

INFLUENCE OF THE BIOFLAVONOID RUTOSIDE ON DEVELOPMENT OF DIABETIC CATARACT IN AN EXPERIMENT

K. Pavlyuchenko, S. Mogilevskyy, K. Gudzenko  
Donetsk, Unraine

In-process cited data experimental research. Under a supervision there were three groups of experimental animals — rabbit. 1 group — control, 2 a group is animals with experimental streptozotocin diabetes, 3 a group is animals with experimental streptozotocin diabetes, at that the bioflavonoid of rutoside was plugged in the ration of feed. Studied influence of rutoside on frequency of origin and speed of development of diabetic cataract. The expressed is set anticataract action of rutoside since 8 week of experiment.



**Обзор литературы**

УДК 617.7:612.014.461.3

**АКВАПОРИНЫ (ВОДНЫЕ КАНАЛЫ): ОФТАЛЬМОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ**

**О. И. Сукманский\*\***, **Н. В. Пасечникова\***, **В. В. Вит\***, **В. А. Науменко\***,  
**И. О. Сукманский\*\*\***

\*Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины;  
\*\*Одесский государственный аграрный университет, Институт стоматологии НАМНУ;  
\*\*\*Клинический санаторий «Зеленый мыс»(Одесса).

*В обзоре представлены краткие сведения о водных каналах(аквапориных) глаза и их роли в развитии катаракты, глаукомы и других глазных заболеваний.*

**Ключевые слова:** глаз, аквапорины, водные каналы, трансмембранный транспорт воды

Содержание воды в организме человека составляет в среднем 60 % от массы тела. Большая часть воды (примерно 2/3) находится внутри клеток (интрацеллюлярная жидкость), а меньшая часть — вне клеток (экстрацеллюлярная жидкость) — внутри кровеносных и лимфатических сосудов, а также в межклеточном пространстве [4]. Клеточные мембраны поддерживают разный электролитный состав внеклеточной и внутриклеточной жидкости, что лежит в основе жизненных процессов. Что касается воды, то долгое время считали, что она легко преодолевает биологические мембраны путем простой диффузии, хотя факты и точные расчеты всё более противоречили такой концепции. Открытие трансмембранных водных каналов (аквапоринов), которые обеспечивают быстрый транспорт воды через биологические мембраны всех живых организмов (животных, растений и микроорганизмов) опровергло эту концепцию и явилось выдающимся достижением общей биологии, ботаники, физиологии и медицины [1, 2, 3, 5, 6, 8, 10].

Первый водный канал, получивший позже название «аквапорин 1» (АКП1, AQP1), был открыт в

начале 90-х годов минувшего столетия в мембране эритроцитов американским ученым Agre P., а в 2003 г. ему была присуждена Нобелевская премия «за открытие водных каналов»[10].

К настоящему времени открыто и исследовано более 450 изоформ аквапоринов (АКП), которые относятся к суперсемейству внутримембранных белков (major intrinsic proteins — MIP), насчитывающему более 800 членов) [10,14]. Из них 13 (АКП0—АКП12) — у млекопитающих и несколько сот у других организмов. В зависимости от селективности проницаемости АКП млекопитающих вначале разделили на:

1) ординарные (классические, чистые) аквапорины, проницаемые только для воды (АКП 0, 1, 2, 4, 5, 6, 8);

2) акваглицеропорины, проницаемые для воды, глицерина, мочевины и некоторых других мелких молекул (АКП 3, 7, 9, 10) [8, 10]. Однако позже было установлено, что АКП6 кроме воды транспортирует анионы, а АКП8 — аммиак и перекись водо-

© О. И. Сукманский, Н. В. Пасечникова, В. В. Вит,  
В. А. Науменко, И. О. Сукманский, 2013

рода. Также оказалось, что АКП8, АКП11 и АКП12 локализируются главным образом внутриклеточно [10]. Поэтому позже выделили третье подсемейство АКП — неортодоксальные (субцеллюлярные, супераквапорины), к которым отнесли АКП 6, 8, 11 и 12 [10, 14, 30]. Для функционирования почек и других органов исключительно важно, что АКП не пропускают протоны (ионы водорода) [8, 14].

### СТРУКТУРА АКВАПОРИНОВ

Аквапорины являются трансмембранными белками. Они имеют гомотетрамерную структуру, но каждый мономер функционирует как отдельный водный канал. Молекулярная масса мономера составляет около 30 кДа. Белок-мономер состоит из шести  $\alpha$ -спиральных доменов, которые пронизывают биологическую мембрану и образуют три внеклеточных (А, С и Е) и две внутриклеточных (В и D) петли. При этом оба (С- и N-) конца белковой молекулы расположены в цитоплазме. Обращает на себя внимание высокая гомологичность (симметричность) строения трёх первых и трёх следующих доменов. Сам канал переноса воды (водную пору) формируют цитозольная петля В (между вторым и третьим доменом) и экстрацеллюлярная петля Е (между пятым и шестым доменом). Обе петли образуют короткие спирали, которые являются относительно гидрофобными и вставлены в мембрану с противоположных сторон. Каждая из двух петель содержит высококонсервативный мотив из трёх аминокислот — Asn-ProAla (NPA — аспарагин, пролин, аланин), формирующий сужение (пору) и расположенный посередине канала [8, 10]. Дальнейшие рентгено-кристаллографические исследования показали, что ниже этого «рта» канала расположено ещё одно сужение (более узкое, чем центральное), являющееся вторым энергетическим барьером и получившее название ароматико-аргининовой поры (ar/R). Эту пору формируют четыре аминокислоты (Phe, His, Cys, Arg) и она функционирует как селективный фильтр, замена аминокислот в котором меняет его субстратную специфичность [13, 14, 41].

Транспорт воды через АКП осуществляется в двух направлениях, а его направленность определяют осмотический и гидростатический градиенты [5, 8, 10]. Пространственная модель, подтвержденная криоэлектронными и рентгеноструктурными исследованиями, определяет, что АКП имеет форму песочных часов. Каждый конец канала имеет воронкообразное расширение, которое открывается, соответственно во внутриклеточное или внеклеточное пространство. В самом узком месте диаметр канала составляет около 0,3 нм (0,28 нм у селективных АКП, которые пропускают только воду, и 0,34 нм — у акваглицеропоринов) [8, 10].

### ФУНКЦИИ АКВАПОРИНОВ

Основная функция АКП — облегчение движения воды через клеточные мембраны и поддержка водного гомеостаза клеток. Кроме того, АКП обеспечивают транспорт через биологические мембраны глицерина, мочевины и других мелких неполярных молекул, неполярных газов —  $\text{CO}_2$  и  $\text{NO}$ , полярного газа  $\text{NH}_3$ , реактивной формы кислорода — перекиси водорода, а также металлоидов — сурьмы, мышьяка, бора, кремния [10, 14]. АКП обеспечивают трансцеллюлярный (трансэпителиальный) транспорт воды через клетки, а также через эндотелий микрососудов. Они задействованы и в секреции анионов. Согласно новейшим данным, АКП влияют также на парацеллюлярный транспорт через плотные соединения клеток. Кроме того, АКП регулируют осмосенсорность и объем клеток, принимают участие в их адгезии, миграции, пролиферации и апоптозе, ангиогенезе, заживлении ран, жировом обмене, передаче нервных сигналов и канцерогенезе [58, 59].

Наибольшее значение функция аквапоринов имеет для органов, транспортирующих большое количество жидкости — почек и секреторных желез (пищеварительных, слёзных, потовых и др.). Весьма важна она и для тканей глаза — роговой оболочки, хрусталика, сетчатки и др.

### ЛОКАЛИЗАЦИЯ АКВАПОРИНОВ В ТКАНЯХ ГЛАЗА, СЛЁЗНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ЗРИТЕЛЬНОГО НЕРВА

В тканях глаза и зрительного нерва, а также в слёзной железе выявлено 11 аквапоринов: АКП 0, 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11 и 12 [24, 29, 43, 55, 59].

### АКВАПОРИНЫ РОГОВОЙ ОБОЛОЧКИ

Роговая оболочка представляет собой бессосудистое образование с уникальным механизмом микроциркуляции, обеспечивающим её метаболические потребности и сохранение прозрачности.

Как видно из табл.1, в роговице обнаружены АКП 1, 3, 5, 7, 9 и 11 [6,55,59]. При этом АКП1 локализуется в эпителии и эндотелии роговой оболочки, а также в кератоцитах [6,59], АКП3 — в эпителии роговицы и конъюнктивы [24], АКП5 — в эпителии роговой оболочки и кератоцитах стромы [36], АКП7 — в эпителии, эндотелии и корнеолимбальной ткани [55], АКП9 и АКП11 — в корнеолимбальной ткани [55].

Как видим, в эпителии роговицы представлены четыре разных АКП: 1, 3, 5 и 7. Это обусловлено тем, что эпителий роговицы (и конъюнктивы) представляет наружную поверхность глаза, контактирующую с внешней средой и омываемую слезной жидкостью. Поэтому названные АКП принимают участие как в обеспечении нормального

объема (толщины) роговицы, так и в сохранении постоянства осмолярности и объема слезной жидкости, омывающей поверхность роговицы. Это постоянство зависит не только от секреции слезной жидкости, но и от осмотического тока воды через эпителий роговицы и потери воды вследствие её испарения [59].

Таблица 1

**Локализация аквапоринов в тканях глаза, слёзной железы и зрительного нерва (по данным: [6, 20, 28, 33, 36, 43, 55, 59]).**

АКП	Ткани и клетки
АКП0	Клетки волокон хрусталика, биполярные клетки сетчатки
АКП1	Эндотелий роговой оболочки, эпителий радужной оболочки, цилиарный эпителий, эпителий хрусталика, пигментный эпителий сетчатки, фоторецепторные клетки, трабекулярная сеть, клетки Мюллера
АКП3	Эпителий конъюнктивы и роговицы, пигментный эпителий сетчатки
АКП4	Зрительный нерв, сетчатка, цилиарный эпителий, клетки ацинусов слёзных желёз
АКП5	Клетки ацинусов и протоков слёзных желёз, эпителий роговой оболочки, эпителий и волокна хрусталика, пигментный эпителий сетчатки
АКП6	Сетчатка
АКП7	Эпителий и эндотелий роговицы, корнеолиಂಬальная ткань, эпителий хрусталика и цилиарного тела, пигментный эпителий сетчатки, эндотелий капилляров во всех частях глаза
АКП8	Сетчатка
АКП9	Зрительный нерв, сетчатая оболочка, корнеолиंबальная ткань
	АКП11 Пигментный эпителий сетчатки и нейроретина, корнеолиंबальная ткань
	АКП12 Нейроретина

Проведенные исследования свидетельствуют о том, что АКП5 хорошо экспрессируется в эпителиальных клетках роговицы, а АКП3 обнаруживается в меньших количествах и преимущественно в пролиферирующем базальном слое клеток. Исследования на мышах с нокаутированным геном АКП5 показали, что у них вдвое уменьшается транспорт воды через эпителий по сравнению с животными дикого типа (у которых он весьма высок и составляет 0,045 см/с) и повышается осмолярность слезной жидкости, но при этом в пять раз повышается экспрессия АКП3. Вместе с тем, транспорт воды через эпителий конъюнктивы снижается в 4 раза у мышей с дефицитом АКП3. По мнению авторов, эти исследования свидетельствуют о важной роли АКП5 роговицы и АКП3 конъюнктивы в транспорте воды в относительно гиперосмолярную слёзную жидкость [49,59]. Исследования показывают также, что у АКП3—нулевых мышей достоверно снижается осмотическая

водная проницаемость эпителия роговицы и поглощение им <sup>14</sup>C—глицерина, а также уменьшается скорость реэпителизации дефекта эпителия и заживления ран роговицы [37]. В эпителии роговой оболочки присутствует также АКП7 [55], однако его роль в транспорте воды через эпителий остаётся неизученной.

В эндотелии роговицы присутствуют АКП1 и АКП7 [55, 59].

Исследования на культурах клеток эндотелия роговой оболочки АКП1—нулевых мышей и животных дикого типа показали, что нокаут гена АКП1 снижает осмотическую водную проницаемость мембраны клеток, но мало влияет на почти изоосмолярный трансцеллюлярный транспорт жидкости.

Поэтому полагают, что транспорт воды через эндотелий осуществляется главным образом через плотные соединения между клетками, а АКП1 играет большую роль в регуляции объема клеток эндотелия, чем в трансцеллюлярном транспорте жидкости [25, 59].

Представляют интерес данные о влиянии АКП на толщину роговицы.

Показано, что толщина роговицы у АКП5—нулевых мышей на 20 % больше, а отек роговицы в ответ на действие на поверхность эпителия гипоосмолярного раствора развивается у них вдвое медленнее, чем у животных дикого типа [37, 59]. Вместе с тем у АКП1—нулевых мышей толщина роговицы снижена на 20 %, а её отек развивается медленнее при воздействии гипоосмолярности на поверхность эндотелия со стороны передней камеры. Эти данные свидетельствуют о роли АКП1 в транспорте воды в строму роговицы из передней камеры глаза [59].

АКП1 экспрессируется также в кератоцитах. Эта экспрессия повышается после повреждения роговицы. Показано также, что АКП1 облегчает миграцию кератоцитов в клеточной культуре и ускоряет заживление ран роговицы *in vivo* [50].

**АКВАПОРИНЫ ХРУСТАЛИКА**

Как видно из табл. 1, в хрусталике присутствуют АКП 0, 1 и 5. При этом АКП0 локализуется в волокнах и по заднему полюсу, АКП1 — в клетках эпителия переднего полюса, а АКП5 — в эпителии и волокнах хрусталика [36,59].

Главным АКП, который содержится в больших количествах в мембранах клеток волокон хрусталика, несомненно, является АКП0. Он был выделен из хрусталика задолго до открытия аквапоринов — в 1976 г. и получил вначале название «MIP» (major intrinsic protein — главный внутренний белок). После открытия АКП было установлено, что MIP, как и АКП, имеет тетрамерную структуру и содержит

внутренние повторы из трёх аминокислот (NPA — Asp—Pro—Ala), формирующие в АКП водную пору. В связи с этим MIP был включен в число АКП и получил наименование АКП0 [18], а аббревиатура MIP стала родовым названием большого суперсемейства внутримембранных белков, включающего аквапорины, а MIP хрусталика — его родоначальником.

Установлено, что АКП0 выполняет в хрусталике, по крайней мере, две функции — водного канала и структурную. Он является основным белком щелевых межклеточных контактов и вторую функцию выполняет в качестве молекулы адгезии, обеспечивающей узкие межклеточные пространства волокон хрусталика, что необходимо для сохранения прозрачности хрусталика и его аккомодационных свойств [18].

Молекулярная масса АКП0 составляет 26 кДа. Его мономер у разных видов включает 262–264 аминокислоты. Водная проницаемость АКП0 зависит от концентрации H<sup>+</sup>-ионов — она повышается при снижении внешнего (с 7,5 до 6,5) и внутреннего pH. Ответственной за такую зависимость считают аминокислоту гистидин, занимающую позицию 40 в молекуле мономера. Важным регулятором водной проницаемости АКП0 являются ионы цинка и кальция. Она возрастает при повышении концентрации Zn<sup>2+</sup>, а также Ca<sup>2+</sup> и является кальмодулин-зависимой [Ibid.].

Ещё одной важной функцией АКП0 в хрусталике является транспорт аскорбиновой кислоты, которая защищает его от фотооксидации. Новейшие исследования, проведенные на фибробластах—L мышши, экспрессирующих АКП0, показали, что эти клетки активно поглощают аскорбиновую кислоту из среды, содержащей 1000 мкМ этого антиоксидантного витамина. Однако АКП0 по-разному влияет на импорт и экспорт аскорбиновой кислоты клетками — после удаления витамина из среды клетки теряют его достаточно медленно. В другой серии исследований авторы показали поглощение аскорбиновой кислоты из среды ооцитами шпористой лягушки, в которые инъецировали кРНК АКП0 [45].

Многочисленные исследования показали, что мутации гена АКП0 у людей (как и нокаут его у мышши) вызывают развитие врожденных катаракт [18, 56, 57, 59]. Имеются основания считать, что развитие таких катаракт связано с выпадением как воднотранспортной, так и структурной функций АКП0.

В этом плане заслуживает внимания работа, авторы которой у трансгенных мышши с нокаутом гена АКП0 (АКП0—/—) экспрессировали ген АКП1 в клетках волокон хрусталика (АКП1+/+). После этого водная проницаемость клеток волокон хрусталика возросла и в 2,6 раза превышала

таковую у мышши дикого типа (т.к. АКП1 имеет более высокую воднотранспортную активность, чем АКП0). В итоге трансгенный АКП1 снижал тяжесть катаракты, развивающейся после нокаута гена АКП0 и предотвращал драматическое ускорение катарактогенеза. Однако при этом волокна хрусталика были деформированы и обнаруживалась недостаточность компактной клеточной архитектуры. Иными словами, потеря прозрачности хрусталика, обусловленная отсутствием АКП0, не устранялась полностью восстановлением воднотранспортной функции, т.к. АКП1, в отличие от АКП0 не выполняет функцию обеспечения клеточной адгезии [56]. Сходные данные получены в другой работе, выполненной на мышшах. У животных дикого типа хрусталики были прозрачны, с «Y» швами. Волокна содержали оппозиты и курваты, латеральные интердигитации, имели гексагональную форму и были аранжированы в концентрические ростовые каркасы. У мышши с нокаутом гена АКП0 (АКП0—/—) хрусталики были катарактными, отсутствовали «Y» швы, упорядоченное аранжирование и хорошо определяемые латеральные интердигитации. У трансгенных мышши АКП1(+)/АКП0(—/—) отмечено улучшение прозрачности хрусталика и обнаружены латеральные интердигитации в наружной коре, однако внутренняя кора и ядерные волокна были дезинтегрированы. Электронная микроскопия обнаружила плотно упакованные клетки у мышши дикого типа, а у мышши с нокаутом гена АКП0, а также у мышши АКП1(+)/АКП0(—/—) хрусталики имели широкие экстрацеллюлярные пространства. На основании полученных данных авторы приходят к заключению, что экспрессия в клетках волокон хрусталика гена АКП1 не компенсирует полностью отсутствия АКП0, т.к. последний выполняет уникальную функцию в отношении архитектуры волокон хрусталика и обеспечения его прозрачности [35].

Следует также сказать, что структурная функция АКП0 осуществляется путем его взаимодействия с другими белками, экспрессирующимися в волокнах хрусталика [18, 26, 39]. В их числе следует прежде всего назвать растворимые белки кристаллины и нерастворимые — коннексины [18, 39]. Она связана также с липидами хрусталика [9, 46, 52], которые имеют особый состав, в частности содержат много холестерина [15].

Кроме АКП0 и АКП1 в хрусталике обнаружен АКП5, где он локализуется в клетках эпителия и волокон [36]. Особого внимания заслуживают данные цитируемой работы о том, что фосфорилирование изменяет локализацию АКП5 в мембранах клеток хрусталика. По мнению авторов, это может служить путем для терапевтического вмешательства с целью контроля заболеваний хрусталика.

### АКВАПОРИНЫ И ВНУТРИГЛАЗНОЕ ДАВЛЕНИЕ (ВГД)

Гидростатическое давление водянистой влаги (ВВ) глаза принято называть внутриглазным давлением (ВГД). Двумя главными составляющими, которые определяют уровень ВГД, являются скорость секреции ВВ ресничным (цилиарным) эпителием и скорость дренажа (оттока) ВВ через трабекулярную сеть и шлеммов канал [6,59]. Секреция ВВ, наподобие секреции первичной слюны ацинозными клетками слюнных желез [1,3], является практически изоосмолярной и движется активным транспортом соли [59]. Дренаж ВВ, наоборот, движется преимущественно силой гидростатического давления [Ibid].

Ещё ранние исследования, проведенные с участием первооткрывателя АКП Agre P., показали, что АКП1, кроме роговицы, хрусталика и радужки содержится в непигментированном цилиарном эпителии, в эндотелии трабекулярной сети и шлеммового канала, т.е. тканей, участвующих в секреции и оттоке ВВ [53]. Это подтвердили более поздние исследования. В частности, АКП1 был обнаружен в культивируемых клетках непигментированного цилиарного эпителия [27] и трабекулярной сети [38, 48] человека. Кроме того, установлено, что в непигментированном цилиарном эпителии, секретирующем ВВ, экспрессирован также АКП4 [59]. Исследования, проведенные на крысиных эмбрионах (13–20 дневных), а также на постнатальных крысах (новорожденных и в возрасте 1, 2 и 8 недель), показали, что АКП1 локализуется в апикальных и базолатеральных плазматических мембранах клеток непигментированного цилиарного эпителия, а АКП4 — только в базолатеральных мембранах этих клеток [61].

Для практической офтальмологии исключительно важен ответ на вопрос, какую роль могут играть эти АКП в изменениях секреции и оттока ВВ и, следовательно, в патогенезе глаукомы. В этом плане кардинальное значение имеют исследования на трансгенных животных. Такие исследования показали, что у мышей с дефицитом АКП1 и/или АКП4 достоверно снижено ВГД по сравнению с животными дикого типа [62]. Авторы цитируемой статьи разработали методы количественной оценки секреции и оттока ВВ у мышей и показали, что снижение ВГД у трансгенных животных с дефицитом названных АКП обусловлено уменьшением секреции ВВ, а не повышением её оттока. Результатам цитируемой работы в целом не противоречат данные модельных опытов на трансгенных дрозофилах с мутациями белка трабекулярной сети миоцилина (мутации этого белка у человека обычно сочетаются с юношеской глаукомой, а иногда и с открытоугольной глаукомой взрослых). Названные опыты показали, что оверэкспрессия миоцилина в глазах

дрозофилы приводит к нарушению обмена жидкости и сопровождается оверэкспрессией АКП4 и цитохрома-P450. [16].

Эти данные могут служить основой для использования ингибиторов и модуляторов АКП с целью понижения ВГД при глаукоме у человека [54]. Разумеется, для этого необходим поиск ингибиторов АКП менее токсичных, чем соли ртути, являющиеся мощными ингибиторами АКП.

Известно, что кортикостероиды могут провоцировать развитие глаукомы.

В связи с этим представляют интерес исследования на культивируемых клетках трабекулярной сети быка, которые показали, что дексаметазон в малых дозах повышает экспрессию АКП1 в этих клетках, а в больших — снижает [60]. Сходные данные получены на клетках трабекулярной сети человека: введение дексаметазона в культуральную среду в дозах 0,04 и 0,4 мкг/мл повышало содержание мРНК и белка АКП1 в этих клетках, а в дозах 4 и 40 мкг/мл — снижало по сравнению с контролем (без дексаметазона) [48].

### АКВАПОРИНЫ СЕТЧАТОЙ ОБОЛОЧКИ И ЗРИТЕЛЬНОГО НЕРВА

Как указано в табл.1, в сетчатке и зрительном нерве обнаружено десять изоформ АКПов. В частности АКП1 локализуется в пигментном эпителии сетчатки, фоторецепторных клетках и клетках Мюллера [59]. Установлено, что в клетках пигментного эпителия присутствие АКП1 сочетается с наличием компонентов сигнального пути атриального натрийуретического пептида (АНП) и аналогов цГМФ. Как показано в исследованиях на культуре клеток пигментного эпителия человека, АНП и цГМФ отчетливо стимулируют транспорт воды этими клетками, а антагонист АКП1 AqV013 ингибирует стимулируемый цГМФ транспорт жидкости [11].

Представляют интерес данные литературы о возможной роли АКПов в развитии патологических процессов в сетчатой оболочке и зрительном нерве, а также дегенеративных изменений, обусловленных повышением ВГД.

В экспериментах на крысах установлено, что разрушение зрительного нерва ведет к снижению экспрессии АКП4 и повышению экспрессии АКП9 в ганглиозных клетках сетчатки. При этом снижается популяция ганглиозных клеток и обнаруживаются признаки астроглиоза — повышение GFAP (глиального фибриллярного кислого белка) — маркера астроглиоза [21].

В развитии глаукоматозной нейропатии и нейродегенерации важная роль принадлежит нарушениям кровоснабжения (ишемии) сетчатой оболочки и зрительного нерва, которые возникают вследствие повышения ВГД. Проведенные исследова-

дования позволяют предполагать, что в патогенезе этих нарушений известная роль может принадлежать аквапоринам, в частности АКП4, который экспрессируется в клетках Мюллера сетчатки, подобных астроглиальным клеткам центральной нервной системы. Так, эксперименты на трансгенных мышях, дефицитных по АКП4, показали, что ишемическое повреждение сетчатки, вызванное повышением ВГД до 120 мм рт.ст. в течение 45 или 60 мин., менее выражено у АКП4–нулевых мышей по сравнению с животными дикого типа [19]. Установлено также, что ишемия сетчатой оболочки, вызванная у крыс повышением ВГД в течение 60 мин., приводит к изменениям локализации АКП1 и АКП4 в глиальных клетках (клетках Мюллера и астроцитах) [29]. В аналогичных опытах ишемия, вызванная повышением ВГД в течение 1 часа вызвала снижение мРНК АКП 1, 3, 4, 5, 6, 8 и 11 в культивируемых клетках пигментного эпителия сетчатки и/или нейроретины крыс. При этом вызванная давлением ишемия повышала содержание АКП9 в нейроретине и клетках пигментного эпителия [28]. Показано также, что повышение ВГД у крыс вызывает увеличение клеточной пролиферации в головке зрительного нерва (характерное для глаукомы) и выраженные изменения многих генов, в том числе повышение гена АКП4 [32]. В исследовании на мышях с нокаутом гена АКП4 и животных дикого типа хроническое повышение ВГД вызывали прижиганием вен склеры. Эти исследования показали, что ген АКП4 при хроническом повышении ВГД может вызывать активацию глиальных клеток — повышение концентрации GFAP, что ведёт к повреждению сетчатки [40].

В другой работе повреждение сетчатки у крыс вызывали повышением ВГД с помощью модели Моррисона или путем интравитреального введения эндотелина-1. При обеих экспериментальных моделях глаукомы в астроцитах головки зрительного нерва обнаружили повышение мРНК и белка АКП4, а также GFAP (глиального фибриллярного кислого белка). При этом АКП4 был определен в убиквитинированных белках, что свидетельствует о том, что он являлся объектом убиквитин-протеасомной деградации. По мнению авторов, их данные о повышении экспрессии АКП4 в астроцитах зрительного нерва после повышения ВГД могут объяснить гипертрофию астроцитов, обычно наблюдаемую при глаукоме, и вовлечь альтерацию системы убиквитин-зависимой протеасомной деградации белков. Сниженная убиквитинизация в глазном нерве может вести к повышению уровня проапоптотических белков (которые разрушаются протеасомами) и таким образом вести к дегенерации аксонов при глаукоме [22].

Представляют интерес также данные о том, что ишемия, вызванная повышением ВГД у крыс и

обезьян, приводит к снижению экспрессии АКП9 в глазном нерве и сетчатке, но мало влияет на экспрессию АКП1 и АКП4 [43, 44]. Снижение экспрессии АКП9 обнаружено также в глазном нерве при глаукоме у обезьяны и человека [42]. В другом исследовании, выполненном на крысах, преходящую ишемию сетчатки вызывали повышением ВГД в течение 1 часа, а постоянную ишемию — лазерной окклюзией вен. При этом преходящая и постоянная ишемия вызывала снижение экспрессии АКПов 1, 3, 4, 5, 6, 8 и 11 в пигментном эпителии сетчатки и/или в нейроретине. Вместе с тем вызванная повышением ВГД преходящая ишемия вызывала повышение экспрессии АКП9 в нейроретине и пигментном эпителии и АКП12 в нейроретине [28]. По мнению авторов, экспрессия АКП9 в сетчатке регулируется метаболическим и оксидативным стрессом, а повышение его в пигментном эпителии может играть защитную роль, предотвращая лактоацидоз и субретинальный отек в условиях ишемии и оксидативного стресса.

Одним из тяжелых заболеваний, которое может вести к слепоте и даже к смерти, является нейромиеелит зрительного нерва (Neuromyelitis optica, болезнь Девика) [12,34,59]. Заболевание является особой формой множественного склероза, который сопровождается центральным демиелинизирующим процессом, поражающим зрительный нерв и спинной мозг. При этом возникает глазная боль и потеря зрения, развиваются парезы и параличи (обычно параплегия), а также нарушения чувствительности [59]. Одним из маркеров этого заболевания являются аутоантитела против АКП4, которые вовлечены в механизм его развития [7, 12, 17, 34, 59]. Особенно впечатляет работа Kitley et al.[34], авторы которой наблюдали в течение длительного времени 106 пациентов, серопозитивных по антителам к АКП4, и пришли к выводу, что этот показатель является одним из прогностических факторов дальнейшего течения заболевания.

#### АКВАПОРИНЫ СЛЁЗНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

В слёзных железах первоначально были обнаружены АКП4 и АКП5; при этом АКП4 локализовался в базолатеральной мембране ацинозных клеток, а АКП5 — в апикальной мембране клеток ацинусов и протоков [20]. Затем в эпителии носослезного протока иммуногистохимически были обнаружены АКП 1, 3, 5, 7, 8 и 9, а АКП4 — при помощи Вестерн-блот анализа. Эти аквапорины, по мнению авторов, играют специфическую роль в транспорте воды через эпителий протоков [31]. Характерно, что АКП5 впервые был выделен из слюнных и слёзных желез. Дальнейшие исследования показали, что у трансгенных мышей с нокаутом гена АКП5 резко (на 60 %) снижается секреция

слюны на пилокарпин и повышается её осмотическая концентрация [1,20]. Вместе с тем нокаут гена АКП5 (как и АКП4) не оказывает отчетливого влияния на секрецию слезной жидкости. Это, по мнению автора обзорной статьи [20], свидетельствует о том, что названные аквапорины не играют решающей роли в секреции слезных желёз, которая тесно связана с функцией каналов электролитов и их котранспортёров. Имеются отличия и в локализации АКП5, который в слюнных железах локализуется почти исключительно в ацинозных клетках, а в слезных железах — преимущественно в клетках протоков [51]. Вместе с тем, при синдроме Шёгрена наблюдается аномальная локализация АКП5 как в слюнных, так и в слезных железах [1,20]. Изменения локализации АКП5 в слезных железах обнаружены также у NOD-мышей (являющихся моделью синдрома Шегрена) [47] и у кроликов с аутоиммунным дакриoadенитом [23].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенный краткий обзор литературы, посвященный распределению аквапоринов различного типа в тканях глазного яблока, слезной железе, а также их биологическому значению, позволяет рассматривать это направление исследований как перспективное в отношении уточнения этиологии и патогенеза ряда заболеваний органа зрения (отек и помутнение роговой оболочки, хрусталика, нарушение функции сетчатой оболочки, слезной железы), разработки новых методов их диагностики с использованием методов молекулярной биологии и лечения.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Сукманский О. И., Гоженко А. И., Колиев В. И., Сукманский И. О. Аквапорины и слюнные железы // Успехи соврем. биологии. — 2012. — Т.132. — № 2. — С.167–180.
2. Сукманский О. И., Корлюк С. С. Современные представления о транспорте воды в растениях: роль аквапоринов // Виноградарство і виноробство, Вип.49. — 2012. — С.195–202.
3. Сукманский О. И., Сукманский И. О. Аквапорины. Стоматологические аспекты // Вісник стоматології. — 2011. — № 1. — С. 99–103.
4. Сукманський О. І. Порушення водно-мінерального обміну // Патологія: підручник / за ред. М. Н. Зайка і Ю. В. Биця. — 3-є вид. переробл. і допов. — К.: Медицина, 2010. — С.373–387.
5. Сукманський О. І., Сукманський І. О. Водні канали (аквапорины) // Аграрний вісник Причорномор'я, Вип.56. Ветеринарні науки. Одеса, 2010. — С.116–119.
6. Титовец Э. П. Аквапорины человека и животных. Фундаментальные и клинические аспекты. Минск: Белорус. наука, 2007. — 239 с.
7. Adamus G., Brown L., Schiffman J., Iannaccone A. Diversity in autoimmunity against retinal, neuronal, and axonal antigens in acquired neuro-retinopathy // J. Ophthalmic Inflamm. Infect. — 2011. — V.1. — № 3. — P.111–121.
8. Agre P. The aquaporin water channels // Proc. Am. Thorac. Soc. — 2006. — V.3. — № 1. — P.5–13.
9. Aponte-Santamagna C., Briones R., Schenk A. D. et al. Molecular driving forces defining lipid positions around aquaporin-0 // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2012. — V.109. — № 25. — P.9887–9892.
10. Aquaporins. Editor E. Beitz. Handbook of Experimental Pharmacology. — 2009. — V.190. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag. — 402 + XVI p.
11. Baetz N. W., Stamer W. D., Yool A. J. Stimulation of aquaporin-mediated fluid transport by cyclic GMP in human retinal pigment epithelium in vitro // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 2012. — V.53. — № 4. — P.2127–2132.
12. Báez A., Báez M., Kuchkaryan V. et al. Neuromyelitis optica con alta expresion de aquaporina-4 y anticuerpos anti-aquaporina-4 positivos en suero // Medicina (Buenos Aires). — 2012. — V.72. — № 2. — P.124–127.
13. Beitz E., Wu B., Holm L. M. et al. Point mutations in the aromatic/arginine region in aquaporin 1 allow passage of urea, glycerol, ammonia, and protons // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2006. — V.103. — № 2. — P.269–274.
14. Benga G. Water channel proteins (later called aquaporins) and relatives: past, present, and future // IUBMB Life. — 2009. — V.61. — № 2. — P.112–133.
15. Borchman D., Yappert M. C. Lipids and the ocular lens // J. Lipid. Res. — 2010. — V.51. — № 9. — P.2473–2488.
16. Borrós T., Morozova T. V., Heinsohn S. L. et al. Transcription profiling in Drosophila eyes that overexpress the human glaucoma-associated trabecular meshwork-inducible glucocorticoid response protein/myocilin (TIGR/MYOC) // Genetics. — 2003. — V.163. — № 2. — P.637–645.
17. Chanson J. B., de Seze J., Eliaou J. F., Vincent T. Immunological follow-up of patients with neuromyelitis optica: Is there a good biomarker? // Lupus. — 2012. — Nov. 21. [Epub ahead of print]
18. Chepelinsky A. B. Structural function of MIP/aquaporin 0 in the eye lens; genetic defects lead to congenital inherited cataracts // Handb. Exp. Pharmacol. — 2009. — V.190. — P.265–297.
19. Da T., Verkman A. S. Aquaporin-4 gene disruption in mice protects against impaired retinal function and cell death after ischemia // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 2004. — V.45. — № 12. — P.4477–4483.
20. Delporte C. Aquaporins in secretory glands and their role in Sjogren's syndrome // Handb. Exp. Pharmacol. — 2009. — V.190. — P.185–201
21. Dibas A., Oku H., Fukuhara M. et al. Changes in ocular aquaporin expression following optic nerve crush // Mol. Vis. — 2010. — V.16. — P.330–340.
22. Dibas A., Yang M. H., He S. et al. Changes in ocular aquaporin-4 (AQP4) expression following retinal injury // Mol. Vis. — 2008. — V.14. — P.1770–1783.
23. Ding C., Nandoskar P., Lu M. et al. Changes of aquaporins in the lacrimal glands of a rabbit model of Sjogren's syndrome // Curr. Eye Res. — 2011. — V.36. — № 6. — P.571–578.
24. Fischbarg J. Water channels and their roles in some ocular tissues // Mol. Aspects Med. — 2012. — V.33. — № 5–6. — P. 638–641.
25. Fischbarg J., Diecke F. P., Iserovich P., Rubashkin A. The role of the tight junction in paracellular fluid transport across corneal endothelium. electro-osmosis as a driv-

- ing force // *J. Membr. Biol.* — 2006. — V.210. — № 2. — P.117–130.
26. **Gupta R., Asomugha CO, Srivastava OP.** The common modification in alphaA-crystallin in the lens, N101D, is associated with increased opacity in a mouse model // *J. Biol. Chem.* — 2011. — V. 286. — № 13. — P.11579–11592.
  27. **Han Z. B., Yang J. B., Wax M. B., Patil R. V.** Molecular identification of functional water channel protein in cultured human nonpigmented ciliary epithelial cells // *Curr. Eye Res.* — 2000. — V.20. — № 3. — P.242–247.
  28. **Hollborn M., Rehak M., Iandiev I.** et al. Transcriptional regulation of aquaporins in the ischemic rat retina: up-regulation of aquaporin-9 // *Curr. Eye Res.* — 2012. — V.37. — № 6. — P.524–531.
  29. **Iandiev I., Pannicke T., Biedermann B.** et al. Ischemia–reperfusion alters the immunolocalization of glial aquaporins in rat retina // *Neurosci. Lett.* — 2006. — V.408. — № 2. — P.108–112.
  30. **Ishibashi K.** Aquaporin superfamily with unusual npa boxes: S–aquaporins (superfamily, sip–like and subcellular–aquaporins) // *Cell Mol. Biol. (Noisy-le-grand).* — 2006. — V.52. — № 7. — P.20–27.
  31. **Jäger K., Reh D., Gebhardt M.** et al. Expression profile of aquaporins in human nasolacrimal duct epithelium // *Curr. Eye Res.* — 2010. — V.35. — № 4. — P.267–273.
  32. **Johnson E. C., Jia L., Cepurna W. O.** et al. Global changes in optic nerve head gene expression after exposure to elevated intraocular pressure in a rat glaucoma model // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 2007. — V.48. — № 7. — P.3161–3177.
  33. **Karasawa K., Tanaka A., Jung K.** et al. Patterns of aquaporin expression in the canine eye. — *Vet J.* — 2011. — V.190. — № 2. — P.e72–77.
  34. **Kitley J., Leite M. I., Nakashima I.** et al. Prognostic factors and disease course in aquaporin-4 antibody-positive patients with neuromyelitis optica spectrum disorder from the United Kingdom and Japan // *Brain.* — 2012. — V.135. — Pt 6. — P.1834–1849.
  35. **Kumari S. S., Eswaramoorthy S., Mathias R. T., Varadaraj K.** Unique and analogous functions of aquaporin 0 for fiber cell architecture and ocular lens transparency // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2011. — V.1812. — № 9. — P.1089–1097.
  36. **Kumari S. S., Varadaraj M., Yerramilli V. S.** et al. Spatial expression of aquaporin 5 in mammalian cornea and lens, and regulation of its localization by phosphokinase A // *Mol. Vis.* — 2012. — V.18. — P.957–967.
  37. **Levin M. H., Verkman A. S.** Aquaporin-3–dependent cell migration and proliferation during corneal re-epithelialization // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 2006. — V.47. — № 10. — P.4365–4372.
  38. **Lin S., Lee O. T., Minasi P., Wong J.** Isolation, culture, and characterization of human fetal trabecular meshwork cells // *Curr. Eye Res.* — 2007. — V.32. — № 1. — P.43–50.
  39. **Liu J., Xu J., Gu S.** et al. Aquaporin 0 enhances gap junction coupling via its cell adhesion function and interaction with connexin 50 // *J. Cell Sci.* — 2011. — V.124. — Pt 2. — P.198–206.
  40. **Luo S. S., Chen Q., Yu D. Y.** et al. The effect of AQP4 gene on the activation of retinal glial cells in chronic high intraocular pressure mice // *Zhonghua Yan Ke Za Zhi.* — 2012. — V.48. — № 7. — P.598–603.
  41. **Mitani-Ueno N., Yamaji N., Zhao F. J., Ma J. F.** The aromatic/arginine selectivity filter of NIP aquaporins plays a critical role in substrate selectivity for silicon, boron, and arsenic // *J. Exp. Bot.* — 2011. — V.62. — № 12. — P. 4391–4398.
  42. **Mizokami J., Kanamori A., Negi A., Nakamura M.** A preliminary study of reduced expression of aquaporin-9 in the optic nerve of primate and human eyes with glaucoma // *Curr. Eye Res.* — 2011. — V.36. — № 11. — P.1064–1067.
  43. **Naka M., Kanamori A., Negi A., Nakamura M.** Reduced expression of aquaporin-9 in rat optic nerve head and retina following elevated intraocular pressure // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 2010. — V.51. — № 9. — P.4618–4626.
  44. **Nakamura M.** New insights into the pathogenesis of glaucomatous optic neuropathy and refinement of the objective assessment of its functional damage // *Nihon Ganka Gakkai Zasshi.* — 2012. — V.116. — № 3. — P.298–344.
  45. **Nakazawa Y., Oka M., Mitsuishi A.** et al. Quantitative analysis of ascorbic acid permeability of aquaporin 0 in the lens // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2011. — V.415. — № 1. — P.125–130.
  46. **O'Connor J. W., Klauda J. B.** Lipid membranes with a majority of cholesterol: applications to the ocular lens and aquaporin 0 // *J. Phys. Chem. B.* — 2011. — V.115. — № 20. — P.6455–6464.
  47. **Ohashi Y., Tsuzaka K., Takeuchi T., Sasaki Y., Tsubota K.** Altered distribution of aquaporin 5 and its C–terminal binding protein in the lacrimal glands of a mouse model for Sjogren's syndrome // *Curr. Eye Res.* — 2008. — V.33. — № 8. — P.621–629.
  48. **Peng J., Zhang H., Li T.** et al. Effect of dexamethasone and aquaporin-1 antisense oligonucleotides on the aquaporin-1 expression in cultured human trabecular meshwork cells // *J. Huazhong Univ. Sci. Technol. Med. Sci.* — 2006. — V.26. — № 1. — P.137–140.
  49. **Ruiz-Ederra J., Levin M. H., Verkman A. S.** In situ fluorescence measurement of tear film [Na<sup>+</sup>], [K<sup>+</sup>], [Cl<sup>-</sup>], and pH in mice shows marked hypertonicity in aquaporin-5 deficiency // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 2009. — V.50. — № 5. — P.2132–2138.
  50. **Ruiz-Ederra J., Verkman A. S.** Aquaporin-1–facilitated keratocyte migration in cell culture and in vivo corneal wound healing models // *Exp. Eye Res.* — 2009. — V.89. — № 2. — P.159–165.
  51. **Sasaki Y., Tsubota K., Kawedia J. D.** et al. The difference of aquaporin 5 distribution in acinar and ductal cells in lacrimal and parotid glands // *Curr. Eye Res.* — 2007. — V.32. — № 11. — P.923–929.
  52. **Schey K. L., Gutierrez D. B., Wang Z.** et al. Novel fatty acid acylation of lens integral membrane protein aquaporin-0 // *Biochemistry.* — 2010. — V.49. — № 45. — P.9858–9865.
  53. **Stamer W. D., Snyder R. W., Smith B. L., Agre P., Regan J. W.** Localization of aquaporin CHIP in the human eye: implications in the pathogenesis of glaucoma and other disorders of ocular fluid balance // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 1994. — V.35. — № 11. — P.3867–3872.
  54. **Tradtrantip L., Tajima M., Li L., Verkman A. S.** Aquaporin water channels in transepithelial fluid transport // *J. Med. Invest.* — 2009. — V.56. — Suppl. — P.179–184.
  55. **Tran T. L., Bek T., Holm L.** et al. Aquaporins 6–12 in the human eye // *Acta Ophthalmol.* — 2012. — Sep.13. doi: 10.1111 [Epub. ahead of print].
  56. **Varadaraj K., Kumari S. S., Mathias R. T.** Transgenic expression of AQP1 in the fiber cells of AQP0 knockout mouse: effects on lens transparency // *Exp. Eye Res.* — 2010. — V.91. — № 3. — P.393–404.



57. **Varadaraj K., Kumari S. S., Patil R.** et al. Functional characterization of a human aquaporin 0 mutation that leads to a congenital dominant lens cataract // *Exp. Eye Res.* — 2008. — V.87. — № 1. — P.9–21.
58. **Verkman A. S.** Aquaporins at a glance // *J. Cell Sci.* — 2011. — V.124. — Pt 13. — P.2107–2112.
59. **Verkman A. S., Ruiz-Ederra J., Levin M. H.** Functions of aquaporins in the eye // *Prog. Retin. Eye Res.* — 2008. — V.27. — № 4. — P.420–433.
60. **Xiong X., Miao J., Xi Z.** et al. Regulatory effect of dexamethasone on aquaporin-1 expression in cultured bovine trabecular meshwork cells // *J. Huazhong Univ. Sci. Technolog. Med. Sci.* — 2005. — V.25. — № 6. — P.735–737.
61. **Yamaguchi Y., Watanabe T., Hirakata A., Hida T.** Localization and ontogeny of aquaporin-1 and -4 expression in iris and ciliary epithelial cells in rats // *Cell Tissue Res.* — 2006. — V.325. — № 1. — P.101–109.
62. **Zhang D., Vetrivel L., Verkman A. S.** Aquaporin deletion in mice reduces intraocular pressure and aqueous fluid production // *J. Gen. Physiol.* — 2002. — V.119. — № 6. — P.561–569.

Поступила 02.01.2013.



## Дискуссия

---

УДК 617.7 (07.07 (470))

### О СОВРЕМЕННЫХ ТРЕБОВАНИЯХ К ОФТАЛЬМОЛОГИЧЕСКОМУ ОБРАЗОВАНИЮ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**И. Н. Кошиц<sup>1</sup>, О. В. Светлова<sup>2</sup>, Ф. Н. Макаров<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>ЗАО «Питерком-Сети/МС»;

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова;

<sup>3</sup>ФГБУН Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург petercomink@bk.ru

Несмотря на то, что в мире и в России уже появилось новое современное высокотехнологичное диагностическое и лечебное оборудование, но использовать его корректно и в полном объеме для борьбы со многими офтальмопатологиями, на наш взгляд, во многом не вполне получается. Причин у вышесказанного, вероятно, три, и все они, по видимому, объективны [10].

**Причина 1.** Это объективная причина — самая главная и относится ко всему медицинскому сообществу: врачам сегодня катастрофически не хватает знаний «на стыке» в области фундаментальных дисциплин — в первую очередь физики, механики, гидравлики и теории управления. Например, современное высокотехнологичное диагностическое или клиническое оборудование требует серьезных знаний в области прикладной физики, однако даже обязательный вступительный экзамен по физике в медицинские ВУЗы России на протяжении ряда лет перестал проводиться, а количество выделенных часов на изучение в медицинском ВУЗе фундаментальных законов природы (физики и биомеханики) предельно сокращено. Но новые технологии всегда требуют адекватных специалистов. Парадоксально, что мы сегодня имеем наисовременнейшее диагностическое и клиническое оборудование, но для того, чтобы полноценно работать на нем, у нас в

ряде случаев нет по-настоящему подготовленных высококвалифицированных кадров.

Например, согласно требованиям Программы, утвержденной Минздравом России в 2002 г., на первом курсе в течение 279 часов изучаются физика, биофизика, медицинская аппаратура, элементы высшей математики и теории вероятностей, основы математической статистики. Цитируем: «Этот лекционный курс включает разделы, которые закладывают фундамент теоретических знаний, необходимых для понимания процессов жизнедеятельности, самоорганизации живых систем, процессов их эволюции и взаимодействия с окружающей средой, вопросы моделирования сложных нелинейных систем на примерах экологической модели, фармакокинетической модели, модели иммунных процессов и др.».

Предполагается, что за два месяца можно научить студента системно мыслить и дать глубокие знания (цитируем): «по основам практически всех современных методов функциональной диагностики, таких, например, как электрография, компьютерная топография, магниторезонансная спектроскопия и других, а также ряда методов лечения — электро-, магнито- и лазеротерапии и т. д.». Такое «клипо-

© И. Н. Кошиц, О. В. Светлова, Ф. Н. Макаров, 2013