

DOI: 10.26693/jmbs04.02.100

УДК 617.731:616.379-008.64-092.9-07+577.11

Юрєвич В. Р.¹, Михєйцева И. Н.²

ДИКАРБОНИЛОВЫЙ СТРЕСС В ТКАНЯХ ГЛАЗ КРОЛИКОВ С ГЛАЗНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ДИАБЕТЕ

¹ Львовский национальный медицинский университет им. Данила Галицкого, Украина

² ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины», Одесса, Украина

yurevich@yahoo.com

Существенным повреждающим молекулярным механизмом, характерным для целого ряда заболеваний, связанных с возрастом, сахарным диабетом, воспалением, является дикарбониловый стресс. Анормальное накопление дикарбониловых метаболитов ведет к усиленному нарушению структуры биомолекул и вызывает различные дисфункции, в частности, при сахарном диабете. Вовлеченность этого патохимического механизма в патогенез возрастного нейродегенеративного заболевания, такого как глаукома, также представляет значительный интерес.

Цель – изучить уровень дикарбониловых метаболитов метилглиоксаля, глиоксаля и активность фермента глиоксалазы-1 (ГЛО-1) в тканях глаза (угла передней камеры, сетчатке и зрительном нерве) кроликов с моделью офтальмогипертензии и экспериментальным диабетом.

Экспериментальные исследования проводились на 33 взрослых кроликах, которым моделировали стрептозотоциновый диабет, офтальмогипертензию, и сочетано диабет и офтальмогипертензию. В тканях угла передней камеры, сетчатке и зрительном нерве определяли уровень метилглиоксаля, глиоксаля и активность ГЛО-1.

Выявлено значительное накопление в тканях переднего и заднего отдела глаза кроликов с офтальмогипертензией и диабетом метилглиоксаля, глиоксаля и снижение активности фермента ГЛО-1. Изучаемые параметры дикарбонилового стресса в тканях глаза кроликов были изменены более выражено при сочетанном моделировании офтальмогипертензии и стрептозотоцинового диабета, чем при раздельном моделировании этих заболеваний.

Дикарбониловый стресс является возможным патогенетическим механизмом патологических изменений в тканях глаз при глаукоме, которая развилась на фоне сахарного диабета. Поэтому необходима разработка направленного терапевти-

ческого воздействия на данное звено патогенеза при лечении этой сочетанной патологии.

Ключевые слова: дикарбониловый стресс, угол передней камеры, сетчатка и зрительный нерв, глазная гипертензия, сахарный диабет.

Связь работы с научными программами, планами, темами. Данное исследование является фрагментом НИР «Вивчення нових біохімічних, молекулярно-генетичних, біофізичних та клінічних механізмів захворювань ока і розробка нових методів профілактики, лікування і прогнозування очних хвороб», № гос. регистрации 0118U000103.

Введение. Существенным повреждающим молекулярным механизмом, характерным для целого ряда заболеваний, связанных с возрастом, сахарным диабетом, воспалением, является дикарбониловый стресс. Это процесс анормального накопления дикарбониловых метаболитов, который ведет к усиленному нарушению структуры биомолекул, что в свою очередь вызывает дисфункции в клетках и тканях, которые отмечаются при старении и различных заболеваниях. Одними из наиболее реактивных дикарбониловых продуктов являются метилглиоксаль и глиоксаль. Именно эти цитотоксические метаболиты образуют так называемые конечные продукты гликации Advanced glycation end products (AGEs) белков, нуклеотидов и, возможно, основных фосфолипидов, которые вовлечены в патогенез ряда дегенеративных заболеваний, возрастных изменений тканей, нейродегенераций и диабетической патологии.

Основным метаболическим путем образования дикарбонилов в организме является гликолиз. При этом детоксикация этих высокотоксичных для клеток соединений осуществляется глиоксилазной системой с образованием нетоксичного лактата. Главным компонентом метаболизирующей метилглиоксаль и глиоксаль глиоксалазной системы

является цитоплазматический фермент глиоксалаза-1. Это основной эффективный инструмент детоксикации реакционных дикарбониллов в клетке. Он играет важную роль в подавлении дикарбонильного стресса в физиологических системах, сохраняя дикарбонильные метаболиты, главным образом метилглиоксаль и глиоксаль, на низких, переносимых уровнях. Дикарбонильный стресс вызывается дисбалансом образования и метаболизма дикарбонильных метаболитов, а также усилением воздействия внешних дикарбониллов.

Дикарбонильным стрессом, сопровождающимся повышенным уровнем AGEs, можно считать такие состояния в организме как повышение уровня метилглиоксала в хрусталике человека при старении [3], повышенное содержание этого метаболита в крови и тканях больных сахарным диабетом [13], повышенное содержание метилглиоксала и глиоксала при почечной недостаточности [16]. Таким образом, дикарбонильный стресс (ДС) связан с рядом возрастных заболеваний. Среди патологий, в патогенез которых предполагается вовлеченность ДС, сосудистые осложнения сахарного диабета рассматриваются наиболее пристально.

Имеются экспериментальные и клинические работы, показывающие снижение активности глиоксалазы-1 и повышение содержания метилглиоксала в почках, сетчатке и нервах при диабетической нефропатии, ретинопатии, нейропатии [7, 4, 14, 11].

Изучается также вовлеченность этого патохимического механизма в патогенез другого возрастного нейродегенеративного заболевания, такого как глаукома. Показано, что метилглиоксаль увеличивал жесткость решетчатой пластины и перипапиллярной склеры – структур, связанных с глаукомным повреждением зрительного нерва, что вызывало изменения экстрацеллюлярного матрикса согласно реакции Майярда, которая осуществляется при старении и при высоком уровне глюкозы [18].

В сравнении с глазами здоровых людей образцы ткани угла передней камеры, взятые при трабекулэктомии у пациентов с первичной глаукомой, содержат значительно повышенную экспрессию AGEs. Авторы высказывают предположение о том, что появление этих компонентов в водянистой влаге глаукомных пациентов может быть связано со старением, и они могут менять жесткость трабекулярной сети, что в свою очередь, может дополнительно ухудшить дренаж водянистой влаги [20]. При глаукоме конечные продукты гликации выявлены также в нейрональных структурах глаза. Так в 38 донорских глазах с глаукомой отмечено накопление AGEs в ганглиозных клетках сетчатки, их

аксонах и глиии [9]. В сетчатке отмечено увеличение AGE при патологиях, связанных с возрастом и глаукомой, о чем свидетельствует основное осаждение этих соединений вокруг стенок сосудов и внутри мюллеровских клеток, предвзяя их функциональные нарушения [15].

Поскольку у больных сахарным диабетом часто развивается глаукома [1, 2, 5, 8], значительный интерес может представлять собой исследование состояния карбонильного стресса в тканях глаза при сочетанной патологии глаукомы и сахарного диабета.

Целью настоящей работы явилось изучение уровня дикарбонильных метаболитов метилглиоксала, глиоксала и активности фермента глиоксалазы-1 в тканях глаза (угла передней камеры, сетчатке и зрительном нерве) кроликов с моделью офтальмогипертензии (ОГ) и экспериментальным диабетом.

Материал и методы исследования. Экспериментальные исследования проводились на 33 кроликах породы Шиншилла (массой около 3кг). Работа с животными проводилась согласно «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей» (Страсбург, 1986), «Правилам выполнения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденных приказом МЗ Украины, и законом Украины «О защите животных от жестокого обращения» (№1759-VI от 15.12.2009).

В эксперименте все животные были разделены на 4 группы: 1 группа – с моделью диабета ($n = 8$); 2 группа – с моделью офтальмогипертензии ($n = 8$); 3 – группа сочетанного моделирования диабета и офтальмогипертензии ($n = 10$); 4 – группа интактных животных служила в качестве контроля ($n = 7$). Исследования биохимических показателей проводили через 6 недель после моделирования.

Диабет вызывали путем инъекции стрептозоцина (65 мг на 1 кг веса тела, внутривенно) [15]. Офтальмогипертензию вызывали инъекцией в переднюю камеру глаз 0,25мл 2% раствора метилцеллюлозы [19]. Перед моделированием офтальмогипертензии животные подвергались общей анестезии путем введения кетамина 50 мг/кг, местно применяли глазные капли 0,5% раствор прокаина гидрохлорида. У опытных животных 3-й группы офтальмогипертензию моделировали на фоне устойчивой гипергликемии через неделю после введения стрептозоцина.

Все животные перед экспериментом и в ходе эксперимента подвергались офтальмологическому обследованию и измерению внутриглазного давления аппланационным методом.

В конце наблюдения животные выводились из эксперимента путем эвтаназии с помощью летальной дозы пентобарбитола натрия (100 мг на кг, вводимого в маргинальную ушную вену). Ткани глаза (угла передней камеры, сетчатки и зрительного нерва) забирались на холоде. В тканях глаза производили определение содержания глиоксала, метилглиоксала, а также активности фермента глиоксалазы-1.

Методика определения метилглиоксала основана на спектрофотометрическом измерении продукта реакции метилглиоксала с глутатионом – S-лактоилглутатиона, имеющего максимум поглощения при длине волны 240 нм. Коэффициент вариации метода – 5,1%. Глиоксаль определяли спектрофотометрически как производную, образованную 2,3-диаминофеназином в 4,3 N уксусной кислоте, при длине волны 600 нм. Коэффициент вариации метода 4,6%.

Активность фермента глиоксалазы-1 (GLO-1) определяли колориметрическим методом с использованием коммерческих наборов QuantiChrom™ Glyoxalase I Assay Kit (DGLO-100). Принцип метода основан на мониторинге увеличения продукта реакции GLO-1, S-lactoylglutathione, измерением изменения поглощения при длине волны 240 нм. Коэффициент вариации метода 4,5%.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета SPSS 11.0.

Результаты исследования и их обсуждение.

Изучение содержания дикарбонильных токсичных метаболитов и активности фермента их детоксикации глиоксалазы-1 были проведены в фильтрационных и нейрональных тканях глаза трех экспериментальных и контрольной групп. Полученные в эксперименте данные показали, что в тканях угла передней камеры (УПК) глаз кроликов при моделировании изучаемых патологических состояний наблюдалось накопление дикарбонильных метилглиоксала и глиоксала (рис. 1). Эти изменения мы отме-

чали во всех экспериментальных группах, но степень выраженности их была разной. При сравнительном анализе уровня изучаемых метаболитов, были получены следующие результаты. В 1 группе со стрептозотоцин-индуцированным диабетом содержание метилглиоксала в тканях УПК превышало контрольные значения здоровых кроликов на 54%, глиоксала на 80%. Во 2 группе с глазной гипертензией эти изменения были менее значительны и разница с контрольными значениями составила 23% для метилглиоксала и 33% для глиоксала. Наибольшие изменения уровня этих дикарбонильных наблюдались в 3 группе «глазной гипертензии на фоне диабета». В этом случае уровень метилглиоксала в тканях УПК увеличился на 64% в сравнении с контрольной группой, а глиоксаль – на 120%. Все изменения носили статистически значимый характер ($p < 0,01$).

Как показали наши исследования, еще в большей степени накопление цитотоксических дикарбонильных метаболитов у животных с изучаемыми патологическими состояниями происходило в нейрональных тканях глаза (сетчатке и зрительном нерве). На рисунке 2 графически представлены данные, отражающие относительное изменение содержания метилглиоксала и глиоксала в сетчатке и зрительном нерве глаз кроликов экспериментальных и контрольной групп. Как и при изучении уровня этих метаболитов в тканях дренажной зоны глаза, их усиленное накопление в нейрональных структурах глаза отмечалось во всех экспериментальных группах. В сетчатке и зрительном нерве кроликов с моделью диабета уровень метилглиоксала превысил контрольные значения на 72%, а глиоксала – на 108%. В группе с глазной гипертензией уровень метилглиоксала повысился на 32%, а глиоксала – на 42% в сравнении с контролем. Максимальным содержание этих метаболитов отмечалось в группе «глазной гипертензии на фоне диабета» – метилглиоксаль повысился на 118%, глиоксаль – на 147% в сравнении с контрольной

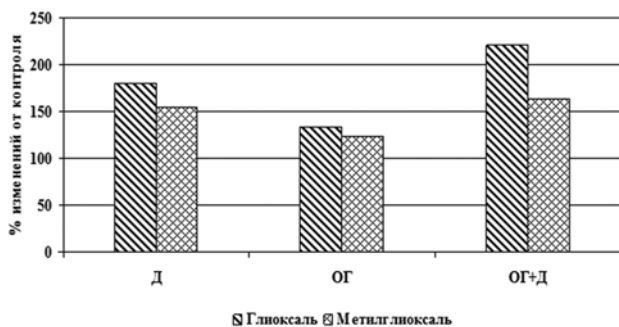


Рис. 1. Изменения уровня глиоксала и метилглиоксала в тканях угла передней камеры глаз кроликов с экспериментальным диабетом и офтальмогипертензией

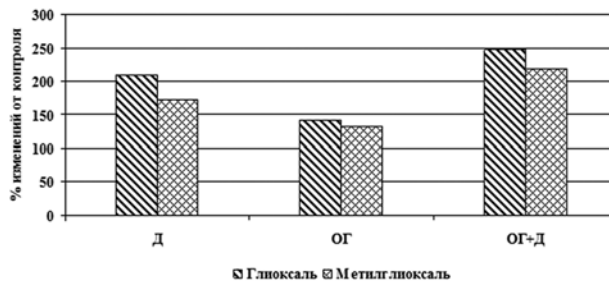


Рис. 2. Изменения уровня глиоксала и метилглиоксала в нейрональных тканях (сетчатка + зрительный нерв) глаз кроликов с экспериментальным диабетом и офтальмогипертензией

групой. Данні зміни вмісту метилглюкокси і глюксокси в цих тканих ока також були статистично значимі ($p < 0,01$).

Оскільки карбонильні сполуки метаболізуються ферментами глюксоксиазами, визначити активність цієї ензиматичної системи при вивчаємих патологіях було дуже важливо для оцінки стану дикарбонильного стресу. Було проведено вивчення активності основного детоксикаційного фермента – глюксоксиази-1. Наші дослідження виявили зміни активності цього фермента глюксоксиазної системи в вивчаємих тканих ока у кроликів з експериментальним діабетом, очною гіпертензією і поєднаною патологією. Ці данні схематично представлені на **рис. 3**. Були отримані результати, що свідчать про значительне зниження активності глюксоксиази-1 в тканих ока при моделюванні діабету у кроликів. Ще в більшій ступені активність цього фермента падала при поєднаному моделюванні очної гіпертензії і діабету.

Так активність глюксоксиази-1 в тканих передньої камери в 1 групі з діабетом через 6 тижнів після моделювання була статистично значимо знижена і становила 55% від даних в контролі. В групі з очною гіпертензією цей показник становив 79% від контролю. Мінімальна активність глюксоксиази-1 відзначена в 3 групі, при моделюванні діабету і очної гіпертензії, вона становила в ткани УПК 30% від даних контрольних тварин ($p < 0,05$). При визначенні активності цього фермента в сітчатці і зоровому нерві були виявлені подібні зміни. В 1 групі діабету активність глюксоксиази-1 в нейронних очних тканих становила 56%, в групі 2 з ОГ – 74%, в 3 групі поєднаного моделювання – 32,5% від контролю ($p < 0,05$).

Таким чином, отримані в експерименті данні свідчать про те, що при моделюванні у тварин як очної гіпертензії, так і стрептозотоцинового діабету спостерігається інтен-

сифікація накоплення дикарбонильних продуктів метаболізму глюкози. Підвищення рівня цих цитотоксичних метаболітів відзначається в тканих дренажної зони ока тварин, а також в нейронних тканих сітчатки і зорового нерва. Паралельно з накопленням в цих структурах глюксокси і метилглюксокси, відзначено зниження активності основного фермента глюксоксиазної системи, інактивуючої токсичні дикарбонильні метаболіти – глюксоксиази-1. Ці метаболічні зміни в повній мірі говорять про розвиток стану дикарбонильного стресу у експериментальних тварин з моделями діабету і очної гіпертензії. При цьому важливим моментом наших спостережень є той факт, що рівень дикарбонильного стресу в вивчаємих тканих був максимальним при поєднаній патології – моделюванні очної гіпертензії на фоні індукційованого діабету у кроликів.

Отримані нами данні в певній мірі пояснюють відомий в клініці факт того, що пацієнти, страждаючі цукровим діабетом, частіше хворіють на глаукому, і прояви цього захворювання у них більш тяжелі [1, 2]. Полагаємо, що одним з суттєвих патогенетичних механізмів цього процесу є значительне посилення дикарбонильного стресу в тканих ока при поєднанні розглядаємих захворювань. В результаті розвивається дикарбонильний стрес з накопленням таких метаболітів як метилглюкокси і глюкокси в тканих дренажної зони і нейронних структурах ока утворюються високотоксичні «кінцеві продукти глікації» (AGEs). Існують докази участя AGEs в патогенезі ряду судинних захворювань [10]. Як діабетична ретинопатія, так і первинна глаукома є в значительній ступені судинними патологіями. Участвоє описуємого механізму в патогенезі цих захворювань дуже ймовірно.

При вивченні ефекту метилглюксокси на виживаність кліток трабекули людини було показано, що інкубація культури кліток з метилглюксокси в концентрації вище 100 мкмоль індукційовало окислювальний стрес, викликало накоплення тут кінцевих продуктів глікації і апоптоз трабекулярних кліток. Ці процеси, в свою чергу, викликають порушення роботи трабекулярної сітки [17]. В роботі А. К. Berner, 2012 [6] показано, що висока експресія фермента GLO1 (глюксоксиази-1) у трансгенних мишей захищає від капілярної дегенерації сітки в течеі 6 місяців при індукції стрептозотоцинового діабету.

Оскільки взаємозв'язок між високим внутрішньоклітинним вмістом токсичних карбонильних сполуків, швидкістю утворення кінцевих

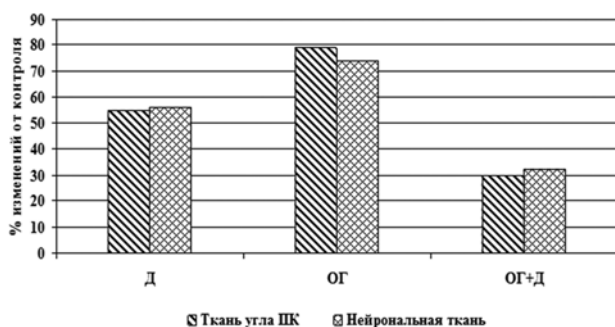


Рис. 3. Зміни активності глюксоксиази – 1 в тканих ока кроликів з експериментальним діабетом і очною гіпертензією

продуктов гликації і потенціалом гліоксидної системи грає важливу роль в формуванні ускладнень сахарного діабета і зв'язаних з віком патологій, отримані нами експериментальні дані про посилення карбонільного стресу з доведеним накопленням токсичних метаболітів і зниженням активності детоксикаційної ферментної системи в тканинах ока при офтальмогіпертензії в умовах діабета мають велике значення для уточнення патогенезу захворювань і розробки цільового лікування.

Висновки. Експериментальні дослідження на моделях захворювання у кроликів показали, що найбільш виражене проявлення дикарбонільного стресу в формі зниження активності фермента гліоксалази-1 і накоплення дикарбонільних продуктів метилгліоксалу і гліоксалу в тканинах дренажної зони очей спостерігаються у тварин

при поєднаному виробленні діабета і очної гіпертензії. В той же час, саме у цих тварин відзначено максимальний рівень вираженості дикарбонільного стресу в нейрональних тканинах сітчатки і зорового нерва, проявленням якого було ще більше накоплення в цих структурах цитотоксичних метаболітів метилгліоксалу і гліоксалу, а також зниження активності фермента гліоксалази-1.

Перспективи подальших досліджень. На основі отриманих даних вважаємо, що дикарбонільний стрес є важливим патогенетичним механізмом патологічних змін у тканинах ока при глаукомі, яка розвивається на фоні сахарного діабета. Тому необхідно розробити цільову терапевтичну дію на дане ланка патогенезу при ліченні цієї поєданої патології.

References

1. Astakhov YuS, Krylova IS, Shadrachev FE. Yavlyaetsya li sakharnyy diabet faktorom riska pervichnoy otkrytougolnoy glaukomy? *Klinicheskaya oftalmologiya*. 2006; 7(3): 91–4. [Russian]
2. Vorobeva IV, Merkushenkova DA, Kalinina NI, Ivanova DP, Estrin LG. Vzaimosvyaz mezhdru pervichnoy otkrytougolnoy glaukomoy i sakharnym diabetom. *Novosti glaukomy*. 2012; 24(4): 3–4.
3. Ahmed N, Thornalley PJ, Dawczynski J, Franke S, Strobel J, Stein G, et al. Methylglyoxal-derived hydroimidazolone advanced glycation endproducts of human lens proteins. *Investig Ophthalmol. Vis Sci*. 2003; 44(12): 5287–92. PMID: 14638728. doi: 10.1167/iops.03-0573
4. Barati MT, Merchant ML, Kain AB, Jevans AW, McLeish KR, Klein JB. Proteomic analysis defines altered cellular redox pathways and advanced glycation end-product metabolism in glomeruli of db/db diabetic mice. *Amer J Physiol Renal Physiology*. 2007; 293(4): F1157–65. PMID: 17609286. DOI: 10.1152/ajprenal.00411.2006
5. Becker B. Diabetes mellitus and primary open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol*. 1971; 71(1 Pt 1): 1–16. PMID: 5099936. [https://doi.org/10.1016/0002-9394\(71\)91088-9](https://doi.org/10.1016/0002-9394(71)91088-9)
6. Berner AK, Brouwers O, Pringle R, Klaassen I, Colhoun L, McVicar C, et al. Protection against methylglyoxal-derived AGEs by regulation of glyoxalase 1 prevents retinal neuroglial and vasodegenerative pathology. *Diabetologia*. 2012; 55(3): 845–54. PMID: 22143324. DOI: 10.1007/s00125-011-2393-0
7. Bierhaus A, Fleming T, Stoyanov S, Leffler A, Babes A, Neacsu C, et al. Methylglyoxal modification of Nav1.8 facilitates nociceptive neuron firing and causes hyperalgesia in diabetic neuropathy. *Nat Med*. 2012; 18(6): 926–33. PMID: 22581285. DOI: 10.1038/nm.2750
8. Bonovas S, Peponis V, Filioussi K. Diabetes mellitus as a risk factor for primary open-angle glaucoma: a meta-analysis. *Diabetic Medicine*. 2004; 21(6): 609–14. PMID: 15154948. DOI: 10.1111/j.1464-5491.2004.01173.x
9. Gülgün Tezel, Luo C, Yang X. Accelerated Aging in Glaucoma: Immunohistochemical Assessment of Advanced Glycation End Products in the Human Retina and Optic Nerve Head. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007; 48(3): 1201–11. PMID: 17325164. PMID: 17325164. PMID: 17325164. DOI: 10.1167/iops.06-0737
10. Hegab Z, Gibbons S, Neyses L, Mamas MA. Role of advanced glycation end products in cardiovascular disease. *World J Cardiol*. 2012; 4(4): 90–102. PMID: 22558488. PMID: 22558488. DOI: 10.4330/wjcv.v4.i4.90
11. Karachalias N, Babaei-Jadidi R, Rabbani N, Thornalley PJ. Increased protein damage in renal glomeruli, retina, nerve, plasma and urine and its prevention by thiamine and benfotiamine therapy in a rat model of diabetes. *Diabetologia*. 2010; 53(7): 1506–16. PMID: 20369223. DOI: 10.1007/s00125-010-1722-z
12. Mir MS, Darzi MM, Baba OK, Khan HM, Kamil SA, Sofi AH, et al. Streptozotocin Induced Acute Clinical Effects in Rabbits. *Iranian J Pathology*. 2015; 10(3): 206–13. PMID: 26351486. PMID: 26351486. PMID: 26351486
13. McLellan AC, Thornalley PJ, Benn J, Sonksen PH. The glyoxalase system in clinical diabetes mellitus and correlation with diabetic complications. *Clin Sci*. 1994; 87(1): 21–9. PMID: 8062515. <https://doi.org/10.1042/cs0870021>
14. Miller AG, Tan G, Binger KJ, Pickering RJ, Thomas MC, Nagaraj RH, et al. Candesartan attenuates diabetic retinal vascular pathology by restoring glyoxalase 1 function. *Diabetes*. 2010; 59(12): 3208–15. PMID: 20852029. PMID: 20852029. PMID: 20852029. DOI: 10.2337/db10-0552
15. Milne R, Brownstein S. Advanced glycation end products and diabetic retinopathy. *Amino Acids*. 2011; 44: 1397–407. <https://doi.org/10.1007/s00726-011-1071-3>

16. Rabbani N, Thornalley PJ. Dicarboxyls (Glyoxal, Methylglyoxal, and 3-Deoxyglucosone). In: Niwa T, Ed by Uremic Toxins. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc; 2012. p. 177–92. <https://doi.org/10.1002/9781118424032.ch12>
17. Lee SH, Kim SH, Kim JW. Effect of Methylglyoxal on the Oxidative Stress in Trabecular Meshwork Cells. *J Korean Ophthalmol Soc.* 2009; 10: 1569-75. <https://doi.org/10.3341/jkos.2009.50.10.1569>
18. Spoerl E, Boehm AG, Pillunat LE. The influence of various substances on the biomechanical behavior of lamina cribrosa and peripapillary sclera. *IOVS.* 2005; 46(4): 1286-90. PMID: 15790892. DOI: 10.1167/iov.04-0978
19. Zhu MD, Cai FY. Development of experimental chronic intraocular hypertension in the rabbit. *Australian and New Zealand J Ophthalmol.* 1992; 20: 225-34. PMID: 1449775. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9071.1992.tb00944.x>
20. Zubaty V, Spoerl E, Boehm A, Geiger K, Pillunat L. Increased Advanced Glycation End-Products (AGEs) in Trabecular Meshwork of Patients With Primary and Secondary Glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008; 49(13): 1607.

УДК 617.731:616.379-008.64-092.9-07+577.11

ДІКАРБОНІЛОВИЙ СТРЕС В ТКАНИНАХ ОЧЕЙ КРОЛИКІВ З ОЧНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ДІАБЕТИ

Юрєвич В. Р., Михейцева І. М.

Резюме. Істотним ушкоджувальним молекулярним механізмом, характерним для цілого ряду захворювань, пов'язаних з віком, цукровим діабетом, запаленням, є дікарбоніловий стрес. Анормальне накопичення дікарбонілових метаболітів веде до посиленого порушення структури біомолекул і викликає різні дисфункції, зокрема, при цукровому діабеті. Залученість цього патохімічного механізму в патогенез вікового нейродегенеративного захворювання, такого як глаукома, також представляє значний інтерес.

Мета – вивчити рівень дікарбонільних метаболітів метилглюксалу, глюксалу та активність ферменту глюксалази-1 (ГЛО-1) в тканинах ока (кута передньої камери, сітківці і зоровому нерві) кроликів з моделлю офтальмогіпертензії і експериментальним діабетом.

Матеріали та методи. Експериментальні дослідження проводилися на 33 дорослих кроликах, яким моделювали стрептозотоциновий діабет, офтальмогіпертензію, та сумісно діабет і офтальмогіпертензію. В тканинах кути передньої камери, сітківці і зоровому нерві визначали рівень метилглюксалу, глюксалу і активність ГЛО-1.

Результати. Виявлено значне накопичення в тканинах переднього і заднього відділу ока кроликів з офтальмогіпертензією та діабетом метилглюксалу, глюксалу і зниження активності ферменту ГЛО-1. Досліджувані параметри дікарбонілового стресу в тканинах ока кроликів були змінені найбільш виражено при одночасному моделюванні офтальмогіпертензії і стрептозотоцинового діабету, ніж при роздільному моделюванні цих захворювань.

Висновок. Дікарбонільний стрес є можливим патогенетичним механізмом патологічних змін в тканинах очей при глаукомі, яка розвинулась на тлі цукрового діабету. Тому необхідна розробка спрямованого терапевтичного впливу на дану ланку патогенезу при лікуванні цієї поєднаної патології.

Ключові слова: дікарбоніловий стрес, кут передньої камери, сітківка і зоровий нерв, очна гіпертензія, цукровий діабет.

UDC 617.731:616.379-008.64-092.9-07+577.11

Dicarbonyl Stress in Eye Tissue of Rabbits with Ocular Hypertension in Experimental Diabetes

Yurevich V. R., Mikheytseva I. N.

Abstract. A significant damaging molecular mechanism, which is inherent for various associated with age, diabetes, inflammation, is dicarbonyl stress. The abnormal accumulation of dicarbonyl metabolites leads to an enhanced disruption of the structure of biomolecules and causes various dysfunctions, in particular, in diabetes mellitus. The involvement of this pathochemical mechanism in the pathogenesis of an age-related neurodegenerative disease, such as glaucoma, is also of considerable interest. High intraocular pressure (ocular hypertension) is one of the main signs of glaucoma.

The purpose of research was to study the level of dicarbonyl metabolites methylglyoxal, glyoxal and the activity of the enzyme glyoxalase-1 in eye tissues (anterior chamber angle, retina and optic nerve) of rabbits with ophthalmic hypertension and experimental diabetes.

Material and methods. Experimental studies were conducted on 33 adult rabbits, which were simulated streptozotocin diabetes; ophthalmic hypertension; diabetes and ophthalmic hypertension combined. In the tissues of the anterior chamber angle, the retina and the optic nerve the levels of methylglyoxal, glyoxal and enzyme glyoxalase-1 activity were determined. Diabetes was caused by injection of streptozotocin (65 mg per 1 kg

of body weight, intravenously). Ophthalmic hypertension was caused by injection into the anterior chamber of the eye with 0.25 ml of 2% methylcellulose solution.

Results and discussion. The obtained results showed a significant accumulation in the tissues of anterior and posterior part of the eye in rabbits with ophthalmic hypertension and diabetes methylglyoxal, glyoxal and a decrease in the activity of the enzyme enzyme glyoxalase-1. The parameters of dicarbonyl stress studied in the tissues of the eye of rabbits were changed more pronounced with the combined modeling of ophthalmic hypertension and streptozotocin diabetes than with the separate modeling of these diseases. In this case, the level of methylglyoxal in the tissues of the anterior chamber angle was increased by 64% compared with the control group, and glyoxal increased by 120%. In the retina and optic nerve methylglyoxal increased by 118%, glyoxal increased by 147%. The minimal activity of glyoxalase -1 was noted in the same group, it was 30% of the data of control animals in the anterior chamber angle tissue. Enzyme glyoxalase-1 activity of eye neuronal tissues (retina and optic nerve) was about the same low levels and was equal to 32.5% of control values. All changes were statistically significant ($p < 0.01$).

The relationship between the high intracellular content of toxic carbonyl compounds, the rate of formation of the final glycation products and the potential of the glyoxylase system plays a crucial role in the formation of complications of diabetes mellitus and age-related pathologies. We obtained experimental data on the increase in carbonyl stress with proven accumulation of toxic metabolites and a decrease in detoxification the enzyme system in the drainage and neuronal system tissues of the eye with ophthalmic hypertension in diabetes. These results have significant value to clarify the pathogenesis of diseases and the development of targeted treatment.

Conclusions. Dicarbonyl stress is a possible pathogenetic mechanism of pathological changes in the eye tissues in glaucoma, which has appeared on the background of diabetes mellitus. Therefore, it is necessary to develop a directed therapeutic influence on this link of pathogenesis in the treatment of this combined pathology.

Keywords: dicarbonyl stress, anterior chamber angle, retina and optic nerve, ocular hypertension, diabetes mellitus.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Стаття надійшла 12.01.2019 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування