

Спасов А.А., Говорова Ю.А., Науменко Л.В., Бабков Д.А., Таран А.С., Смирнов А.В., Великородная Ю.И.
ВЛИЯНИЕ АМИНОГУАНИДИНА НА КАТАРАКТОГЕНЕЗ В УСЛОВИЯХ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА

ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 400131, Волгоград

♦ Неферментативное гликирование хрусталиковых белков при сахарном диабете является одним из патогенетических механизмов образования катаракты. Аминогуанидин, обладающий антигликирующей активностью, по результатам данного исследования препятствует катарактогенезу при экспериментальном сахарном диабете. У лабораторных животных со стрептозоточиин-индуцированным сахарным диабетом на фоне приема аминогуанидина в меньшей степени формируются помутнения в хрусталиках, в хрусталиках снижено содержание конечных продуктов гликирования, в частности, карбоксиметиллизина, по сравнению с аналогичными показателями животных контрольной группы сахарного диабета.

Ключевые слова: сахарный диабет; аминогуанидин; неферментативное гликирование; конечные продукты гликирования; карбоксиметиллизин; катаракта; внутриглазное давление.

Для цитирования: Спасов А.А., Говорова Ю.А., Науменко Л.В., Бабков Д.А., Таран А.С., Смирнов А.В., Великородная Ю.И. Влияние аминогуанидина на катарактогенез в условиях экспериментального сахарного диабета. *Российский медицинский журнал*. 2019; 25(5-6): 303-308.

DOI <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2106-2019-25-5-6-303-308>

Для корреспонденции: Говорова Юлия Александровна, соискатель кафедры фармакологии и биоинформатики ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 400131, Волгоград, E-mail: j.govorova@yandex.ru.

Spasov A.A., Govorova Yu.A., Naumehko L.V., Babkov D.A., Taran A.S., Smirnov A.B., Velikorodnaya Yu.I.
EFFECT OF AMINO GUANIDINE ON CATARACTOGENESIS IN EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

Volgograd State Medical University, 400131, Volgograd, Russian Federation

♦ Nonenzymatic glycosylation of lens proteins in diabetes mellitus is one of the pathogenetic mechanisms of cataract formation. According to the results of this study, aminoguanidine, which has anti-glycation activity, inhibits cataractogenesis in experimental diabetes. Laboratory animals with streptozotocin-induced diabetes mellitus treated with aminoguanidine showed less clouding in the lenses, and the content of advanced glycation end products, in particular, carboxymethyllysine, in the lenses was found to be reduced compared to the same parameters in animals from the control diabetic group.

Keywords: diabetes mellitus; aminoguanidine; nonenzymatic glycation; glycation end products, carboxymethyllysine; cataract; intraocular pressure.

For citation: Spasov A.A., Govorova Yu.A., Naumehko L.V., Babkov D.A., Taran A.S., Smirnov A.B., Velikorodnaya Yu.I. Effect of aminoguanidine on cataractogenesis in experimental diabetes mellitus. *Rossiiskii meditsinskii zhurnal (Medical Journal of the Russian Federation, Russian journal)*. 2019; 25(5-6): 303-308. (In Russ.)

DOI <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2106-2019-25-5-6-303-308>

For correspondence: Yulia A. Govorova, applicant for the Department of Pharmacology and Bioinformatics, Volgograd State Medical University, 400131, Volgograd, Russian Federation, E-mail: j.govorova@yandex.ru

Information about authors:

Spasov A.A., <https://orcid.org/0000-0002-7185-4826>

Govorova Y.A., <https://orcid.org/0000-0002-8585-4755>

Naumehko L.V., <https://orcid.org/0000-0002-2119-4233>

Babkov D.A., <https://orcid.org/0000-0002-9645-3324>

Taran A.S., <https://orcid.org/0000-0001-8477-254X>

Velikorodnaya Y.I., <https://orcid.org/0000-0003-2976-6352>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Received 01.12.19
Accepted 13.12.19

Актуальность исследования

Катаракта является основной причиной нарушения зрения у больных сахарным диабетом [1–3]. Согласно литературным данным продолжительность диабета и качество гликемического контроля влияют на вероятность развития катаракты [4, 5].

В настоящее время описываются возможные пути катарактогенеза. В частности, есть данные о влиянии оксидативного стресса [6, 7], накопления сорбитола в хрусталике в результате активации полиольного пути обмена глюкозы [8, 9], а также неферментативного гли-

кирования белков хрусталика, приводящего к образованию диабетической катаракты [10,11].

Хрусталик представляет собой достаточно закрытую систему, лишенную сосудов, имеющую ограниченные возможности для регенерации. Белки достигают 35% массы хрусталика и более 85% его сухого остатка, а их особое физико-химическое состояние во многом определяет его прозрачность. Белки хрусталика относятся к долгоживущим и являются уязвимыми для неферментативного гликирования, которое является, по сути, пост-трансляционной модификацией высокомолекулярной

структуры белка. В такой зоне лимитированного белкового обмена степень гликирования белков может повышаться в 10 раз [12].

Развитие катаракты характеризуется увеличением зон светорассеяния, которые появляются при дезорганизации хрусталиковых волокон. Неферментативное гликирование вызывает формирование поперечных сшивок (кросслинкинг) в высокомолекулярной структуре белка, что вызывает их конформационное преобразование [13, 14], агрегацию молекул [15], потерю ими растворимости [16] и, в конечном счете, окрашивание и снижение прозрачности хрусталика [17], поскольку конечные продукты гликирования (КПГ) выступают в роли фотосенсибилизаторов [18, 19].

В эксперименте [20] КПГ приводили к снижению конформационной стабильности гамма-кристаллина – одной из фракций водорастворимых хрусталиковых белков. В работе [21] показано, что гликирование альфа-кристаллина приводило к потере им шапероноподобной активности, повышению образования карбоксиметиллизина (КМЛ) и увеличению флуоресценции КПГ. При сахарном диабете повышается концентрация КПГ как в хрусталике [17, 22], так и во влаге передней камеры глаза [23], что позволяет рассматривать их как предиктор развития катаракты и диабетической ретинопатии [24].

Карбоксиметиллизин (КМЛ) является одним из основных продуктов неферментативного гликирования [25, 26], к тому же единственным из КПГ, который выступает лигандом для рецепторов КПГ (RAGEs). Связывание КПГ с RAGEs приводит к увеличению генерации свободных радикалов, активации ядерного фактора NF- κ B и повышению уровня медиаторов воспаления. КМЛ согласно некоторым источникам является основным КПГ, определяемом в хрусталике [27, 28].

Примером реакции неферментативного гликирования является реакция Майяра [29, 30]. Ингибирование ее на каком-либо этапе должно вызывать торможение катарактогенеза [31, 32].

Аминогуанидин чаще других используют в качестве эталонного антигликирующего агента в эксперименте [11, 33, 34]. Аминогуанидин является гидразиноподобной молекулой, проявляющей антигликирующее действие. Он действует не только на образование КПГ, но и посредством основной активности влияет на иные, связанные звенья патогенеза (активность протеинкиназы C, NF- κ B, зависящие от уровня КПГ и др.). Действие будет носить множественный характер, поскольку патогенетическая роль КПГ множественна. В условиях эксперимента аминогуанидин устранял микроальбуминурию, ассоциированную с СД, при этом нормализуя уровень активности гломерулярной протеинкиназы C [35]. Согласно одним литературным данным аминогуанидин вызывает задержку развития катаракты у диабетических животных [36, 38], другим – не оказывает на этот процесс никакого влияния [11, 39]. Препарат снижал воспаление нервной ткани при болезни Альцгеймера, при этом подавляя активность NF- κ B [40]. При этом неизменно активность аминогуанидина

сопровождается подавлением образования КПГ в условиях *in vivo* и *in vitro*.

Существует множество возможных механизмов действия в предотвращении формирования КПГ, среди которых хелатирование металлов переходного ряда, антиоксидантное действие, связывание карбонильных интермедиатов и др. Ряд активностей могут быть взаимозависимы друг с другом, и могут определяться общими структурными элементами молекулы, значимыми для каждой из активностей или более тонкими квантово-химическими характеристиками [41, 42]. Среди КПГ-ассоциированных механизмов действия препарата рассматривались: 1) ингибирование продуктов Амадори; 2) связывание реактивных карбонильных соединений, 3) ингибирование семикарбазид-чувствительной аминоксидазы (SSAO) – фермента продуцента метилглиоксали [43]. Наиболее устоявшийся взгляд на активность аминогуанидина предполагает, что он связывает дикарбонильные соединения (глиоксаль, метилглиоксаль и 3-дезоксиглюкозон), образуящиеся как промежуточный продукт в реакции гликирования. Относительно селективная блокада iNO-синтазы аминогуанидином играет роль в предупреждении сосудистых осложнений сахарного диабета.

Учитывая вышесказанное, является перспективным поиск среди антигликирующих соединений потенциальных антикатарактальных агентов.

Целью данного исследования является изучение образования помутнения хрусталиков у крыс при стрептозотоцин – индуцированном сахарном диабете и оценить влияние на этот процесс аминогуанидина.

Материал и методы

Эксперименты проведены на половозрелых крысах-самцах линии Sprague Dawley, доставленных из ООО «НПК БиоТех» (Москва) и прошедших 2-х недельный карантин в виварии ВолГМУ. Содержание животных и проведение экспериментов соответствовало «Принципам надлежащей лабораторной практики» (ГОСТ Р-53434-2009) и рекомендациям «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств».

В группу контроля вошли интактные лабораторные животные. У остальных вызвали сахарный диабет стрептозотоцином, растворенным в 0,1М натрий-цитратном буфере (pH 4,5), который вводили в хвостовую вену в дозе 45 мг/кг. Из эксперимента исключались животные с уровнем гликемии менее 15 ммоль/л. Крысы со стрептозотоцин-индуцированным диабетом были разделены на две группы: группу контроля сахарного диабета (СД) и опытную группу СД с животными, которые получали внутривенно аминогуанидин в дозе 50 мг/кг, начиная с 7 дня после введения стрептозотоцина в течение последующих 3 мес.

Для прижизненного исследования хрусталиков глаз лабораторных животных проводили офтальмоскопию в режиме ретроиллюминации на портативной щелевой лампой Digital hand-held slit amp (США) с фотореги-

страцией изображения в условиях медикаментозного мидриаза, вызываемого закапыванием 1% раствором тропикамида, в начале и в конце эксперимента. Для оценки степени помутнения хрусталиков использовали модифицированную классификацию Suryanarayana et al. [44, 45]:

- ♦ 0 – прозрачный хрусталик;
- ♦ 1 – минимальная непрозрачность в центре хрусталика (наличие небольшого количества субкапсулярных вакуолей);
- ♦ 2 – очаговые помутнения в центре и по периферии хрусталика («туманное» помутнение коры);
- ♦ 3 – помутнение всего хрусталика (плотное помутнение ядра и «туманное» помутнение коры);
- ♦ 4 – зрелая катаракта – плотное помутнение коры и ядра хрусталика.

Также дополнительно проводилось измерение внутриглазного давления (ВГД) с помощью офтальмологического ветеринарного тонометра Tonovet (Финляндия), не требующего предварительной анестезии роговицы. Следует подчеркнуть, что согласно зарубежным литературным данным, влияние аминогуанидина на уровень ВГД отсутствует или является незначительным [46-48].

После эвтаназии лабораторных животных (400 мг/кг хлоралгидрата внутривенно) глазные яблоки были энуклеированы. Одно глазное яблоко каждого лабораторного животного подвергалось патоморфологическому исследованию, из другого выделялся хрусталик для определения содержания в нем КПП и КМЛ.

Для фиксации глазного яблока использовали свежеприготовленный модифицированный раствор Давидсона [49]. Далее материал обезжизняли в батарее спиртов восходящей крепости и заключали в парафиновую среду Histomix. С полученных блоков на микротоме получали срезы толщиной 4-6 мкм и монтировали их на предметные стекла. Срезы окрашивали гематоксилином и эозин-флоксином по стандартной методике [50]. Микропрепараты изучали и фотографировали на микроскопе AxioScore A1, оборудованной цифровой камерой AxioCam MRc5.

Для оценки степени катаракты использовали балльную систему от 0 до 5 (Смирнов А.В., Великородная Ю.И.):

- ♦ 0 – признаки катаракты отсутствуют;
- ♦ 0,5-1 – начальные признаки субкапсулярной или кортикальной катаракты, проявляющиеся вакуолизацией и набуханием волокон хрусталика.
- ♦ 1,5-2 – локальные проявления катаракты, выражающиеся в гиперплазии эпителиальных клеток под капсулой (субкапсулярная) или набуханием волокон хрусталика (кортикальная).
- ♦ 2,5-3 – выраженная кортикальная катаракта с дефрагментацией и набуханием волокон, образование морганиевых телец.
- ♦ 3,5-4 – кортикальная катаракта охватывает весь хрусталик (дефрагментация и набухание волокон, наличие «баллонных клеток», морганиевых телец по всему периметру хрусталика).
- ♦ 4,5-5 – ядерная катаракта (гиалиноз).

Определение содержания КПП и КМЛ в хрусталиках проводили в соответствии с методом [51]. Количество КПП и КМЛ в супернатантах измеряли иммуоферментным методом с помощью коммерческого набора «ELISA Kit for Advanced glycation endproducts» (Cloud Clone, Китай) в соответствии с инструкцией производителя на многофункциональном микропланшетном ридере Infinite M200 PRO (Tecan, Австрия).

Полученные результаты статистически обрабатывали с помощью программы Microsoft Excel 2016 (США). Проводился расчет базовых статистических показателей, характеризующих вариационные ряды (среднее арифметическое значение $\bar{M}$, стандартная ошибка средней арифметической m). Достоверность результатов офтальмоскопии оценивали по критерию Манна-Уитни, достоверность данных офтальмотонометрии, иммуоферментного анализа и патоморфологического исследования – по t -критерию Стьюдента.

Результаты

Уровень глюкозы в крови у лабораторных животных уже на третий день после введения стрептозотоцина достоверно превосходил этот показатель у интактных крыс. В течение всего эксперимента уровень глюкозы в крови крыс с СД оставался достоверно высоким, превосходя значения интактной группы животных (в 4,5 раз – в 1 месяц, в 5,6 раз – во 2 месяце и в 5,1 раз – в третьем месяце). В группе животных, получавших аминогуанидин, уровень глюкозы на протяжении эксперимента также оставался достоверно высоким по сравнению с группой интактного контроля (в 4,5 раза – в 1 месяц, в 4,4 раза – во 2 месяце и в 4,4 раза – в третьем месяце). Таким образом, аминогуанидин не оказывал влияния на уровень глюкозы в крови, и данный показатель был сопоставим в обеих группах животных с СД.

Развитие диабета у крыс сопровождалось потерей веса, у них развивались полиурия, полидипсия, полифагия – клинические признаки характерные для тяжелой формы СД. Животные были вялыми и апатичными. Данные об абсолютном количестве животных, принимавших участие в эксперименте, их смертности и развитии СД представлены в табл. 1.

Проведенная офтальмоскопия в режиме ретроиллюминации показала, что у интактных животных хрусталики оставались прозрачными до конца эксперимента.

Таблица 1

Данные об абсолютном количестве лабораторных животных в эксперименте, их смертности и развитии сахарного диабета

Группа	Исходное число животных	Нет диабета	Умерли	Включены в исследование
Контроль (интактные)	15	-	-	15
Контроль (сахарный диабет)	15	1	4	10
Сахарный диабет + аминогуанидин	15	2	2	11

В группе контроля СД развивалась 2 стадия помутнения хрусталиков. У крыс, получавших аминоксидин, результаты были достоверно лучше, так как развивалась только 1 стадия помутнения хрусталиков (табл. 2).

По данным патоморфологического исследования у интактных животных за 3 мес эксперимента не появлялись признаки развития катаракты, а при СД запускался

Таблица 2

Степень помутнения хрусталиков у животных с экспериментальным сахарным диабетом на фоне внутрижелудочного (50 мг/кг) введения аминоксидина ($M \pm m$)

Группа	Степень помутнения хрусталиков
Контроль (интактные)	0
Контроль (сахарный диабет)	2,3±0,25 [#]
Сахарный диабет + аминоксидин	0,6±0,32*

Примечание. [#] – показатели статистически значимо отличаются от группы контроля (интактные) при $p < 0,05$; критерий Манна-Уитни; * – показатели статистически значимо отличаются от группы контроля сахарного диабета при $p < 0,05$; критерий Манна-Уитни.

Таблица 3

Степень развития катаракты по данным патоморфологического исследования на фоне внутрижелудочного (50 мг/кг) введения аминоксидина ($M \pm m$)

Группа	Средняя степень развития катаракты
Контроль (интактные)	0
Контроль (сахарный диабет)	2,0±0,7*
Сахарный диабет + аминоксидин	1,4±0,5

Примечание. * – различия статистически значимо отличаются относительно показателей группы контроля (интактные) при $p < 0,05$; t-критерий Стьюдента.

Таблица 4

Внутриглазное давление (ВГД) у крыс с экспериментальным сахарным диабетом на фоне внутрижелудочного (50 мг/кг) введения аминоксидина ($M \pm m$), мм рт. ст.

Группы	ВГД, мм рт. ст.
Контроль (интактные)	11,6±0,87
Контроль (сахарный диабет)	15,9±0,85*
Сахарный диабет + аминоксидин	13,8±1,19

Примечание. * – показатели статистически значимо отличаются от группы контроля (интактные) при $p < 0,05$; t-критерий Стьюдента.

Таблица 5

Содержание конечных продуктов гликирования (КПГ) и карбоксиметиллизина (КМЛ) в хрусталиках животных с экспериментальным сахарным диабетом на фоне внутрижелудочного (50 мг/кг) введения аминоксидина ($M \pm m$), мкг/мг белка

Группа	КПГ, мкг/мг белка	КМЛ, мкг/мг белка
Контроль (интактные)	280,32±43,4	1,92±0,36
Контроль (сахарный диабет)	546,22±20,23 [#]	2,56±0,20
Сахарный диабет + аминоксидин	333,32±60,99*	1,76±0,27*

Примечание. [#] – значения статистически значимо отличаются от показателей группы контроля (интактные) при $p < 0,05$; t-критерий Стьюдента; * – значения статистически значимо отличаются от показателей группы контроля сахарного диабета при $p < 0,05$; t-критерий Стьюдента.

активный катарактогенез. У всех крыс из группы контроля СД была выявлена катаракта различной степени выраженности (табл. 3) с вовлечением в патологический процесс передней части хрусталика в виде дефрагментации и набухания волокон по периферии хрусталика, миграции переднего эпителия к полюсам и на заднюю поверхность хрусталика, образования морганиевых телец. В хрусталиках у животных, которым вводился аминоксидин, преобладали начальные признаки субкапсулярной или кортикальной катаракты с вакуолизацией и набуханием волокон хрусталика, в единичных случаях с дефрагментацией и набуханием волокон по периферии хрусталика, миграцией переднего эпителия к полюсам хрусталика (см. рисунок на 3-й странице обложки).

Как видно из представленных данных, результаты офтальмоскопического контроля в целом согласуются с патоморфологической картиной. При выраженной гипергликемии запускается катарактогенез, но на фоне применения антигликирующего соединения наблюдается меньшая степень помутнения хрусталика.

Также было выявлено, что у крыс с СД повышается ВГД по сравнению с интактными животными: на 28% – в группе контроля СД и на 16% – в группе животных, получавших аминоксидин (табл. 4). Эти результаты представляются интересными, и в дальнейшем требуется экспериментальное изучение системно введенного аминоксидина на уровень ВГД.

По результатам иммуноферментного анализа в группе контроля СД отмечалось 2-кратное увеличение содержания КПГ в хрусталиках крыс по сравнению с этими показателями у интактных животных. В группе животных, получавших аминоксидин, наблюдалась противоположная тенденция: содержание КПГ в хрусталиках крыс из данной группы снижалось до уровня, статистически не отличающегося от значений группы интактного контроля. Повышение содержания КМЛ в хрусталиках животных с сахарным диабетом было менее выраженным. При этом на фоне введения аминоксидина у крыс отмечалось статистически значимое снижение данного показателя (табл. 5).

Обсуждение

Гипергликемия при сахарном диабете повышает степень гликирования хрусталиковых белков. Учитывая, что хрусталик, в принципе, является белковым образованием, а его прозрачность зависит от состояния высокомолекулярных белковых структур в его составе, то нарушение их правильной организации в связи с накоплением КПГ при СД, неизбежно приводит к потере им оптической функции, запуская катарактогенез.

Аминоксидин, как антигликирующий агент, препятствует образованию КПГ из хрусталиковых белков при СД. Об этом свидетельствует снижение накопления КПГ и, в частности, КМЛ в хрусталиках у крыс, которым вводился аминоксидин в рамках эксперимента по сравнению с животными из группы контроля СД.

Снижение образования КПГ, в свою очередь, вызывает отсроченное развитие помутнения хрусталиков на

фоне применения амингуанидина, что подтверждается данными офтальмоскопического контроля и патоморфологического исследования. В связи с этим амингуанидин, помимо широко описанной в литературе антигликирующей активности [36-38, 52, 53] также обладает антикатарактальным эффектом в условиях экспериментального сахарного диабета.

Такие выводы вполне согласуются с данными литературных источников [36-38] и укладываются в описанный выше патогенетический путь образования катаракты при сахарном диабете.

Вместе с тем следует подчеркнуть, что катаракта является мультифакторным заболеванием, а неферментативное гликирование служит одним из основных механизмов катарактогенеза, но далеко не единственным [52, 54]. Этим предположительно объясняется развитие помутнений хрусталиков у животных со стрептозототин-индуцированным диабетом на фоне введения амингуанидина, хоть и в меньшей степени, чем у крыс из контрольной группы СД. Вероятно, новые соединения, превосходящие по антигликирующему действию амингуанидин, будут обладать более выраженным антикатарактальным эффектом.

Предполагаемый механизм антикатарактального действия амингуанидина при СД, связанный с его антигликирующими свойствами, безусловно, является перспективным для дальнейшего направленного поиска средств профилактики и терапии катаракты. Изучение новых антигликирующих соединений, потенциальных антикатарактальных агентов, в свете литературных научных данных и результатов этого эксперимента, в настоящее время является обоснованным.

Заключение

Среди глазных осложнений сахарного диабета катаракта занимает лидирующие позиции и неизменно приводит к раннему снижению остроты зрения. Дезорганизация хрусталиковых волокон, отчасти ассоциированная с накоплением КПП как результатом реакции неферментативного гликирования, приводит к образованию зон светорассеяния и диффузному снижению прозрачности хрусталиков, что говорит об активном катарактогенезе.

В ходе эксперимента у лабораторных животных наблюдались нарушения структуры и функции глаза, вызванные развитием СД 1 типа: было выявлено формирование катаракты различной степени, а также повышение уровня ВГД. В свою очередь амингуанидин, связывающий дикарбонильные интермедиаты в реакциях их превращения в КПП, по результатам данного исследования, тормозит образование помутнения в хрусталиках при стрептозототин-индуцированном сахарном диабете, снижает выраженность морфологических признаков патологии хрусталика, а также уменьшает содержание в них основного КПП – КМЛ.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках Договора от 01.02.2018 № 1/Н687.210.021/17 с ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина» по государственному контракту №14.Н08.11.0204

«Доклинические исследования лекарственного средства, действующего на конечные продукты гликирования коллагена (AGE) и рецепторы к ним (RAGE), для профилактики и лечения осложнений сахарного диабета».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

(п.п. 1-49, 51-53 см. References)

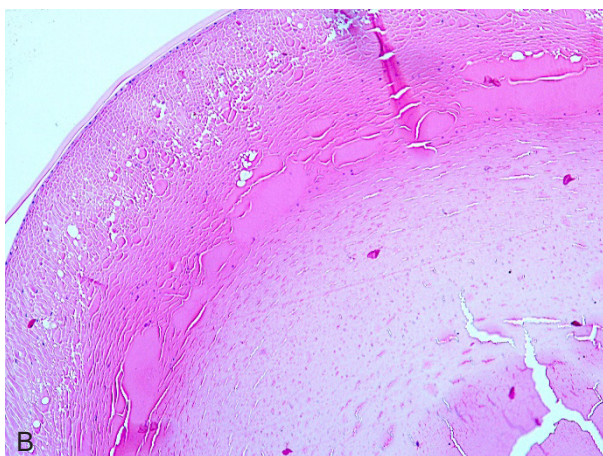
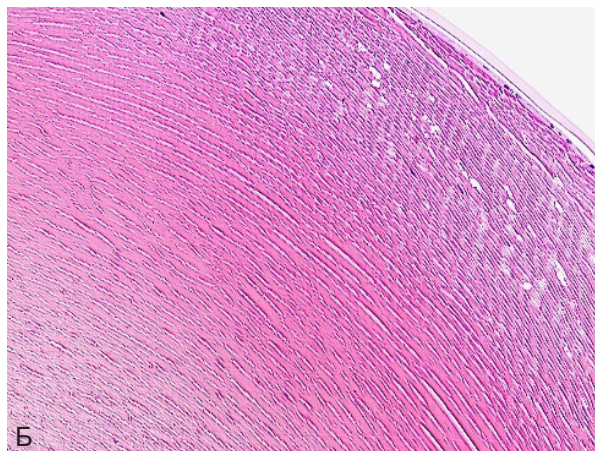
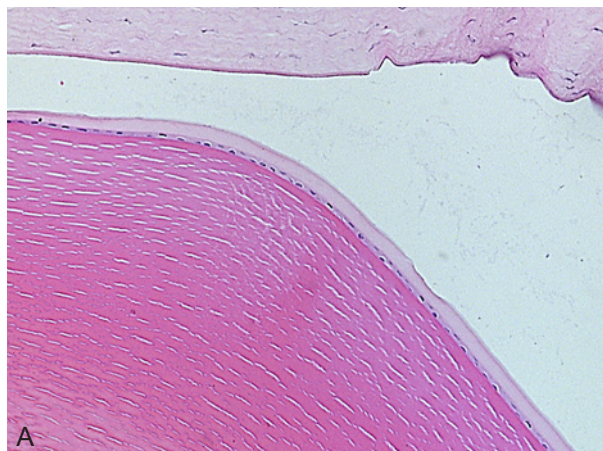
50. Саркисов Д.С., Перов Ю.Л., ред. *Микроскопическая техника: Руководство*. М.: Медицина; 1996.
54. Балашевич Л.И., Измайлов А. С., ред. *Диабетическая офтальмопатия*. СПб.: Человек; 2012.

REFERENCES

1. Harding J.J., Egerton M., van Heyningen R., Harding R.S. Diabetes, glaucoma, sex, and cataract: analysis of combined data from two case control studies. *Br. J. Ophthalmol.* 1993; 77(1): 2-6.
2. Rowe N. G., Mitchell P. G., Cumming R. G., Wans J. J. Diabetes, fasting blood glucose and age-related cataract: the Blue Mountains eye study. *Ophthalmic. Epidemiol.* 2000; 7(2): 103-14.
3. Hennis A., Wu S. Y., Nemesure B., Leske M. C. Barbados eye studies group. Risk factors for incident cortical and posterior subcapsular lens opacities in the Barbados eye studies. *Arch. Ophthalmol.* 2004; 122(4): 525-30.
4. Bahmani F., Bathaie S.Z., Aldavood S.J., Ghahghaei A. Glycine therapy inhibits the progression of cataract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Mol. Vis.* 2012; 18: 439-48. Epub 2012 Feb 11.
5. Pollreis A., Schmidt-Erfurth U. Diabetic Cataract - Pathogenesis, Epidemiology and Treatment. *J. Ophthalmol.* 2010; 2010: 608751. doi: 10.1155/2010/608751. Epub 2010 Jun 17.
6. Ramana B.V., Raju T.N., Kumar V.V., Reddy P.U. Defensive role of quercetin against imbalances of calcium, sodium, and potassium in galactosemic cataract. *Biol. Trace Elem. Res.* 2007; 119(1): 35-41.
7. Spector A. Review: oxidative stress and disease. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* 2000; 16(2): 193-201.
8. Chung S.S., Ho E.C., Lam K.S., Chung S.K. Contribution of polyol pathway to diabetes-induced oxidative stress. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2003; 14(8 Suppl 3): S233-6.
9. Yousefi R., Javadi S., Amirghofran S., Oryan A., Moosavi-Movaehdi A.A. Assessment of structure, stability and aggregation of soluble lens proteins and alpha-crystallin upon non-enzymatic glycation: The pathomechanisms underlying cataract development in diabetic patients. *Int. J. Biol. Macromol.* 2016; 82: 328-38. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2015.10.036. Epub 2015 Oct 23.
10. Nagaraj R.H., Linetsky M., Stitt A.W. The pathogenic role of Maillard reaction in the aging eye. *Amino Acids.* 2012; 42(4): 1205-20. doi: 10.1007/s00726-010-0778-x. Epub 2010 Oct 21.
11. Fan X., Monnier V.M. Inhibition of crystallin ascorbylation by nucleophilic compounds in the hSVCT2 mouse model of lenticular aging. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2008; 49(11): 4945-52. doi: 10.1167/iiov.08-1813. Epub 2008 Apr 17.
12. Ahmed N., Thormalley P.J., Dawczynski J. et al. Methylglyoxal-derived hydroimidazolone advanced glycation end products of human lens proteins. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2003; 44(12): 5287-92.
13. Luthra M., Balasubramanian D. Nonenzymatic glycation alters protein structure and stability. A study of two eye lens crystallins. *J. Biol. Chem.* 1993; 268(24): 18119-27.
14. Sisková A., Wilhelm J. Role of nonenzymatic glycation and oxidative stress on the development of complicated diabetic cataracts. *Cesk. Fysiol.* 2000; 49(1):16-21.
15. Karumanchi D.K., Karunaratne N., Lurio L., Dillon J.P., Gailard E.R. Non-enzymatic glycation of α -crystallin as an in vitro model for aging, diabetes and degenerative diseases. *Amino Acids.* 2015; 47(12): 2601-8. doi: 10.1007/s00726-015-2052-8. Epub 2015 Jul 28.
16. Perry R.E., Swamy M.S., Abraham E.C. Progressive changes in lens crystalline glycation and high-molecular-weight aggregate formation leading to cataract development in streptozotocin-diabetic rats. *Exp. Eye Res.* 1987; 44(2): 269-82.
17. Fan X., Zhang J., Theves M., Strauch C., Nemet I., Liu X., Qian J., Giblin F.J., Monnier V.M. Mechanism of lysine oxidation in human

- lens crystallins during aging and in diabetes. *J Biol. Chem.* 2009; 284(50): 34618-27. doi:10.1074/jbc.M109.032094. Epub 2009 Oct 23.
18. Linetsky M., Raghavan C.T., Johar K., Fan X., Monnier V.M., Vasavada A.R., Nagaraj R.H. UVA light-excited kynurenines oxidize ascorbate and modify lens proteins through the formation of advanced glycation end products: implications for human lens aging and cataract formation. *J. Biol. Chem.* 2014;289(24):17111-23. doi:10.1074/jbc.M114.554410. Epub 2014 May 5.
 19. Holm T., Raghavan C.T., Nahomi R., Nagaraj R.H., Kessel L. Effects of photobleaching on selected advanced glycation end products in the human lens. *BMC Res Notes.* 2015; 8: 5. doi: 10.1186/s13104-015-0977-3.
 20. Liang J.J., Fu L. Conformational study of N(epsilon)-(carboxymethyl) lysine adducts of recombinant gamma C-crystallin. *J. Protein Chem.* 2001; 20(8): 641-5.
 21. Saraswat M., Suryanarayana P., Reddy P.Y., Patil M.A., Balakrishna N., Reddy G.B. Antiglycating potential of Zingiber officinalis and delay of diabetic cataract in rats. *Mol. Vis.* 2010; 16: 1525-37.
 22. Franke S., Dawczynski J., Strobel J., Niwa T., Stahl P., Stein G. Increased levels of advanced glycation end products in human cataractous lenses. *J. Cataract Refract Surg.* 2003; 29(5): 998-1004.
 23. Ghanem AA1, Elewa A, Arafa LF. Pentosidine and N-carboxymethyl-lysine: biomarkers for type 2 diabetic retinopathy. *Eur. J. Ophthalmol.* 2011; 21(1): 48-54.
 24. Monnier V.M., Sell D.R., Genuth S. Glycation products as markers and predictors of the progression of diabetic complications. *Ann N Y Acad Sci.* 2005; 1043: 567-81.
 25. Semba R.D., Najjar S.S., Sun K., et al. Serum carboxymethyl-lysine, an advanced glycation end product, is associated with increased aortic pulse wave velocity in adults. *Am J Hypertens.* 2009; 22(1): 74-9. doi: 10.1038/ajh.2008.320. Epub 2008 Nov 20.
 26. Thornalley P.J., Battah S., Ahmed N., Karachalias N., Agalou S., Babei-Jadidi R., Dawnay A. Quantitative screening of advanced glycation end products in cellular and extracellular proteins by tandem mass spectrometry. *Biochem. J.* 2003; 375(Pt 3): 581-92.
 27. Ahmed M.U., Thorpe S.R., Baynes J.W. Identification of N-epsilon-carboxymethyllysine as a degradation product of fructoselysine in glycated protein. *J. Biol. Chem.* 1986; 261(11):4889-94.
 28. Kumar P.A., Kumar M.S., Reddy G.B. Effect of glycation on alpha-crystallin structure and chaperone-like function. *Biochem J.* 2007; 408(2): 251-8.
 29. Stitt A.W. The Maillard reaction in eye diseases. *Ann N Y Acad Sci.* 2005; 1043:582-97.
 30. Frye E.B., Degenhardt T.P., Thorpe S.R., Baynes J.W. Role of the Maillard reaction in aging of tissue proteins. Advanced glycation end product-dependent increase in imidazolium cross-links in human lens proteins. *J. Biol. Chem.* 1998; 273 (30): 18714-9.
 31. Shamsi F.A., Sharkey E., Creighton D., Nagaraj R.H. Maillard reactions in lens proteins: methylglyoxal-mediated modifications in the rat lens. *Exp. Eye Res.* 2000;70 (3): 369-80.
 32. Saraswat M., Suryanarayana P., Reddy P.Y., Patil M.A., Balakrishna N., Reddy G.B. Antiglycating potential of Zingiber officinalis and delay of diabetic cataract in rats. *Mol. Vis.* 2010; 16: 1525-37.
 33. Jairajpuri D.S., Fatima S., Jairajpuri Z.S. Glycation induced physico-chemical changes in low-density lipoprotein and its role in promoting cholesterol accumulation in macrophages along with antiglycation effect of aminoguanidine. *Advances in Biological Chemistry.* 2015; 5: 203-214. doi: 10.4236/abc.2015.55017.
 34. Lin Y.T., Tseng Y.Z., Chang K.C. Aminoguanidine prevents fructose-induced arterial stiffening in Wistar rats: aortic impedance analysis. *Exp Biol Med (Maywood).* 2004; 229(10): 1038-45.
 35. Osicka T.M., Yu Y., Panagiotopoulos S., Clavant S.P., Kiriazis Z., Pike R.N., Pratt L.M., Russo L.M., Kemp B.E., Comper W.D., Jerums G. Prevention of albuminuria by aminoguanidine or ramipril in streptozotocin-induced diabetic rats is associated with the normalization of glomerular protein kinase C. *Diabetes.* 2000; 49(1): 87-93.
 36. Yan H., Guo Y., Zhang J., Ding Z., Ha W., Harding J.J. Effect of carnosine, aminoguanidine, and aspirin drops on the prevention of cataracts in diabetic rats. *Mol. Vis.* 2008; 14: 2282-91.
 37. Stevens A. The effectiveness of putative anti-cataract agents in the prevention of protein glycation. *J. Am. Optom. Assoc.* 1995; 66(12): 744-9.
 38. Harding J.J. Pharmacological treatment strategies in age-related cataracts. *Drugs Aging.* 1992; 2(4): 287-300.
 39. Chen A.S., Taguchi T., Sugiura M., Wakasugi Y., Kamei A., Wang M.W., Miwa I. Pyridoxal-aminoguanidine adduct is more effective than aminoguanidine in preventing neuropathy and cataract in diabetic rats. *Horm Metab Res.* 2004; 36(3):183-7.
 40. Song Y., Zhang F., Ying C., Kumar K.A., Zhou X. Inhibition of NF- κ B activity by aminoguanidine alleviates neuroinflammation induced by hyperglycemia. *Metab. Brain Dis.* 2017; 32(5): 1627-37.
 41. Spasov A., Brel A., Litvinov R., Lisina S., Kucheryavenko A., Budaeva Yu., Salaznikova O., Rashchenko A., Shamshina D., Batrakov V., Ivanov A.V. Evaluation of n-hydroxy-, n-methoxy-, and n-acetoxybenzoyl- substituted derivatives of thymine and uracil as new substances for prevention and treatment of long-term complications of diabetes mellitus. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry.* 2018; 44(6): 769-77.
 42. Savateev K., Fedotov V., Butorin I., Eltsov O., Slepukhin P., Ulomsky E., Rusinov V., Litvinov R., Babkov D., Khokhlacheva E., Radaev P., Vassiliev P., Spasov A. Nitrothiadiazolo[3,2-a]pyrimidines as promising antiglycating agents. *Eur. J. Med.Chem.* 2020;185: 111808.
 43. Sell D.R., Nelson J.F., Monnier V.M. Effect of chronic aminoguanidine treatment on age-related glycation, glycoxidation, and collagen cross-linking in the Fischer 344 rat. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 2001; 56(9): B405-11.
 44. Suryanarayana P., Saraswat M., Mrudula T., Krishna T.P., Krishnaswamy K., Reddy G.B. Curcumin and turmeric delay streptozotocin-induced diabetic cataract in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005; 46(6):2092-9.
 45. Abdul Nasir N.A., Agarwal R., Sheikh Abdul Kadir S.H., Vasudevan S., Tripathy M., Iezhitsa I., Mohammad Daher A., Ibrahim M.I., Mohd Ismail N. Reduction of oxidative-nitrosative stress underlies anticataract effect of topically applied tocotrienol in streptozotocin-induced diabetic rats. *PLoS One.* 2017;12(3): e0174542.
 46. Taniguchi T., Kawakami H., Sawada A., Iwaki M., Tsuji A., Sugiya K., Kitazawa Y. Effects of nitric oxide synthase inhibitor on intraocular pressure and ocular inflammation following laser irradiation in rabbits. *Curr Eye Res.* 1998; 17(3): 308-15.
 47. Carr B.C., Emigh C.E., Bennett L.D., Pansick A.D., Birch D.G., Nguyen C. Towards a treatment for diabetic retinopathy: Intravitreal Toxicity and Preclinical Safety Evaluation of Inducible Nitric Oxide Synthase Inhibitors. *Retina.* 2017; 37(1): 22-31.
 48. Neufeld A.H., Sawada A., Becker B. Inhibition of nitric-oxide synthase 2 by aminoguanidine provides neuroprotection of retinal ganglion cells in a rat model of chronic glaucoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999; 96(17): 9944-8.
 49. Latendresse J.R. Fixation of Testes and Eyes Using a Modified Davidson's Fluid: Comparison with Bouin's Fluid and Conventional Davidson's Fluid. Latendresse J.R., Warbritton A.R., Jonassen H., Creasy D.M. *Toxicologic pathology.* 2002; 30(4): 524-33.
 50. Sarkisov D.S., Perova Y.L., ed. *Microscopic technology: Manual.* M.: Medicine. 1996; 544. (in Russian)
 51. Nakayama H., Mitsuhashi T., Kuwajima S., Aoki S., Kuroda Y., Itoh T., Nakagawa S. Immunochemical detection of advanced glycation end products in lens crystallins from streptozotocin-induced diabetic rat. *Diabetes.* 1993; 42(2): 345-50.
 52. Agardh E., Hultberg B., Agardh C. Effects of inhibition of glycation and oxidative stress on the development of cataract and retinal vessel abnormalities in diabetic rats. *Curr. Eye Res.* 2000; 21(1): 543-9.
 53. Kumari K., Umar S., Bansal V., Sahib M.K. Inhibition of diabetes-associated complications by nucleophilic compounds. *Diabetes.* 1991;40(8): 1079-84.
 54. Balashevich L.I., Izmailov A.S., ed. *Diabetic ophthalmopathy.* SPb.: Chelovek, 2012; 356. (in Russian)

К статье А.А. Спасова и соавт.



Микроскопическое строение хрусталика глаза крысы:
А – контроль (интактная); Б – контроль сахарный диабет;
В – сахарный диабет + амингуанидин.
Увеличение $\times 100$. Окраска гематоксилином и эозин-флоксином.