

Влияние производных оксиндола на развитие поздних офтальмологических нарушений при стрептозотоцин-индуцированном сахарном диабете

А.А. Спасов¹, Л.В. Науменко¹, Ю.А. Говорова¹, А.С. Таран¹, А.М. Чебанько¹, А.В. Смирнов¹, Ю.И. Великородная¹, Н.А. Лозинская², Е.Н. Безсонова²

¹ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Волгоград, Россия

² ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия

АННОТАЦИЯ

Введение. В России по данным на 2021 г. зарегистрировано 5 млн 168.8 тыс. больных сахарным диабетом (СД). Офтальмологические поздние осложнения СД (катаракта, ретинопатия, глаукома) приводят к прогрессирующему снижению зрения вплоть до слепоты, а, следовательно, к ухудшению качества жизни пациентов с диабетом. Профилактика осложнений СД напрямую связана с контролем уровня гликемии, что не всегда возможно, поэтому поиск новых средств фармакологической коррекции последствий СД является актуальной задачей. В ранее проведенных исследованиях среди изостеров мелатонина было выявлено соединение К-165, обладающее офтальмогипотензивными свойствами

Цель. Изучить влияние нового биоизостера мелатонина, производного 3-арилиден-2-оксиндола, на диабетический катарактогенез, уровень внутриглазного давления (ВГД), ретинальную микроциркуляцию и функциональную активность сетчатки в условиях стрептозотоцин-индуцированного СД.

Материалы и методы. Моделирование СД проводили путем введения в хвостовую вену крыс-самцов линии Sprague Dawley массой 260–280 г стрептозотоцина (45 мг/кг, группа СД). На протяжении всего эксперимента, в течение 60 дней, для снижения риска смерти от кетоацидоза экспериментальные животные подкожно получали двухфазный инсулин «Хумулин М3» (Eli Lilly, Франция). С 61-го дня эксперимента животным проводилась инстилляция 0.4% растворов К-165 и мелатонина (опытная группа и группа препарата сравнения). В ходе эксперимента для оценки эффективности изучаемого соединения была проведена прижизненная регистрация ВГД, уровня глазной микроциркуляции и электроретинография. После эвтаназии животных была проведена энуклеация глазных яблок, которые были использованы для патоморфологического исследования и определения конечных продуктов гликирования и карбоксиметиллизина в структурах хрусталика.

Результаты. Соединение К-165 в условиях стрептозотоцин-индуцированного СД снижает выраженность патоморфологических признаков катаракты на 32 % (дефрагментация, набухание волокон хрусталика, образование морганиевых телец) и уровень ВГД на 24 %, повышает уровень глазной гемомикроперфузии на 37.5 % и вызывает тенденцию к увеличению смешанного ответа палочек и колбочек.

Заключение. Новое производное 3-арилиден-2-оксиндола – соединение К-165 – проявляет выраженное антикатарактальное действие, снижает уровень ВГД у животных с экспериментальным СД, способствует улучшению параметров микроциркуляции и демонстрирует тенденцию к нормализации биоэлектрической активности сетчатки и обладает нейроретинопротективным действием.

Ключевые слова: сахарный диабет, мелатонин, соединение К-165, внутриглазное давление, катаракта, крысы.

Образец цитирования: Спасов А.А., Науменко Л.В., Ю.А. Говорова, Таран А.С., Чебанько А.М., Смирнов А.В., Великородная Ю.И., Лозинская Н.А., Безсонова Е.Н. Влияние производных оксиндола на развитие поздних офтальмологических нарушений при стрептозотоцин-индуцированном сахарном диабете // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(4):101-115. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-4-101-115

Поступила в редакцию 28.06.2024
Прошла рецензирование 18.07.2024
Принята к публикации 14.09.2024

Автор, ответственный за переписку
Чебанько Алина Михайловна: ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. 400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1.
E-mail: alina.chebanko@yandex.ru

Received 28.06.2024
Revised 18.07.2024
Accepted 14.09.2024

Corresponding author
Alina M. Chebanko: Volgograd State Medical University, 1, Pavshikh Bortsov sq., Volgograd, 400131, Russia.
E-mail: alina.chebanko@yandex.ru

The effect of oxindole derivatives on the development of late ophthalmologic disorders in streptozotocin-induced diabetes mellitus

A.A. Spasov¹, L.V. Naumenko¹, Yu.A. Govorova¹, A.S. Taran¹, A.M. Chebanko¹, A.V. Smirnov¹, Yu.I. Velikorodnaya¹, N.A. Lozinskaya², E.N. Bezsonova²

¹Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

²Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . In Russia, as of 2021, 5 million 168.8 thousand patients with diabetes mellitus (DM) were registered. Ophthalmologic late complications of DM (cataract, retinopathy, glaucoma) lead to a progressive decline in vision up to blindness, and, consequently, to a decrease in the quality of life of patients with DM. Prevention of DM complications is directly related to glycemic control, which is not always possible, therefore, the search for new pharmacological agents for correction of the consequences of DM is an urgent task. In previous studies, among melatonin isosteres, the compound K-165 was synthesized, which has ophthalmic hypotensive properties.

A i m . To study the effect of a new melatonin bioisostere, a 3-arylidene-2-oxindole derivative, on diabetic cataractogenesis, intraocular pressure (IOP), retinal microcirculation and functional activity of the retina in streptozotocin-induced DM.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . DM was modeled by administering streptozotocin (45 mg/kg, DM group) into the tail vein of male Sprague Dawley rats weighing 260–280 g. Throughout the experiment, for 60 days, to reduce the risk of death from ketoacidosis, the experimental animals subcutaneously received biphasic insulin, Humulin M3 (Eli Lilly, France). Since the 61st day of the experiment, the animals were instilled 0.4% solutions of K-165 and melatonin (experimental group and reference drug group). During the experiment, intravital measurements of IOP, ocular microcirculation level and electroretinography were carried out to evaluate the effectiveness of the studied compound. After euthanasia of the animals, the enucleated eyeballs were used for pathomorphological examination and determination of advanced glycation end products and carboxymethyllysine in the lens structures.

R e s u l t s . The compound K-165 in streptozotocin-induced DM reduces the severity of pathomorphological signs of cataract by 32% (defragmentation, swelling in lens fibers, appearance of Morgagni globules) and the level of IOP by 24%, increases the level of ocular blood microperfusion by 37.5% and shows a tendency to increase the combined response of rods and cones.

C o n c l u s i o n . A new derivative of 3-arylidene-2-oxindole, the compound K-165, exhibits a pronounced anti-cataract effect, reduces the level of IOP in animals with experimental DM, improves microcirculation parameters and demonstrates a tendency to normalize the bioelectrical activity of the retina, and has a neuroprotective effect on the retina.

Keywords: diabetes mellitus, melatonin, compound K-165, intraocular pressure, cataract, rats.

Citation example: Spasov A.A., Naumenko L.V., Govorova Yu.A., Taran A.S., Chebanko A.M., Smirnov A.V., Velikorodnaya Yu.I., Lozinskaya N.A., Bezsonova E.N. The effect of oxindole derivatives on the development of late ophthalmologic disorders in streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(4):101-115. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-4-101-115

ВВЕДЕНИЕ

В России по данным на 2021 г. зарегистрировано 5 млн 168.8 тыс. больных сахарным диабетом (СД) [1]. Осложнения СД являются в России основными причинами смерти в популяции больных сахарным диабетом 1 и 2-го типов, в первую очередь из-за высокого риска сердечно-сосудистых осложнений [2, 3]. Глазные заболевания, которые относятся к поздним осложнениям сахарного диабета (катаракта, ретинопатия, глаукома), хотя и не являются летальными, однако

INTRODUCTION

In Russia, as of 2021, 5 million 168.8 thousand patients with diabetes mellitus (DM) were registered [1]. DM complications are the main causes of death in the population of patients with type 1 and type 2 DM in Russia, primarily due to the high risk of cardiovascular complications [2, 3]. Eye diseases, which are late complications of DM (cataract, retinopathy, glaucoma), although not fatal, lead to progressive decline in vision up to blindness, and, consequently, to a decrease in the quality of life of patients with DM [4, 5].

приводят к прогрессирующему снижению зрения вплоть до слепоты, а, следовательно, к ухудшению качества жизни пациентов с диабетом [4, 5].

Современные подходы к их лечению весьма эффективны и непрерывно улучшаются, но в то же время они остаются радикальными, имеют ряд серьезных ограничений и осложнений, их эффективность часто является временной, учитывая хронический характер сахарного диабета. [6, 7]. Профилактика осложнений сахарного диабета напрямую связана с контролем уровня гликемии, что не всегда возможно, поэтому поиск новых средств фармакологической коррекции последствий сахарного диабета является актуальной задачей.

В ранее проведенных исследованиях среди изомеров мелатонина было выявлено соединение K-165, обладающее офтальмогипотензивными свойствами.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение влияния нового биоизомера мелатонина, производного 3-арилиден-2-оксиндола – K-165 на диабетический катарактогенез, уровень внутриглазного давления, ретинальную микроциркуляцию и функциональную активность сетчатки в условиях стрептозотоцин-индуцированного сахарного диабета.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты были проведены на 60 половозрелых крысах-самцах линии Sprague Dawley массой 260–280 г (ООО «НПК Биотех», Москва) и прошедших 2-недельный карантин в виварии Научного центра инновационных лекарственных средств Волгоградского государственного медицинского университета. Все манипуляции с лабораторными животными проводились с соблюдением требований лабораторной практики при проведении доклинических исследований в Российской Федерации (Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики», ГОСТ 33044-2014). Все экспериментальные исследования выполнялись в соответствии с требованиями действующего «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (М., 2012), со статьей (ст.) 11 Федерального закона от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (Собрание законодательства Российской Федерации, 2010, № 16, ст. 1815; № 31, ст. 4161) и согласно Правилам лабораторной практики в Российской Федерации (ГОСТ

Modern approaches to their treatment are very effective and are constantly improving, but at the same time, they remain radical, have a number of significant limitations and complications, their effectiveness is often temporary, given the chronic nature of DM [6, 7]. Prevention of complications of DM is directly related to glycemic control, which is not always possible, therefore, the search for new pharmacological agents for correction of the consequences of DM is an urgent task.

In previous studies, among melatonin isosteres, the compound K-165 was identified, which has ophthalmic hypotensive properties.

AIM OF THE RESEARCH

To study the effect of a new melatonin bioisostere, a 3-arylidene-2-oxindole derivative – K-165 on diabetic cataractogenesis, intraocular pressure level, retinal microcirculation and functional activity of the retina in streptozotocin(STZ)-induced DM.

MATERIALS AND METHODS

The experiments were performed on 60 mature male Sprague Dawley rats weighing 260–280 g (Biotech, Moscow) after a 2-week quarantine in the vivarium of the Scientific Center for Innovative Medicines of the Volgograd State Medical University. All manipulations with laboratory animals were carried out in compliance with requirements of good laboratory practice for preclinical studies in the Russian Federation (Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated 01.04.2016 No. 199n “On approval of the rules of good laboratory practice”, GOST 33044-2014). All experiments were carried out in accordance with the requirements of the current “Guidelines for the Conduct of Preclinical Studies of Medicines” (Moscow, 2012), with Article (Art.) 11 of the Federal Law of April 12, 2010 No. 61-FZ “On the Circulation of Medicines” (Collected Legislation of the Russian Federation, 2010, No. 16, Art. 1815; No. 31, Art. 4161) and according to the Rules of Laboratory Practice in the Russian Federation (GOST 33044-2014) and the Order of the Ministry of Health of Russia dated 01.04.2016 N 199n “On Approval of the Rules of Good Laboratory Practice”. All methodological approaches complied with the requirements of the “Guidelines for the Conduct of Preclinical Studies of Medicine”. The procedures involving laboratory animals were carried out in accordance with the ethical standards for the treatment of animals adopted in Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. The experimental study was approved by the

33044-2014) и Приказа Минздрава России от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики». Все методические подходы соответствовали требованиям «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств». Процедуры с участием лабораторных животных осуществлялись в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми в Директиве Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. о защите животных, используемых в научных целях. Экспериментальное исследование одобрено этическим комитетом Волгоградского государственного медицинского университета (справка № 2022/043 от 02.12.2022).

СД моделировали стрептозотоцином (СТЗ), растворенным в 0.1 М натрий-цитратном буфере (рН 4.5), который вводили в хвостовую вену в дозе 45 мг/кг. На этапе формирования СД (первые 3 дня после введения СТЗ) для предупреждения гибели животных по причине гипогликемии животные получали глюкозу вместе с питьевой водой (5 г на 100 мл). Первое измерение концентрации глюкозы в крови проводили через сутки после введения СТЗ, после чего всем животным с уровнем глюкозы >19.4 ммоль/л для снижения риска смерти от кетоацидоза назначали двухфазный инсулин «Хумулин М3» (Eli Lilly, Франция) – комбинацию инсулинов короткой (30 %) и средней (70 %) продолжительности действия. Инсулин вводили подкожно в область холки животного строго в период времени 15:00–17:00 в дозе 1–4 ЕД по следующей схеме: при уровне глюкозы >19.4 ммоль/л – 1 ЕД инсулина, >25 ммоль/л – 2 ЕД, >30 ммоль/л – 3 ЕД, >33.3 – 4 ЕД (15–20 ммоль/л – 1 ЕД, 20–25 ммоль/л – 2 ЕД, 25–30 ммоль/л – 3 ЕД, >30 ммоль/л – 4 ЕД). Корректировку дозы инсулина производили 1 раз в неделю после контрольного определения концентрации глюкозы в крови экспериментальных животных.

Из эксперимента исключались животные с уровнем гликемии менее 15 ммоль/л.

Из включенных в эксперимент животных сформировали 4 группы по 15 особей в каждой:

1. Контрольная группа 1 – интактные животные, получавшие курсовое (14 дней) местное введение растворителя – деионизированной воды в объеме 30 мкл.
2. Контрольная группа 2 – животные с экспериментальным СД, получавшие курсовое (14 дней) местное введение растворителя – деионизированной воды в объеме 30 мкл.

Ethics Committee of the Volgograd State Medical University (certificate No. 2022/043 dated 02.12.2022).

DM was modeled by STZ dissolved in 0.1 M sodium citrate buffer (pH 4.5), which was administered into the tail vein at a dose of 45 mg/kg. At the stage of DM modeling (the first 3 days after STZ administration), the animals received glucose via drinking water (5 g per 100 ml) to prevent death due to hypoglycemia. The first measurement of blood glucose concentration was performed 24 hours after STZ administration; thereafter, all animals with glucose concentration >19.4 mmol/l received biphasic insulin, Humulin M3 (combination of short-acting (30%) and medium-acting (70%) insulins) (Eli Lilly, France) to reduce the risk of death from ketoacidosis. Insulin was administered subcutaneously into the scruff of the animal's neck strictly between 15:00 and 17:00 in a dose of 1–4 U in the following regimen: glucose level >19.4 mmol/l – 1 U of insulin, >25 mmol/l – 2 U, >30 mmol/l – 3 U, >33.3 – 4 U (15–20 mmol/l – 1 U, 20–25 mmol/l – 2 U, 25–30 mmol/l – 3 U, >30 mmol/l – 4 U). The insulin dose was adjusted once a week after a control measurement of the blood glucose concentration in experimental animals.

Animals with glucose level <15 mmol/l were excluded from the experiment.

The animals included in the experiment were divided into 4 groups (15 animals in each group):

1. Control group 1 – intact animals that received 14-day instillations of a solvent – deionized water in a volume of 30 µl.
2. Control group 2 – animals with experimental DM that received 14-day instillations of a solvent – deionized water in a volume of 30 µl.
3. Experimental group 1 – animals with experimental DM that received 14-day instillations of the compound K-165 at a concentration of 0.4% in a volume of 30 µl (4 mg/ml).
4. Experimental group 2 – animals with experimental DM that received 14-days instillations of the reference substance, melatonin (Sigma, USA) at a concentration of 0.4% in a volume of 30 µl.

The experimental groups with STZ-induced DM included animals with glucose level >15 mmol/l. The start of administration of the studied substance to animals with experimental DM was the 61st day after administration of STZ.

The studied compound K-165 was synthesized by Associate Professor N.A. Lozinskaya at the Department of Medical Chemistry and Fine Organic Synthesis of the Lomonosov Moscow State University.

3. Опытная группа 1 – животные с экспериментальным СД, получавшие курсовое (14 дней) местное введение соединения К-165 в концентрации 0.4 % в объеме 30 мкл (4 мг/мл).

4. Опытная группа 2 – животные с экспериментальным СД, получавшие курсовое (14 дней) местное введение вещества сравнения мелатонина (Sigma, США) в концентрации 0.4 % в объеме 30 мкл.

В экспериментальные группы с СД, индуцированным СТЗ, включали животных с уровнем глюкозы >15 ммоль/л. Начало введения тестируемых образцов животным с экспериментальным СД – 61-й день после введения СТЗ.

Исследуемое соединение К-165 было синтезировано доцентом Н.А. Лозинской на кафедре медицинской химии и тонкого органического синтеза МГУ имени М.В. Ломоносова.

Для прижизненного исследования хрусталиков лабораторных животных проводили офтальмоскопию в режиме ретроиллюминации на портативной щелевой лампе – Digital hand-held slit lamp (США) с фоторегистрацией изображения в условиях миозина, вызываемого тропикамидом (1% раствор, Alcon-Couvreur N.V., Бельгия). Для оценки степени помутнения хрусталиков использовали модифицированную классификацию P. Suryanarayana et al. [8]:

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.

Измерение внутриглазного давления (ВГД) проводили с помощью офтальмологического ветеринарного тонометра Tonovet (Финляндия), не требующего предварительной анестезии роговицы.

Регистрацию глазной микроциркуляции осуществляли с использованием программно-аппаратного комплекса MP150 (BIOPAC Systems Inc., США) и датчика игольчатого типа TSD-144 (США), программы AcqKnowledge 4.2. согласно инструкции производителя. Зондирующее лазерное излучение позволяет получить отраженный сигнал из слоя ткани толщиной до 1 мм, объем зондируемой ткани составляет 1 мм³. Суммарная

For the intravital examination of the lenses of laboratory animals, ophthalmoscopy was performed as retroillumination imaging using a portable Digital hand-held slit lamp (USA) with image capturing amid tropicamide-induced mydriasis (1% solution, Alcon-Couvreur N.V., Belgium). To assess the grade of lens opacity, a modified classification of P. Suryanarayana et al. was used [8]:

0 – clear lens;

1 – minimal opacity in the anterior pole of the lens (a small number of subcapsular vacuoles);

2 – focal opacity in the anterior pole and cortex of the lens (hazy opacity);

3 – hazy cortex persists and dense nuclear opacity appears;

4 – mature cataract (dense opacity of both the cortex and nucleus).

Measurement of intraocular pressure (IOP) was carried out using a Tonovet veterinary tonometer (Finland), which does not require preliminary anesthesia of the cornea.

Registration of ocular microcirculation was performed using MP150 system hardware (BIOPAC Systems Inc., USA) and TSD-144 needle-type sensor (USA), AcqKnowledge 4.2 program according to the manufacturer manual. Laser radiation allows obtaining a reflected signal from a tissue layer up to 1 mm, the volume of investigated tissue is 1 mm³. The total thickness of the sclera, choroid and retina in rats is less than 0.5 mm. The use of the contact technique of laser Doppler flowmetry (LDF) allows assessing the level of microcirculation throughout the depth of the analyzed area. Taking into account the essentials of blood supply to the rat eyeball, as well as the peculiarity of LDF of the anterior segment of the eye, this study allows assessing the level of perfusion in perfusion units (p.u.) in the territory of long posterior ciliary arteries, as well as the anterior ciliary arteries.

The functional state of the retina was assessed using electroretinography (ERG). The ERG principle is to record the potentials of retinal neurons in response to a light stimulus. The assessment is based on the amplitude of the *a*- and *b*-waves. The negative *a*-wave generated by the outer segments of the photoreceptors is responsible for their functional state; the positive *b*-wave is responsible for the activity of the bipolar and Müller cells, with a possible contribution of the horizontal and amacrine cells. ERG was recorded immediately after measuring the level of microcirculation. For this purpose, the animals were instilled a 1% tropicamide solution (Alcon-Couvreur N.V., Belgium) to achieve maximal mydriasis. The rats then underwent dark adaptation for 20 min.

толщина склеры, сосудистой оболочки глаза и сетчатки у крысы составляет менее 0.5 мм. Использование контактной методики лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) позволяет оценить уровень микроциркуляции по всей глубине зондируемой области. Учитывая принципиальную схему кровоснабжения глазного яблока крысы, а также особенность проведения ЛДФ переднего отрезка глаза, данное исследование позволяет оценить уровень перфузии в перфузионных единицах (п.е.) в бассейнах задних длинных цилиарных артерий, а также передних цилиарных артерий.

Оценку функционального состояния сетчатки проводили с помощью электроретинографии (ЭРГ). Принцип ЭРГ заключается в регистрации потенциалов нейронов сетчатки в ответ на световой стимул. Оценку проводят по амплитуде волн а и b. За функциональное состояние фоторецепторов отвечает негативная а-волна, генерируемая их наружными сегментами; за активность биполярных и мюллеровских клеток, с возможным вкладом горизонтальных и амакриновых клеток – позитивная b-волна. ЭРГ проводили сразу после регистрации уровня микроциркуляции. Для этого животным инстиллировали 1% раствор тропикамида (Alcon-Couvreur N.V., Бельгия) для получения максимального мидриаза. Затем крыс подвергали темновой адаптации в течение 20 мин. В последующем животных наркотизировали (хлоралгидрат (PanReac AppliChem), 300 мг/кг, внутривенно) и фиксировали на столике, изолированном от электромагнитного излучения. Роговичный серебряный электрод (активный) помещали на роговицу, предварительно смоченную изотоническим раствором натрия хлорида для более полного контакта; референтный игольчатый электрод EL452 (минус) помещали подкожно в области черепа; заземляющий игольчатый электрод EL450 помещали подкожно в области основания хвоста. Стробоскоп TSD122A со вспышкой белого света продолжительностью 30 мкс и энергией вспышки 180 мДж, подключенный к стимулятору STM200 (BIOPAC Systems, Inc., США), размещали за спиной животного, регистрацию ЭРГ проводили в ответ на одиночную стимуляцию. Вызванные биопотенциалы пропускались на частоте 5 Гц, усиливались, усреднялись и представлялись графически на экране при помощи полиграфа MP150 с компьютерной программой AcqKnowledge 4.2. Для оценки степени развития функциональных повреждений сетчатки определяли максимальную амплитуду электроретинограммы,

Afterwards, the animals were anesthetized (chloral hydrate (PanReac AppliChem), 300 mg/kg, intraperitoneally) and fixed on a table isolated from electromagnetic radiation. The corneal silver electrode (active) was placed on the cornea pre-moistened with isotonic saline solution for more complete contact; the reference needle electrode EL452 (minus) was placed subcutaneously in the skull area; the ground needle electrode EL450 was placed subcutaneously at the base of the tail. A TSD122A stroboscope with a white flash (duration 30 μ s and energy 180 mJ), connected to a STM200 stimulator (BIOPAC Systems, Inc., USA), was placed behind the animal's back, and ERG was registered in response to a single stimulation. Evoked biopotentials were recorded at a frequency of 5 Hz, amplified, averaged and plotted on the screen using MP150 system with AcqKnowledge 4.2 program. To assess the grade of functional retinal damage, the maximal amplitude of the electroretinogram was calculated as the sum of the absolute values of the a- and b-wave peaks (coefficient b/a).

After euthanasia of laboratory animals under anesthesia (400 mg/kg chloral hydrate, intraperitoneally), the eyeballs were removed. The right eyeball of each laboratory animal was used for pathomorphological examination, and the left one – for determination of the concentration of advanced glycation end products (AGE) and carboxymethyllysine (CML) in the lens.

During the pathomorphological examination, fresh modified Davidson' fluid was used to fix the eyeball [9]. The specimen was then dehydrated in ascending alcohols and embedded in paraffin Histomix. From the obtained blocks 4–6 μ m thick sections were cut using a microtome and then mounted on microscope slides. The sections were stained with hematoxylin and eosin-phloxacin according to the standard technique [10]. The stained slides were examined and photographed using an AxioScope A1 microscope with an AxioCam MRc5 digital camera.

To assess the grade of cataract, a score from 0 to 5 was used (A.V. Smirnov, Yu.I. Velikorodnaya, 2019):

- 0 – no signs of cataracts;
- 0.5–1 – initial signs of subcapsular or cortical cataract (vacuolization and swelling of lens fibers);
- 1.5–2 – local manifestations of cataract (subcapsular hyperplasia of epithelial cells or cortical swelling of the fibers);
- 2.5–3 – severe cortical cataract with defragmentation and swelling of lens fibers, appearance of Morgagnian globules;

которая высчитывалась как сумма абсолютных значений пиков а- и б-волн (коэффициент б/а).

После эвтаназии лабораторных животных под наркозом (400 мг/кг хлоралгидрата внутривенно) глазные яблоки были энуклеированы. Правое глазное яблоко каждого лабораторного животного использовалось для патоморфологического исследования, а левое – для определения содержания в хрусталике конечных продуктов гликирования (КПГ) и карбоксиметиллизина (КМЛ).

При проведении патоморфологического исследования для фиксации глазного яблока использовали свежеприготовленный модифицированный раствор Давидсона [9]. 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-флоксинном по стандартной методике [10]. Микропрепараты изучали и фотографировали на микроскопе AxioScope A1, оборудованном цифровой камерой AxioCam MRc5.

Для оценки степени катаракты использовали балльную систему от 0 до 5 (А.В. Смирнов, Ю.И. Великородная, 2019):

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, образованием морганиевых телец;

3.5–4 – кортикальная катаракта, охватывающая весь хрусталик (дефрагментация и набухание волокон, наличие «баллонных» клеток, морганиевых телец по всему периметру хрусталика);

4.5–5 – ядерная катаракта (гиалиноз).

Полученные результаты статистически обрабатывали с помощью программы Microsoft Excel 2016 (США). Достоверность результатов офтальмоскопии оценивали по критерию Манна – Уитни, достоверность данных офтальмотонометрии, иммуноферментного анализа и патоморфологического исследования – по *t*-критерию Стьюдента. Качественный анализ результатов исследования местно-раздражающего действия соединения К-165 проводили с использованием критерия хи-квадрат.

3.5–4 – cortical cataract of the whole lens (defragmentation and swelling of fibers, presence of balloon cells, Morgagni globules along the entire perimeter of the lens);

4.5–5 – nuclear cataract (hyalinosis).

The obtained results were processed statistically using Microsoft Excel 2016 (USA). The accuracy of the results of ophthalmoscopy was assessed using the Mann-Whitney test, the accuracy of the results of ocular tonometry, enzyme immunoassay and pathomorphological examination – using the Student's *t*-test. A qualitative analysis of the results of the study of the local irritation effect of the compound K-165 was carried out using the chi-square test.

RESULTS

The glucose level in laboratory animals from the intact control group reached 15 mmol/l already on the third day after the streptozotocin administration and remained significantly high, exceeding the similar indicator in rats of the intact groups. In the groups of animals that were instilled the compound K-165 and melatonin, the glucose level throughout the experiment also remained significantly high compared to the intact control group.

The development of diabetes in rats was accompanied by weight loss, polyuria, polydipsia, polyphagia – clinical signs characteristic of severe DM. The animals were anergic and apathetic.

The ophthalmoscopy (retroillumination imaging) shows that in animals from the intact groups lenses remained clear until the end of the experiment (lens opacity grade 0) (Table 1). In animals with DM, by the 3rd month of the study, grade 3 of lens opacity was noted and the grade of cataract was 2.5 (the values statistically significantly differed from intact animals at $p < 0.05$).

The pathomorphological examination of the lens showed that the experimental animals with induced DM had all the signs of cataract: vacuolization, swelling and defragmentation of lens fibers with the production of balloon cells, Morgagni globules development, as well as abnormal nuclear trapping by the fibers (Fig. 1, A). In one rat with induced DM, subcapsular proliferation of epithelial cells in the anterior pole of the lens was detected (Fig. 1, B).

In most cases, animals developed cortical and peripheral types of cataracts. The grade of lens damage by morphological signs varied from moderate pathological changes to the development of almost complete cataracts. In experimental animals, which were instilled melatonin for correction of the diabetic complications, morphological signs of moder-

РЕЗУЛЬТАТЫ

Уровень гликемии у лабораторных животных из группы интактного контроля уже на третий день после введения стрептозотоцина превышал 15 ммоль/л и оставался достоверно высоким, превосходя аналогичный показатель у интактных крыс. В группах животных, которым инстиллировали соединение K-165 и мелатонин, уровень глюкозы на протяжении эксперимента также оставался достоверно высоким по сравнению с группой интактного контроля.

Развитие диабета у крыс сопровождалось потерей веса, полиурией, полидипсией, полифагией – клиническими признаками, характерными для тяжелой формы СД. Животные были вялыми и апатичными.

В результате проведенной офтальмоскопии в режиме ретроиллюминации было установлено, что у интактных животных хрусталики оставались прозрачными до конца эксперимента (степень помутнения хрусталиков 0) (табл. 1). У животных с СД к 3-му месяцу исследования развивалась скорее 3-я степень помутнения хрусталиков, и степень помутнения составила 2.5 (показатели статистически значимо отличаются от интактных животных при $p < 0.05$).

Проведенное патоморфологическое исследование хрусталика показало, что у подопытных животных с индуцированным СД отмечали все признаки развития катаракты: вакуолизация, набухание и дефрагментация хрусталиковых волокон с образованием баллонных клеток, формированием морганиевых телец, а также аномальным удержанием ядер волокнами (рис. 1, А). У одной крысы с индуцированным СД была обнаружена субкапсулярная пролиферация клеток эпителия в передней зоне хрусталика (рис. 1, В).

В большинстве случаев у животных развивались кортикальный и периферический виды ката-

рате diabetic cataracts were also found: swelling, vacuolization and partial defragmentation of lens fibers mainly in the equatorial regions of the cortical layer of the lens (Fig. 2).

In experimental rats which were instilled the melatonin bioisostere, compound K-165, pathological changes in the lens caused by long-term hyperglycemia were expressed poorly. In most cases, the main manifestations of cataract were observed in one of the equatorial regions of the lens and were characterized by local swelling of lens fibers and abnormal nuclear trapping (Fig. 3). Scoring the grade of cataract revealed a significant decrease (by 32%) in pathological changes in the lens of experimental animals with induced DM and conjunctival instillation of the compound K-165.

Thus, according to the morphological study results, the substance K-165 had a greater potential for correcting cataract manifestations in laboratory animals with induced diabetes.

The experiment revealed that in rats with diabetes mellitus, IOP increased compared to intact animals (by 36% in the control group with DM), and the IOP level in laboratory animals that received instillations of the compound K-165, decreased by 24% compared to animals with DM (Table 2). In the group of animals that were instilled melatonin, the IOP level decreased by 25% compared to the group of animals with streptozotocin-induced DM.

According to the results of the microcirculation analysis in the control group with DM, the level of retinal microcirculation decreased by 36% ($p < 0.05$) compared to the intact control group (Table 2). In the group of animals receiving the compound K-165, the level of retinal microcirculation significantly increased by 37.5% compared to the group of animals with DM. In animals receiving melatonin, a tendency to increase the level of microcirculation by 20.4% was observed in comparison with the group of

Таблица 1. Влияние соединения K-165 и мелатонина на степень помутнения хрусталиков при стрептозототцин-индуцированном сахарном диабете

Table 1. The effect of the compound K-165 and melatonin on the grade of lens opacity in streptozotocin-induced diabetes mellitus

Группа / Group	Степень помутнения хрусталиков Degree of lens opacity
Контроль 1 (интактные) / Control 1 (intacts)	0
Контроль 2 (сахарный диабет) / Control 2 (diabetes mellitus)	2.5 ± 0.25 [#]
Сахарный диабет + мелатонин / Diabetes mellitus + melatonin	1.8 ± 0.2
Сахарный диабет + K-165 / Diabetes mellitus + K-165	1.2 ± 0.24 [*]

[#] Показатели статистически значимо отличаются от группы контроля 1 (интактные) при $p < 0.05$; критерий Манна – Уитни.
The values with statistically significant differences compared to control group 1 (intacts) at $p < 0.05$; Mann-Whitney test.

^{*} Показатели статистически значимо отличаются от группы контроля 2 (сахарный диабет) при $p < 0.05$; критерий Манна – Уитни.
The values with statistically significant differences compared to control group 2 (diabetes mellitus) at $p < 0.05$; Mann-Whitney test.

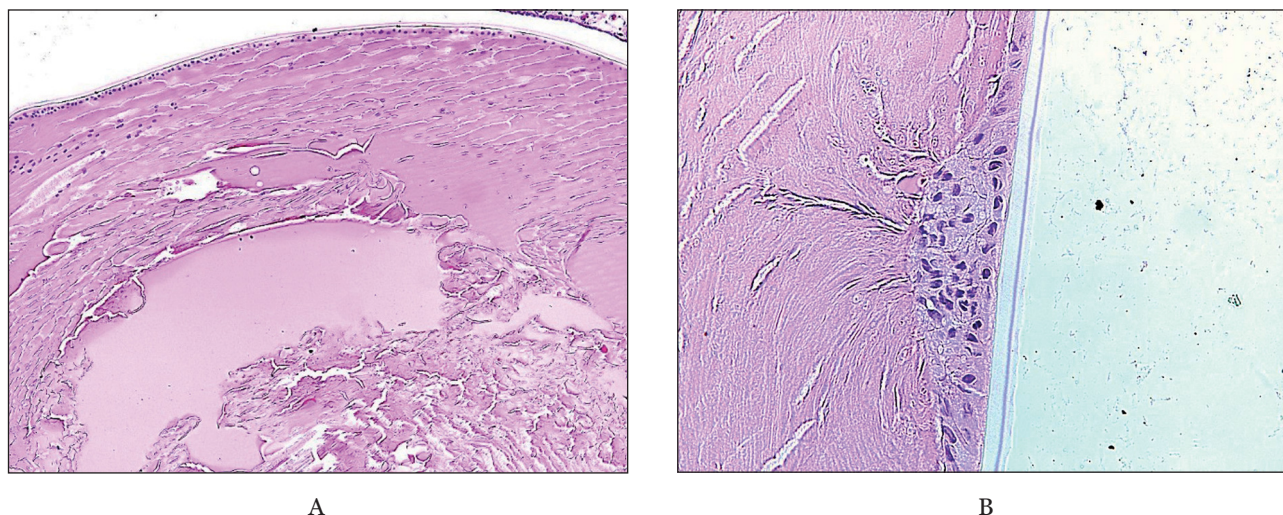


Рис. 1. Фрагмент хрусталика подопытной крысы с индуцированным сахарным диабетом, окраска гематоксилин-эозином, увеличение $\times 200$ (А) и субкапсулярная пролиферация клеток в передней зоне хрусталика, окраска гематоксилин-эозином, увеличение $\times 400$ (В)

Fig. 1. A lens fragment of the experimental rat with induced diabetes mellitus, hematoxylin and eosin staining, $\times 200$ magnification (A) and subcapsular cell proliferation in the anterior pole of the lens, hematoxylin and eosin staining, $\times 400$ magnification (B)

ракт. При этом степень выраженности повреждения хрусталика по морфологическим признакам варьировалась от умеренных патологических изменений до развития практически полной катаракты. У подопытных животных, которым в качестве средства коррекции диабетических осложнений инстиллировали мелатонин, также обнаруживали морфологические признаки средневыраженной диабетической катаракты: набухание, вакуолизация и частичная дефрагментация волокон хрусталика в основном в экваториальных зонах коркового слоя хрусталика (рис. 2).

animals with DM, though did not differ significantly from it.

The assessment of the electrophysiological state of the retina showed that streptozotocin-induced DM in animals leads to electrophysiological changes in the retina (Table 2). Thus, the b/a coefficient significantly decreased by 38% compared to the average value in intact animals, which, in turn, confirms the literature data that the earliest sign of deterioration in visual function during the experimental DM is a decrease in the amplitudes of wave potentials. When correcting streptozotocin-induced DM with the com-

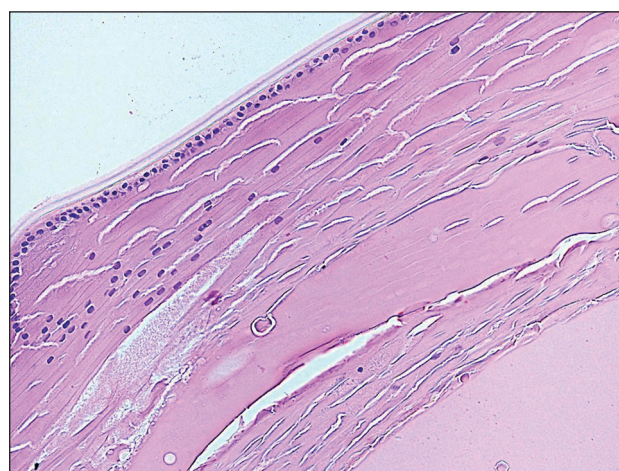


Рис. 2. Фрагмент хрусталика подопытной крысы из группы «сахарный диабет + мелатонин». Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение $\times 200$

Fig. 2. A lens fragment of the experimental rat from the group of animals with diabetes mellitus and instillation of melatonin. Hematoxylin and eosin staining. Magnification $\times 200$

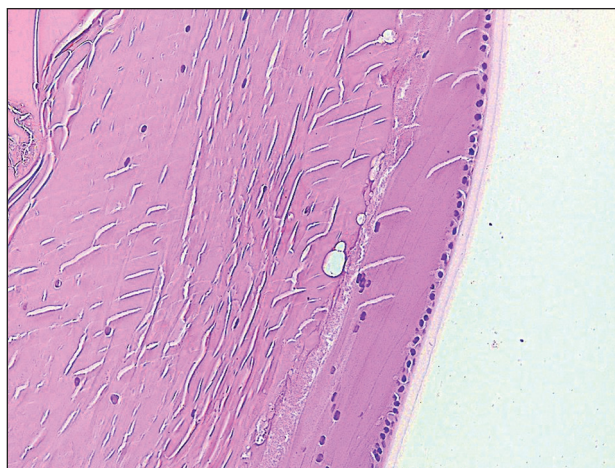


Рис. 3. Фрагмент хрусталика подопытной крысы из группы «сахарный диабет + соединение К-165».

Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение $\times 200$

Fig. 3. A lens fragment of the experimental rat from the group of animals with diabetes mellitus and instillation of K-165. Hematoxylin and eosin staining. Magnification $\times 200$

У подопытных крыс, которым инстиллировали биоизостер мелатонина – соединение К-165, патологические изменения в хрусталике, обусловленные длительной гипергликемией, были слабо выражены. В большинстве случаев основные проявления катаракты наблюдались в одной из экваториальных зон хрусталика и характеризовались локальным набуханием хрусталиковых волокон и аномальным удержанием ядер (рис. 3). Расчет среднего балла степени выраженности катаракты выявил значимый характер уменьшения (на 32 %) проявлений патологических процессов в хрусталике подопытных животных, которым конъюнктивально вводили соединение К-165 на фоне индуцированного СД.

Таким образом, по данным морфологического исследования вещество К-165 обладало большим потенциалом коррекции проявлений катаракты у лабораторных животных с индуцированным СД.

В эксперименте было выявлено, что у крыс с СД повышалось ВГД по сравнению с интактными животными: на 36 % – в группе контроля СД, а уровень ВГД у лабораторных животных, получавших инстилляцию соединения К-165, снижался на 24 % по сравнению с животными с СД (табл. 2). В группе животных, которым инстиллировали мелатонин, уровень ВГД снижался на 25 % по сравнению с группой животных со стрептозотцин-индуцированным диабетом.

По результатам анализа параметров микроциркуляции в группе контроля с СД уровень ретиальной микроциркуляции снижался на 36 % ($p < 0.05$) по сравнению с группой интактного контроля (см. табл. 2). В группе животных,

pound К-165 and melatonin, a tendency to an increase in the combined response of rods and cones was observed compared to the group of animals with streptozotocin-induced DM.

DISCUSSION

In this study, melatonin was used as a reference drug. Extensive studies have shown its presence in important structures of the eye, such as the retina, iris, ciliary body, lens, and lacrimal gland [11–14].

Melatonin plays a key role in the suppression of cataract formation due to its various properties. A significant decrease in the incidence of cataract was found after melatonin treatment, accompanied by favorable changes in oxidative stress markers and an increase in the activity of antioxidant enzymes [15]. In a model of early type 2 DM in adult rats, melatonin pellets were implanted subcutaneously. After 12 weeks of treatment, melatonin, which did not affect glucose metabolism in control and diabetic rats, prevented a decrease in α -waves, b -waves of the electroretinogram and oscillatory potential amplitude, as well as an increase in retinal lipid peroxidation, NOS activity, TNF- α , glial fibrillary acidic protein of Müller cells and vascular endothelial growth factor levels. In addition, melatonin prevented a decrease in retinal catalase activity. These results demonstrate that melatonin protects the retina from alterations observed in an experimental model of diabetic retinopathy (DR) associated with type 2 DM [16]. Furthermore, the experimental data indicate that exogenous melatonin and its analogs effectively reduce IOP in animals and patients with glaucoma. Melatonin primarily acts through specific receptors (MT1, MT2, and the puta-

Таблица 2. Влияние соединения К-165 и мелатонина на уровень внутриглазного давления ($M \pm \sigma$), микроциркуляции ($M \pm m$) и коэффициент b/a при стрептозотоцин-индуцированном сахарном диабете ($M \pm m$)
Table 2. The effect of the compound K-165 and melatonin on the level of intraocular pressure ($M \pm \sigma$), microcirculation ($M \pm m$) and the b/a coefficient in streptozotocin-induced diabetes mellitus ($M \pm m$)

Группа / Group	ВГД, мм рт. ст. IOP, mm Hg	Уровень микроциркуляции, п.е. Microcirculation level, p.u.	Коэффициент b/a , отн. ед. Coefficient b/a , a.u.
Контроль 1 (интактные) Control 1 (intact) ($n = 15$)	9.45 ± 0.45	2237.0 ± 242.2	0.34 ± 0.09
Контроль 2 (сахарный диабет) Control 2 (diabetes mellitus) ($n = 15$)	$12.9 \pm 0.95^*$	$1426.7 \pm 45.0^*$	$0.21 \pm 0.04^{\#}$
Сахарный диабет + К-165 Diabetes mellitus + K-165 ($n = 15$)	$9.8 \pm 0.51^{\#}$	$1962.4 \pm 204.9^{\#}$	0.27 ± 0.01
Сахарный диабет + мелатонин Diabetes mellitus + melatonin ($n = 15$)	$9.6 \pm 0.58^{\#}$	1771.7 ± 256.7	0.24 ± 0.01

П р и м е ч а н и я : ВГД – внутриглазное давление; п.е. – перфузионные единицы; отн. ед. – относительные единицы.

*Показатели статистически значимо отличаются от группы контроля 1 (интактные) при $p < 0.05$; t -критерий Стьюдента.

Показатели статистически значимо отличаются от группы контроля 2 (сахарный диабет) при $p < 0.05$; t -критерий Стьюдента.

Note : IOP – intraocular pressure; p.u. – perfusion units; a.u. – arbitrary units.

*The values with statistically significant differences compared to control group 1 (intacts) at $p < 0.05$; Student's t -test.

The values with statistically significant differences compared to control group 2 (diabetes mellitus) at $p < 0.05$; Student's t -test.

получавших соединение К-165, уровень ретинальной микроциркуляции достоверно повышался на 37.5 % по сравнению с группой животных с СД. У животных, получавших мелатонин, наблюдалась тенденция к увеличению уровня микроциркуляции на 20.4 % по сравнению с группой животных с СД, хотя достоверного отличия не было.

При исследовании электрофизиологического состояния сетчатки выявлено, что стрептозотоцин-индуцированный диабет у животных приводит к электрофизиологическим изменениям в сетчатке (см. табл. 2). Так, коэффициент b/a достоверно снижался на 38 % по сравнению со средним значением у интактных животных, это, в свою очередь, подтверждают литературные данные о том, что наиболее ранним сигналом ухудшения зрительной функции при развитии СД в эксперименте является снижение амплитуд волн потенциалов. На фоне коррекции стрептозотоцин-индуцированного диабета соединением К-165 и мелатонином наблюдалась тенденция к увеличению смешанного ответа палочек и колбочек по сравнению с группой животных со стрептозотоцин-индуцированным диабетом.

ОБСУЖДЕНИЕ

В данном исследовании мелатонин использовали в качестве эталонного препарата. Обшир-

ные MT3) expressed abundantly in cells of the retina and ciliated epithelium. Stimulation of these receptors, especially in the ciliary body, results in decreased aqueous humor secretion, thereby reducing IOP [17]. Although melatonin holds promise as a potential therapeutic agent for a number of eye diseases, particularly in the context of its antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective properties, its topical application as eye drops remains challenging due to the instability of the molecule in aqueous solution and poor effectiveness of the delivery to the posterior pole.

Streptozotocin-induced DM was chosen because it allows for experimental modeling diabetic cataractogenesis, neuro- and retinopathies, diabetic neovascularization, and ophthalmic hypertension.

Melatonin prevented the development of lens opacity, which is confirmed by the ophthalmoscopy and pathomorphological findings. It also contributed to a decrease in IOP, improved microcirculation parameters, and prevented a decrease in a - and b -waves of the electroretinogram. The conclusion about the protective role of melatonin in DR is consistent with the previously findings [18].

A new derivative of 3-arylidene-2-oxindole, the compound K-165 exhibits a significant anti-cataract effect on the lenses of laboratory animals with streptozotocin-induced DM, surpassing melatonin in activity.

Simultaneously with the study of the lens, the effect of the compound K-165 on changes in the struc-

ные исследования выявили его присутствие в важнейших структурах глаза, таких как сетчатка, радужная оболочка, цилиарное тело, хрусталик и слезная железа [11–14].

Мелатонин играет ключевую роль в подавлении образования катаракты благодаря своим разнообразным свойствам. Выявлено значительное снижение заболеваемости катарактой после лечения мелатонином, сопровождающееся благоприятными изменениями маркеров окислительного стресса и усилением активности антиоксидантных ферментов [15]. В модели раннего СД2 у взрослых крыс животным подкожно имплантировали гранулы мелатонина. Через 12 нед лечения мелатонин, не влиявший на метаболизм глюкозы у контрольных и диабетических крыс, предотвращал снижение а-волн электроретинограммы, b-волн и амплитуды колебательного потенциала, а также увеличение перекисного окисления липидов сетчатки, активности NOS, TNF- α , глиального фибриллярного кислого белка клеток Мюллера и фактора роста эндотелия сосудов. Кроме того, мелатонин предотвращал снижение активности каталазы сетчатки. Эти результаты показывают, что мелатонин защищает сетчатку от изменений, наблюдаемых в экспериментальной модели диабетической ретинопатии (ДР), связанной с диабетом 2-го типа [16]. Кроме того, экспериментальные данные свидетельствуют о том, что экзогенный мелатонин и его аналоги эффективно снижают ВГД у животных и пациентов с глаукомой. Действие мелатонина в первую очередь осуществляется через специфические рецепторы (MT1, MT2 и предполагаемый MT3), обильно экспрессирующиеся в клетках сетчатки и мерцательном эпителии. Стимуляция этих рецепторов, особенно в цилиарном теле, приводит к снижению секреции водянистой влаги, тем самым снижая ВГД [17]. Несмотря на то, что мелатонин является перспективным в качестве потенциального терапевтического средства при ряде глазных заболеваний, особенно в контексте его антиоксидантных, противовоспалительных и нейропротекторных свойств, его местное применение в виде глазных капель остается сложной задачей из-за нестабильности молекулы в водном растворе и низкой эффективности доставки к заднему полюсу.

Стрептозотозин-индуцированный сахарный диабет был выбран, так как он позволяет в экспериментальных условиях моделировать диабетический катарактогенез, нейро- и ретинопатии, диабетическую неоваскуляризацию, офтальмогипертензию.

Structure and function of the retina in experimental DM was investigated. The early cataract formation in diabetic animals and decreased transparency of ocular media complicated direct ophthalmoscopy of the fundus oculi. However, functional methods made it possible to analyze the effect of the compound K-165 and the reference drug on the development of DR. Laser Doppler as a part of the experiment study made it possible to reveal a positive effect of the compound K-165 on the level of perfusion of ischemic tissues in diabetic animals: a significant increase in the level of ocular microcirculation was observed in the group of animals that received the compound K-165. Photoreceptor neurodegeneration up to apoptosis is an integral component of DR pathogenesis and is manifested by a decrease in the amplitude of a-wave of the electroretinogram [19, 20]. With the correction of streptozotocin-induced DM by the compound K-165, a tendency to increase in the combined response of rods and cones was observed compared to the group of animals with streptozotocin-induced DM. Therefore, the compound K-165, having a positive effect on functional changes in hyperglycemia, demonstrated retinoprotective properties in uncontrolled diabetes mellitus.

CONCLUSION

The performed study allows us to draw the following conclusions:

1. A new derivative of 3-arylidene-2-oxindole, the compound K-165 promotes the delayed opacity formation in the chrySTALLINE lens, surpassing the reference drug melatonin in activity, and reduces IOP by 24% ($p < 0.05$) compared to animals with DM from the control group.
2. The compound K-165 decreases the severity of morphological signs of lens pathology by 32% (defragmentation and swelling of lens fibers, migration of the anterior epithelium to the poles and to the posterior surface of the lens, and appearance of Morgagni globules) compared to animals with DM from the control group.
3. The compound K-165 promotes an increase in the level of ocular blood microcirculation by 37.5% ($p < 0.05$) and demonstrates a tendency to normalization of the retinal bioelectrical activity compared to laboratory animals with DM from the control group.

Funding. The research was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation and Administration of the Novgorod region, project 22-15-20025.

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

Мелатонин препятствовал развитию помутнения хрусталиков, что подтверждается данными офтальмоскопического контроля и патоморфологического исследования. Также он способствовал снижению ВГД, улучшению параметров микроциркуляции и предотвращал снижение а- и b-волн электроретинограммы. Вывод о защитных функциях мелатонина при ДР согласуется с заключениями, ранее опубликованными в литературных источниках [18].

Новое производное 3-арилиден-2-оксиндола – соединение К-165 проявляет выраженное антикатарактальное действие на хрусталики лабораторных животных со стрептозотоцин-индуцированным СД, превосходя по активности мелатонин.

Параллельно исследованию хрусталика изучалось влияние соединения К-165 на изменения структуры и функции сетчатки в условиях экспериментального диабета. Раннее развитие катаракты у диабетических животных и снижение прозрачности оптических сред затрудняло непосредственный офтальмоскопический контроль за состоянием глазного дна. Однако функциональные методы исследования позволили проанализировать влияние соединения К-165 и препарата сравнения на развитие ДР. Проведенная в рамках экспериментальной части лазерная доплеровская флоуметрия позволила выявить положительное влияние соединения К-165 на уровень перфузии ишемизированных тканей у диабетических животных: наблюдалось достоверное повышение уровня глазной микроциркуляции в группе животных, которым вводили соединение К-165. Нейродегенерация фоторецепторов вплоть до апоптоза является неотъемлемым компонентом патогенеза ДР и проявляется снижением амплитуды а-волны электроретинограммы [19, 20]. На фоне коррекции стрептозотоцин-индуцированного диабета соединением

К-165 наблюдалась тенденция к увеличению смешанного ответа палочек и колбочек по сравнению с группой животных со стрептозотоцин-индуцированным диабетом. Следовательно, соединение К-165, позитивно влияя на функциональные изменения при гипергликемии, продемонстрировало нейроретинопротективные свойства при некомпенсированном сахарном диабете.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволяет сделать следующие выводы:

1. Новое производное 3-арилиден-2-оксиндола – соединение К-165 способствует задержке образования помутнения в хрусталиках, превосходя по активности препарат сравнения мелатонин, и снижает ВГД на 24 % ($p < 0.05$) по сравнению с животными с диабетом из группы контроля.

2. Соединение К-165 снижает выраженность морфологических признаков патологии хрусталика (на 32 % уменьшает дефрагментацию и набухание волокон хрусталика, миграцию переднего эпителия к полюсам и на заднюю поверхность хрусталика, образование морганиевых телец) по сравнению с животными с диабетом из группы контроля.

3. Соединение К-165 способствует повышению уровня глазной гемомикроциркуляции на 37.5 % ($p < 0.05$) и демонстрирует тенденцию к нормализации биоэлектрической активности сетчатки по сравнению с лабораторными животными с СД из контрольной группы.

Финансирование. Исследования выполнены при финансовой поддержке Российского научного фонда и администрации Волгоградской области, проект 22-15-20025.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дедов И.И., Шестакова М.В., Викулова О.К. и др. Сахарный диабет в Российской Федерации: динамика эпидемиологических показателей по данным Федерального регистра сахарного диабета за период 2010 – 2022 гг. // Сахарный диабет. 2023;26(2):104-123. DOI: 10.14341/DM13035.
2. Тельтевская И.И., Иванова С.В., Ющук Е.Н. и др. Контроль основных факторов сердечно-сосудистого риска у пациентов с сахарным диабетом 2 типа и синдромом диабетической стопы // Эффективная фармакотерапия. 2023;19(1):26-31. DOI: 10.33978/2307-3586-2023-19-1-26-31.

REFERENCES

1. Dedov I.I., Shestakova M.V., Vikulova O.K. et al. Diabetes mellitus in the Russian Federation: dynamics of epidemiological indicators according to the Federal Register of Diabetes Mellitus for the period 2010–2022. *Diabetes Mellitus*. 2023;26(2):104-123. DOI: 10.14341/DM13035. (In Russ.)
2. Teltevskaia I.I., Ivanova S.V., Yushchuk E.N. et al. Control of major cardiovascular risk factors in patients with type 2 diabetes and diabetic foot syndrome. *Effective Pharmacotherapy*. 2023;19(1):26-31. DOI: 10.33978/2307-3586-2023-19-1-26-31. (In Russ.)
3. Dal Canto E., Ceriallo A., Rydén L. et al. Diabetes as a cardiovascular risk factor: An overview of global

3. Dal Canto E., Ceriello A., Rydén L. et al. Diabetes as a cardiovascular risk factor: An overview of global trends of macro and micro vascular complications // *Eur. J. Prev. Cardiol.* 2019; 26 (2_suppl.):25-32. DOI: 10.1177/2047487319878371.
4. Липатов Д.В., Чистяков Т.А., Кузьмин А.Г. и др. Диабетическая глаукома: особенности клиники и лечения // *Эндокринная хирургия.* 2011;5(1):21-28.
5. Нероев В.В., Зайцева О.В., Михайлова Л.А. Заболеваемость диабетической ретинопатией в Российской Федерации по данным федеральной статистики // *Российский офтальмологический журнал.* 2018;11(2):5-9. DOI: 10.21516/2072-0076-2018-11-2-5-9.
6. Falavarjani K.G., Nguyen Q.D. Adverse events and complications associated with intravitreal injection of anti-VEGF agents: a review of literature // *Eye (Lond).* 2013;27(7):787-794. DOI: 10.1038/eye.2013.107.
7. Rezzola S., Guerra J., Krishna Chandran A.M. et al. VEGF-independent activation of Müller cells by the vitreous from proliferative diabetic retinopathy patients // *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(4):2179. DOI: 10.3390/ijms22042179.
8. Suryanarayana P., Saraswat M., Mrudula T. et al. Curcumin and turmeric delay streptozotocin-induced diabetic cataract in rats // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2005; 46(6):2092-2099. DOI: 10.1167/iovs.04-1304.
9. Latendresse J.R., Warbritton A.R., Jonassen H., Creasy D.M. Fixation of testes and eyes using a modified Davidson's fluid: Comparison with Bouin's fluid and conventional Davidson's fluid // *Toxicol. Pathol.* 2002; 30(4):524-533. DOI: 10.1080/01926230290105721.
10. Саркисов Д.С., Перов Ю.Л. Микроскопическая техника: Руководство. М.: Медицина, 1996. 544 с.
11. Abe M., Itoh M.T., Miyata M. et al. Circadian rhythm of serotonin N-acetyltransferase activity in rat lens // *Exp. Eye Res.* 2000;70(6):805-808. DOI: 10.1006/exer.2000.0845.
12. Aimoto T., Rohde B.H., Chiou G.C., Lauber J.K. N-acetyltransferase activity and melatonin level in the eyes of glaucomatous chickens // *J. Ocul. Pharmacol.* 1985;1(2):149-160. DOI: 10.1089/jop.1985.1.149.
13. Bubenik G.A., Brown G.M., Uhlir I., Grota L.J. Immunohistological localization of N-acetylindolealkylamines in pineal gland, retina and cerebellum // *Brain Res.* 1974;81(2):233-242. DOI: 10.1016/0006-8993(74)90938-X.
14. Quay W.B. Increases in volume, fluid content, and lens weight of eyes following systemic administration of melatonin // *J. Pineal Res.* 1984;1(1):3-13. DOI: 10.1111/j.1600-079X.1984.tb00190.x.
15. Yağci R., Aydin B., Erdurmuş M. et al. Use of melatonin to prevent selenite-induced cataract formation in rat eyes // *Cur. Eye Res.* 2006;31(10):845-850. DOI: 10.1080/02713680600899663.
16. Salido E.M., Bordone M., De Laurentiis A. et al. Therapeutic efficacy of melatonin in reducing retinal damage in an experimental model of early type 2 diabetes in rats // *J. Pineal Res.* 2006;54(2):179-189. DOI: 10.1111/jpi.12008.
17. Alkozi H., Sánchez-Naves J., de Lara M.J.P. et al. Elevated intraocular pressure increases melatonin levels in the aqueous humour // *Acta Ophthalmol.* 2017;95(3):e185-e189. DOI: 10.1111/aos.13253.
18. Rusciano D., Russo C. The therapeutic trip of melatonin eye drops: from the ocular surface to the retina. *Phar-* trends of macro and micro vascular complications. *Eur. J. Prev. Cardiol.* 2019; 26 (2_suppl.):25-32. DOI: 10.1177/2047487319878371.
4. Lipatov D.V., Chistjakov T.A., Kuzmin A.G. et al. Diabetic glaucoma: clinical and treatment features. *Endocrine Surgery.* 2011;5(1):21-28. (In Russ.)
5. Neroev V.V., Zaytseva O.V., Mikhailova L.A. Diabetic retinopathy prevalence in the Russian Federation according to all-Russia statistics. *Russian Ophthalmological Journal.* 2018;11(2):5-9. DOI: 10.21516/2072-0076-2018-11-2-5-9. (In Russ.)
6. Falavarjani K.G., Nguyen Q.D. Adverse events and complications associated with intravitreal injection of anti-VEGF agents: a review of literature. *Eye (Lond).* 2013;27(7):787-794. DOI: 10.1038/eye.2013.107.
7. Rezzola S., Guerra J., Krishna Chandran A.M. et al. VEGF-independent activation of Müller cells by the vitreous from proliferative diabetic retinopathy patients. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(4):2179. DOI: 10.3390/ijms22042179.
8. Suryanarayana P., Saraswat M., Mrudula T. et al. Curcumin and turmeric delay streptozotocin-induced diabetic cataract in rats. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2005;46(6):2092-2099. DOI: 10.1167/iovs.04-1304.
9. Latendresse J.R., Warbritton A.R., Jonassen H., Creasy D.M. Fixation of testes and eyes using a modified Davidson's fluid: Comparison with Bouin's fluid and conventional Davidson's fluid. *Toxicol. Pathol.* 2002; 30(4):524-533. DOI: 10.1080/01926230290105721.
10. Sarkisov D.S., Perov Yu.L. (1996). *Microscopic Techniques: A Manual.* Moscow, Medicine. 544 p. (In Russ.)
11. Abe M., Itoh M.T., Miyata M. et al. Circadian rhythm of serotonin N-acetyltransferase activity in rat lens. *Exp. Eye Res.* 2000;70(6):805-808. DOI: 10.1006/exer.2000.0845.
12. Aimoto T., Rohde B.H., Chiou G.C., Lauber J.K. N-acetyltransferase activity and melatonin level in the eyes of glaucomatous chickens. *J. Ocul. Pharmacol.* 1985;1(2):149-160. DOI: 10.1089/jop.1985.1.149.
13. Bubenik G.A., Brown G.M., Uhlir I., Grota L.J. Immunohistological localization of N-acetylindolealkylamines in pineal gland, retina and cerebellum. *Brain Res.* 1974;81(2):233-242. DOI: 10.1016/0006-8993(74)90938-X.
14. Quay W.B. Increases in volume, fluid content, and lens weight of eyes following systemic administration of melatonin. *J. Pineal Res.* 1984;1(1):3-13. DOI: 10.1111/j.1600-079X.1984.tb00190.x.
15. Yağci R., Aydin B., Erdurmuş M. et al. Use of melatonin to prevent selenite-induced cataract formation in rat eyes. *Cur. Eye Res.* 2006;31(10):845-850. DOI: 10.1080/02713680600899663.
16. Salido E.M., Bordone M., De Laurentiis A. et al. Therapeutic efficacy of melatonin in reducing retinal damage in an experimental model of early type 2 diabetes in rats. *J. Pineal Res.* 2006;54(2):179-189. DOI: 10.1111/jpi.12008.
17. Alkozi H., Sánchez-Naves J., de Lara M.J.P. et al. Elevated intraocular pressure increases melatonin levels in the aqueous humour. *Acta Ophthalmol.* 2017; 95(3):e185-e189. DOI: 10.1111/aos.13253.
18. Rusciano D., Russo C. The therapeutic trip of melatonin eye drops: from the ocular surface to the retina. *Phar-*

18. Rusciano D., Russo C. The therapeutic trip of melatonin eye drops: from the ocular surface to the retina // *Pharmaceuticals* (Basel). 2024;17(4):441. DOI: 10.3390/ph17040441.
19. Bautista-Pérez R., Cano-Martínez A., Gutiérrez-Velázquez E. Spinach methanolic extract attenuates the retinal degeneration in diabetic rats // *Antioxidants*. 2021;10(5):717. DOI: 10.3390/antiox10050717.
20. Shuhong Q., Yujin Q., Dongxia H. et al. Tanshinone IIa protects retinal endothelial cells against mitochondrial fission induced by methylglyoxal through glyoxalase 1 // *Eur. J. Pharmacol.* 2019;857:172419. DOI: 10.1016/j.ejphar.2019.172419.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Спасов Александр Алексеевич – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, заведующий кафедрой фармакологии и биоинформатики ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Волгоград, Россия.

Науменко Людмила Владимировна – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры фармакологии и биоинформатики ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Волгоград, Россия.

Говорова Юлия Александровна – канд. мед. наук, врач-офтальмолог ГАУЗ «Клиническая поликлиника № 3», Волгоград, Россия.

Таран Алена Сергеевна – канд. мед. наук, доцент кафедры фармакологии и биоинформатики ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Волгоград, Россия.

Чебанько Алина Михайловна – старший лаборант, соискатель кафедры фармакологии и биоинформатики ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Волгоград, Россия.

Смирнов Александр Владимирович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Волгоград, Россия.

Великородная Юлия Ивановна – младший научный сотрудник лаборатории токсикологии Научного центра инновационных лекарственных средств ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Волгоград, Россия.

Лозинская Наталья Александровна – канд. хим. наук, доцент кафедры медицинской химии и тонкого органического синтеза ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия.

Безсонова Елена Николаевна – аспирант 4-го года обучения, техник 1-й категории кафедры медицинской химии и тонкого органического синтеза ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия.

maceuticals (Basel). 2024;17(4):441. DOI: 10.3390/ph17040441.

19. Bautista-Pérez R., Cano-Martínez A., Gutiérrez-Velázquez E. Spinach methanolic extract attenuates the retinal degeneration in diabetic rats. *Antioxidants*. 2021;10(5):717. DOI: 10.3390/antiox10050717.
20. Shuhong Q., Yujin Q., Dongxia H. et al. Tanshinone IIa protects retinal endothelial cells against mitochondrial fission induced by methylglyoxal through glyoxalase 1. *Eur. J. Pharmacol.* 2019;857:172419. DOI: 10.1016/j.ejphar.2019.172419.

ABOUT THE AUTHORS

Aleksandr A. Spasov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Honored Scientist of the Russian Federation, Head, Department of Pharmacology and Bioinformatics, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia.

Lyudmila V. Naumenko – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Professor, Department of Pharmacology and Bioinformatics, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia.

Yulia A. Govorova – Cand. Sci. (Med.), Ophthalmologist, Outpatient Clinic No. 3, Volgograd, Russia.

Alena S. Taran – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Pharmacology and Bioinformatics, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia.

Alina M. Chebanko – Senior Laboratory Assistant, Applicant, Department of Pharmacology and Bioinformatics, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia.

Aleksandr V. Smirnov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Pathological Anatomy, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia.

Yulia I. Velikorodnaya – Junior Researcher, Toxicology Laboratory, Scientific Center for Innovative Medicines, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia.

Natalia A. Lozinskaya – Cand. Sci. (Chem.), Associate Professor, Department of Medicinal Chemistry and Fine Organic Synthesis, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia.

Elena N. Bezsonova – 4th year Post-graduate Student, Technician, Department of Medicinal Chemistry and Fine Organic Synthesis, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia.