

СРАВНЕНИЕ АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ СЫВОРОТОЧНЫХ ФЕРМЕНТОВ В СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ ПАЦИЕНТОВ С ВОЗРАСТНОЙ И ДИАБЕТИЧЕСКОЙ КАТАРАКТОЙ

Алуи Х., Рамазанова Л.Ш., Скандрари М., Шамратов Р.З., Коханов А.В.

ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет Минздрава России», Астрахань, e-mail: agma@astranet.ru

Катаракта является одной из причин слабости зрения и слепоты. Среди больных катарактой наибольший удельный вес (76–80%) составляют лица пенсионного возраста. У больных с возрастной и диабетической катарактой одновременно в сыворотке крови (СК) и слезной жидкости (СЖ) проведено сравнительное изучение активности шести наиболее значимых при сахарном диабете (СД) ферментов. Изучены образцы сыворотки крови и слезной жидкости 20 пациентов с диабетической катарактой, 18 пациентов пожилого возраста с катарактой без клиники сахарного диабета (СД) и 12 студентов-волонтеров. В СЖ и СК изучали активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаргатаминотрансферазы (АСТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), γ -глутамилтранспептидазы (ГГТП), щелочной фосфатазы (ЩФ), лизоцима (ЛЗЦ). Из шести изученных ферментов слезной жидкости наибольшую ценность в дифференциальной диагностике возрастной и диабетической катаракты представляют ЛДГ, ЛЗЦ и ЩФ. Причем для лактатдегидрогеназы и лизоцима обнаружены концентрации в слезной жидкости, превышающие их уровни в сыворотке крови. Важнейшим ферментом энергетического метаболизма в слезной жидкости является лактатдегидрогеназа, ответственная за анаэробное преобразование пирувата в лактат. Результаты сравнения сыровоточных уровней лизоцима с уровнями этого фермента в слезной жидкости у больных с возрастной и диабетической катарактой подтвердили факт снижения концентрации лизоцима в слезах, связанный и с возрастом, и с сахарным диабетом. Полученные результаты исследования наиболее значимых ферментов слезной жидкости у больных с диабетической катарактой могут повысить эффективность диагностики и лечения нарушений катарактогенеза.

Ключевые слова: возрастная и диабетическая катаракта, ферменты, изучение в крови и слезной жидкости.

COMPARISON OF THE ACTIVITY OF SOME SERUM ENZYMES IN TEAR FLUID OF PATIENTS WITH AGE-RELATED AND DIABETIC CATARACT

Alui H., Ramazanova L.Sh., Skandrari M., Shamratov R.Z., Kokhanov A.V.

Astrakhan State Medical University, Astrakhan, e-mail: agma@astranet.ru

Cataract is one of the causes of low vision and blindness. Among patients with cataracts, the largest share (76–80%) is made up of people of retirement age. In patients with age-related and diabetic cataracts, a comparative study of the activity of the six most significant enzymes in diabetes mellitus (DM) was carried out simultaneously in the blood serum and lacrimal fluid. The samples of blood serum and lacrimal fluid of 20 patients with diabetic cataract, 18 elderly patients with cataract without diabetes mellitus (DM) and 12 student volunteers were studied. The activities of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH), γ -glutamyl transpeptidase (GGTP), alkaline phosphatase (ALP), and lysozyme were studied in lacrimal fluid and serum. Of the six lacrimal fluid enzymes studied, the most valuable in the differential diagnosis of age-related and diabetic cataracts are LDH, lysozyme and ALP. Moreover, for lactate dehydrogenase and lysozyme, concentrations in the lacrimal fluid were found to exceed their levels in blood serum. The most important enzyme of energy metabolism in tear fluid is lactate dehydrogenase, which is responsible for the anaerobic conversion of pyruvate to lactate. The results of comparison of serum levels of lysozyme with the levels of this enzyme in the lacrimal fluid in patients with age-related and diabetic cataracts confirmed the fact of a decrease in the concentration of lysozyme in tears, associated with both age and diabetes mellitus. The obtained results of the study of the most significant enzymes of the lacrimal fluid in patients with diabetic cataracts can improve the efficiency of diagnosis and treatment of cataractogenesis disorders.

Keywords: age-related and diabetic cataract, enzymes, study in blood and lacrimal fluid.

Катаракта, помутнение хрусталика, является одной из причин слабости зрения и слепоты. Удельный вес катаракты, по данным ВОЗ, составляет 47% от общего числа глазной заболеваемости. Среди больных катарактой наибольший удельный вес (76–80%) составляют

лица пенсионного возраста. В то же время наметилась четкая тенденция к увеличению числа больных в группе трудоспособного возраста [1; 2]. В настоящее время ведущим методом лечения катаракты, в том числе диабетической катаракты, является радикальный – это хирургическое удаление помутневшего хрусталика различными способами, преимущественно заканчивающимися имплантацией интраокулярной линзы [3]. Хирургия катаракты составляет наибольший объем работы любой офтальмохирургической клиники. Однако потребности населения в данной операции намного опережают имеющиеся возможности офтальмохирургических клиник. В связи с этим нередко пациентам приходится ожидать своей очереди на хирургическое вмешательство немалый срок.

Катаракта является единственным заболеванием в офтальмологии, которое наглядно демонстрирует наличие дисбаланса системы антиоксидантной защиты, что проявляется развитием помутнения хрусталика и снижением остроты зрения. Увеличение содержания активных форм кислорода стимулирует продукцию ферментов-антиоксидантов [4; 5]. Тем не менее патофизиологические процессы начала этого заболевания еще далеко не полностью установлены, и во всем мире продолжается изучение механизмов развития катаракты. Ведь знание этапов патогенеза возникновения возрастной катаракты необходимо для разработки эффективной медикаментозной терапии [6; 7].

Помимо того что слезы служат для выражения эмоционального состояния человека, они выполняют и другие важные функции: смазывают и смачивают роговицу и веки, увлажняют и задерживают испарение влаги, выступают в качестве заменителя крови для роговой оболочки, транспортируют кислород и углекислый газ и играют центральную роль в поддержании нормального функционирования клеток глазной поверхности и конъюнктивы [5; 8]. В состав слезной жидкости (СЖ) входят различные по генезу вещества, такие как иммуноглобулины (А, G, М, Е), фракции комплемента, лизоцим, лактоферрин, трансферрин, представители различных ферментативных групп, некоторые компоненты системы гемостаза, а также ряд продуктов углеводного, белкового, жирового и минерального обмена тканей [9-11].

Ферменты, содержащиеся в слезной жидкости, подразделяются на четыре основные группы: лизоцим, коллагеназы, система плазмин–антиплазмин, ферменты клеточного метаболизма. Одни ферменты входят в состав секрета слезных желез, другие секретируются или экскретируются эпителиальными клетками роговой оболочки и конъюнктивы. Наконец, несколько ферментов поступают из плазмы и появляются в слезной жидкости только в случаях увеличенной проницаемости сосудов конъюнктивы [12; 13].

Слезная жидкость человека обладает мощной системой антибактериальной защиты, включающей в себя такие компоненты, как комплемент, лизоцим, дефензины, лактоферрин и некоторые ферменты [12; 14].

Изучение содержания этих белков и ферментов в слезной жидкости больных с диабетической катарактой является актуальной задачей офтальмологии.

Цель исследования – сравнить активность шести наиболее значимых при сахарном диабете ферментов в сыворотке крови и слезной жидкости у больных с возрастной и диабетической катарактой.

Материалы и методы исследования. Объектом нашего исследования являлись образцы слезной жидкости и сыворотки крови 20 больных с диабетической катарактой на фоне сахарного диабета II типа (10 мужчин и 10 женщин в возрасте от 65 до 86 лет) и 18 больных аналогичного возраста без подтвержденного сахарного диабета (8 мужчин и 10 женщин в возрасте от 68 до 83 лет), направленных на оперативное лечение катаракты в отделение лазерной хирургии Государственного учреждения здравоохранения «Александро-Мариинская областная клиническая больница», а также 12 студентов-волонтеров (практически здоровых людей, не имеющих глазных болезней).

Исследование проведено на основании разрешения локального этического комитета Астраханского ГМУ № 4 от 19.05.2022 года и информированного согласия всех пациентов на использование данных обследования в научных целях.

Всем пациентам проводили стандартное офтальмологическое обследование. Забор слезной жидкости (СЖ) без дополнительной стимуляции проводили в утренние часы до выполнения лечебных и диагностических процедур с помощью канюли МНТК микрохирургии глаза, которая помещалась в нижний свод конъюнктивального мешка. Одновременно методом венепункции забирали кровь из локтевой вены. Сыворотку крови (СК) получали путем центрифугирования крови при 3000 об./мин. на центрифуге ОПН-3. Аликвоты СЖ и СК замораживали и хранили в пластиковых пробирках типа «Эппендорф» при $t = -20\text{ }^{\circ}\text{C}$ не более 3 месяцев до выполнения исследования.

В СЖ и СК изучали активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП), щелочной фосфатазы (ЩФ), лизоцима (ЛЗЦ). Активность всех ферментов, кроме лизоцима, в крови и слезной жидкости определяли на биохимическом анализаторе Microlab с набором реагентов (Vitalab, Нидерланды). Содержание лизоцима в образцах сывороток и слезной жидкости определяли модифицированным методом иммунодиффузионного анализа [15]. Суть метода состоит в способности ЛЗЦ растворять культуру убитых ацетоном бактерий *Micrococcus Lysodecticus*, помещенных в агаровый гель.

Учитывая полное различие групп по возрасту, заболеванию и осложнению, их сравнение возможно только по непараметрическим показателям. Поэтому статистика изучаемых параметров между сравниваемыми группами представлена медианой и межквартильным интервалом между 25-м и 75-м квартилями, а сравнение выборок проводилось с помощью U-критерия Манна – Уитни с критическим уровнем значимости при $p < 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение. Обе группы больных с возрастной и диабетической катарактой включали пациентов от 65 до 83 лет и были сопоставимы по возрасту и полу, о чем свидетельствует таблица 1. Контролем служили образцы крови и слезной жидкости 12 студентов-волонтеров.

Средний возраст в контрольной группе студентов-волонтеров составил $22,4 \pm 0,83$ года ($22,4 \pm 1,32$ для мужчин и $22,4 \pm 0,93$ для женщин). В группе пациентов с катарактой на фоне диабета II типа средний возраст составил $74,6 \pm 1,15$ года ($74,8 \pm 1,82$ и $74,4 \pm 1,51$), в группе пациентов с возрастной катарактой без подтвержденного диабета – $74,6 \pm 1,08$ года ($74,8 \pm 1,60$ и $74,5 \pm 1,54$ соответственно). Таким образом, контрольная группа статистически достоверно ($p < 0,05$) отличается от обеих групп пациентов с катарактой, а группы пациентов с диабетической и возрастной катарактой полностью сопоставимы между собой по полу и возрасту (табл. 1).

Таблица 1

Распределение обследованных больных с возрастной и диабетической катарактой по возрасту и полу

Группы пациентов	Возраст (лет)				Пол	
	20-30	61-70	71-80	Старше 80	М	Ж
Контрольная группа – студенты-волонтеры (n=12)	12	-	-	-	7	5
Катаракта на фоне диабета II типа (n=20)	-	4	13	3	10	10
Возрастная катаракта без клиники диабета (n=18)	-	2	14	2	8	10
Всего обследованных (n=50)	12	6	27	5	25	25

Проведено сравнительное изучение активности шести наиболее значимых при сахарном диабете (СД) ферментов одновременно в сыворотке крови (СК) и слезной жидкости (СЖ). При изучении значений четырех из шести ферментов в СК установлено их существенное снижение при возрастной и диабетической катаракте (табл. 2).

Так, например, активность АЛТ при возрастной катаракте снижается до 78,6% от значений в контрольной группе, а в группе пациентов с диабетической катарактой эти цифры опускаются еще ниже, до 67,3% от контрольных значений. Аналогичная тенденция в сыворотке крови наблюдается и для фермента АСТ: 72,4% от контроля при возрастной катаракте и 63,2% от контроля – при диабетической. Еще более сильное снижение характерно для ЩФ: до 68,3% от контроля при возрастной катаракте и 64,4% от контроля – при диабетической. И максимальное снижение относительно контрольной группы выявлено для ЛДГ: до 66,0% при возрастной катаракте и до 59,9% – при диабетической. Для всех четырех ферментов различия с контрольной группой статистически значимы ($p < 0,05$).

Для остальных двух ферментов влияние возраста на уменьшение сывороточных значений относительно контроля в двух группах пациентов с катарактой было статистически несущественным (до 99,3% от контроля для ГТП и до 90,2% – для ЛЗЦ). Однако для ЛЗЦ в сыворотке крови сохраняются достоверные отличия ($p < 0,05$) группы пациентов с диабетической катарактой от контрольной группы (68,6%). А для ГТП в сыворотке крови различий между группами контроля, диабетической и возрастной катарактой не установлено (табл. 2).

В силу особенностей обмена веществ биохимический состав слезной жидкости (СЖ) существенно отличается от сыворотки крови (СК), что и подтверждено в нашем исследовании. Для четырех ферментов АЛТ, АСТ, ГТП и ЩФ их активность в слезной жидкости значительно ниже их значений в сыворотке крови и статистически достоверно от них отличается ($p < 0,05$). Наоборот, для лактатдегидрогеназы и лизоцима в слезной жидкости во всех группах обнаружены значения активности ферментов, превосходящие их же сывороточные уровни, причем для ЛЗЦ статистически достоверно ($p < 0,05$).

Установлено, что в слезной жидкости в контрольной группе активность АЛТ и ЩФ составляла только 7,1% и 6,9% от их же сывороточных уровней, для фермента АСТ – 5,6% и для ГТП – только 3,9% от сывороточных значений. Однако если активность АЛТ при возрастной катаракте (ВК) составляет от контроля только 6,4%, то от сывороточного уровня в группе ВК – на 8,1%. При диабетической катаракте (ДК) активность АЛТ также составляет 5,8% от контрольной группы, но по сравнению с сывороточными уровнями в группе ДК возрастает до 8,6%.

Активность АСТ при ВК составляет 5,2% от уровня СК в контрольной группе и 7,2% относительно группы ВК. Активность АСТ при ДК также составляет 4,9% от уровня в контрольной группе и 7,7% относительно группы ДК. Активность ЛДГ при ВК составляет 100,5% от уровня СК в контрольной группе и 152,3% относительно группы ВК. Активность ЛДГ при ДК также составляет 84,8% от уровня в контрольной группе и 141,5% относительно

группы ДК. Активность ГГТП при ВК составляет 3,2% от уровня СК в контрольной группе и столько же относительно группы ВК. Активность ГГТП при ДК также составляет 4,9% от уровня в контрольной группе и 4,8% относительно группы ДК.

Таблица 2

Активность изученных ферментов в сыворотке крови и слезной жидкости больных с возрастной и диабетической катарактой

Фермент	Активность фермента, Ме (Q25; Q75) в МЕ/л и в % к контролю					
	Контроль, n=12		Диабетическая катаракта СД II типа, n=20		Возрастная катаракта без клиники СД, n=18	
	Сыворотка крови	Слезная жидкость	Сыворотка крови	Слезная жидкость	Сыворотка крови	Слезная жидкость
АЛТ, МЕ/л	14,02 (12,57;16,25) 100%	0,99 (0,88;1,12) 7,1%	9,42 (6,93;11,30) 67,3% p=0,0007*	0,81 (0,46;1,01) 5,8% 8,6% p=0,074	11,00 (8,23;14,19) 78,6% p=0,022* p=0,313	0,89 (0,51;1,06) 6,4% 8,1% p=0,117 p=0,816
АСТ, МЕ/л	18,50 (15,52;20,94) 100%	1,04 (0,95;1,37) 5,6%	11,74 (9,26;14,30) 63,2% p=0,0002*	0,90 (0,62;1,23) 4,9% 7,7% p=0,116	13,38 (10,63;15,39) 72,4% p=0,0041* p=0,313	0,96 (0,65;1,42) 5,2% 7,2% p=0,706 p=0,416
ЛДГ, МЕ/л	197 (120;240) 100%	213 (173;317) 108,1%	118 (56;161) 59,9% p=0,0124*	167 (68;241) 84,8% 141,5% p=0,058	130 (82;175) 66,0% p=0,064 p=0,398	198 (123;251) 100,5% 152,3% p=0,266 p=0,296
ГГТП, МЕ/л	4,07 (3,23;5,07) 100%	0,16 (0,11;0,20) 3,9%	4,17 (2,37;5,30) 102,5% p=0,828	0,20 (0,13;0,25) 4,9% 4,8% p=0,158	4,04 (2,83;4,55) 99,3% p=0,523 p=0,664	0,13 (0,07;0,22) 3,2% 3,2% p=0,733 p=0,086
ЩФ, МЕ/л	179,8 (154,7;200,9) 100%	12,5 (11,1;16,2) 6,9%	115,5 (90,2;144,9) 64,4% p=0,0004*	3,5 (2,9;4,1) 1,9% 3,0% p<0,0001*	123,0 (100,4;165,8) 68,3% p=0,004* p=0,525	3,3 (3,0;4,4) 1,9% 2,7% p<0,0001* p=0,829
ЛЗЦ, мг/мл	1,02 (0,83;1,25) 100%	1,63 (1,44;2,13) 159,8%	0,70 (0,40;0,98) 68,6% p=0,034*	1,17 (0,85;1,58) 114,7% 167,1% p=0,055	0,92 (0,49;1,30) 90,2% p=0,472 p=0,253	1,44 (1,09;2,01) 141,2% 156,5% p=0,330 p=0,244

Примечание. * – выделены статистически значимые различия с контрольной группой.

Активность ЩФ при ВК составляет 1,9% от уровня СК в контрольной группе и 2,7% относительно группы ВК. Активность ЩФ при ДК также составляет 1,9% от уровня в контрольной группе и 3,0% относительно группы ДК.

Активность ЛЗЦ при ВК составляет 141,2% от уровня СК в контрольной группе и 156,5% относительно группы ВК. Активность ЛЗЦ при ДК также составляет 114,7% от уровня в контрольной группе и 167,1% относительно группы ДК.

Таким образом, в слезной жидкости в группе пациентов с возрастной и диабетической катарактой достоверные различия с контрольной группой обнаружены только для ЩФ ($p < 0,05$).

При изучении различий между СК и СЖ в группе пациентов с возрастной катарактой установлены статистически достоверные различия по всем шести изученным ферментам ($p < 0,05$), а у пациентов с диабетической катарактой установлены статистически достоверные различия между СК и СЖ по всем пяти ферментам ($p < 0,05$), кроме ЛДГ.

Таким образом, охарактеризован биохимический профиль слезной жидкости больных с возрастной и диабетической катарактой. Определены нормативные значения ряда используемых в клинической биохимии показателей: активности аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы, лактатдегидрогеназы, гамма-глутамилтранспептидазы, щелочной фосфатазы, лизоцима.

Из шести изученных ферментов слезной жидкости наибольшую ценность в дифференциальной диагностике возрастной и диабетической катаракты представляют ЛДГ, ЛЗЦ и ЩФ. Причем для лактатдегидрогеназы и лизоцима обнаружены концентрации в слезной жидкости, превышающие их уровни в сыворотке крови.

Выводы

С возрастом при катаракте, особенно на фоне сахарного диабета, изменяются уровни ключевых ферментов не только углеводного обмена, но и ферментов многих других метаболических процессов. У пожилых пациентов с катарактой активность наиболее значимых при сахарном диабете ферментов целесообразно сравнивать одновременно в сыворотке крови и слезной жидкости. Проведено изучение активности шести ферментов у пациентов с возрастной и диабетической катарактой. За исключением ЛЗЦ и ЛДГ, активность остальных исследованных ферментов в слезной жидкости значительно ниже, чем в сыворотке крови. Важнейшим ферментом энергетического метаболизма в слезной жидкости является лактатдегидрогеназа, ответственная за анаэробное преобразование пирувата в лактат. Результаты сравнения сывороточных уровней лизоцима с уровнями этого фермента в слезной жидкости у больных с возрастной и диабетической катарактой подтвердили факт снижения концентрации лизоцима в слезах, связанный и с возрастом, и с

сахарным диабетом. Полученные результаты исследования наиболее значимых ферментов слезной жидкости у больных с возрастной и диабетической катарактой могут повысить эффективность диагностики и лечения нарушений катарактогенеза.

Список литературы

1. Павлов Б.В., Зеленева Ю.В. Осложнения при сахарном диабете // Тенденции развития науки и образования. 2017. № 28-2. С. 23-27.
2. Kiziltoprak H., Tekin K., Inanc M., Sakir Goker Y. Cataract in diabetes mellitus. World J. Diabetes. 2019. Vol. 10. P. 140-153.
3. Копаева В.Г., Узунян Д.Г., Пыцкая Н.В. «Энергетическая» хирургия катаракты при сахарном диабете // Вестник офтальмологии. 2008. № 2. С. 24-27.
4. Затрудина Р.Ш., Ивина К.С., Марусин Н.В. Современные методы диагностики катаракты на ранней стадии развития // Вестник ВолГУ. 2012. № 6. С. 62-67.
5. Земсков А.М., Ковалевская М.А., Донкарева О.В., Филина Л.А., Ведринцева Н.В. Влияние окислительного стресса на течение послеоперационного периода хирургии диабетической катаракты // Российский иммунологический журнал. 2017. Т. 11 (20). № 2. С. 324-330.
6. Балашевич Л.И., Измайлов А.С. Катаракта у больных диабетом. Классификация и частота // Российская офтальмология онлайн: сетевой журнал. 2013. № 10. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.eyepress.ru/article.aspx?114969> (дата обращения: 10.02.2023).
7. Šimunović M., Paradžik M., Škrabić R., Unić I., Vućan K. Cataract as early ocular complication in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. Int. J. Endocrinol. 2018. Vol. 1. P. 1-6. DOI: 10.1155/2018/6763586.
8. Назирова З.Р., Туракулова Д.М. Концентрация иммуноглобулинов и коагуляционная активность слезной жидкости в развитии аллергических заболеваний глаз у детей // Молодой ученый. 2016. № 11. С. 1164-1166.
9. Коханов А.В., Серебряков А.А., Николаев А.А. Уропротеины с антибактериальными свойствами: клинико-диагностическое значение // Астраханский медицинский журнал. 2020. № 3. С. 32-47.
10. Мальцева Н.В., Лыкова О.Ф., Мельниченко М.А., Архипова С.В., Онищенко А.Л. Зависимость содержания иммуноглобулинов IgA и IgE в слезной жидкости от полиморфизмов гена глутатион-S-трансферазы-P1 у металлургов с офтальмопатологией // Медицинская иммунология. 2011. Т. 13. № 6. С. 23-26.

11. Мусатов О.В., Зурнаджан С.А., Коханов А.В. Активность щелочной фосфатазы сыворотки крови в зависимости от вида операции при ранах печени, селезенки и почки в эксперименте // Астраханский медицинский журнал. 2017. Т. 12. № 2. С. 63-69.
12. Zhou L., Beuerman R.W. Tear analysis in ocular surface diseases. *Prog Retin Eye Res.* 2012. Vol. 31. no 6. P. 527–550.
13. Яровая Г.А., Нешкова Е.А., Мошетова Л.К. Молекулярные маркеры протеолиза слезной жидкости при сосудистых заболеваниях глаза // Аллергология и иммунология. 2017. Т. 18. № 3. С. 189.
14. Коханов А.В., Ямпольская И.С., Бисалиева Р.А., Мамиев О.Б., Мяснянкин А.А. Пять параметров фермента щелочной фосфатазы в сыворотках крови беременных женщин и их значение для диагностики плацентарной недостаточности // Фундаментальные исследования. 2014. № 10-8. С. 1509-1513.
15. Мусатов О.В., Зурнаджан С.А., Коханов А.В. Динамика индикаторных ферментов сыворотки крови в зависимости от видов операций при разрыве почки в эксперименте // Экспериментальная и клиническая урология. 2014. № 1. С. 16–19.