5,5±0,06* p <sub>1</sub> < 0,001 p <sub>2</sub> < 0,001
Контроль	25	2,29±0,2			

Примечание: \* p < 0,05 с контрольной группой; p<sub>1</sub> – с группой I + II ст.; p<sub>2</sub> – между группами III ст. и IV ст.

Высокий уровень ТБК-реагирующих продуктов в плазме крови наблюдался также у пациентов с субатрофией глазного яблока ( $4,9 \pm 0,3$  нмоль/мл), в ранние и отдаленные сроки после оперативного лечения ( $5,5 \pm 0,2$  нмоль/мл и  $4,4 \pm 0,5$  нмоль/мл соответственно). При этом у обследуемых больных

было установлено резкое усиление свободнорадикального окисления в осадке слезной жидкости.

Так, при субатрофии глаза (таблица 6) многократно увеличивались такие показатели люминоиндуцированной хемилюминесценции как спонтанная светимость, максимальная вспышка (I max) и светосумма (S).

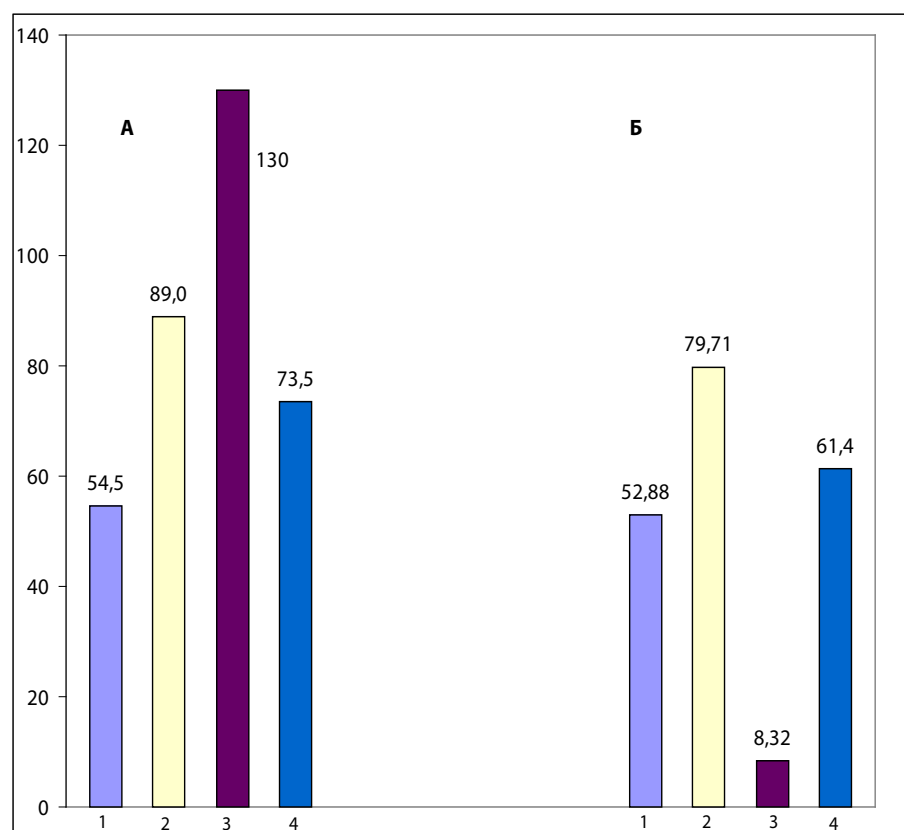
**Таблица 6.** Люминоиндуцированная хемилюминесценция осадка слезной жидкости у больных с субатрофией глаза ( $M \pm m$ )

Нозология n = 25	Хемилюминесценция		
	S, у.е.	Спонтанная светимость, у.е.	I max, у.е.
Здоровые	$1,73 \pm 0,02$	$0,45 \pm 0,08$	$0,34 \pm 0,03$
Субатрофия глаза	$11,48 \pm 0,32^*$	$2,23 \pm 0,05^*$	$3,97 \pm 0,32^*$
После операции 10 суток	$51,87 \pm 2,69^*$ $p_1 < 0,001$	$7,62 \pm 1,1^*$ $p_1 < 0,001$	$19,92 \pm 0,71^*$ $p_1 < 0,001$
После операции 2-3 года	$21,84 \pm 0,95^*$ $p_1 < 0,001$	$2,94 \pm 0,11^*$ $p_1 < 0,001$	$4,53 \pm 0,17^*$ $p_1 > 0,05$

Примечание: \* $p < 0,05$  с группой контроля;  $p_1$  – различия до и после операции

Интенсивность свободнорадикальных процессов в слезе в ранние сроки после оперативного лечения (10-е сутки) многократно увеличивалась, а в поздние сроки наблюдения (2-3 года) оставалась существенно повышенной по сравнению с практически здоровыми лицами. Одновременно у обследуемых при субатрофии глаза в слезе увеличивалась и антиоксидантная защита. На это указывали результаты исследования подавления интенсивности свечения слезной жидкостью модельной

системы с яичным желтком и изучения суммарной антиокислительной активности хемилюминесцентным методом [Р.Р. Фархутдинов и В.А. Лиховских, 1995] (рис. 1). Важно отметить, что в слезной жидкости изменения содержания стабильных продуктов NO имеют прямую корреляционную связь средней силы с показателями свободнорадикальных процессов ( $r = 0,42$ ,  $p < 0,001$ ) и сильную обратную с показателями антиокислительной защиты ( $r = -0,8$ ,  $p < 0,001$ ).



**Рис. 1.** Выраженность антирадикальной защиты в слезной жидкости у больных с субатрофией глаза (А – % подавления свечения в модельной системе, Б – суммарная антиокислительная активность слезы в %; 1 – здоровые лица, 2 – при субатрофии глаза, 3 – через 10 дней, 4 – через 2-3 года после оперативного лечения субатрофии)

Таким образом, в слезной жидкости у больных с субатрофией глазного яблока выявляется усиление окислительных процессов и антиоксидантной защиты. Баланс оксидантно-антиоксидантной системы переходит на более высокий напряженный уровень, однако при этом выявляется явное превалирование интенсивности процессов радикалообразования.

В плазме крови больных при субатрофии органа зрения также наблюдалась активация реакции радикалообразования и процессов антирадикальной защиты. Накопление ТБК-продуктов в плазме крови, статистически значимое повышение светосуммы и максимальной амплитуды медленной вспышки при индуцированной хемилюминесценции также указывали на недостаточность антиокислительной защиты и/или истощение резервов данной системы в процессе развития субатрофии глаза.

Одним из важнейших регуляторов активности NO-синтаз в тканях глаза (клетки пигментного эпителия сетчатки, цилиарного тела, радужки, Мюллеровские клетки, клетки микроглии) являются цитокины [D.Parks et al., 1994; J.Sparrow, 1994]. В этой связи в плазме крови больных на 1-3 сутки проникающих ранений, при субатрофии и после хирургического лечения субатрофии глаза исследовали содержание "провоспалительных" (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО $\alpha$ ) и "противовоспалительного" (ИЛ-4) цитокинов. Выраженность снижения уровня цитокинов в ранние сроки после травмы зависели от исхода воспалительного процесса (таблица 7). При неблагоприятном течении раневого процесса наблюдалось статистически значимое снижение всех исследуемых цитокинов, а при благоприятном – лишь умеренное снижение, что несомненно характеризует выраженность иммунного ответа на травматическое повреждение органа зрения.

**Таблица 7.** Цитокиновый профиль плазмы крови на 1-3 сутки после проникающего ранения глазного яблока (пкг/мл)

Группы	ИЛ-1 $\beta$	ФНО- $\alpha$	ИЛ-4	ИЛ-6
Контрольная группа n=25	31,9 $\pm$ 7,8	14,7 $\pm$ 1,4	8,3 $\pm$ 1,1	29 $\pm$ 0,9
1-3 сутки после проникающего ранения с благоприятным исходом; n=25	22,4 $\pm$ 2,4 p > 0,05	11,9 $\pm$ 1,4 p > 0,05	6,32 $\pm$ 1,83 p > 0,05	20,87 $\pm$ 3,9 p < 0,05
1-3 сутки после проникающего ранения с неблагоприятным исходом; n= 25	9,8 $\pm$ 3,5 p < 0,05 p <sub>1</sub> < 0,01	6,5 $\pm$ 1,6 p < 0,01 p <sub>1</sub> < 0,05	3,4 $\pm$ 1,2 p < 0,01 p <sub>1</sub> > 0,05	9,5 $\pm$ 2,6 p < 0,001 p <sub>1</sub> < 0,05

Примечание: p < 0,05 с группой контроля; p<sub>1</sub> – различия между группами с ранениями

Между уровнем изучаемых цитокинов в плазме крови и содержанием NOX при этом установлена прямая корреляционная взаимосвязь (r = 0,6).

Результаты исследования уровня цитокинов у 39 пациентов в плазме крови с посттравматической

субатрофией глазного яблока до хирургического лечения, на 10-е сутки после операции реваascularизации цилиарного тела и бандажа глазного яблока с применением биоматериала Аллоплант и спустя 2-3 года представлены в таблице 8.

**Таблица 8.** Цитокиновый профиль плазмы крови при посттравматической субатрофии глаза (пкг/мл)

Группы	ИЛ-1 $\beta$	ФНО- $\alpha$	ИЛ-4	ИЛ-6
Контрольная группа n=25	31,9 $\pm$ 7,8	14,7 $\pm$ 1,4	8,3 $\pm$ 1,1	29 $\pm$ 0,9
Субатрофия глазного яблока n=12, I ст.	39,6 $\pm$ 2,1	18,8 $\pm$ 2,2	12,8 $\pm$ 6,9	35,7 $\pm$ 3,3
n=15 II ст.	38,8 $\pm$ 1,3	17,2 $\pm$ 1,7	13,7 $\pm$ 4,8	37,9 $\pm$ 4,3
n=12 III ст.	36,9 $\pm$ 1,1	16,3 $\pm$ 2,0	9,5 $\pm$ 3,1	36,4 $\pm$ 4,2
После хирург. лечения на 10 сутки; n=12, I ст.	55,7 $\pm$ 8,6* p <sub>1</sub> > 0,05	48,7 $\pm$ 4,5* p <sub>1</sub> < 0,001	23,5 $\pm$ 9,4 p <sub>1</sub> > 0,05	52,8 $\pm$ 2,4* p <sub>1</sub> < 0,001
n=15 II ст.	53,2 $\pm$ 3,5* p <sub>1</sub> < 0,01	46,3 $\pm$ 7,1* p <sub>1</sub> < 0,001	27,4 $\pm$ 8,4* p <sub>1</sub> > 0,05	55,9 $\pm$ 3,1* p <sub>1</sub> < 0,01
n=12 III ст.	58,5 $\pm$ 3,7* p <sub>1</sub> < 0,001	38,2 $\pm$ 4,8* p <sub>1</sub> < 0,001	24,2 $\pm$ 9,7 p <sub>1</sub> > 0,05	57,4 $\pm$ 5,3* p <sub>1</sub> < 0,01
После хирург. лечения через 2-3 года; n=12, I ст.	46,9 $\pm$ 3,5 p <sub>1</sub> > 0,05	23,3 $\pm$ 4,8 p <sub>1</sub> > 0,05	10,8 $\pm$ 4,8 p <sub>1</sub> > 0,05	40,2 $\pm$ 3,7* p <sub>1</sub> > 0,05
n=15, II ст.	44,7 $\pm$ 5,2 p <sub>1</sub> > 0,05	22,1 $\pm$ 2,7* p <sub>1</sub> > 0,05	12,3 $\pm$ 3,8 p <sub>1</sub> > 0,05	38,5 $\pm$ 6,4 p <sub>1</sub> > 0,05
n=12, III ст.	38,9 $\pm$ 4,7 p <sub>1</sub> > 0,05	20,4 $\pm$ 3,1 p <sub>1</sub> > 0,05	12,9 $\pm$ 2,1 p <sub>1</sub> > 0,05	36,1 $\pm$ 3,4* p <sub>1</sub> > 0,5

Примечание: \*p – достоверность различия с группой контроля; p<sub>1</sub> – до и после операции

Содержание всех цитокинов при субатрофии не отличалось от уровня в контрольной группе. Уровень цитокинов "провоспалительного" характера (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и особенно ФНО $\alpha$ ) значительно возрос на ранние сроки наблюдения после оперативного вмешательства и к 2-3 году наблюдения снижался, практически не отличаясь от контроля, хотя содержание ФНО $\alpha$  оставалось умеренно повышенным. Таким образом, к отдаленному послеоперационному периоду соотношение про- и проти-

вовоспалительных цитокинов уравновешивалось, что свидетельствовало о снижении интенсивности воспалительного процесса в тканях глаза.

Важным фактором сохранения глаза как анатомического органа при хронических ПТУ является состояние гидродинамики. Показатели гидродинамики глаза при развитии посттравматической субатрофии значительно снижались (таблица 9). Наиболее выраженное снижение внутриглазного давления отмечалось при III стадии субатрофии  $6,1 \pm 0,4$  мм рт.ст.

**Таблица 9.** Гидродинамические показатели у больных с посттравматической субатрофией глаза и после хирургического лечения

Группы	$P_0$ ммртст	F мм куб/м	C
Норма	10,0 – 17,0	0,7 – 3,0	0,15 – 0,55
Субатрофия глазного яблока до операции; I ст., n=12	$8,8 \pm 0,45$	$1,1 \pm 0,02$	$0,19 \pm 0,04$
n=15, II ст.	$7,2 \pm 0,5$	$1,0 \pm 0,02$	$0,15 \pm 0,01$
n=12, III ст.	$6,1 \pm 0,4$	$1,03 \pm 0,01$	$0,1 \pm 0,01$
После хирургического лечения 10 суток; I ст., n=12	$9,1 \pm 0,2$ $p > 0,05$	$1,15 \pm 0,05$ $p > 0,05$	$0,1 \pm 0,02$ $p < 0,05$
n=15, II ст.	$7,8 \pm 0,5$ $p > 0,05$	$1,2 \pm 0,02$ $p < 0,001$	$0,17 \pm 0,01$ $p < 0,05$
n=12, III ст.	$7,0 \pm 0,02$ $p < 0,05$	$1,1 \pm 0,01$ $p < 0,001$	$0,2 \pm 0,03$ $p < 0,01$
После операции 2-3 года n=12, I ст.	$11,7 \pm 0,64$ $p < 0,01$	$1,8 \pm 0,05$ $p < 0,001$	$0,2 \pm 0,06$ $p < 0,05$
n=15, II ст.	$10,6 \pm 0,9$ $p < 0,01$	$1,2 \pm 0,01$ $p < 0,001$	$0,18 \pm 0,01$ $p < 0,05$
n=12, III ст.	$9,3 \pm 0,5$ $p < 0,001$	$1,03 \pm 0,01$ $p < 0,001$	$0,18 \pm 0,01$ $p < 0,001$

$P_0$  – истинное ВГД; C – коэффициент легкости оттока ВГЖ; F – минутный объем продуцируемой ВГЖ; p – различия до и после операционного вмешательства

После операции бандажа глазного яблока с реваскуляризацией цилиарного тела наблюдалось улучшение гидродинамики – повышение внутриглазного давления как в ранний, так и в отдаленный периоды после операции. Результаты тонографических исследований выявили достоверное повышение продукции камерной влаги цилиарным телом в результате проведенного хирургического вмешательства: коэффициент F возрос в среднем на  $0,7 \pm 0,05$  мм куб/мин. Это привело к статистически значимому повышению истинного внутриглазного давления: в среднем на  $2,8 \pm 0,6$  мм рт.ст. Важно, что гидродинамические показатели у больных после проведенного оперативного лечения имеют сильную корреляционную связь с уровнем содержания NO $_x$  в слезной жидкости.

В целом, полученные нами данные согласуются с рабочей гипотезой о том, что при посттравматической субатрофии в связи с нарушением клеточного дыхания и развитием гипоксии сетчатки происходит активация синтеза NO [М.М. Архипова, 2000].

Генерация значительных количеств NO и ряда других свободных радикалов при воспалительных заболеваниях глаза играет важную роль не только в повреждении клеточных структур глаза, но и стимулирует синтез молекул адгезии, выработку хемотаксических факторов, необходимых для миграции фагоцитирующих клеток в очаг воспаления [G.E. Marak, 1992]. В то же время избыток NO увеличивает проницаемость сосудов, способствуя развитию отека; приводит к образованию высокотоксичного пероксинитрита, вызывающего повреждение липидов и белков клеточных мембран; инициирует апоптоз [В.П. Реутов, 2003; П.П. Голиков, 2004].

Уровень NO в плазме крови и слезной жидкости в ранний посттравматический период у больных с проникающими ранениями глаза необходимо рассматривать как один из компонентов неспецифической защиты организма. Чрезмерное повреждение тканей глаза, способных синтезировать оксид азота, при тяжелых и очень тяжелых проникающих ранениях органа зрения приводит в ранние сроки

после травмы к падению образования оксида азота [И.Б. Малышев, Е.Б. Манухина, 2000]. Недостаточная продукция оксида азота снижает активность воспалительного процесса, усугубляет течение увеита и способствует переходу в хроническую форму [G. Yilmaz, 2002], что наблюдалось у наших больных с тяжелыми и очень тяжелыми травмами.

Продукция оксида азота в пораженном органе зрения проявляется как своеобразный интегральный показатель реакции организма, зависящая от тяжести проникающего ранения, с одной стороны, и определяющая характер активности воспалительного процесса, выраженности мест-

ного и общего ответа иммунной и оксидантно-антиоксидантной систем, с другой. Обоснованность данного положения подтверждается наличием корреляционных связей между уровнем конечных стабильных продуктов NO и показателями интенсивности свободнорадикальных процессов и антирадикальной защиты в слезной жидкости и плазме крови, между уровнем NOX и содержанием про- и противовоспалительных цитокинов у больных с проникающими ранениями глаза и субатрофией глазного яблока. На рис. 2 представлена схема участия NO в патогенетических механизмах развития субатрофии глаза.

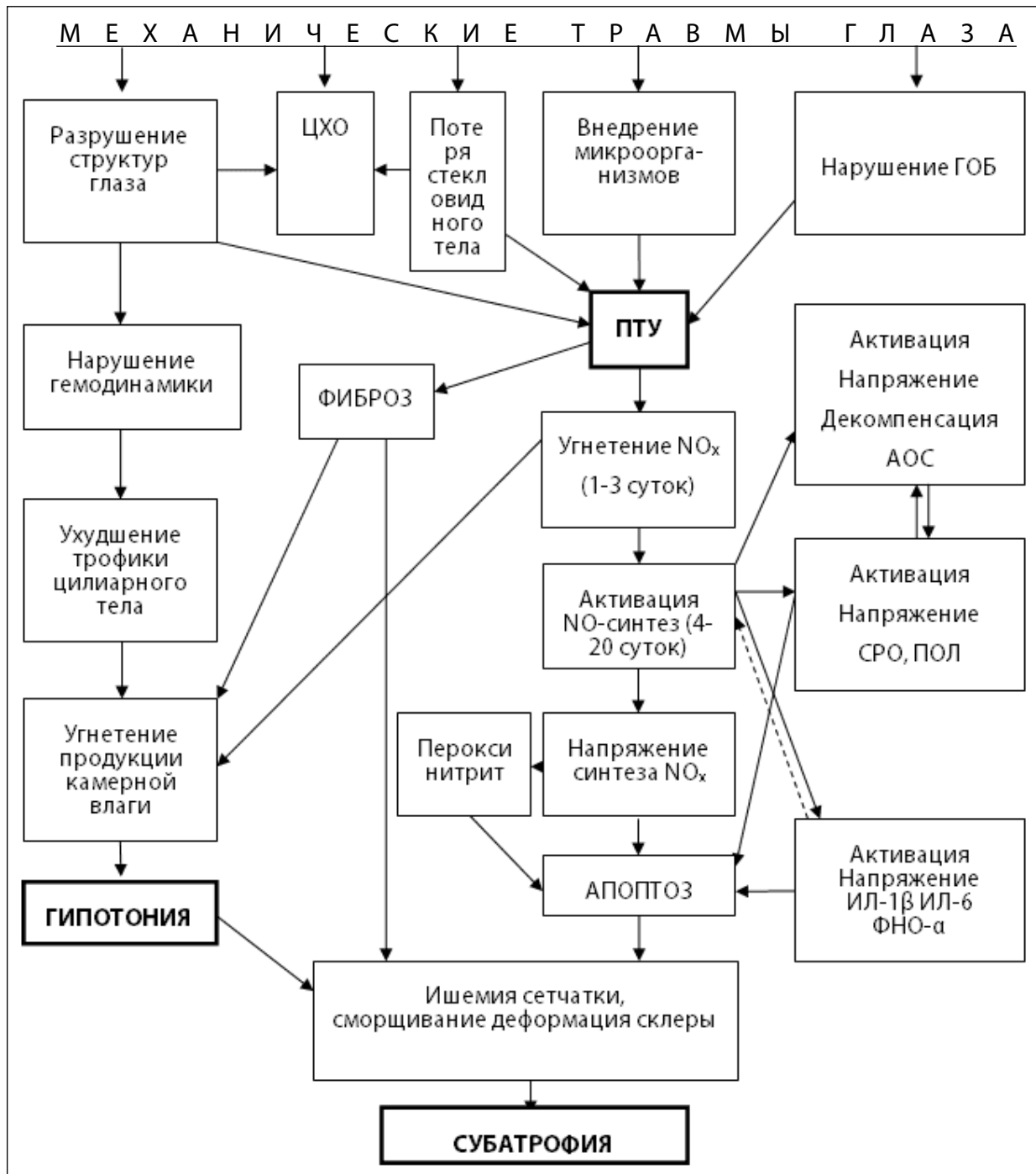


Рис 2. Схема участия NO в патогенетических механизмах посттравматической субатрофии глаза



бандажа глазного яблока биоматериалом Аллоплант с реваскуляризацией цилиарного тела.

Ведущим симптомом субатрофии глаза является снижение внутриглазного давления, которое может быть обусловлено различными факторами. В связи с этим, было сделано предположение, что при субатрофии глаза может оказаться эффективным метод оперативного лечения, направленный на восстановление трофики цилиарного тела, нормализацию метаболизма и стимуляцию местного иммунитета.

Операция с реваскуляризацией цилиарного тела прежде всего направлена на повышение офтальмотонуса, в результате усиления секреции водянистой влаги, а применение дермального аллотрансплантата не только предупреждает сморщивание и деформацию глазного яблока, но и способствует активации регенераторных процессов, стимулирует местный иммунитет [Л.Ф. Галимова, 1998]. Топографические исследования больных выявили усиление продукции камерной влаги цилиарным телом, повышение истинного внутриглазного давления в результате хирургического вмешательства ( $p < 0,001$ ).

Высокий уровень стабильных метаболитов NO в слезе у пациентов с посттравматической субатрофией глаза после операции бандажа глазного яблока с применением дермального аллотрансплантата, в комплексе с реваскуляризацией цилиарного тела в отдаленные сроки сохраняется возможно в основном за счет активации eNOS-эндотелиальной синтазы оксида азота и интенсификации его продукции реваскуляризованным цилиарным телом.

Усиление продукции NO можно рассматривать как некий приспособительный механизм, способствующий нормализации метаболического гомеостаза глаза в результате продукции цилиарным телом водянистой влаги, являющейся основной биологической жидкостью, обеспечивающей обмен оптических сред и других тканей органа зрения. Однако этот механизм может осуществляться лишь до определенного предела, пока поддерживается некий баланс между действием NO на контрикулярные элементы трабекулы и на продольную порцию цилиарной мышцы, что предопределяет возможность, а в ряде случаев и необходимость использования селективных препаратов, воздействующих на генерацию оксида азота при посттравматических увеитах и субатрофиях глазного яблока.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Травмы органа зрения сопровождаются на 1-3 сутки снижением уровня конечных продуктов оксида азота в слезной жидкости травмированного глаза. Выраженность падения продукции NO<sub>x</sub> зависит от тяжести травмы. Содержание стабильных метаболитов оксида азота в слезной жидкости менее 1,0 мкмоль/л в первые трое суток после травмы является неблагоприятным прогностическим признаком развития хронической формы посттравматического увеита, способным быть причиной субатрофии глазного яблока.

Травма глаза и развитие посттравматического увеита сопровождается интенсификацией перекисного окисления липидов с повышением содержания в плазме крови ТБК-активных продуктов, выраженность которого зависит от тяжести ранения.

Субатрофия глазного яблока характеризуется увеличением в слезной жидкости уровня стабильных продуктов NO, усилением перекисного окисления липидов, снижением антиоксидантной активности. В плазме крови у больных выявляется повышение содержания NO<sub>x</sub> и ТБК-активных продуктов на фоне ингибирования интенсивности радикалообразования с активацией антиокислительной системы.

У больных с проникающими ранениями глаза в первые трое суток при благоприятном течении процесса уровень цитокинов крови (ФНО $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ИЛ-4) имеет тенденцию к снижению, при неблагоприятном развитии посттравматического увеита наблюдается статистически значимое снижение их содержания. При субатрофии глаза цитокиновый профиль плазмы крови пациентов и здоровых лиц не имеет существенных различий.

После операции реваскуляризации цилиарного тела с бандажом глазного яблока с использованием биоматериалов Аллоплант в первые 10 суток в слезной жидкости и плазме крови больных повышается содержание NO<sub>x</sub>, резко усиливаются процессы свободнорадикального окисления на фоне снижения антиокислительной активности биологических жидкостей и возрастания «про- и противовоспалительных» цитокинов в плазме крови. В поздние сроки после оперативного лечения (2-3 года) уровень цитокинов «провоспалительного» действия (ФНО $\alpha$  и ИЛ-6) остается несколько повышенным, нормализуется баланс оксидантно- и антиоксидантной системы с интенсификацией продукции NO в слезной жидкости и восстановлением гидродинамических показателей поврежденного глаза.

Изменения содержания стабильных продуктов NO в слезной жидкости имеет корреляционную связь средней силы с показателями процессов свободнорадикального окисления (светосумма, максимальная светимость), уровнем ТБК-реагирующих продуктов, цитокинов (ФНО $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ИЛ-4) в плазме крови, отрицательную сильную с показателями антиокислительной защиты. При субатрофии глаза корреляционные связи NO $_x$  с цитокиновым профилем снижаются и усиливаются с показателями перекисного окисления липидов и антирадикальных процессов. Рекомендуется определять уровень конечных стабильных метаболитов оксида азота в слезной жидкости в первые 3 суток после травмы глаза, это поможет офтальмологам определить исход посттравматического увеита и своевременно начать адекватную комплексную терапию.

Содержание NO $_x$  менее 1,0 мкмоль/л является прогностическим неблагоприятным фактором.

Модифицированный метод определения уровня конечных стабильных метаболитов оксида азота по Емченко Н.Л. (1994) для слезной жидкости рекомендуется использовать в лечебных учреждениях, имеющих биохимическую лабораторию как дополнительный диагностический тест при глазных заболеваниях.

В комплексной терапии посттравматической субатрофии глазного яблока рекомендуется хирургическое лечение с применением биоматериала Аллоплант и реваскуляризацией цилиарного тела, способствующее восстановлению формы и объема глазного яблока, сохранения его как анатомического органа, приводящего к усилению продукции водянистой влаги, повышению внутриглазного давления.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Газдалиева, Л.М. Показатели оксида азота и цитокинов в слезной жидкости у больных с проникающими ранениями глаз / Л.М. Газдалиева, З.А. Даутова // Аллергология и иммунология. – 2003. – Т. 4, № 2. – С. 191.
2. Анализ состояния глазного травматизма в Республике Башкортостан / Л.М. Газдалиева, М.Т. Азнабаев, З.А. Даутова [и др.] // Материалы межрегиональной конференции офтальмологов, посвященной 40-летию детской глазной клиники Красноярского края: сб. статей. – Красноярск, 2003. – С. 208-209.
3. Способ прогноза течения посттравматического увеита / Л.М. Газдалиева, М.Т. Азнабаев, З.А. Даутова, Н.А. Никитин // Материалы XI научно-практической конференции Екатеринбургского центра МНТК «Микрохирургия глаза». – Екатеринбург, 2003. – С. 16-17.
4. Газдалиева, Л.М. Роль оксида азота при проникающей травме глаза / Л.М. Газдалиева // Региональная медицинская наука: тенденции и перспективы развития. Аспирантские чтения – 2004: сб. матер. докл. V науч. конф. молодых ученых. – Самара, 2004. – С. 363-366.
5. Газдалиева, Л.М. Динамика накопления конечных стабильных метаболитов оксида азота при экспериментальной травме глаз кроликов / Л.М. Газдалиева // Здоровоохран. Башкортостана. Спец. вып. – 2004. – № 4: Актуальные вопросы патологии: матер. Межрегион. конф., посвящ. 70-летию каф. пат. анатомии и патофизиологии БГМУ. – С. 66-69.
6. Камилов, Ф.Х. Оксид азота в физиологии и патологии глаза / Ф.Х. Камилов, В.У. Галимова, Л.М. Газдалиева // Пермский медицинский журнал. – 2005. – Т. 22, № 2. – С. 130-137.
7. Газдалиева, Л.М. Свободно-радикальные процессы в глазном яблоке при экспериментальной травме глаза / Л.М. Газдалиева // Новая идеология в единстве фундаментальной и клинической медицины: матер. межрегион. науч.-практич. конф., посвящ. 85-летию Самарского гос. медицинского университета. – Самара, 2005. – С. 86-88.
8. Газдалиева, Л.М. Цитокиновый профиль плазмы крови при посттравматической субатрофии глаза и после хирургического лечения с применением биоматериалов Аллоплант / Л.М. Газдалиева, Ф.Х. Камилов, В.У. Галимова // Медицинский вестник Башкортостана. Спец. вып. – 2006. – № 1. – С. 223-227.
9. Способ прогнозирования тяжести течения травматического увеита: пат. 2236007 Рос. Федерация / Л.М. Газдалиева. – № 2003118152; заявл. 16.06.03; опубл. 10.09.04.