

УДК 617.7-007.681-092-092.9

**Изучение сосудистых нарушений в патогенезе  
открытоугольной глаукомы в эксперименте.**

**Безкорвайная И. Н. Украинская медицинская  
стоматологическая академия г. Полтава**

**Введение.** Последние 8-10 лет в зарубежной офтальмологической литературе большое количество публикаций посвящено патогенезу первичной открытоугольной глаукомы (ОУГ).

Глаукома в настоящее время большинством авторов рассматривается как прогрессирующая оптическая нейропатия. Однако патогенез ее все еще остается невыясненным. Несомненно, однако, что сосудистые нарушения играют существенную роль, по крайней мере, как один из основных факторов развития глаукомных изменений.

В последние годы, благодаря открытию новых функций эндотелия сосудов, значительно расширились представления о механизмах нарушения состояния сосудистой системы организма. Установлено что, эндотелий сосудов способен продуцировать и освобождать в кровяное русло биологически активные вещества, участвующие в ауторегуляции сосудистой системы. К таким биорегуляторам относятся эндотелин и оксид азота [1,].

Эндотелин (ЭТ) является мощным вазоконстрикторным пептидом, состоящим из 21 аминокислоты и принимающим участие в регуляции тонуса периферических сосудов. С мембранами клеток ЭТ взаимодействует через специфические рецепторы [11]. Считают, что ЭТ-1 играет важную роль в патогенезе ряда сердечно-сосудистых заболеваний. Повышенный уровень этого вещества выявлен при гипертонии, инфаркте миокарда, ИБС [3, 4, ].

Обнаруженный эндотелиальный расслабляющий (вазодилаторный) фактор по своей природе и механизму действия оказался аналогичным оксиду азота (NO), синтез которого из L-аргинина регулируется в организме ферментом NO-синтетазой. Оксид азота по современным представлениям играет роль

универсального регулятора многих физиологических процессов в организме [5] и предотвращает чрезмерную вазоконстрикцию. Недостаточный синтез NO может явиться фактором развития ряда сосудистых заболеваний. К примеру, показана роль NO в патофизиологических механизмах развития нарушений мозгового кровообращения и инсультов [5,8].

В офтальмологической литературе в последние годы также появились работы, посвященные изучению ЭТ и NO при глаукоме. Имеются отдельные сообщения об увеличении уровня ЭТ и снижения уровня NO [8, 10,] в камерной влаге и плазме крови больных глаукомой. Однако их патогенетическая роль при глаукомной патологии не выяснена. Учитывая значительное участие сосудистой дисрегуляции в глаукомном процессе [7], представляется чрезвычайно важным изучение роли ЭТ-NO как системы клеточных регуляторов в становлении и развитии глаукомы.

**Цель исследования.** Изучить содержание медиаторов ЭТ и NO в плазме крови животных с моделируемой адреналин-индуцируемой глаукомой на различных этапах ее развития. Работа является фрагментом НИР “Изучить содержания эндотелина и оксида азота в плазме крови животных с моделью первичной открытоугольной глаукомы, определить роль этих нейротрансмиттеров в развитии глаукомного процесса” № госрегистрации 0102U002741 выполняемой на базе Одесского НИИ глазных болезней и тканевой терапии АМН Украины им. академика В.П.Филатова.

**Материал и методы.** Эксперимент проведен на 20 кроликах породы шиншилла возрастом старше двух лет. Глаукому моделировали по методу Липовецкой [4] внутривенным введением адреналина гидрохлорида на протяжении трех месяцев. В динамике моделирования проводили ежедневную тонометрию тонометром Маклакова (7,5 г). Гидродинамику глаз изучали электротонотографом Сахарова, реоофтальмографию осуществляли на реографе РГЧ-4. Биохимические показатели ЭТ-1 и NO определяли в плазме крови животных.

Определение эндотелина-1 проводили иммуноферментным методом при помощи набора реактивов Endothelin-1 Elisa system ( Amersham, Англия). Предварительную экстракцию ЭТ-1 выполняли на микроколонках Amprep C18, олигопептид элюировали 60% ацетонитрилом в 1% растворе трифторацетата.

Уровень нитрита в плазме крови определяли спектрофотометрически. методом Трисса-Илосвая (2) с сульфаниловой кислотой и 1-нафтиламином. Депротеинизацию плазмы крови проводили 75 ммоль/л ZnSo<sub>4</sub> в 1,25 ммоль NaOH.

Исследование глаз и биохимические тесты проводились:

а) до введения адреналина у здоровых животных, что служило контролем:

б) в динамике моделирования глаукомы:

- через 3 мес эксперимента, сразу после прекращения введения адреналина:

- через 9 мес эксперимента (спустя 6 мес. после прекращения введения адреналина);

- через 15 мес. эксперимента (спустя 12 мес. после прекращения введения адреналина).

Статистическая обработка данных проведена с использованием критерия Стьюдента (t) и коэффициента корреляции (r), при уровне значимости (p) не более 5%.

**Результаты и их обсуждение.** В процессе моделирования адреналин-индуцированной глаукомы (АИГ) к моменту окончания введения адреналина (3 мес.) у животных наблюдалось достоверное повышение ВГД на 29% в сравнении с исходным ( $p < 0,001$ ). ВГД продолжало повышаться и далее уже без экзогенного введения адреналина (табл. 1). Статистическая обработка показала, что на каждом этапе сравнения на протяжении 15 месяцев наблюдения офтальмотонус у экспериментальных животных достоверно отличался от контроля и к 15 месяцам превышал его на 58% ( $p < 0,001$ ). Развитие модели характеризовалось также ухудшением гидродинамики глаза и развитием ретенции; снижением увеального кровотока и развитием ишемии в глазу.

**Офтальмотонус (ВГД) у кроликов в динамике моделирования  
адреналин - индуцированной глаукомы (n = 20)**

Статистические показатели	Контроль	ВГД, мм рт. ст.		
		3 мес	9 мес.	15 мес.
М	13,6	17,5	20,5	21,5
± m	±0,2	±0,47	±0,75	±0,63
P<	—	0,001	0,001	0,001
%	100,0	129,0	151,0	158,0

Биохимические исследования. Динамика уровня ЭТ-1 в плазме периферической крови животных представлена в таблице 2.

Таблица 2

**Содержание эндотелина (ЭТ, пмоль/л) в плазме крови  
кроликов в динамике адреналин-индуцированной глаукомы (n = 20)**

Контроль	М	4,5
	m	±0.32
	%	100.0
3 мес. (введение адреналина)	М	15.8
	m	±2.9
	p<	0.001
	%	351.0
9 мес. ( 6 мес. после окончания введения адреналина)	М	6.0
	m	±0,23
	p1<	0.01
	%	133.0
15 мес. ( 12 мес. после окончания введения адреналина)	М	<b>7.67</b>
	m	±0,76
	p1<	0.01
	%	170.0

P1 — сравнение с контролем.

Как видно, по завершении введения адреналина (3 мес.) уровень ЭТ-1 был в 3,5 раза выше, чем в контроле ( $p < 0,001$ ). Через 9 месяцев эксперимента (спустя полгода после окончания введения адреналина) содержание ЭТ

снизилось, однако оно оставалось достоверно повышенным по сравнению с контролем. Через 15 месяцев эксперимента (через год после окончания введения адреналина) содержание эндотелина в плазме крови у экспериментальных животных было выше, чем в контроле на 70% ( $p < 0,01$ ).

Проведенный анализ выявил положительную корреляционную зависимость между уровнем внутриглазного давления и содержанием эндотелина в плазме крови при адреналин-индуцированной глаукоме у кроликов ( $r = 0,67$ ,  $p = 0,05$ ). Содержание в плазме крови оксида азота в динамике моделирования глаукомы у кроликов представлено в таблице 3. Достоверные изменения NO отмечены через 9 месяцев эксперимента. К этому сроку его уровень снизился на 39% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем. На следующем этапе наблюдения (15мес.) этот показатель был несколько выше, однако тенденция к снижению все же сохранялась (уровень NO был ниже, чем в контроле на 21%, хотя эта разница была статистически не достоверна).

Таблица 3

**Содержание оксида азота (по NO<sub>2</sub>, мкМ) в плазме крови кроликов в динамике адреналин — индуцированной глаукомы (n = 20)**

Контроль	M m %	8.0 1.2 100.0
3 мес. (введение адреналина)	M m p< %	8.12 0.42 >0.5 102.0
9 мес. ( 6 мес. после окончания введения адреналина)	M m p< %	4.89 0.36 0.05 61.0
15 мес. ( 12 мес. после окончания введения адреналина)	M m p< %	6.33 1.04 >0.05 79.0

p — сравнение с контролем.

**Выводы.** Анализ фактического материала показал, что содержание вазоконстриктора ЭТ существенно повышается в первые месяцы моделирования АИГ. Можно полагать, что этот значительный (в 3,5 раза) подъем уровня эндотелина в крови животных в определенной мере связан с непосредственным введением адреналина в кровь, поскольку известно, что адреналин вызывает активацию синтеза ЭТ. На более поздних этапах наблюдения, по прекращении введения адреналина, уровень эндотелина снизился, однако оставался достаточно высоким. Через 15 месяцев содержание этого трансммиттера на 70% превышало контрольное значение. Положительная корреляция между уровнем эндотелина в крови животных с экспериментальной глаукомой и уровнем их офтальмотонуса дополнительно свидетельствует в пользу патогенетической роли выявленных изменений.

Изменения содержания оксида азота у экспериментальных животных были несколько менее значительными, чем изменения содержания эндотелина, однако все же выявлено достоверное снижение уровня NO через 6 мес. после окончания введения адреналина (9 мес. эксперимента). Недостаточное содержание этого трансммиттера так же способствует чрезмерной вазоконстрикции, как и повышенный уровень ЭТ. Нарушение баланса эндотелин-NO системы, выявленное в нашем эксперименте и направленное на чрезмерную вазоконстрикцию, может иметь патогенетическое значение для развития глаукомных изменений. Дисбаланс эндотелиальных вазоконстрикторов и вазодилататоров, каковыми являются ЭТ и NO, имеет важное значение в развитии эндотелиальной дисфункции, поскольку при этом изменяются механизмы регулирования сосудистого тонуса и проницаемость микрососудистого русла. Это в свою очередь моделирует ишемические повреждения .

Сосудистая дисрегуляция может быть ассоциирована с изменениями гидродинамики глаза. Так, имеются данные, что трабекулярная сеть может принимать участие в регуляции оттока камерной влаги, и оксид азота может увеличивать, а эндотелии, напротив, снижать отток внутриглазной жидкости

[6,11]. Помимо участия системы ЭТ-НО в модуляции сопротивления оттока камерной влаги, дисфункция этой системы может негативно влиять на кровоснабжение зрительного нерва [7].

**Перспективы дальнейших разработок в этом направлении:** данные о направленном дисбалансе в системе эндотелии — NO при формировании и развитии модели глаукомы, полученные нами в эксперименте на животных, подтверждают значительную роль сосудистого фактора в развитии глаукомы, уточняют представление об отдельных звеньях патогенеза этого заболевания и указывают возможности его более глубокого изучения на данной модели. Таким образом в дальнейших исследованиях возможна выработка патогенетически направленного лечения первичной открытоугольной глаукомы, путем воздействия на нейротрансмиттеры.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Белоус А. М., Малахов В. А. Клеточные механизмы сосудистой патологии. // Журн. АМН Украины. — 1998. — Т. 4. — N 4. — С. 581 -593.
2. Ванханен В. Д., Суханова Г. А. Техника санитарно-гигиенических исследований. — К.: Вища школа, 1983. С. 236-237.
3. Липовецкая Е. М. Развитие экспериментальной глаукомы при длительном внутривенном введении адреналина // Офтальмол. журн. — 1966. — N 3. — С. 221-224.
4. Малая Л. Т., Горб Ю. Т., Рачинский И. Д. Хроническая недостаточность кровообращения. — К.: Здоров'я, 1994. — 624 с.
5. Раевский К. С. Оксид азота – новый физиологический мессенджер: возможная роль при патологии центральной нервной системы. // Бюл эксп. биол. и мед. — 1997, 6.123. — N 5.— С. 455-490.
6. Behar- Coher F. F. invest, ophthalmol. Goureau O. D'Hermies F, Courtois V. Decreased intraocular pressure induced by nitric oxide donors is correlated to nitrite production in the rabbit eye. Invest Ophthalmol Vis Sci. — 1996.-37.\_P. 1711-1717.

7. Flammer J. The concept of vascular dysregulation in glaucoma. In Nitric oxide and endothelin in the pathogenesis of glaucoma. — New-York: Lippincott- Raven, 1999. — P. 14-21.
8. Galassi F., Sodi A., Ucci F. et al. Nitric oxide and ocular hemodynamics in normal pressure glaucoma. Whittburg Glaucoma symposium. Sept.: 1999. — P. 15.
9. Haynes W. G., Webb D.Y. Endothelium – dependent modulation of responses to endothelin-1 in human veins/ // Clin. Science. — 1993. — Vol. 84. — P. 427 –433
10. Kaiser H. Y., Flammer V. Wenk M. Lüscher Th. Endothelin-I plasma levels in normal-tension glaucoma: abnormal response to postural changes. // Graefes Arch Clin. Exp Ophthalmic —1995. — Vol. 233. — P. 484-489.
11. Maepa O. Bill A. Pressures in the juxtacanalicular tissue and Schlemm's canal in monkeys. // Exp Eye Res 1992; 54: p.879- 883.
12. Masaki T., Kimura S., Yanagisawa M., Goto K. Molecular and cellular mechanism of endothelin regulation. Implication for vascular function. //Circulation-1991 — Vol. 84. — P. 1457-1468.