

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ИЗМЕНЕНИЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН ХРУСТАЛИКА В ПАТОГЕНЕЗЕ КАТАРАКТЫ

Национальный Офтальмологический Центр имени академика Зарифы Алиевой, г.Баку

Ключевые слова: ультраструктурные изменения, проницаемость клеточных мембран, белок в слезе, белок в хрусталике

В исследовании патогенеза катаракты достигнуты определенные успехи. Известны различные мнения, которые, однако, не позволяют установить пусковой механизм этого сложного заболевания, механизмов развития помутнений при формировании катаракты. Остается невыясненным целый ряд вопросов [1,2].

Многие офтальмологи указывают на уменьшение с возрастом и при катаракте серосодержащих аминокислот, глутатиона, аскорбиновой кислоты, рибофлавина, цитохрома, количества свободных сульфгидрильных групп, микроэлементов в составе тканей хрусталика, ослабление окислительно-восстановительных процессов, гликолиза, снижение активности ферментов в тканях хрусталика [2-7]. До сих пор не известно, каким путем происходит все это. На наш взгляд, для того чтобы решить проблему катаракты, надо найти ответы на эти вопросы.

Известно, что обменные процессы происходят между клеточными мембранами тканей организма и межклеточной средой [7]. Поэтому надо искать причину вышеуказанных изменений в клеточной мембране хрусталика.

Известный биофизик Ю.А. Владимиров и его сотрудники указывают, что продукты ПОЛ оказывают разрушительное действие на клеточные мембраны и поэтому нарушается обмен веществ при патологических процессах в организме [8].

Необходимо отметить, что в отличие от других органов, клеточная мембрана хрусталика образована из двух слоев фибриллярных белков [9-17], не имеет липидного слоя [7,15], бедна внутриклеточными элементами, богата мукополисахаридами [5-6, 9, 12-16]. Эти особенности придают прозрачность хрусталику, благодаря чему при биомикроскопии удается исследовать ультраструктурные изменения тканей хрусталика в начальных стадиях развития катаракты [12-16].

Учитывая вышеизложенное, мы решили изучить некоторые биофизические и биохимические параметры катарактогенеза с исследованием ультраструктурных нарушений – денатурации белковых молекул (БМ) тканей хрусталика и их роли в возникновении патологической проницаемости клеточных мембран (КМ), которая приводит к нарушению обменных процессов.



Рис. 1. Фибриллярные макромолекулы в тканях хрусталика в начальной стадии развития катаракты увел. х 40 (биомикрофото автора)

До настоящего времени в медицине, в том числе и в офтальмологии, проницаемость тканей изучается путем ангиографии сосудов и фотоэлектрокалориметрическим методом определения содержания белка в сыворотке крови при различных заболеваниях [18-21]. Обычно этими методами пользуются для изучения

проницаемости сосудов. Но, как известно, хрусталик не имеет своих сосудов. Было установлено, что отсутствие или наличие липидов в КМ не мешает изучению состояния их проницаемости. Но факт остается фактом. Известный физиолог А.Поликар [7] указывает, что «в клетке тканей организма, наряду с многочисленными структурированными мембранами, почти всегда липопротеиновой природы, часто встречаются фибриллярные структуры, состоящие из фибриллярных белков, никогда не содержащие в своем составе липидов. Фибриллы можно сравнить с длинными четками из глобулярных макромолекул. Группируясь линейно, глобулярные макромолекулы образуют микроскопически видимые фибриллы». Примером может служить рисунок макромолекулы, полученный нами при цифровой компьютерной видеобиомикроскопии хрусталика (см рис. 1):

Учитывая это, мы изучили ультраструктурные изменения хрусталика и их роль в проницаемости КМ при катаракте.

Цель – изучить роль изменений проницаемости клеточных мембран в развитии катаракты.

Материал и методы исследования

Исследования проводились на цифровом компьютерном видеобиомикроскопе с регистрацией изображения фирмы «OCI-optik-komponent instrument» с интегрированным устройством видеозахвата и программой Cyber Video Studio-CVS (производства Италии) с регистрирующим цифровым фотоаппаратом – SLIT Lamp OTC (при увеличении биомикроскопа $\times 40$). Кроме увеличения биомикроскопа, имеет свои масштабы увеличения и компьютер, подключенный к биомикроскопу (увеличивает на 500%). Для подтверждения роли повышения проницаемости КМ в развитии катаракты нами исследованы следующие параметры: содержания общего белка в слезе и в гомогенате хрусталика. При этом мы применили фотоэлектрокалориметрический метод (на аппарате ФЭК), основанный на биуретовой реакции. Содержание общего белка в слезе определялось у клинически здоровых 59 лиц, страдающих различной стадией развития катаракты. Среди них доклиническая стадия развития катаракты наблюдалась в 12 случаях, начальная стадия – в 14 случаях, незрелая – в 17 случаях, зрелая – в 16 случаях. У 45 больных (45 глаз) содержание общего белка определялось в гомогенате хрусталика, удаленного у больных незрелой и зрелой катарактой. Больных разделили на две группы. В первую группу вошли 22 пациента (22 глаз) с незрелой катарактой. Вторую группу составили 23 пациента (23 глаз) со зрелой стадией катаракты.

Результаты исследований

При биомикроскопии хрусталика в начальных стадиях развития катаракты нами выявлены вакуоли, поры, разорванные макромолекулы, каналцы, кружки, запятые, симптом мандариновой кожуры и т. д. (рис. 2).

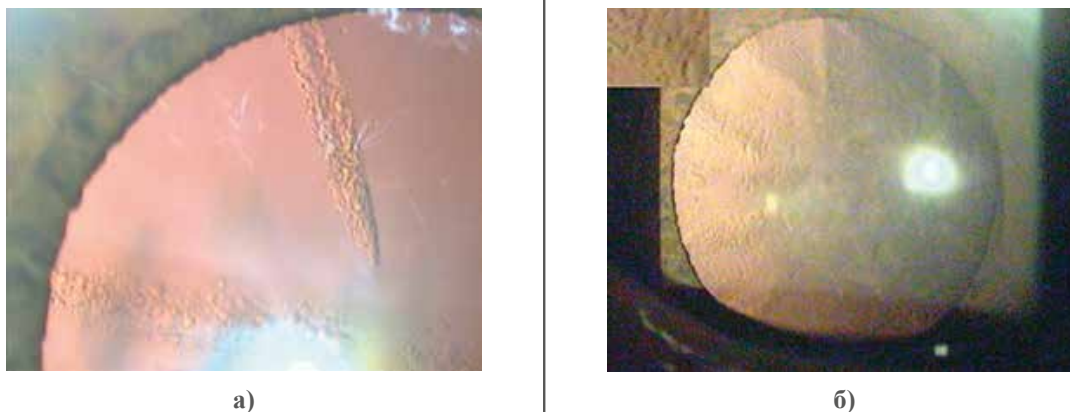


Рис.2. а) поры и вакуоли на мембранах волокон хрусталика в 9 и 11 час. б) множества пор на капсуле хрусталика – симптом мандариновой кожуры (биомикрофото автора)

При сравнительном анализе полученных нами данных ультраструктурных изменений, наблюдаемых при биомикроскопии в тканях хрусталика в начальных стадиях развития катаракты с данными, полученными авторами при электронной микроскопии гомогената белков тканей организма [7, 11, 22], установлено, что эти структуры являются оптическими срезами денатурированных белковых молекул катарактозно-измененного хрусталика. Наряду с ультраструктурными изменениями белков, наблюдаются признаки повышения проницаемости клеточных мембран (ППКМ) хрусталика [2-6], заключающиеся в просачивании

жидкости из структурно-измененных канальцев КМ, в появлении водяных щелей, скоплении агрегатов на волокнах хрусталика, в межклеточной среде и на внутренней поверхности его капсул, что можно видеть на рисунках (рис. 3 и 4).

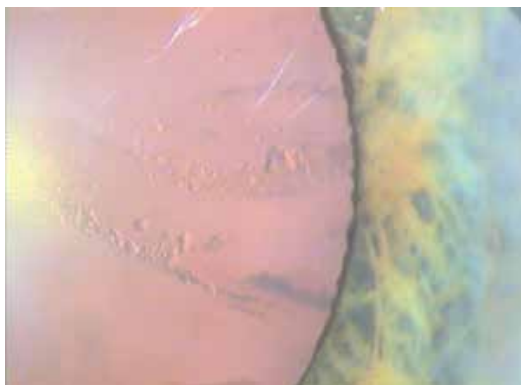


Рис.3. Водяные щели между волокнами хрусталика
увел. х 40 (биоимicroфото автора)



Рис.4. Агрегаты на передней капсуле хрусталика
увел. х 40 (биоимicroфото автора)

Исходя из этого, можно сказать, что биоимicroскопия является одним из объективных методов определения состояния проницаемости КМ, повышение которой может привести к нарушению обменных процессов в тканях хрусталика. Для подтверждения этих данных мы решили определить содержание общего белка в гомогенате хрусталика и в слезе. Как указывал Б.Н. Могилицкий [19], самым верным признаком повышения проницаемости тканей является уменьшение содержания белка в тканях изучаемого органа. Исходя из этого, мы решили изучить содержание общего белка в слезе и в тканях хрусталика при различных стадиях развития катаракты.

Анализ полученных результатов показывает, что при катаракте содержание общего белка в слезе увеличивается и в среднем составляет $14,2 \pm 0,4$ г/л против нормы 10 г/л., что связано с ППКМ тканей глаза, в том числе хрусталика. Известно, что БМ имеют большой размер и в норме они не могут выходить из КМ в межклеточную среду. Но в связи с развитием ультраструктурных изменений белковых молекул КМ, расширяются их канальцы и поры и содержимое клетки, в том числе и белки, покидает клетку и скапливается на клеточной мембране, на капсуле хрусталика, в межклеточном пространстве, в жидкости передней и задней камер и в слезе.

При изучении зависимости содержания общего белка в слезе от стадии развития катаракты нами установлено, что еще в доклинической стадии развития катаракты содержание общего белка в слезе повышается и составляет $11,8 \pm 0,4$ г/л (повышение содержания белка в слезе составляет 18%), при начальной стадии - $12,4 \pm 0,5$ г/л (повышение содержания белка в слезе составляет 24%), при незрелой - $13,8 \pm 0,7$ г/л (повышение содержания белка в слезе составляет 38%), а при зрелой катаракте - $15,2 \pm 0,9$ г/л (повышение содержания белка в слезе составляет 52%). Как видно из этих данных, по мере развития катаракты увеличивается содержание общего белка в слезе, которое указывает на повышение проницаемости КМ тканей глаза, в том числе хрусталика, в зависимости от стадии развития катаракты (табл. 1).

Таблица №1

Содержание общего белка в слезе у больных с различной стадией развития катаракты

Стадии развития катаракты	Кол-во случаев	М ± м (г/л)	% увеличения содержания белка в слезе	Р ₀
Норма		10 г/л		
Доклиническая	12	$11,8 \pm 0,4$	18 %	<0,001
Начальная	14	$12,4 \pm 0,5$	24 %	>0,001
Незрелая	17	$13,8 \pm 0,7$	38 %	> 0,001
Зрелая	16	$15,2 \pm 0,9$	52 %	> 0,001
Всего	59	$14,2 \pm 0,4$	42%	> 0,001

Из данных таблицы видно, что еще в доклинической стадии развития катаракты содержание общего белка в слезе увеличивается. По мере развития катаракты увеличивается содержание белка и в слезе. Это свидетельствует о зависимости катаракты от степени ППКМ тканей хрусталика. Следует отметить, что

увеличение содержания общего белка в слезе связано не только с ППКМ хрусталика, но также с увеличением их содержания в других тканях глаза. Выход белка из тканей глаза, в том числе и хрусталика в слезу, указывает на ухудшение обменных процессов в тканях глаза.

Наиболее точный ответ о ППКМ хрусталика может дать изучение содержания общего белка в самой ткани хрусталика. Установлено, что при незрелой катаракте содержание общего белка в гомогенате хрусталика резко уменьшается и в среднем составляет $64,8 \pm 0,07$ г/л ($P > 0,001$) против нормы 350 г/л. При этом утечка белка из тканей хрусталика составляет 285 г/л (81,5%). А при зрелой катаракте содержание общего белка в гомогенате хрусталика составляет $63,2 \pm 0,09$ г/л ($P > 0,001$), утечка белка из тканей хрусталика – 276 г/л (78,8%). Эти данные указывают на значительное ППКМ и на резкое нарушение обмена веществ в тканях хрусталика в последних стадиях развития катаракты.

Данные зависимости содержания общего белка в хрусталике от стадии развития катаракты отражены в таблице №2.

Таблица №2

Содержание общего белка в хрусталике у больных катарактой

Стадия развития б-ых катарактой	Кол-во случаев	$M \pm m$ (г/л)	Утечка Белка	P_0
Норма		350		
Незрелая катаракта	22	$64,8 \pm 0,07$	285 г/л (81,5%)	$>0,001$
Зрелая катаракта	23	$63,2 \pm 0,09$	276 г/л (78,8%)	$>0,001$

Как видно из данных таблицы, при катаракте резко уменьшается содержание общего белка в гомогенате хрусталика. Это связано с утечкой белка из клеточных мембран хрусталика, что указывает на значительное ППКМ и на нарушение обмена веществ в тканях хрусталика в последних стадиях развития катаракты. Незначительную разницу между содержанием общего белка при незрелой и зрелой катаракте можно объяснить резким снижением содержания общего белка в тканях хрусталика уже при незрелой катаракте, или тем, что в последней стадии развития катаракты из-за возникновения помутнений многих канальцев КМ ухудшается их пропускная способность.

Из вышеизложенного следует, что, при катаракте резко уменьшается содержание общего белка в хрусталике при повышении содержания общего белка в слезе, что связано с резким ППКМ тканей глаза, в том числе хрусталика. В зависимости от стадии развития катаракты степень ППКМ тканей хрусталика увеличивается.

Таким образом, установлено, что содержимое клетки, в том числе и белки, через денатурированные белковые канальцы КМ выходит в межклеточную среду и в виде агрегатов скапливается на клеточной мембране, на внутренней поверхности капсул хрусталика и в межклеточной среде, вследствие чего хрусталик мутнеет.

Из вышеизложенного следует, что еще в доклинической и в начальной стадии развития катаракты, в связи с развитием ультраструктурных изменений в тканях хрусталика повышается проницаемость КМ, появляются отеки, водяные щели между волокнами хрусталика. В дальнейшем, с развитием катаракты, появляются агрегаты в тканях хрусталика, на мембранах и на капсуле хрусталика, что также связано с повышением проницаемости КМ тканей хрусталика и нарушением обмена веществ при катаракте. Эти данные подтверждаются при изучении содержания общего белка в гомогенате хрусталика и в слезе. При этом наблюдается повышение содержания белка в слезе и уменьшение - в гомогенате хрусталика, что связано с утечкой белка из КМ хрусталика.

Таким образом, при катаракте под влиянием различных патогенных факторов (возрастной фактор, общие заболевания, инсоляция и т.д.) происходят ультраструктурные изменения белковых молекул хрусталика – расширяются их поры и канальцы, вследствие чего увеличивается их проходимость и повышается проницаемость КМ тканей хрусталика. В начале, в результате просачивания жидкости из канальцев КМ ткани хрусталика отекают, появляются водяные щели между волокнами хрусталика. В дальнейшем, с повышением проницаемости КМ и другие продукты обмена, в том числе и белки покидают клетку и в виде агрегатов скапливаются на поверхности КМ, капсул хрусталика и в межклеточной среде. В результате этого хрусталик инфильтрируется и мутнеет- развивается катаракта (Патент \dot{I} 20060112 от 09.10. 2006).

Выводы:

1. Установлено, что первичное звено развития катаракты заключается в ультраструктурных изменениях белковых молекул тканей хрусталика. При этом белковые молекулы теряют спиральную структуру, расширяются их канальцы, становятся видимыми и их оптические срезы-поры, вакуоли кружки, запятые, и т.д.

2. Из-за расширения белковых канальцев увеличивается их проходимость, повышается проницаемость КМ, появляются водяные щели между волокнами, агрегаты на мембранах, что приводит к инфильтрации и помутнению хрусталика.
3. При расширении белковых канальцев и их пор, содержимое клетки хрусталика мигрирует и приводит к увеличению содержания белка в слезе и уменьшению в гомогенате хрусталика, что свидетельствует о нарушении белкового обмена в его тканях.
4. Существует прямая зависимость между повышением проницаемости клеточных мембран хрусталика и нарушением белкового обмена в тканях хрусталика, что подтверждает молекулярное происхождение развития катаракты.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Леус Н.Ф. О пусковых механизмах катарактогенеза // Офтальмол. журнал, 1985, № 7, с.430-434.
2. Логай И.М., Леус Н.Ф. Биофизическая и биохимическая характеристики хрусталика // Катаракта, Киев, 2002, с.55-80.
3. Агаева Т.С.О происхождении начальных биомикроскопических изменений хрусталика и об их роли в развитии катаракты // Офтальмол. Ж., Казахстан, 2010 №4, с.56-63.
4. Несруллаева Г.М., Меликасланова П.С. и соавт. Гистохимическое определение солей калия и кальция в капсуле и в ядре катарактозных хрусталиков у больных сахарным диабетом // Azərbaycan Tibb Jurnalı, 1996, №3 s.11-13.
5. Пири А. и ван Гейнинген Р. Уровень обмена в хрусталике. Биохимия глаза, М.: Медицина, 1963, с.46-57.
6. Пири А.И. и ван Гейнинген Р. Проницаемость хрусталиков // Биохимия глаза, М: Медицина, 1963, с.79-102.
7. Поликар А. Поверхность клетки и процессы обмена со средой. Элементы физиологии клетки, Л.: Наука, 1977, с.82.
8. Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Рошупкин Д.И. и др. Свободные радикалы в живых системах // Итоги науки и техники. Биофизика, 1992. Т.29, № 29, с. 3-2509.
9. Мальцев Э.В. Хрусталик. Москва: Медицина, 1988, 189 с.
10. Маслова И.П. Электронная микроскопия глаза // Вестн. офтальмол., № 4, 1962, с. 60-75
11. Хюбель Д. Мембранный потенциал // Глаз, мозг, зрение, 1990, с.23-25.
12. Агаева Т.С. Изучение проницаемости клеточной мембраны тканей хрусталика при катаракте / Мат. IV Междунар. науч.-практич. конф.: Пролиферативный синдром в офтальмологии, М., 2006, с.55-60.
13. Агаева Т.С. Способ исследования прозрачных сред глаза: Патент I 20060112 от 09.10.2006
14. Агаева Т.С. Данные биомикроскопии по изучению клинических проявлений денатурации белка и проницаемости клеточных мембран хрусталика при катаракте / Мат. Междунар. Науч.о-практич. конф., посвящ. 70 летнему юбилею акад. РАМН М.Т. Азнабаеву, 2009, с. 220-229
15. Агаева Т. С. Катаракта – путь к истине. Баку: Елм, 2010 287 с.
16. Агаева Т.С Молекулярное происхождение начальных признаков катаракты / Мат. Российской Педиатрической офтальмологии, 2010, №1, с.46-49
17. Лениджер А. Молекулярные компоненты мембраны // Биохимия, М., 1974, с.248-251.
18. Von Sallman L. The lens epithelium in the patogenesis of catarakt // The XIII Edward Jackson memorial lecture // Amer.J. Ophthal., 1957, v.42, № 2, p.159-170.
19. Могильницкий Б.Н. Вопросы проницаемости кровеносных капилляров в патологии, М.: Изд-во АМН СССР, 1949, с.19-51.
20. Нестеров А.И. К учению о кровеносных капиллярах и капилляроскопии, как методе их изучения в нормальных и патологических условиях / Известия Томского Государств. университета, Томск, 1929, т.84, с.189
21. Эппингер Г. Серозное воспаление, Киев, 1938, 342 с.
22. Кемп П., Армс К. Ферменты. Введение в биологию, М.: Мир, 1988, с.247-252, 257-260, 262-279.

BİLLURUN HÜCEYRƏ MEMBRANLARININ KEÇİRİCİLİYİNİN ARTMASININ KATARAKTANIN İNKİŞAFINDA ROLUNUN TƏDQIQI

Akademik Zərifə Əliyeva adına Milli Oftalmologiya Mərkəzi, Bakı şəh., Azərbaycan

Açar sözlər: *büllurun hüceyrə membranlarının keçiriciliyi, göz yaşında zülalların miqdarı, büllurda zülalların miqdarı*

XÜLASƏ

Məqsəd – büllurun hüceyrə membranlarının keçiriciliyinin kataraktanın inkişafında rolunun öyrənilməsi.

Material və metodlar

Büllurun hüceyrə membranının keçiriciliyini öyrənmək üçün rəqəmsal bilgisayarlı videobikroskopiya metodundan istifadə etdik. Büllurun hüceyrə membranlarının keçiriciliyinin artmasını təsdiq etmək üçün fotoelektrokolorimetrik metoddan istifadə edib, 59 kataraktalı xəstənin göz yaşında və 45 xəstənin büllur homogenatında zülalların miqdarını təyin etdik.

Nəticələr və onların müzakirəsi

Biomikroskopik müayinlər nəticəsində məlum oldu ki, müxtəlif patogen faktoların təsiri ilə büllur toxumasında zülal molekulları denaturasiyaya uğrayır və nəticədə zülal molekulları və ultrastruktur dəyişikliklər – zülal molekullarının müxtəlif formalı optik kəsikləri meydana çıxır. Nəticədə hüceyrə membranının zülal molekullarından təşkil olunmuş kanalcıqlar genişlir, hüceyrə membranlarının keçiriciliyi artır. İlk öncə hüceyrədaxili mayelər və onda həll olmuş maddələr və ən sonda hüceyrədaxili zülallar büllur hüceyrələrini tərk edib, hüceyrə arası sahəyə çıxır. Büllur hüceyrə membranlarının keçiriciliyinin artmasının kataraktanın inkişafında rolunu bir daha təsdiq etmək məqsədilə apardığımız fotoelektrokolorimetrik müayinələr göstərdi ki, kataraktalı xəstələrin göz yaşında ümumi zülalların miqdarı artır, büllur homogenatında isə azalır. Buna səbəb keçiriciliyin artmasıyla hüceyrədaxili maddələrin hüceyrəni tərk edib büllurun hüceyrə membranları üzərində, hüceyrəarası cəhətdə və bioloji mayelərdə (göz yaşında) toplanmasıdır. Nəticədə büllur toxuması infiltratlaşır və katarakta meydana çıxır (Patent I 20060112, 09.10.2006).

Agayeva T.S.

STUDY OF THE ROLE OF THE LENS CELL MEMBRANES PERMEABILITY IN CATARACT DEVELOPMENT

National Centre of Ophthalmology named after acad. Zarifa Aliyeva, Baku

Key words: *permeability of lens cell membranes of tissues, protein in tear protein in lens*

SUMMARY

Aim – to study of the role of the permeability changes of the lens cell membranes in cataract development.

Material and methods

We used digital computer videobiomicroscope with registration of image (in increasing of biomicroscope x 40). With the purpose of confirmation of the role of the lens cell membranes permeability increasing in cataract development we'd conducted also the photocalibrometric investigations of definition of common protein content in tear in 59 patients, and in homogenate of lens in 45 patients suffering from different stage of cataract development.

Results and discussion

We'd established that under the influence of various pathogenic factors there occur ultrastructural changes of protein molecules of lens tissues, in the result of which their pores and canaliculas widen and the cell membranes permeability increases. Herewith it was established that by increasing of cataract development stage the common protein content in tear increases, but in homogenate of lens it decreases that is associated with of protein from the cell membranes of lens tissues. The cell content is accumulated of fibers, intercellular medium and on the internal surface of lens capsules, in the result of which lens tissue infiltrates and opacificates – cataract develops (Patent I 20060112, 09.10.2006).

ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

Агаева Тамилла Султан кызы, доктор философии по медицине отдела патологии сетчатки и зрительного нерва Национального Офтальмологического Центра имени акад. З. Алиевой

Адрес: AZ 1001, Баку, ул.Мамедалиева, д. 21, кв.16 а,

Тел: (+994 12) 493 42 63; (+994 12) 408 57 19; моб: (+994 70) 740 -72 - 30,

E-mail: tamilla26@mail.ru

Паллада

Олопатадин гидрохлорид 0,1%

Мир без аллергии

Антигистаминный противоаллергический препарат

Обладает двойным действием

Стабилизирует мембраны
тучных клеток

Блокирует H1-гистаминовые
рецепторы

Показания к применению:

- Лечение острых и хронических аллергических заболеваний глаз (конъюнктивитов, блефаритов, кератитов, кератоконъюнктивитов).
- Профилактика сезонных аллергических поражений передних отделов глаз (поллиноз, весенний кератоконъюнктивит, сенная лихорадка).



Глазные капли 5 мл