

БИОХИМИЯ ХРУСТАЛИКА ГЛАЗА: НОРМА И КАТАРАКТОГЕНЕЗ

Обзор

© 2022 К.О. Муранов*, М.А. Островский

*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН,
119334 Москва, Россия; электронная почта: k.muranov@sky.chph.ras.ru*

Поступила в редакцию 28.07.2021

После доработки 30.09.2021

Принята к публикации 30.09.2021

В обзоре рассматриваются структурно-функциональные особенности строения хрусталика, с одной стороны, обеспечивающие его исключительные оптические свойства, а с другой – приводящие к возникновению катаракты. Отсутствие клеточных органелл в волоконных клетках, высокая концентрация белка (до 900 мг/мл) в цитоплазме минимизируют светорассеяние в хрусталике и обеспечивают его прозрачность. Низкая концентрация кислорода, мощные системы защиты (антиоксиданты, антиоксидантные ферменты, шапероноподобный белок α -кристаллин и др.) поддерживают прозрачность хрусталика в течение жизни организма. С другой стороны, способность кристаллинов накапливать с возрастом посттрансляционные модификации, снижающие устойчивость белков к окислительному стрессу, является важнейшим фактором, способствующим образованию катаракты. На основе анализа морфологических и биохимических данных о возникновении и развитии катаракт разной этиологии (возрастная, радиационная, ультрафиолетовая, диабетическая и др.) авторы высказывают гипотезу о едином механизме, лежащем в основе возникновения помутнения хрусталика. Указанные катарактогенные факторы вызывают повреждение и гибель клеток хрусталикового эпителия, в результате чего кислород через образовавшиеся дефекты эпителиального слоя проникает в хрусталик. Это вызывает окислительное повреждение кристаллинов. Белки вследствие этого денатурируют, агрегируют и образуют так называемые мультиламеллярные тела, что и является главной причиной помутнения. В обзоре рассматриваются различные подходы к торможению развития помутнения (катаракты), в частности, использование комбинации антиоксидантов и соединений, усиливающих шапероноподобные свойства α -кристаллина. Обсуждается парадокс применения антикатарактальных препаратов, которые в лабораторных исследованиях демонстрируют высокую эффективность, но при широком использовании в клинике оказываются бесполезны. Такой парадокс – результат позднего применения препаратов. По мнению авторов обзора, выход из создавшегося положения состоит не столько в поиске более активных антикатарактальных соединений, сколько в развитии новых методов диагностики, которые позволили бы прогнозировать риск возникновения катаракты у пациента и начинать профилактическое лечение задолго до проявления клинических признаков заболевания.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хрусталик, катаракта, патогенез, кристаллины, малые белки теплового шока, антикатарактальные средства.

DOI: 10.31857/S0320972522020038

Посвящается памяти Бориса Ивановича Курганова

ВВЕДЕНИЕ

Целостный взгляд на хрусталик открывает удивительно логичное построение этого органа. Выполнение основной физиологической функции хрусталика как фокусирующей линзы требует прозрачности ткани хрусталика. Достигается это с помощью исключительно высокой концентрации белка в цитоплазме волоконных клеток хрусталика. Действительно, во-первых, при концентрациях белка порядка 400–900 мг/мл

коэффициент преломления цитоплазмы сравним с коэффициентом преломления плазматической мембраны клетки, что исключает светорассеяние на мембранах. Во-вторых, за счёт кулоновских взаимодействий в цитоплазме волоконных клеток хрусталика минимизируются флуктуации концентрации белка, а именно флуктуации концентрации, на границе которых существует значительный градиент коэффициента преломления среды, представляют собой физическую основу светорассеяния коллоидных растворов.

Отсутствие возможности в изолированной ткани хрусталика удалять поврежденные структуры (клетки, молекулы белка и др.) предопр-

Принятые сокращения: АФК – активные формы кислорода, а.о. – аминокислотные остатки.

* Адресат для корреспонденции.

деляет необходимость существования в хрусталике системы поддержания структурной стабильности белковых молекул. Примером может служить α -кристаллин – шапероноподобный белок, предупреждающий агрегацию дестабилизированных молекул.

Следуя этой логической цепочке, в настоящем обзоре мы постараемся рассмотреть и связать воедино многочисленные экспериментальные данные, касающиеся как механизмов, обеспечивающих прозрачность хрусталика, так и механизмов, лежащих в основе её потери (катарактогенез) и указывающих пути предотвращения потери прозрачности хрусталика.

СТРОЕНИЕ И МОРФОГЕНЕЗ ХРУСТАЛИКА

Главным элементом глаза, фокусирующим изображение на сетчатке, является хрусталик. Хрусталик «подвешен» с помощью цинновой связки непосредственно за радужной оболочкой, которая разделяет глаз на переднюю и заднюю камеры. Образование хрусталика начинается на ранних стадиях эмбрионального развития (рис. 1).

На 11 день внутриутробного развития мыши хорошо различим пузырьк отделившейся эктодермы (рис. 1, *а*), который уплощается и образует двухслойный зачаток хрусталика (рис. 1, *б*). Под воздействием ростовых факторов сетчатки примыкающие к ней клетки зачатка хрусталика начинают вытягиваться и образуют слой длинных волоконных клеток (рис. 1, *в1*). В результате

образуется первичное ядро хрусталика. Клетки слоя, отдалённого от сетчатки, превращаются в клетки кубического эпителия. По периферии передней поверхности хрусталика клетки эпителия, образующие замкнутый круг, начинают активно делиться. Постепенно они сдвигаются к экватору хрусталика, образуя меридиональные ряды (рис. 1, *в2*). Клетки, находящиеся в экваториальной зоне хрусталика, вытягиваются и образуют вторичные волоконные клетки (рис. 1, *г*). В процессе формирования волоконные клетки теряют органеллы (ядра, митохондрии и др.) и в конечном итоге превращаются практически в «мешки» с цитоплазмой. Постепенно образуются всё новые и новые волокна, которые окружают ядро хрусталика всё новыми и новыми слоями (рис. 1, *д*). Волоконные клетки настолько плотно прилегают друг к другу, что в сечении имеют форму равностороннего шестиугольника. Таким образом, в хрусталике формируются три зоны: 1) слой кубического эпителия, выстилающий изнутри переднюю поверхность капсулы хрусталика, 2) кортикальный слой, образованный формирующимися волоконными клетками и 3) ядро, состоящее из терминально дифференцированных волоконных клеток. Клетки выделяют гликопротеины, которые образуют капсулу снаружи хрусталика. Активные метаболические процессы, сопровождающие формирование хрусталика, требуют интенсивного обмена веществ. Такой обмен обеспечивается сосудистой оболочкой, которой окружён хрусталик в ходе внутриутробного развития. Впоследствии питающая хрусталик кровеносная система рассасывается.

Форма и размер хрусталика у животных разных видов широко варьируют и не коррелируют ни с размером самого животного, ни с диаметром глазного яблока. Вариации формы и размера хрусталика у животных разных видов можно рассматривать как адаптацию к среде обитания. Например, хрусталик крысы близок по форме к сфере, коэффициент его преломления в районе главной оптической оси равен коэффициенту преломления чистого белка (1,45), то есть раствору белка с содержанием воды, стремящимся к нулю. Поэтому хрусталик крысы очень твёрд и практически не обладает способностью к аккомодации. Действительно, грызунам не требуется «рассматривать» предметы вдаль, а в их ориентации в пространстве ведущую роль играют осязание и обоняние. У приматов, в том числе и у человека, зрение, напротив, играет ведущую роль во взаимодействии со средой. Поэтому хрусталик у них способен фокусировать на сетчатке изображения объектов с разных расстояний и практически

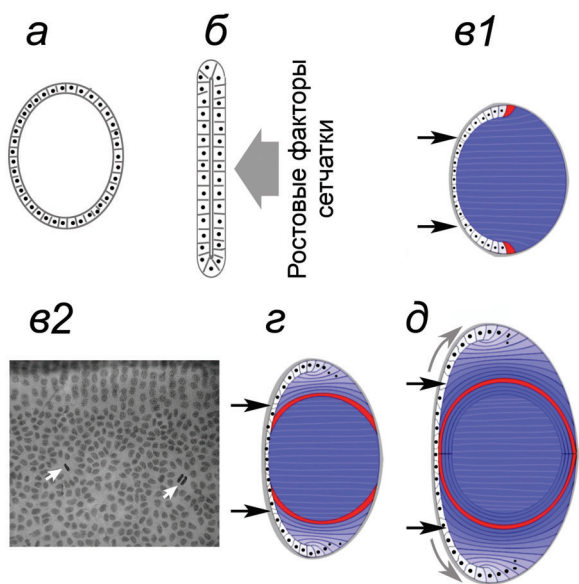


Рис. 1. Схема формирования хрусталика. (Объяснения – в тексте)

без аберраций. Это достигается тем, что в ядре хрусталика, через которое проходит основной световой поток, отсутствует градиент коэффициента преломления [1–3].

ОСНОВНЫЕ ФУНКЦИИ ХРУСТАЛИКА

Хрусталик в глазу выполняет две основные физиологические функции: фокусирование изображения на сетчатке и световую фильтрацию. У млекопитающих ведущую роль в аккомодации играет изменение кривизны поверхности хрусталика, тогда как у рептилий и у птиц изменяется кривизна и хрусталика, и роговицы [4]. Структура и организация волоконных клеток являются ключевыми компонентами механизма аккомодации, поскольку от них зависят упругие свойства хрусталика, обеспечивающие его «округление» [5–8]. Поскольку с возрастом количество слоёв волоконных клеток увеличивается, жёсткость хрусталика возрастает. Следствием этого становится неспособность хрусталика изменять кривизну за счёт своих упругих свойств – возникает старческая дальнозоркость.

Хрусталики многих животных содержат хромофоры, поглощающие свет в области 300–400 нм. Хромофорами служат соединения различных химических групп. Так, у рыб – это микоспорино-подобные аминокислоты [9], у дневного геккона (*Lygodactylus picturatus*) – это 3,4-дигидроретинол [10]; у приматов, серых белок (*Spermophilus tridecemlineatus*) и рыбок гурами (*Trichogaster*) в качестве УФ-фильтров используются производные триптофана [11–13]. Надо отметить, что хрусталики лабораторных животных (крысы, кролики, мыши), крупного рогатого скота и домашних кур вообще не содержат УФ-фильтров. Можно считать доказанным, что у дневных сухопутных животных окрашенный хрусталик выполняет роль светофильтра, защищающего сетчатку от опасности повреждающего действия ультрафиолетового и сине-фиолетового света [14–17].

На основе этих сведений в середине 80-х гг. прошлого века были созданы интраокулярные линзы «Спектр», имеющие желтоватую окраску хрусталика человека 45–50-летнего возраста [18]. Анализ отдалённых результатов имплантаций более 1 300 000 таких хрусталиков показал, что они надёжно защищают сетчатку и пигментный эпителий от опасности фотоповреждения и заметно улучшают качество зрительного восприятия [19].

Пожелтение хрусталика у человека является результатом фотохимических превращений триптофана с образованием кинуренина, 3-ОН-

кинуренина и 3-ОН-кинуренин-О-гликозида. Наличие хромофоров в хрусталике, которые могли бы вызывать фотохимическое повреждение белков хрусталика, компенсируется коротким временем жизни возбуждённых состояний молекул хромофоров и низким уровнем кислорода (2 мм рт. ст.) в ткани хрусталика [20]. Концентрация в хрусталике 3-ОН-кинуренин-О-гликозида с возрастом падает, происходит его связывание с белками – образуются так называемые желтые белки, у которых резко снижена способность рассеивать поглощённую световую энергию и увеличена способность индуцировать образование активных форм кислорода (АФК) [21].

БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ХРУСТАЛИКА

Первые биохимические исследования хрусталика, упомянутые в литературе, относятся к концу XIX века, когда Морнером был выделен растворимый белок хрусталика, названный кристаллином (цитируется по [22]). В 50-х гг. прошлого века сначала Орехович с сотр. [23], а потом Resnik [24] выделили из растворимых фракций белков хрусталика три фракции разного молекулярного веса, которые были названы α -, β - и γ -кристаллинами.

Хрусталик содержит около 35% белков, 1% липидов и 64% воды. Белки хрусталика принято разделять на водорастворимые и водоне-

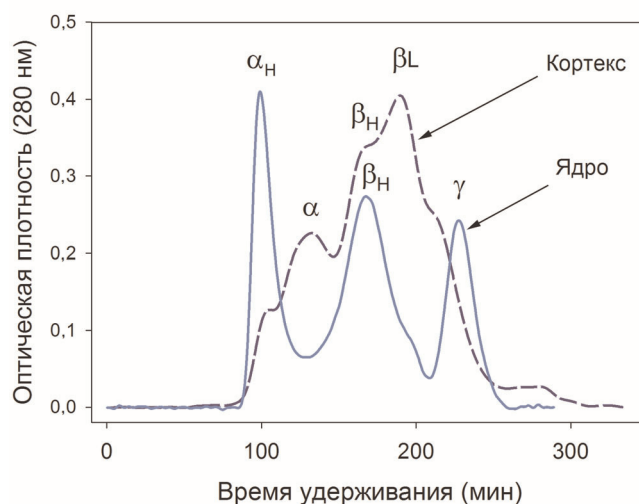


Рис. 2. Профиль элюции растворимых белков кортекса и ядра хрусталика крупного рогатого скота (колонка 2,5 × 90 см, Тоуреарл HW55 fine). Синяя пунктирная линия – кортекс, голубая непрерывная линия – ядро. α _Н-Кристаллин > 1500 кДа, α -кристаллин – 700 кДа, β _Н-кристаллин – 160 кДа, β _Л-кристаллин – 46 кДа, γ -кристаллин – 20 кДа

растворимые [25]. Более 90% растворимых белков хрусталика приходится на долю α -, β - и γ -кристаллинов [26]. Хрусталик имеет неоднородный белковый состав. В ядре преобладают фракции высокомолекулярных форм α -, β -кристаллинов и γ -кристаллина, тогда как в кортексе основными белками являются α - и β_L -кристаллины (рис. 2).

α -Кристаллин принадлежит к семейству малых белков теплового шока, в то время как β - и γ -кристаллины входят в суперсемейство, родственное стрессовым белкам прокариот [27]. Соотношение α -, β - и γ -кристаллинов в тканях хрусталика меняется с возрастом, что обусловлено особенностями синтеза разных типов белков в онтогенезе [28]. Кроме кристаллинов, клетки хрусталика содержат белки цитоскелета, мембранные белки и цитоплазматические ферменты. Однако именно кристаллины играют ключевую роль в обеспечении оптических свойств хрусталика.

α -Кристаллин – олигомерный белок с молекулярной массой 160–1000 кДа; он образован двумя полипептидами – αA - и αB -кристаллинами массой около 20 кДа. Как и другие малые белки теплового шока, α -кристаллин обладает способностью блокировать агрегацию дестабилизированных белков и играет важную роль в поддержании прозрачности хрусталика. Более подробно особенности строения и функции α -кристаллина будут обсуждены ниже.

β -Кристаллины – структурные белки, преобладающие по содержанию в хрусталике (до 60% всех кристаллинов). Это комплексная группа олигомерных белков. Различают две основные подгруппы, а именно βA - (кислые) и βB - (щелочные) кристаллины, каждая из которых представлена четырьмя изоформами, обозначаемыми арабскими цифрами 1–4. Субъединицы β -кристаллинов комбинируются в разных сочетаниях с образованием гомо- и гетероолигомеров.

γ -Кристаллины, имеющие молекулярную массу около 20 кДа, представлены семью изоформами и обозначаются латинскими буквами А–Г, а также буквой S. γ -Кристаллины существуют только в виде мономеров [29, 30].

Молекулы β/γ -кристаллинов имеют двухдоменную структуру. Каждый из доменов содержит по два гомологичных мотива «греческого ключа», составленного из четырёх антипараллельных β -структур, образующих клиновидный β -сэндвич с двусторонней симметрией. В отличие от γ -кристаллинов β -кристаллины имеют удлинённые N-концевые и C-концевые последовательности – «руки», которые играют важную роль в олигомеризации β -кристаллинов [31]. При исследовании экспрессии генов,

кодирующих все известные 17 кристаллинов, показано, что активность экспрессии генов сильно варьирует в зависимости от степени дифференцировки и, соответственно, локализации волоконной клетки [28].

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ПРОЗРАЧНОСТИ ХРУСТАЛИКА

Первые попытки подойти к вопросу о молекулярных основах прозрачности хрусталика были предприняты в 1962 г. Troekel [22]. Позднее Benedek [32] разработал теоретические основы прозрачности хрусталика. Минимальное светорассеяние концентрированного раствора белка, которым и является цитоплазма волоконных клеток хрусталика, обеспечивается пространственным упорядочением близлежащих молекул белка [33].

Исследования методом малоуглового рассеяния рентгеновских лучей кортекса и ядра целого хрусталика животных разных классов (рыбы, земноводные, млекопитающие) показали, что периодическое изменение плотности белка, свидетельствующее об упорядоченности белков, присутствует только в кортексе, но не в ядре хрусталиков [34]. Аналогичные результаты также с использованием малоуглового рассеяния рентгеновских лучей были получены в работе Mirarefi et al. [35]. Авторы исследовали срезы хрусталика, что позволило более точно позиционировать исследуемый отдел. По всей видимости, отсутствие упорядоченности белка в ядре является кажущимся. В действительности пространство между флуктуациями плотности белка заполнено низкомолекулярным γ -кристаллином. Таким образом, кортикальную часть хрусталика отличает от ядерной области наличие флуктуаций концентрации белка. Это подтверждается тем, что светорассеяние кортекса хрусталика превосходит светорассеяние его ядерной области [36, 37].

ПОМУТНЕНИЕ ХРУСТАЛИКА – КАТАРАКТА

Помутнение хрусталика или катаракта является основной причиной слабости зрения и слепоты в мире [38]. Помутнения хрусталика классифицируют по локализации помутнения (ядерная, кортикальная, диффузная и др.), по внешнему виду (голубая, черная, дисковидная, порошкообразная, кораллообразная и т.д.), по этиологической причине (возрастная, диабетическая (сахарная), радиационная и т.д.), а также по времени образования (наследственная, неона-

тальная, ювенильная, пресенильная и сенильная) [39]. Однако, с нашей точки зрения, катаракты удобно разделить на две большие группы: наследственные и приобретенные.

Наследственные катаракты относят к так называемым Менделевским заболеваниям. Подробно генетика и патофизиология наследственных катаракт рассмотрена в нескольких обзорах [40–42].

Среди основных этиологических причин возникновения приобретённых помутнений хрусталика называют, прежде всего, возраст, затем следуют ультрафиолетовый свет, диабет, лечение системными стероидами, радиацию [43–46]. Интересно отметить, что в 2012 г. была существенно снижена (с 2 до 0,6 Гр) норма минимальной дозы радиоактивного излучения, вызывающая образование катаракты у человека [47]. Необходимо отметить вклад мутаций генов в формирование приобретённой катаракты. Дефектный белок может лишь со временем при воздействии каких-либо неблагоприятных факторов проявить свои негативные свойства. Примером может быть дефектный β A3-кристаллин, который характерен для аутосомно-доминантной зональной катаракты и обладает пониженной устойчивостью к действию ультрафиолета по сравнению с белком дикого типа [48–50].

Исследование микроскопической картины возрастных катаракт показало, что в хрусталиках обнаруживаются различного рода морфологические изменения – изменения формы волоконных клеток, разрывы мембран, появление вакуолей, набухание клеток и др. [51–54]. При диабетической катаракте отмечено образование большого количества набухших волоконных клеток [55]. Радиационная катаракта сопровождается нарушением упаковки волоконных клеток задней кортикальной зоны хрусталика [56]. Вместе с тем оценить вклад тех или иных морфологических дефектов в увеличение светорассеяния долгое время не представлялось возможным.

В цикле работ, проведённых в лаборатории Костелло, на основе расчётов с использованием теории рассеяния Густава Ми были выявлены структуры, ответственные за помутнение. Оказалось, что перечисленные выше морфологические изменения клеток хрусталика не могут быть причиной помутнения [57]. Главными «рассеивателями» света в хрусталике являются флуктуации концентрации белка в цитоплазме волоконных клеток и так называемые мультисферические тела, присутствующие в этих клетках хрусталика [58–62]. Мультисферические тела – это белок-липидные образования сферической формы и размером порядка 1–4 мкм. Их количество в прозрачном и катарактальном хрусталике одного

возраста различается в 7,5 раз [63, 64]. Удивительно, но высокомолекулярные агрегаты, появление которых в хрусталике связывали с помутнением, не могут создать достаточный уровень флуктуаций концентрации белка, необходимый для увеличения светорассеяния [62].

Ключевая роль нарушения ближнего порядка упаковки белковых молекул в возникновении помутнения хрусталика была предсказана ещё в 1971 г. Benedek [32], однако экспериментальное подтверждение этому предположению было получено только через 50 лет [58]!

ЕДИНЫЙ МЕХАНИЗМ КАТАРАКТОГЕНЕЗА

Классификация катаракт по этиологическому признаку вызывает естественное предположение, что и механизмы возникновения различных видов катаракт должны различаться. Для проверки этого предположения было исследовано появление и развитие помутнений хрусталика, возникающих при действии катарактогенных факторов, механизмы действия которых должны принципиально различаться [65–68]. Так, по сложившимся к 2010 г. представлениям, радиационная катаракта возникла вследствие нарушений пролиферации клеток эпителия и образования дефектов упаковки волоконных клеток в заднем кортикальном пространстве [69, 70]. В механизме действия ультрафиолета, наряду с воздействием на эпителий, большую роль отводили прямому фотохимическому повреждению белка [71]. Развитие старческой катаракты связывали с возрастными дегенеративными изменениями ткани хрусталика [72].

Нами были проведены эксперименты на одной линии мышей (гибрид F1(C57Bl/6JxSWA)) двойным слепым методом в условиях одного вивария [67]. Было обнаружено, что в хрусталике животных, получавших столь разные по своей природе воздействия – облучение гамма-лучами, облучение ультрафиолетом диапазона А и старение – образуются одинаковые типы помутнений. У животных всех групп наблюдали диффузные и ограниченные (точечные, нитевидные, кораллообразные и др.) помутнения, которые затрагивали как кортикальную, так и ядерную зоны хрусталика. Действие этих факторов различалось только по интенсивности: наименее катарактогенным был фактор возраста, эффект воздействия ультрафиолета и радиации в использованных дозах был примерно одинаков, наиболее «вредным» было совместное действие нескольких факторов. При исследовании микроскопической структуры тканей катарактальных хрусталиков во всех экспериментальных

группах, по сравнению с молодыми 3-месячными животными, обнаруживались лишь неспецифические изменения, связанные со старением животных, а именно: уплощение клеток эпителия, вакуолизация и дефрагментация их ядер, образование участков свободных от клеток и многослойных структур из фибробласто-подобных клеток, появление в цитоплазме волоконных клеток, появление в цитоплазме волоконных клеток, появление в цитоплазме волоконных клеток кортекса [66]. При анализе белкового состава, проведённого методом разностного электрофореза, также не было найдено различий между исследованными группами [65, 68].

Важные данные по сравнительному развитию радиационной и старческой катаракты были получены в группе Пендерграсса. При исследовании хрусталиков молодых и старых мышей линии C57BL/6 выяснилось, что у старых мышей (27–31 мес.) наблюдается образование в слое эпителия больших участков свободных от клеток. В кортексе хрусталика было обнаружено присутствие ядер, митохондрий, что свидетельствовало о нарушении процесса дифференцировки волоконных клеток. У молодых (3 мес.) и годовалых мышей таких изменений отмечено не было. Однако если 3-месячных мышей облучить рентгеновскими лучами в дозе 11 Гр, то к 14 мес. у них развиваются точно такие же изменения в хрусталике, какие наблюдали у 26-месячных интактных животных [73, 74]. При исследовании цельных хрусталиков мыши с помощью конфокальной микроскопии была обнаружена колокализация митохондрий, участков выработки АФК, белковых агрегатов и участков помутнённых хрусталика [75, 76].

Таким образом, полученные данные указывали на то, что важнейшие катарактогенные факторы – возраст, ультрафиолет и ионизирующая радиация – вызывают одинаковые морфологические и биохимические изменения в ткани хрусталика.

Какой же механизм может привести к такому результату? Известно, что низкое парциальное давление кислорода (всего 2 мм рт. ст.) является необходимым условием для нормальной деградации митохондрий и других органелл волоконной клетки [20, 77–79]. Однако при гибели клеток эпителиального слоя, вызванной действием катарактогенного фактора, кислород через образовавшиеся бреши диффундирует в ткань хрусталика. Повышение концентрации кислорода приводит к тому, что нарушается процесс формирования волоконных клеток – в них остаются полуразрушенные митохондрии [76]. В таких полуразрушенных митохондриях, да ещё при повышенной концентрации кислорода, в цепи электронного транспорта с

участием NADH-КоQ-редуктазы и КоQH₂-цитохром *c*-редуктазы начинают образовываться активные супероксидные анион-радикалы. В результате запускается окислительная модификация белков хрусталика. Напомним, что помутнения в хрусталике колокализированы с митохондриями и зонами повышенной концентрации АФК.

Развитие диабетической катаракты также сопровождается гибелью клеток эпителия [80]. При этом наблюдаемые изменения структуры волоконных клеток при диабетической катаракте аналогичны изменениям при возрастной катаракте [81]. Косвенным указанием на участие АФК в формировании диабетической катаракты является торможение развития помутнения с помощью антиоксидантов [82–85].

В фундаментальном обзоре, посвящённом механизмам формирования стероидной катаракты, указывается, что наиболее правдоподобной гипотезой является нарушение дифференцировки и миграции волоконных клеток [45].

Таким образом, к настоящему времени накопилось достаточное количество убедительных доказательств того, что развитие катаракты под действием различных катарактогенных факторов может быть объяснено в рамках единого механизма. Суть этого механизма сводится к тому, что под воздействием повреждающего фактора гибнут клетки эпителиального слоя хрусталика, и в нём появляются пустоты («бреши»). Вследствие этого усиливается поступление кислорода внутрь хрусталика, а это нарушает морфогенез волоконных клеток, в частности распад клеточных органелл. В результате в кортексе появляются клетки, в которых сохранились полуразрушенные митохондрии. Увеличение в хрусталике концентрации кислорода приводит и к усилению образования в митохондриях АФК, откуда они диффундируют в цитоплазму. Воздействие АФК приводит к денатурации и агрегации белка, нарушению белок-белковых взаимодействий, изменению упаковки белков цитоплазмы и усилению светорассеяния в цитоплазме хрусталика. Помутнение сначала затрагивает кортикальные области, но постепенно распространяется и на ядерную область хрусталика [86].

МЕХАНИЗМЫ ПОДДЕРЖИВАНИЯ ПРОЗРАЧНОСТИ ХРУСТАЛИКА

Белки хрусталика в отличие от белков других органов практически не обмениваются [27]. Это означает, что белки, появившиеся ещё на стадии эмбрионального развития глаза, должны служить в течение всей жизни организма. Поэтому в

хрусталике существуют и функционируют механизмы, которые противодействуют посттрансляционной модификации белков или блокируют их негативное воздействие. Эффективность таких механизмов исключительно высока. По этой причине в природе продолжительность жизни животного обычно короче, чем время, необходимое для развития старческой катаракты.

Систему защиты хрусталика можно разделить на три уровня. Первый уровень — это система антиоксидантной защиты, препятствующая возникновению посттрансляционных модификаций окислительной природы, а также ферменты, способствующие восстановлению окисленных белков [87–92]. Второй уровень — это система, предотвращающая негативные последствия влияния посттрансляционных модификаций на взаимодействие белков, а именно это α -кристаллин, способный предупреждать агрегацию белков [93, 94]. Третий уровень — это система элиминации повреждённых белков системами 20S и 26S протеазных комплексов [95, 96].

По каждому из этих уровней защиты существует обширная литература, обзор которой выходит за рамки данной статьи. Но некоторые элементы этих уровней мы проиллюстрируем. Инъекция селенита натрия 10–12-дневным крысам вызывает окислительный стресс в хрусталике, что приводит к быстрому (в течение нескольких дней) образованию плотной ядерной катаракты [97]. Однако если предварительно ввести крысам йодид калия, что вызывает небольшой окислительный стресс в хрусталике, то в нём активизируется синтез глутатиона, в результате чего катаракта не развивается [98]. Отметим интересную особенность системы удаления повреждённых белков в хрусталике, связанную с убиквитинным циклом. В условиях окислительного стресса убиквитинный протеолиз в хрусталике ингибируется [95, 99, 100]. Поэтому предполагается, что преодоление последствий окислительного стресса в хрусталике достигается не удалением всех повреждённых белков, как в других тканях, а их максимальной репарацией.

α -КРИСТАЛЛИН: СТРУКТУРА И ШАПЕРОНОПОДОБНАЯ ФУНКЦИЯ

α -Кристаллин как шапероноподобный белок тормозит агрегацию повреждённых белков и таким образом поддерживает прозрачность хрусталика [101, 102]. Два гена с 60%-ной идентичностью, CRYAA и CRYAB, кодируют полипептиды α A-кристаллин и α B-кристаллин, образующие α -кристаллин [29]. α A- и α B-кристаллины состоят из 173 и 175 аминокислотных

остатков (а.о.) и имеют молекулярную массу 19,8 и 20,0 кДа [27]. Эти полипептиды формируют пул олигомерных молекул с массой 160–1200 кДа [103]. Соотношение α A-кристаллина и α B-кристаллина в α -кристаллине варьирует. Например, у телят это отношение равно 2 : 1, тогда как у взрослых особей крупного рогатого скота — 3 : 1 [104]. Молярное отношение α A : α B различается и у разных видов. Так, например, у акулы это отношение равно 1 : 3, у сома — 19 : 1, у кенгуру — 9 : 1 и у человека 54 лет — 3 : 2 [105, 106]. Физиологический смысл таких вариаций пока непонятен.

Как и у остальных представителей семейства малых белков теплового шока, в полипептиде α -кристаллина можно выделить три участка: N-концевой участок, состоящий из 60 а.о., центральный участок, состоящий из 90 а.о., и C-концевой участок, состоящий из 25 а.о. [107, 108]. Укорочение N-концевого и C-концевого участков приводит как к потере способности образовывать олигомеры, так и к снижению шапероноподобной функции белка [109–111]. Точечные мутации в центральном участке делают белок склонным к агрегации [112]. Замены а.о. в консервативном участке IPV/I C-концевого участка нарушают взаимодействие полипептидов при формировании олигомера [113].

Молекула α -кристаллина является высокодинамичной системой, построенной из блоков, в роли которых выступают как мономеры белка, так и небольшие олигомеры, которые присоединяются и отсоединяются от основной молекулы [94]. Это процесс зависит от многих факторов: температуры, ионной силы раствора, концентрации и т.д. Так, например снижение температуры с 37 до 4 °C приводит к увеличению диаметра олигомера от 17,9 до 19,75 нм [114]. Поэтому размер нативного α -кристаллина *in vitro* зависит от условий выделения. Вместе с тем изучение хрусталика *in vivo* с помощью динамического рассеяния света, а также изолированного хрусталика с помощью малоуглового рассеяния рентгеновских лучей показало, что размер частицы α -кристаллина равен примерно 20 нм [33, 35].

Было предложено несколько различных молекулярных моделей белка: мицеллярная модель [115, 116] — это модель, в которой олигомер образовывался из полипептидных тетрамеров [117]; трехслойная модель [118]; модель боба с отростками [114]. Фундаментальный обзор Haslbeck et al. [119] подробно рассматривает молекулярные модели гомоолигомеров, образованных α A- и α B-кристаллинами. Однако следует подчеркнуть, что задача создания модели нативного α -кристаллина ещё не решена.

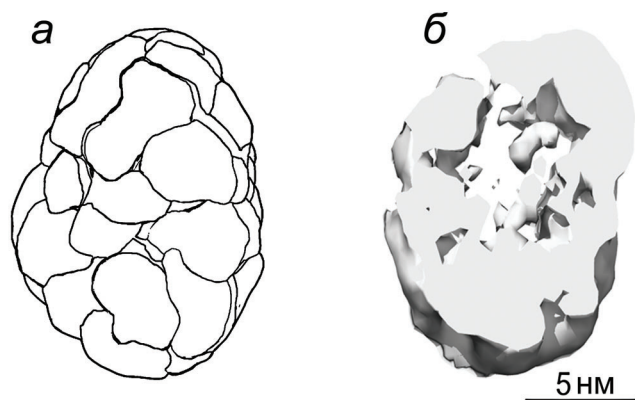


Рис. 3. Схема строения α -кристаллина. *a* – Расположение отдельных полипептидов; *б* – сечение частицы α -кристаллина

Недавно мы исследовали структуру α -кристаллина, используя комбинацию методов динамического светорассеяния, аналитического центрифугирования и электронной микроскопии в сочетании с 3D-реконструкцией изображений [103]. Оказалось, что в растворе одновременно присутствует целая популяция олигомеров α -кристаллина, размеры которых варьируют от 8 до 25 нм. При этом один из олигомеров размером 12–14 нм превалирует в популяции молекул. На основании полученных данных была построена трёхмерная модель (рис. 3), согласно которой белок имеет асимметричную форму, близкую к форме боба размером 13×19 нм. Масса частицы составляла 750–830 кДа. Анализ электронных плотностей показал, что молекула имеет плотный корковый слой и разряженную заполненную нитевидными структурами, но не пустую, ядерную область.

Такая молекула α -кристаллина находится преимущественно в кортикальной области хрусталика, тогда как в ядерной части хрусталика преобладает его высокомолекулярная форма – α_H -кристаллин. Исключительно гетерогенный α_H -кристаллин имеет массу от 50 000 кДа. Под электронным микроскопом α_H -кристаллин выглядит как конгломерат частиц, размер которых несколько меньше α -кристаллина [120, 121]. Размеры α_H -кристаллина увеличиваются с возрастом, также возрастает и его относительное количество [122, 123]. Считается, что к образованию α_H -кристаллина приводят посттрансляционные модификации α -кристаллина. Однако прямое повреждение белка ультрафиолетом не приводило *in vitro* к образованию α_H -кристаллина [124]. Вероятно, для образования α_H -кристаллина необходимо присутствие и других белков [125]. Исследование свойств α_H -кристалли-

на затруднено вследствие его высокой полидисперсности. Есть сведения о том, что шапероноподобная активность α_H -кристаллина, измеренная на модели тепловой агрегации белков, понижена [126, 127]. Вместе с тем на модели агрегации инсулина в присутствии дитиотреитола показано, что активность α_H -кристаллина не отличается от таковой для α -кристаллина из кортекса [128]. Учитывая то, что основной световой поток проходит через ядерную область хрусталика, исследование роли α_H -кристаллина как шапероноподобного белка в противодействии развитию помутнения чрезвычайно важно.

Свойства молекулярного шаперона были обнаружены у α -кристаллина около 30 лет назад [101, 102]. α -Кристаллин оказался способен не только предупреждать агрегацию дестабилизированных белков, но и частично восстанавливать структуру денатурированных молекул [129–131]. Однако свойства истинного шаперона α -кристаллин демонстрировал лишь в модельных системах, в которых целевыми белками служили белки, денатурированные воздействием детергентов. Рефолдинг этих белков в присутствии α -кристаллина после удаления детергента проходил более полно, чем в его отсутствие. Однако если использовать в качестве целевого белка химически модифицированный белок, например, окисленный β_1 -кристаллин, то восстановить его структуру в присутствии α -кристаллина не удаётся [132].

Для исследования механизма шапероноподобного действия α -кристаллина широко используются модельные системы, основанные на исследовании кинетики процесса агрегации повреждённых белков. Эта тема подробно рассмотрена в нескольких обзорах [133–139]. Применение методов кинетического анализа позволило количественно оценивать шапероноподобную активность белков, что исключительно важно как для понимания механизма шапероноподобной активности, так и для подбора потенциальных претендентов для создания новых антикатарактальных препаратов. Например, с помощью кинетического анализа кривых агрегации удалось показать, что активность известного химического шаперона аргинина в 300 раз меньше, чем активность α -кристаллина [140].

Исследование механизма шапероноподобной активности в условиях *in vitro* показало, что диссоциация α -кристаллина является важным, хотя и не необходимым звеном в этом акте [140, 141]. При этом целевой белок образует первичные низкомолекулярные комплексы с диссоциированной формой α -кристаллина. Впоследствии низкомолекулярные комплексы образуют более крупные агломераты, которые

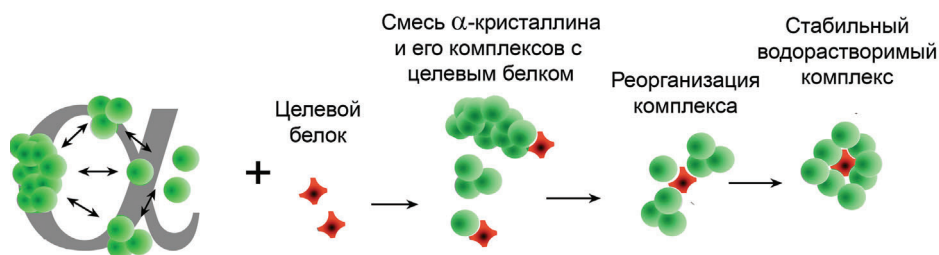


Рис. 4. Схема шапероноподобной активности α-кристаллина в хрусталике

могут даже выпадать в осадок [132]. Однако условия *in vitro* далеки от условий в клетках хрусталика. Во-первых, высокая концентрация белка в цитоплазме будет препятствовать диссоциации α-кристаллина. Действительно, показано, что в условиях краудинга, моделирующего высокую концентрацию белка в цитоплазме клеток хрусталика, шапероноподобная активность α-кристаллина оказалась сниженной [142–145]. Во-вторых, диссоциация α-кристаллина обнаружена при достаточно высоких концентрациях целевого белка в среде, сравнимых с концентрацией, собственно, α-кристаллина. Это означает, что в условиях реального хрусталика, чтобы достичь значимого уровня диссоциации α-кристаллина, практически треть белков (β- и γ-кристаллина) должна быть одномоментно повреждена. Очевидно, такие условия в живом хрусталике просто невозможны. Поэтому мы предложили следующий механизм шапероноподобного действия α-кристаллина в хрусталике (рис. 4).

α-Кристаллин в клетке существует в виде динамической системы, состоящей из олигомера белка и диссоциированных фрагментов (вероятно, мелких олигомеров и мономеров). Любой из этих компонентов в результате диффузии может столкнуться с дестабилизированными формами γ- или β-кристаллина и образовать с ними комплекс. Учитывая, что степень диссоциации белка в хрусталике невелика, то, скорее всего, это будет олигомер α-кристаллина. При этом повреждённый белок связывается на поверхности олигомера α-кристаллина. В дальнейшем вследствие постоянного обмена частицами белка с другими олигомерами α-кристаллина повреждённый белок постепенно оказывается «погребённым» внутри комплекса, что исключает взаимодействие и агрегацию поврежденных молекул [132].

ВОЗРАСТНОЕ СНИЖЕНИЕ ШАПЕРОНОПОДОБНОЙ АКТИВНОСТИ α-КРИСТАЛЛИНА

В основе современной концепции катарактогенеза лежит предположение о том, что со

временем шапероноподобная активность α-кристаллина в хрусталике ослабевает. В результате в клетках накапливаются денатурированные формы белков (γ- и β-кристаллинов), начинается их агрегация, в результате чего усиливаются флуктуации концентрации белка, на границе этих флуктуаций возникает светорассеяние и хрусталик мутнеет [32]. Действительно, в опытах *in vivo* было обнаружено возрастное снижение шапероноподобной активности как α-кристаллина, так и α_H-кристаллина; подобное снижение активности наблюдается и при образовании катаракты [146–150]. Как возрастное снижение шапероноподобной активности α-кристаллина, так и снижение его активности при катаракте сопровождается образованием посттрансляционных модификаций различной природы [148, 151, 152]. Отсюда возникло предположение, что снижение шапероноподобной активности α-кристаллина вызвано именно его посттрансляционной модификацией. Это было подтверждено в многочисленных экспериментах *in vitro* [153–155]. Например, повреждение α-кристаллина с помощью диметил-3,3'-дитиобиспропионимидата, вызывающее образование дисульфидных связей, снижало его активность. При этом добавка дитиотреитола, восстанавливающего дисульфидные связи, частично восстанавливала шапероноподобную активность белка [156]. УФ-повреждение α-кристаллина вызывало экспоненциальное снижение его активности, что хорошо коррелировало со структурными изменениями α-кристаллина [157].

Однако, несмотря на огромный массив информации, касающейся влияния посттрансляционных модификаций α-кристаллина на снижение его активности в хрусталике, строгих доказательств, которые связывали бы количество конкретных посттрансляционных модификаций со степенью снижения его шапероноподобной активности пока не получено. На наш взгляд, сочетание расчётных методов физики полимеров, оценивающих влияние модификаций тех или иных а.о. на структуру белковой цепи, и данных масс-спектрометрии может позволить доказать наличие такой связи.

Очевидно, что молекула α -кристаллина может связать лишь какое-то определённое количество дестабилизированного белка. Поэтому исчерпание способности α -кристаллина связывать повреждённый белок является ещё одной причиной уменьшения шапероноподобной активности α -кристаллина в хрусталике. При исследовании *in vitro* взаимодействия УФ-повреждённого β_L -кристаллина с нативным α -кристаллином было показано, что белковый комплекс остаётся растворимым в том случае, если содержание целевого белка не превышает 5–7% [132]. При связывании большего количества повреждённого белка масса комплекса возрастает существенно, и растворимость его падает. Вероятно, в хрусталике происходит аналогичный процесс: α -кристаллин, перегруженный связанными с ним повреждёнными белками, сначала образует высокомолекулярные формы, а затем выпадает в осадок. Интересно отметить, что шапероноподобная активность α -кристаллина, полученного из водонерастворимой фракции белка хрусталика, была снижена на 40% по сравнению с нативным белком, но не полностью потеряна [156]. Это указывает на то, что нарушение растворимости (выпадение в осадок) комплекса α -кристаллин–повреждённый белок начинается задолго до того, как все связывающие сайты α -кристаллина будут заняты дестабилизированными белками. В этой связи необходимо упомянуть недавнее исследование механизма возникновения помутнения хрусталика при врождённой катаракте [158]. По мнению авторов исследования, причиной возникновения помутнения хрусталика является вовсе не исчерпание способности α -кристаллина связывать повреждённые белки, а изменение белок-белковых взаимодействий, возникающее вследствие замены аминокислот в случае наследственных катаракт, или посттрансляционные модификации белков в случае катаракт возрастных. Однако, как нам представляется, хотя такая гипотеза и может иметь право на существование, но пока она ещё слабо подкреплена экспериментальными данными.

МОДУЛЯЦИЯ ШАПЕРОНОПОДОБНОЙ АКТИВНОСТИ α -КРИСТАЛЛИНА ЭКЗОГЕННЫМИ СОЕДИНЕНИЯМИ И КОНСЕРВАТИВНОЕ ЛЕЧЕНИЕ КАТАРАКТЫ

Было показано, что производное β -аланина и пантотеновой кислоты — пантетин — способно за счёт усиления шапероноподобных свойств α -кристаллина эффективно предупреждать развитие селенитовой катаракты у крыс [159–162].

Предпринимались попытки усилить шапероноподобную активность α -кристаллина в хрусталике, используя участки молекулы α -кристаллина, которые могли бы отвечать за его шапероноподобную активность [163, 164]. Однако самый активный пептид с последовательностью KVFIFLDVKHFSPEDLTVK, хотя и препятствовал преципитации белка, но не тормозил образование агрегатов размером 50–500 нм [165].

Некоторые соединения, например, трегалоза, аргинин, циклодекстрины, выступая как химические шапероны, способны затормозить процесс агрегации белков в условиях *in vitro* [166–169]. Однако действуют такие соединения в очень больших концентрациях, а именно 0,2 М и выше, и поэтому они вряд ли могут рассматриваться в качестве потенциальных антикатарактальных средств.

Исследование механизма антикатарактального эффекта карнозина и его производных показало, что в основе действия этих соединений может лежать их способность тормозить агрегацию дестабилизированных белков. Наиболее активным среди производных карнозина оказался N-ацетилкарнозин [170]. Свою активность N-ацетилкарнозин в отношении агрегации УФ-повреждённого β_L -кристаллина проявлял уже в миллимолярных концентрациях, что существенно отличало его от химических шаперонов. Вероятно, антиагрегационный эффект этого соединения связан с его амфифильными свойствами и целевым связыванием на гидрофобных сайтах денатурированного белка, участвующих в агрегации. Для таких соединений мы предложили термин «минишаперон» [171].

Привлекательной выглядела идея объединить в одном препарате соединение, увеличивающее способность α -кристаллина связывать денатурированные белки, и вещества, которые сами обладают шапероноподобными свойствами, а именно пантетин и N-ацетилкарнозин. Оказалось, что такая композиция соединений способна предупреждать развитие помутнения хрусталика, индуцированное облучением ближним ультрафиолетом в опытах *in vivo* [172–175].

Средства, применяемые для консервативного лечения катаракты, были способны лишь замедлить развитие катаракты. Но возможно ли обратить этот процесс, растворив каким-то образом белковые агрегаты в хрусталике? Соединение ланостерол, а также некоторые другие производные стероидов оказались способными не только предупреждать агрегацию *in vitro*, но и растворять агрегаты белка *in vivo* [176, 177]. В журналах *Nature* и *Science* были опубликованы оптимистичные отзывы ведущих исследователей в области патогенеза катаракты, прогнози-

рующие на этой основе создание лекарственного препарата, способного излечивать это заболевание [178, 179]. Правда, дальнейшие исследования показали, что не все так просто: в некоторых случаях препараты показывали хороший результат, а в некоторых были неэффективны [180–183]. Очевидно, что это направление требует дальнейших исследований.

Идея замедлить образование катаракты с помощью соединений, тормозящих процесс свободнорадикального окисления (о роли свободнорадикального окисления в формировании катаракты см. выше), возникла давно. Например, в состав антикатарактальных капель вводили глутатион и цистеин [184]. Считается, что лечебный эффект широко применяемого антикатарактального препарата Сенкаталин (Каталин) обусловлен его антиоксидантными свойствами [185]. Однако возник удивительный парадокс – антикатарактальные препараты демонстрировали высокую активность в лабораторном эксперименте, но были бесполезными в клинической практике [186]. Секрет оказался прост. Как показало специальное исследование, применение препаратов начинали тогда, когда в хрусталике уже образовалась катаракта. Кроме того, немаловажным оказался и человеческий фактор: основная масса и врачей, и пациентов не верила в эффективность консервативного лечения катаракты [187]. Таким образом, с одной стороны, разработаны препараты, пригодные для консервативного лечения катаракты, с другой стороны, их применение в клинике оказывается неэффективным вследствие слишком позднего применения. Выход нам видится в разработке и широком применении в практике средств и методов ранней диагностики катаракты.

Профилактику и лечение катаракты надо начинать задолго до появления клинических признаков заболевания. Примером ранней диагностики может быть диагностика с использованием прибора, созданного Ansari [188–191]. Принцип

его действия основан на методе измерения динамического рассеяния света. Динамическое рассеяние света позволяет *in vivo* не только диагностировать начальные стадии катаракты, которые невозможно зафиксировать другими известными методами, но и оценить количество активного, то есть способного связывать поврежденные белки, α -кристаллина в хрусталике. Снижение уровня активного α -кристаллина ниже некоторого порогового значения является указанием на скорое появление в хрусталике помутнения. В заключение заметим, что в США в последние годы активно ведутся уже клинические испытания прибора Ansari [192].

Таким образом, применение комплекса антикатарактальных препаратов шапероноподобного и антиоксидантного действия в сочетании с ранней диагностикой опасности возникновения катаракты может позволить предупреждать развития катаракты и, как следствие, уменьшить число случаев, требующих хирургического лечения.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 21-14-00178 для К.О.М.) и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2020-795, внутренний № 13.1902.21.0027 для М.А.О.).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Описанные в настоящей статье результаты, полученные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам учреждений, в которых проводились исследования, а именно «Научно-исследовательский институт глазных болезней» (г. Москва) и «Объединенный институт ядерных исследований» (г. Дубна), и утвержденным правовыми актам РФ и международных организаций.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. De Korte, C. L., Van Der Steen, A. F., Thijssen, J. M., Duindam, J. J., Otto, C., et al. (1994) Relation between local acoustic parameters and protein distribution in human and porcine eye lenses, *Exp. Eye Res.*, **59**, 617-627, doi: 10.1006/exer.1994.1147.
2. Fagerholm, P. P., and Philipson, B. T. (1981) Human lens epithelium in normal and cataractous lenses, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **21**, 408-414.
3. Siebinga, I., Vrensen, G. F., De Mul, F. F., and Greve, J. (1991) Age-related changes in local water and protein content of human eye lenses measured by Raman microspectroscopy, *Exp. Eye Res.*, **53**, 233-239, doi: 10.1016/0014-4835(91)90079-t.
4. Ott, M. (2006) Visual accommodation in vertebrates: mechanisms, physiological response and stimuli, *J. Comp. Physiol. A Neuroethol. Sens. Neural Behav. Physiol.*, **192**, 97-111, doi: 10.1007/s00359-005-0049-6.
5. Kuszak, J. R., Zoltoski, R. K., and Tiedemann, C. E. (2004) Development of lens sutures, *Int. J. Dev. Biol.*, **48**, 889-902, doi: 10.1387/ijdb.041880jk.
6. Kuszak, J. R., Mazurkiewicz, M., and Zoltoski, R. (2006) Computer modeling of secondary fiber development and growth: I. Nonprimate lenses, *Mol. Vis.*, **12**, 251-270.
7. Kuszak, J. R., Mazurkiewicz, M., Jison, L., Madurski, A., Ngando, A., et al. (2006) Quantitative analysis of animal model lens anatomy: accommodative range is related to

- fiber structure and organization, *Vet. Ophthalmol.*, **9**, 266-280, doi: 10.1111/j.1463-5224.2006.00506.x.
8. Kuszak, J. R. and Zoltoski, R. K. (2006) in *Focus on Eye Research* (Ioseliani, O. R., ed.) New-York, pp. 117-132.
 9. Shick, J. M., and Dunlap, W. C. (2002) Mycosporine-like amino acids and related Gadusols: biosynthesis, accumulation, and UV-protective functions in aquatic organisms, *Annu. Rev. Physiol.*, **64**, 223-262, doi: 10.1146/annurev.physiol.64.081501.155802.
 10. Werten, P. J., Roll, B., van Aalten, D. M., and de Jong, W. W. (2000) Gecko iota-crystallin: how cellular retinol-binding protein became an eye lens ultraviolet filter, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 3282-3287, doi: 10.1073/pnas.050500597.
 11. Truscott, R. J., Carver, J. A., Thorpe, A., and Douglas, R. H. (1992) Identification of 3-hydroxykynurenine as the lens pigment in the gourami *Trichogaster trichopterus*, *Exp. Eye Res.*, **54**, 1015-1017, doi: 10.1016/0014-4835(92)90167-q.
 12. Van Heyningen, R. (1971) Fluorescent derivatives of 3-hydroxy-L-kynurenine in the lens of man, the baboon and the grey squirrel, *Biochem. J.*, **123**, 30P-31P, doi: 10.1042/bj1230030p.
 13. Van Heyningen, R. (1971) Fluorescent glucoside in the human lens, *Nature*, **230**, 393-394, doi: 10.1038/230393a0.
 14. Cuthbertson, F. M., Peirson, S. N., Wulff, K., Foster, R. G., and Downes, S. M. (2009) Blue light-filtering intraocular lenses: review of potential benefits and side effects, *J. Cataract Refract. Surg.*, **35**, 1281-1297, doi: 10.1016/j.jcrs.2009.04.017.
 15. Meyers, S. M., Ostrovsky, M. A., and Bonner, R. F. (2004) A model of spectral filtering to reduce photochemical damage in age-related macular degeneration, *Trans. Am. Ophthalmol. Soc.*, **102**, 83-93.
 16. Nolan, J. M., O'Reilly, P., Loughman, J., Stack, J., Loane, E., et al. (2009) Augmentation of macular pigment following implantation of blue light-filtering intraocular lenses at the time of cataract surgery, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **50**, 4777-4785, doi: 10.1167/iovs.08-3277.
 17. Wu, J., Seregard, S., and Algere, P. V. (2006) Photochemical damage of the retina, *Surv. Ophthalmol.*, **51**, 461-481, doi: 10.1016/j.survophthal.2006.06.009.
 18. Линник Л. Ф., Островский М. А., Салиев М. А. (1991) Искусственные хрусталики, поглощающие ультрафиолетовые лучи: безопасность, эффективность и перспективы использования в офтальмохирургии, *Офтальмохирургия*, **4**, 3-7.
 19. Тахчиди Х. П., Линник Л. Ф., Островский М. А., Зак П. П. (2007) Отдаленные результаты наблюдений после имплантации искусственного хрусталика «Спектр» с естественной спектральной характеристикой, *Офтальмохирургия*, **1**, 11-21.
 20. McNulty, R., Wang, H., Mathias, R. T., Ortwerth, B. J., Truscott, R. J., et al. (2004) Regulation of tissue oxygen levels in the mammalian lens, *J. Physiol.*, **559**, 883-898, doi: 10.1016/0014-5793(94)00601-6.
 21. Мажуль В. М., Зайцева Е. М., Щербин Д. Г., Чекана А. Ю., Голуб О. М. (2003) Фосфоресцентный анализ ткани хрусталика в норме и при катаракте, *Белорусский офтальмологический журнал*, **2-3**, 13-16.
 22. Troedel, S. (1962) The physical basis for transparency of the crystalline lens, *Invest. Ophthalmol.*, **1**, 493-501.
 23. Орехович В. Н., Фирфарова К. Ф., Шпикитер В. О. (1955) Физико-химическая характеристика растворимых белков хрусталика, *Український біохімічний журнал*, **XXVII**, 355-363.
 24. Resnik, R. A. (1957) Lens proteins. I. Alpha crystallin of calf lens, *Am. J. Ophthalmol.*, **44**, 357-362.
 25. Harrington, V., Srivastava, O. P., and Kirk, M. (2007) Proteomic analysis of water insoluble proteins from normal and cataractous human lenses, *Mol. Vis.*, **13**, 1680-1694.
 26. Bloemendal, H. (1977) The vertebrate eye lens, *Science*, **197**, 127-138, doi: 10.1126/science.877544.
 27. Bloemendal, H., De Jong, W., Jaenicke, R., Lubsen, N. H., Slingsby, C., et al. (2004) Ageing and vision: structure, stability and function of lens crystallins, *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, **86**, 407-485, doi: 10.1016/j.pbiomolbio.2003.11.012.
 28. Gangalum, R. K., Kim, D., Kashyap, R. K., Mangul, S., Zhou, X., et al. (2018) Spatial analysis of single fiber cells of the developing ocular lens reveals regulated heterogeneity of gene expression, *iScience*, **10**, 66-79, doi: 10.1016/j.isci.2018.11.024.
 29. Bloemendal, H., and de Jong, W. W. (1991) Lens proteins and their genes, *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.*, **41**, 259-281, doi: 10.1016/s0079-6603(08)60012-4.
 30. Sharma, K. K., and Santhoshkumar, P. (2009) Lens aging: effects of crystallins, *Biochim. Biophys. Acta*, **1790**, 1095-1108, doi: 10.1016/j.bbagen.2009.05.008.
 31. Sergeev, Y. V., Hejtmancik, J. F., and Wingfield, P. T. (2004) Energetics of domain-domain interactions and entropy driven association of beta-crystallins, *Biochemistry*, **43**, 415-424, doi: 10.1021/bi034617f.
 32. Benedek, G. B. (1971) Theory of transparency of the eye, *Appl. Opt.*, **10**, 459-473, doi: 10.1364/AO.10.000459.
 33. Delaye, M., and Tardieu, A. (1983) Short-range order of crystallin proteins accounts for eye lens transparency, *Nature*, **302**, 415-417, doi: 10.1038/302415a0.
 34. Krivandin, A. V., and Muranov, K. O. (1999) Comparative study of the crystallin supramolecular structure in the carp, frog, and rat lenses by small-angle roentgen ray scattering, *Біофізика*, **44**, 1088-1093.
 35. Mirarefi, A. Y., Boutet, S., Ramakrishnan, S., Kiss, A. J., Cheng, C. H., et al. (2010) Small-angle X-ray scattering studies of the intact eye lens: Effect of crystallin composition and concentration on microstructure, *Biochim. Biophys. Acta*, **1800**, 556-564, doi: 10.1016/j.bbagen.2010.02.004.
 36. Nomura, H., Shimokata, H., Niino, N., Ando, F., Sugita, J., et al. (2000) Estimation of anterior nucleus of lens by Scheimpflug image before and after pupil dilatation, *Jpn. J. Ophthalmol.*, **44**, 682-685, doi: 10.1016/s0021-5155(00)00287-2.
 37. Yaroslavsky, I. V., Yaroslavsky, A. N., Otto, C., Puppels, G. J., Vrensen, G. F., et al. (1994) Combined elastic and Raman light scattering of human eye lenses, *Exp. Eye Res.*, **59**, 393-399, doi: 10.1006/exer.1994.1123.
 38. Fricke, T. R., Holden, B. A., Wilson, D. A., Schlenker, G., Naidoo, K. S., et al. (2012) Global cost of correcting vision impairment from uncorrected refractive error, *Bull. World Health Organ.*, **90**, 728-738, doi: 10.2471/BLT.12.104034.
 39. Вит В. В. (2002) в кн. *Катаракта* (под ред. Веселовская З. Ф.) Книга плюс, Киев, с. 41-53.
 40. Berry, V., Georgiou, M., Fujinami, K., Quinlan, R., Moore, A., et al. (2020) Inherited cataracts: molecular genetics, clinical features, disease mechanisms and novel therapeutic approaches, *Br. J. Ophthalmol.*, **104**, 1331-1337, doi: 10.1136/bjophthalmol-2019-315282.
 41. Shiels, A., Bennett, T. M., and Hejtmancik, J. F. (2010) Cat-Map: Putting cataract on the map, *Mol. Vis.*, **16**, 2007-2015.
 42. Shiels, A., and Hejtmancik, J. F. (2013) Genetics of human cataract, *Clin. Genet.*, **84**, 120-127, doi: 10.1111/cge.12182.
 43. Harding, J. J. (2002) Viewing molecular mechanisms of ageing through a lens, *Ageing Res. Rev.*, **1**, 465-479, doi: 10.1016/s1568-1637(02)00012-0.
 44. Head, K. A. (2001) Natural therapies for ocular disorders, part two: cataracts and glaucoma, *Altern. Med. Rev.*, **6**, 141-166.

45. James, E. R. (2007) The etiology of steroid cataract, *J. Ocul. Pharmacol. Ther.*, **23**, 403-420, doi: 10.1089/jop.2006.0067.
46. McCarty, C. A., and Taylor, H. R. (2002) A review of the epidemiologic evidence linking ultraviolet radiation and cataracts, *Dev. Ophthalmol.*, **35**, 21-31, doi: 10.1159/000060807.
47. Thorne, M. C. (2012) Regulating exposure of the lens of the eye to ionising radiations, *J. Radiol. Prot.*, **32**, 147-154, doi: 10.1088/0952-4746/32/2/147.
48. Hejtmancik, J. F., and Kantorow, M. (2004) Molecular genetics of age-related cataract, *Exp. Eye Res.*, **79**, 3-9, doi: 10.1016/j.exer.2004.03.014.
49. Kannabiran, C., Rogan, P. K., Olmos, L., Basti, S., Rao, G. N., et al. (1998) Autosomal dominant zonular cataract with sutural opacities is associated with a splice mutation in the betaA3/A1-crystallin gene, *Mol. Vis.*, **4**, 21.
50. Sergeev, Y. V., Soustov, L. V., Chelnokov, E. V., Bityurin, N. M., Backlund, P. S., Jr., et al. (2005) Increased sensitivity of amino-arm truncated betaA3-crystallin to UV-light-induced photoaggregation, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **46**, 3263-3273, doi: 10.1167/iovs.05-0112.
51. Bron, A. J., Vrensen, G. F., Koretz, J., Maraini, G., and Harding, J. J. (2000) The ageing lens, *Ophthalmologica*, **214**, 86-104, doi: 10.1159/000027475.
52. Vrensen, G. F. (1995) Aging of the human eye lens – a morphological point of view, *Comp. Biochem. Physiol. A Physiol.*, **111**, 519-532, doi: 10.1016/0300-9629(95)00053-a.
53. Creighton, M. O., Trevithick, J. R., Mousa, G. Y., Percy, D. H., McKinna, A. J., et al. (1978) Globular bodies: a primary cause of the opacity in senile and diabetic posterior cortical subcapsular cataracts? *Can. J. Ophthalmol.*, **13**, 166-181.
54. Dilley, K. J., Bron, A. J., and Habgood, J. O. (1976) Anterior polar and posterior subcapsular cataract in a patient with retinitis pigmentosa: a light-microscopic and ultrastructural study, *Exp. Eye Res.*, **22**, 155-167, doi: 10.1016/0014-4835(76)90042-7.
55. Kinoshita, J. H. (1974) Mechanisms initiating cataract formation. Proctor Lecture, *Invest. Ophthalmol.*, **13**, 713-724.
56. Worgul, B. V., Merriam, G. R., Jr., and Medvedovsky, C. (1989) Cortical cataract development – an expression of primary damage to the lens epithelium, *Lens Eye Toxic. Res.*, **6**, 559-571.
57. Al-Ghoul, K. J., and Costello, M. J. (1996) Fiber cell morphology and cytoplasmic texture in cataractous and normal human lens nuclei, *Curr. Eye Res.*, **15**, 533-542, doi: 10.3109/02713689609000764.
58. Costello, M. J., Burette, A., Weber, M., Metlapally, S., Gilliland, K. O., et al. (2012) Electron tomography of fiber cell cytoplasm and dense cores of multilamellar bodies from human age-related nuclear cataracts, *Exp. Eye Res.*, **101**, 72-81, doi: 10.1016/j.exer.2012.06.005.
59. Costello, M. J., Oliver, T. N., and Cobo, L. M. (1992) Cellular architecture in age-related human nuclear cataracts, *Invest. Ophthalmol. Mol. Vis. Sci.*, **33**, 3209-3227.
60. Costello, M. J., Johnsen, S., Metlapally, S., Gilliland, K. O., Ramamurthy, B., et al. (2008) Ultrastructural analysis of damage to nuclear fiber cell membranes in advanced age-related cataracts from India, *Exp. Eye Res.*, **87**, 147-158, doi: 10.1016/j.exer.2008.05.009.
61. Costello, M. J., Johnsen, S., Metlapally, S., Gilliland, K. O., Frame, L., et al. (2010) Multilamellar spherical particles as potential sources of excessive light scattering in human age-related nuclear cataracts, *Exp. Eye Res.*, **91**, 881-889, doi: 10.1016/j.exer.2010.09.013.
62. Taylor, V. L., and Costello, M. J. (1999) Fourier analysis of textural variations in human normal and cataractous lens nuclear fiber cell cytoplasm, *Exp. Eye Res.*, **69**, 163-174, doi: 10.1006/exer.1999.0679.
63. Gilliland, K. O., Freel, C. D., Lane, C. W., Fowler, W. C., and Costello, M. J. (2001) Multilamellar bodies as potential scattering particles in human age-related nuclear cataracts, *Mol. Vis.*, **7**, 120-130.
64. Gilliland, K. O., Freel, C. D., Johnsen, S., Craig, F. W., and Costello, M. J. (2004) Distribution, spherical structure and predicted Mie scattering of multilamellar bodies in human age-related nuclear cataracts, *Exp. Eye Res.*, **79**, 563-576, doi: 10.1016/j.exer.2004.05.017.
65. Kurova, V. S., Muranov, K. O., Polianskii, N. B., Sheremet, N. L., Fedorov, A. A., et al. (2012) Experimental study of influence of different damaging factors on lens. Report 3. Changes of lens protein composition, *Vestn. Oftalmol.*, **128**, 17-19.
66. Muranov, K. O., Polianskii, N. B., Bannik, K. I., Sheremet, N. L., Fedorov, A. A., et al. (2012) Experimental study of influence of different damaging factors on lens. Report 2. Features of microscopic lens changes, *Vestn. Oftalmol.*, **128**, 12-16.
67. Sheremet, N. L., Muranov, K. O., Polianskii, N. B., Fedorov, A. A., Bannik, K. I., et al. (2012) Experimental study of influence of different damaging factors on lens. Report 1. Features of biomicroscopic changes, *Vestn. Oftalmol.*, **128**, 8-12.
68. Muranov, K. O., Polianskii, N. B., Kurova, V. S., Riabokon', A. M., Sheremet, N. L., et al. (2010) Comparative study of aging, UV treatment, and radiation on cataract formation, *Radiats. Biol. Radioecol.*, **50**, 276-285.
69. Broglio, T. M., and Worgul, B. V. (1982) The lens epithelium and radiation cataract. IV. Ultrastructural studies of interphase death in the meridional rows, *Virchows Arch. B Cell Pathol. Incl. Mol. Pathol.*, **39**, 49-57, doi: 10.1007/BF02892836.
70. Merriam, G. R., Jr., and Worgul, B. V. (1983) Experimental radiation cataract – its clinical relevance, *Bull. N. Y. Acad. Med.*, **59**, 372-392.
71. Hockwin, O., Kojima, M., Sakamoto, Y., Wegener, A., Shui, Y. B., et al. (1999) UV damage to the eye lens: further results from animal model studies: a review, *J. Epidemiol.*, **9**, S39-S47, doi: 10.2188/jea.9.6sup_39.
72. Schmitt, C., and Hockwin, O. (1990) The mechanisms of cataract formation, *J. Inherit. Metab. Dis.*, **13**, 501-508, doi: 10.1007/BF01799507.
73. Wolf, N., Pendergrass, W., Singh, N., Swisshelm, K., and Schwartz, J. (2008) Radiation cataracts: mechanisms involved in their long delayed occurrence but then rapid progression, *Mol. Vis.*, **14**, 274-285.
74. Pendergrass, W., Zitnik, G., Tsai, R., and Wolf, N. (2010) X-ray induced cataract is preceded by LEC loss, and coincident with accumulation of cortical DNA, and ROS; similarities with age-related cataracts, *Mol. Vis.*, **16**, 1496-1513.
75. Pendergrass, W., Penn, P., Possin, D., and Wolf, N. (2005) Accumulation of DNA, nuclear and mitochondrial debris, and ROS at sites of age-related cortical cataract in mice, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **46**, 4661-4670, doi: 10.1167/iovs.05-0808.
76. Pendergrass, W. R., Penn, P. E., Possin, D. E., and Wolf, N. S. (2006) Cellular debris and ROS in age-related cortical cataract are caused by inappropriate involution of the surface epithelial cells into the lens cortex, *Mol. Vis.*, **12**, 712-724, doi: 10.1167/iovs.05-0808.
77. Bassnett, S. (2002) Lens organelle degradation, *Exp. Eye Res.*, **74**, 1-6, doi: 10.1006/exer.2001.1111.
78. Bassnett, S. (2009) On the mechanism of organelle degradation in the vertebrate lens, *Exp. Eye Res.*, **88**, 133-139, doi: 10.1016/j.exer.2008.08.017.

79. Shestopalov, V. I., and Bassnett, S. (2003) Development of a macromolecular diffusion pathway in the lens, *J. Cell Sci.*, **116** (Pt 20), 4191-4199, doi: 10.1242/jcs.00738.
80. Tkachov, S. I., Lautenschlager, C., Ehrlich, D., and Struck, H. G. (2006) Changes in the lens epithelium with respect to cataractogenesis: Light microscopic and Scheimpflug densitometric analysis of the cataractous and the clear lens of diabetics and non-diabetics, *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, **244**, 596-602, doi: 10.1007/s00417-005-0091-7.
81. Al-Ghoul, K. J., and Costello, M. J. (1993) Morphological changes in human nuclear cataracts of late-onset diabetics, *Exp. Eye Res.*, **57**, 469-486, doi: 10.1006/exer.1993.1149.
82. Ansari, N. H., and Srivastava, S. K. (1990) Allopurinol promotes and butylated hydroxy toluene prevents sugar-induced cataractogenesis, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **168**, 939-943, doi: 10.1016/0006-291x(90)91119-d.
83. Kyselova, Z., Stefek, M., and Bauer, V. (2004) Pharmacological prevention of diabetic cataract, *J. Diabetes Complications*, **18**, 129-140, doi: 10.1016/S1056-8727(03)00009-6.
84. Kyselova, Z., Gajdosik, A., Gajdosikova, A., Ulicna, O., Mihalova, D., et al. (2005) Effect of the pyridoinole antioxidant stobadine on development of experimental diabetic cataract and on lens protein oxidation in rats: Comparison with vitamin E and BHT, *Mol. Vis.*, **11**, 56-65.
85. Ross, W. M., Creighton, M. O., Trevithick, J. R., Stewart-DeHaan, P. J., and Sanwal, M. (1983) Modelling cortical cataractogenesis: VI. Induction by glucose *in vitro* or in diabetic rats: prevention and reversal by glutathione, *Exp. Eye Res.*, **37**, 559-573, doi: 10.1016/0014-4835(83)90132-x.
86. Муранов К. О., Островский М. А. (2013) *Молекулярная физиология хрусталика*, Издательство «Торус-Пресс», Москва.
87. Cui, X. L., and Lou, M. F. (1993) The effect and recovery of long-term H₂O₂ exposure on lens morphology and biochemistry, *Exp. Eye Res.*, **57**, 157-167, doi: 10.1006/exer.1993.1111.
88. Ganea, E., and Harding, J. J. (2006) Glutathione-related enzymes and the eye, *Curr. Eye Res.*, **31**, 1-11, doi: 10.1080/02713680500477347.
89. Leske, M. C., Wu, S. Y., Hyman, L., Sperduto, R., Underwood, B., et al. (1995) Biochemical factors in the lens opacities. Case-control study. The Lens Opacities Case-Control Study Group, *Arch. Ophthalmol.*, **113**, 1113-1119, doi: 10.1001/archophth.1995.01100090039020.
90. McCarty, C. A., and Taylor, H. R. (1996) Recent developments in vision research: light damage in cataract, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **37**, 1720-1723.
91. McNeil, J. J., Robman, L., Tikellis, G., Sinclair, M. I., McCarty, C. A., et al. (2004) Vitamin E supplementation and cataract: randomized controlled trial, *Ophthalmology*, **111**, 75-84, doi: 10.1016/j.ophtha.2003.04.009.
92. Wolf, N., Penn, P., Pendergrass, W., Van Remmen, H., Bartke, A., et al. (2005) Age-related cataract progression in five mouse models for anti-oxidant protection or hormonal influence, *Exp. Eye Res.*, **81**, 276-285, doi: 10.1016/j.exer.2005.01.024.
93. Horwitz, J., Huang, Q. L., Ding, L., and Bova, M. P. (1998) Lens alpha-crystallin: chaperone-like properties, *Methods Enzymol.*, **290**, 365-383, doi: 10.1016/s0076-6879(98)90032-5.
94. Horwitz, J. (2003) Alpha-crystallin, *Exp. Eye Res.*, **76**, 145-153, doi: 10.1016/s0014-4835(02)00278-6.
95. Shang, F., and Taylor, A. (2004) Function of the ubiquitin proteolytic pathway in the eye, *Exp. Eye Res.*, **78**, 1-14, doi: 10.1016/j.exer.2003.10.003.
96. Zhang, X., Dudek, E. J., Liu, B., Ding, L., Fernandes, A. F., et al. (2007) Degradation of C-terminal truncated alphaA-crystallins by the ubiquitin proteasome pathway, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **48**, 4200-4208, doi: 10.1167/iovs.07-0196.
97. Ostadalova, I., Babicky, A., and Obenberger, J. (1978) Cataract induced by administration of a single dose of sodium selenite to suckling rats, *Experientia*, **34**, 222-223, doi: 10.1007/BF01944690.
98. Muranov, K., Poliansky, N., Winkler, R., Rieger, G., Schmut, O., et al. (2004) Protection by iodide of lens from selenite-induced cataract, *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, **242**, 146-151, doi: 10.1007/s00417-003-0790-x.
99. Shang, F., Gong, X., and Taylor, A. (1997) Activity of ubiquitin-dependent pathway in response to oxidative stress. Ubiquitin-activating enzyme is transiently up-regulated, *J. Biol. Chem.*, **272**, 23086-23093, doi: 10.1074/jbc.272.37.23086.
100. Shang, F., and Taylor, A. (1995) Oxidative stress and recovery from oxidative stress are associated with altered ubiquitin conjugating and proteolytic activities in bovine lens epithelial cells, *Biochem. J.*, **307**, 297-303, doi: 10.1042/bj3070297.
101. Horwitz, J. (1992) Alpha-crystallin can function as a molecular chaperone, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 10449-10453, doi: 10.1073/pnas.89.21.10449.
102. Rao, P. V., Huang, Q. L., Horwitz, J., and Zigler, J. S., Jr. (1995) Evidence that alpha-crystallin prevents non-specific protein aggregation in the intact eye lens, *Biochim. Biophys. Acta*, **1245**, 439-447, doi: 10.1016/0304-4165(95)00125-5.
103. Ryazantsev, S. N., Poliansky, N. B., Chebotareva, N. A., and Muranov, K. O. (2018) 3D structure of the native alpha-crystallin from bovine eye lens, *Int. J. Biol. Macromol.*, **117**, 1289-1298, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.06.004.
104. Horwitz, J., Bova, M. P., Ding, L. L., Haley, D. A., and Stewart, P. L. (1999) Lens alpha-crystallin: function and structure, *Eye*, **13**, 403-408, doi: 10.1038/eye.1999.114.
105. De Jong, W. W., Lubsen, N. H., and Kraft, H. J. (1994) Molecular evolution of the eye lens, *Prog. Retin. Eye Res.*, **12**, 391-442, doi: 10.1016/1350-9462(94)90018-3.
106. Ma, Z., Hanson, S. R., Lampi, K. J., David, L. L., Smith, D. L., et al. (1998) Age-related changes in human lens crystallins identified by HPLC and mass spectrometry, *Exp. Eye Res.*, **67**, 21-30, doi: 10.1006/exer.1998.0482.
107. Caspers, G. J., Leunissen, J. A., and de Jong, W. W. (1995) The expanding small heat-shock protein family, and structure predictions of the conserved "alpha-crystallin domain", *J. Mol. Evol.*, **40**, 238-248, doi: 10.1007/BF00163229.
108. De Jong, W. W., Caspers, G. J., and Leunissen, J. A. (1998) Genealogy of the alpha-crystallin-small heat-shock protein superfamily, *Int. J. Biol. Macromol.*, **22**, 151-162, doi: 10.1016/s0141-8130(98)00013-0.
109. Kundu, M., Sen, P. C., and Das, K. P. (2007) Structure, stability, and chaperone function of alphaA-crystallin: role of N-terminal region, *Biopolymers*, **86**, 177-192, doi: 10.1002/bip.20716.
110. Thampi, P., and Abraham, E. C. (2003) Influence of the C-terminal residues on oligomerization of alphaA-Crystallin, *Biochemistry*, **42**, 11857-11863, doi: 10.1021/bi030129w.
111. Yang, C., Salerno, J. C., and Koretz, J. F. (2005) NH₂-terminal stabilization of small heat shock protein structure: a comparison of two NH₂-terminal deletion mutants of alphaA-crystallin, *Mol. Vis.*, **11**, 641-647.
112. Sreelakshmi, Y., and Sharma, K. K. (2006) The interaction between alphaA- and alphaB-crystallin is sequence-specific, *Mol. Vis.*, **12**, 581-587.
113. Pasta, S. Y., Raman, B., Ramakrishna, T., and Rao, C. (2004) The IXI/V motif in the C-terminal extension of

- alpha-crystallins: Alternative interactions and oligomeric assemblies, *Mol. Vis.*, **10**, 655-662.
114. Vanhoudt, J., Abgar, S., Aerts, T., and Clauwaert, J. (2000) A small-angle X-ray solution scattering study of bovine alpha-crystallin, *Eur. J. Biochem.*, **267**, 3848-3858, doi: 10.1046/j.1432-1327.2000.01423.x.
115. Augusteyn, R. C., and Koretz, J. F. (1987) A possible structure for alpha-crystallin, *FEBS Lett.*, **222**, 1-5, doi: 10.1016/0014-5793(87)80180-1.
116. Groth-Vasselli, B., Kumosinski, T. F., and Farnsworth, P. N. (1995) Computer-generated model of the quaternary structure of alpha crystallin in the lens, *Exp. Eye Res.*, **61**, 249-253, doi: 10.1016/s0014-4835(05)80044-2.
117. Wistow, G. (1993) Possible tetramer-based quaternary structure for alpha-crystallins and small heat shock proteins, *Exp. Eye Res.*, **56**, 729-732, doi: 10.1006/exer.1993.1090.
118. Walsh, M. T., Sen, A. C., and Chakrabarti, B. (1991) Micellar subunit assembly in a three-layer model of oligomeric alpha-crystallin, *J. Biol. Chem.*, **266**, 20079-20084.
119. Haslbeck, M., Peschek, J., Buchner, J., and Weinkauff, S. (2016) Structure and function of alpha-crystallins: traversing from *in vitro* to *in vivo*, *Biochim. Biophys. Acta*, **1860**, 149-166, doi: 10.1016/j.bbagen.2015.06.008.
120. Kenworthy, A. K., Magid, A. D., Oliver, T. N., and McIntosh, T. J. (1994) Colloid osmotic pressure of steer alpha- and beta-crystallins: Possible functional roles for lens crystallin distribution and structural diversity, *Exp. Eye Res.*, **59**, 11-30, doi: 10.1006/exer.1994.1077.
121. Kramps, H. A., Stols, A. L., and Hoenders, H. J. (1975) On the quaternary structure of high-molecular-weight proteins from the bovine eye lens, *Eur. J. Biochem.*, **50**, 503-509, doi: 10.1111/j.1432-1033.1975.tb09889.x.
122. Harding, J. J., and Dilley, K. J. (1976) Structural proteins of the mammalian lens: a review with emphasis on changes in development, aging and cataract, *Exp. Eye Res.*, **22**, 1-73, doi: 10.1016/0014-4835(76)90033-6.
123. Srivastava, O. P., Srivastava, K., and Silney, C. (1996) Levels of crystallin fragments and identification of their origin in water soluble high molecular weight (HMW) proteins of human lenses, *Curr. Eye Res.*, **15**, 511-520, doi: 10.3109/027136896090000762.
124. Krivandin, A. V., Muranov, K. O., Yakovlev, F. Y., Poliansky, N. B., Wasserman, L. A., et al. (2009) Resistance of alpha-crystallin quaternary structure to UV irradiation, *Biochemistry (Moscow)*, **74**, 633-642, doi: 10.1134/s0006297909060078.
125. Padgaonkar, V. A., Leverenz, V. R., Fowler, K. E., Reddy, V. N., and Giblin, F. J. (2000) The effects of hyperbaric oxygen on the crystallins of cultured rabbit lenses: a possible catalytic role for copper, *Exp. Eye Res.*, **71**, 371-383, doi: 10.1006/exer.2000.0887.
126. Carver, J. A., Nicholls, K. A., Aquilina, J. A., and Truscott, R. J. (1996) Age-related changes in bovine alpha-crystallin and high-molecular-weight protein, *Exp. Eye Res.*, **63**, 639-647, doi: 10.1006/exer.1996.0158.
127. Takemoto, L., and Boyle, D. (1994) Molecular chaperone properties of the high molecular weight aggregate from aged lens, *Curr. Eye Res.*, **13**, 35-44, doi: 10.3109/02713689409042396.
128. Liang, J. J., and Akhtar, N. J. (2000) Human lens high-molecular-weight alpha-crystallin aggregates, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **275**, 354-359, doi: 10.1006/bbrc.2000.3306.
129. Ganea, E., and Harding, J. J. (2000) Alpha-crystallin assists the renaturation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, *Biochem. J.*, **345**, 467-472.
130. Nath, D., Rawat, U., Anish, R., and Rao, M. (2002) Alpha-crystallin and ATP facilitate the *in vitro* renaturation of xylanase: enhancement of refolding by metal ions, *Protein Sci.*, **11**, 2727-2734, doi: 10.1110/ps.0213802.
131. Rachdan, D., Lou, M. F., and Harding, J. J. (2005) Glutathione reductase from human cataract lenses can be revived by reducing agents and by a molecular chaperone, alpha-crystallin, *Curr. Eye Res.*, **30**, 919-925, doi: 10.1080/02713680590953110.
132. Muranov, K. O., Poliansky, N. B., Chebotareva, N. A., Kleimenov, S. Y., Bugrova, A. E., et al. (2019) The mechanism of the interaction of alpha-crystallin and UV-damaged betaL-crystallin, *Int. J. Biol. Macromol.*, **140**, 736-748, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.08.178.
133. Kurganov, B. I. (2002) Kinetics of protein aggregation. Quantitative estimation of the chaperone-like activity in test-systems based on suppression of protein aggregation, *Biochemistry (Moscow)*, **67**, 409-422, doi: 10.1023/a:1015277805345.
134. Kurganov, B. I. (2017) Quantification of anti-aggregation activity of chaperones, *Int. J. Biol. Macromol.*, **100**, 104-117, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.07.066.
135. Markossian, K. A., Kurganov, B. I., Levitsky, D. I., Khanova, H. A., Chebotareva, N. A., et al. (2006) in *Protein Folding: New Research* (Obalinsky, T. R., ed.) Nova Science Publishers, Inc., New York, USA, pp. 89-171.
136. Kurganov, B. I. (2013) Antiaggregation activity of chaperones and its quantification, *Biochemistry (Moscow)*, **78**, 1554-1566, doi: 10.1134/S0006297913130129.
137. Kurganov, B. I. (2013) How to quantify the chaperone-like (anti-aggregation) activity? *Biochem. Anal. Biochem.*, **2**, e136, doi: 10.4172/2161-1009.1000e136.
138. Kurganov, B. I. (2013) Thermal denaturation and aggregation assays in analytical biochemistry, *Biochem. Anal. Biochem.*, **2**, e143, doi: 10.4172/2161-1009.1000e143.
139. Kurganov, B. I. (2014) Estimation of chaperone-like activity using test systems based on protein amyloid aggregation, *Biochem. Anal. Biochem.*, **4**, 160, doi: 10.4172/2161-1009.1000160.
140. Borzova, V. A., Markossian, K. A., Kara, D. A., Chebotareva, N. A., Makeeva, V. F., et al. (2013) Quantification of anti-aggregation activity of chaperones: a test-system based on dithiothreitol-induced aggregation of bovine serum albumin, *PLoS One*, **8**, e74367, doi: 10.1371/journal.pone.0074367.
141. Augusteyn, R. C. (2004) Dissociation is not required for alpha-crystallin's chaperone function, *Exp. Eye Res.*, **79**, 781-784, doi: 10.1016/j.exer.2004.08.010.
142. Eronina, T. B., Mikhaylova, V. V., Chebotareva, N. A., Borzova, V. A., Yudin, I. K., et al. (2018) Mechanism of aggregation of UV-irradiated glycogen phosphorylase *b* at a low temperature in the presence of crowders and trimethylamine N-oxide, *Biophys. Chem.*, **232**, 12-21, doi: 10.1016/j.bpc.2017.10.001.
143. Chebotareva, N. A., Filippov, D. O., and Kurganov, B. I. (2015) Effect of crowding on several stages of protein aggregation in test systems in the presence of α -crystallin, *Int. J. Biol. Macromol.*, **80**, 358-365, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2015.07.002.
144. Roman, S. G., Chebotareva, N. A., Eronina, T. B., Kleymenov, S. Y., Makeeva, V. F., et al. (2011) Does the crowded cell-like environment reduce the chaperone-like activity of α -crystallin? *Biochemistry*, **50**, 10607-10623, doi: 10.1021/bi201030y.
145. Kurganov, B. I., and Chebotareva, N. A. (2013) The functioning of chaperones possessing the anti-aggregation activity in a crowded medium, *Biochem. Anal. Biochem.*, **2**, e138, doi: 10.4172/2161-1009.1000e138.
146. Derham, B. K., and Harding, J. J. (1997) Effect of aging on the chaperone-like function of human alpha-crystallin

- assessed by three methods, *Biochem. J.*, **328**, 763-768, doi: 10.1042/bj3280763.
147. Derham, B. K., and Harding, J. J. (1997) The effects of ageing on the chaperone-like function of rabbit alpha-crystallin, comparing three methods of assay, *Biochim. Biophys. Acta*, **1336**, 187-194, doi: 10.1016/s0304-4165(97)00029-9.
 148. Fujii, N., Takata, T., Kim, I., Morishima, K., Inoue, R., et al. (2020) Asp isomerization increases aggregation of alpha-crystallin and decreases its chaperone activity in human lens of various ages, *Biochim. Biophys. Acta Proteins Proteom.*, **1868**, 140446, doi: 10.1016/j.bbapap.2020.140446.
 149. Huang, F. Y., Ho, Y., Shaw, T. S., and Chuang, S. A. (2000) Functional and structural studies of alpha-crystallin from galactosemic rat lenses, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **273**, 197-202, doi: 10.1006/bbrc.2000.2924.
 150. Kumar, P. A., Suryanarayana, P., Reddy, P. Y., and Reddy, G. B. (2005) Modulation of alpha-crystallin chaperone activity in diabetic rat lens by curcumin, *Mol. Vis.*, **11**, 561-568.
 151. Inomata, M., Nomura, K., Takehana, M., Saido, T. C., Kawashima, S., et al. (1997) Evidence for the involvement of calpain in cataractogenesis in Shumiyu cataract rat (SCR), *Biochim. Biophys. Acta*, **1362**, 11-23, doi: 10.1016/s0925-4439(97)00050-1.
 152. Nandi, S. K., Nahomi, R. B., Rankenberg, J., Glomb, M. A., and Nagaraj, R. H. (2020) Glycation-mediated inter-protein cross-linking is promoted by chaperone-client complexes of α -crystallin: Implications for lens aging and presbyopia, *J. Biol. Chem.*, **295**, 5701-5716, doi: 10.1074/jbc.RA120.012604.
 153. Brennan, L. A., Lee, W., Giblin, F. J., David, L. L., and Kantorow, M. (2009) Methionine sulfoxide reductase A (MsrA) restores alpha-crystallin chaperone activity lost upon methionine oxidation, *Biochim. Biophys. Acta*, **1790**, 1665-1672, doi: 10.1016/j.bbagen.2009.08.011.
 154. Moschini, R., Marini, I., Malerba, M., Cappiello, M., Del, C. A., et al. (2006) Chaperone-like activity of alpha-crystallin toward aldose reductase oxidatively stressed by copper ion, *Arch. Biochem. Biophys.*, **453**, 13-17, doi: 10.1016/j.abb.2006.03.008.
 155. Van Boekel, M. A., Hoogakker, S. E., Harding, J. J., and de Jong, W. W. (1996) The influence of some post-translational modifications on the chaperone-like activity of alpha-crystallin, *Ophthalmic Res.*, **28 Suppl 1**, 32-38, doi: 10.1159/000267940.
 156. Sharma, K. K., and Ortwerth, B. J. (1995) Effect of cross-linking on the chaperone-like function of alpha crystallin, *Exp. Eye Res.*, **61**, 413-421, doi: 10.1016/s0014-4835(05)80136-8.
 157. Borzova, V. A., Markossian, K. A., Muranov, K. O., Polyansky, N. B., Kleymenov, S. Y., et al. (2015) Quantification of anti-aggregation activity of UV-irradiated alpha-crystallin, *Int. J. Biol. Macromol.*, **73**, 84-91, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2014.10.060.
 158. Schmid, P. W. N., Lim, N. C. H., Peters, C., Back, K. C., Bourgeois, B., et al. (2021) Imbalances in the eye lens proteome are linked to cataract formation, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **28**, 143-151, doi: 10.1038/s41594-020-00543-9.
 159. Clark, J. I., and Huang, Q. L. (1996) Modulation of the chaperone-like activity of bovine alpha-crystallin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 15185-15189, doi: 10.1073/pnas.93.26.15185.
 160. Clark, J. I., Livesey, J. C., and Steele, J. E. (1996) Delay or inhibition of rat lens opacification using pantethine and WR-77913, *Exp. Eye Res.*, **62**, 75-84, doi: 10.1006/exer.1996.0009.
 161. Hiraoka, T., Clark, J. I., Li, X. Y., and Thurston, G. M. (1996) Effect of selected anti-cataract agents on opacification in the selenite cataract model, *Exp. Eye Res.*, **62**, 11-19, doi: 10.1006/exer.1996.0002.
 162. Hiraoka, T., and Clark, J. I. (1995) Inhibition of lens opacification during the early stages of cataract formation., *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **36**, 2550-2555.
 163. Santhoshkumar, P., and Sharma, K. K. (2002) Identification of a region in alcohol dehydrogenase that binds to alpha-crystallin during chaperone action, *Biochim. Biophys. Acta*, **1598**, 115-121, doi: 10.1016/s0167-4838(02)00356-4.
 164. Sharma, K. K., Kumar, R. S., Kumar, G. S., and Quinn, P. T. (2000) Synthesis and characterization of a peptide identified as a functional element in alphaA-crystallin, *J. Biol. Chem.*, **275**, 3767-3771, doi: 10.1074/jbc.275.6.3767.
 165. Sreelakshmi, Y., and Sharma, K. K. (2001) Interaction of alpha-lactalbumin with mini-alphaA-crystallin, *J. Protein Chem.*, **20**, 123-130, doi: 10.1023/a:1011077307262.
 166. Srinivas, V., Raman, B., Rao, K. S., Ramakrishna, T., and Rao, C. (2005) Arginine hydrochloride enhances the dynamics of subunit assembly and the chaperone-like activity of alpha-crystallin, *Mol. Vis.*, **11**, 249-255.
 167. Viner, R. I., and Clegg, J. S. (2001) Influence of trehalose on the molecular chaperone activity of p26, a small heat shock/alpha-crystallin protein, *Cell Stress. Chaperones*, **6**, 126-135, doi: 10.1379/1466-1268(2001)006<0126:iototm>2.0.co;2.
 168. Eronina, T. B., Mikhaylova, V. V., Chebotareva, N. A., Shubin, V. V., Kleymenov, S. Y., et al. (2020) Effect of arginine on stability and aggregation of muscle glycogen phosphorylase b, *Int. J. Biol. Macromol.*, **165**, 365-374, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.09.101.
 169. Eronina, T. B., Mikhaylova, V. V., Chebotareva, N. A., Shubin, V. V., Sluchanko, N. N., et al. (2019) Comparative effects of trehalose and 2-hydroxypropyl-O1-cyclodextrin on aggregation of UV-irradiated muscle glycogen phosphorylase b, *Biochimie*, **165**, 196-205, doi: 10.1016/j.biochi.2019.08.006.
 170. Muranov, K. O., Dizhevskaya, A. K., Poliansky, N. B., Dodonova, S. O., and Ostrovsky, M. A. (2010) Short-chain peptides as a promising class of chaperone-like anticataract agents: Molecular mechanism of inhibition of crystallin aggregation by pantethine, *Rus. Chem. Bull.*, **59**, 225-231, doi: 10.1007/s11172-010-0066-7.
 171. Dizhevskaya, A. K., Muranov, K. O., Boldyrev, A. A., and Ostrovsky, M. A. (2012) Natural dipeptides as mini-chaperones: Molecular mechanism of inhibition of lens betaL-crystallin aggregation, *Curr. Aging Sci.*, **5**, 236-241, doi: 10.2174/1874609811205030011.
 172. Avetisov, S. E., Polunin, G. S., Sheremet, N. L., Makarov, I. A., Fedorov, A. A., et al. (2008) Chaperon-like anticataract agents, the antiaggregants of lens crystallin. Communication 4. Study of the effect of a mixture of di- and tetrapeptides on a prolonged rat model of UV-induced cataract, *Vestn. Oftalmol.*, **124**, 12-16.
 173. Avetisov, S. E., Polunin, G. S., Sheremet, N. L., Muranov, K. O., Makarov, I. A., et al. (2008) Search for chaperon-like anticataract agents, the antiaggregants of lens crystallin. Communication 3. Possibilities of a follow-up of caractogenesis processes on a prolonged rat model of UV-induced cataract, *Vestn. Oftalmol.*, **124**, 8-12.
 174. Muranov, K. O., Dizhevskaya, A. K., Boldyrev, A. A., Karpova, O. E., Sheremet, N. L., et al. (2008) Search for chaperon-like anticataract drugs, the antiaggregants of lens crystallins. Communication. 1. Chaperon-like activity of N-acetyl carnosine dipeptide: *in vitro* study on a model of ultraviolet-induced aggregation of betaL-crystallin, *Vestn. Oftalmol.*, **124**, 3-6.
 175. Soustov, L. V., Chelnokov, E. V., Sapogova, N. V., Bitiurin, N. M., Nemov, V. V., et al. (2008) Like anticataract agents,

- the antiaggregants of lens crystallin. Communication 2. Study of the impact of chaperon-like (protective) activity of short-chain peptides on the rate of UV-induced aggregation of betaL-crystallins by eximer laser, *Vestn. Oftalmol.*, **124**, 6-8.
176. Makley, L. N., McMenimen, K. A., DeVree, B. T., Goldman, J. W., McGlasson, B. N., et al. (2015) Pharmacological chaperone for alpha-crystallin partially restores transparency in cataract models, *Science*, **350**, 674-677, doi: 10.1126/science.aac9145.
 177. Zhao, L., Chen, X. J., Zhu, J., Xi, Y. B., Yang, X., et al. (2015) Lanosterol reverses protein aggregation in cataracts, *Nature*, **523**, 607-611, doi: 10.1038/nature14650.
 178. Hejtmancik, J. F. (2015) Ophthalmology: cataracts dissolved, *Nature*, **523**, 540-541, doi: 10.1038/nature14629.
 179. Quinlan, R. A. (2015) Drug discovery. A new dawn for cataracts, *Science*, **350**, 636-637, doi: 10.1126/science.aad6303.
 180. Daszynski, D. M., Santhoshkumar, P., Phadte, A. S., Sharma, K. K., Zhong, H. A., et al. (2019) Failure of oxysterols such as lanosterol to restore lens clarity from cataracts, *Sci. Rep.*, **9**, 8459, doi: 10.1038/s41598-019-44676-4.
 181. Huang, C., Li, C., and Muhemaitia, P. (2019) Impediment of selenite-induced cataract in rats by combinatorial drug laden liposomal preparation, *Libyan. J. Med.*, **14**, 1548252, doi: 10.1080/19932820.2018.1548252.
 182. Nagai, N., Fukuoka, Y., Sato, K., Otake, H., Taga, A., et al. (2020) The intravitreal injection of lanosterol nanoparticles rescues lens structure collapse at an early stage in Shumiya cataract rats, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 1048, doi: 10.3390/ijms21031048.
 183. Shen, X., Zhu, M., Kang, L., Tu, Y., Li, L., et al. (2018) Lanosterol synthase pathway alleviates lens opacity in age-related cortical cataract, *J. Ophthalmol.*, **2018**, 4125893, doi: 10.1155/2018/4125893.
 184. Gupta, S. K., Selvan, V. K., Agrawal, S. S., and Saxena, R. (2009) Advances in pharmacological strategies for the prevention of cataract development, *Indian J. Ophthalmol.*, **57**, 175-183, doi: 10.4103/0301-4738.49390.
 185. Ciuffi, M., Neri, S., Franchi-Micheli, S., Failli, P., Zilletti, L., et al. (1999) Protective effect of pirenixine and U74389F on induced lipid peroxidation in mammalian lenses. An *in vitro*, *ex vivo* and *in vivo* study, *Exp. Eye Res.*, **68**, 347-359, doi: 10.1006/exer.1998.0612.
 186. Age-Related Eye Disease Study Research Group (2001) A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E and beta carotene for age-related cataract and vision loss: AREDS report no. 9, *Arch. Ophthalmol.*, **119**, 1439-1452, doi: 10.1001/archophth.119.10.1439.
 187. Sekimoto, M., Imanaka, Y., Kitano, N., Ishizaki, T., and Takahashi, O. (2006) Why are physicians not persuaded by scientific evidence? A grounded theory interview study, *BMC. Health Serv. Res.*, **6**, 1-9, doi: 10.1186/1472-6963-6-92.
 188. Datiles, M. B., III, Ansari, R. R., Suh, K. I., Vitale, S., Reed, G. F., et al. (2008) Clinical detection of precatactous lens protein changes using dynamic light scattering, *Arch. Ophthalmol.*, **126**, 1687-1693, doi: 10.1001/archophthalmol.2008.507.
 189. Ansari, R. R. (2004) Ocular static and dynamic light scattering: a noninvasive diagnostic tool for eye research and clinical practice, *J. Biomed. Opt.*, **9**, 22-37, doi: 10.1117/1.1626663.
 190. Datiles, M. B., III, Ansari, R. R., and Reed, G. F. (2002) A clinical study of the human lens with a dynamic light scattering device, *Exp. Eye Res.*, **74**, 93-102, doi: 10.1006/exer.2001.1106.
 191. Ansari, R. R., Suh, K. I., Dunker, S., Kitaya, N., and Sebag, J. (2001) Quantitative molecular characterization of bovine vitreous and lens with non-invasive dynamic light scattering, *Exp. Eye Res.*, **73**, 859-866, doi: 10.1006/exer.2001.1097.
 192. Datiles, M. B., III, Ansari, R. R., Yoshida, J., Brown, H., Zambrano, A. I., et al. (2016) Longitudinal study of age-related cataract using dynamic light scattering: Loss of alpha-crystallin leads to nuclear cataract development, *Ophthalmology*, **123**, 248-254, doi: 10.1016/j.ophtha.2015.10.007.

BIOCHEMISTRY OF LENS: NORM AND CATARACTOGENESIS

Review

K. O. Muranov* and M. A. Ostrovsky

*Emanuel Institute of Biochemical Physics of the Russian Academy of Sciences,
119334 Moscow, Russia; E-mail k.muranov@sky.chph.ras.ru*

The absence of cellular organelles in fiber cells, very high protein concentration (up to 900 mg/ml) in the cytoplasm minimize light scattering in the lens and ensure its transparency. Low oxygen concentration, powerful defense systems (antioxidants, antioxidant enzymes, chaperone-like protein alpha-crystallin, etc.) maintain the lens transparency. In contrast, the ability of crystallins to accumulate post-translational modifications with age, which reduces the resistance of proteins to oxidative stress, is an important factor contributing to the cataract's formation. Authors suggest a single mechanism of cataractogenesis. The cataractogenic factors like age, radiation, ultraviolet, diabetic, etc. cause damage and death of the lens epithelium. As a result, oxygen penetrates the lens through the formed defects of the epithelial layer that causes oxidative damage to the crystallins. In consequence of the damage the proteins denature, aggregate and form the so-called multilamellar bodies, which are the main cause of lens opacity. The review discusses various approaches to inhibiting of opacity (cataracts) development, in particular the use of a combination of antioxidants and compounds that enhance the chaperone-like properties of alpha-crystallin. The paradox of anti-cataract drugs high efficiency in laboratory but useless in clinic is discussed. We think that the paradox is associated with the too late use of the drug, when the opacity has already formed. The way we can get out of this situation is to develop new diagnostic methods that would make it possible to predict the occurrence of cataracts long before the manifestation of clinical signs of the disease and stimulate early preventive treatment.

Keywords: lens, cataract, pathogenesis, crystallins, small heat shock proteins, anti-cataract drugs