

УДК 617.735–002–02:616.379–008.64–092.9–07+577.11

### СОСТОЯНИЕ СЕТЧАТОЙ И СОСУДИСТОЙ ОБОЛОЧЕК ГЛАЗА КРОЛИКА С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ, МОДЕЛИРОВАННЫМ ДИТИЗОНОМ. СООБЩЕНИЕ 2. АНТИОКСИДАНТНЫЕ ЭНЗИМЫ И СУПЕРОКСИДНЫЙ КИСЛОРОД

Э. В. Мальцев, проф., А. В. Зборовская, к. м. н., А. Э. Дорохова, врач

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии НАМН Украины»

*При інтоксикації кроликів дитизоном вже через 6–7 годин після його введення (стадія гіпоглікемії) має місце зниження активності каталази (на 12,6 %) і глутатіонпероксидази (на 18,0 %). Через 33–36 годин (початковий період стадії вторинної стійкої гіперглікемії) виявляється також зниження активності супероксиддисмутази (на 16,7 %). Це сприяє розвитку окислювального стресу в сітчастій та судинній оболонках ока тварин і є, принаймі, одною з причин виникаючої потім діабетичної ретинопатії з яскраво вираженими явищами нейродегенерації.*

**Ключевые слова:** сетчатка, сосудистая оболочка, моделированный сахарный диабет, антиоксидантные ферменты, супероксидный кислород

**Ключові слова:** сітківка, судинна оболонка, модельований цукровий діабет, антиоксидантні ферменти, супероксидний кисень

**Введение.** Как указывалось нами в предыдущем сообщении [11], одним из наиболее вероятных механизмов развития выраженных деструктивных процессов, развертывающихся в сетчатой оболочке кролика с воспроизведенным посредством дитизона сахарным диабетом, может являться хелатирование цинка молекулы супероксиддисмутазы (СОД). Этот металл в качестве структурного элемента, наряду с медью, входит как стабилизатор в состав  $\text{Cu}^{2+}\text{Zn}^{2+}\text{СОД}$ , локализуемой в клетках в цитозоле, т.е. вне их митохондрий [20, 36, 53], но на его долю приходится около 90 % общей ферментативной активности ткани [44]. Оставшаяся часть активности данного фермента обеспечивается митохондриальным ферментом, активирующимся марганцем [41], а также внеклеточной СОД [27]. Эта же картина характерна и для сетчатки [39, 48].

Между тем известно, что при моделировании сахарного диабета по использованной нами методике, именно хелатирование цинка бета-клеток островков Лангерганса поджелудочной железы ответственно за развитие дитизонового диабета у животных [1, 9]. Однако вполне справедливо допустить (как мы и сделали), что вводимый внутривенно дитизон, попадая в кровеносную систему глаза, может хелатировать также и цинк в его сетчатой и сосудистой оболочках (а впрочем и медь, да и другие металлы, образуя с катионами в зависимости от условий одно-или двузамещенные комплексные соединения — дитизонаты, что хорошо изучено [5]. Вследствие этого активность СОД (а

возможно и других антиоксидантных ферментов) в названных оболочках снизится, принципиальная возможность чего в разных тканях уже давно доказана для разных металлоэнзимов [18], а уровень супероксидного кислорода в них изменится. Это будет результироваться рядом неблагоприятных последствий, в том числе таких, как образование высоко активных окислительных агентов, прежде всего реактивных форм кислорода с неспаренным электроном, повреждением ими ДНК, белков и липидов со всеми вытекающими из этого последствиями [2, 4, 19, 25, 38].

Вместе с тем установлено, что наивысшая концентрация цинка в организме человека имеется именно в глазу, особенно в его пигментированных структурах [40, 43]. Сетчатка и сосудистая оболочка содержат много цинка, причем его концентрация убывает в ряду: сосудистая оболочка > пигментный эпителий сетчатки > нейроретина [57]. Не удивительно поэтому, что и переносчики цинка как в цитоплазму ( $\text{ZnT 1–9}$ ), так и из нее ( $\text{ZIP 1–14}$ ), экспрессируются в пигментном эпителии сетчатки человека [42]. К тому же следует подчеркнуть, что трофическая роль сосудистой оболочки по отношению к сетчатой в глазу кролика особенно велика, учитывая крайне скудное кровоснабжение последней (да и то только внутренних слоев отдельных участков), на что уже указывалось в предыдущем сообщении [11]. Поэтому в данной работе биохими-

© Э. В. Мальцев, А. В. Зборовская, А. Э. Дорохова, 2012

ческому анализу подверглась не просто изолированная сетчатка животных, а одновременно комплекс из обеих внутренних оболочек глаза, тем более что при таком подходе полностью исключается утрата пигментного эпителия сетчатки из образцов исследуемого материала. А именно такое явление наблюдается при разделении исследователем этих оболочек, когда пигментный эпителий, отслаиваясь от сетчатки, остается на поверхности хориоидеи, что хорошо знакомо морфологам [12]. Вследствие этого он уже не участвует в последующих определениях, проводимых с сетчатой оболочкой. К тому же не столь уж и важно, разовьется ли окислительный стресс непосредственно в самой сетчатке, либо в крайне трофически важной для нее сосудистой оболочке — негативные последствия и того, и другого для первой из них очевидны. Впрочем, исследование различных биохимических показателей в комплексе сетчатки с сосудистой оболочкой ранее уже применялось и другими исследователями при экспериментальном изучении сахарного диабета [46].

Поэтому целью работы явилось изучение состояния уровня супероксидного радикала и основных антиоксидантных ферментов в названном объекте после интоксикации животных дитизоном.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

Информация о методике воспроизведения СД, выведении животных из опыта и гистологических изменениях при этом со стороны сетчатой и сосудистой оболочек у экспериментальных кроликов приведена в нашем предыдущем сообщении [11]. Здесь остается только отметить, что микрофотографирование препаратов производилось

на микроскопе «Laboval 4, Carl Zeiss, Jena» на цифровую фотокамеру «Canon PowerShot A480» при указанных в подписанных подписях увеличениях и, при необходимости, зумированием.

В данной работе были использованы 18 глаз животных через короткие сроки после введения им дитизона, а именно — спустя 6–7 часов (стадия гипогликемии) и 33–36 часов (начальный период стадии вторичной стойкой гипергликемии), то есть в соответствии с рекомендацией, приведенной в книге «Экспериментальный сахарный диабет», 1983 [22]. Извлеченный из глаза комплекс сосудистой и сетчатой оболочек растирался в фарфоровой ступке на льду, гомогенаты готовили на 0,05М трис–HCl буфере pH 7,5 из расчета 20 мг/мл. Центрифугировали в центрифуге РФ-6 при 2500 об/мин в течение 20 минут и отбирали надосадочную жидкость. Определение уровня супероксидного анион-радикала (САР) и активности супероксиддисмутазы проводили по [21], активность каталазы (КТ) определяли по [7], а глутатионпероксидазы (ГПО)— по [17]. Для измерений использовали спектрофотометр SF–mini 1240 (Schumadze, Japan). Количество супероксида и активность супероксиддисмутазы выражали в у.ед/г, активность каталазы и глутатионпероксидазы — в мкат/кг ткани. Полученные результаты обрабатывали статистически, вычисляя среднее выборочное значение, его ошибку и достоверность различий сравниваемых величин по критерию Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.** Все полученные результаты представлены в таблице 1. При ее анализе сразу обращает на себя внимание, что изученные показатели, во-первых, изменяются по отношению к нормальным, а во-вторых, изменяются не однотипно к обоим срокам эксперимента, хотя структура сетчатой оболочки в это время еще совершенно не отличается от нормы (рис. 1 и 2).

Таблица 1

Уровень супероксидного анионрадикала и активность некоторых антиоксидантных ферментов в комплексе сосудистой и сетчатой оболочек глаза кролика после интоксикации дитизоном (M±m).

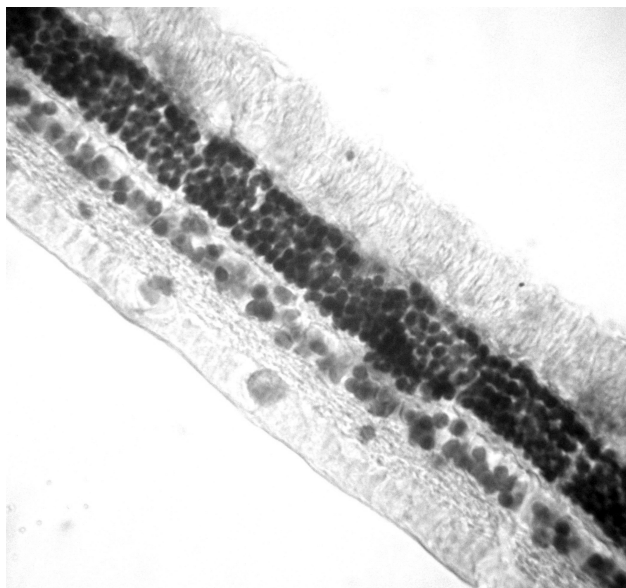
Группы	Показатели			
	Активность каталазы, мкат/кг	Активность СОД, у.ед/г	Уровень супероксидного анионрадикала, у.ед/г	Активность глутатионпероксидазы, мкат/кг
Интактная, n=6	11,84±0,57	1,26±0,05	3,88±0,25	8,20±0,49
6–7 часов после введения дитизона, n=6	10,35±0,32 p<0,05	1,23±0,06 p>0,4	3,39±0,15 p>0,2	6,71±0,35 p<0,02
33–36 часов после введения дитизона, n=6	10,46±0,42 0,05<p<0,1	1,05±0,08 p<0,05	3,12±0,19 p<0,05	6,60±0,48 p<0,05

Что касается исходного для прочих активных форм кислорода супероксидного анионрадикала, то через 6–7 часов после интоксикации дитизоном его уровень в изучаемой ткани практически не отличается от нормального, составляя (3,39±0,15) у.ед/г (в интактной ткани 3,88±0,25 у.ед/г). Однако к следующему сроку, то есть через 33–36 часов после введения препарата, уровень этого свободного радикала уже достоверно снижен на 19,6 % по отношению к норме, а именно составляет (3,12±0,19) у.ед/г при значении p<0,05. Равным образом, и активность супероксиддисмутазы через 6–7 часов

после начала эксперимента еще не изменена, составляя (1,23±0,06) у.ед/г при (1,26±0,05) у.ед/г в интактной ткани. Но уже в начальном периоде стойкой вторичной гипергликемии (33–36 часов после введения дитизона) активность этого фермента значительно понижается (p<0,05) до 1,05±0,08 у.ед/г. Иначе говоря, она оказывается на 16,7 % ниже показателя, характерного для изучаемого объекта в глазу контрольного животного.

Относительно двух других изученных антиоксидантных ферментов — каталазы и глутатионпероксидазы, следует заметить, что активность перво-

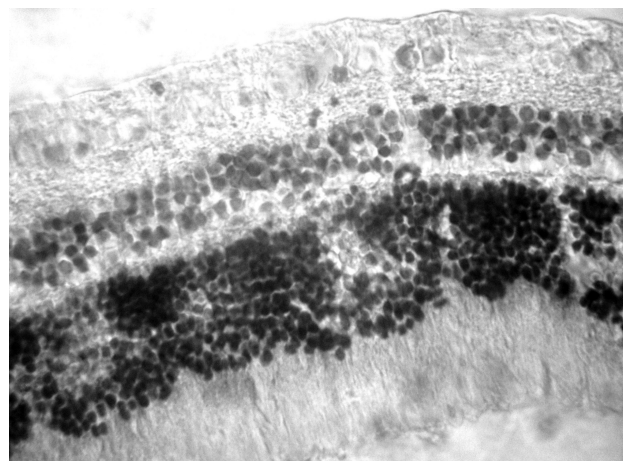
го из них уже в периоде гипогликемии (через 6–7 часов после введения дитизона) оказывается достоверно ( $p < 0,05$ ) сниженной на 12,6 %. В абсолютных цифрах это составляет  $(10,35 \pm 0,32)$  мкат/кг против характерных для нормального состояния ткани  $(11,84 \pm 0,57)$  мкат/кг. Но в следующем периоде наблюдения, когда формируется вторичная стойкая гипергликемия, активность этого фермента лишь только проявляет, хотя и четко выраженную, но тем не менее уже статистически недостоверную ( $0,05 < p < 0,1$ ) тенденцию к снижению до  $(10,46 \pm 0,42)$  мкат/кг. Интересно, что последний, изученный нами фермент, ведет себя отлично от выше охарактеризованных. Это глутатионпероксидаза. Ее активность в интактном объекте изучения составляет  $(8,20 \pm 0,49)$  мкат/кг, но уже спустя 6–7 часов после введения животным дитизона она оказывается пониженной до  $(6,71 \pm 0,35)$  мкат/кг, то есть на 18,0 %. И это снижение достоверно при  $p < 0,02$ . На таком же, пониженном на 19,5 % уровне, активность глутатионпероксидазы остается и в следующем периоде наблюдения — через 33–36 часов от начала эксперимента. Другими словами, в начальном периоде стойкой гипергликемии активность этого антиоксидантного фермента составляет  $(6,60 \pm 0,48)$  мкат/кг ткани при  $p < 0,05$ .



**Рис 1.** Нейросетчатка глаза кролика через 6–7 часов после введения дитизона. Окраска гематоксилин-эозином. Об. 40, ок. 16.

Все представленные выше данные позволяют констатировать тот факт, что, действительно, введение в организм подопытных животных хелатирующего агента дитизона через достаточно короткое время (6–36 часов) вызывает в сетчатой и сосудистой оболочках признаки окислительного стресса. В основе последнего лежат такие явления как снижение активности ряда основных антиок-

сидантных ферментов — глутатионпероксидазы, каталазы и супероксиддисмутазы. При этом более быстро (через 6–7 часов после интоксикации) на 18 % снижается активность глутатионпероксидазы, рассматриваемой в качестве ключевого антиоксидантного фермента как в норме, так и при развитии свободнорадикальных патологий [19]. И несколько менее выражено (на 12,6 %), однако через тот же период времени, ослабевает активность каталазы. Последняя расщепляет пероксид водорода, образующийся не только под действием СОД, но и в реакциях, катализируемых оксидазами, и содержится во всех клетках (14), причем в регуляции ее активности участвует цинк [45]. Но вот активность СОД в это время еще не отличается от нормальной, как, впрочем, и уровень супероксидного радикала, который является в водной системе субстратом для катализирующей его в реакции дисмутации СОД. На выходе этой реакции, как известно [25], из двух молекул супероксида образуются по молекуле перекиси водорода и кислорода.



**Рис 2.** Нейросетчатка глаза кролика через 33–36 часов после введения дитизона. Окраска гематоксилин-эозином. Об. 40, ок. 16.

Однако в следующем сроке наблюдения, когда начинает развиваться вторичная стойкая гипергликемия [22], активность глутатионпероксидазы остается по-прежнему сниженной (на 19,5 %), но также уже дополнительно на 16,7 % ослаблена и активность СОД. Последнее обстоятельство, естественно, способствует реализации известных негативных эффектов супероксида (как предшественника гидроксильного и гидропероксильного радикалов, синглетного кислорода, пероксинитрита и других высоко активных окислительных агентов), к тому же накладывающихся на окислительные последствия наличия в ткани перекиси водорода, оставшейся не обезвреженной глутатионпероксидазой. Правда, почти на 1/5 уменьшен и уровень супероксидного анионрадикала, вероятно вследствие хелатирующих свойств дитизона, приводящих к

связыванию среди прочих и ионов двухвалентного железа, катализирующих его образование в процессе автоокисления [20]. Это явление можно было бы, на первый взгляд, трактовать как фактор, не способствующий повреждению структур сетчатки при сахарном диабете, поскольку САР рассматривают в последнее десятилетие в качестве инициатора таких повреждений [28, 29, 31, 59, 60] и отмечают повышение его уровня в сетчатке мышей с диабетом [39]. Согласно этой концепции молекулы САР ответственны за последующее разворачивание основных установленных метаболических сдвигов, лежащих в основе развития диабетической ретинопатии. А именно: активации полиольного пути; увеличения образования внутриклеточных предшественников (прежде всего — метилглиоксаля) конечных продуктов гликирования белков клеток, плазмы и межклеточного матрикса; активации протеинкиназы—С; возрастания интенсивности гексозаминного пути. Супероксид при этом ингибирует ключевой фермент гликолиза глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназу, что приводит к накоплению в клетках самого субстрата этого фермента и его предшественников — фруктозо-6-фосфата и глюкозы, чем и запускаются все четыре перечисленных патогенетических составляющих механизма ДРП. К тому же и сам по себе супероксид способен блокировать некоторые другие критически важные ферменты эндотелиальных клеток, например, простаглицин синтазу. Впрочем, следует заметить, что в последнее время появилось предположение [26] о том, что сосудистая и нейрональная патология при ДР не столь тесно взаимосвязаны, как принято считать, а могут быть основаны на различных молекулярных механизмах своего развития.

Однако напомним, что происходит отмеченное нами выше уменьшение уровня САР на фоне сниженной активности основных ферментов антирадикальной защиты клеток, в том числе СОД и ГПО. При этом активность ГПО и каталазы значительно снижена уже тогда, когда уровень СОД еще даже вообще не изменен — через 6–7 часов после введения дитизона. Это, естественно, приводит к накоплению в ткани перекиси водорода, не обезвреженной ни путем ее восстановления пероксидазой до воды за счет окисления глутатиона, ни расщеплением на воду и кислород каталазой и, как следствие этого, — к окислительному стрессу. Последний еще более активизируется в результате присоединения третьего электрона молекулой пероксида водорода и образования при этом высоко реакционно-способного гидроксильного радикала, других производных супероксида и повреждения ими макромолекул клеток, инициирования цепной реакции пероксидного окисления ненасыщенных жирных кислот липидов с повреждением структуры и функции мембран [14, 24, 25]. Это и проявляется в итоге, но через более

длительное время, повреждением структур сетчатки на светооптическом уровне (рис. 3), подробно описанным в нашем предыдущем сообщении [11].

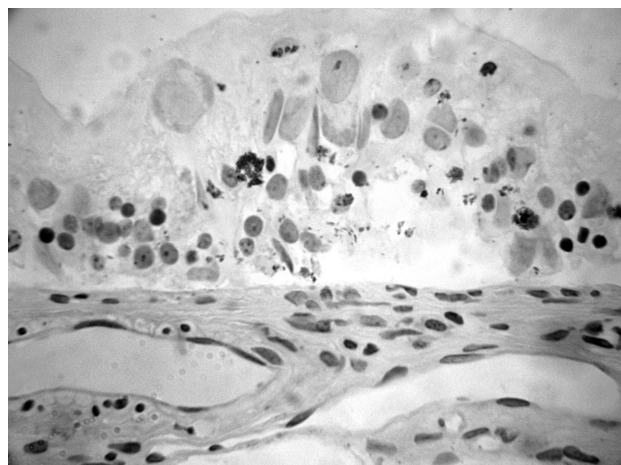


Рис. 3. Сетчатая и сосудистая оболочки глаза кролика через 16–17 недель после введения дитизона. Окраска гематоксилин-эозином. Об. 40, ок. 16.

Конечно, возможны и какие-то другие, дополнительные к рассмотренному выше, факторы такого негативного для сетчатки влияния хелатирования цинка. Например, такие как нарушение транспорта молекул цинка его переносчиками, экспрессирующимися в клетках пигментного эпителия сетчатки, что следует из публикации Leung K. W. et al., 2008 [42]. Следует помнить также о том, что цинк и сам по себе способен ослаблять явления окислительного стресса, связываясь с тиоловыми группами и уменьшая тем самым их окисление, либо оказывая антиоксидантный эффект как компонент металлотронеина [32, 45, 54]. К тому же цинк участвует в связывании ДНК с белками, в ее репарации и транскрипции [37], а также снижает чувствительность глутаматных рецепторов типа NMDA [3].

И хотя активность каталазы, по нашим данным, через 33–36 часов после введения дитизона, в отличие от предыдущего срока опыта, уже достоверно не отличается от нормальной ( $0,05 < p < 0,1$ ), сохраняясь тем не менее в виде четкой тенденции к снижению, очевидно, что и на начальном этапе вторичной стойкой гипергликемии, как и ранее, явления окислительного стресса продолжают иметь место.

Как установлено к настоящему времени, окислительный стресс играет роль в патогенезе многих заболеваний, например, дегенеративных (включая атеросклероз, боковой амиотрофический склероз), гемолитической анемии, кардиомиопатии, артритов, да и в самом старении [8, 25]. Офтальмология здесь не исключение — сенильная катаракта, возрастная макулодистрофия, герпетический кератит, диабетическая ретинопатия иллюстрируют это утверждение [19, 31, 49, 50, 51, 61]. Но особо отме-

тим, что для сетчатки, являющейся метаболически наиболее активной структурой в организме человека [23], этот стресс особенно опасен. Ведь именно для нее характерны высокое содержание полиненасыщенных жирных кислот [24], очень высокий уровень окисления глюкозы и потребления кислорода [8, 31, 33, 34]. В литературе [56] отмечается, что усвоение кислорода тканью сетчатки вообще является наиболее выраженным среди всех структур организма, включая мозг. Это, естественно, в свою очередь, обуславливает высокий уровень образования в ней и его активных (реакционно-способных) форм. К тому же последние образуются здесь, помимо метаболических реакций, как обычно в других тканях — также и дополнительно, в результате светового воздействия по фотохимическому механизму [см. обзоры 8, 13, а также 35]. И в частности, под действием света происходит образование активных синглетных форм кислорода  $^1O_2$  [6], а активность СОД в сетчатке новорожденных крысят возрастает при открытии у них глаз [47]. Само же световое воздействие, достигая значительной интенсивности, приводит к деструктивным изменениям не только сетчатой, но и сосудистой оболочек глаза [10, 58]. При этом установлено, что гибель нейронов сетчатки под влиянием активных форм кислорода происходит путем их апоптозирования [30]. Очевидно, что, исходя из представлений об окислительном стрессе в сетчатой оболочке и высоком уровне цинка в ней, уже упомянутом ранее, установленные нами метаболические и морфологические явления получают свое логическое объяснение.

Результаты наших морфологических наблюдений, представленные в предыдущем сообщении [11], показали, что помимо деструкции нейрональных слоев сетчатки кроликов, получавших дитизон, такое же явление имеет место и в слое ее пигментного эпителия (полное отсутствие клеток последнего на границе сетчатки с сосудистой оболочкой хорошо заметно и на вышеприведенном рисунке 3). Однако и этот факт нетрудно объяснить с занятой нами позиции, если вспомнить, что клетки данного эпителия метаболически очень активны, вдоль их границ интенсивно перемещается кислород, а к тому же они подвержены интенсивному световому воздействию [55]. И в то же время даже умеренное повышение уровня перекиси водорода весьма опасно для жизнеспособности клеток этого эпителия [52].

Учитывая все вышесказанное, неудивительно, что у животных в наших опытах даже некоторое снижение активности нескольких ферментов, обезвреживающих активные формы кислорода, уже оказывается весьма опасным. Достаточно напомнить об образовании высокотоксичного гидроксильного радикала из перекиси водорода в ходе реакции Фентона [49, 50], интенсивность протекания

которой увеличивается хотя бы благодаря снижению активности ГПО и, в известной мере, каталазы, что и было продемонстрировано нами выше.

В заключение отметим, что ранее уже сообщалось [15, 16] о снижении активности СОД, ГПО и каталазы при сахарном диабете у крыс, вызванном стрептозотоцином. Однако у них это явление имело место на десятые сутки эксперимента. По нашим же данным, интоксикация кроликов дитизоном вызывает аналогичные изменения уже на первые—вторые сутки наблюдения и завершается через несколько месяцев деструктивными изменениями сетчатой оболочки [11], легко регистрируемыми обычной световой микроскопией.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. **Бавельский З. Е.** Хелатирование цинка панкреатических бета-клеток как один из механизмов нарушения продукции инсулина : автореф. дис. на получение науч. степени док. мед. наук.: спец. 14.00.03. «Эндокринология»/ З. Е. Бавельский. — Киев, 1989. — 37с.
2. **Балаболкин М. И.** Роль окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений диабета: [лекция.] / М. И., Балаболкин, Е. М. Клебанов // Пробл. эндокринологии. — 2000. — Т.46, № 6. — С.29–34.
3. **Беленичев И. Ф.** Перспектива создания препаратов вторичной нейропротекции: тези доповідей III Національного з'їзду фармакологів України. [«Фармакологія 2006 — крок у майбутнє»], (Одеса, 17–20 жовтня 2006 р.) / И. Ф. Беленичев, С. В. Горбачева, Н. В. Бухтиярова, И. В. Сидорова // —2006. — С. 14–15.
4. **Головенко Н. Я.** Парадоксальная роль кислорода в становлении и развитии биосферы / Н. Я. Головенко // Интегративна антропология. — 2003. — № 1. — С. 17–24.
5. **Дзиомко В. М.** Дитизон. / В. М. Дзиомко — Химическая энциклопедия Москва: Советская энциклопедия, 1990, Т. 2. — С. 91.
6. **Зеленин К. Н.** Химия / К. Н. Зеленин — Санкт-Петербург: Специальная литература 1997. — С. 403–416; 626–645.
7. **Каролюк М. А.** Метод определения активности каталазы / М. А. Каролюк, Л. И. Иванова, Н. Т. Майорова, К. Е. Токарев // Лабор. дело. — 1988. — № 1. — С.16–18.
8. **Кравчук Е. А.** Роль свободнорадикального окисления в патогенезе заболеваний глаз / Е. А. Кравчук // Вестн. офтальмол. — 2004. — № 5. — С. 48–51.
9. **Лазарис Я. А.** К выяснению роли блокирования цинка в патогенезе дитизинового диабета /Я. А. Лазарис, Г. Г. Мейрамов // Пробл. эндокринологии. — 1974. — Т. 20, № 5. — С. 90–94.
10. **Логвинов С. В.** Эффекты комбинированного воздействия ионизирующей радиации и света на сетчатку глаза / С. В. Логвинов, А. В. Потапов, Е. Ю. Варакута [и др.] // Радиц. биол. экол. — 2004. — Т.44, № 6. — С.666–671.
11. **Мальцев Э. В.** Состояние сетчатой и сосудистой оболочек глаза кролика с сахарным диабетом, моделированным дитизоном. Сообщение 1. Структурные изменения / Э. В. Мальцев, А. В. Зборовская,

- А. Э. Дорохова // Офтальмол. журн. — 2011. — № 6. — С. 20–27.
12. **Мальцев Э. В.** Методология научного творчества в медицине. Практические аспекты / **Мальцев Э. В.** — Одесса, Астропринт: 2006. — 116 с.
13. **Мальцев Э. В.** Неспецифические эффекты воздействия света на орган зрения (обзор литературы) / Э. В. Мальцев, В. В. Вит, С. Н. Черняева, Н. А. Багиров // Офтальмол. журн. — 1999. — № 2. — С. 88–93.
14. **Николаев А. Я.** Биологическая химия / Николаев А. Я. — М., Высшая школа: 1989. — С. 223–230.
15. **Олейник Т. В.** Состояние процессов гашения свободно-радикальных форм кислорода в сетчатке при развитии экспериментального сахарного диабета / Т. В. Олейник // Офтальмол. журн. — 2006. — № 6. — С. 50–52.
16. **Олейник Т. В.** Сучасні патогенетично орієнтовані шляхи профілактики та лікування початкових стадій діабетичної ретинопатії (експериментальне та клінічне дослідження). : автореф. дис. на получение науч. степени докт. мед. наук. / Т. В. Олейник — Одесса, 2010. — 39 с.
17. **Пахомова В. А.** Способ определения активности глутатионпероксидазы в биологических тканях / В. А. Пахомова, Г. Н. Крюкова, Н. Н. Козлянина — А. с. 922637, СССР, МКИ в G01. Опублик. 23.04.82. Биол. ИиО. — № 15. — 2с.
18. **Северин С. Е.** Металлоэнзимы / С. Е. Северин, П. П. Филиппов, Г. А. Кочетов // Успехи современ. биол. — 1970. — Т.69, вып 2. — С. 241–260.
19. **Усов В. Я.** Катарактогенез при кератите / В. Я. Усов, Тарик Абоу Тарбоуш, Е. И. Кондратьева // Офтальмол. журн. — 2011. — № 1. — С. 69–74.
20. **Фридович И. В.** Радикалы кислорода, пероксид водорода и токсичность кислорода / И. В. Фридович [ред. У. Прайор] — Свободные радикалы в биологии, М. Изд. «Мир»: 1979. — Т.1. — С. 272–314.
21. **Чевари С.** Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее активности в биологическом материале / С. Чевари, И. Чаба, И. Секей // Лабор. дело. — 1985. — № 11. — С. 678–681.
22. Экспериментальный сахарный диабет. Роль в клинической диабетологии / [ред. Баранов В. Г.] — Л., Наука, Ленинградское отделение: 1983. — 240 с.
23. **Arjamaa O.** Oxygen-dependent diseases in the retina: Role of hypoxia-inducible factors / O. Arjamaa, M. Nikinmaa // Exp Eye Res. — 2006. — Vol 83, N3. — P. 473–483.
24. **Augustin A. J.** Was ist oxidativer Stress? / A. J. Augustin // Klin. Monatsbl. Augenheilkd. — 2010. — Bd. 227, N2. — S. 90–98.
25. **Babior B. M.** Superoxide: a two-edged sword / B. M. Babior // Brazil. J. Med. Biol. Res. — 1997. — Vol. 30, N2. — P. 141–155.
26. **Barber A.** За развитие диабетической ретинопатии могут отвечать два механизма / A. Barber // Новое в офтальмол. — 2011. — № 1. — С. 50–52; № 3. — С. 57–59.
27. **Behndig A.** Superoxide dismutase isoenzymes in the human retina / A. Behndig, B. Svensson, S. Marklund, K. Karlsson // Invest Ophthalmol. Vis. Sci. — 1998. — Vol.39, N3. — P. 471–475.
28. **Brownlee M.** Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications / M. Brownlee // Nature. — 2001. — Vol. 414, 13 december. — P.813–820.
29. **Brownlee M.** The pathobiology of diabetic complications. A unifying mechanism / M. Brownlee // Diabetes. — 2005. — Vol. 54, N6. — P. 1615–1625.
30. **Carmody R. J.** Reactive oxygen species as mediators of photoreceptor apoptosis in vitro / R. J. Carmody, A. J. McGowan, T. G. Cotter // Exp Cell Res. — 1999. — Vol. 248, N2. — P. 520–530.
31. **Connolly K. M.** Oxidative stress in ocular diseases and the role of dietary antioxidants / K. M. Connolly // Euronews. — 2008. — Vol.15, N3. — P. 35–38.
32. **Cuajungco M. P.** Zinc metabolism in the brain: relevance to human neurodegenerative disorders / M. P. Cuajungco, G. J. Lees // Neurobiol. Dis. — 1997. — Vol. 4, N3–4. — P. 137–169.
33. **Dao-Yi Yu** Oxygen distribution and consumption within the retina in vascularised and avascular retinas and in animal models of retinal diseases / Yu Dao-Yi, S. J. Cringle // Prog. Retin. Eye Res. — 2001. — Vol. 20, N2. — P. 175–208.
34. **Dao-Yi Yu** Retinal degeneration and local oxygen metabolism / Yu Dao-Yi, S. J. Cringle // Exp. Eye Res. — 2005. — Vol. 80, N6. — P. 745–751.
35. **Eichler W.** Growth-related effects of oxidant-induced stress on cultured RPE and choroidal endothelial cells / W. Eichler, A. Reiche, Y. Yafai [et al.] // Exp. Eye Res. — 2008. — Vol. 87, N4. — P. 342–348.
36. **Forbes J. M.** Oxidative stress as a major culprit in kidney disease in diabetes / J. M. Forbes, M. T. Coughlan, M. E. Cooper // Diabetes. — 2008. — Vol. 57, N6. — P. 1446–1454.
37. **Ho E.** Zinc deficiency, DNA damage and cancer risk / E. Ho // J. Nutr. Biochem. — 2004. — Vol. 15, N10. — P. 572–578.
38. **Hong-Zhi Pan.** The change of oxidative stress products in diabetes mellitus and diabetic retinopathy / Pan Hong-Zhi, Zhang Hong, Chang Dong [et al.] // Br. J. Ophthalmol. — 2008. — Vol 92, N4. — P. 548–551.
39. **Kanwar M.** Oxidative damage in the retinal mitochondria of diabetic mice: possible protection by superoxide dismutase / M. Kanwar, Chan Pooi-See, T. S.Kern, R. A. Kowluru // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 2007. — Vol.48, N8. — P. 3805–3811.
40. **Karicoglu Z. A.** Zinc in the eye / Z. A. Karicoglu // Surv. Ophthalmol. — 1982. — Vol. 27, N2. — P.114–122.
41. **Kowluru R. A.** Role of mitochondrial superoxide dismutase in the development of diabetic retinopathy / R. A. Kowluru, L. Atasi, Ho Yeh-Shih // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 2006. — Vol. 47, N4. — P. 1594–1599.
42. **Leung K. W.** Expression of ZnT and ZIP Zinc transporters in the human RPE and their regulation by neurotrophic factors / K. W. Leung, M. Liu, X. Xu [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 2008. — Vol 49, N3 — P.1221–1231.
43. **Mares A.** Doctor, what vitamins should I take for my eyes? / A. Mares, T. La Rowe, B. Blodi // Arch. Ophthalmol. — 2004. — Vol. 122, N4. — P. 628–635.
44. **Matsui H.** The effect of up-and downregulation of Mn-SOD enzyme on oxidative stress in human lens epithelial cells / H. Matsui, Lin Li-Ren, Ho Ye-Shih, V. N. Reddy // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 2003. — Vol. 44, N8. — P. 3467–3475.

45. **Miceli M. V.** Zinc deficiency and oxidative stress in the retina of pigmented rats / M. V. Miceli, D. J. Tate, N. W. Alcock, D. A. Newsome // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 1999. — Vol. 40, N6. — P. 1238–1244.
46. **Nakajima H.** Effects of ascorbic acid on trace element metabolism in the choroid — retina of streptozotocin — induced diabetic guinea pigs / H. Nakajima, O. Yagihashi, Y. Kashima [et al.] // *Nippon Ganka Gakkai Zasshi.* — 1993. — Vol. 97, N3. — P. 340–345.
47. **Ogawa T.** Manganese and copper-zinc superoxide dismutases in the developing rat retina / T. Ogawa, A. Ohira, T. Amemiva // *Acta Histochem.* — 1997. — Vol. 99, N1. — P. 1–12.
48. **Oguni M.** Ontogeny of copper-zinc and manganese superoxide dismutase in the developing rat retina: immunohistochemical and immunochemical study / M. Oguni, O. Tanaka, H. Tamura [et al.] // *Ophthalmic Res.* — 1995. — Vol. 27, N4. — P. 227–233.
49. **Schaal S.** Zinc-desferrioxamine reduces damage to lens exposed to hyperbaric oxygen and has an ameliorative effect on catalase and Na, K-ATP-ase activities / S. Schaal, I. Beiran, E. Bormusov [et al.] // *Exp. Eye Res.* — 2007. — Vol. 84, N3. — P. 455–463.
50. **Schaal S.** Desferrioxamine and zinc-desferrioxamine reduce lens oxidative damage / S. Schaal, I. Beiran, H. Rosner [et al.] // *Exp Eye Res.* — 2007. — Vol. 84, N3. — P. 561–568.
51. **Schaal S.** Lenticular oxygen toxicity / S. Schaal, I. Beiran, I. Rubinstein [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 2003. — Vol. 44, N8. — P. 3476–3484.
52. **Sharma R. K.** Preconditioning protects the retinal pigment epithelium cells from oxidative stress-induced cell death / R. K. Sharma, P. A. Netland, M. A. Kedrov [et al.] // *Acta Ophthalmol.* — 2009. — Vol. 87, N1. — P. 82–88.
53. **Swinkels J. U.** Biology of zinc and biological value of dietary organic zinc complexes and chelates / J. U. Swinkels, E. T. Kornegay, M. W. Versteegen // *Nutrition Res.* — 1994. — N7. — P. 129–149.
54. **Tate D. J.** Zinc protects against oxidative damage in cultured human retinal pigment epithelial cells / D. J. Tate, M. V. Miceli, D. A. Newsome // *Free Radic. Biol. Med.* — 1999. — Vol. 26, N 5–6. — P. 704–713.
55. **Voloboueva L. A.** (R)-alpha-lipoic acid protect retinal pigment epithelial cells from oxidative damage / L. A. Voloboueva, J. Liu, J. H. Suh [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 2005. — Vol. 46, N11. — P. 4302–4310.
56. **Wangsa-Wirawan N. D.** Retinal oxygen. Fundamental and clinical aspects / N. D. Wangsa-Wirawan, R. A. Linsenmeier // *Arch Ophthalmol.* — 2003. — Vol. 121, N4. — P. 547–557.
57. **Wills N. K.** Copper and zinc distribution in the human retina: Relationship to cadmium accumulation, age and gender / N. K. Wills, V. M. Sadagopa Ramanujam, N. Kalaraya [et al.] // *Exp. Eye Res.* — 2008. — Vol. 87, N2. — P. 80–88.
58. **Wu J.** Cell death in the retina after blue light exposure / J. Wu, E. Chen, S. Seregard // *Ophthalmic Res.* — 1998. — Vol. 30, Suppl. 1. — P. 69.
59. **Yan Cui** Expression modification of uncoupling proteins and Mn SOD in retinal endothelial cells and pericytes induced by high glucose: The role of reactive oxygen species in diabetic retinopathy / Cui Yan, Hu Xun, Bi Hongsheng [et al.] // *Exp. Eye Res.* — 2006. — Vol. 83, N4. — P. 807–816.
60. **Yuxi Feng** Incipient diabetic retinopathy — insights from an experimental model / Feng Yuxi, F. vom Hagen, Lin Jihong, H. Hammes // *Ophthalmologica.* — 2007. — Vol. 221, N4. — P. 269–274.
61. **Zeitl O.** Oxidativer Stress am retinalen Pigmentepithel — experimentelle Ansätze zur Protektion / O. Zeitl, M. Berna-Thili, U. Bartsch [et al.] // *Klin. Monatsbl. Augenheilkd.* — 2009. — Bd. 226, N1. — S. 27–30.

Поступила 27.03.2012

Рецензент д. м. н., проф. В. В. Вит

THE STATE OF THE RETICULATED AND VASCULAR EYE MEMBRANES OF RABBIT WITH DIABETES MELLITUS, MODELED BY DITHIZONE. INFORMATION 2. ANTIOXIDANT ENZYMES AND SUPEROXIDE OXYGEN

E. V. Maltsev, A. B. Zborovskaya, A. E. Dorokhova  
Odessa, Ukraine

In intoxication of rabbits by Dithizone reduction in the activity of catalase (by 12.6 %) and glutathione peroxidase by 18.0 %) occurs after only 6–7 hours after its introduction (stage of hypoglycaemia). After 33–36 hours (the initial period of the stage of secondary stable hyperglycemia) the activity of superoxidedismutase (by 16.7 %) is also lowered. This contributes to the development of oxidizing stress in the reticulated and vascular eye membranes of animals and is, at least, one of the causes for developing subsequent diabetic retinopathy with the clearly expressed phenomena of neurodegeneration.

