

ХРУСТА- ЛИК ГЛАЗА — ЧУДО ПРИРОДЫ

Константин Муранов
и Михаил Островский

— Он еще сказал, что наука когда-нибудь откроет основную тайну жизни, — вмешался бармен, потом почесал затылок и нахмурился: — Что-то я читал на днях в газете, будто нашли, в чем секрет, вы не помните?
— Не помню, — пробормотал я.
— А я читала, — сказала Сандра, — позавчера, что ли.
— Ну, и в чем же тайна жизни? — спросил я.
— Забыла, — сказала Сандра.
— Протеин, — заявил бармен, — чего-то они там нашли в этом самом протеине.

Курт Воннегут. Колыбель для кошки

Константин Олегович Муранов — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физико-химических основ регуляции биологических систем Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН. Сфера научных интересов — белок-белковые взаимодействия в хрусталике глаза, этиология и патогенез катаракты.

Михаил Аркадьевич Островский — создатель и лидер отечественной научной школы молекулярной физиологии и патологии зрения, основоположник научного направления фундаментальных исследований молекулярных механизмов зрительной рецепции. Академик, заслуженный профессор МГУ, главный научный сотрудник Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, заведующий кафедрой молекулярной физиологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова.

ОБ АВТОРАХ



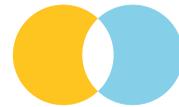
Хрусталик глаза — поистине чудо природы. Мало того что он прозрачен, и притом почти всю жизнь, он еще и живая фокусирующая линза, обеспечивающая резкость изображения на сетчатке, а кроме того, это светофильтр, отсекающий от сетчатки опасный для нее ультрафиолет.

Довольно давно стало понятно, почему хрусталик прозрачен, но до сих пор неясно, как эту прозрачность сохранить, не допустить его помутнения — то есть развития катаракты. А катаракта — самое распространенное глазное заболевание в мире. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), причиной слепоты почти 40% людей в возрасте 50 лет и старше становится именно катаракта (WHO, 2012, Lancet Glob. Health, 2020).

Из всех видов катаракт «старческая» — настоящий бич стареющего человечества. Конечно, современная высокотехнологичная, изощренная хирургия позволяет удалить

помутневший хрусталик и заменить его на новый, искусственный. Но само хирургическое вмешательство может быть небезобидным. Заменить в глазу хрусталик — это совсем не то же самое, что сменить объектив в фотоаппарате. Поэтому, естественно, лучше предотвратить катаракту, чем ее оперировать. А для этого нужно хорошо понимать, почему хрусталик прозрачен, с помощью каких механизмов эта прозрачность поддерживается, почему вдруг он начинает мутнеть. В последнее время на многие из этих вопросов получены вполне вразумительные ответы.

ИТАК, ПОЧЕМУ ХРУСТАЛИК ПРОЗРАЧНЫЙ?



Прав был воннегутковский бармен: «Чего-то они там нашли в этом самом протеине». Хрусталик глаза сделан из протеина, то есть из белка. А белок обладает удивительными свойствами. Его раствор при низкой концентрации, например 3 мг в миллилитре, абсолютно прозрачен. Если постепенно увеличивать концентрацию белка, то раствор начнет мутнеть. Это понятно. Но если концентрацию белка довести до 300 мг в миллилитре, то раствор этот снова станет прозрачным. И вот это чудо! Получается, что раствор белка прозрачен и при маленькой концентрации 3 мг в миллилитре, и при концентрации в 100 раз большей. Коллоидная химия (а раствор

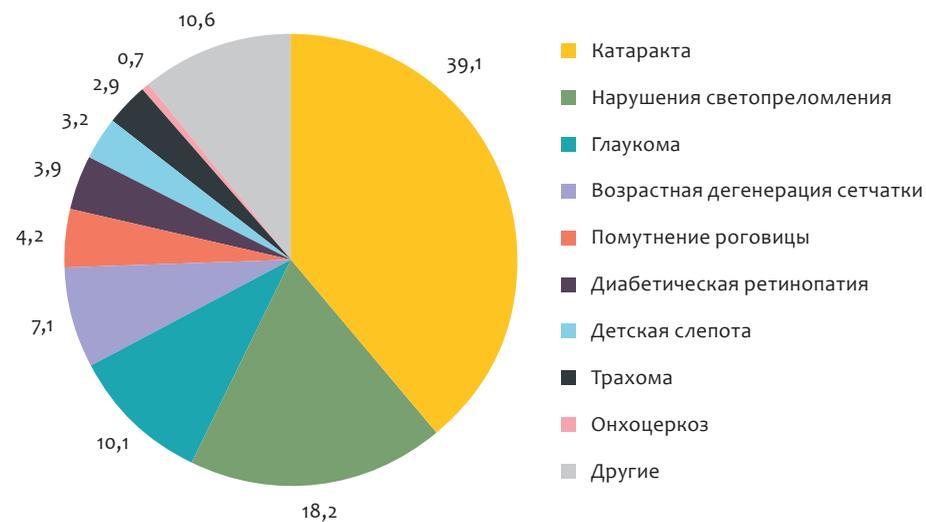
белка — это коллоидный раствор) дает этому довольно простое объяснение. Вследствие броуновского движения молекулы белка перемещаются, образуя зоны с повышенной и пониженной концентрацией. Свет рассеивается, проходя через такие зоны, вот он — коллоидный раствор! Свет рассеивается по-разному, проходя через растворы белка разной концентрации. При увеличении концентрации расстояние между молекулами белка будет уменьшаться и в конце концов сократится настолько, что раствор белка приобретет структуру, подобную кристаллу. А кристалл, как известно, прозрачен. Именно поэтому, согласно законам коллоидной химии, хрусталик прозрачен, ведь концентрация белка в нем неимоверно высока — 450 мг в миллилитре у человека и 900 мг в миллилитре у мыши!

Прозрачен-то прозрачен, но не для ультрафиолета, а в пожилом возрасте и не для фиолетово-синих лучей видимого спектра. Правда, в младенческом и детском возрасте он прозрачен частично для ультрафиолета и фиолетово-синих лучей. В физиологии зрения такая прозрачность получила название «ультрафиолетовое окно». А ультрафиолет для сетчатки губителен. Опасность эта для детей особенно обострилась в связи с широким распространением светодиодного освещения и необдуманном увлечением им. Свет «холодных» фиолетово-синих светодиодов, проникая через «ультрафиолетовое окно» детского хрусталика, способен вызвать непредсказуемые и самые неблагоприятные последствия для зрения. О недопустимости использования «холодного» светодиодного освещения в детских садах и школах, особенно в младших классах, еще лет десять тому назад мы забили тревогу (см.: Зак П.П., Островский М.А. Потенциальная опасность освещения светодиодами для глаз детей и подростков // Светотехника, № 3, 2012). Судя по всему, нас услышали — и такое освещение для детей сейчас не рекомендуется.

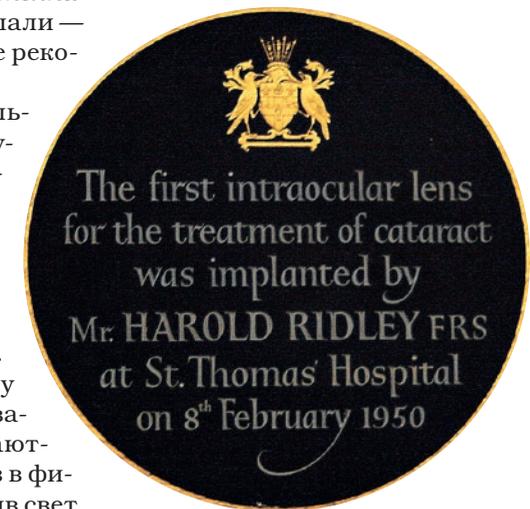
У взрослого человека средних лет «ультрафиолетового окна» уже нет, и его хрусталик, задерживая ультрафиолет, свободно пропускает к сетчатке все лучи видимого спектра. Однако ближе к пожилому возрасту нормальный здоровый хрусталик, продолжая оставаться прозрачным, начинает желтеть. И это для сетчатки величайшее благо. Ибо к пожилому и старческому возрасту в сетчатке и лежащем за ней так называемом пигментном эпителии накапливаются вещества, поглощающие свет как раз в фиолетово-синей области спектра. Поглотив свет,

эти вещества образуют активные токсичные формы кислорода. Иными словами, они фототоксичны. Желтеющий с возрастом хрусталик все больше задерживает фиолетово-синие лучи, защищая сетчатку от опасности фотоповреждения.

С этим естественным физиологическим феноменом пожелтения хрусталика связана важная для нас история создания желтых искусственных хрусталиков — интраокулярных линз. Несомненно, изобретение интраокулярных линз стало революцией в офтальмологии. Их изобретатель, английский офтальмолог Гарольд Ридли претерпел немало трудностей, прежде чем офтальмологический мир их признал. Эта история интересна и поучительна. Как вспоминал сам Ридли, где-то в 1947 г. в конце утомительного операционного дня его студент Стив Пэрри сказал: «Жаль, что нельзя заменить мутный хрусталик прозрачной линзой». Эти простые слова стали тем самым Ньютоновым яблоком, упавшим на голову Ридли. Действительно, заменить хрусталик пытались начиная с древних времен. Успех пришел к Гарольду Ридли, который разработал такую линзу и в конце 1949 г. имплантировал первому пациенту. Ридли описывает как один из самых ярких моментов своей жизни, когда пациент, еще находясь на операционном столе, воскликнул: «Джентльмены, я абсолютно четко вижу ваши лица!». Но судьба Ридли оказалась нелегкой. Его доклад на Оксфордском офтальмологическом конгрессе в июле 1951 г. вызвал шквал критики. Ожидаемый триумф обернулся трагедией. Ридли был вынужден несколько лет лечиться от тяжелого нервного расстройства. Потребовалось более 20 лет, иными словами, смена поколения, чтобы операция по замене хрусталика была признана во всем мире.



Структура заболеваний глаза в мире (ВОЗ, 2012)

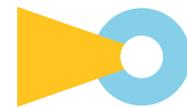


Памятная табличка, установленная на стене Больницы Св. Томаса в Лондоне в честь первой замены катарактального хрусталика на искусственный

В связи с первой заменой катарактального хрусталика на искусственный на стене лондонской Больницы Св. Томаса установлена памятная табличка.

Находка, обеспечившая Гарольду Ридли успех, состояла в выборе материала для линзы. Им стал полиметилметакрилат, известный всем как плексиглас. Его высокоочищенный вариант для линз — перспекс (*Perspex*) — успешно зарекомендовал себя  всем мире и широко используется до наших дней. Но, как вскоре выяснилось, у перспекса был существенный недостаток — он был прозрачен для ультрафиолета. Возникали осложнения, поэтому в перспекс ввели поглотитель ультрафиолета. Теперь ультрафиолет до сетчатки не доходил, но случаи ее повреждения все равно сохранялись. Это указывало на то, что действует еще какой-то повреждающий фактор. Им оказались те самые фототоксические вещества, которые накапливаются в сетчатке, поглощают свет в фиолетово-синей области спектра и образуют активные формы кислорода. Следовательно, искусственный хрусталик, особенно предназначенный для пожилых людей, должен делать то же самое, что и естественный хрусталик, — отсекал от сетчатки фиолетово-синие лучи. Иными словами, интраокулярная линза должна быть желтой, как и естественный хрусталик примерно 50-летнего человека. Исходя из этого именно такую линзу мы, физиологи (один из авторов этой статьи М.А. Островский и П.П. Зак), разработали и затем предложили офтальмологам в МНТК «Микрохирургия глаза» С.Н. Федорову и Л.Ф. Линнику. К счастью, они сразу согласились с целесообразностью использования желтых интраокулярных линз, надежно защищающих сетчатку от опасности светового повреждения. Эти линзы под названием «Спектр» стали изготавливаться и широко применяться во всех клиниках МНТК «Микрохирургия глаза». Затем их стали имплантировать в глаз взамен катарактального хрусталика во многих других офтальмологических клиниках страны. За эту работу нам даже присудили Премию Правительства РФ в области науки и техники за 2005 г. с формулировкой «За научное обоснование, разработку и внедрение в офтальмологическую практику фотопротекторных искусственных хрусталиков с естественной спектральной характеристикой». Только через пару десятков лет после нас американская корпорация *Alcon* стала выпускать интраокулярные линзы, но теперь уже не жесткие из полиметилметакрилата, а мягкие, однако с точно такими же спектральными

характеристиками, как и у наших линз «Спектр». Теперь алконовские желтые интраокулярные линзы распространились по всему офтальмологическому миру.



КАК ПРОЗРАЧНОСТЬ ХРУСТАЛИКА ПОДДЕРЖИВАЕТСЯ И ПОЧЕМУ ОН МУТНЕЕТ?

Хрусталик — линза живая, из белка, не из стекла! Белок — недолговечный материал, именно поэтому в организме происходит постоянный, активный, сложный процесс обновления белков: распад на исходные аминокислоты старых и биосинтез новых. Обновляются не только белки, но и сами клетки, а иногда даже части клеток. В глазу, например, постоянно обновляется светочувствительный наружный сегмент зрительной клетки — палочки и колбочки. Клетки крови и многих органов обновляются постоянно. В хрусталике не так! В хрусталике белки-кристаллины не обновляются.

Возраст белков в центре хрусталика, в его ядерной части практически равен возрасту человека. Вокруг ядра, в так называемой корковой части хрусталика белки тоже не обновляются. Но они появились позже, уже после рождения, в ходе развития организма, то есть они немного моложе белков ядра. В любом случае, по всем законам белковой химии белки не живут так долго, как сам человек, они портятся. А порча белков в хрусталике приводит к потере его прозрачности, то есть к катаракте. Но в хрусталике, на самом деле, белки живут долго, не портятся до очень и очень преклонных лет. Иначе говоря, хрусталик, как правило, остается прозрачным до глубокой старости. Причина тому — сформировавшаяся в ходе эволюции довольно мощная система защиты от помутнения, система сохранения принципиально важного для зрения свойства хрусталика. Свойство это — быть прозрачным.

Как выяснилось сравнительно недавно (и продолжает выясняться до сих пор), ключевую роль в системе защиты прозрачности играет один из белков самого хрусталика. Дело в том, что белков-кристаллинов в хрусталике — несколько видов. Основные — это альфа-, бета- и гамма-кристаллины. Причем бета- и гамма-кристаллины очень легко слипаются, агрегируют. Если это случится, прозрачность исчезнет, хрусталик помутнеет. Альфа-кристаллин поддерживает прозрачность, не дает бета- и гамма-кристаллинам

слипаться, образовывать агрегаты — комки. Но стоит альфа-кристаллину чуть-чуть испортиться, и он теряет способность удерживать бета- и гамма-кристаллины от агрегации. В результате хрусталик начинает мутнеть. Таков механизм образования катаракты.

Это было продемонстрировано нами в эксперименте на модели ультрафиолетовой катаракты. В опытах *in vitro* при облучении ультрафиолетом бета- и гамма-кристаллины они агрегируют. Добавление к ним альфа-кристаллина естественным образом замедляет их агрегацию, то есть защищает от ультрафиолета. Мы, как и многие другие исследователи, пытаемся понять, как именно альфа-кристаллин это делает.

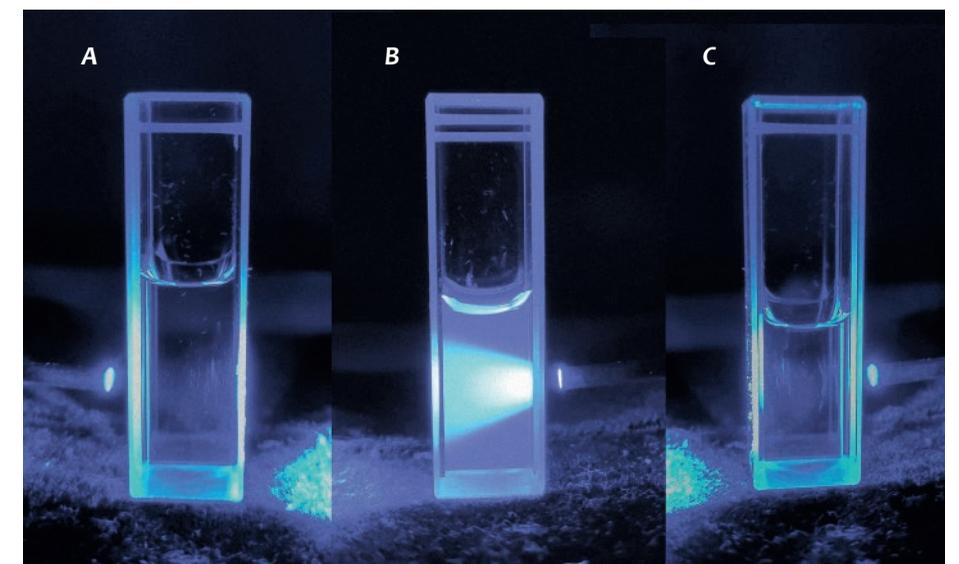
Альфа-кристаллин принадлежит к классу так называемых шаперонных белков. Шапероны способны восстанавливать нормальную (нативную) структуру поврежденного белка, иными словами, «чинить» поврежденные белки. Чтобы понять, как именно они «чинят», прежде всего, нужно знать, как они устроены, то есть их трехмерную структуру. За прошедшие почти 70 лет со дня открытия альфа-кристаллина, а открыли его советские биохимики В.Н. Орехович, К.Ф. Фифарова и М.П. Черников в 1954 г., трехмерную структуру альфа-кристаллина выяснить не удалось. Причина в том, что альфа-кристаллин многолик: размеры его могут варьировать от 5 до 30 нм. Альфа-кристаллин не находится в стабильном состоянии, он все время меняется. Его молекула состоит из многих «блоков» — субъединиц, отдельные молекулы постоянно обмениваются этими блоками. На основании результатов целого комплекса физико-химических исследований в сочетании с электронной микроскопией нам в содружестве с С.Н. Рязанцевым из Калифорнийского университета в Лос-Анджелесе удалось построить трехмерную модель альфа-кристаллина. **Поэтому одни молекулы увеличиваются в размерах, в то время как другие уменьшаются.** На основании результатов  этого комплекса физико-химических исследований нам удалось построить трехмерную модель альфа-кристаллина. Согласно этой модели, молекула альфа-кристаллина имеет внутри себя нечто похожее на полость. В эту

полость входят поврежденные, в нашем случае ультрафиолетом, молекулы бета- и гамма-кристаллинов. Внутри полости повреждения «лечатся», восстанавливается исходная, нативная структура белка. В результате «лечения» молекулы бета- и гамма-кристаллинов не слипаются — раствор остается прозрачным, а если и мутнеет, то гораздо медленнее. Таков, по нашему представлению, механизм защитного действия альфа-кристаллина как шаперона, сохраняющего прозрачность хрусталика.

Однако с возрастом падают как защитная активность альфа-кристаллина, так и его количество в хрусталике. Поэтому он уже не способен эффективно удерживать бета- и гамма-кристаллины от агрегации. Такова причина возникновения и развития старческой катаракты.

Помимо альфа-кристаллина, в систему защиты прозрачности хрусталика входят природные антиоксиданты и антиоксидантные ферменты. Дело в том, что активные формы кислорода, атакуя молекулу белка, ее повреждают. К счастью, кислорода в хрусталике практически нет. Но при воздействии различных катарактогенных факторов, в том числе ультрафиолета, кислород достигает белков хрусталика и его активные формы портят белки — окисляют. В результате такой порчи хрусталик мутнеет. Поэтому антиоксиданты и антиоксидантные ферменты самого хрусталика — важная линия защиты от помутнения.

В принципе, время сохранения прозрачности хрусталика велико благодаря надежности и мощности его естественной (антиоксиданты,

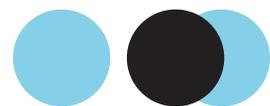


Рассеяние синего света растворами альфа-кристаллина разной концентрации: А — 3 мг на 1 мл; В — 54 мг на 1 мл; С — 300 мг на 1 мл

альфа-кристаллин) защиты от помутнения. Это время, как правило, превосходит среднее время жизни организма. Животные в дикой природе с катарактой практически не встречаются — они по разным причинам погибают раньше. Но увеличение продолжительности жизни в искусственной, цивилизационной среде приводит к катаракте. От нее страдает не только стареющий царь природы — человек, ей подвержены и домашние животные — долгожители: собаки, кошки, коровы, лошади.

Катаракта возникает не только от старости, известно довольно много ее причин: это и диабет, и различные виды радиации — от ультрафиолета и рентгеновских лучей до тяжелых заряженных частиц галактического излучения и ряда других факторов. Казалось бы, механизм возникновения катаракты должен зависеть от природы повреждающего фактора. Однако это не так. Результаты, полученные нами совместно с офтальмологами Института глазных болезней в Москве и физиками Объединенного института ядерных исследований в Дубне, позволили выдвинуть гипотезу о едином механизме возникновения катаракты. Суть ее в том, что различные катарактогенные факторы (радиация, ультрафиолет, повышенный уровень сахара в крови и др.) повреждают клетки наружного эпителиального слоя хрусталика. В результате в этом слое образуются брешки, через которые внутрь хрусталика начинает проникать кислород. В норме, как мы говорили, кислорода в хрусталике практически нет. В присутствии же кислорода митохондрии, еще сохранившиеся в клетках корковой части хрусталика, начинают вырабатывать активные формы кислорода, которые вызывают окислительное повреждение белков. Окисленные же белки имеют склонность к агрегации. В какой-то момент, когда компенсаторная защитная система не выдерживает, белки начинают денатурировать и агрегировать. Образовавшиеся агрегаты, подобно все нарастающим комкам, превращаются в так

называемые мультиламеллярные тела. Эти тела и сами рассеивают свет, и нарушают кристаллоподобную упаковку белков хрусталика. Хрусталик перестает быть прозрачным — возникает катаракта.



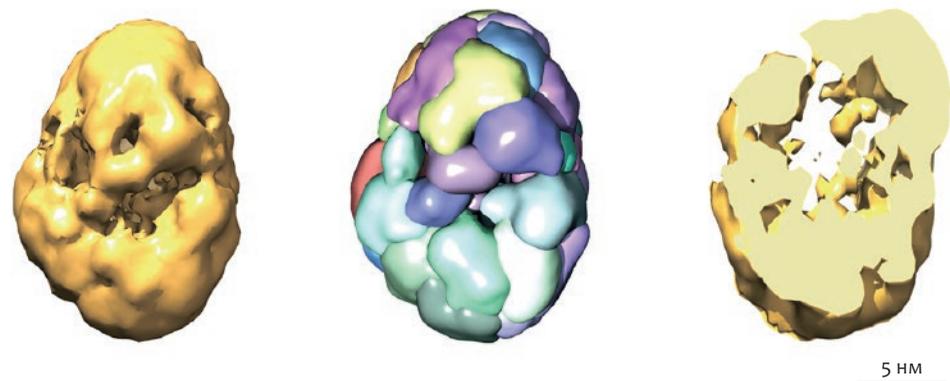
КАК ПРЕДОТВРАТИТЬ ПОМУТНЕНИЕ — КАТАРАКТУ

Конечно, хорошо бы и жить долго, и катаракты, во всяком случае старческой, избежать. Увы, несмотря на существование множества видов антикатаральных капель, реально катаракта ими не предотвращается. И сейчас становится понятно почему. Все дело в том, что капать в глаз капли начинают, как правило, когда хрусталик уже стал мутноватым. А это значит, что и кислород уже сделал свой черное дело, и альфа-кристаллин уже не в состоянии предотвратить агрегацию бета- и гамма-кристаллинов. А уж если эти белки-кристаллины схлопнулись, слиплись, образовали агрегаты, мультиламеллярные тела, то вернуть ситуацию вспять невозможно — как невозможно вернуть в сырое, прозрачное состояние белок сваренного куриного яйца.

Что же можно сделать, чтобы задержать, предотвратить помутнение хрусталика?

Во-первых, нужно поймать момент, когда белки хрусталика еще только-только начинают агрегировать. Во-вторых, нужно создать такой антикатаральный препарат, который одновременно и не давал бы белкам окисляться, и, подобно естественному альфа-кристаллину, предотвращал бы агрегацию бета- и гамма-кристаллинов.

Чтобы поймать момент, когда белки хрусталика только-только начинают агрегировать, надо как-то «заглянуть в глаз». А как это сделать? Оказывается, это можно осуществить с помощью современного оптического прибора, который мы условно назвали



Трехмерная модель молекулы альфа-кристаллина (S.N. Ryazantsev, N.B. Poliansky, N.A. Chebotareva, K.O. Muranov, 3D Structure of the Native Alpha-Crystallin from Bovine Eye Lens, Int. J. Biol. Macromol. 117 (2018) 1289)

«Катарактомер». Суть его работы — с помощью анализа некоторых характеристик света, рассеянного хрусталиком, «увидеть» как снижение количества молекул альфа-кристаллина, так и появление белковых агрегатов в хрусталике.

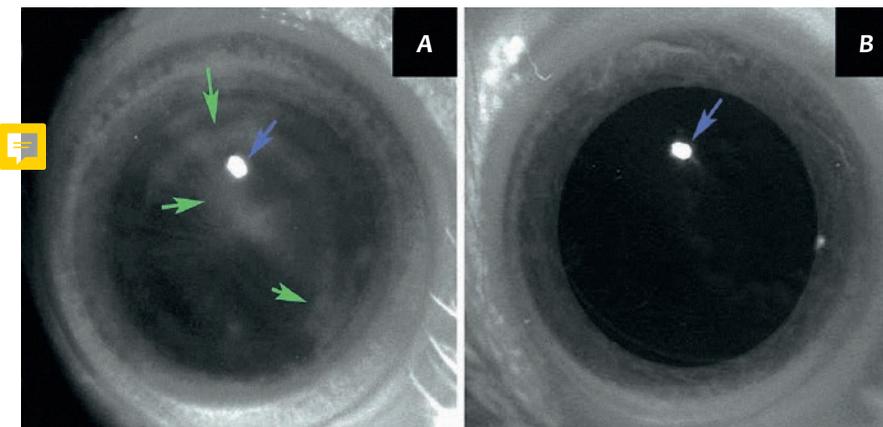
Главный принцип работы такого прибора — регистрация света, рассеянного внутри хрусталика. Создано несколько конструкций подобных инструментов. Одна из таких конструкций, разработанная профессором Рифатом Анзари из NASA, уже проходит клинические испытания. Осталось «довести до ума» такие приборы, организовать их производство и внедрение в офтальмологическую практику. Кстати, это тоже не просто, если учитывать консервативность медицинского сообщества. Вспомним историю Гарольда Ридли с интраокулярными линзами. Для их внедрения в повседневную офтальмологическую практику потребовалось несколько десятков лет.

Будем надеяться, что в недалеком будущем при обычном профилактическом осмотре врач после десятиминутного обследования сможет сказать пациенту, что он в группе риска и что было бы совсем неплохо немедленно начать капать в глаз антикатаральные препараты.



Мы направили свои усилия на создание препарата, который помогал бы альфа-кристаллину предотвращать агрегацию бета- и гамма-кристаллинов. Такой комбинированный препарат нами недавно был разработан. В его основе два вещества — N-ацетилкарнозин и пантетин.

Почему N-ацетилкарнозин? Он представляет собой производное карнозина. Карнозин был открыт еще в 1900 г. В.С. Гулевиным и подробно изучен его учеником С.Е. Севериным. Ученики С.Е. Северина А.А. Болдырев и М.А. Бабижаев попытались использовать его в качестве антикатарального препарата антиоксидантного действия. Оказалось, однако, что карнозин и еще в большей степени N-ацетилкарнозин не столько предотвращают окисление белков, сколько эффективно тормозят их агрегацию, причем в очень низких концентрациях.



Антикатаральный эффект смеси N-ацетилкарнозина и пантетина: А — ультрафиолетовая катаракта у крысы, зеленая стрелка отмечает помутнения хрусталика, синяя стрелка — отражение света осветителя; В — прозрачный хрусталик после лечения

Иными словами, N-ацетилкарнозин явно проявлял шапероноподобные свойства, похожие на свойства альфа-кристаллина.

Почему пантетин? Оказалось, что он существенно повышает способность альфа-кристаллина защищать поврежденные белки от агрегации. В содружестве с сотрудниками НИИ глазных болезней мы подробно исследовали антикатаральный эффект нашего комплексного препарата *in vivo*. На модели ультрафиолетовой катаракты у крыс было показано, что смесь N-ацетилкарнозина и пантетина действительно эффективно предотвращает развитие катаракты.

Итак, теперь ясно, какой именно прибор требуется для сверхраннего обнаружения опасности помутнения хрусталика. Понятно, что комбинация антиоксидантных и шапероноподобных препаратов может оказаться эффективным лекарством для предотвращения катаракты. Нами создан и запатентован шапероноподобный препарат, усиливающий защитное действие альфа-кристаллина, но, увы, до клиники он пока не дошел.

Совершенно очевидно, что впечатляющие успехи в понимании природы прозрачности хрусталика и ее поддержании, знание механизмов нарушения этой прозрачности в самом скором времени приведут к эффективной лекарственной профилактике развития катаракты. И тогда ее хирургическое лечение — замена помутневшего хрусталика на искусственный — перестанет быть единственным и неизбежным способом вернуть зрение больным людям.

Хрусталик — действительно чудо природы, и беречь его надо так, как и полагается беречь зеницу ока. ■