

Вплив препарату на основі N-ацетилкарнозину на розвиток катехоламініндукованих морфофункціональних пошкоджень сітківки ока щурів

В.В. Санін¹, А.І. Яковець¹, К.В. Розова², Ю.П. Коркач², Ю.В. Гошовська²,
І.В. Шаргородська³, С.О. Риков³

¹ Київська міська клінічна офтальмологічна лікарня «Центр мікрохірургії ока»;

² Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ;

³ Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, Київ;
e-mail:ishargorodskamd@gmail.com

Вивчали вплив N-ацетилкарнозинвмісного препарату кларастіл на моделі адреналініндукованого підвищеного внутрішньоочного тиску (ВОТ) у щурів лінії Вістар. Досліджували ультраструктуру і маркери окисного стресу в сітківці ока. Виявили, що цей препарат достовірно не впливав на набрякові процеси в ультраструктурі сітківки ока, не зменшував потовщення ендотелію і гістогематичного бар'єра і відповідно не знижував значення ВОТ після 40-денної дії адреналіну. Однак його введення попереджало набухання мітохондрій, утворення вакуолізованих крист і, ймовірно, стимулювало енергопродукцію у вигляді компенсаторного механізму за умов гіперкатехолемії. Крім того, N-ацетилкарнозин знижував викликану адреналіном надпродукцію активних форм кисню і утворення продуктів перекисного окиснення ліпідів у тканинах ока, що вказує на реалізацію його антиоксидантної дії.

Ключові слова: сітківка; адреналін; внутрішньоочний тиск; окисний стрес; мітохондрії; N-ацетилкарнозин; глаукома.

ВСТУП

Будь-яке фізичне чи емоційне навантаження на організм людини супроводжується значною активацією нервової, серцево-судинної та інших систем, що зумовлено триразовим збільшенням насосної функції серця, зростанням роботи міокарда і його потреб в забезпеченні киснем. Останнє свідчить про активацію основного продуцента енергії в серцевому м'язі – мітохондрій, які становлять до 30% його маси і забезпечують надходження більш ніж 95% потрібного аденозинтрифосфату (АТФ). Не менш значні потреби в енергії і кисні мають клітини центральної нервової системи в тому числі і клітини зорового аналізатора.

АТФ у мітохондріях синтезується за рахунок окисного фосфорилування, внаслідок

© В.В. Санін, А.І. Яковець, К.В. Розова, Ю.П. Коркач, Ю.В. Гошовська, І.В. Шаргородська, С.О. Риков

чого крім АТФ підвищується продукція активних форм кисню (АФК): супероксидного радикала ($\cdot\text{O}_2^-$), гідроксильного радикала ($\cdot\text{OH}$) та стабільного метаболіту перекису водню (H_2O_2) [1], які інактивуються ферментами антиоксидантної системи – супероксиддисмутазою, каталазою, глутатіонпероксидазою і пероксиредоксином, що наявні в мітохондріях. Недостатність антиоксидантної системи призводить до надмірної продукції АФК, які разом із активними формами азоту, такими як пероксинітрит (ONOO^-) окиснюють біомолекули (ДНК, білки, ліпіди) і спричиняють розвиток клітинної дисфункції та її загибелі. Ці процеси є актуальними і для сітківки ока, про що свідчать дані нашої попередньої праці, в якій показано, що тривалий катехоламіновий вплив і підвищення внутрішньоочного тиску (ВОТ) призводять

до збільшення структурно пошкоджених мітохондрій, їх набряку, збільшення продукції АФК і посилення процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у тканинах сітківки ока [2].

Підвищений ВОТ є одним з основних факторів ризику розвитку глаукоми – хронічної прогресуючої оптиконейропатії, що характеризується руйнуванням гангліонарних клітин сітківки, зниженням світлочутливості сітківки, атрофією зорового нерва і поступовою незворотною втратою зору. У світі налічується понад 105 млн. хворих на глаукому, ще стільки ж навіть не підозрюють про її наявність, і до 2030 р. за прогнозом ця кількість може подвоїтися [3]. Серед причин сліпоти та інвалідності за хворобами очей одне з перших місць займає глаукома, незважаючи на очевидні успіхи в діагностиці і лікуванні [4].

Однією з проблем лікування глаукоми є поліфакторність. Однак наразі зниження ВОТ залишається основною контрольованою стратегією, яка попереджає втрату зору, і полягає у використанні антиглаукомних гіпотензивних очних крапель, лазерних і малоінвазивних хірургічних втручань з або без наступної фармакологічної підтримки. Новаторським для лікування глаукоми є застосування індивідуальних дренажних мікропристроїв [5]. Однак на одностайну думку офтальмологів, профілактика сліпоти від глаукоми, полягає в її ранній субклінічній діагностиці, своєчасно початому лікуванні, активній щорічній нейропротекторній терапії і динамічному спостереженні [4].

Все більшого визнання набуває нейропротекторна терапія, спрямована на підтримку трофічних процесів, оскільки існує точка зору [6], що важливу роль у глаукоматозному процесі відіграють порушення кровопостачання зорового нерва та сітківки, які супроводжуються хронічною ішемією, гіпоксією тканин, окисним стресом [4, 7]. Метою нейропротекції є підвищення резистентності зорового нерва до негативних факторів, які

провокують прогресування його атрофії, а також профілактика вторинної дегенерації та атрофії нервових волокон і сітківки [8]. Для цього використовують препарати, що покращують кровообіг у системі зорового нерва, сітківки такі як ангіопротектори, гемокоректори, нейропептиди, ноотропи, вітаміни і антиоксиданти [6, 7].

N-ацетилкарнозин (НАС) широко використовується як фармакологічний агент для збереження зору, зокрема для лікування катаракти [9], патогенез якої супроводжується з надмірними окисними процесами. Він є метаболітом ендогенного дипептиду з антиоксидантними властивостями карнозину (β -аланіл-L-гістидину), вміст якого в кришталіку при катаракті знижується в 5 разів [10]. Екзогенний НАС також проявляє антиоксидантні властивості, має здатність проникати в передню камеру ока, де потім метаболізується до L-карнозину і реалізує свою антиоксидантну дію, з чим і пов'язують його ефективність в гальмуванні розвитку цієї патології. Другою характеристикою НАС є його шапероноподібні властивості. В експерименті на щурах було показано, що НАС у комплексі з D-пантенином зменшували фракцію водонерозчинних білків у кришталіку за дії ультрафіолетового випромінювання, чим попереджали його помутніння і формування та прогресування катаракти [11]. Крім того, показаний зв'язок НАС з гальмуванням вкорочення теломерів в епітеліальних клітинах кришталіка і відповідно старіння цих клітин, що викликається окисним стресом і так само проявляється при катаракті [12, 13]

Незважаючи на позитивний вплив НАС, отриманий в досліджах на тваринах, в літературі є повідомлення, базовані на широкомасштабному пошуку серед результатів клінічних досліджень за останні півстоліття, які вказують на відсутність переконливих доказів ефективності його використання для запобігання прогресування катаракти у людей [14]. Хоча ймовірною причиною цього автори відмічають відсутність стандартизованого

рандомізованого, плацебо-контрольованого протоколу дослідження. З іншого боку, низький ступінь проникності сполуки і її біодоступності дійсно може бути причиною неефективного лікування. Однак цю проблему можна вирішити за допомогою використання наночастинок, таких як PLGA (poly lactic-co-glycolic acid nanoparticles) або наночастинок золота як систем транспортування NAC [15, 16], що може лягти в основу нового покоління препаратів для збереження зору.

Метою нашої роботи було оцінити вплив NAC-вмісного препарату на розвиток катехоламінових пошкоджень ультраструктури сітківки ока та показники окисного стресу у щурів.

МЕТОДИКА

Дослідження проводили з використанням самців щурів лінії Вістар масою 330-350 г, віком 10 міс, яких утримували на стандартному раціоні віварію Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. Тварин розділили на три групи: контрольну, тварини якої не зазнавала жодних впливів, і дві дослідних, тваринам яких моделювали гіперкатехолемію введенням 20 внутрішньоочеревинних ін'єкцій препарату адреналіну (діюча речовина епінефрину гідротартрат, «Дарниця», Україна) протягом 40 днів за схемою, описаною раніше [2, 17]. Тваринам I дослідної групи вводили лише адреналін, а II – адреналін і NAC у вигляді препарату кларастіл («Bruschettini S.r.l.», Італія), який закапували в кон'юнктивальний мішок по 1-2 краплі в обидва ока щодня протягом місяця. ВОТ вимірювали у правому і лівому очах, використовуючи апланаційний тонометр Топо Vet («Icare», Фінляндія). Здійснювали забір тканин ока для дослідження ультраструктури або для біохімічних показників.

Усі морфологічні та морфометричні дослідження виконували на фотографіях сітківки ока, отриманих на електронному мікроскопі «ПЕМ-125К» (Україна). Препарати

для електронно-мікроскопічних досліджень виготовляли за загальноприйнятою методикою [18]. Біологічний матеріал фіксували за допомогою забуференого (рН 7,4) 2,5%-го розчину глютарового альдегіду; дофіксацією за допомогою реактиву Колфілда (на основі 2 % OsO₄, рН 7,4), зневодненням матеріалу в спиртах зростаючої концентрації, абсолютному спирті та ацетоні з наступною заливкою в епон-аралдит. Ультратонкі зрізи товщиною 40–60 нм контрастували 1%-м розчинами ураніл ацетату та цитрату свинцю за методикою Рейнольдса [19]. За допомогою комп'ютерної програми Image Tool на 130–150 полях для кожної серії досліджень визначали середню загальну кількість мітохондрій; середню кількість структурно змінених мітохондрій; середній діаметр мітохондрій.

Відповідно до сучасної номенклатури прийнято вирізняти такі шари сітківки ока: шар клітин пігментного епітелію, шар зовнішніх та внутрішніх сегментів фоторецепторів, зовнішня погранична мембрана, зовнішній ядерний шар, зовнішній сітчастий шар, внутрішній ядерний шар, внутрішній сітчастий шар, гангліонарний шар, шар нервових волокон, внутрішня погранична мембрана [20]. Усі ці шари тією чи іншою мірою задіяні у формуванні патологічних змін при підвищенні ВОТ. Проте в морфологічному та морфометричному дослідженні ми не робили акценту на дослідженні змін, котрі спостерігалися в сітківці, за її шарами, а зосереджували увагу на тканинних, клітинних особливостях та відмінностях ультраструктури окремих органел при підвищенні ВОТ, викликаного дією адреналіну. На електронних мікрофотографіях проводили також морфометричну оцінку середньої арифметичної товщини (τ) ендотеліальної вистилки капілярів (ЕН) та перикапілярних просторів (ПКП), а також відстані τ від крові капілярів безпосередньо до тканини сітківки – «гістогематичного бар'єра» (ГГБ) – за принципом випадкового відбору зразків (по 80 при кожному впливі) [21].

Для біохімічних досліджень зразки сітківки ока подрібнювали та негайно заморожували у рідкому азоті. Інтенсивність оксидативного метаболізму оцінювали за зміною швидкості генерації нестабільних вільних радикалів кисню – супероксидного аніон-радикала ($\cdot\text{O}_2^-$) і $\cdot\text{OH}$ -радикала, і кінцевих продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) – малонового діальдегіду (МДА), дієнових кон'югатів, а також ейкозаноїда лейкотрієну C_4 .

Швидкість генерації $\cdot\text{O}_2^-$ в гомогенатах тканин визначали за окисненням цитохрому *c* у тріс-НСІ-буфері (10 ммоль/л) при 37°C, рН 7,4, фіксуючи зміни екстинції після інкубації проби при 37°C, рН 7,4 протягом 30 хв при $\lambda = 550$ нм. Вміст $\cdot\text{O}_2^-$, генерованого пробами під час інкубації, визначали за коефіцієнтом молярної екстинції $\lambda = 21\,000$ моль⁻¹ · см⁻¹ [22].

Для визначення швидкості генерації $\cdot\text{OH}$ -радикала готували інкубаційну суміш у складі (ммоль/л): дезоксирибоза – 20; H_2O_2 – 1; натрій-фосфатний буфер – 20; рН 7,4. Пробу інкубували при 37°C протягом 60 хв, додавали 0,5 мл 1%-го розчину тіобарбітурової кислоти в розчині NaOH (50 ммоль/л) і 0,5 мл 2,8%-го розчину трихлороцтової кислоти. Отриману суміш витримували на водяній бані 20 хв, охолоджували та реєстрували екстинцію при $\lambda = 532$ нм. Вміст $\cdot\text{OH}$ -радикала, що генерувався при цьому, виражали в умовних одиницях $\Delta\text{E} \cdot 10^2$ за 60 хв на 1 мг білка проби [23].

Вміст МДА визначали так: до аліквот проб додавали 0,5 мл 1%-го розчину тіобарбітурової кислоти в 50 ммоль/л NaOH, під час чого формувалася триметиновий комплекс як похідне червоного забарвлення, і 0,5 мл 2,8%-го розчину трихлороцтової кислоти. Отриману суміш витримували 20 хв на водяній бані, охолоджували і вимірювали екстинцію при 532 нм. Вміст МДА розраховували з використанням коефіцієнта молярної екстинції $\lambda = 15600$ моль⁻¹ · см⁻¹ [24].

Вміст лейкотрієну C_4 визначали в спиртових екстрактах із заморожених у рідкому азоті та розтертих у порошок пробах за допомогою

радіоімунного методу, користуючись стандартними добірками реактивів «Amersham» (Англія). Радіоактивність проб вимірювали на лічильнику фірми «Bacman» (Німеччина).

Методика визначення вмісту дієнових кон'югатів включала екстракцію ліпідів із зразків за допомогою органічних розчинників (гептан/ізопропанол 1:1) і вимірювання екстинції при 232 нм [25]. Вміст дієнових кон'югатів перераховували з використанням коефіцієнту молярної екстинції 21000 моль⁻¹ · см⁻¹.

Отримані результати наводити у вигляді $M \pm m$, вірогідність відмінностей між показниками оцінювали за критерієм *t* Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Введення НАС-вмісного препарату як антиоксидантного засобу при моделюванні катехоламінових пошкоджень сітківки ока супроводжувалось зниженням розвитку окисного стресу. Так, достовірним було зменшення швидкості продукції супероксидного- і гідроксильного радикалів на 33,3 і 62,5% та 52,8 і 39,1% в правому і лівому очах відповідно (табл. 1). Ці результати свідчать про реалізацію антирадикальної дії досліджуваного препарату. Разом з тим вміст проміжних продуктів окиснення ліпідів – дієнових кон'югатів – вірогідно збільшився в правому і лівому оці на 48 і 8% відповідно, хоча лейкотрієну залишився незмінним. Це говорить про вплив препарату на різні ланки ферментативного окиснення ліпідів мембран. Імовірно ліпоксигеназний шлях, продуктом якого є лейкотрієн C_4 , залишився поза впливом препарату. Водночас вміст кінцевого метаболіту ПОЛ – МДА – знизився на 15,4 і 22% ($P < 0,05$) порівняно зі значеннями в I дослідній групі.

Отримані результати морфологічних досліджень дають змогу зробити деякі висновки та припущення щодо ефективності застосування НАС-вмісного препарату для корекції ультраструктурних змін, викликаних дією катехоламінів. Застосований препарат, мабуть, як і засоби подібної фізіологічної

Таблиця 1. Маркери окисного стресу в тканинах сітківки ока щурів з гіперкатехолемією (M ± m)

Показники	Око	Контроль (n = 6)	Дослідні групи	
			Введення адре- наліну (I, n = 6)	Введення адреналіну та N-ацетилкарнози- ну (II, n = 5)
Супероксидний аніон-радикал, нмоль·хв ⁻¹ ·мг ⁻¹ білка	Праве	2,3 ± 0,23	6,3 ± 0,06*	4,2 ± 0,01**
	Ліве	1,8 ± 0,12	14,4 ± 0,08*	5,4 ± 0,03**
Гідроксильний радикал, нмоль·хв ⁻¹ ·мг ⁻¹ білка	Праве	0,53 ± 0,09	1,21 ± 0,02*	0,57 ± 0,03**
	Ліве	0,89 ± 0,05	0,97 ± 0,03	0,59 ± 0,02**
Дієнові кон'югати, нмоль/мг білка	Праве	11,7 ± 0,13	12,5 ± 0,09*	18,5 ± 1,1**
	Ліве	11,7 ± 0,10	17,5 ± 0,32*	18,9 ± 0,1**
Лейкотрієн С ₄ , пмоль/мг білка	Праве	18,3 ± 1,22	26,6 ± 0,05*	26,0 ± 0,6
	Ліве	21,8 ± 0,9	23,2 ± 1,3	22,3 ± 0,02
Малоновий діальдегід, нмоль/мг білка	Праве	22,36 ± 1,41	40,1 ± 0,39*	33,9 ± 1,1**
	Ліве	34,0 ± 1,63	46,4 ± 0,19*	36,2 ± 0,9**

*P < 0,05 відносно контрольних значень **P < 0,05 відносно значень в I дослідній групі.

спрямованості, не призводять до усунення структурної складової ендотеліальної дисфункції, свідченням чого є збереження гіпергідратації ГГБ сітківки – його арифметичної товщини (τ), в тому числі й ендотеліальної вистілки капілярів (рис. 1). Не спостерігалось достовірних змін τ ГГБ, ЕН та ПКП.

Також не було виявлено вираженого зменшення деструктивних зміни нейронів сітківки, вакуолізації, розривів і тотального просочування тканини сітківки плазмою (з або без білків) крові (рис. 2).

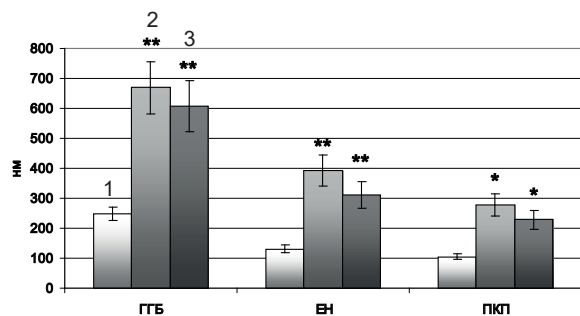


Рис. 1. Зміни середньої арифметичної (τ) товщини гістогематичного бар'єра (ГГБ) та його шарів (ЕН – ендотеліальна вистілка капілярів, ПКП – перикапілярні простори) в сітківці ока щурів. 1 – контроль, 2 – введення адреналіну, 3 – введення адреналіну та N-ацетилкарнозину. *P < 0,05, **P < 0,01 відносно контрольних значень

На рис. 2 слід відмітити досить добре збереження структури мітохондрій. Морфометричне вивчення мітохондріального апарату нейронів сітківки виявило, що загальна кількість органел під впливом препарату не змінювалася (табл. 2). Проте зменшувалася кількість структурно змінених мітохондрій у середньому на 34,6% відносно значень I дослідної групи. Причому зменшувалася кількість повністю вакуолізованих органел, значна частина мала невеликі ділянки

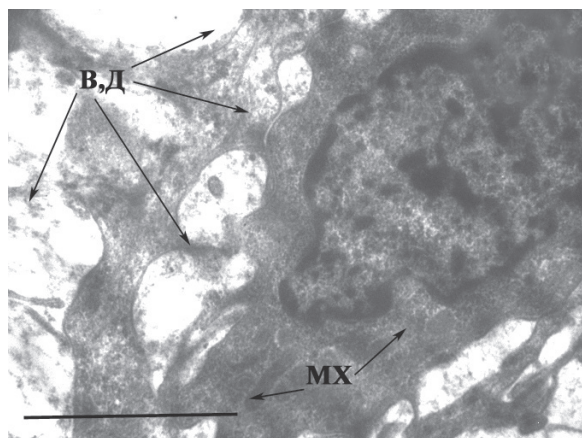


Рис. 2. Ультраструктура сітківки ока у тварин з введенням адреналіну та N-ацетилкарнозину. в – вакуолі, д – деструкція, MX – мітохондрії. Масштаб 1 мкм

Таблиця 2. Морфометричні характеристики мітохондріального апарату сітківки ока щурів (M ± m)

Показники	Контроль (n = 6)	Дослідні групи	
		Введення адре- наліну (I, n = 6)	Введення адреналіну та N- ацетилкарнозину (II, n = 5)
Середня загальна кількість мітохон- дрій, од./10 мкм ²	15,8 ± 1,6	17,3 ± 2,1	16,5 ± 2,7
Середня кількість структурно зміне- них мітохондрій, %	6,1 ± 0,6	46,2 ± 8,4**	30,2 ± 2,3**
Середній діаметр мітохондрій, мкм	0,57 ± 0,02	1,02 ± 0,12*	30,2 ± 2,3**

*P < 0,05, **P < 0,01 відносно контрольних значень.

пошкоджених крист, в частині мітохондрій утворювалися везикулярні кристи, в деяких ущільнювався матрикс (рис. 3).

Як відомо, везикулярні кристи в мітохондріях вказують на перенапруження органел і синтез АТФ у режимі перенавантаження, що розглядають як компенсаторну реакцію на несприятливі умови [26]. Ущільнення мітохондріального матриксу спостерігаються при дослідженні некрозу міокарда у відповідь на введення адреналіну [27]. Окрім цього, ущільнення матриксу мітохондрій так само розглядається як компенсаторна реакція на несприятливі впливи для оптимізації синтезу макроергів [28].

Позитивні зміни ультраструктури мітохондрій при застосуванні НАС-вмісного препарату в II дослідній групі полягали ще у зниженні ступеня їх набухання зі зменшен-

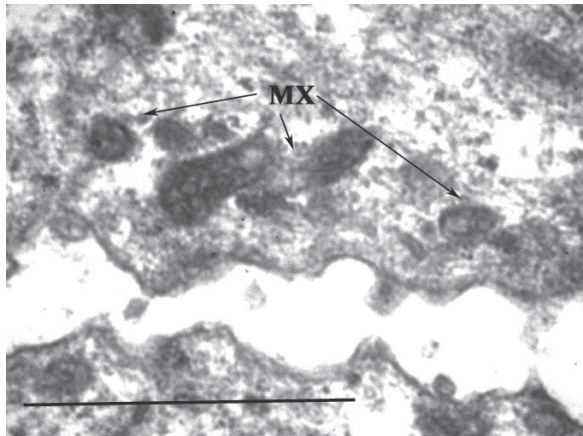


Рис. 3. Ультраструктура мітохондрій (MX) у сітківці ока тварин з введенням адреналіну і антиоксидантного препарату. Масштаб 1 мкм

ням середнього діаметра на 25,5% відносно значень у I дослідній групі (P < 0,05; табл. 2). Такі зміни зменшували ймовірність повної руйнації мітохондрій за некротичним шляхом, а також вказували на зменшення кількості органел, змінених незворотно. Отримані результати свідчать про те, що в тканині може відбуватися поліпшення енергетичного метаболізму за умов експерименту.

Введення НАС-вмісного препарату достовірно не впливало на значення ВОТ в II дослідній групі, які становили 11,17 ± 1,82 мм рт. ст. у правому і 11,5 ± 0,96 мм рт. ст. у лівому оці, водночас в I дослідній групі ці показники сягали значень 11,2 ± 0,9 і 9,7 ± 0,36 мм відповідно і були вірогідно вищим за значення в контрольній групі в середньому на 20% в кожному оці. Відсутність очікуваного зниження ВОТ під дією препарату можна пояснити тривалістю його введення, з одного боку, а з іншого, – активацією багатьох механізмів вазоконстрикції за дії адреналіну, відмінних від надпродукції АФК, зокрема перевантаженням клітин кальцієм і збільшенням експресії прозапальних цитокінів, що в свою чергу збільшує тонус судин, на які дія НАС безпосередньо не поширюється.

Можна констатувати, що застосування препарату НАС при експериментальній катехолемії не впливало на набрякові процеси в сітківці ані щодо біологічних бар'єрів, ані щодо тканини сітківки загалом. Тобто безпосередньо на зниження ВОТ препарат не впливав. Це підтверджує відсутність зменшення значень ВОТ у II дослідній групі. Од-

нак завдяки антиоксидантній здатності НАС покращує ультраструктуру мітохондрій у тканині сітківки, що має, з одного боку, сприяти оптимізації енергетичного метаболізму за умов збільшення адреналіну в організмі, з іншого – зменшувати утворення вільних радикалів і пригнічувати таким чином прогресію оксидативного стресу.

Таким чином, результати наших досліджень свідчать, що введення препарату НАС як антиоксиданта при моделюванні гіперкатехолемії і як одного із основних чинників підвищеного ВОТ і ризик-факторів виникнення глаукоми супроводжувалося зменшенням продукції АФК та ПОЛ. Крім того, можна говорити про протекторну дію препарату на цілісність мембран мітохондрій і, ймовірно, активацію енергопродукції як компенсаторний механізм при надмірній адреностимуляції. Однак за час дослідження препарат не зменшував набрякові процеси в тканинах сітківки ока, як показали результати дослідження ультраструктури, і відповідно не знижувався ВОТ. Разом з тим його можна використовувати в комплексній терапії підвищеного тонузу внутрішньоочних капілярів як антиоксидантний та мембраностабілізуючий засіб.

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

В.В. Санін, А.І. Яковець, К.В. Розова, Ю.П. Коркач, Ю.В. Гошовська, І.В. Шаргородська, С.О. Рыков

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ N-АЦЕТИЛКАРНОЗИНА НА КАТЕХОЛАМИНИНДУЦИРОВАННЫЕ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ СЕТЧАТКИ ГЛАЗА КРЫС

Изучали влияние N-ацетилкарнозинсодержащего препарата кларастил на адреналининдуцированные структурные и

функциональные нарушения глаза у крыс линии Вистар. Изучали внутриглазное давление (ВГД), морфологию и маркеры окислительного стресса в сетчатке глаза. Обнаружили, что препарат не влиял на отечные процессы в ультраструктуре сетчатки глаза, не уменьшал утолщение эндотелия и гистогематического барьера, и соответственно не понижал ВГД), вызванное введением адреналина. Однако введение препарата предупреждало набухание митохондрий, образование вакуолизованных крист и вероятно стимулировало энергопродукцию в качестве компенсаторного механизма в условиях гиперкатехолемии. Кроме того, N-ацетилкарнозин снижал вызванное адреналином сверхпроизводство активных форм кислорода и продуктов перекисного окисления липидов в тканях глаза, что указывает на реализацию его антиоксидантного действия.

Ключевые слова: сетчатка; адреналин; внутриглазное давление; окислительный стресс; митохондрии; N-ацетилкарнозин; глаукома.

**V.V. Sanin¹, A.I. Yakovets¹, K.V. Rozova²,
Yu.P. Korkach², Yu.V. Goshovska²,
I.V. Shargorodska³, S.O. Rykov³**

EFFECT OF N-ACETYLCARNOSINE CONTAINED EYE DROP ON CATECHOLAMINE-INDUCED MORPHOFUNCTIONAL DAMAGE IN RAT RETINA

¹ Kyiv City Clinical Ophthalmic Hospital Center for Eye Microsurgery;

² O.O. Bogomoletz Institute of Physiology, NAS of Ukraine, Kyiv;

³ Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education of the Ministry of Health of Ukraine, Kyiv;
e-mail:ishargorodskamd@gmail.com

The effects of N-acetylcarnosine (NAC)-contained eye drop 'Clarasil' on a model of adrenaline-induced high intraocular pressure (IOP) in Wistar rats were studied. The retina ultrastructure and markers of oxidative stress have been studied. NAC was found to have no significant effect on edema in the retinal ultrastructure, did not reduce endothelial thickening and histogemic barrier, and accordingly did not affect the value of IOP after prolonged adrenaline administration. However, the introduction of the eye drop prevented the swelling of the mitochondria, the formation of vacuolated crystals and probably stimulated energy production as a compensatory mechanism under conditions of hypercatecholeemia. In addition, NAC significantly reduced adrenaline-induced overproduction of reactive oxygen species and lipid peroxidation products in eye tissues, indicating its antioxidant effect.

Keywords: retina; adrenaline; intraocular pressure; oxidative stress; mitochondria, N-acetylcarnosine, glaucoma.

REFERENCES

1. Sovari AA, Dudley SC Jr. Reactive oxygen species-targeted therapeutic interventions for atrial fibrillation. *Front Physiol.* 2012 Aug 6;3:311.
2. Rykov SO, Shargorodska IV, Rozova KV, Korkach YuP, Goshovska YuV, Sanin VV, Yakovets AI, Dufynets VA. Catecholamine-induced morphofunctional disorders and oxidative stress in rat retina. *Fiziol Zh.* 2020;66(1): 21-30.
3. Tamm ER., Schmetterer LE, Grehn FG. Status and perspectives of neuroprotective therapies in glaucoma: The European Glaucoma Society White Paper. *Cell Tiss Res.* 2013; 353(2): 347-54.
4. Moiseenko RO, Golubchikov MV, Slabkiy GO, Rykov SO. Oftalmologichna dopomoga v Ukraini za roki nezalezhnosti. Kyiv. 2019. 368p.
5. Park H, Raffiee AH, John SWM, Ardekani AM, Lee H. Towards smart self-clearing glaucoma drainage device. *Microsyst Nanoeng.* 2018;4:35.
6. Weinreb RN. Glaucoma neuroprotection: What is it? Why is it needed? *Can J Ophthalmol.* 2007;42:396-8.
7. Kaushik S, Pandav SS, Ram J. Neuroprotection in glaucoma. *J Postgrad Med.* 2003; 49: 90-5.
8. Barkana Y, Belkin M. Neuroprotection in ophthalmology: A review. *Brain Res Bull.* 2004;62:447-53.
9. Babizhayev MA, Burke L, Micans P, Richer SP. N-Acetylcarnosine sustained drug delivery eye drops to control the signs of ageless vision: glare sensitivity, cataract amelioration and quality of vision currently available treatment for the challenging 50,000-patient population. *Clin Interv Aging.* 2009;4:31-50.
10. Boldyrev AA, Dupin AM, Bunin AY, Babizhayev MA, Severin SE. The antioxidative properties of carnosine, a natural histidine containing dipeptide. *Biochem Int.* 1987;15:1105-13.
11. Avetisov SE, Sheremet NL, Muranov KO, Polianskii NB, Polunin GS, Ostrovskii MA. Deceleration of cataract development in rats under the action of N-acetylcarnosine and D-pantethine mixture. *Eksp Klin Farmakol.* 2014;77(11):11-5.
12. Shao L, Li QH, Tan Z. L-carnosine reduces telomere damage and shortening rate in cultured normal fibroblasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004; 324(2), 931-6.
13. Babizhayev MA; Yegorov YE. Telomere attrition in lens epithelial cells - a target for N-acetylcarnosine therapy. *Front Biosci.* 2010;15:934-56.
14. Dubois VD, Bastawrous A. N-acetylcarnosine (NAC) drops for age-related cataract. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017 Feb 28;2:CD009493.
15. Budama-Kiline Y, Cakir-Koc R, Kecel-Gunduz S, Kokcu Y, Bicak B, Mutlu H, E Ozel A. Novel NAC-loaded poly(lactide-co-glycolide acid) nanoparticles for cataract treatment: preparation, characterization, evaluation of structure, cytotoxicity, and molecular docking studies. *PeerJ.* 2018 Jan 30;6:e4270.
16. Wang Y, Xia R, Hu H, Peng T. Biosynthesis, characterization and cytotoxicity of gold nanoparticles and their loading with N-acetylcarnosine for cataract treatment. *J Photochem Photobiol B.* 2018 Oct;187:180-3.
17. Mikheyeva IM. Protective effect of melatonin on experimental glaucoma in rats. *Fiziol Zh.* 2013;59(1):78-83.
18. Wickley B. Electron microscopy for beginners. M: World. 1975.
19. Karupu VYa. Electron microscopy. K: Vish School. 1984.
20. Eglén SJ, Weeks M, Jessop M, Simonotto J, Jackson T, Sernagor E. Data repository and analysis framework for spontaneous neural activity recordings in developing retina. *Gigascience* 2014; 3(1):3.
21. Weibel ER. Human lung morphometry M.: Medicine. 1970. 170p.
22. Kuthan H, Ullrich V, Estabrook RW. A quantitative test for superoxide radicals produced in biological systems. *Biochem J.* 1982;203(3): 551-8.
23. Humphries KM, Yoo Y, Szweda LI. Inhibition of NADH-linked mitochondrial respiration by 4-hydroxy-2-nonenal. *Biochem.* 1998;37(2): 552-7.
24. Gavrilov VB, Gavrilova AR, Khmara NF. Measurement of diene conjugates in blood plasma using the UV absorption of heptane and isopropanol extracts. *Lab Delo.* 1988;(2): 60-4.
25. Mihara M, Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem.* 1978;86(1): 271-8.
26. Sudakova YV, Bakeyeva LY, Tsiplenkova VG. Energozavisimyie izmeneniya avtostroktury mitokhondriy kardiomiotsitov cheloveka pri alkogol'nom porazhenii serdtsa. *Arkhiv Patologii.* 1999;2:15-20.
27. Novoselov VP, Savchenko SV, Porvin AN, Koshlyak DA, Nadev AP, Ageeva TA, Chikinev YV, Polyakevich AS. Ultrastructure of Cardiomyocytes and Blood Capillary Endotheliocytes in the Myocardium under Conditions of Experimental Mechanical Injury to the Heart. *Bull Exp Biol Med.* 2016 May;161(1):134-6.
28. Antonova EI. Ultrastructural manifestations of the primary compensatory-adaptive response of hepatocytes in animals with various thermoregulation after exposure to hyperthermia. *Morfologiya.* 2008;133(4):24-8.

*Матеріал надійшов
до редакції 09.06.2020*