

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ХРУСТАЛИКЕ И ТКАНЯХ ПРИ РАЗВИТИИ КАТАРАКТЫ У КРОЛИКОВ, ВЫЗВАННОЙ ПРООКСИДАНТАМИ (клинико-экспериментальное исследование)

Высшее государственное учебное заведение Украины «Украинская медицинская
стоматологическая академия» (г. Полтава)

peraanna@mail.ru

Данное исследование является фрагментом плановой научно-исследовательской работы «Диагностика и лечение заболеваний глаза», № государственной регистрации 0105000316.

Вступление. Одной из наиболее распространенных причин потери зрения у человека является помутнение хрусталика-катаракта. В значительной мере этому заболеванию подвержены пожилые люди, но в последнее время наблюдается увеличение количества больных в более раннем возрасте.

Среди многочисленных теорий, пытающихся объяснить причины возникновения старения и катаракты, в последние годы ведущую роль заняла свободнорадикальная теория Н.М. Эмануэля (1975-1987). Свободнорадикальная теория старения связывает причины возрастных изменений с молекулярными повреждениями мембран и генетического аппарата клетки, свободными радикалами и продуктами перекисного окисления липидов [2,3,4].

Одним из ведущих патогенетических факторов катарактогенеза является нарушение третичной структуры белков хрусталика. В стабилизации этих структур активно участвуют гидрофобные взаимодействия, сульфгидрильные группы и дисульфидные связи. Они в свою очередь очень чувствительны к воздействию свободных радикалов и перекисей [5,6,7].

Пусковые механизмы СРО объясняются срывом физиологической антиоксидантной системы. Как показано в работе О.Н. Воскресенского, В.Н. Бобырева (1988), факторами срыва могут быть зимне-весенний дефицит алиментарных биоантиоксидантов, физические перегрузки, избыток калорий пищи, поступление прооксидантов, возрастное падение антиоксидантной защиты.

Перекисная концепция катарактогенеза является теоретической базой для испытания препаратов антиоксидантного действия при старческой катаракте.

В работах Т.А. Девяткиной (1978-1990), В.Н. Бобырева (1980-1990) были изучены ангиопротекторные свойства некоторых природных и синтетических препаратов антиоксидантного действия-флакумина, аскорбиновой кислоты, селена, цистамина [8,9,10].

Основной функцией свободнорадикальных ингибиторов таких как антиоксиданты в биологических процессах является обрыв цепного

свободно-радикального окисления (СРО). Антиоксиданты могут эффективно подавлять СРО при различных видах патологии, связанной с развитием перекисного окисления липидов (ПОЛ) [11,12,13].

Процесс неферментативного окисления ингибируется физиологической антиоксидантной системой (ФАС). Она включает неферментативные антиоксиданты и антиоксидантные ферменты, к ним относятся препараты антиоксидантов: токоферол, липоевая кислота, глутатион, цистамин.

Многочисленные исследования позволили детально исследовать механизмы действия физиологической антиоксидантной (ФАС) и ингибирование ею свободно-радикального окисления. На основании этих исследований была разработана схема ФАС хрусталика и окружающих его сред.

В регуляции ФАС участвуют ферментные системы, осуществляющие утилизацию супероксидных анион-радикалов (СОД), перекиси водорода (каталаза, гемсодержащие пероксидазы) и липопероксидов (глутатионпероксидаза, глутатион-s-трансфераза), а также энзимные системы биорегенерации природных антиоксидантов (аскорбат-зависимая система восстановления радикалов L-токоферола с участием НАД).

Исследования последних лет показали, что в процессах развития возрастной катаракты значительное место занимает нарушение синтеза глутатиона. По мнению авторов это связано с низким уровнем аминокислот, а также сниженной активностью ферментов синтеза ее в катарактальных хрусталиках [14,15].

Целью работы явилось изучение процессов перекисного окисления липидов при экспериментальной катаракте, вызванной содержанием животных на препарате прооксидантного действия деларгин.

Объект и методы исследования. Экспериментальное исследование было проведено на кроликах породы Шиншилла. Содержание животных и эксперименты проводились согласно положений «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментов и других научных целей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», утвержденных Первым национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001).

Таблица 1
Биохимические показатели в тканях интактных животных

Показатель	Кровь	Хрусталик	Стекловидное тело
Малоновый диальдегид, мм	0,10±0,008 p<0,05	5,08±0,12 p<0,01	2,59±0,10 p<0,001
Перекисная резистентность эритроцитов, %	10,50±0,6 p<0,001	-	-
Глутатион, мм общий восстановленный окисленный	9,07±0,23 6,25±0,12 2,82±0,07	26,50±2,30 16,15±1,10 10,35±0,90	6,75±1,38 4,95±0,75 1,80±0,12
Глутатионпероксидаза, ед./г, ед./мл	3,05±0,28 p<0,05	3,30±0,16 p<0,001	1,50±0,08 p<0,05
Глутатионредуктаза, ед./г, ед./мл	2,58±0,32 p<0,05	3,70±0,38	1,56±0,11
Супероксиддисмутаза, ед./г, ед./мл	2,26±0,12 p<0,001	2,56±0,32 p<0,001	1,33±0,18 p<0,05
Показатель оптической плотности, ед. экст.		0,230±0,008 p<0,001	0,304±0,05 p<0,001

Таблица 2
Биохимические показатели в тканях животных с прооксидантной катарактой

Показатель	Кровь	Хрусталик	Стекловидное тело
Малоновый диальдегид, мм	0,14 ± 0,08 p<0,01	12,5 ± 0,14 p<0,001	6,25 ± 0,12 p<0,001
Перекисная резистентность эритроцитов, %	24,5 ± 2,3 p<0,001	-	-
Глутатионпероксидаза, ед./г, ед./мл	1,28 ± 0,15 p<0,001	2,12 ± 0,18 p<0,001	1,08 ± 0,14 p<0,001
Глутатионредуктаза, ед./г, ед./мл	1,58 ± 0,42 p<0,05	2,42 ± 0,28 p<0,01	1,02 ± 0,15 p<0,001
Супероксиддисмутаза, ед./г, ед./мл	1,09 ± 0,15 p<0,001	1,35 ± 0,22 p<0,05	0,95 ± 0,12 p<0,001
Показатель оптической плотности, ед. экст.	-	0,453 ± 0,01 p<0,05	0,484 ± 0,05 p<0,001

20 кроликов составили 1-ю интактную серию, кролики данной группы получали рацион вивария в течение 100 дней. 30 кроликов 2-ой контрольной серии получали прооксидант делагил, вызывающий развитие экспериментальной катаракты. Всем животным были проведены методы исследования состояния антиоксидантной системы (АОС) в крови, хрусталике и стекловидном теле. Проведены исследования состояния основных показателей АОС-малоновый диальдегид, перекисная резистентность эритроцитов, содержание глутатиона, глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы, супероксиддисмутазы, показатель оптической плотности.

Результаты исследований и их обсуждения. Влияние препаратов прооксидантного действия на течение экспериментальной катаракты изучали у кроликов самцов и самок породы Шиншилла. Животных

всех серий содержали на общем рационе вивария. 20 кроликов 1-й интактной серии получали рацион вивария в течение 100 дней. Забивали животных параллельно контрольной и опытным сериям.

2-ю контрольную серию составили 30 кроликов, получавших прооксидант делагил в дозе 0,1 г/кг массы тела per os в течение 100 дней дополнительно к общему рациону вивария. Величины биохимических показателей животных 1-й интактной серии были приняты за норму. Данные представлены в таблице 1.

Введение прооксиданта привело к развитию у кроликов 2-й контрольной серии синдрома перекисаации, что выразилось в повышении уровня МДА в крови, хрусталике, стекловидном теле. При этом содержание общего и восстановленного глутатиона в крови, хрусталике и стекловидном теле значительно снизилось по сравнению с показателями 1-й интактной группы.

У животных 2-й контрольной серии также снизилась обеспеченность гидрофобными антиоксидантами. Уровень ПРЭ значительно нарастал: у интактных животных 1-й контрольной серии к 100-у дню опытов - 10,5±0,6%; у животных 2-й контрольной серии, получавших делагил, - 24,5±2,3% (p<0,001).

К 100-у дню опытов выявили также выраженное снижение активности антиоксидантных ферментов в хрусталике, крови и стекловидном теле.

В хрусталике и стекловидном теле резко повысилась к 100-у дню опытов оптическая плотность у животных 2-й контрольной серии, - в хрусталике до 0,453 ± 0,01 и стекловидном теле до 0,484 ± 0,05 ед. экст. Данные предоставлены в таблице 2.

Анализ литературы последних лет свидетельствует о ведущей роли СРО в патогенезе старческой катаракты. Ее моделирование посредством индуцирования СРО липидов и белков хрусталика хлорорганическим прооксидантом – делагилом – привело к развитию катарактальных изменений в хрусталике. Развитие прооксидантой катаракты сопровождалось биохимическими

изменениями, резким повышением оптической плотности хрусталика и стекловидного тела.

Выявили усиление СРО в хрусталике, стекловидном теле и крови у кроликов с прооксидантной катарактой. Этот факт указывает на важную роль СРО в патогенезе возрастной катаракты.

Выводы. Таким образом, проведенное нами исследование установило, что длительное поступление прооксиданта делагил индуцирует процессы свободнорадикального окисления в хрусталике и других тканях и является ведущим механизмом развития прооксидантной катаракты.

Перспективы дальнейших исследований. Экспериментальная катаракта, вызванная прооксидантом делагил, может быть использована в дальнейшем для изучения действия препаратов антиоксидантного действия в лечении катаракты.

Литература

1. Афанасьев И.Б. Кислородные радикалы в химии, биологии и медицине / И.Б. Афанасьев. – М., 1988. – С. 9-24.
2. Бабижаев М.А. Накопление продуктов перекисного окисления липидов в хрусталике при созревании катаракты / М.А. Бабижаев // Вопр. мед. химии. – 1985. - № 6. – С. 100–104.
3. Бабижаев М.А. Свободнорадикальное окисление липидов и белков хрусталика при катарактогенезе / М.А. Бабижаев, А.И. Деев // Биофизика. – 1986. – Т. 36, № 1. – С. 109–114.
4. Бобырев В.Н. Свободнорадикальное окисление в патогенезе заболеваний, сопряженных со старением / В.Н. Бобырев // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 1989. - № 5. - С. 90–94.
5. Бобырев В.Н. Изменения активности антиоксидантных ферментов при экспериментальном синдроме пероксидации у кроликов / В.Н. Бобырев, О.Н. Воскресенский // Вопр. мед. химии. – 1982. – Т. 28, № 2. – С. 75-78.
6. Воскресенский О.Н. Свободнорадикальное окисление, антиоксиданты и атеросклероз / О.Н. Воскресенский // Кардиология. – 1981. – Т. 21, № 6. – С. 118- 121.
7. Воскресенская Л.К. Применение комплекса антиоксидантов в лечении старческой катаракты / Л.К. Воскресенская, Д.Г. Плюшко, В.В. Корниенко // Тез. докл., Полтава. – 1986. – С. 193-194.
8. Девяткина Т.А. Влияние ионола на развитие экспериментального атеросклероза / Т.А. Девяткина // Докл. Акад. наук СССР. – 1978. – Т. 242, № 2. – С. 449–452.
9. Девяткина Т.А. Биоантиоксиданты и стресс / Т.А. Девяткина // Биоантиоксиданты и свободнорадикальная патология. – Полтава, 1987. – С. 12 - 19.
10. Девяткина Т.А. Антиоксиданты в профилактике стрессорных повреждений в онтогенезе / Т.А. Девяткина, Л.М. Тарасенко, Ю.В. Безуглый // 5–й Всес. съезд геронт. и гериатров. - Тбилиси, 22–25 ноября 1988: Тез. и реф. докл.– 1988. - Ч. 1. – С. 192.
11. Воскресенская Л.К. Сравнительная характеристика изменений состояния антиоксидантной системы у здоровых лиц и больных старческой катарактой / Л.К. Воскресенская // Тез. докл. – Полтава, 1989. – С. 115–116.
12. Набиль Аслам. Коррекция процессов синтеза глутатиона для стабилизации прогрессирования возрастной катаракты : автореф. дисс. на соискание научной степени канд. мед. наук : спец. 14.01.18 «Офтальмология» / Набиль Аслам. - Одесса, 2010. – 18 с.
13. Леус Н.Ф. Влияние глутамата, цистеина, и глицина на развитие экспериментальной катаракты / Н.Ф. Леус, Аслам Набиль, А.А. Путиенко // Офтальмол. журн. – 2008. - № 2. – С. 58–62.
14. Леус Н.Ф. Активность ферментов синтеза глутатиона в хрусталиках при различных клинических формах и скорости прогрессирования возрастной катаракты / Н.Ф. Леус, Аслам Набиль, А.А. Путиенко // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології: збірник наукових праць. – 2008. – Вип. 3–4, № 84–85. – С. 197–202.
15. Путиенко А.А. Изучение активности ферментов синтеза глутатиона в хрусталике при различных клинических формах и скорости прогрессирования возрастной катаракты / А.А. Путиенко, Аслам Набиль // Филатовские чтения: научно–практическая конференция офтальмологов с международным участием, 28–29 мая 2009 г. – Одесса, 2009. – С. 71-72.

УДК 617, 741 – 053. 9 – 08

БІОХІМІЧНІ ЗМІНИ В КРИШТАЛИКУ І ТКАНИНАХ ПРИ РОЗВИТКУ КАТАРАКТИ У КРОЛИКІВ, ВИКЛИКАНОЇ ПРООКСИДАНТАМИ (клініко-експериментальне дослідження)

Воскресенська Л.К., Безкоровайна І.М., Ряднова В.В., Пера-Васильченко А.В.

Резюме. Наведено дані експериментальних досліджень на кроликах з моделлю експериментальної катаракти. Досліджено основні показники антиоксидантної системи кришталіка, крові, склоподібного тіла. В результаті проведених досліджень встановлено, що тривалий вступ прооксиданта делагил індукує процеси вільнорадикального окиснення в кришталіку і інших тканинах і є тяговим механізмом розвитку прооксидантної катаракти.

Модель експериментальної катаракти може бути використана для досліджень препаратів, що гальмують розвиток катаракти.

Ключові слова: катаракта, антиоксиданти, делагил.

УДК 617, 741 – 053. 9 – 08

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ХРУСТАЛИКЕ И ТКАНЯХ ПРИ РАЗВИТИИ КАТАРАКТЫ У КРОЛИКОВ, ВЫЗВАННОЙ ПРООКСИДАНТАМИ (клинико-экспериментальное исследование)

Воскресенская Л.К., Безкоровайная И.Н., Ряднова В.В., Пера-Васильченко А.В.

Резюме. Приведены данные экспериментальных исследований, проводимых на кроликах с моделью экспериментальной катаракты. Исследованы основные показатели антиоксидантной системы хрусталика, крови, стекловидного тела. В результате проведенных исследований установлено, что длительное поступление прооксиданта делагил индуцирует процессы свободнорадикального окисления в хрусталике и других тканях и является ведущим механизмом развития прооксидантной катаракты.

Модель экспериментальной катаракты может быть использована для исследований препаратов тормозящих развитие катаракты.

Ключевые слова: катаракта, антиоксиданты, делагил.

UDC 617, 741 – 053.9 – 08

Biochemical Changes in Lens and Eye Tissues, Development of Rabbit's Cataract, Induced by Pro-oxidants (Clinical and Experimental Study)

Voskresenskaya L.K., Bezkorovaynaya I.N., Ryadnova V.V., Pera-Vasilchenko A.V.

Abstract. The aim of the work was to study the lipid peroxidation at an experimental cataract caused by the maintenance in animals in the formulation of pro-oxidant action of delargin.

An experimental study was conducted on chinchillas rabbits. 20 rabbits were 1-st intact series, they received a diet of vivarium for 100 days. 30 rabbits of second control series received prooxidants delagil, causes the development of an experimental cataract. All animals have been conducted research methods state of the antioxidant system (AOS) in the blood, the lens and the vitreous humor. Researches of the basic indicators of the state of EPA-malondialdehyde, erythrocyte resistance peroxide, glutathione, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, an indicator of the optical density.

Have been conducted research methods of antioxidant system (AOS) of the blood, lens and vitreous humor for all animals. Researches of the basic indicators of the state of EPA-malondialdehyde, erythrocyte resistance peroxide, glutathione, glutathioneperoxidase, superoxidisedismutase, an indicator of the optical density.

Results and discussion. Influence of drugs on the prooxidant action for an experimental cataract was studied in male and female rabbits breed chinchillas. The animals were kept on all series of the total diet of the vivarium. 20 rabbits 1st series intact received vivarium diet for 100 days. Animals were sacrificed in parallel control and experimental series. 2nd control series consisted of 30 rabbits treated with prooxidant delagil at 0.1 g / kg body weight per os during 100 days, in addition to a general vivarium ration. The values of biochemical parameters of animals in 1st intact series were taken as the norm.

Introduction of prooxidant led to the development of peroxidation syndrome in rabbits of the 2nd test series, which resulted in increasing of the level of MDA in blood, lens, vitreous body. The content of total and reduced glutathione levels in lens, vitreous body and blood significantly decreased as compared with the 1st group intact.

Animals of 2nd test series also decreased availability of hydrophobic antioxidants. Level of PRE grew significantly: in intact animals of the 1st control series up to 100-day of research it was $10,5 \pm 0,6\%$; in animals of 2nd control series receiving delagil, $-24,5 \pm 2,3\%$ ($r < 0,001$).

On the 100th day of the experiment we have also revealed marked reduction in the activity of antioxidant enzymes in the lens, vitreous body and blood.

Up to 100-day of research optical density of the lens and vitreous body has risen sharply in the animals of 2nd test series - in the lens to $0,453 \pm 0,01$ and vitreous to $0,484 \pm 0,05$ units. ext. An analysis of recent literature shows the leading role of the CPO in the pathogenesis of age-related cataracts. Her modeling by inducing SRO lipids and proteins of the lens with organochlorine pro-oxidant delagil - led to the development of cataract lens changes. The development of pro-oxidants cataract accompanied by biochemical changes, a sharp increase in the optical density of the lens and vitreous.

Revealed increased of CPO in lens, vitreous body and blood in rabbits with prooxidation cataracts. This indicates an important role of pathogenesis of age-related cataracts.

Conclusions. In such a way, our research found that long-term supply of prooxidant delagil to the body, induces processes of free radical oxidation of lens and other tissues of the eye, and is the leading mechanism of prooxidant cataracts.

Prospects for further research. Experimental cataracts, stimulated by pro-oxidant delagil, can be used in the future to study the effects of antioxidant action of drugs in the treatment of cataracts.

Keywords: cataract, antioxidants, delagil.

Рецензент – проф. Кочина М.Л.

Стаття надійшла 25.05.2015 р.