

НЕКИ ПАРАМЕТРИ ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА У СОЧИВУ, ОЧНОЈ ВОДИЦИ И СЕРУМУ БОЛЕСНИКА СА ДИЈАБЕТЕСОМ И СЕНИЛНОМ КАТАРАКТОМ

Лепша ЖОРИЋ

Медицински факултет Универзитета у Приштини са седиштем у Крушевцу

КРАТАК САДРЖАЈ: Савремена хипотеза о старењу указује на оксидациони стрес као кључни догађај у процесима старења. За процес катарактогенезе окривљује се фотооксидациони стрес. Фактори секундарног сенијума су болести које убрзавају процес старења. Један од њих је дијабетес.

У циљу испитивања утицаја дијабетеса (тип II) на сенилну катарактогенезу, у раду су анализирани садржаји липидних пероксида (ЛП) и укупних сулфхидрилних група (TSH) сочивних кортиконуклеарних блокова и антиоксидациони капацитет изражен као проценат индуваног малондиалдехида (% иМДА) у 14 узорак добијених од болесника са катарактом и дијабетесом типа II (без компликација дијабетеса) и 66 узорак добијених од болесника са катарактом, без дијабетеса. Такође су у серумима 162 болесника са катарактом (од којих 27 са дијабетесом) анализирани неки параметри оксидационог стреса (концентрација малондиалдехида - МДА), као и параметри антиоксидационе заштите (концентрација витамина Ц, степен његове потрошње - Д/А, концентрације витамина Е, глутатиона, активности каталазе и пероксидазе, албумини), зависно од постајања дијабетеса. Учесталости болести секундарног сенијума анализирани су у клиничкој групи од 162 болесника са катарактом и 55 испитаника истих полних и добних карактеристика, у циљу испитивања ризика за појаву катаракте.

Болесници са дијабетесом и катарактом имају снижене вредности већине параметара антиоксидационе одбране у својим серумима и виши ниво продуката липидне пероксидације. Ниво глутатиона је статистички значајно нижи код дијабетичара са катарактом ($p < 0,05$). Интензитет липидне пероксидације је виши у кортиконуклеарним блоковима сочива дијабетичара, а ниво укупних сулфхидрилних група нижи, као и проценат индуваног МДА (антиоксидационе заштите) у њиховим очним водикама, што показује виши ниво оксидационог стреса код дијабетичара. Испитивањем учесталости болести секундарног сенијума код болесника са катарактом и контролних испитаника логистичком регресијом пронађен је висок однос преваге ($OR = 2,506$) за дијабетес.

Резултати потврђују хипотезу о учешћу оксидационог стреса у сенилној катарактогенези, као и о појачаном оксидационом стресу код дијабетичара.

Кључне речи: сенилна катаракта, дијабетес мелитус тип II, оксидациони стрес.

УВОД

Старење је својеврсна опсесија савременог човека, мада, разумљиво, као антитеза.

Примаран процес старења је генетски детерминисан и чине га инволуционе промене које се јављају са протицањем времена. Секундарно старење је убрзано због појаве болести честих у сенијуму, а које су најчешће последица начина живота детерминисаног личним навикама, социјалним, економским, еколошким и другим факторима [1].

Производња слободних радикала кисеоника је неизбежна карактеристика живота, баш као што је и кисеоник услов живота аеробних организама. Због токсичног дејства слободних радикала, упоредо са адаптацијом на аеробне услове живота, током еволуције развиле су се и заштитни, антиоксидациони механизми. Уколико се равнотежа између оксидационих процеса и антиоксидационе заштите поремети, настаје стање оксидационог стреса, који доводи до оштећења протеина, липида, полисахарида и нуклеинских киселина.

Савремена хипотеза о старењу указује на акумулацију продуката оксидационог стреса који смањују отпорност на интрацелуларна и екстрацелуларна оштећења [2, 3]. Сматра се да оштећења у ћелијама очног сочива изазвана дејством светла и кисеоника у виду фотодинамског дејства фотооксидационог стреса представљају суштину процеса катарактогенезе [4].

Сенилна катаракта (*age-related cataract*) је најчешћи узрок излечивог слепила код старих људи. То је прогресивно замућење сочива без познатог узрока код људи од 45 и више година [5].

Појава и развој катаракте мењају не само визуелни аспект човековог света, већ утичу и на његову радну способност и остале свакодневне активности и навике, а такође погађа његову целокупну личност. Око 50 милиона људи у свету има редуковану видну оштрину због катаракте [4]. Одређене групе болесника који су оперисали катаракту имају већу стопу смртности од осталих људи истог животног

Параметар	Дијабетес и катаракта	Катаракта
витамин Ц	50,89±13,49	50,73±20,85
дехидроаскорбат (Д)	34,39±8,09	35,41±8,36
аскорбат (А)	15,48±6,77	16,37±7,28
Д/А	2,90±2,39	2,54±1,35
витамин Е	21,32±4,84	22,39±4,20
албумин	38,89±4,11	38,59±3,53
пероксидаза	60,30±36,21	63,10±30,74
глутатион	12,44±4,26*	14,64±5,99
каталаза	20,94±15,19	24,00±15,38
МДА	4,18±2,56	3,90±2,45
иМДА	6,59±3,06	6,79±2,78
% иМДА	42,93±18,29	48,64±20,85

ТАБЕЛА 2. Вредности испитаних серумских параметара оксидационог стреса код болесника са сенилном катарактом, зависно од постојања дијабетеса (* $p < 0,05$).

TABLE 2: Values of analyzed parameters of oxidative stress in serums of patients with cataract, dependent on the diabetes existing.

У локалном компартману регистроване су повишене вредности оксидационог стреса код дијабетичара са катарактом у односу на оне без дијабетеса (Графикон 1). Концентрације липидних пероксида у кортиконуклеарним сочивним блоковима су веће (ЛП=61,15±8,99 према 56,41±10,82 pM/mg ткива), а укупне сулфхидрилне групе које штите сочиво од оксидационог стреса и проценат иМДА очне водиче показују ниже вредности од узорака добијених од болесника са катарактом без дијабетеса (% иМДА=32,72±16,32 према 41,22±17,61 и ТСХ=3,53±1,21 према 4,27±1,64 μ/M у граму ткива). Оксидациони стрес је евидентан не само у интензитету липидне пероксидације, већ и у смањеној антиоксидационој заштити.

ДИСКУСИЈА

Сенилна катарактогенеза је постепени, прогресивни, дегенеративни процес. Мада зависи од типа и пигментације катаракте и неких других фактора, процес катарактогенезе је умногоме сличан процесу сенценције сочива. Главна разлика је, међутим, у интензитету одвијања процеса.

Дијабетес је болест комплексне генетске и мултифакторијалне етиологије. По неким проценама, сенилна катаракта се јавља и до 20 година раније и достиже матуритет 9,6 година пре код дијабетичара, него у нормогликемичној популацији [14]. Болесници са катарактом и дијабетесом припадају истој добној групи као и остали испитаници овде анализирани групе (просечна старост дијабетичара са катарактом била је 64,6 година). Иако је однос преваге за дијабетес у испитаној групи висок, он је у њој други фактор ризика за појаву сенилне катаракте, одмах иза псеудоексфолијационог синдрома (Табела 1) [15].

У раду је дат актуелни пресек неких биохемијских параметара оксидационог стреса код болесника који имају већ развијену катаракту. Оваква трансверзална студија поставља извесна ограничења у доношењу закључака, а то се односи и на део испитивања који се бави серумским параметрима оксидацио-

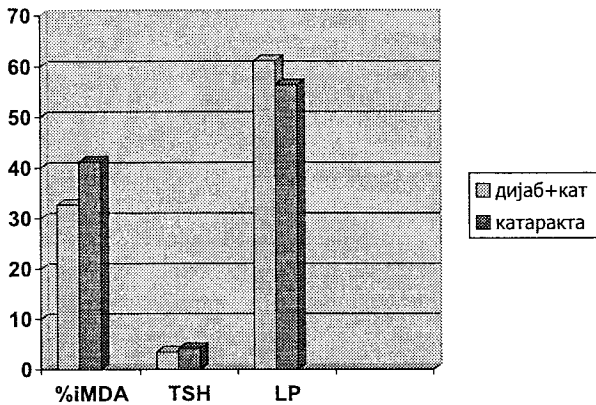
ног стреса, будући да састав очне водиче и исхрана сочива само донекле представљају одраз статуса серумских параметара.

Налаз статистички значајно ниже концентрације редукваног глутатиона у серуму дијабетичара битан је показатељ појачаног оксидационог стреса у њиховом организму. Читав низ ензима учествује у метаболизму глутатиона, а с обзиром на његов аминокиселински састав, његова концентрација зависи и од спољашњег уноса, као и од функција јетре, а не само од потрошње у антиоксидационим процесима. Посебно треба нагласити значај глутатиона у одржавању провидности очног сочива. Познато је да ниске активности појединих регулаторних ензима метаболизма глутатиона могу да доведу до испољавања катаракте у ранијем животном добу [16].

Такође је регистрована појачана потрошња витамина Ц (Д/А) и нешто ниже вредности витамина Е у серуму дијабетичара. Значај витамина Ц у антиоксидационим процесима је вишеструк, а његова концентрација у појединим ткивима може се повећати вишеструко активним транспортом, као што се дешава у очном сочиву. Додавањем витамина Е и глутатиона медијуму са повишеном концентрацијом глукозе спречава се развој катаракте култивисаног сочива пацова [17].

Активности пероксидазе и каталазе су нешто више у серуму дијабетичара са катарактом. Серумски антиоксидациони параметри у обе испитане групе показују генерално вредности које упућују на њихову појачану активност у одговору на појачани оксидациони стрес, вероватно везан за процесе старења. Ипак, на основу изнетих резултата не може се закључити да су наведене промене ексклузивно специфичне за дијабетичаре са сенилном катарактом.

Повишене концентрације продуката липидне пероксидације (МДА и липидни пероксиди) пронађене су у серуму дијабетичара са хиперлипидемијом, есенцијалном хипертензијом и друго [18]. Концентрација серумског малондиалдехида повишена је нарочито код дијабетичара са ангиопатијом. С обзиром на то да болесници са дијабетесом у овом ра-



ГРАФИКОН 1. Вредности оксидационог стреса у сочиву (ЛП) и антиоксидационе заштите у очној водици и сочиву (%iMDA и TSH) код сенилне катаракте, зависно од постојања дијабетеса. GRAPH 1. Intensity of lipid peroxidation (LP) in lens' corticonuclear blocks and antioxidative defence in humour aqueous (%iMDA) and lenses (TSH) in age-related cataract, dependent on the diabetes.

ду немају тако одмакле манифестације, односно компликације шећерне болести, може се сматрати да одсуство статистички значајне разлике за концентрације МДА потиче отуда.

С обзиром на грађу сочива, условљену његовом функцијом, и његов положај у оку, сочивни метаболизам зависи од очне воде. Током развоја катаракте регистрован је пораст водоник-пероксида у очној водици [19]. Процент индукованог малондиалдехида, који се може сматрати еквивалентом укупне антиоксидационе заштите, нижи је у очној водици дијабетичара са катарактом.

Концентрација глукозе у сочиву под нормалним условима износи око 1 mM. Сматра се да код дијабетичара долази до поремећаја хематоокуларне баријере за глукозу, што води ка порасту њене концентрације у очној водици, сочиву и ретини. Такве промене се транзиторно одражавају на видну оштрину, али воде и ка гликозилацији сочивних протеина. Такође, појачање активности полиолског (сорбитолског) метаболичког пута може да снизи концентрацију NADPH, доступног за регенерацију глутатиона. Гликозилација сочивних протеина чини њихове сулфхидрилне групе додатно подложним оксидацији, при чему се стварају протеински агрегати [20]. Сулфхидрилне групе, како протеинске, у саставу сочивних кристалина, тако и непротеинске, у саставу пептида (глутатиона), имају велики значај у одржавању провидности сочива. У провидном хуманом сочиву свега око 10 одсто сулфхидрилних група припада глутатиону. Значај сочивних кристалина и њихових сулфхидрилних група није уопште занемарљив. Отуда концентрација укупних сулфхидрилних група добро одражава антиоксидациони капацитет сочива.

Експеримент на мишевима који конгенитално развијају катаракту показује да се најбоље одлагање појаве катаракте постиже смањењем уноса калори-

ја, а затим у групи којој се суплементира витамин Ц [21]. С обзиром на метаболичке промене у сочивима дијабетичара, требало би размотрити значај суплементације витамина Ц и Е у тој популацији.

Пероксидација мембранских липида сматра се иницијалним догађајем у катарактогенези уопште [19]. При том се водоник-пероксид сматра најзначајнијим фактором у том процесу. Поједини аутори налазе статистички више вредности МДА у катарактозним сочивима дијабетичара у односу на остале катаракте [22]. Међутим, њихови испитаници су имали одмакле манифестације дијабетеса на оку, попут пролиферативне ретинопатије, што није случај у овој испитаној групи.

Евидентиране промене у параметрима антиоксидационе заштите с једне, и пероксидације липида с друге стране у очном сочиву и очној водици болесника са катарактом и дијабетесом такође потврђују већи интензитет оксидационог стреса.

ЗАКЉУЧАК

Дијабетес је значајан фактор секундарног сенијума, што се манифестује и у области сенилне катарактогенезе. Барем део утицаја дијабетеса на сенилну катарактогенезу одвија се путем појачања оксидационог стреса.

Код болесника са дијабетесом и сенилном катарактом поједини серумски параметри антиоксидационе заштите показују ниже вредности у односу на остале испитанике, а међу анализираним параметрима концентрације редукованог глутатиона су статистички значајно ниже. Показатељи оксидационог стреса имају више вредности. Наведени налази свакако представљају одраз снижене антиоксидационе заштите, односно појачаног оксидационог стреса у овој групи болесника.

Налази добијени испитивањем очне воде и очног сочива потврђују концепт о улози оксидационог стреса у процесима старења и сенилној катарактогенези, при чему постојање дијабетеса делује као додатни стрес, односно појачава процес развоја катаракте. Појачани оксидациони стрес у локалном компартману, у оку, свакако је специфичнији налаз од промена у серумским параметрима оксидационог стреса и захтева даље истраживање.

Резултати говоре и у прилог великој разноврсности и сложености система оксидационог стреса и његових основних, међусобно динамично зависних, компоненти - оксидационих и антиоксидационих процеса. Комплексност оксидационог стреса и антиоксидационе заштите је веома велика и, вероватно, њене поједине компоненте имају различит значај у различитим компартманима организма, у различитим физиолошким условима, као и у патолошким стањима и њиховим појединим стадијумима.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hazzard WR. Geriatric medicine. In: Harrison's principles of internal medicine. Vol. I. Mc Grow Hill Book Company, New

- York 1987:447-50.
2. Christen WG, Glynn RJ, Hennekens CH. Antioxidants and age-related eye diseases. Current and future perspectives. *Ann Epidemiol* 1996; 6(1):60-6.
 3. Jovičić A, Đorčević D, Marić D, Raičević R. Noviji podaci o reaktivnim oksidativnim materijama i njihovoj ulozi u biološkim sistemima. *Vojnosanitetski pregljed* 1995; 52(6):579-84.
 4. Taylor A. Effect of photooxidation on the eye lens and role of nutrients in delaying cataract. In: Emerit I & Chance B. Free radicals and aging. Birkhauser, Verlag, Basel 1992:265-79.
 5. Hankinson SE. The epidemiology of age-related cataract. In: Albert & Jakobiec. Principles and practice of ophthalmology. Basic sciences. WB Saunders Comp. Philadelphia 1994:1255-66.
 6. Street DA, Javit DC. National five-year mortality after inpatient cataract extraction. *Am J Ophthalmol* 1992;209(2):263-8.
 7. Mc Corwick DB. Vitamins. In: Tetz NW. Textbook of clinical chemistry. WB Saunders Comp. Philadelphia 1986:927.
 8. Štraus B. Medicinska biokemija. JUMENA, Zagreb, 1988.
 9. Dacie JV, Lewis SM. Estimation of reduced glutathione (GSH). *Practical hematology*, Churchill Livingstone, Edinburgh 1985:168-80.
 10. Koroljuk MA, Ivanova LI, Maiorova JG, Tokarev VE. Metod opredelenia aktivnosti katalazi. *Lab Delo* 1988; 1:16-9.
 11. Majkic Singh N. Klinicka enzimologija. AID Praktikum. Beograd 1993.
 12. Ledwazyw A, Michalak B, Stepien A, Kadziolka A. The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis. *Clin Chim Acta* 1986;155:275-84.
 13. Nourooz-Zadeh J, Tajaddini-Sarmadi J, Wolff SP. Measurement of plasma hydroperoxide concentrations by the ferrous-xylene orange essay in conjunction with threephosphine. *Anal Biochem* 1994; 220:403-9.
 14. Schwab JR, Armstrong MA, Friedman GD. Cataract extraction. Risk factors in a health maintenance organization population under 60 year of age. *Arch Ophthalmol* 1988; 106:1062-5.
 15. Iorio L. Pseudoexfoliation syndrome as possible factor of secondary ageing. XIII Congress of the European Society of Ophthalmology. Istanbul, Turkey 2001; Final program and abstract book:223.
 16. Sharma YR, Vajpayee RB, Bhatnagar R. Topical glutathione therapy in senile cataract. *Cataract III. Indian J Ophthalmol* 1989; 37:121-7.
 17. Creighton MP, Trevithick JR. Cortical cataract formation prevented by vitamin E and glutathione. *Exp Eye Res* 1979; 29:689-93.
 18. Frei B, Stocker R, Ames BN. Antioxidant defences and lipid peroxidation in human blood plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85:9748-52.
 19. Spector A. Oxidation and cataract. *Ciba Found Symp* 1984, 106:48.
 20. Lyons TJ, Silvestri G, Dunn JA, Dyer DG, Baynes JW. Role of glycation in modification of lens crystallins in diabetic and nondiabetic senile cataract. *Diabetes* 1991; 40:1010-5.
 21. Taylor A, Jahngen HJ, Smith DE, Palmer VJ, Dallal GE. Dietary restriction delays cataract and reduces ascorbate levels in Emory mice. *Exp Eye Res* 1995; 61:55-62.
 22. Ozmen D, Ozmen B, Mutaf J, Menten J, Bayindir O. Lens lipid peroxides and glutathione concentrations in diabetic cataract. *A J Biochem* 1977; 34:190-2

SOME PARAMETERS OF THE OXIDATIVE STRESS IN LENS, HUMOUR AQUEOUS AND SERUM OF PATIENTS WITH DIABETES AND AGE-RELATED CATARACT

Lepša ŽORIĆ

Faculty of Medicine, University of Priština, settlement in Kruševac

INTRODUCTION

Contemporary hypothesis considers the oxidative stress as a crucial event in age-related processes in the body, as well as in the age-related cataract formation. Disturbance of balance between oxidative processes and antioxidative defenses causes the oxidative stress that can damage proteins, lipids, polysaccharides and nucleic acids. The secondary aging factors accelerate ageing processes. One of them is diabetes. It's numerous consequences that appear in the eye are well known.

PURPOSE

The purpose of this paper is to analyze influence of the non-insulin-dependent diabetes (Type II) on cataract genesis mainly through action of the oxidative stress and antioxidative defense.

MATERIAL AND METHODS

Here were analyzed contents of the lipid oxidation products (lipid peroxides - LP) and total sulfhydryle groups (TSH) in the lens' corticonuclear blocks and antioxidative capacity in their humour aqueous expressed as percent of induced malondyaldehyde (% iMDA) in 14 samples obtained from patients with cataract and diabetes mellitus type II (without diabetic complications; duration of diabetes was 0-17 years) and compared to 66 samples of patients with cataract without diabetes, as well as some parameters of the oxidative stress in serums (content of vitamin C, acrobat - A, dehydroascorbate - DA and their relation, vitamin E, glutathione - GSH, peroxidase - P and catalase - Cat activity, content of malondyaldehyde - MDA and % iMDA) of 27 patients with age-related cataract and diabetes mellitus type II (without complications; same duration), and compared to the other 135 age-related cataract patients. Data were analyzed by multivariant and univariant analysis of variance (multivariant t-test, MANOVA and ANOVA). Also were analyzed frequencies of the secondary senium diseases in a clinical group of 162 patients with cataract and sex and age matched 55 examined people without cataract, as a control group, by a logistic regression.

RESULTS

Patients with diabetes and cataract have lower values of almost all investigated parameters of antioxidative defense in their serum and higher level of the lipid peroxidation products (multivariant: $p > 0.05$). Level of glutathione in their serums is significantly lower ($t = 2.27$; $p = 0.028$). Intensity of lipid peroxidation in corticonuclear lens blocks is higher in patients with diabetes, whereas their total sulfhydryle groups and % iMDA in humour aqueous shows lower antioxidative capacity in the same group, probably because of higher intensity of oxidative stress, although not significantly ($T = 2.23$; $F = 0.95$; $p > 0.05$; univariant: $p > 0.05$).

Also, by investigation of frequencies of the secondary ageing

diseases in patients with age-related cataract and age and sex matched control subjects, by a logistic regression was found high odds ratio for diabetes ($\chi^2 = 18.87$; $p = 0.0044$; $\text{const} = 0.379$; $\text{OR} = 2.506$).

DISCUSSION

Statistically lower level of the serum glutathione in diabetic patients is important index of higher level of oxidative stress in their organism. Values of other investigated parameters of oxidative stress and antioxidative defense point to the same process. However, serum's parameters are not quite specific to the cataract, because active homeostatic mechanisms at the level of hematocamerular barrier and lens' metabolism could maintain local environment to the some extent.

Yet, importance of glutathione level and metabolism of the eye's lens is great. Similar meaning bear the other sulfhydryle groups, i. e. of the lens' proteins-crystallines. So, total sulfhydryle groups level is good mark for the lens antioxidative defense, as well as the lipid peroxides are good mark for the intensity of oxidative processes. Percent of induced MDA in humour aqueous may be considered as the rest of antioxidative defense, similar to it's meaning in serum. Intensity of the oxidative stress in local compartment in diabetic patients in this paper is higher, compared to other age-related cataract patients without diabetes. Lack of significance could be explained by mentioned characteristics of the group (i.e. diabetics without complications), compared with other authors results, whose examined patients have had proliferative diabetic retinopathy.

The odds ratio value of diabetes to the age-related cataract also confirms that diabetes is a risk factor for the age-related cataract genesis.

CONCLUSION

Results confirm hypothesis of the oxidative stress role in the age-related cataract genesis, especially in patients with diabetes mellitus. Parameters of their antioxidative defense are lower and those of oxidative stress are higher in serums and in the lenses and humour aqueous. They also point to the dynamics and diversity of oxidative stress and antioxidative defense in different compartments of the body, as well as their different meaning in distinct physiological and pathological conditions.

Key words: age-related cataract, diabetes mellitus II, oxidative stress.

Lepša ŽORIĆ

Nova skojevska 31/1, 11000 Beograd,

Tel: +381 11 562 701

E-mail: lepszaz@eunet.yu