

УДК: 617.741-004.1

Керимова Н.К., Рашидализаде Э.К., Агаев М.М., Керимов К.Т.

РОЛЬ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В КАТАРАКТОГЕНЕЗЕ

*Национальный Центр Офтальмологии имени акад. Зарифы Алиевой, г.Баку, Азербайджан
Бакинская Научно-Исследовательская Клиника Глазных болезней*

Ключевые слова: свободнорадикальное окисление липидов, глутатион, катарактогенез

Биохимическими исследованиями установлено, что при развитии катаракты хрусталик теряет свою прозрачность вследствие изменений, сопровождающихся повышением уровня высокомолекулярных и нерастворимых белков [1-4].

В механизме указанных нарушений большое значение придаётся состоянию сульфгидрильных групп, уровень которых в белках катарактальных хрусталиков резко снижен, при этом количество дисульфидных связей, как правило, повышено [5,6,7]. В этих условиях особую актуальность приобретает изучение глутатиона, главной функциональной особенностью которого является поддержание в восстановленном состоянии сульфгидрильных групп белков, устранение свободных радикалов, обезвреживание чужеродных органических соединений [8, 9, 10].

Наряду с этим, исследованиями последних лет установлена ещё одна важная функция глутатиона – его участие в механизме транспорта аминокислот через клеточные мембраны, что раскрывает роль этого соединения в пластическом обеспечении биосинтеза белков в хрусталике [11,12, 13].

В настоящее время интенсивно проводятся исследования по выяснению истинной физиологической роли глутатиона в хрусталике и других тканях глаза – роговице, катаракте, сетчатке [14,15,16].

Установлено, что в хрусталике отмечается самая высокая концентрация восстановленной формы глутатиона, при этом с возрастом уровень его заметно снижается [11, 12,17, 18].

Значительно снижено содержание глутатиона в катарактальных хрусталиках человека [11, 18]. Однако неизвестно, вызывает ли это снижение развития катаракты или просто совпадает с процессом катарактогенеза [12, 17].

Ответить на этот вопрос путём исследования только хрусталиков человека по целому ряду причин весьма затруднительно. Определённые перспективы в этом отношении открывает изучение обмена веществ в глазу и тканях животных при экспериментальном катарактогенезе [10,14]. Из множества существующих моделей катаракты нафталиновая катаракта у кроликов по гистологическим и морфологическим признакам наиболее близка к старческой катаракте человека [9,11,12, 18].

Исходя из всего вышесказанного, нами предпринято детальное изучение системы глутатиона, включая процессы связанные с устранением органических и неорганических перекисей и свободнорадикальных соединений [13,15].

Согласно современным представлениям в патогенезе ряда заболеваний органа зрения ведущая роль принадлежит повреждениям клеточных мембран тканевых структур глаза, особенно это касается сетчатки и хрусталика [8,15,16].

Ранее проведёнными исследованиями было установлено, что продукты свободнорадикального окисления (перекисное окисление липидов) накапливаются в стекловидном теле при интравитреальных кровоизлияниях различной этиологии, травматических и ожоговых повреждениях органа зрения.

В настоящее время твёрдо установленным фактом является то положение, что развитие старческой катаракты сопровождается изменением фазового состояния белков и липидов хрусталика. Однако, роль продуктов перекисного окисления липидов в патогенезе возрастных и осложнённых катаракт окончательно до настоящего времени не установлена. Данные литературы по этому вопросу весьма противоречивы. Ряд авторов утверждает, что прогрессирование возрастной катаракты прямо пропорционально накоплению продуктов перекисного окисления липидов.

Продукты перекисного окисления липидов выявляются уже при начальных помутнениях в хрусталике. Из основных факторов повреждения белково-липидных биологических мембран выделено 3 универсальных механизма: активация ПОЛ, увеличение активности ферментов (фосфолипаз) и накопление в мем-

бранах продуктов деградации фосфолипидов (лизосомальных фосфолипидов и жирных кислот), оказывающее разрушающее действие на клеточную мембрану. Другие же авторы считают, что накопление продуктов ПОЛ не влияет на состояние прозрачности хрусталика.

Цель - изучить интенсивность свободнорадикального окисления липидов хрусталика при катаракте.

Материал и методы

При исследовании в ядрах хрусталика ПОЛ исследовали у 138 человек, которым была произведена экстракапсулярная экстракция катаракты. У 25 человек катаракта была возрастной, у 25 – травматическая, у 50 – диабетическая, у 30 – хрусталик был удалён при миопии высокой степени. У 8 человек определили уровень ПОЛ в ядрах прозрачных хрусталиков, взятых из энуклеированных глаз по поводу внутриглазной опухоли и абсолютной глаукомы (контрольная группа).

Уровень спонтанной и индуцированной хемилюминесценции (ПОЛ) измеряли на установке ХММ-01-10, работающей в квантометрическом режиме с детектором излучения ФЭУ-130, 300 мг ядра хрусталика помещали на дно кюветы, которую располагали над фотокатодом фотоэлектронного умножителя. Камеру, в которую помещали кювету с ядром хрусталика, герметически закрывали. Усиление сигналов с ФЭУ, их регистрирование осуществляли с помощью стандартной одноканальной счётной установки к рентгеновскому дифрактометру общего назначения (ССД). Величину суммарного показателя импульсов (П) производили экспозицией 1000 с. Для повышения достоверности полученного результата измерение производили трижды. Вычитав фон установки и уровень свечения ядра кюветы (Пф) из общего показателя светосуммы, определяли истинное свечение ядра хрусталика (Пх-П-ф). При определении уровня индуцированной хемилюминесценции к испытуемой пробе прибавляли 1,0 мл 1% раствора перекиси водорода.

Результаты и их обсуждение

Уровень интенсивности перекисного окисления липидов в хрусталике у лиц с возрастной и осложнённой катарактой представлен в табл. 1

Таблица 1

Уровень ПОЛ в хрусталике при катаракте

Этиология катаракты	Число больных	Уровень ПОЛ	
		Интенсивность спонтанной хемилюминесценции	Интенсивность индуцированной хемилюминесценции
Возрастная	25	648 ± 87	4,8 • 106 + 688
Травматическая	25	898 ± 35	3,8 • 106 + 524
Диабетическая	50	2511 ± 188	5,8 • 107 + 348
Миопическая	30	988 ± 67	4,2 • 106 + 588
Прозрачный хрусталик	8	168 ± 53	1,2 • 106 + 122
Итого	138	P < 0,01	P < 0,01

Результаты исследования показали, что уровень перекисного окисления липидов, определяемый с помощью спонтанной и индуцированной хемилюминесценции, в ядре хрусталика наибольшего количества достигал при катаракте диабетической этиологии.

При возрастной, травматической и миопической катарактах уровень перекисного окисления липидов был несколько ниже. Самый низкий уровень ПОЛ был у больных с прозрачным хрусталиком P < 0,01.

Полученные данные свидетельствуют о том, что при возрастной и осложнённой катарактах наблюдается активация свободнорадикального окисления. Уровень ПОЛ возрастает, что свидетельствует о нарушении целостности липопротеиновых комплексов хрусталиковых волокон, накоплении в них липоперекисей, гидроперекисей, гидрорадикалов, увеличении количества гидроперекисей и гидроксидрадикалов способствует формированию отрицательного заряда на поверхности белковых фибрилл хрусталика, который увеличивает в свою очередь содержание Na в хрусталиковом волокне. Увеличение отрицательного заряда повышает также концентрацию кальция (Ca) в хрусталике.

В результате изменения соотношения Na и Ca изменяются осмотические свойства хрусталика, т.к. накопление Ca вызывает преципитацию кристаллинов с последующим набуханием и деградацией белков, что способствует нарушению прозрачности хрусталика. Проведённые исследования позволяют сделать следующий вывод: при возрастных и осложнённых катарактах наблюдается активизация процесса перекисного окисления липопротеиновых комплексов клеточных мембран хрусталиковых волокон, что является одним из важных механизмов развития катаракты.

Из результатов определения диеновых конъюгатов в экстракте липидов из хрусталика различной стадии зрелости катаракты ясно видно, что содержание гидроперекиси, имеющей двойные конъюгатные связи, определяется характерным УФ-спектром на 230 нм и увеличивается от начальных стадий помутнения вверх при более зрелой стадии катаракты. Однако, затем на стадиях зрелой и перезрелой катаракты уровень первичных продуктов ПОЛ падает. Через некоторое время, при определении содержания Шиффовских оснований обнаруживается увеличение интенсивности флюоресцеина хлороформного экстракта липидов на 430 нм. Флюоресцеин возбуждается – 365 нм монотонно с развитием катаракты (Таб.1).

Концентрация флюоресцентных конечных продуктов ПОЛ в хрусталике коррелируется со степенью помутнения ($r=0,956$, $P < 0,01$). Тем временем, регулярно обнаруживалось: накопление продуктов ПОЛ величина которой зависела от стадии катаракты и не зависящая от разновидности катаракты, позволяя нам предполагать об универсальной роли ПОЛ в процессе помутнения хрусталика. Так как не было различия в содержании продуктов ПОЛ при наблюдениях между типами возрастной, зрелой катаракты, и тотальной (травматической и осложнённой), они были объединены в одну клиническую группу. Тенденция накопления продуктов ПОЛ в течение развития катаракты согласуется с хорошо известной идеей о временном повышении формирования гидроперекиси и продолжении накопления конечных продуктов ПОЛ в течение аутоокисления липидов в биологических мембранах. Кинетическая кривая накопления продуктов ПОЛ в хрусталике по мере развития катаракты соответствует схеме их последовательной трансформации в биологических мембранах. Их аутоокисление вызывает фосфолипиды-гидроперекиси из фосфолипидно- карбониального состава (МДА) – интрамолекулярное переходное звено типа Шиффовских оснований. Это последовательное аутоокисление фосфолипидов хрусталика в развитии катаракты показывает активность ПОЛ, являющегося основным фактором в катарактогенезе. Окислительная модификация молекул фосфолипидов мембран в хрусталике, которая инициирует появление полярных окси-групп в ацил-радикалах в случаях катаракты, в этом промежутке времени есть отражение в них гидрофильного-гидрофобического баланса. Например модифицированная молекула приобретает свойства детергента аналогичного лизофосфолипидам, которые формируются под действием фосфолипазы А.

Таким образом, кислород-модифицированные фосфолипиды допускают увеличение гидрофильности мембраны и разрушают липид-липид и протеин-липид взаимодействия, имеющиеся в мембране. Детергент, действуя на накопление продуктов перекисного окисления липидов в мембранах при катаракте, позволяет качественно объяснить причину и механизм повреждения лентикулярных фебрил, наблюдаемых при катаракте, посредством электронной микроскопии. Известно, что детергенты, смешиваясь в слоях, допускают увеличение кривизны поверхности, и таким образом частично уменьшая радиус мембраны. Этот эффект, очевидно, ответственен за фрагментацию плазмы мембраны и формирование маленьких везикул при катаракте.

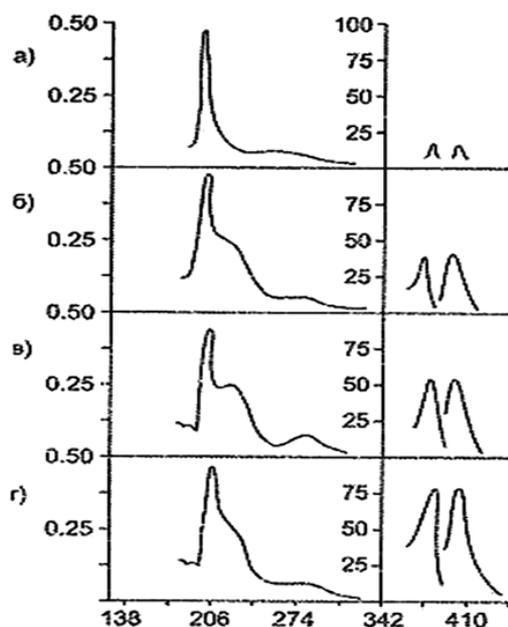


Рис.1. Характеристика спектра флюоресценции экстракта липидов возбуждённых длиной волны 365 нм. I-норма, II-более зрелая катаракта, III-зрелая катаракта

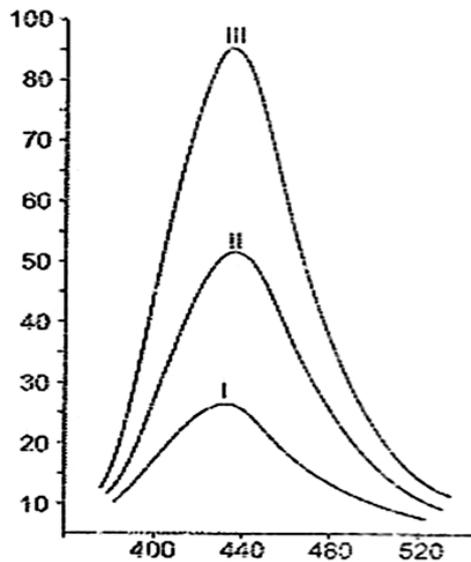


Рис. 2. Спектр абсорбции в метанол-гептановом растворе 5:1 (слева) и возбуждение/излучение (365 нм/438 нм) спектра флюоресцеина в хлороформе (справа) экстракта липидов различных стадий катаракты: а – прозрачный хрусталик, б – незрелая катаракта, с – более зрелая катаракта, д – зрелая катаракта, было исследовано равное количество липидов (100 мг/мл). Линии показывают характеристику максимума абсорбции первичных продуктов ПОЛ

Одно можно предположить, что травматическая катаракта – это формирование помутнения – есть основное травматическое повреждение клеточных мембран как эпителия, так и фибрилл хрусталика. Более интенсивное локальное помутнение в хрусталике при этом типе катаракты обычно наблюдается на участке надреза капсулы хрусталика. Мы показали, что в процессе развития травматической катаракты у кроликов, сверх этого отмечалось субкапсулярные помутнения, диффузное помутнение значительной части передней коры хрусталика (захватывая главным образом центральную часть), сопровождаясь накоплением диеновых и триеновых конъюгатов, а также кетодионов в хрусталике и влаге камеры [4,5,6]. Концентрация упомянутых первичных продуктов ПОЛ во влаге камеры превышает их уровень в мутном хрусталике в некоторых глазах. Эти факты могут быть основанием того, что первичные изменения состава влаги камеры участвуют в развитии травматической катаракты. Активация ПОЛ в ткани хрусталика может быть важным патогенетическим звеном в развитии помутнений. Это было объяснено сильной связью, существующей между степенью помутнения хрусталика и концентрацией продуктов ПОЛ в ткани. Исследования продуктов ПОЛ в хрусталике и во влаге пациентов с травматической катарактой показали, что если существуют первоначальные помутнения в хрусталике, то первичные продукты преобладают в них и во влаге. В случаях, где развивается тотальное помутнение хрусталика, в ткани накапливаются флюоресцентные конечные продукты свободнорадикального окисления липидов.

Существует вопрос о том, является ли процесс ПОЛ фактором, который вместе с другими метаболическими сдвигами, только сопровождает развитие катаракты, или в ряде случаев, активация ПОЛ может быть иницирующей причиной помутнения хрусталика. Ранее мы показали возможность индукции катаракты продуктами перекисления фосфолипидов, протекающих в стекловидном теле. Аутоокисление фосфолипидов вызывает заднюю субкапсулярную катаракту с сопровождающимся накоплением продуктов ПОЛ в хрусталике и уменьшением концентрации хрусталикового глутатиона. Насыщенные фосфолипиды, путём введения интравитреальной инъекции, устойчивы для перекисления в некоторых концентрациях и не вызывают какого-либо помутнения. Это доказывает то, что продукты ПОЛ являются иницирующим эффектом при формировании некоторых типов катаракт.

Заключение

Полученные результаты показывают значительную разницу в уровне накопления оксидериватов жирных кислот в мутных хрусталиках по сравнению с прозрачными. Другой результат это то, что накопление продуктов ПОЛ в хрусталике может нарушать барьерные функции мембран тканевых структур хрусталика, ингибировать мембрано-связанные ферменты и олигомеризацию, изменяя, в конечном счёте оптические свойства хрусталика. Эти данные являются основанием для того, чтобы подразумевать, что свободнорадикальное окисление липидов играет важную роль в патогенезе катаракты, т.к. накопление равномерно малого количества окисленных липидов достаточно, чтобы вызвать окисление протеинов. Таким образом, можно считать установленным, что ПОЛ является одним из основных причин в развитии некоторых типов катаракт.

LİTERATURA:

1. Алиева З.А., Султанов М.Ю., Гаджиев Р.В. И др. Содержание селена и активность глутатионпероксидазных ферментов в тканях глаза человека при диабете // Вестн. офтальмол., 1985, т.101, №3, с.35-38.
2. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах // Российский Государст. медицин. журн., 2000, т.6, №12, с.13-19.
3. Владимиров Ю.А., Азизова О.А. и соавт. Свободные радикалы в живых системах. М., 2001., с.36-52.
4. Воскресенская Л.К. Роль перекисного окисления липидов в патогенезе старческой катаракты и ее профилактики антиоксидантами: Авторефер. дис. ... канд. мед. наук, М., 1985, 28 с.
5. Бабижаев М.А., Деев А.И. Свободнорадикальное окисление липидов и тиловых группы при катарактогенезе. Биофизика, 1986, т. XXXI, №1, с.109-114
6. Бабижаев М.А., Деев А.И., Владимиров Ю.А. и др. Разложение H₂O₂ катаральными хрусталиками человека. Бюлл. exper. биол. и мед. 1986, т.II, №6, с.158-160
7. Бабижаев М.А., Шведова А.А., Архипенко Ю.В. и др. Накопление продуктов перекисного окисления липидов в хрусталике при катаракте // Бюлл. exper. биол. и мед., М., 1985, №9, с.299-301.
8. Керимов К.Т., Керимова Н.К. Неотложная помощь в офтальмологии. Баку, 2015.
9. Мамедов Ш.Ю., Касимов Э.М., Джафаров А.И. О возможности регуляции нарушения функциональной активности сетчатки различными антиоксидантами при действии высокой интенсивности // Бюлл. exper. биол. и мед., М., 2010, т.150, №11, с.504-506.
10. Galcina O.V., Putilina F.E., Eshchenko N.D. Lipid peroxidation in rabbit and rat visual system structures // Ross. Fisiol. Zh.Im., I.M. Sechenova, 2003, v.89(11), p.1423-1430
11. Казимирко В.К., Мальцев В.М., Бутылин В.Ю. и др. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная терапия, К.: Морион. 2004, с.160.
12. Керимов К.Т., Джафаров А.И., Керимова Н.К. и др. Антиоксидантная терапия в офтальмологии. Баку, 2011, 292 с.
13. Shvedova A.A., Sidarov A.S., Novikov K.N. et al. Lipid peroxidation and electic activity of the retina // Vis. res., 2009, v.19(1), p.49-55
14. Шаимова В.А. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита при заболеваниях глаз // Вестник офтальмологии 2002, №3, с.56-67.
15. Gumprecht E., Hilden Brandt G.R. et al. Glutathione-dependet protection against lipid peroxidation in scheep liver microsomes // Biochem. MolInt, 2006, v.38(3), p.559-567.
16. Totan Y., Çekiciç O., Borazanet M. et al. Plasma malondial-dehyde and nitric oxide levels in age related macular degeneration // Br. J. Ophthalmol., 2001, v.85, p.1426-1428.
17. Керимов К.Т., Джафаров А.И., Гахраманов Ф.С. Ожоги глаз, патогенез и лечение. М.: РАМН, 2005, 462 с.
18. Карножицкий В. Биохимическое значение перекисей липидов // Успехи химии, 2012, т.76, №8, с.1392-1430.

Kerimova N.K., Rəşidəlizadə E.K., Ağayev M.M., Kərimov K.T.

LİPİDLƏRİN SƏRBƏST OKSİDLƏŞMƏSİNİN KATARAKTOGENEZZDƏ ROLU

*Akad. Zərifə Əliyeva adına Milli Oftalmologiya Mərkəzi, Bakı səh.
Bakı Elmi-Tədqiqat Göz Xəstəlikləri Klinikası.*

Açar sözlər: *lipidlərin sərbəst oksidləşməsi, qlutation, kataraktogenez*

XÜLASƏ

Məqsəd - kataraktalarda lipidlərin sərbəst oksidləşməsinin intensivliyinin öyrənilməsi.

Material və metodlar

138 xəstədə kataraktanın ekstraksiyasından sonra büllurda LPO intensivliyi öyrənilmişdir. Bunlardan yaşla əlaqədar katarakta 25 nəfərdə, travmatik katarakta – 25 nəfərdə, diabet mənşəli katarakta – 50 nəfərdə, yüksək dərəcəli miyopiya ilə əlaqədar – 30 xəstədə olmuşdur. Şəffaf büllurda LPO səviyyəsinin təyini 8 nəfərdə aparılmışdır.

Nəticə

Tədqiqatın nəticəsi göstərir ki, LPO diabetik kataraktalarda daha çox intensivliyə malikdir. Yaş, travmatik və miopik kataraktalarda nisbətən az, ən az LPO intensivliyi şəffaf büllurda qeyd olunmuşdur. Yaş və fəsadlı kataraktalarda LPO – nun aktivləşməsi ayırd edilir.

Aparılan tədqiqat sübut edir ki, lipidlərin sərbəst oksidləşməsi kataraktanın patogenezinə mühüm rol oynayır və müxtəlif növ kataraktaların əmələ gəlməsində əsas səbəblərdən biridir.

Kerimova N.K., Rashidalizadeh E.K., Agaev M.M., Kerimov K.T.

ROLE OF FREE RADICAL LIPID OXIDATION IN CATARACTOGENESIS

*National Ophthalmology Centre named after akad. Zarifa Aliyeva, Baku
Baku Research Clinic of Eye diseases*

Key words: *free radical lipid oxidation, glutathione-cataractogenesis*

SUMMARY

Aim - to study the intensity of free radical oxidation of lens lipids in cataracts.

Material and methods

In the study of the lens nuclei lipid peroxidation was learning in 138 people who underwent extracapsular cataract extraction. In 25 people cataracts were age-related, 25 - traumatic, 50 - diabetic, 30 - the lens was removed with high degree myopia. In 8 people the level of LPO in the nuclei of transparent lenses, taken from enucleated eyes for an intraocular tumor and absolute glaucoma (control group), was determined.

Results

The results obtained show a significant difference in the level of accumulation of fatty acid oxidizers in turbid lenses as compared to transparent ones. Another result is that the accumulation of LPO products in the lens can disrupt the barrier functions of the membranes of the tissue structures of the lens, inhibit membrane-bound enzymes, and oligomerization, ultimately altering the optical properties of the lens.

Conclusion

These data are prove that free radical oxidation of lipids plays an important role in the pathogenesis of cataracts, Accumulation of evenly small amounts of oxidized lipids is sufficient to induce oxidation of proteins. Thus, it can be considered established that LPO is one of the main causes in the development of some types of cataracts.

Для корреспонденции:

Керимова Нигяр Керам кызы, к.м.н., сотрудник БНИ Клиники глазных болезней

Рашидализаде Эргун Камал оглы Главный врач БНИ клиники глазных болезней

Агаев Мисирхан Мурадхан оглы, к.м.н., заведующий отделом хирургии катаракты Национального Центра Офтальмологии им. академика Зарифы Алиевой

Керимов Керам Табриз оглы, д.м.н., профессор, руководитель отдела хирургии катаракты Национального Центра Офтальмологии им. академика Зарифы Алиевой

Тел.: (99412) 569-91-36, (99412) 569-91-37

Адрес: AZ1114, г.Баку, ул. Джавадхана, 32/15

Email: administrator@eye.az ;www.eye.az; bkg2@bk.ru