



## Uloga lipidne peroksidacije u patogenezi senilne katarakte

### Role of lipid peroxidation in pathogenesis of senile cataract

Bojana Kisić\*, Dijana Mirić\*, Lepša Žorić†, Ilija Dragojević\*,  
Aleksandra Stolić‡

Medicinski fakultet Kosovska Mitrovica, \*Institut za biohemiju, †Klinika za očne bolesti,

‡Katedra za preventivnu medicinu (Medicinska statistika i informatika), Kosovska Mitrovica, Srbija

#### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Katarakta je strukturna, fizička, biohemijska i optička promena u očnom sočivu, koja menja transmisiju i refrakciju svetlosnih zraka narušavajući oštrinu i definisanost lika na retini. Javlja se kod starijih od 65 godina (45,9%), te praktično svi stariji od 70 godina imaju određeni stepen zamućenja sočiva. Naša ispitivanja bila su usmerena na merenje produkata lipidne peroksidacije u kataraktnim sočivima, koji su posredstvom oksidativnog stresa uključeni u početak kataraktogeneze i razvoj zrele katarakte. **Metode.** Klinička i biohemijska ispitivanja izvršena su kod 101 bolesnika, sa kataraktom i to 46 osoba ženskog pola i 55 osoba muškog pola. Prosečna starost ispitivane grupe iznosila je 72,47 godina ( $\bar{x} = 72,47$ ). Prema stepenu zrelosti katarakte, bolesnici su grupisani u dve grupe i to *cataracta senilis incipiens* ( $n = 41$ ) i *cataracta senilis matura* ( $n = 60$ ). Određivanje koncentracije konjugovanih diena vršeno je spektrofotometrijski. Fluorescentni produkti lipidne peroksidacije određivani su spektrofotometrijskom analizom, a koncentracija malondialdehida (MDA) određivana je kolorimetrijskom reakcijom, pomoću tiobarbiturine kiseline. **Rezultati.** Kod ispitanika sa dijagnozom *cataracta senilis incipiens* izmerena je značajno veća koncentracija konjugovanih diena u sočivu ( $p < 0,001$ ), kao i intenzitet fluorescence liposolubilnih i hidrosolubilnih iminopropena ( $p < 0,001$ ). Značajno veća koncentracija ispitivanih produkata lipidne peroksidacije održava se i kod mature, mešovite katarakte, koja je imala nuklearnu komponentu u svom početku. U grupi ispitanika sa maturnom kataraktom izmerena je značajno veća koncentracija MDA u sočivu ( $p < 0,001$ ). **Zaključak.** Promene sočivnih struktura izazvane lipidnom peroksidacijom mogu, uz prisutne druge faktore rizika, uticati na početak odnosno razvoj mature katarakte. U pojedinim tipovima katarakti, različit je intenzitet lipidne peroksidacije, sa najizraženijim promenama kod katarakti sa nuklearnim početkom.

#### Ključne reči:

katarakta; lipidi; peroksidacija; malondialdehid.

#### Abstract

**Background /Aim.** Cataract is a structural, biochemical and optical change in the eye lens, which changes transmission and refraction of light rays reducing keenness and clarity of a figure on the retina. Its occurrence is highest in older people, over the age of 65 (45.9%), thus a certain degree of opacification exists practically in all people over the 70. Our research was directed to measuring of lipid peroxidation products in cataract lenses involved in early stages of cataractogenesis through oxidative stress and in the development of mature cataract. **Methods.** Clinical and biochemical research was carried out in 101 patients with cataract, 46 women and 55 men. The average age of the group was 72.47 ( $\bar{x} = 72.47$ ). According to the cataract maturity degree the patients were classified into two groups as follows: *cataracta senilis incipiens* ( $n = 41$ ) and *cataracta senilis matura* ( $n = 60$ ). Measuring of diene conjugates was carried out by spectrophotometer. Fluorescent lipid peroxidation products were measured by a spectrofluorophotometer, and malondialdehyde (MDA) concentration was measured by colorimeter as a product of a reaction with thiobarbituric acid (TBA). **Result.** Significantly higher diene conjugated concentration in lenses was measured in the patients with the diagnosis *cataracta senilis incipiens* ( $p < 0.001$ ) as well as the intensity of fluorescent iminopropens ( $p < 0.001$ ). Significantly higher MDA concentration in lens ( $p < 0.001$ ) was measured in the patients with *cataracta senilis matura*. **Conclusion.** The lens structure changes caused by lipid peroxidation can, with other risk factors present, influence the occurrence and development of mature cataract. Some cataract types show different lipid peroxidation intensity with the most distinct changes in cataract which started as corticonuclear.

#### Key words:

cataract; lipid peroxidation; malondialdehyde.

## Uvod

Pojava i razvoj katarakte utiču na opadanje vidnog, radnog i životnog komfora. Katarakta je bolest očnog sočiva, koja se vezuje uglavnom za proces starenja organizma. To je progresivno zamućenje sočiva kod ljudi od 45 i više godina, nastalo bez nekog poznatog uzroka kao traume, inflamacije, hipokalcemije, medikamentata ili kongenitalnih faktora. Faktori rizika za pojavu katarakte su brojni: starenje, dijabetes melitus, UV zraci sunčeve svetlosti, malnutricija, pušenje, hipertenzija, bubrežne bolesti i drugi. Slobodni radikali kiseonika i oksidativni stres smatraju se značajnim faktorom koji doprinose pojavi senilne ili *age-related* katarakte<sup>1,2</sup>. Ova hipoteza podržana je studijama u kojima je ispitivan antikataraktogeni efekat različitih nutricionih i fizioloških antioksidanasa<sup>3</sup>. Toksične efekte na ćelijama aerobnih organizama kiseonik ne ispoljava u molekularskoj formi, već u formi slobodnih radikala kiseonika. Slobodni radikali nastaju univalentnim transferom elektrona na molekularni kiseonik. Zbog svoje biohemijske prirode i niske energije aktivacije sposobni su da reaguju sa biomolekulima svih ćelijskih struktura, vršeći pri tome njihovu hemijsku i fiziološku modifikaciju. U fiziološkim uslovima stvaranje slobodnih radikala kontroliše mehanizam antioksidativne zaštite. Brojna ispitivanja potvrdila su da je intenzivna oksidacija proteina i lipida sočiva udružena sa senilnom kataraktom. Eksperimentalno je pokazano na kulturi organa da kataraktu može uzrokovati fotohemijski izazvana produkcija superoksid radikala, hidroksil radikala i H<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>4</sup>. Peroksidacija lipida smatra se patogenetskim faktorom kataraktogeneze<sup>1,4-6</sup>. Lipidi ćelijskih membrana (fosfolipidi, glikolipidi i holesterol) najčešći su supstrati ovog oksidativnog ataka, a pošto su ćelijske membrane lipoproteinske strukture, istovremeno biva narušena i struktura membranskih proteina. To izaziva poremećaj barijerne funkcije ćelijske membrane, oksidacione modifikacije Ca<sup>++</sup>-ATP-aze i Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP-aze, što dovodi do promena u nivou intraćelijskog kalcijuma i drugih jona<sup>7</sup>. Strukturne promene ćelijske membrane i njena povećana propustljivost menjaju ćelijski volumen i konfiguraciju sočiva, što dovodi do refraktarnih promena, koje su udružene sa početkom katarakte.

Ćelijske membrane veoma su osetljive na dejstvo radikala kiseonika, zbog prisustva polinezasićenih masnih kiselina u lipidima. Masne kiseline u lipidima ćelijskih membrana sadrže različiti broj ugljenikovih atoma (od 14 do 24), a prisutne dvogube veze nalaze se u *cis* konfiguraciji. Prisustvo dvogube veze u susjedstvu jako destabilizuje vezu između ugljenika i vodonika metilenske grupe u lancu polinezasićene masne kiseline, pa oduzimanjem vodonika iz takve metilenske grupe reaktivno sposobnim oksidansom započinje proces oksidativne modifikacije masnih kiselina (lipidna peroksidacija)<sup>8</sup>. Neenzimska peroksidacija polinezasićenih masnih kiselina (autooksidacija) je proces koji se dešava u tri faze: inicijacija, propagacija i terminacija<sup>9</sup>. Intenzitet ovog procesa, kao i sposobnost delimične ili potpune reparacije oštećenja, zavisi od pro/anti-oksidativnih uslova sredine u kojoj se ovaj proces dešava.

Poslednjih godina, postoje brojna istraživanja o uticaju reaktivnih kiseoničnih vrsta na pojavu i razvoj katarakte. Međutim, u najvećem broju ovih istraživanja, pokazatelji

aktivnosti slobodnih kiseoničnih radikala i antioksidativnog kapaciteta ispitivani su u plazmi obolelih od katarakte. Glavni razlog pomenutog su promene operativnih metoda kataraktnih sočiva. Uvođenje i ekspanzija fakoemulzifikacije smanjili su uopšte dostupnost i mogućnost direktnog ispitivanja kataraktnih sočiva. Korišćenje autopsijskog materijala, takođe, nosi niz prepreka, posebno kada je cilj ispitivanja antioksidativni status. Literaturni podaci o biohemijskim postmortalnim promenama, govore o brzom padu koncentracije glutationa u sočivu do nemerljivih vrednosti, već dvadesetak sati od nastupanja smrti<sup>10</sup>.

S obzirom da je senilna katarakta hronična, degenerativna bolest očnog sočiva, koja se manifestuje u poznim godinama, uzroci njene pojave su verovatno brojni i treba ih tražiti u ranijim periodima života, pre same pojave i kliničke manifestacije. Naša ispitivanja bila su usmerena na merenje produkata lipidne peroksidacije u kortikonuklearnim blokovima kataraktnih sočiva, koji su posredstvom oksidativnog stresa uključeni u početak kataraktogeneze i razvoj zrele katarakte.

## Metode

Kliničko ispitivanje izvršeno je kod 101 bolesnika obolelog od katarakte, hospitalizovanih u Odeljenju za očne bolesti, Bolničkog centra u Kosovskoj Mitrovici. Pre hirurške intervencije, ispitanicima je urađen standardni oftalmološki pregled oba oka. Pri tome je oko sa početnom kataraktom bilo kontrola, na osnovu koga je određena forma početka mature (totalne) katarakte na drugom oku. Svaki bolesnik podvrgnut je hirurškoj intervenciji ekstrakapsulne ekstrakcije sa ugradnjom intraokularnog sočiva na jednom oku. Odmah nakon ekstrakcije, dobijeni kortikonuklearni blok sočiva uronjen je u Hartmanov rastvor, zamrznut i čuvan na -20° C do analiziranja.

Biohemijska ispitivanja homogenata sočiva obavljena su u Institutu za biohemiju, Medicinskog fakulteta Priština, sa sedištem u Kosovskoj Mitrovici. Sve hemikalije korišćene za pravljenje rastvora bile su stepena čistoće *pro analysi*.

Najpre je izmerena suva težina sočiva (izraženo u gramima tkiva), a zatim homogenizacija u puferu 0,02 mol/L KPi pH 7,4 sa 0,134 mol/L KCl. Homogenat je centrifugiran u toku 10 minuta na 3 500 obrt/min, a bistar supernatant je korišćen za analize.

Koncentracija malondialdehida (MDA) određivana je kolorimetrijskom reakcijom, pomoću tiobarbiturne kiseline (2-tiobarbiturna kiselina, Sigma Chemical USA) po metodi Ledwozyw i sar.<sup>11</sup>. Određivanje koncentracije lipidnih hidroperoksida (konjugovanih diena) vršeno je spektrofotometrijski<sup>12,13</sup>. Fluorescentni produkti lipidne peroksidacije (liposolubilni i hidrosolubilni) formirani tokom peroksidacionih promena bioloških membrana određivani su spektrofotometrijskom analizom<sup>14,15</sup>.

Biohemijska ispitivanja, izvršena su na kortikonuklearnim blokovima sočiva 101 operisanog bolesnika sa dijagnozom katarakte i to 46 osoba ženskog pola i 55 osoba muškog pola. Prosečna starost ispitivane grupe iznosila je 72,47 godina ( $\bar{x}$  = 7,98).

Prema stepenu maturiteta katarakte, bolesnici su grupisani u dve grupe i to *cataracta senilis incipiens* (n = 41) i

*cataracta senilis matura* ( $n = 60$ ). U grupi *cataracta senilis incipiens* bilo je 23 bolesnika sa početnom supkapsularnom kataraktom, devet bolesnika sa dijagnozom početne mešovito supkapsularno-nuklearne katarakte i devet bolesnika sa dijagnozom početne mešovito nuklearno-kortikalne katarakte.

U grupi *cataracta senilis matura* bilo je 19 bolesnika sa maturnom kataraktom, koja je počela kao supkapsularna, 15 bolesnika sa maturnom, koja je počela kao mešovito supkapsularno-nuklearna katarakta, 16 bolesnika sa maturnom, koja je počela kao mešovito nuklearno-kortikalna katarakta i 10 bolesnika sa dijagnozom mature, koja je počela kao kortikalna katarakta. U obradi rezultata korišćeni su deskriptivni statistički parametri: aritmetička sredina i standardna devijacija (SD). Testiranje statističke značajnosti razlika između srednjih vrednosti vršeno je Studentovim  $t$  testom i ANOVA testom. Kriterijum za statističku značajnost je bio  $p < 0,05$ . Za statističku obradu rezultata korišćeni su softverski programi: SPSS i INSTAT.

## Rezultati

U grupi ispitanika sa početnom kataraktom bila je značajno veća koncentracija konjugovanih diena u sočivu ( $t = 6,874$ ,  $DF = 99$ ,  $p < 0,001$ ), kao i intenzitet fluorescencije (relativne jedinice) liposolubilnih ( $t = 10,187$ ,  $DF = 99$ ,  $p < 0,001$ ) i hidrosolubilnih ( $t = 12,138$ ,  $DF = 99$ ,  $p < 0,001$ )

iminopropena. U grupi ispitanika sa maturnom kataraktom bila je značajno veća koncentracija MDA u sočivu ( $t = 5,198$ ,  $DF = 99$ ,  $p < 0,001$ ) (tabela 1).

Koncentracija konjugovanih diena bila je značajno veća u grupi bolesnika sa početnom mešovito nuklearno-kortikalnom kataraktom u odnosu na grupu bolesnika sa početnom supkapsularnom kataraktom ( $F = 4,403$ ,  $df = 2/40$ ,  $p < 0,05$ ) (tabela 2).

Intenzitet fluorescencije (relativne jedinice) liposolubilnih ( $F = 4,331$ ,  $df = 2/40$ ,  $p < 0,05$ ) i hidrosolubilnih ( $F = 3,285$ ,  $df = 2/40$ ,  $p < 0,05$ ) iminopropena bio je značajno veći u grupi bolesnika sa početnom mešovito nuklearno-kortikalnom kataraktom u odnosu na grupu bolesnika sa početnom supkapsularnom kataraktom. Između grupa nije postojala značajna razlika u koncentraciji MDA u sočivu ( $F = 0,609$ ,  $df = 2/40$ ,  $p = 0,549$ ).

Koncentracija konjugovanih diena bila je značajno veća u grupi bolesnika sa maturnom kataraktom, koja je počela kao mešovito nuklearno-kortikalna u odnosu na grupu bolesnika sa maturnom kataraktom koja je započela kao supkapsularna ( $F = 4,460$ ,  $df = 3/59$ ,  $p < 0,01$ ) (tabela 3).

Intenzitet fluorescencije liposolubilnih iminopropena bio je značajno veći ( $F = 2,931$ ,  $df = 3/59$ ,  $p < 0,05$ ) u grupi bolesnika sa maturnom kataraktom, koja je počela kao mešovito supkapsularno-nuklearna katarakta u odnosu na grupu bolesnika sa

Tabela 1

### Uticaj stepena maturacije katarakte na nivo produkata lipidne peroksidacije

| Produkti peroksidacije lipida    | Početna katarakta ( $n = 41$ ) | Maturna katarakta ( $n = 60$ ) |
|----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Konjugovani dieni (nmol/g tkiva) | $2,55 \pm 0,89^*$              | $1,62 \pm 0,47$                |
| Liposolubilni iminopropeni (Ap)  | $89,49 \pm 13,62^*$            | $63,86 \pm 11,53$              |
| Hidrosolubilni iminopropeni (Ap) | $120,63 \pm 16,32^*$           | $87,47 \pm 11,16$              |
| MDA (nmol/g tkiva)               | $0,020 \pm 0,013$              | $0,031 \pm 0,009^*$            |

Vrednosti su izražene kao  $\bar{x} \pm SD$ ;  $*p < 0,001$

Ap( $\lambda_{excit} = 365$  nm;  $\lambda_{excit} = 438$  nm) – intenzitet fluorescencije (relativne jedinice)

MDA – malondialdehid

Tabela 2

### Produkti peroksidacije lipida kod ispitanika sa *caracta senilis incipiens*

| Produkti peroksidacije lipida    | Početna katarakta          |                                     |                                  |
|----------------------------------|----------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|
|                                  | Supkapsularna ( $n = 23$ ) | supkapsularno-nuklearna ( $n = 9$ ) | nuklearno-kortikalna ( $n = 9$ ) |
| Konjugovani dieni (nmol/g tkiva) | $2,2563 \pm 0,75$          | $2,66 \pm 0,99$                     | $3,20 \pm 0,83^*$                |
| Liposolubilni iminopropeni (Ap)  | $84,38 \pm 12,89$          | $95,50 \pm 12,46$                   | $96,57 \pm 11,96^*$              |
| Hidrosolubilni iminopropeni (Ap) | $115,8 \pm 15,97$          | $122,07 \pm 14,08$                  | $131,33 \pm 15,35^*$             |
| MDA (nmol/g tkiva)               | $0,019 \pm 0,016$          | $0,017 \pm 0,007$                   | $0,024 \pm 0,006$                |

Vrednosti su izražene kao  $\bar{x} \pm SD$ ;  $*p < 0,05$

Ap( $\lambda_{excit} = 365$  nm;  $\lambda_{excit} = 438$  nm) – intenzitet fluorescencije (relativne jedinice)

MDA – malondialdehid

Tabela 3

### Produkti peroksidacije lipida kod ispitanika sa *cataracta senilis matura*

| Produkti peroksidacije lipida     | Maturna katarakta                               |                                                           |                                                        |                                              |
|-----------------------------------|-------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
|                                   | počela kao supkapsularna katarakta ( $n = 19$ ) | počela kao supkapsularno-nuklearna katarakta ( $n = 15$ ) | počela kao nuklearno-kortikalna katarakta ( $n = 16$ ) | počela kao kortikalna katarakta ( $n = 10$ ) |
| Konjugovani dieni (nmol/gr tkiva) | $1,41 \pm 0,30$                                 | $1,66 \pm 0,58$                                           | $1,91 \pm 0,39^{\dagger}$                              | $1,46 \pm 0,44$                              |
| Liposolubilni iminopropeni (Ap)   | $58,11 \pm 8,10$                                | $68,27 \pm 10,80^*$                                       | $64,21 \pm 14,69$                                      | $67,64 \pm 9,00$                             |
| Hidrosolubilni iminopropeni (Ap)  | $81,78 \pm 8,05$                                | $91,32 \pm 9,17^*$                                        | $94,96 \pm 12,14$                                      | $81,14 \pm 9,14$                             |
| MDA (nmol/gr tkiva)               | $0,033 \pm 0,011$                               | $0,030 \pm 0,011$                                         | $0,030 \pm 0,005$                                      | $0,030 \pm 0,005$                            |

Vrednosti su izražene kao  $\bar{x} \pm SD$ ;  $*p < 0,05$ ;  $^{\dagger}p < 0,01$

Ap( $\lambda_{excit} = 365$  nm;  $\lambda_{excit} = 438$  nm)

MDA – malondialdehid

maturnom kataraktom koja je započela kao supkapsularna. Vrednosti hidrosolubilnih iminopropena bile su značajno veće u grupi bolesnika sa maturnom kataraktom, koja je počela kao mešovito supkapsularno-nuklearna katarakta, u odnosu na grupu bolesnika sa maturnom supkapsularnom kataraktom ( $p < 0,05$ ), u grupi bolesnika sa maturnom kataraktom, koja je započela kao mešovito nuklearno-kortikalna katarakta u odnosu na grupu bolesnika sa maturnom kataraktom, koja je počela kao supkapsularna katarakta ( $p < 0,01$ ) i u grupi bolesnika sa maturnom kataraktom, započetom kao mešovito nuklearno-kortikalna katarakta u odnosu na grupu bolesnika sa maturnom kataraktom, koja je počela kao kortikalna katarakta ( $p < 0,01$ ). Između grupa nije postojala statistički značajna razlika u koncentraciji MDA u sočivu ( $p = 0,700$ ).

### Diskusija

U cilju evaluacije procesa lipidne peroksidacije i uticaja na proces kataraktogeneze određivali smo u homogenatu sočiva koncentracije primarnih molekulskih produkata lipidne peroksidacije (konjugovanih diena), zatim fluorescentnih produkata peroksidacije lipida i koncentraciju MDA, kao krajnjeg i relativno stabilnog niskomolekulskog produkta lipidne peroksidacije.

U grupi ispitanika sa incipientnom kataraktom, dobili smo značajno veće koncentracije konjugovanih diena u sočivu u odnosu na bolesnika sa maturnu kataraktom. Ovo se može objasniti time, što je na početku razvoja katarakte najintenzivniji proces peroksidacije lipida koji je ili sam pokretač procesa kataraktogeneze ili iniciran stvaranjem reaktivnih kiseoničkih vrsta, a dalje svojom propagacijom utiče na promene u sočivu. U grupi bolesnika sa početnom kataraktom, koncentracija konjugovanih diena bila je značajno veća kod mešovito nuklearno-kortikalne katarakte u odnosu na grupu bolesnika sa početnom supkapsularnom kataraktom. Takođe, kod mature katarakte koncentracija konjugovanih diena bila je najveća u sočivima bolesnika sa dijagnozom mešovite nuklearno-kortikalne katarakte. Grupa autora je u eksperimentu na pacovima takođe registrovala najveće koncentracije MDA u sočivima jedinki sa dijagnozom nuklearne katarakte<sup>16</sup>.

U prisustvu slobodnih jona metala sa promenljivom valencom (gvožđa i/ili bakra) vodonik peroksid se u Fentonovoj reakciji prevodi u veoma reaktivni hidroksil-radikal, dok se lipidni peroksidi prevode u peroksil i alkoksil-radikale. Zbog dužeg vremena poluživota u odnosu na alkoksil-radikal, peroksil-radikal je idealan za propagaciju oksidativnih lančanih reakcija, dok se alkoksil-radikal u prisustvu  $Fe^{+2}$  najčešće prevodi u toksične aldehide: malondialdehid i 4-hidroksi-2-nonenal. Takvi uslovi postoje u humanom senilnom sočivu<sup>17</sup>. Malondialdehid i 4-hidroksi-2-nonenal formiranjem *Schiffovih* baza sa amino grupama amino kiselinskih ostataka proteina doprinose povećanju sadržaja karbonilnih grupa. Jedan od razloga povećanog stvaranja i nakupljanja lipidnih hidroperoksida u homogenatu sočiva bolesnika obolelih od katarakte, može biti i smanjena aktivnost glutacione peroksidaze. Lipidni hidroperoksidi i peroksil radikali mogu izvršiti oksidaciju osetljivih amino kiselina (cis-

teina, histidina, metionina i triptofana) u proteinima. U reakciji produkata lipidne peroksidacije, malondialdehida sa amino grupama proteina, slobodnim amino kiselinama ili nukleinskim bazama, nastaju fluorescentni produkti peroksidacije lipida, čiji je nivo značajno veći kod sočivnih homogenata *cataracta sensilis incipiens* i to sočiva sa početnom mešovito nuklearno-kortikalnom kataraktom. Kod sočiva sa maturnom kataraktom, takođe, najveći intenzitet fluorescencije produkata lipidne peroksidacije izmeren je u homogenatima sočiva sa dijagnozom mešovite nuklearno-kortikalne katarakte. Neki autori identifikovali su u većoj koncentraciji u humanim kataraktnim sočivima, u odnosu na zdrava sočiva, fluorescentne *Schiffove* baze, nastale kao rezultat interakcije reaktivnih karbonilnih grupa MDA sa amino grupama membranskih fosfolipida<sup>18</sup>.

Merenjem koncentracije MDA (nmol/g tkiva) u homogenatu kataraktnih sočiva, dobijene su značajno veće koncentracije u grupi ispitanika sa maturnom u odnosu na incipientnu kataraktu (tabela 1). Ovo se može objasniti time što je MDA jedan od krajnjih produkata lipidne peroksidacije koji se nagomilava u sočivu tokom procesa peroksidacije lipida i razvoja katarakte. Dalje, MDA može reagovati sa biomolekulima tj. sa amino grupama amino kiselina, proteina, nukleinskih kiselina ili njihovim bazama, kao i fosfolipidima, produkujući lipofuscin i agregate velike molekulske težine u kataraktnom sočivu. Objavljeni su rezultati autora koji su kod eksperimentalno indukovane katarakte izmerili značajno veću koncentraciju MDA u kataraktnim sočivima u odnosu na kontrolnu grupu<sup>19, 20</sup>, kao i radovi autora koji su dobili značajno veće koncentracije MDA u kataraktnim sočivima dijabetičara<sup>1</sup>, miopnim sočivima i kod senilne katarakte<sup>5, 21</sup>.

Razlozi koji uzrokuju značajno veću koncentraciju produkata peroksidacije lipida kod katarakte sa nuklearnim početkom su verovatno brojni. Literaturni podaci pokazuju da se tokom života u sočivu razvija neka vrsta „interne“ sočivne barijere između nukleusa i kortikalnog dela, koja otežava difuziju molekula ka nukleusu<sup>22</sup>. Ova barijera sprečava difuziju antioksidativnih molekula ka nuklearnom delu, tako da je centar sočiva više izložen oksidaciji. Takođe, nestabilni prooksidativni molekuli, moguće je da imaju dužu rezidencu u centru sočiva. Naime, endogene sočivne hromofore: N-formil kinurenin, kinureninska kiselina, ksanturenska kiselina i riboflavin imaju odgovarajuća fotosenzibilizujuća svojstva<sup>23, 24</sup>. Putem fotosenzibilizujućih reakcija triptofanski produkti prenose apsorbovanu energiju na kiseonik, koji dalje putem oksidacije dovodi do niza ćelijskih promena. S godinama, nivo slobodnih komponenti UV filtera tj. triptofanskih derivata u sočivu se smanjuje, a povećava se njihovo vezivanje za proteine sočiva<sup>25, 26</sup>. Produkti triptofana podležu neenzimskoj dezaminaciji, pri fiziološkom pH, pri čemu nastaju  $\alpha$ ,  $\beta$  nesaturisana reaktivna karbonil jedinjenja<sup>27</sup>. Ova jedinjenja se kovalentno vezuju sa ostacima amino kiselina najčešće lizina, cisteina i histidina u proteinima humanog sočiva ili, čak, reaguju sa glutationom (GSH) pri čemu nastaje GSH-3OHKynG<sup>26, 28</sup>. Ovakva kovalentna modifikacija naročito je izražena u nukleusu sočiva koji sadrži starije proteine, što uzrokuje izmenjen transport/difuziju malih molekula u sočivu. Tačnije, razvija se barijera u kretanju molekula između metabolički aktivnog korteksa i inertnog nukleusa. Ovo verovatno uzrokuje smanjenje koncen-

tracije GSH u nukleusu sočiva, pa je i odgovor na oksidativna oštećenja u ovom delu sočiva smanjen<sup>29</sup>. Tokom života sočivna vlakna se u nuklearnom delu slažu vrlo kompaktno, uz minimalno prisustvo ekstracelularnog prostora. Nuklearne plazma membrane podležu oksidativnim oštećenjima, pri čemu se fosfolipidni molekuli, modifikovani kiseonikom, akumuliraju u lipidnom sloju, dovode do promena strukture i narušavaju lipid-lipid i protein-lipid interakcije u membranama sočivnih vlakna. To, verovatno, doprinosi da koncentracija produkata lipidne peroksidacije bude najveća kod katarakti sa nuklearnim početkom.

### Zaključak

Na osnovu dobijenih rezultata merenja produkata peroksidacije lipida u kortikonuklearnom bloku sočiva bolesnika

sa dijagnozom katarakte može se reći da promene sočivnih struktura izazvane lipidnom peroksidacijom mogu uz, naravno, prisutne druge faktore rizika, uticati na početak odnosno razvoj mature katarakte. U pojedinim tipovima katarakti, različit je intenzitet lipidne peroksidacije, sa najizraženijim promenama kod mešovite katarakte sa nuklearnom komponentom. Značajno je veća koncentracija konjugovanih diena i veći je intenzitet fluorescencije produkata lipidne peroksidacije kod početne katarakte, ali se održava i kod mature katarakte, koja je imala nuklearnu komponentu u svom početku.

### Zahvalnica

Autori se zahvaljuju Ministarstvu za nauku Republike Srbije na finansijskoj podršci u projektu br. 145112.

### L I T E R A T U R A

1. Donma O, Yorulmaz E, Pekel H, Suyugül N. Blood and lens lipid peroxidation and antioxidant status in normal individuals, senile and diabetic cataractous patients. *Curr Eye Res* 2002; 25(1): 9–16.
2. Babizhayev MA. Failure to withstand oxidative stress induced by phospholipid hydroperoxides as a possible cause of the lens opacities in systemic diseases and ageing. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1315(2): 87–99.
3. Yağci R, Aydın B, Erdurmuş M, Karadağ R, Gürel A, Durmuş M, et al. Use of melatonin to prevent selenite-induced cataract formation in rat eyes. *Curr Eye Res* 2006; 31(10): 845–50.
4. Spector A. Oxidative stress and disease. *J Ocul Pharmacol Ther* 2000; 16(2): 193–201.
5. Micelli-Ferrari T, Vendemiale G, Grattagliano I, Boscia F, Arnesi L, Altomare E, et al. Role of lipid peroxidation in the pathogenesis of myopic and senile cataract. *Br J Ophthalmol* 1996; 80(9): 840–3.
6. Mibu H, Nagata M, Hikida M. A study on lipid peroxide-induced lens damage in vitro. *Exp Eye Res* 1994; 58(1): 85–90.
7. Ahuja RP, Borchman D, Dean WL, Paterson CA, Zeng J, Zhang Z, et al. Effect of oxidation on Ca<sup>2+</sup>-ATPase activity and membrane lipids in lens epithelial microsomes. *Free Radic Biol Med* 1999; 27(1–2): 177–85.
8. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr* 1993; 57(5 Suppl): 715S–24S.
9. Wheatley RA. Some recent trends in the analytical chemistry in lipid oxidation. *Trends in Analytical Chemistry* 2000; 19(10): 617–28.
10. Pau H, Graf P, Sies H. Glutathione levels in human lens: regional distribution in different forms of cataract. *Exp Eye Res* 1990; 50(1): 17–20.
11. Ledwozny A, Michalak J, Stepień A, Kadziółka A. The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis. *Clin Chim Acta* 1986; 155(3): 275–83.
12. Kanamura N. Catalase. In: Taniguchi N, Gutteridge JMC, editors. *Experimental Protocols for Reactive Oxygen and Nitrogen Species*. Oxford: Oxford Univ Press; 2000. pp. 77–8.
13. Recknagel RO, Glende EA Jr. Spectrophotometric detection of lipid conjugated dienes. *Methods Enzymol* 1984; 105: 331–7.
14. Dillard CJ, Tappel AL. Fluorescent damage products of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1984; 105: 337–41.
15. Shimazaki H. Assay of fluorescent lipid peroxidation products. *Methods Enzymol* 1994; 233: 338–46.
16. Sakthivel M, Elanchezhan R, Ramesh E, Isai M, Jesudasan CN, Thomas PA, et al. Prevention of selenite-induced cataractogenesis in Wistar rats by the polyphenol, ellagic acid. *Exp Eye Res* 2008; 86(2): 251–9.
17. Truscott RJ. Age-related nuclear cataract-oxidation is the key. *Exp Eye Res* 2005; 80(5): 709–25.
18. Bhuyan DK, Master RW, Bhuyan KC. Crosslinking of aminophospholipids in cellular membranes of lens by oxidative stress in vitro. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1285(1): 21–8.
19. Jain RM, Bulakh PM. Effect of ketoacids on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced cataract. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 2003; 18(1): 91–5.
20. Gupta SK, Trivedi D, Srivastava S, Joshi S, Halder N, Verma SD. Lycopene attenuates oxidative stress induced experimental cataract development: an in vitro and in vivo study. *Nutrition* 2003; 19(9): 794–9.
21. Bhatia RP, Rai R, Rao GR. Role of malondialdehyde and superoxide dismutase in cataractogenesis. *Ann Ophthalmol (Skokie)* 2006; 38(2): 103–6.
22. Vinson JA. Oxidative stress in cataracts. *Pathophysiology* 2006; 13(3): 151–62.
23. Roberts JE, Finley EL, Patat SA, Schey KL. Photooxidation of lens proteins with xanthurenic acid: a putative chromophore for cataractogenesis. *Photochem Photobiol* 2001; 74(5): 740–4.
24. Finley EL, Dillon J, Crouch RK, Schey KL. Identification of tryptophan oxidation products in bovine alpha-crystallin. *Protein Sci* 1998; 7(11): 2391–7.
25. Kortlimbinis A, Aquilina JA, Truscott RJ. Protein-bound UV filters in normal human lenses: the concentration of bound UV filters equals that of free UV filters in the center of older lenses. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48(4): 1718–23.
26. Vazquez S, Aquilina JA, Jamie JF, Sheil MM, Truscott RJ. Novel protein modification by kynurenine in human lenses. *J Biol Chem* 2002; 277(7): 4867–73.
27. Taylor LM, Andrew Aquilina J, Jamie JF, Truscott RJ. UV filter instability: consequences for the human lens. *Exp Eye Res* 2002; 75(2): 165–75.
28. Garner B, Vazquez S, Griffith R, Lindner RA, Carver JA, Truscott RJ. Identification of glutathionyl-3-hydroxykynurenine glucoside as a novel fluorophore associated with aging of the human lens. *J Biol Chem* 1999; 274(30): 20847–54.
29. Sweeney MH, Truscott RJ. An impediment to glutathione diffusion in older normal human lenses: a possible precondition for nuclear cataract. *Exp Eye Res* 1998; 67(5): 587–95.

Rad primljen 20. X 2008.