

УДК 617.713–001.37:617.764.1–008.8–07+577.11

Определение уровня защитных компонентов слезной жидкости у больных с рубцовыми последствиями ожогов глаз и явлениями синдрома сухого глаза

С. А. Якименко, д-р мед. наук, проф., Амжад Альбин, аспирант; С. Г. Коломийчук, ст. науч. сотрудник

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины»

E-mail: ojogi.glaz@te.net.ud

Ключевые слова: роговица, ожог, муцин, белок

Ключові слова: рогівка, опік, муцин, білок

Вступ. Актуальність роботи визначається наявністю синдрому сухого ока у хворих з рубцевим наслідками опіків очей і з'ясуванням дії препаратів «Штучні слюзи» і «Рестасіс» при їх лікуванні.

Мета дослідження: визначити рівень захисних компонентів слюзової рідини у хворих з рубцевими наслідками опіків очей.

Матеріал і методи: Клінічні дослідження проведені у хворих з опіками очей. Група контролю складала 12 здорових осіб. У процесі лікування було виділено 2 групи хворих: група порівняння (10 хворих) — пацієнти з тяжкими наслідками опіків очей, у яких проводилося стандартне комплексне лікування; основна група (14 хворих) — пацієнти з тяжкими наслідками опіків очей, в комплексну терапію яких були включені препарати «Штучна слюза» і «Рестасіс». В слюзовій рідині хворих визначали вміст муцину, загального білка, сульфгидрильних груп.

Результати. У хворих з опіками переднього відділу ока тіоловий статус білків і вміст муцину різко порушується, але при застосуванні препаратів «Штучні слюзи» і «Рестасіс» виявлено тенденцію до нормалізації рівня загального білка в слюзовій рідині.

Висновки. Застосування препаратів «Штучні слюзи» і «Рестасіс» не чинить помітного впливу на вміст тіолових груп і муцину в слюзовій рідині, проте в значному ступені призводить до зниження рівня білка в слюзовій рідині у хворих, в комплексну терапію яких були включені препарати «Штучна слюза» і «Рестасіс» по відношенню до хворих, яким проводилося стандартне комплексне лікування.

Determination of the level of the protective components in the tear fluid in patients with scarring consequences of the eye burns

S. A. Yakimenko, Amjad Albin, S. G. Kolomiychuk

State Institution The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of the NAMS of Ukraine, Odessa (Ukraine)

Key words: cornea, burn, mucin, protein, tear fluid

Introduction. Treatment of the syndrome of the dry eye in patients with scarring consequences of the eye burns is an urgent problem of ophthalmology.

Purpose. To determine the level of the protective components of the tear fluid in patients with scarring consequences of the eye burns

Material and Methods. Clinical investigations were made in patients with eye burns: 10 patients with severe consequences of burns who received complex treatment and 14 patients with severe burns in whom complex treatment was complemented with preparations «Artificial tear» and «Restasis». The content of mucin, general protein and sulfhydryl groups were determined in the patients' tear fluid before and after treatment. The same investigations were made in 12 healthy persons.

Results. It is established that patients with burns of the anterior section of the eye the thiol status of proteins and content of mucin are sharply disturbed while using the preparations «Artificial tear» and «Restasis», promotes the tendency to normalization of the level of general protein in the patients' tear fluid.

Conclusions. The application of the preparations «Artificial tear» and «Restasis» did not exert significant influence on the content of the thiol groups of mucin in the tear fluid, however, it resulted in marked decrease of the protein level in the tear in patients of the main group in comparison with the comparative group.

Введение. Ожоги глаз — один из наиболее тяжелых и специфических видов повреждения органа зрения, представляющих актуальную медико-социальную проблему [2, 8].

Тяжесть ожогового поражения глаз прежде всего заключается в преимущественном повреждении роговицы, вызывающем ее структурные изменения с последующими функциональными нарушениями. Происходит фрагментация, исчезновение клеток стромы, что, в свою очередь, ведет к нарушению синтеза полисахаридов. Снижается содержание, возникает деполимеризация и гидратация кислых мукополисахаридов уже в начальных стадиях, а это приводит к дезорганизации и, нередко, к гибели коллагеновых волокон. Важным для восстановления прозрачности роговицы является состав основного вещества ее стромы — мукополисахаридов [11, 15].

Наблюдаемые при ожоговом процессе изменения в роговице свидетельствуют о глубоких нарушениях белкового, жирового и углеводного обменов. Снижается содержание гликогена, что сопровождается резким угнетением тканевого дыхания в роговице. Это приводит к накоплению в тканях недоокисленных продуктов обмена — молочной кислоты, что приводит к резкому нарушению окислительно-восстановительных процессов не только в роговице, но и в радужной оболочке [5, 19].

Согласно исследованиям последних лет было установлено, что в обожженной роговице на воспалительно-продуктивной стадии выявляется дисбаланс белковых фракций, ряда аминокислот и содержания общего белка. [1] Ожоговое повреждение глаза приводит к деполимеризации гликозаминогликанов. Выявлено значительное угнетение обмена аскорбиновой кислоты и рибофлавина. Вызванные ожогом нарушения метаболических процессов являются причиной накопления недоокисленных продуктов в тканях глаза, что в свою очередь приводит к нарушениям баланса в системе перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты [7, 20, 23].

В развитии воспалительного процесса огромную роль играют разнообразные системы протеолитических ферментов, принимающих участие на всех его этапах: повреждение, микроциркуляторные реакции, экссудация, эмиграция клеток из сосудов, очищение от продуктов распада, пролиферация фибробластов и рост сосудов, фибриллогенез коллагена, созревание и фиброзное превращение грануляционной ткани, реорганизация и инволюция рубца, перфорация роговицы [4, 9].

В диагностике такого заболевания как ожог роговицы большое внимание уделяется изучению биохимического состава слезной жидкости [3].

Слезная жидкость не только увлажняет поверхность глаза и удаляет пылевые частицы. Метаболические процессы в слезе тесно сопряжены с обменными процессами, происходящими в глазу — как в норме, так и при патологии [13, 16].

В состав слезы входит 1–2 % неорганических электролитов и органических веществ, отличающихся различной молекулярной массой и химическими свойствами, остальные 98–99 % приходятся на воду. К неорганическим веществам слезы относятся ионы микроэлементов. Ионы металлов обеспечивают кислотно-щелочное равновесие и осмотический гомеостаз слезы. Они также являются важной составной частью ферментов, местных гормонов и других биологически активных веществ, отвечающих за регуляцию обменных процессов [18].

В органическом составе слезной жидкости преобладают белки. Их основное значение заключается в обеспечении нормальной кислотности и онкотического давления. Они участвуют в иммунологических и ферментативных процессах, обладают бактерицидным и бактериостатическим действием [22].

В органическом составе слезной жидкости преобладают белки. Их основное значение заключается в обеспечении нормальной кислотности и онкотического давления. Они участвуют в иммунологических и ферментативных процессах, обладают бактерицидным и бактериостатическим действием [22].

Состав слезной жидкости изменяется при различных заболеваниях в непосредственно омываемых ею тканевых структурах глаза. Имеется связь между составом слезы и патологическими процессами, происходящими во внутренних структурах глаза. Поэтому выявление корреляции между биохимическим составом слезы, активностью ее компонентов и характером течения патологического процесса является актуальной проблемой, поскольку может расширить представления о патогенезе заболевания и помочь в оценке прогноза и выборе патогенетически ориентированной терапии, оценке ее эффективности и адекватности [3].

Важным в питании роговицы является сбалансированность витаминного обмена. Выраженное снижение содержания витаминов А и Е, рибофлавина, аскорбиновой кислоты при ожогах глаз приводит к усилению деструкции тканей глазного яблока [4, 17].

Несмотря на своевременное комбинированное лечение ожогов глаз, нередко возникают такие осложнения, как рецидивирующие, длительно существующие эрозии, язва роговицы — часто с угрозой перфорации, экссудация в переднюю камеру и стекловидное тело, ириты, иридоциклиты, катаракта [17].

В связи с этим, основные принципы комплексной терапии ожогов глаз сводятся к максимальному воздействию на все патологические звенья ожогового процесса. В этой связи актуальным остается поиск новых и усовершенствование существующих способов медикаментозного лечения как свежих ожогов глаз, так и их последствий.

Цель работы: определить уровень защитных компонентов слезной жидкости у больных с руб-

цовыми последствиями ожогов глаз и синдромом сухого глаза до и после лечения.

Материал и методы исследования

Клинические исследования проведены у больных с послеожоговыми рубцовыми изменениями роговицы и конъюнктивы.

Для контроля аналогичные исследования проведены у 12 здоровых лиц.

Выделено две группы больных: группа сравнения (10 больных) — пациенты с тяжелыми последствиями ожогов, находящиеся на стационарном лечении в ожоговом отделении ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины» с применением стандартного комплексного лечения и основная группа (14 больных) — пациенты с тяжелыми последствиями ожогов глаз, с синдромом сухого глаза, в комплексную терапию которых были включены препараты «Искусственной слезы» и «Рестасис».

В слезной жидкости больных определяли содержание муцина, общего белка и сульфгидрильных групп белков как основных компонентов слезы.

Принцип метода определения содержания сульфгидрильных групп состоит в определении количества тионитрофенильного аниона, освободившегося в результате взаимодействия 5,5'-дитиобис (2-нитробензойной) кислоты (реактив Элмана) со свободными SH-группами белков. Количество образовавшегося тионитрофенильного аниона прямо пропорционально количеству свободных SH-групп белков, участвующих в реакции. Дисульфидный комплекс, образовавшийся в результате реакции с реактивом Элмана в присутствии дитиотреитола, также диссоциирует с образованием тионитрофенильного аниона. Сопоставляя содержание свободного тионитрофенильного аниона до и после добавления дитиотреитола (или доведения pH до 10,5), определяют количество дисульфидных групп в белке [6, 14].

Оптическую плотность растворов измеряли при длине волны 412 нм на спектроколориметре «Specol-210» фирмы «Карл Цейс» (Германия). Среднее значение коэффициента вариации — 1,02 %. Содержание сульфгидрильных и дисульфидных групп выражали в мкмоль/г исследуемой ткани.

Содержание муцина определяли спектрофотометрически [12, 21].

Содержание белка определяли спектрофотометрически [6].

Полученные данные подвергались статистической обработке с помощью пакета SPSS 11.0 [10].

Результаты и их обсуждение

Данные об уровне защитных компонентов слезной жидкости у больных с последствиями ожогов глаз представлены на диаграммах (рис. 1 и 2).

Содержание тиоловых групп белков в группе больных с традиционным лечением составило до лечения 78,2 %, а после лечения — 87,6 % по сравнению с контролем. Таким образом, после лечения содержание тиоловых групп белков повысилось на 12,0 % по отношению к контрольной группе, и на 9,4 % в сравнении с данными до лечения.

В основной группе больных содержание тиоловых групп белков до лечения составило 79,0 %, а после лечения — 91,3 % по сравнению с контрольной группой.

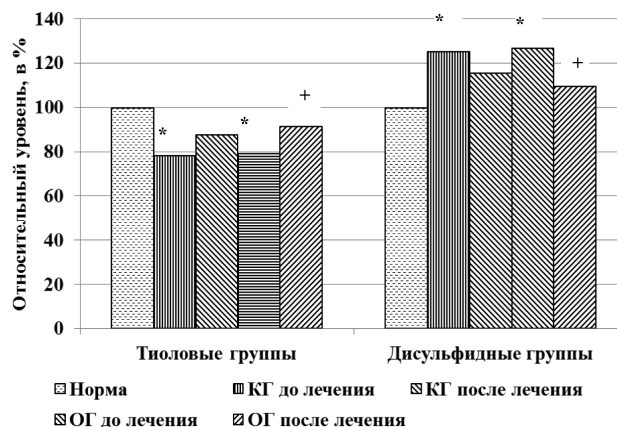


Рис. 1. Относительный уровень тиоловых и дисульфидных групп в слезной жидкости больных после ожога в контрольной (КГ) и основной (ОГ) группах до и после лечения. * — уровень значимости различий данных по отношению к норме $p < 0,05$; + — уровень значимости различий данных группы «после лечения» по отношению к группе «до лечения» $p < 0,05$.

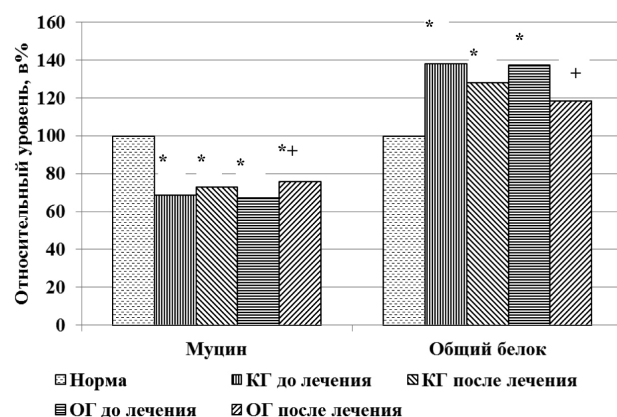


Рис. 2. Относительный уровень муцина и общего белка в слезной жидкости больных после ожога в контрольной (КГ) и основной (ОГ) группах до и после лечения. * — уровень значимости различий данных по отношению к норме $p < 0,05$; + — уровень значимости различий данных группы «после лечения» по отношению к группе «до лечения» $p < 0,05$.

ными данными. Таким образом, при применении препаратов «Искусственной слезы» и «Рестасис» содержание тиоловых групп белков повысилось на 15,6 % по отношению к контрольной группе больных и на 12,3 % по сравнению с данными до лечения.

Содержание дисульфидных групп белков в группе больных с традиционным лечением составило до лечения 125,2 %, а после лечения 115,6 % по сравнению с контрольным показателем. Таким образом, после лечения содержание дисульфидных групп белков понизилось на 7,7 % по отношению к контрольной группе больных и на 9,6 % в сравнении с уровнем до лечения.

В основной группе больных содержание дисульфидных групп до лечения составило 126,8 %, а после лечения — 109,7 % по сравнению с данными до лечения. Таким образом, при применении препаратов «Искусственной слезы» и «Рестасис» содержание дисульфидных групп снизилось на 13,5 % по отношению к исходным данным.

Относительно содержания общего белка, следует отметить, что в группе больных с традиционным лечением исследуемый показатель до лечения был повышен — до 138,2 %, что на 39 % выше нормы по сравнению с контролем. а после лечения составил 128,2 %. Следовательно, применение традиционной терапии снижает содержание общего белка на 7,8 % по отношению к контрольной группе больных и на 10 % по отношению к показателю в этой же группе до лечения.

В основной группе больных содержание общего белка до лечения составило 137,5 %, а после лечения — 118,5 % по сравнению с контрольными данными. Таким образом, применение препаратов «Искусственной слезы» и «Рестасис» снижает содержание общего белка на 13,8 % по отношению к контрольной группе больных и на 19 % с показателями до лечения.

Исходное содержание муцина в группе больных с традиционным лечением было снижено до 68,6 %, а после лечения до 72,9 % по сравнению с контролем. Следовательно, после лечения содержание муцина повысилось на 6,2 % по отношению к контрольной группе больных и на 4,3 % по сравнению с данными до лечения.

В основной группе больных содержание муцина до лечения составляло 67,2 %, а после лечения составило

75,8 % по сравнению с контрольными данными, а при применении препаратов «Искусственной слезы» и «Рестасис» содержание муцина повысилось на 12,8 % по отношению к контрольной группе больных и на 8,6 % в сравнении с исходным уровнем.

Резюмируя, можно заключить, что у больных с рубцовыми последствиями ожогов переднего отдела глаза тиоловый статус белков, а также содержание муцина и общего белка в слезной жидкости резко нарушается, тогда как при применении препаратов «Искусственной слезы» и «Рестасис» проявляется некоторая тенденция к нормализации уровня исследованных биохимических показателей.

Выводы

1. У больных с рубцовыми изменениями конъюнктивы и роговицы после тяжелых ожогов переднего отдела глаза в слезной жидкости выявлено значительное снижение тиоловых соединений, в среднем на 21,0–21,8 % и существенное повышение общего белка, в среднем на 39 % выше нормы, а уровень растворимых муцинов был существенно снижен в среднем на одну треть, что свидетельствует о глубоких нарушениях биохимического состава слезы у этих больных.

2. Использование препаратов «Искусственной слезы» и «Рестасис» оказало заметное положительное влияние на содержание в слезной жидкости тиоловых групп и муцина и в значительной степени приводило к понижению уровня белка в слезе у больных основной группы по отношению к группе сравнения, что свидетельствует о необходимости дальнейшего изучения данных препаратов при лечении этой патологии глаз.

Литература

1. Андрушкова О. А. Роль нарушений белковых компонентов роговицы в патогенезе ожоговой болезни глаз и возможности их коррекции: дис.... канд. мед. наук: 14.00.08: «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины» Андрушкова О. А. — Одесса, 1991. — 16 с.
2. Анина Е. И. Распространенность заболеваний роговой оболочки глаза у населения Украины // Тезисы доп. II Міжнародної наук. конф. офтальмологів Причорномор'я. — Одеса, 2004. — С. 14.
3. Волков О. А., Мошетова Л. К. Современное представление о слезной жидкости, значение ее в диагностике // Рус. мед. журн. — 2004. — Т. 5. — № 4. — С. 138–140.
4. Гусева О. Г. Роль структурно-функционального состояния лизосом роговицы в патогенезе и лечении химических ожогов глаз: дис. ...канд. мед. наук: 14.00.08 «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины» / Гусева О. Г. — Одесса, 1990. — 155 с.
5. Моисеева Н. Н. Экспериментальное изучение действия фонофореза хлорофиллипта на течение химического ожога роговицы: дис.... канд. мед. наук: 14.00.16 «Институт общей патологии и патологической физиологии» Моисеева Н. Н. — Москва, 1984. — 22 с.
6. Новые методы биохимического анализа. // Изд. Ленинградского универ. — 1991. — 395 с.
7. Панько О. М. Обгрунтування та ефективність застосування нового антиоксидантного препарату «Ербісол» при важких опіках очей: дис. ...канд. мед. наук: 14.01.18 «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины» / Панько О. М. — Одесса, 2003. — 185 с.
8. Пучковская Н. А., Якименко С. А., Непомнящая В. Я., Ожоги глаз. Москва: Медицина, 2001, 272 с.
9. Расин О. Г. Эффективность поверхностно-активного препарата мирамистин в лечении химических ожогов глаз тяжелой степени: дис. ...канд. мед. наук: 14.01.18 «Крымский государственный медицинский университет им. С. И. Георгиевского» / Расин О. Г. — Одесса, 2004. — 20 с.
10. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. — М.: Медиа Сфера, 2002. — С. 312.

11. **Antia N. H.** The soap and water treatment of burns // Natl. Med. J. India. — 2001. — Vol. 14. — P. 316–320.
12. **Arqueso P., Balaram M.** Decreased levels of the goblet cell mucin MUC5AC in tears of patients with Sjogren Syndrome // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 2002. — Vol. 43. — P. 1004–1011.
13. **Barka T., Asbell P. A.** Cystatins in human tear fluid // Curr. Eye Res. — 1991. — Vol. 10. — P. 25–34
14. **Bergmeyer H. U.** Methoden der enzymatischen Analyse. — Herausgegeben von **H. U. Bergmeyer.** — Berlin. — 1986. — S. 2198–2203.
15. **Brodovsky S. C., McCarty C. A.** Management of alkali burns. An 11 year retrospective review // Ophthalmol. — 2000. — Vol. 107. — P. 1829–1835.
16. **Crouch R. C., Goletz P.** Antioxidant enzymes in human tears // J. Ocul Pharmacol. — 1991. — Vol. 7. — P. 253–258. Friend J., Hassell J. R. Biochemistry of the cornea In: Kaufman H. E., Barron B. A., McDonalds H. B. eds. The Cornea. — New York: Churchill Livingstone. — 1998. — P. 47–67.
17. **Kuckelkorn R., Schrage N., Keller G.** Emergency treatment of chemical and thermal eye burns // Acta Ophthalmol. Scand. — 2002. — Vol. 80. — P. 4–10.
18. **Kuizengo A., Haeringen N. J.** Inhibition of hydroxyl radical formation by human tears // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 1987. — Vol. 28. — P. 305–313.
19. **Seong M. C., Kim M. J., Tchah H. W.** Chemical burns of the cornea due to soda lime used for line marking on the playground // J. Korean Ophthalmol. Soc. — 2005. — Vol. 46. — P. 1737–1740.
20. **Shirzadeh E.** Bilateral Chemical Burns of the Cornea Due to Limewater: A Specific case // Iran. Red Cresc. Med. J. 2013. — Vol. 15. — P. 11–12.
21. **Spurr-Michaud S., Argueso P.** Assay of mucins in human tear fluid // Exp. Eye Res. — 2007. — Vol. 84. — P. 939–950.
22. **Van Haeringen N. J.** Clinical Biochemistry of tears // Surv. Ophthalmol. — 1981. — Vol. 26. — P. 84–96.
23. **Wilson S. E., Netto M., Ambrosio R.** Corneal cells: chatty in development, homeostasis, wound healing, and disease // Am. J. Ophthalmol. — 2003. — Vol. 136. — P. 530–536.

Поступила 20.03.2014

References

1. **Andrushkova OA.** Role of corneal protein components violations in the pathogenesis of eye burn diseases and their possible correction: thesis for Candidate of Med Science: 14.00.08. The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy. Odessa, 1991. 16 p.
2. **Anana EI.** Incidence of the corneal diseases in the population of Ukraine. Theses of II Black Sea Intern. Conf. of ophthalm. Odessa, 2004. 14.
3. **Volkov OA, Moshetova LK.** Modern representation of tear fluid and its significance in the diagnosis. Rus. Med. Zhurnal. 2004;5(4):138–40. Russian.
4. **Guseva OG.** The role of structural and functional state of corneal lysosomes in pathogenesis and treatment of chemical eye burns: thesis for Candidate of Med Science: 14.00.08. The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy. Odessa, 1990. 155
5. **Moiseeva NN.** Experimental study of the effect of chlorophyllipt phonophoresis on a chemical burn of the cornea: thesis for Candidate of Med. Science: 14.00.16/ Institute of general pathology and pathologic physiology. Moscow, 1984. 22 p.
6. New methods of biochemical analysis. Izd. Leningradskogo univer. 1991. 395 p.
7. **Panko OM.** Rationale and efficacy of a new antioxidant drug «Erbisol» in severe burns of eyes: thesis for Candidate of Med Science: 14.00.08. The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy. Odessa, 2003. 185 p.
8. **Puchkovskaya NA, Yakimenko SA, Nepomyashchaya VYa.** Eye burns. Moscow: Meditsina; 2001. 272 p.
9. **Rasin OG.** Effectiveness of surfactant active drug miramistin in the treatment of severe chemical eye burns: thesis for Candidate of Med Science: 14.00.08. Crimean State Medical Universiti n/a SI Georgiyevskii. Odessa, 2004, 20 p.
10. **Rebrova OYu.** Statistical analysis of medical data. Application of software package STATISTICA. M.: Media Sfera; 2002. 312 p.
11. **Antia NH.** The soap and water treatment of burns. Natl. Med. J. India. 2001;14: 316–20.
12. **Arqueso P, Balaram M.** Decreased levels of the goblet cell mucin MUC5AC in tears of patients with Sjogren. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2002;43:1004–11.
13. **Barka T, Asbell PA.** Cystatins in human tear fluid. Curr. Eye Res. 1991;10: 25–34
14. **Bergmeyer H U.** Methoden der enzymatischen Analyse. Herausgegeben von **H. U. Bergmeyer.** Berlin;1986. 2198–203.
15. **Brodovsky SC, McCarty CA.** Management of alkali burns. An 11 year retrospective review. Ophthalmol. 2000;107:1829–35.
16. **Crouch RC, Goletz P.** Antioxidant enzymes in human tears. J. Ocul Pharmacol. 1991; 7: 253–8.
17. **Friend J, Hassell JR.** Biochemistry of the cornea In: Kaufman H. E., Barron B. A., McDonalds H. B. eds. The Cornea. New York: Churchill Livingstone. 1998;47–67.
18. **Kuckelkorn R, Schrage N, Keller G.** Emergency treatment of chemical and thermal eye burns. Acta Ophthalmol. Scand. 2002;80:4–10.
19. **Kuizengo A, Haeringen NJ.** Inhibition of hydroxyl radical formation by human tears. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1987;28:305–13.
20. **Seong MC, Kim MJ, Tchah HW.** Chemical burns of the cornea due to soda lime used for line marking on the playground. J. Korean Ophthalmol. Soc. 2005;46:1737–40.
21. **Shirzadeh E.** Bilateral Chemical Burns of the Cornea Due to Limewater: A Specific case. Iran. Red Cresc. Med. J. 2013;15:11–2.
22. **Spurr-Michaud S, Argueso P.** Assay of mucins in human tear fluid. Exp. Eye Res. 2007; 84: 939–50.
23. **Van Haeringen N J.** Clinical Biochemistry of tears. Surv. Ophthalmol. 1981;26:84–96.
24. **Wilson SE, Netto M, Ambrosio R.** Corneal cells: chatty in development, homeostasis, wound healing, and disease. Am. J. Ophthalmol. 2003;136:530–6.

Received 20.03.2014