

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

Украинская медицинская стоматологическая академия, Полтава, Украина

Voskresenskaya L., Ryadnova V., Bezkorovaynaya I., Bezega N., Pera-Vasylchenko A.

Ukrainian Medical Dental Academy, Poltava, Ukraine

***Роль процессов свободнорадикального окисления в развитии экспериментальной диабетической катаракты***

**The role of the free radical oxidation processes in the development of experimental diabetic cataract**

----- Резюме -----

Одной из основных моделей сахарного диабета в эксперименте является аллоксановая модель. Катарактогенное действие аллоксана как препарата, вызывающего диабет и диабетическую катаракту, связывают с его свободнорадикальным воздействием на белки хрусталика. Обнаружение участия свободнорадикального окисления в возникновении диабета и диабетической катаракты может быть основанием для исследования противокатарактальных свойств природных и синтетических антиоксидантов на развитие экспериментальной диабетической катаракты у крыс с аллоксановым диабетом.

**Ключевые слова:** хрусталик, диабетическая катаракта, аллоксан.

----- Abstract -----

One of the main models of diabetes in the experiment is alloxan model. Cataractogenic effect of alloxan as a drug which causes diabetes and diabetic cataract is associated with its free-radical effect on the proteins of the lens. Detection of involvement of free radical oxidation in the occurrence of diabetes and diabetic cataract was the basis for the study of anticataract properties of natural and synthetic antioxidants on development of experimental diabetic cataract in rats with alloxan diabetes.

**Keywords:** lens, diabetic cataract, alloxan.

**ВВЕДЕНИЕ.** Благодаря успехам современной науки увеличилась продолжительность жизни. Даже в развивающихся странах замечена эта тенденция. Соответственно увеличилось число людей, у которых снижается зрение от катаракты. Согласно прогнозу ВОЗ на ближайшие 20 лет количество пациентов с катарактой может увеличиться в 4-5 раз, что в полной мере объясняет актуальность изучения патогенеза старческих и диабетических катаракт. Исследования последних лет показали, что в развитии катаракты важное место занимают процессы свободнорадикального окисления (СРО) в хрусталике [1-6]. Однако несмотря на большое число исследований, представления о патогенезе диабетической катаракты остаются весьма противоречивыми. Исследование роли биохимических процессов в хрусталике имеет первостепенное значение для определения причин ее возникновения, а также для решения вопросов консервативного лечения катаракты. Установленное в работах Н.М. Эмануэля положение о том, что многие болезни старения могут быть в той или иной степени связаны со свободнорадикальными механизмами геронтогенеза, подтверждает необходимость изучения проблемы диабетической катаракты с точки зрения развития процессов СРО в хрусталике.

Выявлены условия, при которых СРО интенсивно проявляются при различных видах патологии:

- 1) снижение содержания в тканях экзогенных антиоксидантов (АО), таких как токоферол, аскорбиновая кислота, флакумин, селен и др., особенно в зимне-весенний сезон [7, 8];
- 2) избыточное поступление жиров и углеводов при низких энергозатратах [9, 10];
- 3) усиление ультрафиолетового облучения, повышение радиоактивного фона [11];
- 4) загрязнение окружающей среды с поступлением в организм

таких прооксидантов, как пестициды, фотохимические продукты и др.;

- 5) стресс с выделением в кровь и ткани избыточного количества кислорода и жирных кислот [12,13];
- 6) падение активности антиоксидантной системы, связанное со старением организма [14,15].

В последние годы рядом исследователей доказано, что у животных с моделью воспроизведения сахарного диабета значительно усилены процессы СРО [16-18]. Наличие у пациентов с сахарным диабетом сосудистых нарушений, в том числе и диабетических ретинопатий, дает возможность предположить наличие сходства этих и других процессов, в основе которых лежат нарушения механизмов СРО (атеросклероз, диабетическая катаракта и др.). Одной из основных моделей сахарного диабета в эксперименте является аллоксановая модель. Считают, что эффективность данной модели связана с токсическим эффектом аллоксана, вызывающим продукцию высокоактивных гидроперекисных радикалов [19, 20].

Показано, что изменения в клетке при аллоксановом диабете приводят к окислительно-восстановительным реакциям, в результате которых генерируется перекись водорода и активизируется СРО. У пациентов с сахарным диабетом один из путей нарушения метаболизма связан со снижением активности пентозофосфатного пути - основного источника НАДФН. Это в свою очередь снижает активность системы антиоксидантной защиты [21,22].

В хрусталике глаза при катаракте у пациентов с инсулинзависимым сахарным диабетом повышение гликолизирования белков, измеренное по образованию продуктов в реакции Майяра, играют важную роль в этиологии диабетической катаракты [22].

У пациентов с сахарным диабетом установили недостаточность физиологической антиоксидантной системы (ФАС), проявляющуюся в

снижении обеспеченности антиоксидантами (глутатионом, аскорбиновой кислотой, токоферолом и др.) и умеренную гиперлипидемию [24]. Показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ), исследуемые у пациентов с сахарным диабетом, в значительной степени превышали величины нормы [20].

Установлено, что в развитии диабетической катаракты в значительной мере участвуют те же факторы, что и в индукции старческой катаракты. Найдена тесная связь между развитием диабета, диабетической и старческой катаракты.

Ввиду того, что диабет протекает на фоне общего старения организма, возник интерес к изучению влияния природных и синтетических антиоксидантов прямого и непрямого действия на углеводный обмен, перекисное окисление, антиоксидантную обеспеченность, в том числе активность антиоксидантных ферментов, оптические свойства хрусталика при экспериментальном аллоксановом диабете, которую в дальнейшем можно будет использовать для этих целей.

**ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ.** Изучение катарактогенного действия аллоксана как препарата, вызывающего диабет и диабетическую катаракту в эксперименте у крыс.

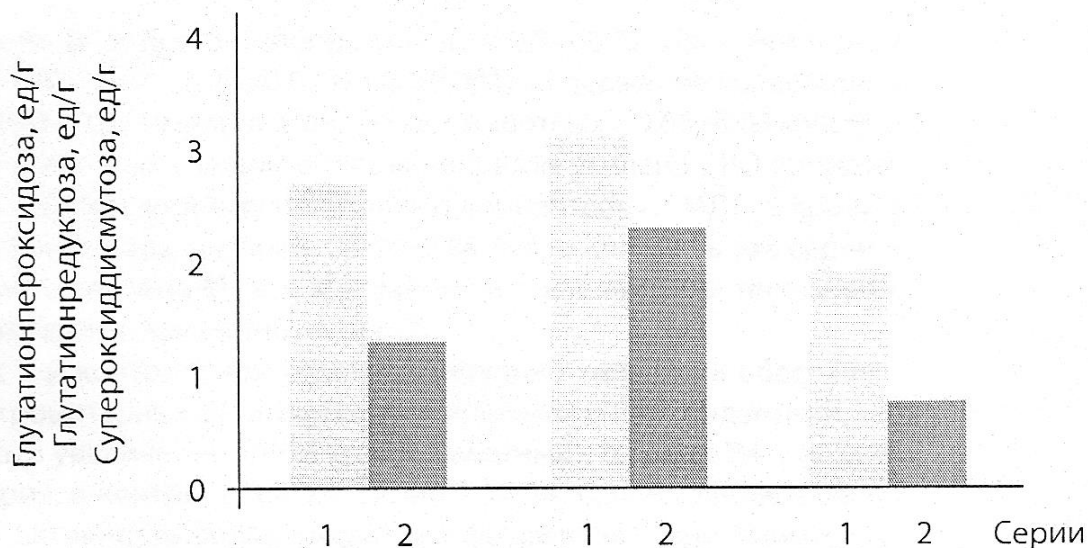
**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** Исследования были проведены на 55 крысах - самцах линии Ви-стар, 10 крыс I серии - интактные. На протяжении всего опыта животные содержались в условиях вивария. Их биохимические показатели были приняты за норму. 45 крыс II серии составили контрольную серию. У них воспроизводили сахарный диабет путем введения аллоксангидрата фирмы басБета, внутрибрюшинно в виде 5%-го раствора, в дозе 15 мг/100 г массы тела. Забивали животных на 21-й день после начала введения аллоксана. В крови, хрусталике и стекловидном теле определяли показатели, представленные в таблице.

## Биохимические методы исследования

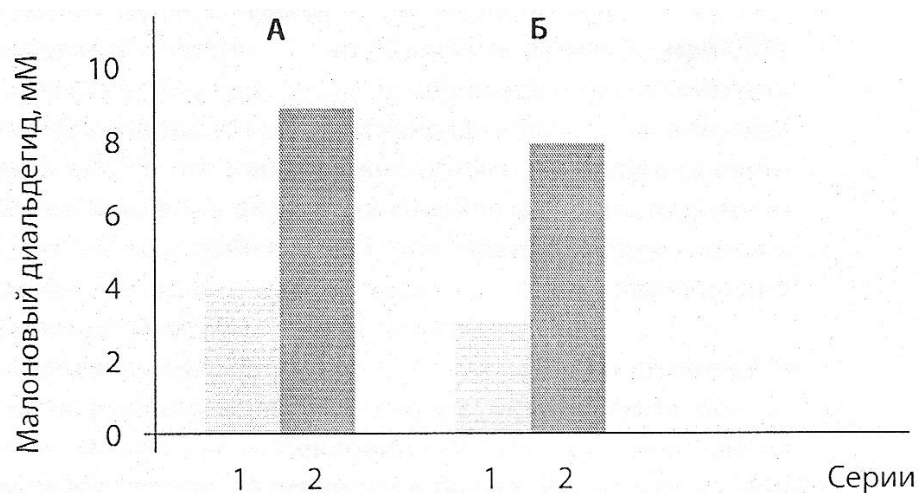
Метод	Объект исследования
Малоновый диальдегид (МДА), мМ	Хрусталик, стекловидное тело, кровь
Перекисная резистентность эритроцитов (ПРЭ), %	Кровь
Супероксиддисмутаза (СОД), ед/г	Хрусталик, стекловидное тело, кровь
Глутатионпероксидаза, ед/г	Хрусталик, стекловидное тело, кровь
Глутатионредуктаза, ед/г	Хрусталик, стекловидное тело, кровь
Холестерин, ммоль/л	Сыворотка
Липопротеиды ((3- и прс-(3), г/л	Сыворотка
Оптическая плотность хрусталика, ед. экст	Хрусталик, стекловидное тело

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.** Биохимические исследования, проведенные у животных интактной серии, показали, что концентрация общего холестерина в крови составила  $0,66 \pm 0,04$  ммоль/л, р- и пре-р ипопротеидов -  $0,70 \pm 0,02$  г/л. Уровень ПРЭ в крови составил  $6,32 \pm 0,67\%$ . Содержание МДА в хрусталике -  $3,98 \pm 0,2$  мМ, в стекловидном теле -  $2,56 \pm 0,04$  мМ, в крови -  $0,098 \pm 0,04$  мМ. Активность антиоксидантных ферментов представлена на рис. 1. Оптическая плотность хрусталика и стекловидного тела равнялась соответственно -  $0,168 \pm 0,02$  ед. экст. и  $0,120 \pm 0,03$  ед. экст.

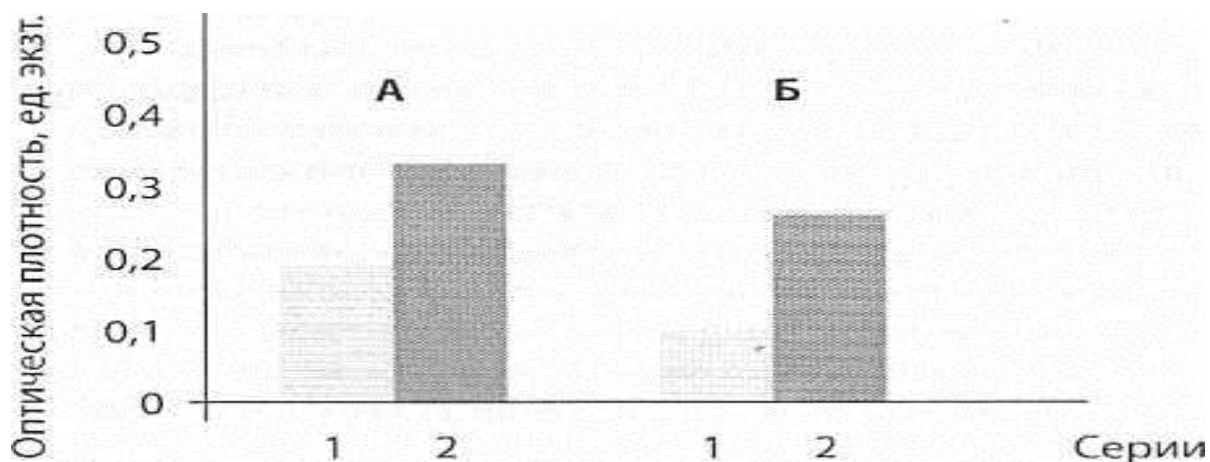
Контрольную серию составили 45 крыс 2-й серии с воспроизведением аллоксанового диабета. Введение аллоксана вызвало ряд изменений, соответствующих диабету, и сопровождалось полиурией, снижением массы тела, катарактальными помутнениями в хрусталике, изменениями биохимических показателей в крови, хрусталике и стекловидном теле животных. У животных 2-й контрольной серии, получивших аллоксан, обнаружена гиперлипидемия и гиперхолестерине-



**Рис. 1.** Активность антиоксидантных ферментов в хрусталике у крыс с аллоксановым диабетом (2-я серия). 1 - интактные, 2 - аллоксан



**Рис. 2.** Уровень малонового диальдегида в хрусталике (А) и стекловидном теле (Б) у крыс с аллоксановым диабетом (2-я серия). 1 - интактные, 2 – аллоксан



**Рис. 3.** Оптическая плотность хрусталика (А) и стекловидного тела (Б) у крыс с аллоксановым диабетом (2-я серия). 1 - интактная серия, 2 – аллоксан

мия: уровень (3- и пре-(3-липопротеинов -  $0,84 \pm 0,02$  г/л, у интактных животных 1-й серии -  $0,70 \pm 0,02$  г/л ( $p < 0,001$ ); содержание холестерина в крови -  $0,81 \pm 0,03$  ммоль/л, у интактных животных -  $0,66 \pm 0,04$  ммоль/л ( $p < 0,05$ ). У животных с аллоксановым диабетом усилено СРО липидов, что видно по достоверному повышению концентрации МДА: в крови у животных показатель составил  $0,098 \pm 0,04$  мМ, в контрольной серии -  $0,21 \pm 0,06$  мМ. Уровень МДА в хрусталике и стекловидном теле значительно повышался, как видно на рис. 2.

У крыс 2-й контрольной серии значительно снизилась обеспеченность эритроцитарных мембран гидрофильными антиоксидантами, что отразилось в увеличении ПРЭ в крови животных -  $6,32 \pm 0,67\%$  - интактная 1-я серия, в контрольной 2-й серии -  $12,24 \pm 0,32\%$ . Одновременно снизилась активность антиоксидантных ферментов в хрусталике, стекловидном теле, животных 2-й контрольной серии (рис. 1). Оптическая плотность хрусталика и стекловидного тела резко повысилась по сравнению с показателями интактной серии (рис. 3).

Нами получены данные, подтверждающие, что введение аллоксана вызывает у крыс гиперлипидемию, в том числе гиперхолестеринемию, что в значительной степени можно объяснить активизацией СРО. У животных с аллоксановым диабетом ухудшилась обеспеченность мембран эритроцитов

гидрофобными антиоксидантами. Выявлено резкое снижение уровня ПРЭ, что также можно объяснить индуцированием ПОЛ аллоксаном. Введение аллоксана снизило активность антиоксидантных ферментов в хрусталике (рис. 1), стекловидном теле и крови, и тем самым усилило катарактогенный эффект, который проявился в резком повышении оптической плотности в хрусталике.

Введение аллоксана сопровождалось выраженным снижением активности супероксиддисмутазы, глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы в крови, хрусталике и стекловидном теле, что объясняется возникновением диабетических изменений в тканях при аллоксановом диабете. Считают, что при введении аллоксана резко возрастает продукция супероксиданионрадикалов, которые в свою очередь повреждают клетки островкового аппарата поджелудочной железы [19].

**ВЫВОДЫ.** Нами было установлено, что модель экспериментального сахарного диабета и диабетической катаракты, воспроизводимая путем введения аллоксангидрата, приводит к активизации процессов перекисного окисления липидов и свободнорадикальными процессами в тканях хрусталика, стекловидного тела и крови. Повышение оптической плотности в хрусталике доказывает, что процессы, возникающие при экспериментальном аллоксановом диабете, приводят к возникновению катарактальных изменений в хрусталике. Данная экспериментальная модель катаракты может быть использована для исследования эффективности противокатарактальных препаратов при диабетической катаракте.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Babidzhaev M. (1985) Nakoplenie produktov perekisnogo okisleniya lipidov v hrustalike pri sozrevanii katarakty [Accumulation of the products of lipid peroxidation in the crystalline lens in cataract maturation]. *I/opr. med. himii*, no 6, pp. 100-104.
2. Babidzhaev M., Deev A. (1986) Svobodnoradikal'noe okislenie lipidov i belkov hrustalika pri kataraktogeneze [Free radical oxidation of lipids and proteins of



- the crystalline lens in cataractogenesis], *Biofizika*, vol. 36, no 1, pp. 109-114.
3. Voskresenskaya L. (1989) *Sravnitel'naya harakteristika izmenenij sostoyaniya antioksidantnoj sistemy u zdorovyh lie i bol'nyh kataraktoj* [Comparative characteristics of changes of antioxidant system in healthy people and patients with cataract], (Tez. dokl), Poltava, pp. 115-116.
  4. Voskresenskij O. (1996) Vliyanie prirodnyh antioksidantov na patologicheskie processy, svyazanye so stareniem [Influence of natural antioxidants on pathological processes connected with aging], *Obshhieproblemy biologii. vol. 5.* Moscow, pp. 163-201.
  5. Bobyrev V., Voskresenskij O. (1999) Antioksidanty v klinicheskoy praktike [Antioxidants in clinical practice]. *Terapevt. Arhiv*, vol. 61, no 61, no 3, pp. 112-125.
  6. Bobyrev V. (1989) Svobodnoradikal'noe okislenie v patogeneze zabolevanij, sopryazhennyh so stareniem [Free radical oxidation in pathogenesis of diseases connected with aging]. *Patol. fiziologiya i e'ksperim. terapiya*, no 5, pp. 90-94.
  7. Voskresenskij O., Devyatkina T. (1981) E'lementarnye faktory v geneze ateroskleroza [Elementary factors in the genesis of atherosclerosis], *1/opr. pitaniya*, no 1, pp. 42-44.
  8. Spirichev V.V. (1998) Biohimiya vitaminov na sovremennom etape: teoreticheskie i prakticheskie aspekty [Biochemistry of vitamins at the present stage: theoretical and practical aspects]. VV ses. biohimicheskij s'ezd: Tez. Dokl. Vol.1, Moscow: Hayka, pp. 276-277. (in Russian).
  9. Splavskij O. (1992) E'ffektivnost' vitamina E v kormpleksnoj terapii u bol'nyh saharnym diabetom [Effectiveness of the vitamin E in complex therapy of patients with diabetes], *1/opr. pitaniya*, no 6, pp. 36-39.
  10. Voskresenskij O., Bobyrev V. (1981) E'ksperimental'nyj ateroskleroz u krolikov [Experimental atherosclerosis in rabbits]. *1/opr. pitaniya*, no 1, pp. 42-44.
  11. Goryunov A., Roshhupkin I. (1989) Perekisnoe okislenie lipidov v trombocitah, inducirovannoe UV - izlucheniem [Lipid UV-induced peroxidation

- in platelets]. *Biolog.membrany*, vol. 6, no 5, pp. 551-554.
12. Merson F. (1981) *Adaptaciya, stres i profilaktika* [Adaptation, stress and prevention]. Moscow: Nauka, pp. 278. (in Russian).
  - Devyatkina T. (1987) *Bioantioksidanty i svobodnoradikal'naya patologiya* [Bioantioxidants and free radical pathology]. Poltava, pp. 12-19.
  13. Bobyrev V., Voskresenskij O. (1982) *Izmenenie aktivnosti antioksidatnyh fermentov pri e'ksperimental'nom sindrome peroksidacii u krolikov* [Changes of antioxidant enzyme activity in experimental syndrome of peroxidation in rabbits]. *1/opr. med. himii*, vol. 28, no 2, pp.75-78.
  14. Pagosyan G. (2003) *Ingibirovanie lipidnoj peroksidacii superoksididismutazoj i ceruloplazmi- nom* [Inhibition of lipid peroxidation with superoxide dismutase and ceruloplasmin]. *Biohimiya*, vol. 48, no 7, pp. 1129-1134.
  15. Nikolaeva M., Parhimovich R. (2006) *Citotoksichnost'alloksana: novyj aspekt problemy* [Cytotoxicity of alloxan: new aspect of the problem]. *Probl. e'ndokrinologii*, vol. 32, no 3, pp. 75-80.
  16. Obuhova L., E'manueTN. (1983) *Rol'svobodnoradikal'nyh reakcij v molekulyarnyh mehanizmah stareniya zhivyh organizmov* [Role of free radical reactions in molecular mechanisms of aging of living organisms]. *Uspehihimii*, vol. 52, no 3, pp. 353-372.
  17. Ivanov V., Vaseneva I., Udincev N. (1984) *Perekisnoe okislenie lipidov v pecheni krys pri al- loksanovom diabete* [Lipid peroxidation in rat liver in alloxan diabetes]. *Probl. e'ndokrinologii*, vol. 30, no 1, pp. 70-73.
  18. Ivanov V., Udincev N., Dusta I. (1987) *Vliyanie perekisnogo okisleniya lipidov na uroven<sup>1</sup> insulina i ego receptorov. Svobodnye radikaly i biostabilizatory* [Influence of lipid peroxidation on the level of insulin and its receptors].Sofiya, pp. 63.
  19. Efimov A. (1985) *K patogenezu diabeticheskikh angiopatij* [Pathogenesis of diabetic angiopathies], *Probl. e'ndokrinologii*, vol. 31, no 5, pp. 55-59.
  20. Bobyreva L., Rij N. (1997) *Vliyanie preparatov antioksidantnogo dejstviya*

*na pokazateli perekisnogo i uglevodnogo obmenov u bol'nyh saharnym diabetom [Influence of medicines with antioxidant action on the indices of superoxide and carbohydrate metabolism in patients with diabetes], Sovremennyye problemy e'ksperimental'noj klinicheskoje'ndokrinologii: Tezdokl. IVs"ezda e'ndokrinologov Ukrainskoj SSR. Kiev, pp. 38-39.*