DOI 10.31718/2077-1096.20.4.95

УДК 616-06:616-092.9

Сірман Я.В., Савицький І.В., Прейс Н.І.

ДИНАМІКА РІВНЮ МАЛОНОВОГО ДІАЛЬДЕГІДУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ДІАБЕТИЧНІЙ РЕТИНОПАТІЇ ТА СПОСОБАХ ЇЇ КОРЕКЦІЇ

ДП «Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України», м. Одеса

Цукровий діабет на сьогоднішній день вважається неінфекційною епідемією. При цьому основною причиною розвитку сліпоти у розвинених країнах вважаються патологічні зміни у судинах при захворюванні очей, у першу чергу це спостерігається при діабетичних ретинопатіях. Мета дослідження: аналіз змін вторинних продуктів перекисного окислення ліпідів при експериментальній діабетичній ретинопатії та при різних способах її корекції. Дослідження проводилося на білих щурах лінії Вістар масою 180-200 г. Відповідно до задач тварини були розподілені на 7 груп. Цукровий діабет 2-го типу та діабетичну ретинопатію моделювали за допомогою інтраперитонеального введення стрептозотоцину (Sigma, США) розчиненому в 0.1 М цитратному буфері з рН 4,5. Дозу стрептозотоцину 55 мг/кг маси тварини розділили на два введення. Введенню стрептозотоцину передувала високожирова дієта протягом 28-и діб. Коригуючі засоби, використані у дослідженні: метформін, афліберцепт, L-карнітін, бромфенак, L-аргінін та цитиколін. Одержані результати свідчать про підвищення вмісту перекисного окислення ліпідів, починаючи із 30-ї та з подальшим прогресуванням на 60-у та 180-у доби експериментальної діабетичної ретинопатії, підтвердженням якого є збільшення рівня малонового діальдегіду у 2-ї групі, максимум якого спостерігається на 3-му етапі. Корекція гіпоглікемічними засобами у 3-й групі мала позитивний ефект, але не була спроможна знизити рівень вторинних продуктів перекисного окислення ліпідів, тому виникла необхідність у застосуванні додаткових засобів. Застосування афліберцепту та донатора оксиду азоту у 4-й групі для корекції розвитку діабетичної ретинопатії суттєво пригнічувало окислювальний стрес, максимум якого припадав на 180-у добу експерименту, проте не досягав контрольних показників. Доведено, що поєднане введення бромфенаку та афліберцепту у 5-й групі значно знижувало кількість вторинних продуктів перекисного окислення ліпідів, але не так суттєво, як у 4-й групі. Доведено, що введення афліберцепту, L-карнітину та бромфенаку тваринам 6-ї групи знижувало вміст вторинних продуктів ПОЛ вже на 30-у і було продовжено на 60-у а 180-у добу дослідження, проте теж не досягало контрольних показників. Максимально ефективною корекцією виявилось поєднання метформіну, афліберцепту, L-аргініну та цитиколіну щурам 7-ї групи, про що свідчить нормалізація рівню малонового діальдегіду на 30-у та 60-у добу експерименту, а на 180-у було зафіксовано зниження вмісту маркера до контрольних показників.

Ключові слова: цукровий діабет, експериментальна діабетична ретинопатія, дисфункція ендотелію, окислювальний стрес, малоновий діальдегід.

Представлена робота є фрагментом комплексних клініко-лабораторних досліджень, здійснених ДП «Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України» в межах виконання НДР «Удосконалення профілактики та лікування основних екозалежних та професійно обумовлених захворювань на основі вивчення особливостей їх етіології та патогенезу», № державної реєстрації 0116U008822. Фрагменти цієї роботи, присвячені визначенню патофізіологічних механізмів розвитку непроліферативної діабетичної ретинопатії та розробці патогенетично обґрунтованих методів її корекції.

Вступ

Цукровий діабет на сьогоднішній день вважається неінфекційною епідемією [1]. При цьому основною причиною розвитку сліпоти у розвинених країнах вважаються патологічні зміни у судинах при захворюванні очей, у першу чергу це спостерігається при діабетичних ретинопатіях [2]. Вважаючи на складність та поліфакторність патогенезу цукрового діабету та метаболічні дисфункції і суттєві структурні зміни у сітківці, важко віднайти ефективні методи профілактики та лікування діабетичної ретинопатії [3].

Багаточисельними дослідженнями було створено патогенетичне підґрунтя для подальшого дослідження методів профілактики та лікування цього захворювання, але, на жаль, на сьогоднішній день абсолютно ефективних методів не існує [4, 5]. В останні роки з'явилися беззаперечні докази значної ролі перекисного окислення ліпідів під час діабетичного ураження судин багатьох органів та сітківки ока [6].

Також незаперечним фактом є зв'язок між ускладненнями та гіперглікемією, яка запускає розвиток інсулінорезистентності та пригнічує секрецію інсуліну, особливо це стосується першої стадії його глюкозоіндукованої продукції [7]. Також сприяє утворенню вільних радикалів надлишок жирних кислот, що посилюють негативні ефекти гіперглікемії. До посилення деструкції мітохондріального білка фратоксину у β -клітинах підшлункової залози призводить утворення активних форм кисню, що в свою чергу посилює прогресування цукрового діабету. Під впливом вільних радикалів посилюються мутації у мітохондріальних ДНК тим самим різко обмежуючи їх можливість до репарації. У свою чергу вільні радикали індукують розвиток гіперглікемії за рахунок дисфункції мітохондрій [7].

Неферментативне глікозилювання, яке активується при гіперглікемії із розвитком окислювального стресу, посилює перекисне окислення ліпідів, тому що гліколізовані білки є джерелом вільних радикалів. В свою чергу окислювальний

стрес призводить до ендотеліальної дисфункції – ключової ланки у патогенезі мікро- та макроангіопатій [7].

Збільшення кількості вільних радикалів, яке супроводжується окислювальним стресом, блокує синтез нуклеїнових кислот та білка [2], призводить до посилення перекисного окиснення ліпідів, сприяє роз'єднанню процесів окислювального фосфорилування, пригнічує гліколіз та активність аденілатциклази та глюкозо-6-фосфатази. Все це у сукупності призводить до порушень метаболізму [2]. Також слід зазначити, що супероксидні радикали посилюють перекисне окиснення ліпідів [6, 8]. Рядом авторів було доведено значне підвищення продуктів ПОЛ у сітківці та крові при моделюванні цукрового діабету на 28-у добу експерименту [9].

Мета дослідження

Аналіз змін вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів при експериментальній діабетичній ретинопатії та при різних способах її корекції.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проводилося на білих щурах лінії Вістар масою 180-200 г. Відповідно до задач, тварини були розподілені на 7 груп:

1-а група – 60 інтактних тварин;

2-а група – 60 тварин, у яких моделювали діабетичну ретинопатію без подальшої корекції.

3 група – 60 тварин, у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії.

4 група – 60 тварин, у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта та розчину L-аргініну.

5 група – 60 тварин, у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта та бромфенаку.

6 група – 60 тварин, у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта, L-карнітину та бромфенаку.

7 група – 60 тварин, у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта, розчину L-аргініну та цитиколіну.

Цукровий діабет 2-го типу та діабетичну ретинопатію моделювали за допомогою інтраперитонеального введення стрептозотоцину (Sigma, США) розчиненому в 0.1 М цитратному буфері з рН 4,5 [10]. Дозу стрептозотоцину 55 мг/кг маси тварини розділили на два введення. Введенню стрептозотоцину передувала високожирова дієта протягом 28-и діб [11].

Дози препаратів:

Гіпоглікемічний препарат - метформін (Merck Sante, виробництво Франція) - у дозі 300 мг/кг маси у питній формі [12] на 0,9% розчині натрія

хлориду через шприц з внутрішньошлунковим зондом щоденно.

Введення розчину L-аргініну, який є донатором NO, (CIMECTA, виробництво Китай, стандарт якості USP32) здійснювалось шляхом внутрішньо шлункового введення розчину L-аргініну на 0,9% розчині натрія хлориду в дозі 500 мг/кг [13] через шприц з внутрішньошлунковим зондом. Об'єм розчину залежав від маси тварини і не перевищував 1 мл. Препарат вводили 1 раз на добу до вранішнього годування, щоденно протягом 10 днів [13].

Афліберцепт (anti-VEGF терапію) вводили у формі субкон'юнктивальних ін'єкцій у дозі 0,08 мл (25 мг/мл) [14].

Бромфенак – інстиляції 0,09% розчину очних крапель 1 раз на добу [15].

L-карнітин ("Sigma", США) вводили у формі водного розчину через шприц з внутрішньошлунковим зондом у дозі 25 мг/100 г маси тварини [16, 17].

Цитиколін - 81,8 мг/кг (0,33 мл/кг) вводили внутрішньом'язово 1 раз на добу.

Виведення тварин із експерименту проводилося у три етапи:

– 1-й етап дослідження – 30-а доба після початку моделювання цукрового діабету;

– 2-й етап дослідження – 60-а доба після початку моделювання цукрового діабету;

– 3-й етап дослідження – 180-а доба після початку моделювання цукрового діабету.

Тварин виводили з досліду шляхом декапітації під легким ефірним наркозом згідно з «Правилами виконання робіт з використанням експериментальних тварин», затверджених Наказом МОЗ України № 249 від 01.03.2012 та Законом України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (зі змінами від 15.12.2009р та від 16.10.2012р).

Здійснювали забір крові з ретроорбітального венозного сплетіння, яке лежить в орбіті позаду очного яблука. Прокол здійснювали круговими рухами скляною піпеткою з відтягнутим капіляром, вістря якого сточене під кутом 45°. Проколювали кон'юнктивальний мішок у медіальному куті ока між очним яблуком та орбітою. Після проколу піпетку вводили на глибину до 2-4 мм за очне яблуко. Контроль потрапляння у венозне сплетіння – наповнення капіляра піпетки кров'ю (Дьяконов А.В., Хрикіна І.С., Хегай А.А. та ін., 2013).

Дослідження вмісту малонового діальдегіду проводили спектрофотометричним методом.

Статистична обробка отриманих результатів

Для виявлення зміни у досліджуваних показниках між різними групами та на різних етапах нами були використані параметричні статистичні методи, в основу яких покладено оперування з параметрами статистичного розподілу (середнім та дисперсією). Використані методи розраховані на нормально розподілені дані, тому ми викона-

ли перевірку всіх даних на нормальність за допомогою критерію асиметрії та ексцесу Є.І. Пустильника.

Всі дані, які розглядаються, виявилися нормально розподіленими, тому можна попарно порівнювати середні значення вибірок. Зауважимо, що в подальших порівняннях ми виконуємо порівняння у незалежних вибірках. Це будуть порівняння між різними групами тварин або порівняння між тєю ж групою тварин (але так як у вибірках немає відповідності між тваринами, то вони теж будуть незалежними). Значення $p < 0.05$ було обране у якості критерію достовірності. Був проведений аналіз, чи відрізняються середні значення. Результати визначення t -

критерію дають відповідь про рівність або відмінність середніх значень, але вони не дають можливості точно вимірювати різницю між середніми значеннями. Зауважимо, що ця різниця є досить умовною. Ця різниця була розрахована у відсотках. Таким чином, ми продемонстрували порівняння середніх значень між різними групами тварин.

Результати дослідження та їх обговорення

Результати дослідження динаміки рівню малонового діальдегіду у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції представлені у таблиці 1.

Таблиця 1
Рівень малонового діальдегіду у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу ($M \pm m$), (мкмоль/л)

Етапи Групи	I етап	II етап	III етап
1 група	5,06±0,39	5,05±0,27	5,06±0,37
2 група	15,11±0,45	16,86±0,33	19,24±0,42
3 група	12,02±0,29	11,81±0,29	10,05±0,36
4 група	8,74±0,32	8,04±0,38	7,53±0,34
5 група	7,65±0,32	8,00±0,41	8,16±0,31
6 група	6,72±0,32	6,51±0,4	6,14±0,39
7 група	6,83±0,31	6,25±0,38	5,21±0,35

У групі №2, в якій моделювали діабетичну ретинопатію без подальшої корекції на першому етапі встановлене підвищення рівню малонового діальдегіду на 66,53% ($p < 0,001$) порівняно з інтактною групою. На другому етапі виявлене підвищення на 10,35% ($p < 0,01$) у порівнянні з попереднім етапом і на 70,03% ($p < 0,001$) порівняно з групою №1. На третьому етапі рівень вторинних продуктів ПОЛ підвищився на 21,44% ($p < 0,001$) порівняно з першим етапом, на 12,37% ($p < 0,001$) порівняно з другим і на 73,72% ($p < 0,001$) порівняно з даними інтактних тварин.

У групі №3 на першому етапі рівень показника підвищений на 57,91% ($p < 0,001$) порівняно з інтактною групою. Відносно групи №2 він нижчий на 25,78% ($p < 0,001$). На другому етапі вміст малонового діальдегіду (МДА) вищий на 57,21% ($p < 0,001$) відносно групи №1 і нижчий на 42,77% ($p < 0,001$) порівняно з даними групи №2. На третьому етапі рівень малонового діальдегіду на 19,63% ($p < 0,001$) нижчий порівняно з 1-м етапом і на 17,56% ($p < 0,001$) у порівнянні з другим. Відносно інтактної групи він підвищений на 49,66% ($p < 0,001$), а порівняно з групою без корекції нижчий на 91,52% ($p < 0,001$).

У групі №4 на першому етапі рівень маркера вищий на 42,08% ($p < 0,001$). Відносно 2-ї групи значення показника менш виражене на 73,07% ($p < 0,001$), а відносно 3-ї – на 37,6% ($p < 0,001$). На другому етапі вміст вторинних продуктів ПОЛ є більшим на 37,19% ($p < 0,001$) порівняно з інтактними тваринами, відносно 2-ї групи рівень нижчий на 109,58% ($p < 0,001$), і відносно 3-ї – на 46,79% ($p < 0,001$). На третьому етапі результат є

на 15,96% ($p < 0,01$) кращим у порівнянні з 1-м етапом. Відносно 1-ї групи рівень показника більший на 32,86% ($p < 0,001$), а порівняно з групою №2 він менш виражений на 155,46% ($p < 0,001$). Відносно групи №3 вміст МДА менший на 33,38% ($p < 0,001$).

У п'ятій групі рівень МДА на 30-у добу вищий на 33,87% ($p < 0,001$) у порівнянні з даними інтактних тварин. Відносно групи без корекції рівень нижчий на 97,62% ($p < 0,001$), відносно 3-ї – на 57,12% ($p < 0,001$), а відносно 4-ї групи – менший на 14,19% ($p < 0,05$). На другому етапі вміст маркера підвищений на 36,85% ($p < 0,001$) відносно інтактної групи. Порівняно з групою №2 рівень нижчий на 110,69% ($p < 0,001$), а порівняно з 3-ю – на 47,57% ($p < 0,001$). У порівнянні з групою №4 статистично значущих відмінностей не виявлено. На третьому етапі вміст вторинних продуктів ПОЛ на 38% ($p < 0,001$) підвищений у порівнянні з інтактною групою. Порівняно з групою без корекції його рівень є меншим на 135,91% ($p < 0,001$), а порівняно з 3-ю групою – нижчий на 23,18% ($p < 0,001$). Відмінностей порівняно з 4-ю групою не виявлено.

У шостій групі на першому етапі рівень маркера вищий на 24,68% ($p < 0,01$) порівняно з інтактною групою. Відносно групи №2 він нижчий на 125,08% ($p < 0,001$). Також виявлене зниження значень МДА порівняно з усіма попередніми групами з корекцією: на 78,95% ($p < 0,001$) відносно 3-ї групи, на 30,05% ($p < 0,001$) відносно 4-ї і на 13,89% ($p < 0,05$) порівняно з 5-ю. На другому етапі рівень маркера підвищений на 22,37% ($p < 0,001$). У порівнянні з групою №2 він нижчий

на 159% ($p < 0,001$), у порівнянні з 3-ю – на 81,4% ($p < 0,001$), відносно 4-ї групи менший на 23,58% ($p < 0,01$), і відносно 5-ї – на 22,93% ($p < 0,01$). На третьому етапі рівень маркера вищий на 17,61% ($p < 0,05$) порівняно з інтактною групою. Відносно групи зі змодельованою ДР без корекції рівень маркера нижчий на 213,48% ($p < 0,001$). Порівняно з групою №3 він менший на 63,68% ($p < 0,001$), порівняно з 4-ю – на 22,71% ($p < 0,05$), а відносно групи №5 нижчий на 32,88% ($p < 0,001$). Статистично значуща поетапна динаміка не встановлена.

У групі №7 рівень маркера на 25,98% ($p < 0,001$) вищий відносно інтактної групи. Порівняно з 2-ю групою значення маркера менш виражено на 121,19% ($p < 0,001$). Відносно групи №3 вміст малонового діальдегіду нижчий на 75,86% ($p < 0,001$), відносно групи №4 – на 27,81% ($p < 0,001$), а порівняно з 5-ю – на 11,93% ($p < 0,05$). Порівняно з групою №6 статистично значущих відмінностей не виявлено. На другому етапі рівень маркера на 19,14% ($p < 0,05$) вищий за дані 1-ї групи. У порівнянні з групою №2 він нижчий на 169,8% ($p < 0,001$). Відносно групи №3 вміст МДА менший на 88,97% ($p < 0,001$), відносно групи №4 – на 28,73% ($p < 0,001$), і відносно 5-ї на 28,05% ($p < 0,01$). Статистично значущих відмінностей між даними групи №6 та №7 на цьому етапі також не виявлено. На третьому етапі спостерігається більш виражена позитивна динаміка – рівень вторинних продуктів ПОЛ на 31,28% ($p < 0,001$) нижчий порівняно з 1-м етапом і на 20,06% ($p < 0,05$) порівняно з етапом №2. Вважаючи на відсутність відмінностей порівняно з інтактною групою можемо стверджувати, що на третьому етапі корекція, використана у 7-й групі, нормалізує стан перекисного окиснення ліпідів. Відносно групи №2 виявлене зниження на 269,62% ($p < 0,001$), порівняно з групою №3 – на 92,99% ($p < 0,001$), порівняно з групою №4 – на 44,69% ($p < 0,001$), у порівнянні з групою №5 рівень нижчий 56,68% ($p < 0,001$), а у порівнянні з шостою – на 17,91% ($p < 0,05$).

Варто зауважити, що реакція клітини на будь-який зовнішній фактор впливу проявляється перекисним окисненням ліпідів (ПОЛ), яке може бути реалізоване шляхом утворення альдегідів, кетонів, пероксидів, похідних оксиду азоту, активованих форм кисню, сірки та ін. Ліпіди клітинної мембрани є специфічним субстратом для утворення вільних радикалів [18]. Посилення ПОЛ спричиняє дисметаболізм клітини, що призводить до збільшення проникності клітинних мембран для води, водню, натрію і в результаті цього процесу – до цитолізу [19]. Зазначений патологічний процес є ключовим у патогенезі багатьох захворювань, в тому числі і при цукровому діабеті, що проявляється у першу чергу судинними ускладненнями, зокрема діабетичними ретинопатіями. Обмінні процеси сітківки в умовах гіпоксії перебудовуються на анаеробний шлях, що призводить до накопичення вільних радика-

лів та недоокиснених продуктів. При цьому спостерігається кореляція між накопиченням гідроперексидів у плазмі крові та змінами у сітківці під час експериментального цукрового діабету [18].

Ключову роль у патогенезі ускладнень цукрового діабету відіграє хронічна гіперглікемія, вона а також суттєві коливання рівню глюкози у крові призводять до активації окислювального стресу та надлишкового глікозилювання, що й формує процес ускладнення цукрового діабету [20].

Враховуючи вищезазначене, отримані дані щодо динаміки рівню малонового діальдегіду в усіх групах експерименту є інформативними не лише для розуміння патогенезу експериментальної діабетичної ретинопатії, а і для аналізу ефективності кожного із способів корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу дослідження.

Висновки

1. Одержані результати свідчать про підвищення вмісту перекисного окиснення ліпідів, починаючи із 30-ї та з подальшим прогресуванням на 60-у та 180-у доби експериментальної діабетичної ретинопатії, підтвердженням якого є збільшення рівня малонового діальдегіду у 2-ї групі, максимум якого спостерігається на 3-му етапі.

2. Корекція гіпоглікемічними засобами у 3-й групі мала позитивний ефект, але не була спроможна знизити рівень вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів, тому виникла необхідність у застосуванні додаткових засобів.

3. Застосування афліберцепту та донатора оксиду азоту у 4-й групі для корекції розвитку діабетичної ретинопатії суттєво пригнічувала окислювальний стрес, максимум якого припадав на 180-у добу експерименту, проте не досягав контрольних показників.

4. Доведено, що поєднане введення бромфенаку та афліберцепту у 5-й групі значно знижувало кількість вторинних продуктів ПОЛ, але не так суттєво, як у 4-й групі.

5. Доведено, що введення афліберцепту, L-карнітину та бромфенаку тваринам 6-ї групи знижувало вміст вторинних продуктів ПОЛ вже на 30-у і було продовжено на 60-у а 180-у добу дослідження, проте теж не досягало контрольних показників.

6. Максимально ефективною корекцією виявилось поєднання метформіну, афліберцепту, L-аргініну та цитиколіну шурам 7-ї групи, про що свідчить нормалізація рівню малонового діальдегіду на 30-у та 60-у добу експерименту, а на 180-у було зафіксовано зниження вмісту маркера до контрольних показників.

Перспективи подальших досліджень

Одержані нами дані дозволяють розробити практичні рекомендації для застосування при непроліферативній стадії діабетичної ретинопатії. Враховуючи, що найбільш ефективним виявилось поєднання традиційної антидіабетичної терапії разом із інгібітором фактору росту судин,

мембран стабілізуючим і антиоксидантним засобом та донатором оксиду азоту, доцільним є подальше вивчення досліджуваного комплексу на більш віддалених термінах патологічного процесу. Подальші дослідження дозволять стабілізувати патологічний процес на довготривалій термін та відтермінувати оперативне втручання.

Література

1. Sorokina YuA, Lovtsova LV. Koeffitsienty oksidativnogo stressa kak sposob personifitsirovaniya farmakoterapii v debyute SD 2 tipa [Oxidative stress coefficients as a way to personalize pharmacotherapy in the onset of type 2 diabetes mellitus]. Meditsina i farmakologiya: elektron nauchn zhurn. [Internet] 2014; 1(14). Available from: <https://7universum.com/ru/med/archive/item/1868> (Russian)
2. Pasechnikova NV, Moroz OA. Issledovanie vliyaniya kvartetsetina i lipoata na protsessy perekisnogo oksileniya lipidov v setchatke pri eksperimentalnom diabete [Study of the effect of quercetin and lipoate on the processes of peroxide lipid oxidation in the retina in experimental diabetes mellitus]. Oftalmologicheskii zhurnal. 2016; 4 (470): 38-42 (Russian)
3. Pasechnikova NV, Naumenko VA, Zborovskaya AV. Sostoyanie hemoretinalnogo barera pri diabeticeskoy retinopatii po dannym fluuorometrii [Condition of the blood-retinal barrier in diabetic retinopathy according to fluorometry]. Oftalmologicheskii zhurnal. 2008; 5: 4-7 (Russian)
4. Barber AJ. A new view of diabetic retinopathy: a neurodegenerative disease of the eye. Prog. In Neuro-Psychopharm. & Biol. Psych. 2003; 27: 283-290.
5. Leus NF. Metabolicheskie mekhanizmy razvitiya i perspektivy medikamentoznogo lecheniya diabeticeskoy retinopatii [Metabolic mechanisms of development and perspectives of drug treatment of diabetic retinopathy]. Oftalmologicheskii zhurnal. 2003; 5: 75-80 (Russian)
6. Moroz OA. Membrano-protektornoe vozdeystvie kvartetsetina i lipoata na lizosomy setchatki pri streptozototsinovom diabete [Membrane-protective effect of quercetin and lipoate on retinal lysosomes in streptozotocin diabetes mellitus]. Oftalmologicheskii zhurnal. 2014; 3: 76-80 (Russian)
7. Zanozina OV, Borovkov NN, Balabolkin MI, Runov HP, Belyakov KM, Obukhova EO, et al. Primenenie antioksidantov v ratsionalnoy terapii sakharnogo diabeta tipa 2 [The use of antioxidants in the rational therapy of type 2 diabetes mellitus]. Farmateka. 2006; 11: 14 (Russian)
8. Stitt AW, Curtis TM. Advanced glycation and retinal pathology during diabetes. Pharm Rep. 2006; 57: 156-168.
9. Pavlyuchenko KP, Oleynik TV. Issledovanie produktov perekisnogo oksileniya lipidov pri razviti streptozototsinovogo diabeta [Study of lipid peroxidation products in the development of streptozotocin diabetes mellitus]. Vestnik neotlozhnoy i vosstanovitelnoy meditsiny. 2005; 3(6): 510-513. (Russian)
10. Pasechnikova NV, Moroz OA. Zashchitnoe deystvie kvartetsetina i lipoata na funktsionalnye hruppy belkov setchatki pri modelirovani

diabeta [Protective effect of quercetin and lipoate on functional groups of retinal proteins in diabetes mellitus modeling]. Oftalmologicheskii zhurnal. 2015; 3: 76-81 (Russian)

11. Kaydash OA, Ivanov VV, Venherovskiy AI, Buyko EE, Shchepetkin IA. Eksperimentalnaya model sakharnogo diabeta 2-ho tipa u kryv, vyzvannaya dietoy s vysokim soderzhaniiem zhirov i streptozototsinom v nizkoy doze [Experimental model of type 2 diabetes mellitus in rats induced by a diet high in fat and low dose streptozotocin]. Byulleten sibirskoy meditsiny. 2020; 19(2): 41-47 (Russian)
12. Bayrasheva VK, Babenko AYU, Dmitriev YuV, Bayramov AA, Chifu SH, Shatalov IS, et al. Rol metformina v profilaktike diabeticeskoy nefropatii pri eksperimentalnom sakharnom diabete 2 tipa [The role of metformin in the prevention of diabetic nephropathy in experimental type of 2 diabetes mellitus]. Reionarnoe krovoobrashchenie i mikrotsirkulyatsiya. 2016; 15(3): 70-80 (Russian)
13. Pokrovskiy MV, Pokrovskaya TH, Korzhakov VI. Endotelioprotektornye efekty L-arginina pri modelirovani defitsita okisi azota [Endothelial protective effects of L-arginine in modeling nitric oxide deficiency]. Eksperimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya. 2008; 71 (2): 29-31 (Russian)
14. Orly GO, Eitan L, Ruti S, Yael N, Dov W, Tami L, et al. Efficacy of Subconjunctival Afibercept Versus Bevacizumab for Prevention of Corneal Neovascularization in a Rat Model. Cornea. 2016; 37(7): 991-996.
15. Pavlova ON, Hulenko ON, Karimova RH. Issledovanie dinamiki aktivnosti katalazy v syvorotke krvi kryv pri mekhanicheskom vozdeystvii na hematooftalmicheskiy barier [Study of the dynamics of catalase activity in the blood serum of rats under mechanical action on the blood-ophthalmic barrier]. Mezhdunarodnyi nauchno-issledovatel'skiy zhurnal. 2020; 5 (95,1): 153-158. (Russian)
16. Bykov IL. Vliyanie L-karnitina na metabolicheskie narusheniya pri eksperimentalnoy nedostatochnosti atsil-KoA dehidrogenaz [Effect of L-carnitine on metabolic disorders in experimental deficiency of acyl-CoA dehydrogenases]. Eksperimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya. 2004; 6(67): 48-52 (Russian)
17. Dzuhkoev SH, Dzukoeva FS, Humanova NV. Metelskaya VA. Vliyanie koenzima Q 10, afobazola i L-karnitina na endotelialnuyu funktsiyu u kryv s eksperimentalnym sakharnym diabatom [Effect of coenzyme Q 10, afobazole and L-carnitine on endothelial function in rats with experimental diabetes mellitus]. Kubanskiy nauchnyi meditsinskiy vestnik. 2012; 3 (132): 48-51 (Russian)
18. Ekhardt VF, Kovalev VYu, Orlova NS. Pokazateli perekisnogo oksileniya lipidov u bolnykh s razlichnymi stadiami diabeticeskoy retinopatii [Indices of lipid peroxidation in patients with different stages of diabetic retinopathy]. Vestnik Orenburskogo gosudarstvennogo universiteta. 2004; 13: 221-222 (Russian)
19. Stokle ZhK, Myule B, Andriantsitokhaia R, Kleshchev A. Hiperproduksiya oksida azota v patofiziologii krovenosnykh sudov (obzor) [Overproduction of nitric oxide in the pathophysiology of blood vessels (review)]. Biokhimiya. 1998; 7(63): 976-983 (Russian)
20. Zanozina OV, Borovkov NN, Balabolkin MI, Runov HP, Belyakov KM, Obukhova EO, Zhirnova EV, Shcherbatyuk TH, Batyukova OH. Primenenie antioksidantov v ratsionalnoy terapii sakharnogo diabeta tipa 2 [The use of antioxidants in the rational therapy of type 2 diabetes mellitus]. Farmateka. 2006; 11: 90-94 (Russian)

Реферат

ДИНАМИКА УРОВНЯ МАЛОНОВОГО ДИАЛЬДЕГИДА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ И СПОСОБАХ ЕЕ КОРРЕКЦИИ

Сирман Я.В., Савицкий И.В., Прейс Н.И.

Ключевые слова: сахарный диабет, экспериментальная диабетическая ретинопатия, дисфункция эндотелия, окислительный стресс, малоновый диальдегид.

Сахарный диабет на сегодняшний день считается неинфекционной эпидемией. При этом основной причиной развития слепоты в развитых странах считаются патологические изменения в сосудах при заболевании глаз, в первую очередь это наблюдается при диабетической ретинопатии. Цель исследования: анализ изменений вторичных продуктов перекисного окисления липидов при экспериментальной диабетической ретинопатии и при различных способах ее коррекции. Исследование проводилось на белых крысах линии Вистар массой 180-200 г. В соответствии с задачами животные были разделены на 7 групп. Сахарный диабет 2-го типа и диабетическую ретинопатию моделировали с помощью интраперитонеального введения стрептозототина (Sigma, США) растворенного в 0.1 М цитратном буфере с pH 4.5. Дозу стрептозототина 55 мг/кг массы животного разделили на два введения. Введению стрептозототина предшествовала высокожировая диета в течение 28-и дней. Корректирующие средства, использованные в исследовании: метформин, афлиберцепт, L-карнитин, бромфенал, L-аргинин и цитиколин.

Полученные результаты свидетельствуют о повышении перекисного окисления липидов, начиная с 30-х суток, и с последующим прогрессированием на шестидесятый и сто восьмидесятый день экспериментальной диабетической ретинопатии, подтверждением которого является повышение уровня малонового диальдегида во 2-й группе, максимум которого наблюдается на 3-м этапе. Коррекция ги-

погликемическими средствами в 3-й группе имела положительный эффект, но не была способна снизить уровень вторичных продуктов перекисного окисления липидов, поэтому возникла необходимость в применении дополнительных средств. Применение афлиберцепта и донатора оксида азота в 4-й группе для коррекции развития диабетической ретинопатии существенно угнетала окислительный стресс, максимум которого приходился на сто восьмидесятые сутки эксперимента, однако не достигал контрольных показателей. Доказано, что сочетанное введение бромфенака и афлиберцепта в 5-й группе значительно снижало количество вторичных продуктов ПОЛ, но не так существенно, как в 4-й группе. Доказано, что введение афлиберцепта, L-карнитина и бромфенака животным 6-й группы снижало содержание вторичных продуктов перекисного окисления липидов уже на тридцатые, и продолжилось на шестидесятые и на сто восьмидесятые сутки исследования, однако также не достигало контрольных показателей.

Максимально эффективной коррекцией оказалось сочетание метформина, афлиберцепта, L-аргинина и цитиколина крысам 7-й группы, о чем свидетельствует нормализация уровня малонового диальдегида на тридцатые и шестидесятые сутки эксперимента, а на сто восьмидесятые было зафиксировано снижение содержания маркера к контрольным показателям.

Summary

DYNAMICS OF THE MALONDIALDEHYDE LEVELS IN EXPERIMENTAL DIABETIC RETINOPATHY AND METHODS OF ITS CORRECTION

Sirman Y.V., Savytskyi I.V., Preys N.I.

Key words: diabetes mellitus, experimental diabetic retinopathy, endothelial dysfunction, oxidative stress, malonic dialdehyde.

Diabetes is currently considered a non-infectious epidemic. At the same time the main reason for the development of blindness in developed countries are pathological changes in blood vessels in eye diseases, primarily in diabetic retinopathy. The purpose of the study: analysis of changes in secondary products of lipid peroxidation in experimental diabetic retinopathy and in different ways of its correction. The study was performed on white Wistar rats weighing 180-200 g. According to the tasks, the animals were divided into 7 groups. Type 2 diabetes mellitus and diabetic retinopathy were simulated by intraperitoneal administration of streptozotocin (Sigma, USA) dissolved in 0.1 M citrate buffer with a pH of 4.5. The dose of streptozotocin 55 mg / kg body weight was divided into two injections. The introduction of streptozotocin was preceded by a high-fat diet for 28 days. Corrective agents used in the study: metformin, aflibercept, L-carnitine, bromfenac, L-arginine and citicoline.

The results obtained indicate an increase in the activity of lipid peroxidation, starting from the 30th and with subsequent progression to the sixtieth and one hundred and eightieth days of experimental diabetic retinopathy. This is confirmed by the increase in the level of malondialdehyde in the 2nd group, the maximum of which is observed at the third stage. Correction with hypoglycemic agents in the 3rd group had a positive effect, but was not able to reduce the level of secondary products of lipid peroxidation, so it became necessary to use additional agents. The use of aflibercept and a nitric oxide donor in the 4th group to correct the development of diabetic retinopathy significantly inhibited oxidative stress, the maximum of which occurred on the one hundred and eightieth day of the experiment, but did not reach the control values. It was proved that the combined administration of bromfenac and aflibercept in the 5th group significantly reduced the amount of LPO secondary products, but not as significantly as in the 4th group. It was proved that the administration of aflibercept, L-carnitine and bromfenac to animals of the 6th group reduced the content of LPO secondary products already on the 30th day and was prolonged on the 60th and 180th days of the study, but did not reach the control values either.

The most effective correction was the combination of metformin, aflibercept, L-arginine and citicoline in rats of the 7th group, as evidenced by the normalization of the level of malondialdehyde on the thirtieth and sixtieth days of the experiment, and on the one hundred and eightieth a decrease in the content of the marker to the control values was recorded.