

УДК 617.741-004.1-053.9-07:614.875-092.9

Биохимические механизмы антикатарактогенного действия препаратов с антиоксидантными свойствами

Н. Ф. Леус, д-р мед. наук, проф., С. Г. Коломийчук, науч. сотр., Будаи Нizar, аспирант, А. В. Гиржева, аспирант, Ю. А. Журавок, канд. мед. наук.

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии имени В. П. Филатова НАМН Украины», лаборатория биохимии, Одесса, Украина

Ключевые слова: катаракта, антиоксиданты, глутатион, тиоловые группы, никотинамидные коферменты.

Ключові слова: катаракта, антиоксиданти, глутатіон, тиолові групи, нікотинамідні коферменти.

В експериментах на кроликах вивчали дію каротиноїдів і флавоноїдів на тіолову систему, вітаміну E та його аналогу 2-4-метил-3-пентеніл-6-ацетоокси-2,5,7,8-тетраметилхроману на рівень нікотинамідних коферментів кристалика при моделюванні вікової катаракти.

Встановлено, що кверцетин та лютеїн з зеаксантином проявляли захисний вплив на тіолову систему кристалика. Вказані фітопрепарати мали стабілізуючу дію на стан тіолових груп білків кристалика і рівень відновленого глутатіону при експериментальній катаракті. Застосування на фоні світлового впливу препаратів — α -токоферол ацетату та його коротколанцюгового аналогу 2-4-метил-3-пентеніл-6-ацетоокси-2,5,7,8-тетраметилхроману сприяло суттєвому підвищенню рівня відновлених форм нікотинамідних коферментів в кристалику, особливо співвідношення НАДФН/НАДФ у випадку аналогу вітаміна E.

Biochemical mechanisms of anticataractogenic action of preparations with antioxidant properties

N. F. Leus, S. G. Kolomiichuk, Nizar Boudaya Nizar, A. V. Girzheva, Yu. A. Zhuravok

SI «The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy NAMS of Ukraine»

Key words: cataract, antioxidants, glutathione, thiol groups, nicotinamide coenzymes.

In experiments on rabbits studied the effect of carotenoids and flavonoids on thiol system, of vitamin E and analog 2-4-methyl-3-pentenyl-6-acetoxy-2,5,7,8-tetramethylchroman on the content nicotinamide coenzymes of lens while modeling age-related cataracts.

It has been found that quercetin and lutein with zeaxanthin have a protective effect on the thiol system lens. Herbs mentioned above have had an stabilizing effect on the state of the thiol groups of proteins lens and level of reduced glutathione with experimental cataract. Application on a background light influence of preparations of vitamin E and analog instrumental in the substantial increase of level of the reduced forms of nicotinamide coenzymes in the lens of the eye, especially ratio of NADPH/NADP in the case of analogue of vitamin E.

Введение. В настоящее время повсеместно отмечается значительный рост заболеваемости возрастной катарактой, которую относят к главным причинам слепоты в мире и рассматривают как медико-социальную проблему государственной важности [2].

В последние годы появилась тенденция к изучению тонких морфологических, биохимических и иммунологических механизмов формирования катаракты. Однако зачастую предметом исследования являются конечные стадии патологического процесса. Начальные этапы этого заболевания хрусталика изучены недостаточно. Изучение именно ранних этапов формирования патологического процесса особенно важно, так как в случае с возрастной катарактой, именно в этот период можно воздействовать на патогенетические механизмы заболевания с профилактической и лечебной целью [1, 21].

Благодаря многочисленным исследованиям получены убедительные доказательства того, что в патогенезе возрастной катаракты важнейшим звеном является дисбаланс процессов свободно-радикального окисления (белков, липидов и др. компонентов) и потенциала антирадикальной системы экзогенного и эндогенного характера. В результате этого дисбаланса в хрусталике резко повышается концентрация пероксидов и снижается уровень функциональных групп белков (тиоловых, карбоксильных и др.) [13, 25–27,30].

В целом ряде исследований установлено, что уровень сульфгидрильных групп в катарактальных хрусталиках резко снижен, при этом количество дисульфидных связей, как правило, увеличено. В этой связи особое значение приобретает глута-

тион, главной функциональной особенностью которого является поддержание в восстановленном состоянии сульфгидрильных групп белков. Кроме того, восстановленный глутатион обладает способностью обезвреживать чужеродные органические соединения и устранять свободные радикалы [9, 15].

Известно также, что в хрусталике отмечается самая высокая концентрация восстановленной формы глутатиона (GSH), в процессах регенерации которого принимают участие никотинамидные коферменты, в частности НАДФН (никотинамиддениндинуклеотид фосфат восстановленный). При этом с возрастом уровень восстановленного глутатиона заметно снижается. Резкое снижение содержания GSH наблюдается в катарактальных хрусталиках человека [4, 9, 24, 33].

В настоящее время большое количество исследователей полагают, что одной из причин снижения активности защитных систем хрусталика является недостаточное поступление в организм природных биоантиоксидантов и витаминов, в том числе витамина Е и ниацина, предшественника никотинамидных коферментов [1, 4, 21, 30]. Известно, что витамин Е, кроме антиоксидантного действия, наряду с никотинамидными коферментами (НАД, НАДН, НАДФ, НАДФН), принимает участие в регуляции функционирования клеточных органелл и обмена веществ [4, 17].

В последнее время большой интерес у медиков вызывают препараты, которые не являются чужеродными для организма человека. Так, в частности, особый интерес проявляется к биофлавоноидам и каротиноидам [16, 22, 28, 35].

В ряде работ установлено, что биофлавоноиды обладают антиоксидантными, противовоспалительными, ангиопротекторными, противоаллергическими, ранозаживляющими, спазмолитическими, противоопухолевыми, антимикробными и другими фармакологическими свойствами. Особого внимания в этом плане заслуживает такой флавоноид, как кверцетин [18, 19, 31, 34].

В исследованиях последних лет доказано, что из всех форм каротиноидов прямое отношение к органу зрения имеют лютеин и зеаксантин. Результаты ряда клинических наблюдений можно рассматривать как предпосылки предположения, что лютеин и зеаксантин могут способствовать снижению риска возникновения возрастной катаракты. Оба каротиноида поступают с пищей в кровяное русло и, в конечном итоге, могут накапливаться в тканях глаза, главным образом в сетчатке и хрусталике [20, 29, 32].

В наших предыдущих экспериментальных исследованиях было установлено, что изучаемые флавоноиды и каротиноиды, а также витамин Е и особенно его короткоцепочечный аналог существенно

повышают устойчивость хрусталика к длительному воздействию катарактогенного фактора и замедляют развитие первичных помутнений в нем. Нами также было показано, что эти препараты оказывают защитное влияние на процессы перекисидации в хрусталике при повреждающем действии световой энергии высокой интенсивности в эксперименте [3, 5–7, 10].

Целью настоящей работы явилось изучение тиолового статуса и уровня никотинамидных коферментов хрусталика при воздействии каротиноидов (лютеина и зеаксантина) и флавоноида (кверцетина), витамина Е и его короткоцепочечного производного в условиях моделирования экспериментальной катаракты.

Материал и методы

Экспериментальные исследования выполнены на 86 кроликах (массой 2,5–3,2 кг) породы шиншилла.

Работа с животными проводилась с учетом требований Международных рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с экспериментальными животными, которые были предложены на Совете международных медицинских организаций (1985 г.) «О мерах по дальнейшему совершенствованию форм работы с использованием экспериментальных животных».

Моделирование световой катаракты в первой серии опытов осуществляли в течение 40 недель. Опытные группы животных подвергали воздействию облучения светом дуговой ртутной лампы типа ДРФ — 1000 (1000 Вт) высокой интенсивности в спектральном диапазоне от 350 до 1150 нм ежедневно в режиме светового дня в течение 9 часов [8].

Подопытные животные были разделены на несколько экспериментальных групп: контрольная группа — 8 кроликов, группа «свет» — 12 кроликов, группа «свет+каротиноиды» — 11 кроликов, группа «свет+флавоноиды» — 12 кроликов.

Во второй серии экспериментов кролики подвергались облучению светом двух дуговых ртутно-вольфрамовых ламп ДРВ-750 (350–1150 нм, плотность потока 30 мВт/см², 750 Вт) в режиме светового дня по 9 часов (28 кроликов) на протяжении 23 недель [8]. Первая группа (9 кроликов) подвергалась только световому воздействию. Вторая группа (10 кроликов) на фоне светового воздействия получала курс препарата α -токоферол ацетат (ТФА), а третья (9 кроликов) — его короткоцепочечный аналог 2–4-метил-3-пентенил-6-ацетокси-2,5,7,8-тетраметилхроман (ТФХД) (представлены Институтом биохимии им. А. В. Паладина НАН Украины). Контрольная группа — 15 кроликов.

На протяжении эксперимента состояние хрусталиков оценивали биомикроскопически с использованием щелевой лампы фирмы «Карл Цейс». Зрачки предварительно расширялись инстилляциями 1–2 каплей 1 % раствора атропина. Осмотр проводили перед началом и каждые две недели до окончания эксперимента.

В гомогенатах хрусталиков производили определение содержания белковых сульфгидрильных и дисульфидных групп, восстановленного и окисленного глутатиона [12], а также никотинамидных коферментов [22].

Принцип метода определения восстановленного глутатиона основан на реакции между глутатионом и метилглиоксалем в присутствии фермента глиоксилазы с образова-

нием конъюгата S-лактоилглутатиона, имеющего максимум поглощения при длине волны 240 нм.

Принцип метода определения окисленной формы глутатиона состоит в том, что в результате ферментативного восстановления глутатиона глутатионредуктазой происходит окисление восстановленной формы НАДФН, убыль которого регистрируют спектрофотометрически при длине волны 340 нм.

Диапазон определяемых концентраций восстановленной и окисленной формы — от 5 до 200 мкг/мл соответствующего раствора. Среднее значение коэффициента вариации метода для указанного диапазона восстановленной формы — 4,0 %, окисленной формы — 5,0 %, для измерений использовали спектрофотометр СФ-26.

Принцип метода определения содержания сульфгидрильных групп состоит в определении количества тионитрофенильного аниона, освободившегося в результате взаимодействия 5,5'-дитиобис (2-нитробензойной) кислоты со свободными SH-группами белков. Дисульфидные группы белков восстанавливали с помощью дитиотрептола до сульфгидрильных групп. Сопоставляя содержание свободного тионитрофенильного аниона до и после добавления дитиотрептола, рассчитывали количество дисульфидных групп в белке.

Оптическую плотность растворов измеряли при длине волны 412 нм на спектроколориметре «Specol-210». Среднее значение коэффициента вариации метода — 1,02 %. Со-

держание сульфгидрильных и дисульфидных групп выражали в нмоль/г ткани.

При определении содержания никотинамидных коферментов непосредственно измеряемой величиной является экстинкция реакционной смеси, в которой образуется формазан синий из тиазольевого синего в результате ряда циклических превращений с соответствующим коферментом.

Оптическую плотность растворов измеряли при длине волны 570 нм на спектроколориметре «Specol-210». Коэффициент вариации для НАД — 5,6 %, НАДН — 5,7 %, НАДФ — 6,7 %, НАДФН — 5,8 %. Содержание никотинамидных коферментов выражали в нмоль/г ткани.

Результаты экспериментальных исследований обрабатывались с помощью соответствующих методов статистического анализа с использованием пакета SPSS 11 и Statistica 5.5 [11,14].

Результаты и их обсуждение

В первой серии экспериментов исследовали показатели тиоловой системы хрусталика при воздействии каротиноидов в условиях моделирования световой катаракты. Данные о влиянии каротиноидов на содержание белковых сульфгидрильных и дисульфидных групп в хрусталиках кроликов в условиях моделирования катаракты представлены в таблице 1.

Таблица 1. Влияние каротиноидов на содержание показателей тиоловой системы в хрусталиках кроликов в условиях моделирования катаракты (нмоль/г ткани)

Биохимические показатели	Статистические показатели	Условия эксперимента		
		Норма	Свет	Свет + каротиноиды
Сульфгидрильные белковые группы	n	8	12	11
	M	96,24	57,74	80,02
	m	6,1	4,25	5,04
	p	—	<0,001	>0,05
	%	100,0	60,0	83,5
	p1	—	—	<0,01
	%1	—	100,0	138,2
Дисульфидные белковые группы	n	8	12	11
	M	28,45	59,76	45,57
	m	2,43	4,30	3,84
	p	—	<0,001	<0,01
	%	100,0	210,1	160,2
	p1	—	—	<0,05
	%1	—	100,0	76,3
Восстановленный глутатион	n	8	12	11
	M	6,72	3,51	5,04
	m	0,42	0,28	0,45
	p	—	<0,001	<0,05
	%	100,0	52,2	75,0
	p1	—	—	<0,01
	%1	—	100,0	143,6
Окисленный глутатион	n	8	12	11
	M	0,30	0,50	0,39
	m	0,02	0,04	0,03
	p	—	<0,001	<0,01
	%	100,0	166,7	130,0
	p1	—	—	<0,05
	%1	—	100,0	78,0

Примечания: p — уровень значимости различия данных по отношению к норме; p1 — уровень значимости различия данных по отношению к группе «Свет».

При моделировании катаракты содержание сульфгидрильных групп белков в хрусталиках животных со световым воздействием было понижено до $(57,74 \pm 4,25)$ нмоль/г, что составило 60 % по отношению к норме $(96,24 \pm 6,1)$ нмоль/г.

В группе животных со световым воздействием и применением каротиноидов уровень сульфгидрильных белковых групп составил $(80,02 \pm 5,04)$ нмоль/г, т. е. 83,5 % по сравнению с нормой, а по сравнению с группой «свет» повысился на 38,2 %.

Содержание дисульфидных белковых групп в хрусталиках животных с экспериментальной катарактой в группе со световым воздействием повысилось до $(59,76 \pm 4,30)$ нмоль/г, что по отношению к норме $(28,45 \pm 2,43)$ нмоль/г составило 210,1 %.

При применении лютеина и зеаксантина в группе животных со световым воздействием содержание дисульфидных групп белков составило $(45,57 \pm 3,48)$ нмоль/г, т. е. 160,2 % по сравнению с нормой, а по сравнению с группой «свет» понизилось на 23,7 %.

Данные о влиянии каротиноидов на содержание восстановленного и окисленного глутатиона в хрусталиках кроликов в условиях моделирования катаракты представлены в таблице 1.

Содержание восстановленного глутатиона в хрусталиках животных в группе со световым воздействием было снижено до $(3,51 \pm 0,28)$ мкмоль/г, что по сравнению с нормой $(6,72 \pm 0,42)$ мкмоль/г составило 52,2 %. Столь значительное снижение глутатиона в хрусталике при действии катарактогенного фактора может быть обусловлено как снижением скорости процессов его биосинтеза (снижение γ -глутамилтрансферазы), так и нарушением рециклизации: восстановлением его окисленной формы глутатионредуктазой. Что касается возможного уменьшения глутатиона за счет его ускоренного использования в глутатионпероксидазной и глутатионтрансферазной реакции, то активность этих ферментов при развитии катаракты как правило снижается.

В условиях применения каротиноидов (лютеин и зеаксантин) у животных со световым воздействием, уровень восстановленного глутатиона составил $(5,04 \pm 0,45)$ мкмоль/г, т. е. 75 % по отношению к норме, а по сравнению с группой животных «свет» повысился на 43,6 %.

В группе животных со световым воздействием содержание окисленного глутатиона в хрусталиках было повышено до $(0,50 \pm 0,04)$ мкмоль/г, что по сравнению с нормой $(0,30 \pm 0,02)$ мкмоль/г составило — 166,7 %.

При применении каротиноидов в условиях светового воздействия содержание окисленного глутатиона в хрусталиках животных составило $(0,39 \pm 0,03)$ мкмоль/г, т. е. 130 % по отношению к норме, а по отношению к группе животных «свет» понизилось на 22 %.

Во второй серии экспериментов исследовали воздействие флавоноида — кверцетина на тиоловый статус хрусталика при световой катаракте. Данные о влиянии флавоноидов на содержание белковых сульфгидрильных и дисульфидных групп в хрусталиках кроликов в условиях моделирования катаракты представлены в таблице 2.

При моделировании катаракты содержание сульфгидрильных групп белков в хрусталиках животных со световым воздействием было понижено до $(59,54 \pm 4,30)$ нмоль/г, что составило 61,2 % по отношению к норме $(97,32 \pm 6,00)$ нмоль/г.

В группе животных со световым воздействием и применением флавоноидов уровень сульфгидрильных белковых групп составил $(87,59 \pm 6,14)$ нмоль/г, т. е. 90 % по сравнению с нормой, а по сравнению с группой «свет» повысился на 47,1 %.

Содержание дисульфидных белковых групп в хрусталиках животных с экспериментальной катарактой в группе со световым воздействием повысилось до $(60,90 \pm 4,32)$ нмоль/г, что по отношению к норме $(28,84 \pm 2,50)$ нмоль/г составило — 211,2 %.

При применении флавоноидов в группе животных со световым воздействием содержание дисульфидных групп белков составило $(42,20 \pm 3,34)$ нмоль/г, т. е. 146,3 % по сравнению с нормой, а по сравнению с группой «свет» понизилось на 30,7 %.

Данные о влиянии флавоноидов на содержание восстановленного и окисленного глутатиона в хрусталиках кроликов в условиях моделирования катаракты представлены в таблице 2.

Содержание восстановленного глутатиона в хрусталиках животных в группе со световым воздействием было снижено до $(3,54 \pm 0,30)$ мкмоль/г, что по сравнению с нормой $(6,84 \pm 0,40)$ мкмоль/г составило 51,8 %.

В условиях применения флавоноидов у животных со световым воздействием уровень восстановленного глутатиона составил $(5,61 \pm 0,42)$ мкмоль/г, т. е. 82 % по отношению к норме, а по сравнению с группой животных «свет» повысился на 58,5 %.

В группе животных со световым воздействием содержание окисленного глутатиона в хрусталиках было повышено до $(0,48 \pm 0,04)$ мкмоль/г, что по сравнению с нормой $(0,29 \pm 0,02)$ мкмоль/г составило — 165,5 %.

При применении флавоноидов в условиях светового воздействия содержание окисленного глутатиона в хрусталиках животных составило $(0,34 \pm 0,03)$ мкмоль/г, т. е. 117,2 % по отношению к норме, а по отношению к группе животных «свет» понизилось на 29,2 %.

Полученные в работе результаты свидетельствуют о том, что изученные фитопрепараты (каротиноиды и флавоноиды) оказывают выраженное защитное действие на тиоловую систему хрусталика при воздействии катарактогенного факто-

Таблица 2. Влияние флавоноидов на содержание показателей тиоловой системы в хрусталиках кроликов в условиях моделирования катаракты (нмоль/г ткани)

Биохимические показатели	Статистические показатели	Условия эксперимента		
		Норма	Свет	Свет + флавоноиды
Сульфгидрильные белковые группы	n	8	12	12
	M	97,32	59,54	87,59
	m	6,00	4,30	6,14
	p	–	<0,001	>0,05
	%	100,0	61,2	90,0
	p1	–	–	<0,01
Дисульфидные белковые группы	n	8	12	12
	M	28,84	60,90	42,20
	m	2,50	4,32	3,34
	p	–	<0,001	<0,01
	%	100,0	211,2	146,3
	p1	–	–	<0,01
Восстановленный глутатион	n	8	12	12
	M	6,84	3,54	5,61
	m	0,40	0,30	0,42
	p	–	<0,001	<0,05
	%	100,0	51,8	82,0
	p1	–	–	<0,01
Окисленный глутатион	n	8	12	12
	M	0,29	0,48	0,34
	m	0,02	0,04	0,03
	p	–	<0,001	>0,05
	%	100,0	165,5	117,2
	p1	–	–	<0,05
	%1	–	100,0	70,8

Примечания: p — уровень значимости различия данных по отношению к норме; p1 — уровень значимости различия данных по отношению к группе «Свет».

ра — световой энергии. Флавоноид — кверцетин обладает заметно большим эффектом в отношении тиоловых групп белков и восстановленной формы глутатиона в хрусталиках облучаемых животных. Этот факт можно объяснить экспериментальными данными о стабилизирующем влиянии кверцетина на ферменты антиоксидантной системы (супероксиддисмутазу, каталазу, глутатионпероксидазу и глутатионредуктазу), а главное — его действием на экспрессию ферментов, синтезирующих глутатион [33]. В то же время следует учитывать, что согласно экспериментальным данным, каротиноиды оказывают защитное действие на витальность хрусталикового компонента только в условиях, не вызывающих значительного падения уровня глутатиона. Этот факт в определенной степени может лимитировать защитный эффект каротиноидов при действии на хрусталик некоторых катарактогенных факторов.

Во второй серии экспериментов было установлено снижение содержания никотинамидных коферментов в хрусталике кроликов после хронического облучения животных полихромным светом по отношению к контрольной группе (табл. 3).

При световом воздействии отмечалось значимое снижение уровня окисленной формы НАД в хрусталике до $(749,97 \pm 63,82)$ нмоль/г по отношению к контролю $(974,91 \pm 68,13)$ нмоль/г, что составило 76,9%. В хрусталике была отмечена только тенденция к понижению уровня восстановленной формы НАД до 83,8% при сравнении с контролем. Соотношение НАД/НАДН в хрусталике облученных животных существенно не изменялось.

Определенный интерес представляют данные о содержании восстановленной формы НАДФ, учитывая, что важной функцией никотинамидных коферментов является участие в регенерации восстановленной формы глутатиона за счет окисления НАДФН [4].

Исследования уровня НАДФН в хрусталике животных после светового воздействия свидетельствуют о значительном снижении содержания НАДФН в хрусталике до $(12,82 \pm 1,16)$ нмоль/г по отношению к контролю $(19,54 \pm 1,58)$ нмоль/г, что составило 65,67%. Следует отметить, что в условиях светового воздействия уровень НАДФ в хрусталике существенно не изменялся. Восстановительный потенциал НАДФН/НАДФ в хрусталике по отно-

Таблица 3. Влияние витамина Е и его аналога 2–4-метил-3-пентенил-6-ацетокси-2,5,7,8-тетраметилхромана на содержание никотинамидных коферментов в хрусталиках кроликов в условиях моделирования катаракты (нмоль/г ткани)

Биохимические показатели	Статистические показатели	Условия эксперимента			
		Норма	Свет	Свет + ТФА	Свет + ТФХД
НАД	n	15	9	10	9
	M	974,91	749,97	760,52	782,16
	m	68,13	63,82	68,70	64,56
	p	–	<0,05	<0,05	>0,05
	%	100,0	76,9	78,0	80,2
	p1	–	–	>0,05	>0,05
	%1	–	100,0	101,4	104,3
НАДН	n	15	9	10	9
	M	627,64	525,97	617,39	592,33
	m	68,17	46,27	47,18	37,98
	p	–	>0,05	>0,05	>0,05
	%	100,0	83,8	98,4	94,4
	p1	–	–	>0,05	>0,05
	%1	–	100,0	117,4	112,6
НАДФ	n	15	9	10	9
	M	15,26	14,17	13,58	14,09
	m	0,25	1,08	0,96	1,02
	p	–	>0,05	>0,05	>0,05
	%	100,0	92,9	89,0	92,3
	p1	–	–	>0,05	>0,05
	%1	–	100,0	95,8	99,4
НАДФН	n	15	9	10	9
	M	19,54	12,82	17,94	20,29
	m	1,58	1,16	0,88	1,01
	p	–	<0,01	>0,05	>0,05
	%	100,0	65,6	91,8	103,8
	p1	–	–	<0,01	<0,001
	%1	–	100,0	139,9	158,3

Примечания: p — уровень значимости различия данных по отношению к норме; p1 — уровень значимости различия данных по отношению к группе «Свет».

шению к контрольным значениям был значительно снижен — в 1,41 раза.

При применении ТФА и ТФХД уровень окисленной формы НАД в хрусталике у животных после облучения оставался пониженным в отличие от уровня восстановленной формы НАД. При использовании короткоцепочечного аналога витамина Е в хрусталике наблюдалась только тенденция к повышению уровня НАДН по отношению к группе животных с облучением. Окислительный потенциал НАД/НАДН при применении препаратов ТФА и ТФХД был снижен, главным образом, за счет восстановленной формы НАД.

При световом облучении содержание НАДФН в хрусталике кроликов составляло (12,82±1,16) нмоль/г, тогда как при применении ТФА (17,94±0,88) нмоль/г и ТФХД (20,29±1,01) нмоль/г при норме (19,54±1,58) нмоль/г.

В хрусталике экспериментальных животных при применении ТФА и ТФХД происходит заметное увеличение отношения НАДФН/НАДФ за счет повышения уровня восстановленной формы НАДФ. Наиболее выраженное повышение восстановительного потенциала пары НАДФН/НАДФ отмечалось

в хрусталике в случае использования ТФХД — в 1,59 раза по отношению к кроликам со световым воздействием.

Таким образом, использование ТФА и ТФХД предотвращало понижение уровня НАДФН в хрусталике кроликов, получавших световое облучение, при этом наиболее выраженные изменения наблюдались в случае применения производного витамина Е — ТФХД. Отмеченные метаболические эффекты в случае применения ТФА и, особенно, ТФХД, имеют существенное значение в поддержании структурно-функциональных свойств хрусталика в условиях повышенной генерации свободно-радикальных соединений при действии катарактогенных факторов.

В целом же, представленные в данной работе результаты в значительной мере раскрывают важные звенья механизмов антикатарактогенного действия каротиноидов и флавоноидов, а также витамина Е и его производного ТФХД, выявленного в наших предыдущих исследованиях. В общем же, указанные материалы наших исследований в комплексе с данными экспериментальных и клинических наблюдений зарубежных исследователей можно рас-

смаивать как научное обоснование для проведения пролонгированных клинических испытаний указанных препаратов с целью профилактики возникновения и развития возрастной катаракты.

Выводы

1. В результате экспериментальных исследований установлено, что флавоноид — кверцетин и каротиноиды — лютеин и зеаксантин обладают выраженным влиянием на тиоловые группы белков хрусталика в условиях моделирования возрастной катаракты. Концентрация белковых тиоловых групп в хрусталиках животных, подвергнутых воздействию световой энергии, в условиях применения кверцетина и лютеина с зеаксантином была выше на 47,1 % и 38,2 % соответственно.

2. Доказано, что содержание восстановленного глутатиона в хрусталике при моделировании возрастной катаракты в значительной степени может быть стабилизировано с помощью флавоноида — кверцетина и каротиноидов — лютеина и зеаксан-

тина, при этом эффект первого был более выраженным по сравнению со вторым: уровень глутатиона в первом случае был выше на 58,5 %, а во втором — на 43,6 %.

3. Применение на фоне светового воздействия препаратов — α -токоферол ацетата и его короткоцепочечного аналога 2—4-метил-3-пентенил-6-ацетокси-2,5,7,8-тетраметилхромана способствовало существенному повышению уровня восстановленной фосфорилированной формы никотинамидных коферментов в хрусталике на 39,9 % и на 58,3 % соответственно, особенно соотношения НАДФН/НАДФ в 1,6 раза, в случае применения аналога витамина Е.

4. Выявленный защитный эффект каротиноидов и флавоноидов на тиоловый статус хрусталика, α -токоферол ацетата и особенно ТФХД на поддержание восстановительного потенциала НАДФН/НАДФ при экспериментальной катаракте является важным звеном механизма антикатарактогенного действия изученных препаратов.

Литература

1. Венгер Г. Ю., Ульянова Н. А. Результаты комплексного консервативного лечения больных возрастной катарактой // Одес. мед. журн. — 2005. — № 1. — С. 52–54.
2. Веселовская З. Ф., Боброва Н. Ф., Вит В. В. Катаракта. — К.: Книга плюс, 2002. — 208 с.
3. Коломийчук С. Г., Леус М. Ф. Вивчення механізму регуляторного впливу вітамінів на редокс-станoviще нікотинамідних коферментів та стан кристалика за дії катарактогенних чинників // Вісник морської медицини. — 2012. — № 1. — С. 49–51.
4. Леус Н. Ф., Метелицина И. П., Олейник Т. В. и др. Роль вітамінів и коферментов при дегенеративних захворюваннях органа зору // Журнал АМН України. — 2005. — Т.11, № 4. — С. 737–752.
5. Леус Н. Ф., Гиржева А. В., Журавок Ю. А. Влияние биофлавоноидов (кверцетина и рутина) на развитие патологических изменений в хрусталике при моделировании возрастной катаракты // Офтальмол. журн. — 2010. — № 6. — С. 60–65.
6. Леус Н. Ф., Будайа Низар, Пархоменко Т. В. Влияние каротиноидов на стабильность антиоксидантных ферментов и биофизические свойства хрусталиковых компонентов при воздействии световой энергии // Офтальмол. журн. — 2012. — № 2. — С. 54–57.
7. Леус Н. Ф., Будайа Низар. Эффективность антикатарактогенного действия каротиноидов (лютеина и зеаксантина) при развитии экспериментальной катаракты // Офтальмол. журн. — 2012. — № 3. — С. 64–67.
8. Леус М. Ф., Метелицина И. П., Дрожжина Г. И. та ін. Способ моделювання променевої катаракти: Пат. 20178 Україна, ПМК G 09 B 23/28, № 4712831/SU; Заявл. 13.07.89; Опубл. 25.12.97; Бюл. «Пром. власн.» № 6. — Ч. 2. — С. 576.
9. Леус Н. Ф. Изучение биохимических механизмов катарактогенеза. Уровень глутатиона при развитии экспериментальной катаракты // Офтальмол. журн. — 1980. — № 7. — С. 423–426.
10. Метелицина И. П., Коломийчук С. Г., Кузьменко И. В., Мальцев Э. В., Леус Н. Ф. О возможности замедления процессов ускоренного старения хрусталиков производным витамина Е // Цитология. — 1997. — Т. 39, № 6. — С.490–491.
11. Наследов А. SPSS компьютерный анализ данных в психологии и социальных науках. // Спб.: Питер, 2005. — 416 с.
12. Новые методы биохимического анализа // Изд. Ленинградского универ. — 1991. — 395 с.
13. Павлюченко К. П., Мохаммед Зухейр Махфуз Ибрагим. Влияние уровня тиоловых соединений в организме на устойчивость хрусталика к световому воздействию // Офтальмол. журн. — 2004. — № 5. — С. 57–61.
14. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. — Москва: Медиа Сфера, 2003. — 312 с.
15. Ульянова Н. А. Стан тиол-дисульфідної системи кристалика, камерної вологи та сироватки крові при катарактогенезі (клініко-експериментальне дослідження): автореф. дисс. ... канд. мед. наук: 14.01.18 / Міністерство охорони здоров'я України, Національна мед. акад. післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика — Київ, 2006. — 20 с.
16. Шальк В. Лютеин и зеаксантин: два основных компонента для здоровья глаз // Офтальмол. журн. — 2010. — № 1. — С. 108–110.
17. Brigelius-Flohe R., Traber M. VitaminE: function and metabolism // FASEB J. — 1999. — № 13. — P. 1145–1155.
18. Cao X-G., Li X-X., Bao Y-Z. Responses of human lens epithelial cells to quercetin and DMSO // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 2007. — Vol. 48. — P. 3714–3718.

19. **Cornish K. M., Williamson G., Sanderson J.** Quercetin metabolism in the lens: role in inhibition of hydrogen peroxide induced cataract // *Free Rad. Biol. Med.* — 2002. — Vol. 33. — № 1. — P. 63–70.
20. **Dorey C. K., Granata L., Nichols C. R.** Dietary modulation of lens zeaxanthin in quail // *Exp. Eye Res.* — 2005. — Vol. 81. — P. 464–477.
21. **Fernandez M. M., Afshari N. A.** Nutrition and the prevention of cataracts // *Curr. Opin. Ophthalmol.* — 2008. — Vol. 19. — № 1. — P. 66–70.
22. **Gao S., Qin T., Liu Z.** Lutein and zeaxanthin supplementation reduces H₂O₂-induced oxidative damage in human lens epithelial cells // *Mol. Vis.* — 2011. — Vol. 17. — P. 3180–3190.
23. **Giblin F., Reddy V.** Pyridine Nucleotide in Ocular Tissues as Determined by the Cycling Assay // *Exp. Eye Res.* — 1980. — № 31. — P. 601–609.
24. **Giblin F. J.** Glutathione: a vital lens antioxidant // *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* — 2000. — Vol. 16. — P. 121–135.
25. **Gupta S. K., Trivedi D., Srivastava S.** Lycopene attenuates oxidative stress induced experimental cataract development: an in vitro and in vivo study // *Nutrition.* — 2003. — Vol. 19. — P. 794–799.
26. **Javadzadeh A., Ghorbanihaghjo A., Bonyadi S.** Preventive effect of anion juice on selenite-induced experimental cataract // *Indian J. Ophthalmol.* — 2009. — Vol. 57. — P. 185–189.
27. **Jiang Q., Cao C., Zhou C.** Quercetin attenuates UV- and H₂O₂-induced decrease of collagen type I in cultured human lens epithelial cells // *J. Ocul. Phar. Ther.* — 2008. — Vol. 24. — № 2. — P. 164–170.
28. **Kay C. D.** The future of flavonoid research // *Brit. J. Nutr.* — 2010. — Vol. 104. — P. S91–S95.
29. **Krinsky N. I., Landrum J. T., Bone R. A.** Biologic mechanisms of the protective role of lutein and zeaxanthin in the eye // *Ann. Rev. Nutr.* — 2003. — Vol. 23. — P. 171–201.
30. **Li L., Duker J. S., Yoshida Y.** Oxidative stress and antioxidant status in older adults with early cataract // *Eye.* — 2009. — Vol. 23. — P. 1464–1468.
31. **Majumdar S., Srirangam R.** Potential of the bioflavonoids in the prevention/treatment of ocular disorders // *J. Pharm. Pharmacol.* — 2010. — Vol. 62. — № 8. — P. 951–965.
32. **Moeller S. M., Volland R., Tinker L.** Associations between age-related nuclear cataract and lutein and zeaxanthin in the diet and serum in the carotenoids in age-related eye disease study, an ancillary study of the women's health initiative // *Arch. Ophthalmol.* — 2008. — Vol. 126. — № 3. — P. 354–364.
33. **Myhrstad M. C. W., Carlsen H., Nordstrom O.** Flavonoids increase the intracellular glutathione level by transactivation of the γ -glutamylcysteine synthetase catalytical subunit promoter // *Free Rad. Biol. Med.* — 2002. — Vol. 32. — P. 386–393.
34. **Sanderson J., McLauchlan W. R., Williamson G.** Quercetin inhibits hydrogen peroxide-induced oxidation of the rat lens // *Free Rad. Biol. Med.* — 1999. — Vol. 26. — № 5/6. — P. 639–645.
35. **Vu H. T. V., Robman L., Hodge A.** Lutein and zeaxanthin and the risk of cataract: the melbourne visual impairment project // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 2006. — Vol. 47. — P. 3783–3786.

Поступила 02.07.2013.

References

1. **Venger GYe, Ulyanova NA.** Results of complex conservative treatment of patients with age-related cataract. *Odesskii med. Zhurnal.* 2005; 1: 52–4. Russian.
2. **Veslovskaya ZF, Bobrova NF, Vit VV.** *Cataract. K.: Kniga plus;* 2002. 208 p.
3. **Kolomiichuk SG, Leus MF.** Study of the mechanism of regulatory impact of vitamins on redox status of nicotinamide coenzymes and condition of the lens with the cataract factors. *Visnyk morskoi meditsyny.* 2012; 1: 49–51. Ukrainian.
4. **Leus NF, Metelitsina IP, Oleinik TV et al.** Role of vitamins and co-enzymes in degenerative diseases of the eye. *Zhurnal AMN Ukrainy.* 2005; 11(4): 737–52. Russian.
5. **Leus NF, Girzheva AV, Zhuravok YuA.** Influence of bioflavonoid (quercetin and rutin) on development of pathological changes in the lens in modeling of age-related cataract. *Oftalmol Zh.* 2010; 6: 60–5. Russian.
6. **Leus NF, Budaya Nizar, Parkhomenko TV.** Influence of carotenoids on the stability of antioxidant enzymes and biophysical properties of lens components while light energy exposing. *Oftalmol Zh.* 2012; 2: 54–7. Russian.
7. **Leus NF, Budaya Nizar.** Efficacy of anticataract action of carotenoids (lutein and zeaxanthin) in the development of experimental cataract. *Oftalmol Zh.* 2012; 3: 64–7. Russian.
8. **Leus MF, Metelitsyna IP, Drozhzhina GI, et al.** Method of modeling of radiation cataract. Patent. 20178 Ukraine, PMK G 09 B 23/28, № 4712831/SU; Appl. 13.07.89; Publ. 25.12.97; Bul., Prom. Vlas.» № 6. Part. 2: 576.
9. **Leus NF.** Study of the biochemical mechanisms of cataract genesis. Glutathione levels in the development of experimental cataract. *Oftalmol Zh.* 1980; 7: 423–6. Russian.
10. **Metelitsyna IP, Kolomiichuk SG, Kuzmenko IV, Maltsev EV, Leus NF.** On the possibility of slowing down the processes of lens accelerated aging with vitamin E derivative. *Tsitologija.* 1997; 39(6): 490–1. Russian.
11. **Nasledov A.** SPSS computer analysis of data in psychology and social sciences. StP.: Piter; 2005. 416 p.
12. *New methods of biochemical analysis.* Izd. Leningradskogo univer; 1991. 395 p.
13. **Pavlyuchenko KP, Mollahmed Zuheir Mahfuz Ibragim.** Effect of the thiol compounds level in the body on the lens stability to light exposure. *Oftalmol Zh.* 2004; 5: 57–61. Russian.
14. **Rebrova OYu.** Statistic analysis of medical data. Application of software package STATISTICA. Moscow: Media Sfera; 2003. 312 p.
15. **Ulyanova NA.** Thiol-disulfide status of the lens, chamber humidity and blood serum in cataract genesis (clinic experimental study): author's thesis: 14.01.18. Ministry of Health of Ukraine, National Medical Academy of Post Graduate Study n/a P. L. Shupik. Kyiv; 2006. 20 p.
16. **Shalk V.** Lutein and zeaxanthin are two main components for eye health. *Oftalmol Zh.* 2010; 1: 108–10. Russian.
17. **Brigelius-Flohe R, Traber M.** Vitamin E: function and metabolism. *FASEB J.* 1999; 13: 1145–55.

18. **Cao X-G, Li X-X, Bao Y-Z.** Responses of human lens epithelial cells to quercetin and DMSO. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2007; 48: 3714–8.
19. **Cornish KM, Williamson G, Sanderson J.** Quercetin metabolism in the lens: role in inhibition of hydrogen peroxide induced cataract. *Free Rad. Biol. Med.* 2002; 33(1): 63–70.
20. **Dorey CK, Granata L, Nichols CR.** Dietary modulation of lens zeaxanthin in quail. *Exp. Eye Res.* 2005; 81: 464–77.
21. **Fernandez MM, Afshari NA.** Nutrition and the prevention of cataracts. *Curr. Opin. Ophthalmol.* 2008; 19(1): 66–70.
22. **Gao S, Qin T, Liu Z.** Lutein and zeaxanthin supplementation reduces H₂O₂-induced oxidative damage in human lens epithelial cells. *Mol. Vis.* 2011; 17: 3180–90.
23. **Giblin F, Reddy V.** Pyridine Nucleotide in Ocular Tissues as Determined by the Cycling Assay. *Exp. Eye Res.* 1980; 31: 601–9.
24. **Giblin FJ.** Glutathione: a vital lens antioxidant. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* 2000; 16: 121–35.
25. **Gupta SK, Trivedi D, Srivastava S.** Lycopene attenuates oxidative stress induced experimental cataract development: an in vitro and in vivo study. *Nutrition.* 2003; 19: 794–9.
26. **Javadzadeh A, Ghorbanihaghjo A, Bonyadi S.** Preventive effect of anion juice on selenite-induced experimental cataract. *Indian J. Ophthalmol.* 2009; 57: 185–9.
27. **Jiang Q, Cao C, Zhou C.** Quercetin attenuates UV- and H₂O₂-induced decrease of collagen type I in cultured human lens epithelial cells. *J. Ocul. Phar. Ther.* 2008; 24(2): 164–70.
28. **Kay CD.** The future of flavonoid research. *Brit. J. Nutr.* 2010; 104: S91–S95.
29. **Krinsky NI, Landrum JT, Bone RA.** Biologic mechanisms of the protective role of lutein and zeaxanthin in the eye. *Ann. Rev. Nutr.* 2003; 23: 171–201.
30. **Li L, Duker JS, Yoshida Y.** Oxidative stress and antioxidant status in older adults with early cataract. *Eye.* 2009; 23: 1464–8.
31. **Majumdar S, Srirangam R.** Potential of the bioflavonoids in the prevention/treatment of ocular disorders. *J. Pharm. Pharmacol.* 2010; 62(8): 951–65.
32. **Moeller SM, Volland R, Tinker L.** Associations between age-related nuclear cataract and lutein and zeaxanthin in the diet and serum in the carotenoids in age-related eye disease study, an ancillary study of the women's health initiative. *Arch. Ophthalmol.* 2008; 126(3): 354–64.
33. **Myhrstad MCW, Carlsen H, Nordstrom O.** Flavonoids increase the intracellular glutathione level by transactivation of the γ -glutamylcysteine synthetase catalytic subunit promoter. *Free Rad. Biol. Med.* 2002; 32: 386–93.
34. **Sanderson J, McLauchlan WR, Williamson G.** Quercetin inhibits hydrogen peroxide-induced oxidation of the rat lens. *Free Rad. Biol. Med.* 1999; 26(5/6): 639–45.
35. **Vu HTV, Robman L, Hodge A.** Lutein and zeaxanthin and the risk of cataract: the melbourne visual impairment project. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2006; 47: 3783–6.

Received 02.07.2013.