

УДК 617.735–002–02:616.379–008.64–085–07+577.11–092.9

Мембрано-протекторное воздействие кверцетина и липоата на лизосомы сетчатки при стрептозотоциновом диабете

О. А. Мороз, канд. мед. наук

Закарпатская областная
клиническая больница им.
А. Новака, Ужгород (Украина)
E-mail: moroz.oleg@gmail.com

Ключевые слова: экспериментальный диабет, сетчатка, липоевая кислота, кверцетин.

Ключові слова: експериментальний діабет, сітківка, ліпоєва кислота, кверцетин

Вступ. Встановлено, що в ранні терміни розвитку експериментального діабета ушкоджуються мембранні структури лізосом пігментного епітелію сітківки, що супроводжується підвищенням активності маркерного фермента — кислій фосфатази, тоді як застосування біофлавоноїдів сприяло зниженню цієї активності.

Мета дослідження. Вивчити мембрано-протекторний вплив кверцетину і ліпоату на сітківку, зокрема — на лізосомні пігментного епітелію при стрептозотоциновому діабеті.

Матеріал та методи. Дослідження проводились на білих щурах лінії «Вістар» масою 180–220 г. Дві групи тварин з модельованим діабетом одержували перорально кверцетин і ліпоєву кислоту. Активність лізосомальних ферментів сітківки визначалася за допомогою методів спектрофотометричного аналізу.

Результати. Застосування вказаних препаратів мало помітну мембраностабілізуючу дію на сітківку в різні терміни розвитку діабетичного процесу. Вони не тільки підвищували стабільність внутрішньо-клітинних мембран, але й значно попереджували деградацію лізосомальних структур сітківки.

Висновок. Встановлено, що використання ліпоєвої кислоти і кверцетину при розвитку експериментального діабета значно гальмує субклітинні структури сітківки, що є проявом їх протекторної дії на ці структури при діабетичному процесі.

Membrane-protective effect of quercetin and lipoate on the retina in streptozotocin diabetes

O. A. Moroz

Transcarpathian Regional Clinical
Hospital. A. Novak, Uzhgorod
(Ukraine)

Key words: experimental diabetes, the retina, lipoic acid, quercetin.

Introduction. Relevance of the work is to study the influence of quercetin and lipoate in treatment of experimental diabetes.

Purpose. To study the membrane — protective impact of quercetin and lipoate on the retina and in particular on the lysosomes of the pigment epithelium in streptozotocin diabetes.

Methods. Studies were conducted on white rats of the Wistar line weighing 180–220 g. Two groups of animals with developing diabetes received oral lipoic acid and quercetin. Activity of lysosomal enzyme of the retina was determined using spectrophotometric assay methods.

Results. Application of the lipoic acid and quercetin has a pronounced effect on membrane- stabilizing effect on the retina at different periods of development of the diabetic process. Both studied drugs not only increased the stability of the intracellular membranes but also greatly prevented lysosomal degradation of the retinal structures.

Conclusions. The use of the lipoic acid and quercetin in development of experimental diabetes has the distinct stabilizing effect on the lysosomal membrane of the retina at different periods of the disease. The drugs under study largely inhibit the degradation of subcellular structures of the retina, which is a manifestation of some kind of the protective effect on the ultrastructural components of the visual analyzer in diabetes.

Введение. Несмотря на значительный прогресс в лечении осложнений со стороны органа зрения при сахарном диабете, проблема профилактики и терапии диабетической ретинопатии продолжает оставаться самой актуальной в современной офтальмологии [1, 7, 22].

Значительный комплекс медикаментозных средств, применяемых в настоящее время, к сожалению, не позволяет добиться удовлетворительных результатов в профилактике прогрессирования диабетической ретинопатии. В большинстве своем эти средства имеют симптоматическую направленность и, в целом, их терапевтическая эффективность довольно ограничена [2, 5, 9, 19].

К настоящему времени анализ достижений в области изучения патогенеза диабетической ретинопатии позволяет выделить наиболее существенные звенья патогенеза этого заболевания [4, 16].

В качестве главных патохимических метаболитов при сахарном диабете рассматриваются ранние (соединения глюкозы с белками и оксоальдегиды — метилглиоксаль) и конечные продукты неферментативного гликозилирования белков, липидов и нуклеиновых кислот. Повышение концентрации всех этих метаболитов не только отрицательно отражается на общем состоянии обмена веществ, но и что главное, вызывает нарушение регуляции метаболизма и функции клеток [6, 11, 12, 15, 18].

Окислительный стресс в настоящее время рассматривается как один из ведущих механизмов нарушений в эндотелии микрососудов при сахарном диабете. При этом в качестве пусковых метаболитических нарушений, приводящих к поражению сосудистой, нервной и других тканей организма, рассматривается повышенный уровень не только глюкозы, но и целого ряда метаболитов углеводно-фосфорного обмена [13, 17, 20, 21].

Определенная роль в развитии диабетической ретинопатии принадлежит пигментному эпителию сетчатки. Установлено, что в ранние сроки развития экспериментального диабета отмечается повреждение мембранных структур лизосом пигментного эпителия сетчатки, о чем свидетельствует повышение активности маркерного фермента кислой фосфатазы [10]. Также было показано, что при моделировании экспериментального стрептозотоцинового диабета использование препаратов: ацетилцистеина и биофлавоноида оказывало выраженное защитное действие — повышение стабильности мембран лизосом, о чем свидетельствовало снижение уровня свободной формы маркерного фермента кислой фосфатазы в цитозоле [3].

В настоящее время ведутся поиски способов мембраностабилизирующего действия на лизосомы сетчатки при экспериментальном диабете.

В этой связи, перспективными могут быть исследования, направленные на выяснение важней-

ших пусковых механизмов, в частности, нарушения мембранных внутриклеточных структур сетчатки при стрептозотоциновом диабете.

Цель работы: изучить мембрано-протекторное влияние кверцетина и липоата на сетчатку и, в частности, на лизосомы пигментного эпителия при стрептозотоциновом диабете.

Материал и методы

Исследования проводились на белых крысах линии «Вистар» массой 180–220 г., которые содержались на стандартном рационе вивария.

При проведении эксперимента были соблюдены рекомендации относительно исследований на животных, принятые международным сообществом.

Экспериментальный диабет вызывали путем инъекции стрептозотоцина (55 мг на 1 кг массы животного), при этом накануне в течение ночи животные не получали пищи. Инсулин вводился диабетическим животным с целью предотвращения снижения массы при условии поддержании гипергликемии (уровень сахара в крови колебался от 20 до 25 мМ). Контрольным животным проводилась инъекция растворителя (10 мМ цитратного буфера, pH 4,5).

Две группы животных с развивающимся диабетом получали перорально кверцетин и липоевую кислоту на протяжении всего периода эксперимента.

По истечении двух месяцев развития диабета часть животных, находящихся в различных условиях эксперимента, а также нормальных крыс (контроль) декапитировали с предшествующей анестезией тиопенталом натрия (50 мг препарата на кг массы). Глаза энуклеировали на льду при температуре 0–5°C.

Сетчатка немедленно удалялась и помещалась в свежеприготовленную среду для выделения лизосом. Сетчатки с двух глаз каждого животного объединялись и суспендировались в буфере, содержащем 20 мМ HEPES-KOH (pH=7,5), 1,5 М MgCl₂, 0,5 мМ EGTA и 250 мМ сахарозы, содержащей поливинилпирролидон.

Сетчатки аккуратно гомогенизировались в стеклянном гомогенизаторе с тифлоновым пестиком. Гомогенат готовили в соотношении 1:10 (вес ткани: объем среды для гомогенизации). Полученный гомогенат центрифугировался при 750 g в течение 10 минут при 4 °C для удаления ядер и неразрушенных клеток. Супернатант затем был центрифугирован при 6 000 g в течение 15 минут. Полученный осадок, содержащий лизосомы и, главным образом — пигментный эпителий, был ресуспендирован и использовался для определения активности лизосомальных ферментов.

Принцип метода определения активности кислой фосфатазы основан на определении концентрации свободного органического компонента субстрата — паранитрофенилфосфата, образующегося в результате действия фермента. Для определения активности кислой фосфатазы в пробирках последовательно смешивали 0,1 мл экстракта исследуемой ткани и 1,0 мл субстратно-буферного раствора (0,127 % раствор паранитрофенилфосфата в ацетатном буфере, pH 5,0). Пробирки с реакционным раствором инкубировали точно 30 мин при (37,0±0,5)° C. Реакцию останавливали добавлением 1,0 мл охлажденного до 0 °C 1 Н раствора гидроксида натрия. Измерения оптической плотности исследуемых растворов проводили на спектрофотометре «Spectol — 210» в 1- см кювете и длине волны 410 нм. Рас-

считывали активность кислой фосфатазы с использованием молярного коэффициента экстинкции, найденного путем экстраполяции по предварительно построенному калибровочному графику и выражали в нкат/г ткани. Коэффициент вариации — 7,8 % [14].

По истечении шести месяцев развития диабета оставшаяся часть животных, все еще находящихся в различных условиях эксперимента, также забивались в соответствии с правилами работы с экспериментальными животными. Удаленные сетчатки животных сразу же подвергались вышеописанным способам обработки.

Статистическую достоверность различий определяли по критерию Стьюдента, которая проводилась с помощью пакета SPSS 11.0 [8].

Результаты и их обсуждение

Данные об активности маркерного фермента кислой фосфатазы сетчатки белых крыс со стрептозотоциновым диабетом через 2 месяца при воздействии липоевой кислоты и кверцетина представлены в таблице 1.

Как видно из представленных данных, активность свободной формы кислой фосфатазы в сетчатке животных с диабетом без применения препарата была повышена на 25,8 % по отношению к норме (109,09±4,36) нкат/г.

В условиях применения липоевой кислоты через два месяца после развития диабета активность свободной формы кислой фосфатазы в сетчатке была понижена до (116,94±6,55) нкат/г, т. е. по сравнению с группой «без препарата» (137,23±3,55) нкат/г понизилась на 14,8 %.

При применении кверцетина активность свободной формы кислой фосфатазы понизилась на

14,1 % (117,82±5,52) нкат/г по отношению к группе животных, не получавших препарат.

Через 2 месяца развития диабета при применении липоевой кислоты отмечается незначительное повышение активности общей формы кислой фосфатазы в сетчатке до (163,25±7,41) нкат/г, что составило 100,6 % по сравнению с группой «без препарата» (162,26±3,13) нкат/г.

В условиях воздействия кверцетина активность общей формы кислой фосфатазы понизилась по отношению к группе животных без препарата на 0,6 % (161,23±5,58) нкат/г. Активность изучаемого фермента в группе животных без препарата была повышена на 0,8 % по сравнению с нормой (160,90±3,05) нкат/г.

Необходимо отметить, что активность связанной формы кислой фосфатазы в группе животных с диабетом без применения препаратов была понижена на 51,7 % по отношению к норме (51,81±2,16) нкат/г.

Активность связанной формы кислой фосфатазы в сетчатке при экспериментальном развитии диабета и применении липоевой кислоты была повышена до (46,31±2,61) нкат/г, увеличение составило 85 % по отношению к группе диабетических животных без применения препарата (25,03±1,29) нкат/г.

В группе диабетических животных с применением кверцетина активность связанной формы кислой фосфатазы повысилась по сравнению с группой животных «без препарата» на 73,4 % (43,41±2,86) нкат/г.

Данные об активности маркерного фермента кислой фосфатазы сетчатки белых крыс со стрептозотоциновым диабетом через 6 месяцев при воздействии липоевой кислоты и кверцетина представлены в таблице 2.

Через 6 месяцев после развития диабета и применении липоевой кислоты активность свободной формы кислой фосфатазы в сетчатке была понижена до (121,08±5,20) нкат/г, т. е. по сравнению с группой «без препарата» (145,60±4,80) нкат/г понизилась на 16,8 %.

При воздействии кверцетина активность свободной формы кислой фосфатазы понизилась на 17,8 % (119,65±5,54) нкат/г по отношению к группе животных без препарата. Активность фермента в группе животных с диабетом без применения препарата была повышена на 33,5 % по отношению к норме.

Активность общей формы кислой фосфатазы в сетчатке при экспериментальном развитии диабета и применении липоевой кислоты была существенно понижена до (164,21±6,14) нкат/г, т. е. составляла 99,8 % по отношению к группе диабетических животных без применения препарата (164,49±4,01) нкат/г.

В группе диабетических животных с применением кверцетина активность общей формы кис-

Таблица 1. Активность маркерного фермента кислой фосфатазы сетчатки белых крыс со стрептозотоциновым диабетом через 2 месяца при воздействии липоевой кислоты и кверцетина.

Биохимические показатели	Статистические показатели	Норма n=14	Диабет, 2 месяца		
			Без препарата n=14	Липоевая кислота n=14	Кверцетин n=14
Свободная форма	M	109,09	137,23	116,94	117,82
	m	4,36	3,55	6,55	5,52
	p ₁	—	<0,001	>0,05	>0,05
Общая форма	M	160,90	162,26	163,25	161,23
	m	3,05	3,13	7,41	5,58
	p ₁	—	>0,05	>0,05	>0,05
Связанная форма	M	51,81	25,03	46,31	43,41
	m	2,16	1,29	2,61	2,86
	p ₁	—	<0,001	>0,05	<0,05
	p ₂	—	—	<0,001	<0,001

Примечание: p₁– уровень значимости различий данных по отношению к норме; p₂ — уровень значимости различий данных по отношению к группе «Диабет».

Таблица 2. Активность маркерного фермента кислой фосфатазы сетчатки белых крыс со стрептозотоциновым диабетом через 6 месяцев при воздействии липоевой кислоты и кверцетина.

Биохимические показатели	Статистические показатели	Норма n=14	Диабет, 6 месяцев		
			Без препарата n=14	Липоевая кислота n=14	Кверцетин n=14
Свободная форма	M	109,09	145,60	121,08	119,65
	m	4,36	4,80	5,20	5,54
	p ₁	–	<0,001	>0,05	>0,05
	p ₂	–	–	<0,01	<0,01
Общая форма	M	160,90	164,49	164,21	162,50
	m	3,05	4,01	6,14	6,03
	p ₁	–	>0,05	>0,05	>0,05
	p ₂	–	–	>0,05	>0,05
Связанная форма	M	51,81	18,90	43,12	42,85
	m	2,16	1,65	2,27	2,17
	p ₁	–	<0,001	<0,05	<0,01
	p ₂	–	–	<0,001	<0,001

Примечание: p₁– уровень значимости различий данных по отношению к норме; p₂ — уровень значимости различий данных по отношению к группе «Диабет».

лой фосфатазы понизилась на 1,2 % (162,50±6,03) нкат/г, по сравнению с группой «без препарата». Активность фермента при диабете без препарата была повышена на 2,2 % по сравнению с нормой.

При развитии диабета и применении липоевой кислоты отмечается повышение активности связанной формы кислой фосфатазы в сетчатке до (43,12±2,27) нкат/г, что составило 228,1 % по сравнению с группой «без препарата» (18,90±1,65) нкат/г.

В условиях применения кверцетина активность связанной формы кислой фосфатазы была повышена по отношению к группе животных без препарата до 226,7 % (42,85±2,17) нкат/г. Активность фермента при диабете без применения препарата была снижена на 63,5 % по сравнению с нормой.

Анализируя полученные результаты относительно соотношения уровня мембрано-связанной (лизосомальной) и цитозольной формы кислой фосфатазы при развитии стрептозотоцинового диабета, следует отметить, что по мере развития этого

заболевания отчетливо уменьшается стабильность лизосомальных структур, прежде всего за счет снижения общего уровня лизосомальной формы фермента: в период двухмесячного срока диабета эти показатели составили (25,03±1,29) нкат/г, а в шестимесячный срок — (18,90±1,65) нкат/г. Этот факт свидетельствует не только о повышении лабильности мембран лизосом, но и о снижении их общего количества в сетчатке.

Применение липоевой кислоты и кверцетина оказывало выраженный мембраностабилизирующий эффект на сетчатую оболочку в различные сроки развития диабетического процесса, об этом свидетельствует снижение уровня нелизосомальной кислой фосфатазы.

Следует особо отметить, что в процессе развития диабета (шесть месяцев) оба изучаемых препарата не только повышали стабильность внутриклеточных мембран, но и в заметной мере предотвращали деградацию лизосомальных структур сетчатки. Об этом свидетельствует тот факт, что в период со второго по шестой месяц развития стрептозотоцинового диабета отмечались относительно стабильные показатели связанной активности кислой фосфатазы в условиях применения липоевой кислоты и кверцетина.

В целом, результаты данного исследования раскрывают существенное звено механизма протекторного действия липоевой кислоты и кверцетина на сетчатую оболочку и, в частности, состояние ее лизосомального аппарата в различные периоды развития экспериментального диабета.

Выводы

1. Применение липоевой кислоты и кверцетина при развитии экспериментального диабетического процесса оказывает отчетливое стабилизирующее действие на лизосомы мембраны сетчатки в различные периоды развития заболевания.

2. Препараты липоевой кислоты и кверцетина в значительной степени тормозят деградацию субклеточных структур сетчатки, что является проявлением их своеобразного протекторного эффекта на ультраструктурные компоненты зрительного анализатора при диабете.

Литература

1. Алифанова Т. А. Диабет и проблема инвалидности / Т. А. Алифанова, Н. Н. Кушнир // Тезисы 2-ой межд. науч. конф. Офтальмологов Причерноморья. — Одесса, 2004. — С. 124.
2. Андрушкова О. А., Комплексный подход к лечению сосудистых изменений глаза у больных сахарным диабетом / О. А. Андрушкова, Т. Н. Антонюк, Т. А. Турото // Матер. 1-ой Межд. конф. «Современные аспекты сосудисто-эндокринных заболеваний органа зрения». — К., 2000. — С. 85.
3. Гладуш Т. И., Байдан Е. И. Стабильность лизосомальных мембран сетчатки белых крыс при стрептозотоциновом диабете в условиях медикаментозного воздействия (ацетилцистеином, флавоноидом и таурином) // Офтальмол. журн. — 2010. — № 4. — С. 60–64.
4. Евграфов В. Ю. Диабетическая ретинопатия: патогенез, диагностика, лечение: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1996. — 47 с.
5. Леус Н. Ф. Метаболические механизмы развития и перспективы медикаментозного лечения диабетического

- ческой ретинопатии // Офтальмол. журн. — 2003. — № 5. — с. 75–80.
6. **Мальцев Э. В., Родин С. С., Черняева С. Н.** Диабетическая ретинопатия, механизмы развития // Офтальмол. журн. — 2003. — № 2. — С. 82–88.
 7. **Миленская Т. М., Бессмертная Е. Г.** Диабетическая ретинопатия // Врач. Дело. — 2000. — № 1. — С. 8–11.
 8. **Наследов А.** SPSS компьютерный анализ данных в психологии и социальных науках. // Спб.: Питер, 2005. — 416 с.
 9. **Недзвецкая О. В.** Современные направления в лечении диабетической ретинопатии // Междунар. мед. журнал. — 2000. — № 3. — С. 56–58.
 10. **Павлюченко К. П., Олейник Т. В.** Окислительное повреждение пигментного эпителия сетчатки при моделировании стрептозотоцинового диабета // Офтальм. журн. — 2005. — № 3. — С. 47–49.
 11. **Сидорова М. В.** Диабетическая ретинопатия. Патогенез, клиника, лечение. — К.: СМП «АВЕРС», 2006. — 156 с.
 12. **Aiello L. P., Cahill M. T., Wong J. S.** Systemic considerations in the management of diabetic retinopathy // Am. J. Ophthalmol. — 2001. — V. 32. — P. 760–776.
 13. **Bayness J. W.** Role of oxidative stress in development of complications in diabetes // Diabetes. — 1991. — V. 40. — P. 405–412.
 14. **Bergmeyer H. U.** Methoden der enzymatischen Analyse. — Herausgegeben von H. U. Bergmeyer. — Berlin. — 1986. — S. 2254–2265.
 15. **Brownlee M.** Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications // Nature. — 2001. — Vol. 414. — P. 813–820.
 16. **Dervan E., Lillis D., Flynn L.** Factors that influence the patient uptake of diabetic retinopathy screening // Irish. J. Med. Sci. — 2008. — Vol. 177. — P. 303–308.
 17. **Dierckx N., Horvath G., van Gils C.** Oxidative stress status in patients with diabetes mellitus: relationship to diet // Eur J Clin Nutr. — 2003. — V. 57 (8). — P. 999–1008.
 18. **Fong D. S., Aiello L. P., Ferris F. L., Klein R. K.** Diabetic retinopathy // Ophthalmol. — 2004. — Vol. 27. — P. 2540–2553.
 19. **Lang G. E.** Pharmacological treatment of diabetic retinopathy // Ophthalmologica. — 2007. — Vol. 221. — № 2. — P. 112–117.
 20. **Pan H.-Z., Zhang H., Chang D., et al.** The change of oxidative stress products in diabetes mellitus and diabetic retinopathy // Br. J Ophthalmol. — 2008. — Vol. 92. — P. 548–551.
 21. **Reyk D. M., Gillies M. C., Davies M. J.** The retina: oxidative stress and diabetes // Redox Rep. — 2003. — V. 8 (4). — P. 187–192.
 22. **Zimmer P.** Global and social implications of the diabetic epidemic / P. Zimmer // Nature. — 2001. — Vol. 414. — P. 782–789.

Поступила 08.04.2014

References

1. **Alifanova TA, Kushnir NN.** Diabetes and disability. Thesis of II Black Sea International conference. Odessa, 2004. 124.
2. **Andrushkova OA, Antonyuk TN, Turuto TA.** An integrated approach to the treatment of vascular changes in the eyes of patients with diabetes. Proceedings of I Int. Conf. «Modern aspects of vascular and endocrine diseases of the organ of vision» K., 2000. 85.
3. **Gladush TI, Baidan EI.** Stability of lysosomal membranes of the retina of albino rats with streptozotocin diabetes under medical exposure (acetylcysteine, flavonoids and taurine). Oftalmol Zh. 2010; 4:60–4. Russian.
4. **Evgrafov VYu.** Diabetic retinopathy; pathogenesis, diagnostics, treatment: author's thesis for Doctor of Med. Science. M., 1996. 47 p.
5. **Leus NF.** Metabolic mechanisms of development and prospects of medical treatment of diabetic retinopathy. Oftalmol Zh. 2003;5:75–80. Russian.
6. **Maltsev EV, Rodin SS, Chernyayeva SN.** Diabetic retinopathy, mechanism of development. Oftalmol Zh. 2003;2:82–8. Russian.
7. **Milenkaya TM, Besmertnaya EG.** Diabetic retinopathy. Vrach. Delo. 2000;1:8–11. Russian.
8. **Nasledov A.** SPSS computer analysis of data in psychology and social sciences. SPb.:Piter; 2005. 416 p.
9. **Nedzvetskaya OV.** Modern trends in the treatment of diabetic retinopathy. Mezhdunar. Med. Zhurnal. 2000;3:56–8. Russian.
10. **Pavlyuchenko KP, Oleinik TV.** Oxidative damage to the retinal pigment epithelium in streptozotocin-induced diabetes modeling. Oftalmol Zh. 2005;3:47–9. Russian.
11. **Sidorova MV.** Diabetic retinopathy. Pathogenesis, clinic, treatment. K.:SMP «АВЕРС»; 2006. 156 p.
12. **Aiello LP, Cahill MT, Wong JS.** Systemic considerations in the management of diabetic retinopathy. Am. J. Ophthalmol. 2001;32:760–76.
13. **Bayness J. W.** Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. Diabetes. 1991;40:405–12.
14. **Bergmeyer HU.** Methoden der enzymatischen Analyse. Herausgegeben von H. U. Bergmeyer. Berlin. 1986. 2254–2265.
15. **Brownlee M.** Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. Nature. 2001;414:813–20.
16. **Dervan E, Lillis D, Flynn L.** Factors that influence the patient uptake of diabetic retinopathy screening. Irish. J. Med. Sci. 2008;177:303–8.
17. **Dierckx N, Horvath G, van Gils C.** Oxidative stress status in patients with diabetes mellitus: relationship to diet. Eur J Clin Nutr. 2003;57(8):999–1008.
18. **Fong DS, Aiello LP, Ferris FL, Klein RK.** Diabetic retinopathy. Ophthalmol. 2004;27:2540–53.
19. **Lang G E.** Pharmacological treatment of diabetic retinopathy. Ophthalmologica. 2007;221(2):112–7.
20. **Pan H-Z, Zhang H, Chang D et al.** The change of oxidative stress products in diabetes mellitus and diabetic retinopathy. Br. J Ophthalmol. 2008;92:548–51.
21. **Reyk DM, Gillies MC, Davies MJ.** The retina: oxidative stress and diabetes. Redox Rep. 2003;8(4):187–92.
22. **Zimmer P.** Global and social implications of the diabetic epidemic. Nature. 2001;414:782–9.

Received 08.04.2014