

ВРЕДНОСТИ СЕРУМСКИХ ИНДИКАТОРА ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА КОД БОЛЕСНИКА СА СЕНИЛНОМ КАТАРАКТОМ

Жорић Л.¹, Мирић Д.²

¹Клиника за очне болести, Медицински факултет Приштина, Косовска Митровица

²Институт за биохемију, Медицински факултет Приштина, Косовска Митровица

VALUES OF THE SERUMS OXIDATIVE STRESS INDICATORS IN THE AGE-RELATED CATARACT PATIENTS

Жорић Л.¹, Мирић Д.²

¹Clinic for eye diseases, Medical faculty Priština, Kosovska Mitrovica

²Institute of biochemistry, Medical faculty Priština, Kosovska Mitrovica

SUMMARY

Actual hypothesis related to development of the age-related cataract focus the photo oxidative stress as a key process of cataract genesis. It considers that damages in the lens cells, caused by sunlight and oxygen within photodynamic action of the photo oxidative stress, make essence of the cataract genesis process. Although the cataractogenesis is primarily a local process that flows in a local compartment, oxidative stress is often a systemic event. It relates particularly to the older age, i.e. to the ageing process itself. Even if special regulatory mechanisms of the eye provide appropriate supply of antioxidative elements on the local level, fulfilling of the eye and its lens with antioxidative elements depends on their systemic availability and distribution. By investigation of concentrations of malondialdehyde, vitamin C, vitamin E, glutathione and albumin, and activity of catalase and peroxidase in serums of patients with age-related cataract, as well as with comparison of the same elements values in serums of the same age and sex distribution group of people without cataract, we found noticeable differences of the oxidative stress intensity in serums within those two investigated groups.

Key words: Age-related cataract, Oxidative stress, Serums antioxidants level.

САЖЕТАК

Актуелна хипотеза о настанку сенилне катаракте фокусира фотооксидациони стрес као кључни процес катарактогенезе. Сматра се да оштећења у ћелијама сочива, изазвана дејством сунчеве светлости и кисеоника у виду фотодинамског дејства фотооксидационог стреса, представљају суштину процеса катарактогенезе. Иако се процес настанка катаракте суштински одвија у оку, као локалном компартману, оксидациони стрес је често системски процес. То се односи првенствено на старије животно доба, односно сам процес старења. Према посебни регулаторни механизми у оку обезбеђују одговарајућу расположивост антиоксидационих елемената на локалном нивоу, снабдевање ока и сочива антиоксидационим елементима зависи од њихове системске расположивости и дистрибуције. Испитивањем концентрација малондиалдехида, витамина Ц, витамина Е, глутатиона и албумина и активности каталазе и пероксидазе у серуму болесника са сенилном катарактом, као и компарацијом са вредностима истих елемената у серумима људи исте полне и добне структуре без катаракте, уочавају се разлике у интензитету оксидационог стреса у серумима испитаника клиничке и контролне групе.

Кључне речи: Сенилна катаракта, Оксидациони стрес, Серумски антиоксиданси.

УВОД

Настанак и развој сенилне катаракте одавно су дефинисани су као процеси који протичу у склопу и у складу са самим процесом старења. Ипак, разлике у времену почетног испољавања и одвијања процеса катарактогенезе на индивидуалном, фамилијарном или чак ширем, популационом нивоу су знатне и не могу се увек приписати само или једино варијацијама генетских и амбијенталних фактора.

Фотооксидациони стрес већ извесно време фигурира као кључни процес у катарактогенези. Сматра се да оштећења у ћелијама сочива, изазвана дејством сунчеве светлости и кисеоника у виду фотодинамског дејства фотооксидационог стреса, представљају суштину процеса настанка и развоја сенилне катаракте.

Иако се процес настанка катаракте суштински одвија у оку, као локалном компартману, оксидациони

стрес је примарно системски процес. Оксидациони стрес је евидентиран у низу патолошких, али и физиолошких процеса у организму. То се односи и на процес старења, с обзиром да су тада евидентне промене у антиоксидационом статусу, односно интензитету оксидационог стреса.

Током еволуције, код дневних организама, којима припада и наша врста, у оку су се развили системи и механизми локалне протекције од фотооксидационог стреса (1-3). У том смислу цилијарно тело у оку има способност концентрисања витамина Ц у очној водици знатно изнад вредности серумских концентрација, парцијални притисак кисеоника у сочиву је значајно низак, а протеински и пептидни садржај протеина у сочиву је специфичан за тај део ока и организма. Функција поменутих и других механизма је очување сочивне структуре, а тиме и најважније особине сочива - његове провидности.

Ипак, расположивост и доступност антиоксидационих елемена оку и сочиву регулисана је, у својој основи, њиховим уносом и/или метаболизмом и потрошњом на системском нивоу (4).

У суштини антиоксидациони елементи припадају различитим групама органских и неорганских једињења, ензимске или неензимске структуре, ендеогеног или егзогеног порекла, а по својој функцији у примарном систему антиоксидационе заштите они припадају чистачима (scavengers) или сузбијачима (quenchers) слободних радикала.

ЦИЉ РАДА

У складу са уводним премисама, циљ рада је испитивање степена оксидационог стреса и капацитета антиоксидационе заштите у серумима људи са сенилном катарактом, као и разматрање могућег утицаја детектованих промена на процес катарактогенезе.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Анализирани су материјали узимани од болесника Клинике за очне болести КБЦ-а Приштина, хоспитализованих ради операције екстракције сенилне катаракте и пацијенти амбуланте исте Клинике који немају, односно нису оперисали катакту, а имају исте полне и добне карактеристике као испитаници клиничке групе. Крв за анализе узимана је пре првог јутарњег obroка, без додавања антикоагуланса, а након коагулације и центрифугирања, издвојени серум коришћен је за анализе. Болесницима примљеним на Клинику ради операције катаракте крв је узимана првог јутра након пријема. Аналитичке биохемијске методе рађене су на Институту за биохемију КБЦ-а у Приштини.

Код свих испитаника обављен је стандардни офталмолошки преглед, ради искључења могућег постојања других офталмолошких обољења, као и интернистички преглед, ради искључења постојања тежих интернистичких, односно малигних болести. У обе групе евидентирани су испитаници код којих постоје болести честе у сенијуму (атреосклероза, хроничне обструктивне болести плућа, дијабетес и др.).

Одређивање концентрације укупног витамина Ц у серуму (mM/L) извођено је методом са 2,4-динитрофенилхидралазином (5). Концентрација дехидроаскорбинске киселине одређивана је истом методом, уз изостављање раствора бакар-сулфата, а концентрација редуковане форме-аскорбата, као разлика претходних концентрација. Концентрација витамина Е одређивања је флуорометријском методом (6). Концентрација глутатиона одређивана је у реакцији са Елмановим реагенсом, након депротеинизације узорка (7) и изражена је у M/L. Каталитичка активност каталазе одређивана је по методи Корољука и сарадника (8), а изражавана у mK/L. Укупна пероксидазна активност у серуму одређивана је у систему 4-аминоантипирина и фенола, уз натријум азид ради блокирања пероксидазне реакције каталазе (U/L)/9/. Концентрације албумина у серуму одређиване су колориметријском методом и изражаване у g/L (6). Концентрација продукта липидне пероксидације, маландоалдехида (MDA) одређивана је у серуму ко-

лориметријском методом, односно реакцијом помоћу тиобарбитурне киселине, по методи Ledwozyw и сар. (10). Концентрација је изражавана у M/L. У истом узорку одређивани су и гвожђем индуковани MDA (iMDA), а затим је израчунат проценат индукованог MDA (%iMDA), који у физиолошком и биохемијском смислу одговара резултатима укупне антиоксидативне заштите серума.

У статистичкој анализи добијених резултата коришћени су мултиваријантне анализе-мултиваријантни t-тест и мултиваријантна анализа варијансе (MANOVA), униваријантна анализа варијансе (ANOVA), t-test за групе са неједнаким варијансама-апроксимативна метода по Cochranu и Сохи и коефицијенти корелације (11, 12).

РЕЗУЛТАТИ РАДА

Испитивање параметара оксидационог стреса и антиоксидационе заштите изведено је у серумима узетим од 162 болесника са катарактом. Испитаници клиничке групе имали су између 42 и 84 године живота, а просечна старост групе била је 65,1 година (SD=9,2 године). Мушкараца је било 107, а жена 55. У контролној групи било је 55 испитаника-32 мушкарца и 23 жене, у доби између 42 и 80 година (просечна старост у групи је 62,4 године, SD=8,7). Анализе iMDA и %iMDA изведене су код нешто мањег броја испитаника: 105 у клиничкој и 42 у контролној групи.

Упоредјујући вредности испитаних параметара антиоксидационог статуса између клиничке и контролне групе не налази се статистички значајна мултиваријантна разлика ($T^2=15,05$, $F=1,41$, $p=0,181$), као ни за параметре везане за липидну пероксидацију (MDA, iMDA) ($T^2=0,25$, $F=0,12$, $p=0,883$).

Међутим, униваријантне анализе показују другачију слику.

Серумске вредности концентрације витамина Ц кретале су се у у сличном распону у клиничкој и контролној групи. У обе испитане групе вредности концентрација дехидроаскорбинске киселине (ДА), као оксидисане форме витамина Ц, веће су у односу на концентрације редуковане форме Ц витамина-аскорбата (А), па отуд и високе вредности њиховог количника (Д/А), као показатеља потрошње витамина Ц. Упоредјувањем серумских концентрација егзогенних антиоксиданаса (витамина Ц и његових деривата и витамина Е) пронађена је статистички значајна разлика за концентрације витамина Ц ($t=2,05$, $p=0,042$) и за његову редуковану форму, аскорбинску киселину (А) ($t=2,16$, $p=0,032$) (табела 1). Бољи увид у потрошњу серумског витамина Ц у организму добија се кроз количник ДА и А и он се статистички значајно разликује код испитаних група ($t=2,25$, $p=0,026$) (табела 1).

Концентрација витамина Е у серумима испитаника клиничке групе износила је 22,21M/L, уз распон вредности од 13 до 34, док је просечна вредност концентрација истог параметра у серумима испитаника контролне групе износила 23,61 M/L, уз распон варирања између 16,1 и 39,8. Значајност разлике је на нивоу 0,1 p 0,5 (табела 1).

Табела 1. - Средње вредности и стандардне девијације серумских концентрација витамина Е, витамина Ц, његове оксидисане форме (DA), редуковане форме (A) и показатеља његове појирошње у организму (D/A) (* $p < 0,05$).

Група/X±SD	Vit. C	DA	A*	D/A*	Vit E
Клиничка	50,76±13,3	34,56±8,12	16,22±7,18	2,60±1,56	22,2±14,32
Контролна	55,22±15,9	36,40±9,70	18,75±7,18	2,22±0,87	23,6±15,57

Концентрације глутатиона и албумина, каталитичка активност ензима каталазе, као и пероксидазне активности узорка, не показују статистички значајну разлику између испитаника клиничке и контролне групе (табела 2). Запажа се нешто већа активност пероксидазе у серуму болесника клиничке групе, као и нешто већа активност каталазе у серумима контролне групе.

Табела 2. - Средње вредности концентрација глутатиона и албумина и активности каталазе и пероксидазе у серумима клиничке и контролне групе.

Група/X±SD	Глутатион	Албумин	Пероксидаза	Каталаза
Клиничка	14,28±5,79	38,64±3,62	62,63±31,61	23,49±15,50
Контролна	14,98±5,99	39,00±3,91	57,67±29,51	25,97±15,34

Сви до сада наведени параметри показују вредности које су различите у односу на оне код добровољних даваоца крви, што се може тумачити разликама у добним карактеристикама у односу на испитанике наших група.

Један од крајњих, релативно стабилних продуката пероксидације незасићених масних киселина, малондиалдехид (MDA), по својим серумским вредностима не разликује се значајно између две испитане групе. Исто је и са индукованим MDA (iMDA) и %iMDA. Ипак, запажа се нешто виши ниво MDA, као показатеља оксидационог стреса, али и нижи ниво iMDA, као показатеља антиоксидационе заштите код испитаника са катарактом у односу на оне који немају катаракт (табела 3). У обе испитане групе запажају се високе вредности крајњих продуката липидне пероксидације.

Табела 3. - Средње вредности продуката липидне пероксидације (MDA и iMDA) и укупне антиоксидационе заштите (%iMDA) у серумима болесника са сенилном катарактом и испитаника без катаракта.

Група/X±SD	MDA	iMDA	%iMDA
Клиничка	3,95±2,46	6,76±2,81	47,77±20,51
Контролна	3,90±2,70	6,95±2,58	53,68±20,71

Анализирајући утицај година испитаника са катарактом на испитиване параметре оксидационог стреса у серуму само у оквиру групе болесника са катарактом, добија се слаба, негативна, статистички значајна корелација за концентрације албумина ($r = -0,31$, $p = 0,007$), витамин Ц ($r = -0,18$, $p = 0,033$) и аскорбинску киселину ($r = -0,17$, $p = 0,031$) (табела 4).

Табела 4. - Корелација старости и испитаних параметара оксидационог стреса у серумима испитаника клиничке групе (* $p < 0,05$).

Параметар	r	p
- Витамин Ц	-0,18	0,023*
- DA	-0,15	0,065
- A	-0,17	0,031*
- D/A	0,12	0,125
- Витамин Е	-0,05	0,533
- Албумин	-0,31	0,007*
- Пероксидаза	-0,05	0,510
- Глутатион	-0,13	0,089
- Каталаза	-0,11	0,167
- MDA	0,07	0,396
- iMDA	0,00	0,989
- %iMDA	-0,17	0,092

ДИСКУСИЈА

Иако су разлике између испитаних група статистички значајне само за поједине испитане параметре, разлике у апсолутним износима средњих вредности постоје код готово свих испитаних параметара. Оне говоре у прилог интензивнијег оксидационог стреса у организму испитаника са катарактом.

Те разлике се, свакако, не могу приписати једино процесу катарактогенезе који се одвија код болесника са катарактом. У обзир се морају узети и друге карактеристике испитаних група које нису изложене у овом раду (нпр. болести честе у старијем животном добу, животне навике, навике у исхрани, пушење, ниво образовања и др.), а које могу утицати на испољени ниво оксидационог стреса, али и на процес катарактогенезе (13).

С обзиром да испитаници обе групе у раду припадају генерално старијим добним групама, ниво оксидационог стреса код њих је, као што је назначено у резултатима, генерално виши него код што се налази код млађих добних група. Такође, с обзиром да се овде ради о трансверзалној студији, која даје пресек статуса у одређеном тренутку животног доба испитаника, могућност закључивања о значају добијених резултата показује извесна ограничења.

Регистрована концентрација витамина Ц у организму човека одражава, првенствено, спољашњи унос. На основу регистрованих концентрација овог витамина у овом раду, а по критеријумима појединих истраживача (14,15), односно њихових студија, испитаници обе групе из ове студије могу се сврстати у групу која има повећан ризик за развој катаракте. Могуће објашњење изразито ниских концентрација витамина Ц у обе групе може се објаснити и термином када је крв узимана за анализе. Наиме, након ноћног поста, концентрација витамина Ц може опати. Поједини аутори налазе концентрације које су и ниже од ових.

Осим тога, поново се указује значај старосне структуре испитаника обе групе. Са старењем, вероватно, опада унос, али и активности механизма апсорпције и метаболизма витамина Ц. Концентрација витамина Ц у серуму код заморчића опада са старењем, независно од уноса (16). Могуће је да такви процеси у старењу имају

протективну улогу, с обзиром на прооксидационо дејство витамина Ц у неким патолошким стањима, али и у неким компартманима организма током процеса старења (17,22). Болесници који, осим катаракте, имају и атеросклеротичну миокардиопатију и хроничне обструктивне болести плућа, имају статистички значајно ниже серумске концентрације витамина Ц (10,18).

Концентрације витамина Е не показују значајна варирања ни у клиничкој, ни у контролној групи. Концентрације витамина Е у појединим ткивима не зависе од уноса у истој мери као код витамина Ц. Осим тога, витамин Ц реституише оксидисану форму витамина Е и на тај начин вишеструко повећава његово дејство.

Активним транспортним механизмима против градијента концентрације витамин Ц доспева у очну водичу и сочиву и у њима достиже високе концентрације.

Закључак низа студија био је да појачани унос антиоксидационих витамина смањује ризик настанка катаракте (19,20,21). Најсложнији закључци односили су се управо на витамин Ц, у мањој мери на витамине Е и А. Употреба високо концентрованих витаминских додатака у дужем периоду ипак захтева опрез и валидну евалуацију (21,22). Последњи резултати велике проспективне шестогодишње мултицентричне северноамеричке студије за проучавање очних болести у сенијуму (Age-Related Eye Disease Study Group-AREDS) негирају корист уноса мега доза мултивитаминских препарата код добро ухрањених старијих испитаника, али и евентуалну штету од њих (23). Аутори друге велике слично дизајниране Roche European American Cataract Trial-REACT студије, актуелно извођене у приближно истом календарском периоду (24), с обзиром да ипак налазе малу, али статистички значајну ретардацију катарактогенезе код својих испитаника са вишегодишњом суплементацијом витаминима Ц и Е и различитим каротеноидима, наводе већу сензитивност и дужи период праћења у корист својих резултата. Осим тога, у истом смислу, нутрициона етиологија катарактогенезе може имати различит значај у различитим социо-економским групама, тако да универзалне препоруке још увек не могу бити дате (25,26). Најнижи ниво серумског витамина Ц уочен је у групама са најнижим економским статусом.

Ипак, значајно је да у експерименту на Емору мишевима, који развијају катаракту као доминантним наслеђем детерминисану особину, рестрикција уноса витамина Ц, уколико је праћена и калоријском рестрикцијом, не доводи до брже прогресије катаракте (27).

Осим витамина, и микроелементи чија концентрација зависи, такође, од спољашњег уноса (селен, бакар, манган и гвожђе), такође су неопходни за функционисање антиоксидационих ензима (23-27).

Концентрације глутатиона, иако нешто ниже код болесника са катарактом, не разликују се значајно између контролне и клиничке групе. Концентрација глутатиона у организму, с обзиром на његов аминокиселински састав, такође донекле зависи од спољашњег уноса, али и од функција јетре и његове потрошње, а с обзиром на бројне функције које овај пептид има у организму, читав низ ензима учествује у метаболизму глутатиона, па интерпретација резултата само на основу

његове серумске концентрације и процена њеног значаја за катарактогенезу имају знатно сложеније захтеве. У сочиву се он у високим концентрацијама синтетише у епителу и кортексу и где одржава аскорбат и сулфхидрилне групе сочивних кристалина у редукованом стању. Концентрација глутатиона у серуму опада са година живота, али и у сочиву, и то како током сенесценције, тако и током катарактогенезе.

Активности пероксидазе и каталазе непосредно зависе од концентрација глутатиона. Активности каталазе и пероксидазе нешто су више у обе испитане групе, при чему је активност пероксидазе нешто виша у клиничкој, а каталазе у контролној групи. Њихове активности нису високе као код болесника са акутним инфламаторним болестима, али ипак показују појачану активност. Узрок је, вероватно, активација у одговору на појачани оксидациони стрес везан за процесе старења.

Каталаза је, иначе, детектована у сочиву, али и други антиоксиданси, попут супероксид-дизмутазе, тиоредуксина Т, холин, таурин и др. Неки подаци указују да пад активности појединих ензима за чак 95% не значи обавезно и одсуство њихове функције, али под повољнијим условима (28).

Албумини чине потентну групу антиоксиданата, али спадају у антиоксидационе елементе другог реда значајности. Подаци о испитивању концентрације албумина у серуму болесника са катарактом налазе се једино у индијско-америчкој студији (29), при чему нема статистички значајне разлике између испитаника са катарактом и оних без катаракте. Концентрација албумина у серуму, с обзиром на његов метаболизам и улоге, показатељ је низа патолошких стања. Интересантан је налаз значајног опадања концентрације албумина у серуму са годинама старости (табела 4), иако се резултати налазе у оквиру референтних граница за групу. Могуће је да значај албумина као фактора антиоксидационе заштите расте у позним годинама. Ниже концентрације албумина детектоване су и у серумима болесника са мешовитим типом катаракте у оквиру исте студије. Уз то, у серуму и очној водици пацијената са катарактом и дијабетичном регинопатијом запажен је пораст редуковане форме албумина-меркаптоалбумина (30).

Испитаници обе групе имају високе концентрације малондиалдехида у серуму. Липидни пероксиди настају у циркулацији оксидацијом вишеструко незасићених масних киселина и њихових естера. Високе концентрације липидних пероксида у крви могу бити добар показатељ атеросклерозе (18), али су карактеристика и дијабетичара, хипертоничара и др. болесника, што потврђују и сопствени резултати.

Процес пероксидације липида одиграва се у сочиву које стари, као и током катарактогенезе неких форми катаракте. Повећање концентрације липидних пероксида детектовано је посебно у нуклеусу сочива, али и у очној водици, стакластом телу и крви болесника са катарактом (31).

Узимајући у обзир наводе који говоре о значајној, практично примарној улози витамина Ц у заштити серумских липида од пероксидације (32), могуће је да

ниске концентрације витамина Ц могу да послуже у објашњењу високих концентрација малондиалдехида у обе испитане групе, али и обратно.

ЗАКЉУЦИ

Испитаници обе групе показују снижен ниво антиоксидационе заштите и појачан ниво оксидационог стреса. С обзиром на животну доб испитаника, такав налаз је у извесној мери очекиван и делом се може приписати процесу старења на нивоу читавог организма.

Међутим, резултати испитивања ипак указују на инсуфицијентну антиоксидациону заштиту и појачан оксидациони стрес код болесника са сенилном катарактом. На основу резултата није могуће проценити да ли и у којој мери то може бити одраз локалних промена у оку, или резултати одражавају друге, овде неевидентне промене у организму, које додатно утичу на оксидациони стрес, па тиме и на катарактогенезу.

Промене на системском нивоу се, несумњиво, одражавају и на локалном компартману, као што је око. Специфични антиоксидациони регулаторни механизми у оку имају свој капацитет у оквиру кога постижу регулацију интензитета оксидационог стреса у различитим условима. Међутим, они постају инсуфицијентни у одређеном тренутку, када кумулирани оксидациони стрес надвлада њихове капацитете. Процена критичног нивоа оксидационог стреса за катарактогенезу није остварена на основу резултата рада, али ни у другим студијама сличног дизајна.

Резултати добијени испитивањем концентрација витамина Ц подржавају препоруке за његов контролисани додатни унос у циљу превенције катарктогенезе.

ЛИТЕРАТУРА

- Reiss GR, Werness RP, Zollman PE, Brubaker RF. Ascorbic acid levels in the aqueous humour of nocturnal and diurnal mammals. *Arch Ophthalmol*. 1986; 104:753-5.
- Kwan M, Nikikoski J, Hunt TK. In vivo measurement of oxygen tension in the cornea, aqueous humour and anterior lens of the open eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1972; 11:108-11.
- Fecondo JV, Augusteyn RC. Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in the human cataractous lens. *Exp Eye Res*. 1983;36:15-8.
- Christen Wg, Glynn Rj, Hennekens CH. Antioxidants and age-related eye diseases. Current and future perspectives. *Ann Epidemiol*. 1996;6(1):60-6.
- Mc Corwick DB. Vitamins. In: Tetz NW. *Textbook of clinical chemistry*. WB Saunders Company, Philadelphia. 1986:927.
- Štraus B. *Medicinska biokemija*. JUMENA. Zagreb, 1988.
- Dacie JV, Lewis SM. Estimation of reduced glutathione (GS H). *Practical haemathology*. Churchill Livingstone, Edinburgh. 1985:168-70.
- Koroljuk MA, Ivanova LI, Maiorova JG, Tokarev VE. Metod opredelenia aktivnosti katalazi. *Lab Delo*. 1988;1:16-9.
- Majkić Singh N. *Klinička enzimizologija*. AID Praktikum. Beograd, 1993.
- Ledwozyw A, Michalak B, Stepien A, Kadziolka A. The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis. *Clin Chim Acta* 1986. 155:275-84.
- Petz B. *Osnovne statističke metode za nematematičare*. SNL, Zagreb, 1985, 11.
- Pavlović D, Trajković G, Kovačević J. *Statistika za medicinare*. Pergament. Priština, 1995.
- Metelitsyna IP. Metabolic disturbances in blood from patients with senile cataracts accompanied by somatic diseases. *Ukr. Biokhim Zh* 1998; 70(2):110-5.
- Jackues PF, Chylack LT Jr, Mc Gandy RB, Hartz SC. Antioxidant status in persons with and without senile cataract. *Arch Ophthalmol*. 1988;106:337-40.
- Leske MC, Chylack LT Jr, Wu SJ. The lens opacities case-control study. Risk factors for cataract. *Arch Ophthalmol*. 1991; 109:244-51.
- Malik A, Kojima M, Sasaki K. Morphological and biochemical changes in lens of guinea pigs after vitamin C deficient diet and UV-B radiation. *Ophthalmic Res*. 1995. 27(4):189-96.
- Repka T, Hebbel RP. Hydroxyl radical formation by sickle erythrocyte membranes: role of pathologic iron deposits and cytoplasmic reducing agents. *Blood*, 1991. 78(10):2753-8.
- Stringer MD, Gorog PG, Freeman A, Kakkar VV. Lipid peroxides and atherosclerosis. *BMJ* 1989;289:281-4.
- Varma SD, Devamenoharan PS, Morris SM. Prevention of cataract by nutritional and metabolic antioxidants. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1995;35(1-2):111-29.
- Italian-American cataract study group. Risk factors for age-related cortical, nuclear and posterior subcapsular cataracts. *Am J Epidemiol*. 1991;133(6):541-2.
- van der Pols JC. A possible role of vitamin C in age-related cataract. *Proc Nutr Soc*, 1999;58(2):295-301.
- Kottler UB, Dick HB, Augustin AJ. Is a cataract avoidable? Current status with special emphasis on the pathophysiology of oxidative lens damage, nutritional factors, and the ARED study. *Ophthalmol* 2003. 100(3):190-6.
- Age-Related Eye Disease Study Group. 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* 2001; 119(10):1439-52.
- Schalch W, Chylack LT. Antioxidant micronutrients and cataract. Review and comparison of the AREDs and REACT cataract studies. *Ophthalmology* 2003; 100(3):181-9.
- Tarwadi K, Agte V. Linkages of antioxidant, micronutrient, and socioeconomic status with the degree of oxidative stress and lens opacity in indian cataract patients. *Nutrition* 2004; 20(3):261-7.
- Taylor A, Hobbs M. 2001 assessment of nutritional influences on risk for cataract. *Nutrition* 2001; 17(10):845-57.
- Taylor A, Jahngen Hodge J, Smith DE et al. Dietary restriction delays cataract and reduces ascorbate levels in Emory mice. *Exp Eye Res* 1995; 61(1):55-62.
- Chylack LT Jr. Ageing changes in crystalline lens and zonules. In: Albert/Jakobiec. *Basic Sciences. Principles and practice of ophthalmology*. WB Saunders Co. 1994:1107-12.
- Mohan M, Sperduto RD, Angra SK et al. India-US case-control study of age-related cataract. *Arch Ophthalmol*. 1989; 107: 670-6.
- Kawai K, Yoh M, Hayashi T, Imai H et al. Effect of diabetic retinopathy on redox state of aqueous humour and serum albumin in patients with senile cataract. *Tokai J Exp Clin Med* 2001 :26(3):93-9.
- Obara Y. The oxidative stress in the cataract formation. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 1995;99(12):1303-41.
- Frei B, Stocker R, Ames BN. Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988. 85:9748-52.