

Винахід, який заявляється, стосується галузі медицини, а саме офтальмології. Він призначений для оцінки метаболічних порушень в оці при розвитку вікової катаракти (ВК).

У структурі захворювань ока постійно зростає питома вага патології кришталика. Найбільш поширеною нозологічною формою у цій групі захворювань є ВК.

Провідним фактором, що обумовлює виникнення ВК, є формування глибоких метаболічних змін не тільки у кришталику, а і в оці в цілому. Одним із показників порушення метаболічного стану ока хворих на ВК є порушення обміну ліпідів [8]. Є переконливі докази, які підтверджують роль ліпідів у забезпеченні функцій біологічних мембран (БМ) [7]. Руйнування БМ клітин і порушення їх функцій при ВК відомо. Найбільш важливим процесом, що порушує БМ, є процес перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) [3]. Саме цей процес розглядається в якості молекулярного механізму, який руйнує БМ при ВК. Основним субстратом процесу ПОЛ є поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК) [2]. Від нормального вмісту цих кислот залежить виконання БМ їх функцій. Пошкодження жирних кислот (ЖК) у процесі ПОЛ негативним чином відзначається на всіх функціях БМ. Наслідком активації процесу ПОЛ є адаптивна перебудова структури ліпідного шару БМ зі зміною співвідношення ЖК у напрямку зниження концентрації ПНЖК. Таким чином, порушення стану ліпідного обміну при ВК може розглядатися як інтегральний показник, що характеризує метаболічні зміни в оці.

Існуючи способи оцінки метаболічних порушень при розвитку ВК засновані на вивченні їх у крові, кришталику та волюги передньої камери ока [1; 5]. Ці способи є інвазивними і не можуть бути рекомендовані у широку практику.

Найбільш близьким до запропонованого способу, обраного за прототип є спосіб оцінки метаболічних порушень в оці шляхом визначення вмісту білка та амінокислотного складу електроеліміната з ока [6]. Однак, вказаний спосіб дозволяє охарактеризувати лише ступень запалення в оці і застосовувався при вивченні запальних процесів. Формування ВК є наслідком змін цілого комплексу метаболічних факторів.

Завдання, яке вирішується у даному винаході, полягає у створенні способу оцінки метаболічних порушень в оці при ВК шляхом визначення показників, що дають інтегральну оцінку механізмів гомеостазу в елімініаті з ока.

Технічний результат, що досягається, полягає у можливості кількісної оцінки метаболічних порушень в оці при віковій катаракти, що сприяє підвищенню ефективності діагностики ВК на ранніх стадіях її виникнення.

Поставлена задача вирішується тим, що у відомому способі, який включає дослідження жирно-кислотного складу ліпідів в елімініаті з ока хворих, згідно винаходу, методом газо-рідинної хроматографії визначають кількість олеїнової жирної кислоти та поліненасичених жирних кислот в елімініаті з ока хворого та розраховують їх співвідношення по відношенню до контрольної групи по формулі:

$KNN = C18:1 / ПНЖ$, де

KNN - коефіцієнт ненасиченості ліпідів,

C 18:1 - олеїнова кислота,

ПНЖ - поліненасичені жирні кислоти

і при зростанні коефіцієнта ненасиченості ліпідів оцінюють ступень метаболічних порушень в оці.

Спосіб оцінки глибини метаболічних порушень в оці при ВК здійснюється наступним чином. Для цього ваночку, об'ємом 20 куб.см, заповнюють підігрітою до 28-30° дистильованою водою і підводять до відкритого ока пацієнта так, щоб вода контактувала з очним яблуком. На оці встановлюють анод і за допомогою приладу "Поток-1" напротязі 15 хвилин через око пропускають струм силою у 1-1,5мА.

Після цього 15мл елімінату поміщають у пробірку, додають 5мл хлороформ-метанольної суміші (співвідношення 2:1) і витримують у холодильнику напротязі 30 хвилин при температурі +4° по Цельсію.

Після цього фільтрують у пробірку об'ємом 10мл з додаванням 1мл дистильованої води для кращого розділення фаз. Для аналізу відбирають хлороформну нижню фазу, яка містить ліпіди. А верхня метанольна фаза містить білки.

Хлороформні екстракти випарюють досуху в потоці азоту при температурі 45° на водяній бані. Сухий осад ліпідів з'єднують з 5 мл розчину 1% сірчаної кислоти (H₂SO₄) у метанолі і вміщують в ампули, які запаювали. Потім проводять гідроліз і метілювання в термостаті при температурі 85° на протязі 20 хвилин. Екстракцію метілюваних ЖК проводять двічі гексан-ефірною сумішшю (співвідношення 1:1) в кількості 5 мл. Об'єднані екстракти випарюють в потоці азоту при 40° по Цельсію на водяній бані і сухий осад розчинюють в 40,0-50,0мкл чистого гексану і вводять у випарювач хроматографа в кількості 5мкл.

Для визначення спектру ЖК ліпідів використовують скляну колонку хроматографа, заповнену фазою 5% ПЕГС на хроматоні N-AW-HMDS (зерніння 0,125-0,160мм), температура колонки - 184° по Цельсію, а випарювача - 250° по Цельсію, швидкість діаграмної стрічки 240мм/г, тривалість аналізу 20 хвилин.

Кількісну оцінку спектру ЖК ліпідів проводять за методом нормування площ, з визначенням частки ЖК у відсотках [4].

Протягом 1997-2000 років у міській клінічній лікарні "Центр мікрохірургії ока" м.Києва було здійснено обстеження і лікування 200 хворих на ВК різного ступеня зрілості та 64 пацієнта з прозорими кришталиками. Результати визначення показників метаболізму в елімініаті з ока представлені у таблиці 1.

Таблиця 1

Показники метаболізму ока (%)

Назва показника	Групи спостереження	
	Пацієнти з прозорими кришталиками	Хворі на вікову катаракту
Олеїнова ЖК (C18:1)	20,5±1,5	26,6±1,1*
ПНЖК	19,0±1,4	11,3±0,8*

- вірогідність відмінностей з показниками пацієнтів з прозорими кришталиками (p<0,05)

Аналіз результатів дослідження з використанням методів статистичного аналізу свідчить про те, що у хворих на ВК виявлені значні порушення метаболізму ліпідів в елімінаці з ока порівняно з пацієнтами, які мають прозорі кришталики. Вказані зміни проявляються вірогідним підвищенням концентрації олеїнової ЖК (С18:1) до 26,6% і вірогідним зниженням концентрації ПНЖК до 11,3% у хворих на ВК порівняно з пацієнтами, які мали прозорі кришталики. Виявлені зміни співвідношення ЖК ліпідів в елімінаці свідчать про те, що при ВК посилюється процес ПОЛ в оці і вже на початку її розвитку включаються компенсаторно-захисні механізми.

Статистичний аналіз результатів дослідження дозволив визначити межі значень показників у групах хворих на ВК і пацієнтів з прозорими кришталиками (таблиця 2).

Таблиця 2

Максимальні і мінімальні значення показників вмісту олеїнової ЖК і ПНЖК в елімінаці з ока

Групи пацієнтів	Вміст ЖК (%)	
	Олеїнова ЖК (С18:1)	ПНЖК
Пацієнти з прозорими кришталиками	20,9-20,1	22,8-19,0
Хворі на ВК	25,3-30,6	15,9-8,9

Аналіз отриманих даних свідчить про те, що у пацієнтів з прозорими кришталиками в елімінаці з ока вміст олеїнової ЖК (найбільш могутнього інгібітора процесу ПОЛ) не перевищує 20,9%; мінімальний вміст ПНЖК у цій групі спостережень складає 19,0%. У хворих на ВК вміст олеїнової ЖК зростає максимально до 30,6%, а вміст ПНЖК знижується мінімум до 8,9%. Таким чином, граничними мінімальними значеннями показників, що вказують на посилення процесу ПОЛ в оці, можна вважати: для олеїнової ЖК-25,3%, а для ПНЖК-15,9%.

Запропонований спосіб оцінки глибини метаболічних порушень в оці при ВК шляхом визначення вмісту ЖК в елімінаці з ока дає можливість комплексно оцінити стан гомеостатичних механізмів, що обумовлюють формування деструктивних елементів в оці в цілому і у кришталику особисто.

Протягом 1997-2000 років ми спостерігали 200 хворих на ВК різного ступеня зрілості і визначали глибину метаболічних змін в оці за допомогою запропонованої методики. У всіх хворих на ВК відзначалися порушення метаболізму ЖК за рахунок зростання вмісту олеїнової ЖК і зниження вмісту ПНЖК.

Перевагою запропонованого методу оцінки метаболічних змін в оці за допомогою елімінаці є те, що цей метод дає змогу об'єктивно оцінити інтенсивність процесу пероксидації в оці за допомогою біологічного об'єкту, який отримується неінвазивним шляхом. Крім того, за допомогою запропонованого метода можна проводити контроль за ефективністю лікування і використовувати його на етапі амбулаторного обстеження пацієнтів.

Список літератури, яка використовувалась:

1. Акимов О.Г. Прогнозування формування вторинної катаракти на підставі вивчення деяких ферментів периферичної крові у хворих на вікову катаракту: Автореф. дис.... канд. мед. наук. - Одеса, 2000. - 18с.
2. Бабижаев М.А., Линберг Л.Ф. Доказательство окисления ненасыщенных жирных кислот при катаракте // Биохимия. - 1986. - Т.51, №10. - С.1702.
3. Барабой В.А., Орел В.Э., Карнаух И.М. Перекисное окисление и радиация. - К.: Наукова думка, 1991. - 256с.
4. Гичка С.Г., Брюзгина Т.С., Вретик Г.М. Газохроматографический метод определения липидных показателей крови при ишемической болезни сердца // Украинский кардиологический журнал. - 1998. - №7-8. - С.50-52.
5. Сергиенко Н.М. Интраокулярная коррекция. - К.: Здоров'я, 1990. - 128с.
6. Черикчи Л.Е. Физиотерапия в офтальмологии. - К.: Здоров'я, 1997. - 144с.
7. Andrews J.S., Leonard-Martin T. Total lipid and membrane lipid analysis of normal animal and human lenses // Invest. Ophthalmol. - 1981. - Vol. 21. - P.39-45.
8. Bhuyan K.C., Bhuyan D.K., Podos S.M. Lipid peroxidation in cataract of the human// Life Sci. - 1986. - Vol.38, №16. - P.1463-1471.