

УДК 57.085.2

БИОНЕОРГАНИЧЕСКИЕ МАРКЁРЫ ПОТЕРИ БАРЬЕРНЫХ СВОЙСТВ КАПСУЛЫ ХРУСТАЛИКА ПРИ РАЗВИТИИ ВОЗРАСТНОЙ КАТАРАКТЫ

Н. А. Пахомова¹, Т. Е. Борисенко¹, И. А. Новиков^{1,*},
академик РАН С. Э. Аветисов^{1,2}

Поступило 03.04.2019 г.

На основе анализа особенностей накопления натрия, кальция, фосфора и калия проиллюстрирована значимость механизма развития возрастной катаракты в результате потери барьерных свойств капсулы хрусталика. Впервые посредством пространственного кластерного анализа и корреляционного анализа выявлена связь физического светорассеяния в объёме вещества хрусталика с изменением его элементного состава. Поля распределения повышенных концентраций натрия, кальция, фосфора, калия и хлора согласуются с геометрией капсулы хрусталика и кластеризуются совместно с зонами помутнений в его объёме. Геометрия фронта накопления химических элементов в веществе хрусталика характерна и для влаги передней камеры, что может служить доказательством избыточного прохождения их соединений сквозь оболочку капсулы, а пространственная связь с изменением прозрачности — доказательством участия в катарактогенезе.

Ключевые слова: катаракта, малоугловое светорассеяние, элементный состав, хрусталик, возрастные помутнения, натрий, влага передней камеры.

DOI: <https://doi.org/10.31857/S0869-56524875592-595>

Необратимые возрастные изменения прозрачности хрусталика широко распространены у высших животных и человека. В связи с высокой частотой встречаемости катаракту рассматривают как социально значимое заболевание. Проблема потери прозрачности хрусталика хорошо известна также в домашнем и декоративном животноводстве. Это объясняет частое использование при изучении катарактогенеза одомашненных непарнокопытных, кошек и собак в качестве моделей [1–5].

Хрусталик представляет собой двояковыпуклую биологическую линзу, состоящую из регулярных агрегатов организованных белковых молекул. Вещество нормального хрусталика большинства млекопитающих обладает механической эластичностью и прозрачно в видимом диапазоне. При этом белковые агрегаты обладают относительно высоким индексом преломления, а их регулярная укладка обеспечивает светопропускание без заметного светорассеяния. Помимо этого содержащие электролит интерстиции между организационными единицами белка, на границах которых могло бы происходить диффузное светорассеяние, не превышают по толщине половину длины волны коротковолновой

части пропускаемого света. Это позволяет обеспечить ограниченную миграцию химических веществ в объёме хрусталика, не влияя существенно на его прозрачность. В составе организованных белковых агрегатов обнаруживается большое разнообразие специфических белков (33–45% массы), соотношение которых незначительно меняется у разных представителей высших животных. Интерстициальный электролит, включающий неорганические вещества, углеводы, их производные, восстановители глутатиона, цистеина, собственно цистеин и аскорбиновую кислоту, составляет 55–67% массы хрусталика. Снаружи хрусталик покрыт тонкой бесструктурной капсулой с базальной мембраной и монослоем эпителиоподобных клеток.

Несмотря на множество имеющихся теорий и гипотез патогенеза катаракты, на сегодня нет единого мнения о механизмах, лежащих в основе этого заболевания. Считается, что дезорганизация и модификация белков, в том числе и в результате фотохимических реакций, занимают доминирующую роль в изменении вещества хрусталика и приводят к появлению в его объёме значительно нарушающих светопроведение новообразованных форменных элементов [6–11].

Недостаточная изученность механизмов развития этого заболевания является ограничительным фактором в разработке медикаментозных способов его лечения. В настоящее время основным методом

¹ Научно-исследовательский институт
глазных болезней, Москва

² Первый московский государственный
медицинский университет им. И. М. Сеченова, Москва

*E-mail: i.novikov@niigb.ru

лечения возрастной катаракты как у человека, так и у животных остаётся радикальная хирургия.

В данной работе на основе анализа особенностей накопления натрия, кальция, фосфора и калия показана значимость механизма развития возрастной катаракты, связанного с потерей барьерных свойств капсулы хрусталика.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования послужили 30 изолированных хрусталиков человека. Для оценки бионеорганических проявлений катарактогенеза использовали изолированные хрусталики (20 образцов) с помутнениями различной степени выраженности, локализованные только в ядре либо в ядре и в кортикальных слоях. Хрусталики с помутнениями отбирали интраоперационно в процессе экстра- или интракапсулярной экстракции катаракты. Бионеорганическая характеристика прозрачных хрусталиков (условно здоровые доноры) была дана на основе анализа 10 кадаверных хрусталиков, полученных из кадаверных глаз, энуклеированных не позже чем через 12 часов после смерти донора. При отборе материала учитывали необходимость возрастной и этнической сопоставимости групп. Этические нормы и законодательство РФ соблюдали.

Из предварительно замороженных образцов под визуальным контролем выкраивали два плоскопараллельных блока толщиной $0,80 \pm 0,05$ мм вдоль их оптической оси. Один из блоков использовали для оценки светорассеивающей способности, другой — “зеркальный” — для анализа распределения химических элементов в плоскости разреза. Химический микроанализ проводили на микроскопе Zeiss EVO LS-10 (“Zeiss”, Германия) с энергодисперсионным спектрометром OXFORD X-Max⁵⁰ (“OXFORD”, Великобритания).

Ранее нами был разработан оригинальный фотометр малоуглового светорассеяния (патент RU169521), позволяющий с пространственным разрешением до 3 мкм оценивать *in vitro* светорассеивающую способность вещества хрусталика в выкраиваемом из него плоскопараллельном блоке толщиной 1 мм. Фотометр обеспечивает возможность одномоментной оценки относительной мощности отклонённого света для каждого из направлений либо для всей совокупности направлений, на которые отклонился проходящий сквозь вещество луч лазера с длиной волны 630 нм. Для 422–895 точек каждого из блоков хрусталика были получены данные о суммарной мощности света, отклонённого при пробеге луча через 0,80 мм вещества на углы от

5 до 15°. Во всех геометрически соответствующих точках “зеркальной” плоскости смежного блока хрусталика был определён качественный (полуколичественный) химический состав. Оценка особенностей распределения химических элементов с помощью сканирующего электронного микроскопа была выполнена без напыления, в режиме низкого вакуума (70 Па), при ускоряющем напряжении от 20 до 25 кВ и токе на образце 400–520 пА (катод LaB6). Для минимизации контракции в разреженной атмосфере микроскопа образцы были предварительно заморожены при температуре –70 °С.

Измерения осуществляли в едином координатном пространстве, что позволило проводить корреляционный анализ и сравнивать пространственную кластеризацию различных параметров, в том числе посредством пространственного (Splat) моделирования в программе GeoDa (“Luc Anselin”, GPL, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Впервые количественно охарактеризовано малоугловое оптическое рассеяние света веществом хрусталика в его объёме. Установлено, что мощность отклоняемого на $10^\circ \pm 5^\circ$ света при прохождении 1 мм вещества хрусталика колеблется в диапазоне от 1 до 86% для условно прозрачных хрусталиков и от 16 до 100% для хрусталиков с помутнениями. Таким образом, выраженные оптические дефекты существуют и в прозрачном хрусталике, но их незначительная доля в его объёме не препятствует формированию правильной светопроекции.

По данным исследования срезов на качественном (полуколичественном) уровне охарактеризовано распределение химических элементов в объёме вещества условно прозрачных хрусталиков и хрусталиков с помутнениями.

В объёме хрусталика выявлены сильная, статистически значимая положительная корреляционная связь между изменением светорассеивающей способности хрусталика и общим содержанием кальция ($R = 0,759$; $p < 0,001$), сильная отрицательная корреляция между изменением светорассеивающей способности хрусталика и общим содержанием калия ($R = -0,815$; $p < 0,001$), умеренная положительная корреляция между изменением светорассеивающей способности и общим содержанием натрия ($R = 0,603$; $p < 0,001$), средняя отрицательная корреляция между изменением светорассеивающей способности и общим содержанием фосфора ($R = -0,607$; $p < 0,001$). В картине распределения химических элементов в объёме хрусталиков с на-

личие помутнений выявлены значимые парные корреляции между натрием и кальцием ($R = 0,634$; $p < 0,001$), фосфором и калием ($R = 0,596$; $p < 0,001$) (рис. 1).

Установлено, что в условно прозрачных хрусталиках содержание ни одного из оцениваемых химических элементов значимо не кластеризуется в пространстве. Рассчитанное для модели максимального правдоподобия, связывающей прозрачность с Na (в паре с Ca), а также с P (в паре с K), максимальное значение индекса Морана в прозрачном хрусталике не превышает $I = 0,74$ и, как правило, находится в диапазоне $I = 0,54–0,58$. При развитии помутнений имеет место достоверная пространственная кластеризация этой модели, при этом значения индекса

Морана возрастают до $I = 0,98$ (при минимальном зарегистрированном значении $I = 0,72$).

Полученные данные элементной химии хрусталика могут служить индикаторами процессов, протекающих с определённой пространственной геометрией в его объёме и приводящих к развитию помутнений. Закономерности патологического накопления химических элементов позволяют оценить значимость той или иной теории катарактогенеза из спектра конкурирующих биохимических или физико-химических моделей, предложенных различными авторами.

Тот факт, что области повышенных концентраций главных неорганических компонентов влаги передней камеры (Na, Ca, P, K и Cl) в объёме хруста-

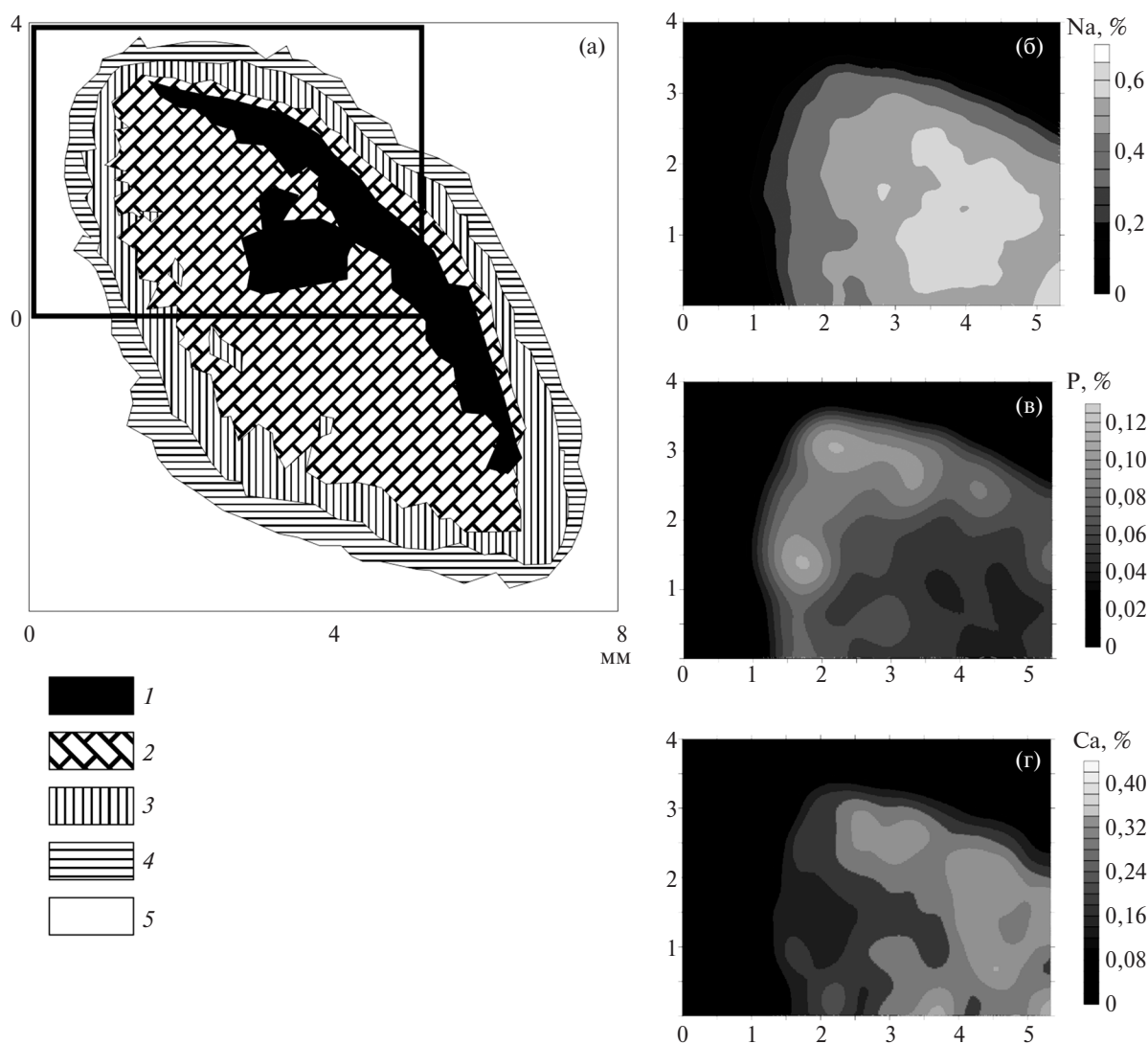


Рис. 1. Сагитальное сечение хрусталика с помутнениями. Типичное распределение в его объёме: а — светорассеивающей способности вещества, б — содержания натрия, в — фосфора, г — кальция. Жирной рамкой на рисунке (а) выделена область, соответствующая полям на рисунках (б)–(г), для которой построены корреляционная и кластерная модели (см. описание в тексте). Карта светорассеивающей способности построена в процентах мощности отклоняемого света на угол $10^\circ \pm 5^\circ$, в легенде: 80–100% (1), 60–80% (2), 40–60% (3), 20–40% (4), 0–20% (5).

лика коррелируют со светорассеивающей способностью, а также повторяют геометрию его капсулы, свидетельствует о значимой роли потери барьерных свойств капсулы в развитии возрастной катаракты.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Duncan G., Bushell A.* The Bovine Lens as an Ion-Exchanger: a Comparison with Ion Levels in Human Cataractous Lenses // *Exp. Eye Research*. 1976. V. 23. № 3. P. 341–353. [https://doi.org/10.1016/0014-4835\(76\)90133-0](https://doi.org/10.1016/0014-4835(76)90133-0)
2. *Hightower K.R., Dering M.* Development and Reversal of Calcium-Induced Opacities *in vitro* // *Invest. Ophthalmol. & Vis. Sci.* 1984. V. 25. № 9. P. 1108–1111.
3. *Goralska M., Nagar S., Colitz C., Fleisher L., McGahan M.* Changes in Ferritin H- and L-Chains in Canine Lenses with Age-Related Nuclear Cataract // *Invest. Ophthalmol. & Vis. Sci.* 2009. V. 50. № 1. P. 305. <https://doi.org/10.1167/iovs.08-2230>
4. *Goralska M., Fleisher L., McGahan M.* Ferritin H- and L-Chains in Fiber Cell Canine and Human Lenses of Different Ages // *Invest. Ophthalmol. & Vis. Sci.* 2007. V. 48. № 9. P. 3968. <https://doi.org/10.1167/iovs.07-0130>
5. *Goralska M., Nagar S., Fleisher L.N., McGahan M.C.* Distribution of Ferritin Chains in Canine Lenses with and without Age-Related Nuclear Cataracts // *Mol. Vision*. 2009. V. 15. P. 2404.
6. *Островский М.А., Федорович И.Б., Ельчанинов В.В., Кривандин А.В.* // Сенсорные системы. 1994. Т. 8. № 3/4. С. 135–146.
7. *McCarty C.A., Taylor H.R.* Recent Developments in Vision Research: Light Damage in Cataract // *Amer. J. Ophthalmol.* 1996. № 37. P. 1720–1723.
8. *West S.K., Duncan D.D., Munoz B., et al.* Sunlight Exposure and Risk of Lens Opacities in a Population-Based Study — the Salisbury Eye Evaluation Project // *J. Amer. Med. Ass.* 1998. V. 280. P. 714–718.
9. *Delcourt C., Carrier I., Ponton San'chez A., et al.* Light Exposure and the Risk of Cortical, Nuclear, and Posterior Subcapsular Cataracts: the Pathologies Oculaires Liees a l'Age (POLA) Study 2000 // *Arch. Ophthalmol.* 2000. V. 118. № 3. P. 385–392.
10. *Тюзинов И.А.* Окислительный стресс как ключевой механизм старения: патофизиологические механизмы и SMART диагностика // *Вопр. диет.* 2017. Т. 7. № 1. С. 47–54.
11. *Weinert B.T., Timiras P.S.* Theories of Aging // *J. Appl. Physiol.* 2003. V. 95. P. 1706–1716.

BIOINORGANIC MARKERS OF LENS CAPSULE BARRIER PROPERTIES LOSS IN AGE-RELATED CATARACTS DEVELOPMENT

N. A. Pakhomova¹, T. E. Borisenko¹, I. A. Novikov¹,
Academician of the RAS S. E. Avetisov^{1,2}

¹Research Institute of Eye Desiases, Moscow, Russian Federation

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

Received April 3, 2019

The study demonstrates the significance of development mechanism of age-related cataract consequent to the loss of barrier properties of the lens capsule based on analysis of the accumulation of sodium, calcium, phosphorus and potassium. Spatial cluster analysis and correlation analysis were used to reveal for the first time the relation between the diffusion of light in the body of the crystalline lens and changes in its elemental composition. Distribution fields of elevated concentrations of sodium, calcium, phosphorus, potassium and chlorine are consistent with geometry of the lens capsule and clusterize together with areas of opacification in its body. The accumulation geometry of the elements in the lens body is also commonly seen in the aqueous humor of the anterior chamber, which can be considered evidence for excessive transitioning of their compounds through the lens capsule shell, while spatial connection with transparency changes — proof of its participation in cataractogenesis.

Keywords: cataract, small angle light diffusion, elemental composition, crystalline lens, age-related opacification, sodium, aqueous humor.