

КЛИНИКО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 617.72-007.17-053.9-06:617.7-008.954]-008.6-092:[617.749-008.936.6+617.749-008.939.624-097

©Коллектив авторов

УЧАСТИЕ АНГИОТЕНЗИНПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА В ПАТОГЕНЕЗЕ ПОСТКОНТУЗИОННЫХ НАРУШЕНИЙ ОФТАЛЬМОТОНУСА И ГЕМОДИНАМИКИ

БЕНДЕЛИК Е.К., КОСТ О.А.¹, ДОЦЕНКО В.Л., НЕШКОВА Е.А.,
МОШЕТОВА Л.К., ЯРОВАЯ Г.А.

Российская медицинская академия последиplomного образования, 123836,
Москва, Баррикадная, д.2, факс. 945 24 15,
¹МГУ, химический факультет, Москва

Исследования активности ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) у пациентов с контузией глаза показали, что в результате тупой травмы глазного яблока происходит существенное снижение активности этого фермента в слезной жидкости (СЖ) поврежденного глаза по сравнению с контролем, которое наблюдается с первых дней после травмы, и продолжается в течение месяца. Такое значительное уменьшение активности АПФ может пролонгировать действие кининов, что обуславливает длительное снижение тонуса капилляров и сохранение повышенной проницаемости их стенок, создавая условия для эксфузии сосудистой оболочки глаза, сопровождающейся, как правило, офтальмогипотонией. В этих случаях патогенетически обоснованными представляются лечебные мероприятия, направленные на восстановление индуцирующего воздействия глюкокортикоидов на синтез АПФ. Активность АПФ в СЖ парного здорового глаза во всех десяти исследованных случаях была ниже средних контрольных значений.

Ключевые слова: ангиотензинпревращающий фермент, контузия глаза, гидродинамика, гемодинамика

ВВЕДЕНИЕ. Контузии глазного яблока, как правило, сопровождаются нарушениями гемодинамики и офтальмотонуса [1-5]. Одним из ключевых звеньев патогенеза постконтузионного реактивного синдрома является гиперфилльтрация плазматической жидкости из расширенных капилляров сосудистой оболочки на фоне значительного повышения проницаемости их стенок [6]. Исследования регионарного кровообращения у пациентов, перенесших контузию глазного яблока, показали, что в травмированном глазу снижены объемный кровоток, величина и скорость систолического притока крови, тонус сосудов (у 61,9% больных), периферическое сосудистое сопротивление [3]. Реоофтальмографически регистрируемое снижение пульсовой волны в травмированном глазу нередко сохраняется в течение года и более после травмы [1-5]. Такое состояние сосудов в травмированном глазу, расширение капилляров, возрастание

проницаемости их стенок и обусловленные этим клинически наблюдаемые симптомы, прежде всего, эксфузия сосудистой оболочки, помутнение сетчатки можно объяснить действием кининов. Выполненные нами исследования калликреин-кининовой системы (ККС) у больных с контузией глаза [7] показали её активацию в постконтузионном периоде, особенно выраженную в первые дни после травмы. Кинины, брадикинин, в частности, вызывают дилатацию капилляров и повышение тонуса вен, что также было отмечено в случаях тупой травмы глаза [3]. Уровень брадикинина зависит не только от степени активации ККС, но и от активности расщепляющего его ангиотензинпревращающего фермента (АПФ). Известно, что АПФ катализирует отщепление С-концевых дипептидов двух вазоактивных пептидов: брадикинина и ангиотензина I. При этом брадикинин теряет гипотензивный эффект и свойство увеличивать проницаемость сосудистой стенки, а неактивный ангиотензин I превращается в ангиотензин II, стимулирующий освобождение альдостерона и обладающий выраженным вазопрессорным действием [8-11]. Все компоненты ренин-ангиотензиновой системы (РАС) присутствуют в кровяном русле и в тканях, в том числе тканях глазного яблока [12-14]. Отмечено, что уровень АПФ в тканях глаза может превышать уровень этого фермента в плазме крови [9,14-16]. Предполагается участие АПФ и ренин-ангиотензиновой системы в целом в образовании, оттоке внутриглазной влаги и регуляции офтальмотонуса, в патогенезе глаукоматозной экскавации и повреждения зрительного нерва, диабетической пролиферативной ангиоретинопатии, глазного саркоидоза, ожоговой болезни глаз [9-11,15,17,18].

Учитывая эти свойства и особую роль АПФ как связующего звена ККС и РАС организма, было выполнено исследование, целью которого стало изучение активности АПФ у пациентов с контузией глазного яблока.

МЕТОДИКА. Определение активности АПФ проводили в слезной жидкости (СЖ) и сыворотке крови (СК).

Слезу травмированного глаза исследовали в 36 случаях у 22 пациентов (у 14 из них выполнено по 2 исследования в различные сроки) с контузией глазного яблока, в основном средней степени тяжести (15 пациентов). Параллельно в 10 случаях исследовали СЖ парного здорового глаза и в 10 случаях - СК. Группу контроля составили 10 практически здоровых лиц.

Активность АПФ в СЖ и СК определяли по гидролизу специфического синтетического субстрата - N-бензилоксикарбонил-L-фенилаланин-L-гистидил-L-лейцина ("Serva", Германия). Реакцию проводили в присутствии $5 \cdot 10^{-5}$ М раствора вышеназванного субстрата в 0,05 М фосфатном буфере (pH 7,5), содержащем 0,3 М NaCl при температуре 37° С [10]. Образующийся в результате гидролиза продукт Гис-Лей модифицировали о-фталевым альдегидом ("Koch-Light", Великобритания) для образования флюоресцентного аддукта [10,19]. Активность АПФ определяли в расчете на 1,0 мл биологической жидкости и на 1,0 мг белка. О содержании белка в СЖ судили по оптической плотности раствора слезы при длине волны 280 нм.

Для более точной оценки и удобства проведения статистических расчетов тяжесть контузии глазного яблока оценивалась по балльной шкале.

РЕЗУЛЬТАТЫ. В СЖ группы контроля (n = 10) активность АПФ варьировала в пределах 0,465 - 2,0 нмоль/мин·мл (0,052 - 0,381 нмоль/мин·мг), в среднем составив $1,067 \pm 0,176$ нмоль/мин·мл ($0,173 \pm 0,037$ нмоль/мин·мг). Активность АПФ в СЖ травмированного глаза изменялась в пределах 0,037 - 0,783 нмоль/мин·мл и 0,005 - 0,223 нмоль/мин·мг. В 30 случаях активность АПФ в СЖ поврежденного глаза варьировала в интервале 0,037 - 0,405 нмоль/мин·мл и 0,005 - 0,049 нмоль/мин·мг. У 6-ти пациентов с тупой травмой глаза, осложненной кровоизлияниями в переднюю камеру, в стекловидное тело, в сетчатку, помутнением сетчатки, подвывихом хрусталика с вторичной гипертензией, стойкой отслойкой сосудистой оболочки с гипотонией глазного яблока,

разрывом фиброзной оболочки, данный показатель колебался в пределах 0,322 - 0,527 нмоль/минмл и 0,053 - 0,083 нмоль/минмг, т.е. на уровне нижних границ нормы (контроля).

Определение активности АПФ в СЖ травмированного глазного яблока (в нмоль/минмл) у наблюдаемых больных в различные сроки после контузии глаза показало, что её уровень заметно ниже ($p < 0,01$) значений контрольной группы во все периоды исследования (таблица).

В динамике отмечено постепенное снижение данной активности в СЖ поврежденного глаза с $0,3461 \pm 0,0413$ нмоль/минмл - среднего показателя первых 3-х дней - до $0,2122 \pm 0,0575$ нмоль/минмл в конце месяца с несущественным повышением ($0,2793 \pm 0,0512$ нмоль/минмл) активности АПФ в СЖ травмированного глаза через 2 - 3 недели ($0,2202 \pm 0,0775$ нмоль/минмл) (таблица).

Таблица. Активность АПФ в СЖ травмированного глаза в различные сроки после контузии глазного яблока

Контроль (10)	АКТИВНОСТЬ АПФ	
	нмоль/минмл	нмоль/минмг
	$1,067 \pm 0,176$	$0,173 \pm 0,037$
Срок после травмы		
до 3 дней (9)	$0,346 \pm 0,041^{**}$	$0,071 \pm 0,022^{*}$
4-9 день (9)	$0,220 \pm 0,078^{**}$	$0,031 \pm 0,009^{**}$
10-19 день (9)	$0,279 \pm 0,051^{**}$	$0,051 \pm 0,029^{**}$
20-31 день (9)	$0,212 \pm 0,058^{**}$	$0,029 \pm 0,008^{**}$

Примечание: * - различия в сравнении с группой контроля достоверны, $p < 0,05$; ** - различия в сравнении с группой контроля достоверны, $p < 0,01$. В скобках - количество наблюдений

При определении удельной (нмоль/минмг) активности АПФ в СЖ травмированного глаза наблюдались практически идентичные изменения данного показателя в различные сроки с момента контузии глазного яблока. Статистический анализ подтвердил достоверность снижения активности АПФ в сравнении с уровнем группы контроля во все периоды исследования (таблица).

Параллельно определениям активности АПФ в СЖ травмированного глаза в 10 случаях контузий глазного яблока выполнены исследования СЖ парного здорового глаза в различные сроки после травмы. Проведен сравнительный анализ между данными показателями СЖ обоих глаз.

Активность АПФ в СЖ травмированного глаза варьировала в пределах 0,037 - 0,438 нмоль/минмл и 0,012 - 0,074 нмоль/минмг, в среднем составляя $0,242 \pm 0,048$ нмоль/минмл и $0,037 \pm 0,006$ нмоль/минмг. В СЖ парного здорового глаза данный показатель изменялся от 0,225 до 0,5 нмоль/минмл и от 0,028 до 0,061 нмоль/минмг (в среднем $0,3604 \pm 0,0339$ нмоль/минмл и $0,0446 \pm 0,0035$ нмоль/минмг). В 6-ти случаях активность АПФ в СЖ контралатерального интактного глазного яблока (0,225 - 0,372 нмоль/минмл и 0,028 - 0,045 нмоль/минмг), как и её уровень в СЖ поврежденного глаза в 8-ми случаях (0,037 - 0,365 нмоль/минмл и 0,012 - 0,047 нмоль/минмг), не достигал наименьших значений группы контроля. У 4-х пациентов с тупой травмой глазного яблока, осложненной помутнением сетчатки, ретинальными геморрагиями, подвывихом хрусталика, вторичной гипертензией отмечалось колебание данного показателя в СЖ парного здорового глаза в пределах 0,435 - 0,5 нмоль/минмл и 0,052 - 0,061 нмоль/минмг. Такому относительному повышению активности АПФ в СЖ контралатерального интактного глаза у этих 4-х больных лишь в одном случае (контузия с сублюксацией хрусталика и вторичной гипертензией) сопутствовало аналогичное изменение данной активности в СЖ травмированного глаза, составившей 0,438

нмоль/мин/мл и 0,053 нмоль/мин/мг. При проведении статистического сравнительного анализа в данной группе пациентов корреляционных связей между значениями активности АПФ в СЖ травмированного и парного здорового глаза не выявлено, отмечена лишь достоверность (во всех случаях $p < 0,01$) снижения данных показателей по сравнению с контролем (рис. 1,2).

Параллельно определениям активности АПФ в СЖ травмированного глаза у 10 пациентов выполнены исследования данного показателя в СК в различные сроки с момента контузии глазного яблока. Проведен сравнительный анализ этих значений.

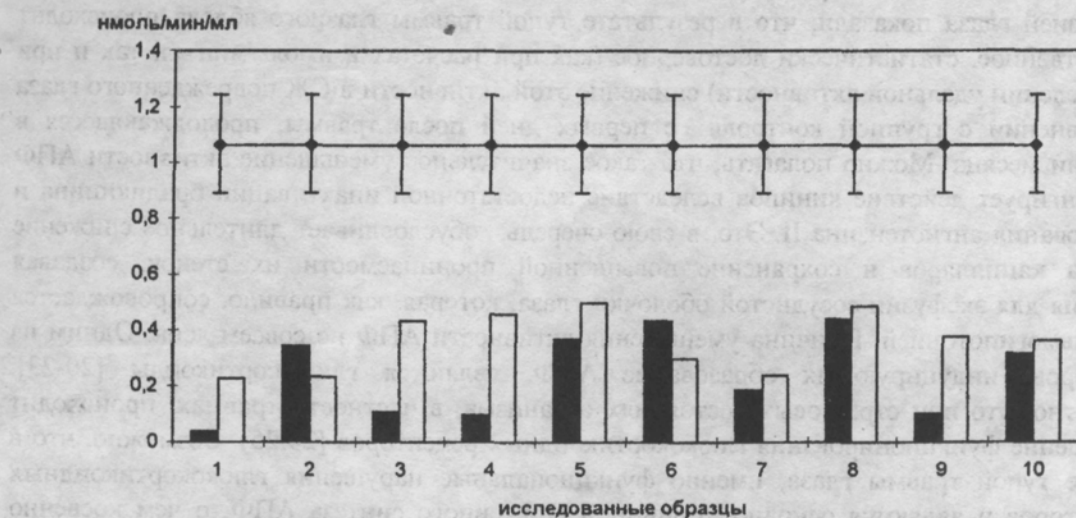


Рисунок 1.

Активность АПФ (нмоль/мин/мл) в СЖ травмированного и парного здорового глаза у пациентов с контузией глазного яблока. ■ - активность АПФ (нмоль/мин/мл) в СЖ травмированного глаза; □ - активность АПФ (нмоль/мин/мл) в СЖ парного здорового глаза; ♦ - активность АПФ (нмоль/мин/мл) в СЖ группы контроля

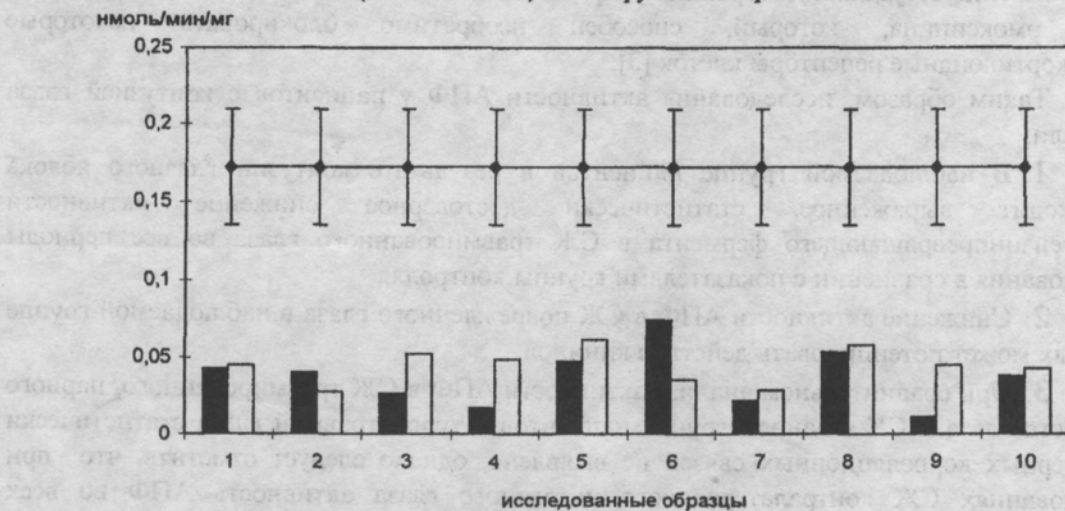


Рисунок 2.

Активность АПФ (нмоль/мин/мг) в СК травмированного и парного здорового глаза у пациентов с контузией глазного яблока. ■ - активность АПФ (нмоль/мин/мг) в СК травмированного глаза; □ - активность АПФ (нмоль/мин/мг) в СК парного здорового глаза; ♦ - активность АПФ (нмоль/мин/мг) в СК группы контроля

Активность АПФ в СК данной группы пациентов находилась в интервале 0,1-12,3 нмоль/мин/мл (в среднем $5,22 \pm 1,352$ нмоль/мин/мл), а в СЖ травмированного

глаза - в пределах $0,037 - 0,52$ нмоль/мин·мл и $0,011 - 0,223$ нмоль/мин·мг, в среднем составив $0,2698 \pm 0,0509$ нмоль/мин·мл и $0,071 \pm 0,0238$ нмоль/мин·мг. Сравнительный анализ активности АПФ в СК и СЖ травмированного глаза (как в нмоль/мин·мл, так и в нмоль/мин·мг) в данной группе пациентов не выявил взаимосвязанных связей.

ОБСУЖДЕНИЕ. Известно, что в результате инактивирования брадикинина и образования ангиотензина II, обладающего выраженным вазопрессорным эффектом, под действием АПФ происходит сужение артериол и устранение тонизирующего воздействия кининов на вены, а следовательно снижение фильтрации плазматической жидкости из сосудов и усиление её реабсорбции. Исследования активности АПФ у пациентов с контузией глаза показали, что в результате тупой травмы глазного яблока происходит существенное, статистически достоверное (как при расчетах в нмоль/мин·мл, так и при определении удельной активности) снижение этой активности в СЖ поврежденного глаза в сравнении с группой контроля с первых дней после травмы, продолжающееся в течении месяца. Можно полагать, что такое значительное уменьшение активности АПФ пролонгирует действие кининов вследствие недостаточной инактивации брадикинина и образования ангиотензина II. Это, в свою очередь, обуславливает длительное снижение тонуса капилляров и сохранение повышенной проницаемости их стенок, создавая условия для эксфузии сосудистой оболочки глаза, которая, как правило, сопровождается офтальмогипотонией. Причина уменьшения активности АПФ не совсем ясна. Одним из факторов, индуцирующих образование АПФ, являются глюкокортикоиды [20-23]. Известно, что при стрессовых состояниях организма, в частности травмах, происходит нарушение функционирования глюкокортикоидных рецепторов [24,25]. Возможно, что в случае тупой травмы глаза, именно функциональные нарушения глюкокортикоидных рецепторов и являются основной причиной сниженного синтеза АПФ, о чем косвенно свидетельствует выявленный нами повышенный уровень кортизола в СЖ травмированного глаза [7]. Исходя из этого, патогенетически обоснованными представляются лечебные мероприятия, направленные на восстановление индуцирующего воздействия глюкокортикоидов на синтез АПФ. В связи с этим особое внимание следует уделять осторожному применению в лечении пациентов с контузией глаза эмоксипина, который, способен необратимо блокировать некоторые глюкокортикоидные рецепторы клеток [3].

Таким образом, исследования активности АПФ у пациентов с контузией глаза показали:

1. В наблюдаемой группе пациентов в результате контузии глазного яблока происходит выраженное, статистически достоверное снижение активности ангиотензинпревращающего фермента в СЖ травмированного глаза во все периоды исследования в сравнении с показателями группы контроля.

2. Снижение активности АПФ в СЖ поврежденного глаза в наблюдаемой группе больных может потенцировать действие кининов.

3. При сравнительном анализе активности АПФ в СЖ травмированного, парного здорового глаза и СК в данной группе пациентов с тупой травмой глаза статистически достоверных корреляционных связей не выявлено, однако следует отметить, что при исследованиях СЖ контралатерального интактного глаза активность АПФ во всех случаях была ниже средних контрольных значений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Валькова И.В. (1988) Тупая травма глаза. Рига, 96.
2. Гундорова Р.А., Петропавловская Г.А. (1975) Проникающие ранения и контузии глаза. М., Медицина, 311.

3. Лазаренко В.И., Алексеева Г.Ф., Ильенков С.С. и др. (1998) Лечение постконтузионных интраокулярных нарушений с учетом функционального состояния сосудов глаза. Метод. пособие, Красноярск, 12.
4. Dou H.L., Song C. (1992) *Chung-Hua Yen Ko Tsa Chih*, 28, 4, 243-245.
5. Duke-Elder W.S. (1956) *Text-Book of Ophthalmology*. London, 7.
6. Самойлов А.Я. (1950) Ретинальный отек при заболеваниях глаза. М., издат. АМН СССР, 136.
7. Бенделик Е.К., Мошетова Л.К., Яровая Г.А. и др. (1998) Клинико-биохимические исследования постконтузионных процессов и патогенетическое обоснование комплекса оптимальных лечебных мер у пациентов с контузией глаза. Пособие для врачей. М., 14.
8. Елисеева Ю.Е., Орехович В.Н., Павлихина Л.В. (1976) *Вопр. мед. химии*, 1, 81-89.
9. Койович В., Игич Р. (1984) *Вестн. офтальмол.*, 2, 53-56.
10. Кост О.А., Чеснокова Н.Б., Кузнецова Т.П. (1996) *Вопр. мед. химии*, 42, 2.
11. Van Haeringer N.J. (1996) *British J. Ophthalmol.*, 80, 99-100.
12. Brandt C.R., Pumfery A.M., Micales B. et al. (1994) *Curr. Eye Res.*, 13, 755-763.
13. Wagner J., Danser A.H.J., Derkx F.H.M et al. (1996) *British J. Ophthalmol.*, 80, 159-163.
14. Wallow I.H.L., Sramec S.J., Bindley C.D. et al. (1993) *Curr. Eye. Res.*, 12, 945-950.
15. Ельский В.Н., Евтушенко В.А. (1996) *Офтальм. журн.*, 4, 244-247.
16. Sramec S.J., Wallow I.H.L., Day R.P., Ehrlich E.N. (1988) *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 29, 1749-1752.
17. Goel A.K., Jabbour N.M. (1991) *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 32, 1027.
18. Sharma O.P., Brasil-Vita J. (1983) *Arch. Ophthalmol.*, 101, 559-561.
19. Павлихина Л.В., Елисеева Ю.Е., Поздnev В.Ф., Орехович В.Н. (1977) *Современные методы в биохимии*, М., Медицина, 147-151.
20. Голиков П.П. (1992) *Вестн. РАМН*, 3, 8-12.
21. Friedland J., Setton C., Silverstein E. (1977) *Scienze*, 197, 64-65.
22. Ialenti A., Calignano A., Carnuccio R., Di Rosa M. (1985) *Agents and actions*, 17, 3/4, 294-295.
23. Mendelsohn E.A.O., Lloyd C.J., Kachel C., Funder J.W. (1982) *J. Clin. Invest.*, 70, 684-692.
24. Голиков П.П., Кожжевникова Л.М., Николаева Н.Ю. и др. (1997) *Вопр. мед. химии*, вып. 43, 3, 8-12.
25. Stalcup S.A., Lipset J.S., Woan J.M. et al. (1985) *J. Clin. Invest.*, 75, 1745.

Поступила 17.12.98.

ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME ACTIVITY AND ITS ROLE IN THE PATHOGENESIS OF HYDRODYNAMICS AND HEMODYNAMICS DISTURBANCES AFTER CONTUSION INJURY OF THE EYE.

BENDELIC E.C., KOST O.A.¹, DOTSENKO V.L., NESHKOVA E.A., MOSHETOVA L.C., YAROVAYA G.A.

Russian Medical Academy for Postgraduate Education, Barrikadnaya, 2, Moscow 123836, Russia,
fax 945 24 15; ¹Moscow State University, Chemistry Department.

Angiotensin converting enzyme (ACE) activity was studied in tear fluid of the contusion injured eye. We found substantial decrease of ACE activity during 1 month after trauma. Reduced ACE activity can potentiate kinin action and may contribute to the maintenance of reduced vascular tone, high capillary permeability inducing ciliochoroidal effusion which leads to ocular hypotony. We have found decrease of ACE activity in another healthy eye.

Keywords: angiotensin converting enzyme, eye contusion injury, hydrodynamics, hemodynamics.