



УДК 577.112:612.8+576.311

Наночастинки C_{60} фулерену попереджають реактивний гліоз у сітківці старих щурів при гіперглікемії

I.V. Прищеп¹, O.G. Прокушенкова², V.C. Недзвєцький¹

¹Дніпропетровський національний університет імені Олеса Гончара, Дніпропетровськ, Україна

²Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет, Дніпропетровськ, Україна

Реактивація гліальних клітин, що індукується метаболічним розладом утилізації глюкози та розвитком окисного стресу в сітківці при цукровому діабеті, є центральним фактором патогенезу діабетичної ретинопатії. Наночастинки фулерену C_{60} та окремі його водорозчинні похідні характеризуються потужними антиоксидантними властивостями та нейропротекторною дією у випадку значної кількості патологій та несприятливих впливів. Уперше досліджено вплив низьких доз гідратованого C_{60} фулерену ($C_{60}HyFn$) на експресію та поліпептидний склад гліального фібрилярного кислого протеїну (ГФКП) у сітківці щурів при діабеті, індукованому стрептозоточином (СТЗ). Із застосуванням методу імуноблотингу показано зростання експресії ГФКП у сітківці щурів із діабетом порівняно з контролем у 1,93 раза, що свідчить про суттєву реактивацію гліальних клітин ретини при гіперглікемії. Підвищення ГФКП-імунореактивності, асоційоване з розвитком реактивного астрогліозу у сітківці діабетичних щурів, підтверджено імуногістохімічно на фіксованих зрізах сітківки. Споживання діабетичними щурами розчину $C_{60}HyFn$ (90 нМ) з питною водою протягом 12 тижнів викликало зниження вмісту ГФКП у 1,51 раза порівняно з цим показником у групі діабетичних тварин. $C_{60}HyFn$ сприяв достовірному (у 1,58 раза) зниженню вмісту глікозильованого гемоглобіну в сироватці крові щурів з СТЗ-діабетом. Наночастинки $C_{60}HyFn$ не змінювали рівень інсуліну та глюкози у крові діабетичних щурів. Отримані результати свідчать про те, що протекторна дія гідратованого фулерену при діабетичній ретинопатії зрілих тварин реалізується через пригнічення ним надмірної активації ГФКП-позитивних клітин сітківки.

Ключові слова: цукровий діабет; діабетична ретинопатія; астрогліоз; гліальний фібрилярний кислий протеїн (ГФКП); гідратований C_{60} фулерен

Nanoparticles C_{60} fullerene prevent reactive gliosis in retina of aged rats under hyperglycemia

I.V. Prischepa¹, O.G. Prokushenkova², V.S. Nedzvetsky¹

¹Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Dnipropetrovsk, Ukraine

²Dnipropetrovsk State Agrarian-Economic University, Dnipropetrovsk, Ukraine

Reactivation of glial cells, induced by metabolic disorders of glucose utilization and development of oxidative stress in retina under diabetes mellitus, is the key pathogenetic factor of diabetic retinopathy. Nanoparticles of C_{60} fullerene and some of their water-soluble derivatives are known as one of the strongest antioxidants having neuroprotective effect in a number of pathologies and harmful influences. In the present study, for the first time, the effects of nanostructures of hydrated C_{60} fullerene ($C_{60}HyFn$) on the expression and polypeptide composition of glial fibrillary acidic protein (GFAP) in retina of rats with streptozotocin (STZ)-induced diabetes have been evaluated. Using immunoblotting, 1.93-fold up-regulation of GFAP in diabetic rat retina as compared with control was shown, as a result of retinal glial cells reactivation induced by hyperglycemia. Increase in GFAP-immunolabeling associated with the reactive gliosis development in retina of diabetic rats was also confirmed by immuno-histochemical method. Consumption of $C_{60}HyFn$ solution (90 nM) as drinking water by diabetic rats for 12 weeks caused 1.51-fold decrease of GFAP level compared to untreated diabetic animals. In addition, $C_{60}HyFn$ caused statistically significant lowering of glycosylated hemoglobin concentration in blood serum of STZ-diabetic rats 1.58-fold. However, nanoparticles C_{60} did not affect neither insulin nor glucose levels in blood of diabetic rats. In conclusion, results obtained indicate that

protective action of hydrated fullerene in the initial period of diabetic retinopathy of aged animals is realized through suppression of excessive activation of GFAP-positive retinal cells.

Key words: diabetes mellitus; diabetic retinopathy; astrogliosis; glial fibrillary acidic protein (GFAP); hydrated C₆₀ fullerene

Вступ

Діабетичною ретинопатією (ДР) вважають комплексне мікроциркуляторне захворювання сітківки, що індукується гіперглікемією як за інсулін-залежного, так і інсулін-незалежного типів діабету. Характерна риса патогенезу ДР – розвиток нейродегенеративних змін. Ретинальна нейродегенерація виявляється до того, як можуть бути визначені мікроциркуляторні порушення (Rungger-Brandle et al., 2000). Молекулярні механізми нейродегенеративних змін у сітківці критичні для терапії у ранній період ДР.

ДР відносять до найпоширеніших ускладнень цукрового діабету. За оцінками Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВОЗ), у 2025 році кількість хворих на діабет може сягнути 380 мільйонів (Tagg et al., 2013). Діабетичні порушення у сітківці можуть бути результатом активації загальнопоширених типів клітинної відповіді: апоптозу, запальних процесів і окисного стресу. Окисний стрес впливає на широке коло біохімічних процесів, регуляції метаболічних шляхів та клітинних функцій. Однією з головних рис ДР є розвиток окисного стресу та пов'язаних із ним метаболічних порушень.

Гліальні клітини забезпечують структурну та метаболічну підтримку нейронів та кровоносних судин сітківки ока. Нейродегенеративні процеси активуються безпосередньо після початку розвитку діабету. Однак астроцити та клітини Мюллера сітківки виявляють реактивність лише через декілька місяців (Rungger-Brandle et al., 2000). Високий рівень аеробного метаболізму в нервових клітинах зумовлює активізацію процесів генерації вільних радикалів, зокрема, при гіперглікемії. Нейрони чутливі до ушкоджувальної дії вільних радикалів завдяки високому вмісту поліненасичених жирних кислот і відносно слабкій антиоксидантній системі. Патологічні зміни сітківки за ДР достатньо ретельно досліджені в мікроваскулярних і нейрональних патернах (Liu et al., 2012). У той же час, роль гліальних клітин ДР, патогенез нейронально-гліальних та гліально-судинних взаємодій залишаються не зрозумілими.

Найбільш визнаний маркер стану глії – гліальний фібрилярний кислий протеїн (ГФКП). Клітинна відповідь на дію різних за природою чинників супроводжується надмірною експресією ГФКП, проліферацією та гіпертрофією астроцитів. Цей феномен отримав назву «астрогліоз». ГФКП-позитивні клітини виконують широке коло функцій, які забезпечують захист нейронів від нейротоксичного впливу вільних радикалів. Астроцити мають потужнішу антиоксидантну спроможність, ніж нейрони (Dringen et al., 2005). Враховуючи всі ці факти, саме астроцити розглядають як головні протектори нейронів від ушкоджувальної дії оксидативного стресу.

Враховуючи той факт, що ДР – головна причина втрати зору серед людей зрілого віку, пошук засобів, спрямованих на корекцію цього ускладнення, – актуальне медико-соціальне завдання. Широко досліджуються ефекти сполук, що мають антиоксидантні властивості.

Нещодавно показано нейропротекторну ефективність гідратованої форми фулерену C₆₀ (C₆₀HуFn) в окремих відділах мозку та збереження тестикулярної функції у діабетичних тварин (Etem et al., 2014). Незважаючи на численні дослідження нейропротекторних ефектів фулерену C₆₀, його потенційне застосування для корекції пошкоджень сітківки, індукованих гіперглікемією, залишається не вивченим. Саме тому комплексний аналіз молекулярних та клітинних порушень сітківки при ДР важливий для розкриття механізмів розвитку патології та розроблення нейропротекторних засобів.

Мета статті – визначити ефекти гідратованого C₆₀ фулерену на стан ГФКП-позитивних клітин сітківки дорослих щурів та біохімічні показники при СТЗ-індукованому діабеті у щурів.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проведено на щурах лінії Вістар (самці, 10–11 місяців), отриманих із виварію ДНУ імені Олеса Гончара. Тварин утримували в умовах постійної температури (22 ± 2 °C) та тривалості світлового дня (12/12-годинний цикл). Протоколи досліджень розглянуті та затверджені місцевим комітетом із питань етичного поводження з тваринами Дніпропетровської державної медичної академії. Рандомізовані тварини поділені на чотири групи (n = 5): 1 – контрольна група (К) (інтактні тварини), 2 – «нормальний» контроль (тварини, які отримували розчин C₆₀HуFn із питною водою), 3 – щури із СТЗ-діабетом (СТЗД), 4 – діабетичні тварини, які отримували розчин C₆₀HуFn із питною водою (СТЗД+C₆₀). Тваринам третьої та четвертої груп одноразово вводили інтраперитонеально СТЗ (Sigma, St. Louis, MO, USA) у дозі 50 мг/кг для індукції діабету. Тварини другої та четвертої групи отримували розчин 60 нг/мл C₆₀ (~90 нМ) у питній воді протягом 12 тижнів.

Для дослідження відбирали щурів із концентрацією глюкози в крові не менше 20 мМ/л. За 12 тижнів із моменту індукції діабету щури всіх груп були декапітовані під дієтилефірним наркозом. У сироватці визначали концентрацію глюкози, інсуліну (Rat Insulin Kit, Linc Research, St Charles, MO, USA) імуноензимним аналізом (ELISA, Elx-800, BioTek Instruments, Winooski, VT) та вміст глікозильованого гемоглобіну (HbA1c) (Alfabiotech, Milano, Italy).

Із тканини сітківки отримували протеїнові екстракти та фіксовані зразки для імуногістохімії. Гомогенат сітківки (10%, вага/об'єм) готували у 50 мМ трис-буфері (pH 7,8), який додатково містив 0,5% додецилсульфату Na (DSN), 0,15 М NaCl, 2,5 мМ етилендіамінтетраоцтової кислоти (EDTA) та суміш інгібіторів протеїнази. Гомогенати центрифугували за 16 000 g протягом 30 хв за температури 4 °C. Вміст загального протеїну у пробах визначали методом Bradford (1976). Вміст ГФКП і склад його поліпептидних фрагментів визначали методом імуноблотингу за методикою, описаною раніше (Nedzvetsky et al., 2012). Імуногістохімічне визначення астрогліозу прово-

дили на фіксованих зрізах сітківки з використанням антитіл проти ГФКП (1/200, Santa Cruz). Вихідний розчин C_{60} із концентрацією $8,88 \times 10^{-4}$ М (Andrievsky et al., 2009) використовували для робочого розведення 90 нМ (~60 нг/мл). Статистичну обробку даних виконували із застосуванням методів математичної статистики для малих вибірок із застосуванням пакета Statistica® for Windows 6.0 (StatSoft Inc.). Відносний вміст ГФКП відображали у вигляді $M \pm m$, вірогідність міжгрупової різниці оцінювали за допомогою t-критерію Стюдента ($P < 0,05$) після перевірки нормальності розподілу та різниці між генеральними дисперсіями.

Результати та їх обговорення

Результати визначення концентрації глюкози у сироватці крові щурів до індукції СТЗ-діабету та за 12 тижнів показали значні відмінності відносно контрольної групи та групи нормального контролю (C_{60}). Отримані дані свідчать про розвиток стійкої гіперглікемії (рис. 1). Достовірної різниці за вмістом глюкози у групах тварин СТЗД та СТЗД+ C_{60} не виявлено. Споживання C_{60} HyFn не впливало на метаболічне порушення утилізації глюкози у СТЗ-діабетичних щурів.

Концентрація інсуліну у крові СТЗД та СТЗД+ C_{60} груп діабетичних тварин зрілого віку була нижча за контрольну групу у 1,54 та 1,41 раза відповідно ($P > 0,05$). Отриманий результат може відображати тенденцію часткового відновлення β -клітин островків Лангерганса за дії C_{60} HyFn.

Визначним показником порушення шляхів утилізації глюкози є вміст глікозильованого гемоглобіну. У крові щурів СТЗД-групи вміст глікозильованого гемоглобіну був достовірно вищим за такий показник у контрольній групі ($P < 0,05$) (табл.). Споживання C_{60} HyFn з питною водою (СТЗД+ C_{60} група) викликало зниження вмісту глікозильованого гемоглобіну у 1,58 раза ($P < 0,05$), що свідчить про його здатність частково попереджати метаболічний розлад утилізації глюкози.

Результати імуногістохімічного забарвлення ГФКП на зрізах сітківки щурів діабетичної групи виявили значний гліоз в астроцитах і клітинах Мюллера внутрішнього шару порівняно з контрольною групою (рис. 2). Не виявлено різниці в імунозабарвленні зрізів контрольної групи та групи нормального контролю. Суттєве зменшення рівня ГФКП-позитивного забарвлення виявлене на зрізах сітківки діабетичних щурів, які споживали C_{60} HyFn, порівняно з групою СТЗД.

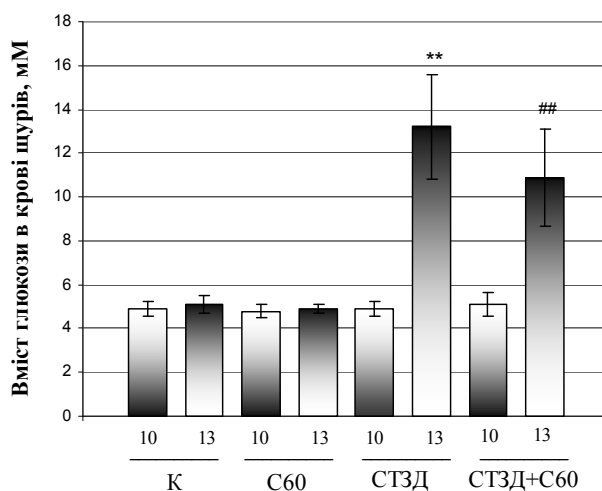


Рис. 1. Вміст глюкози в сироватці крові щурів: 10, 13 – вік тварин (місяці); К – контроль; C_{60} – група нормального контролю; СТЗД – діабетична група; СТЗД+ C_{60} – діабетична група щурів, які отримували розчин 90 нМ C_{60} ; ** – $P < 0,01$ відносно контрольної групи, ## – $P < 0,01$ відносно нормального контролю

Таблиця

Вага та біохімічні показники крові щурів на початку та за 12 тижнів СТЗ-індукованого діабету

Характеристика, період експерименту		Інтактний контроль (К)	Нормальний контроль (C_{60})	Діабетичні щури (СТЗД)	Діабетичні, які отримували C_{60} (СТЗД+ C_{60})
Вага тварин, г	10 місяців	291 ± 14,5	288 ± 15,7	290 ± 13,4	292 ± 14,1
	+ 12 тижнів СТЗ-діабет	305 ± 15,1	307 ± 14,2	263 ± 12,2	282 ± 13,7
Інсулін, мкОд/мл	10 місяців	46,1 ± 2,03	44,5 ± 1,76	21,3 ± 2,02**	22,5 ± 1,55**
	+ 12 тижнів СТЗ-діабет	45,7 ± 2,43	45,5 ± 1,87	29,7 ± 1,55**	32,5 ± 1,73*
Глікозильований гемоглобін, мг/г білка	10 місяців	0,37 ± 0,028	0,35 ± 0,014	0,35 ± 0,022	0,32 ± 0,023
	+ 12 тижнів СТЗ-діабет	0,38 ± 0,016	0,29 ± 0,017	0,84 ± 0,076**	0,53 ± 0,033 [#]

Примітки: достовірність змін відносно контрольної групи ** – $P < 0,01$, * – $P < 0,05$, відносно СТЗД групи [#] – $P < 0,05$.

У зразках сітківки контрольної та нормального контролю груп щурів ГФКП визначений поліпептид 49 кДа (рис. 3). У сітківці щурів групи СТЗД виявлено інтактний 49 кДа та його фрагменти в у діапазоні 49–40 кДа. Спо-

живання C_{60} HyFn суттєво запобігало деградації ГФКП. Останнім часом запропоновано використання продуктів обмеженого протеолізу як додаткового маркера астрогліозу (Sugaya-Fukasawa et al., 2010).

Лімітований протеоліз проміжних філаментів можуть здійснювати лише окремі ферменти, наприклад, калпаїни або каспази, які активуються в ході астрогліозу (Dringen et al., 2005). Результати вказують на те, що гіперглікемія індукує надмірну активацію протеаз і перебудови цитоскелета гліальних клітин. У той же час, споживання C_{60} НуFn із питною водою протягом 12 тижнів запобігало розвитку астрогліальної реактивації у сітківці разом із попередженням протеолізу проміжних філаментів глії у щурів із СТЗ-індукованим діабетом. Результати, отримані у групах контролю та нормального контролю, практично не відрізнялися за всіма визначеними показниками, що свідчить про відсутність токсичності та безпечності споживання C_{60} НуFn в

обраній дозі та режимі надходження відносно клітин сітківки.

Результати визначення вмісту ГФКП із застосуванням денситометричного аналізу блотограм (рис. 4) повністю збігалися з даними імуногістохімії. Вміст ГФКП у групі СТЗД щурів був вищим у 1,93 раза за контрольну ($P < 0,01$). Натомість, споживання розчину C_{60} НуFn щурами із СТЗ-діабетом зумовило зменшення вмісту маркера реактивного гліюзу в 1,51 раза порівняно з групою СТЗД ($P < 0,05$), причому рівень ГФКП у групі СТЗД+ C_{60} статистично не відрізнявся від такого у групі контрольних тварин. Споживання C_{60} НуFn у питній воді протягом 12 тижнів також не викликало змін експресії ГФКП.

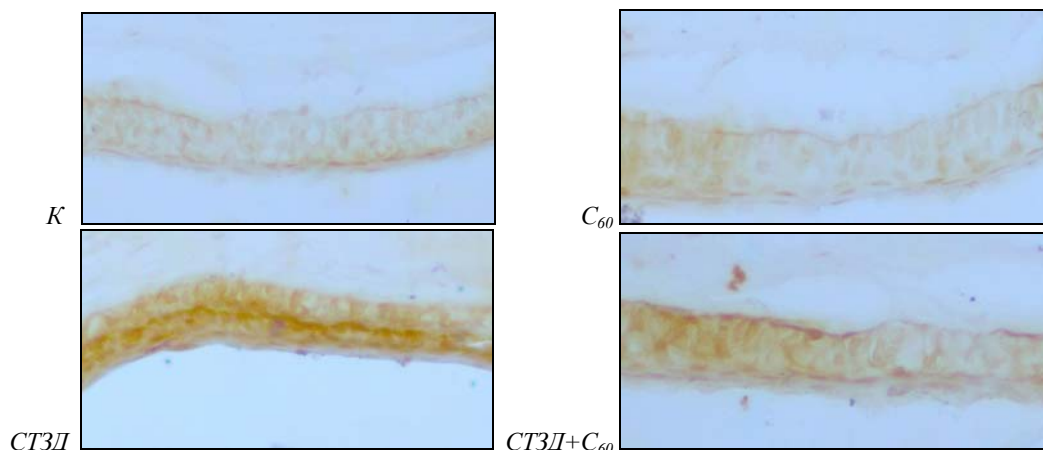


Рис. 2. Результати імуногістохімії зрізів сітківки (зabarвлення внутрішнього шару клітин):

К – контроль, C_{60} – група нормального контролю, СТЗД – діабетична група, СТЗД+ C_{60} – діабетична група щурів, які отримували розчин 90 нМ C_{60}

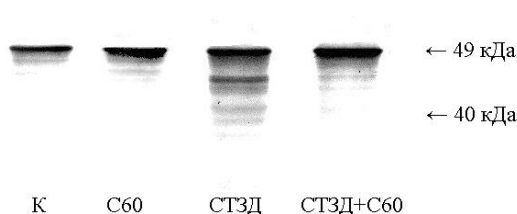


Рис. 3. Результати імуноблотингу екстрактів ретини:

К – контроль, C_{60} – група нормального контролю, СТЗД – діабетична група, СТЗД+ C_{60} – діабетична група щурів, які отримували розчин 90 нМ C_{60}

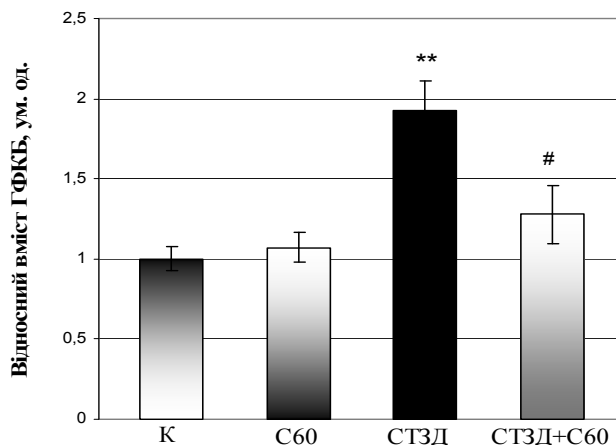


Рис. 4. Відносний вміст ГФКБ в екстрактах ретини за денситометричним аналізом результатів імуноблотингу:

К – контроль, C_{60} – група нормального контролю, СТЗД – діабетична група, СТЗД+ C_{60} – діабетична група щурів, які отримували розчин 90 нМ C_{60} ; ** – $P < 0,01$ відносно контрольної групи, # – $P < 0,05$ відносно СТЗД групи

Нині молекулярні та клітинні механізми розвитку ДР залишаються не з'ясованими. Певний внесок у патогенез ДР роблять порушення активації протеїнкіназ, синтезу клітинних факторів росту (Haurigot et al., 2009), розвиток окисного стресу та утворення кінцевих продуктів глікозилювання (Zong et al., 2011), запалення (Klein et al., 2009). ГФКП-позитивні клітини забезпечують структурну та метаболічну підтримку нейронів і гангліозних клітин сітківки. Гліальна реактивність сітківки підвищується в ході розвитку ДР і збігається зі зниженням швидкості конвертації глутамату на глутамін. Підвищений рівень глутамату та надмірна експресія компонентів ренін-ангіотензинової системи відіграють важливу роль у розвитку патологій сітківки при діабеті. Астроцити – головні клітини, які забезпечують рециклінг глутамату, захищаючи нейрони від ексайтотоксичності. Гліальний гліколіз щільно пов'язаний із викидом глутамату з нейронів та його поглинанням глією (Mamczur et al., 2015). Гіперглікемія викликає порушення гліколітичного розщеплення глюкози в астроцитах (Ganesh et al., 2011). Лактат – важливий метаболіт глюкози та енергетичний субстрат, який астроцити постачають до нейронів (Pellerin et al., 2012). Таким чином, зниження утворення лактату спричинює енергетичний дефіцит у нейронах.

Враховуючи складну взаємозалежність сигнальних шляхів між клітинами судин, глії та нейронами, гіперглікемія може викликати порушення одночасно усіх цих клітинних типів. Генерація окисного стресу у сітківці діабетичних щурів супроводжується зниженням ефективності транспортерів глюкози та зростанням вмісту кінцевих продуктів ПОЛ (Ulas et al., 2015). Враховуючи наведені факти, саме ГФКП-позитивні клітини є мішенню для нейропротекторних засобів і корекції діабетичної ретинопатії.

Виявлене у проведеному дослідженні гальмування надмірного астрогліозу у сітківці діабетичних щурів може бути опосередковане антиоксидантними властивостями фулерену (Nedzvetsky et al., 2012). Отримані дані щодо поліпшення стану глії у сітківці при патології збігаються з результатами попередніх досліджень, в яких показані глія-протекторні ефекти саме гідратованої форми хімічно не модифікованого C_{60} у головному мозку свавців за хронічного впливу етилового спирту (Tykhomyrov et al., 2008) та експериментального СТЗ-діабету (Nedzvetsky et al., 2012). У ході дослідження вперше отримано експериментальні докази ефективності використання $C_{60}H_{y}Fn$ для запобігання надмірного гліозу у сітківці. Виявлені ефекти гідратованого C_{60} фулерену відносно астрогліозу ретиноглії, деградації ГФКП та вмісту глікозилюваного гемоглобіну свідчать про мультифакторіальну дію цих наночастинок. Подібна дія показана для захисту тестикулярної функції у діабетичних щурів (Etem et al., 2014).

Механізм антирадикальної дії $C_{60}H_{y}Fn$ кардинально відрізняється від усіх відомих антиоксидантів. Фулерен каталізує реакції дисмутації та знешкодження вільних радикалів завдяки унікальним властивостям водної фази, яка оточує поверхню як окремих молекул C_{60} , так і їх нанокластерів (Andrievsky et al., 2009). Отримані дані збігаються з результатами інших авторів, які показали ефективність таких антиоксидантів як ебселен (Tan et al.,

2015) і мелатонін (Jiang et al., 2012), які відновлюють нормальне функціонування глії при діабет-індукованому окисному стресі у сітківці. Гідратований фулерен, на відміну від більшості відомих антиоксидантів, вважається нетоксичною та біосумісною речовиною, яка проявляє високу біологічну активність навіть за низьких доз (Tykhomyrov et al., 2008). Ці обставини відкривають широкі перспективи для використання $C_{60}H_{y}Fn$ як безпечного та ефективного агента для профілактики та терапії таких діабетичних ускладнень як ретинопатії.

Висновок

Немодифікований гідратований фулерен ($C_{60}H_{y}Fn$) попереджає порушення цитоскелета та надмірну активацію ретиноглії у щурів при діабеті. $C_{60}H_{y}Fn$ може бути використаний як молекулярний інструмент для вивчення механізмів реципрокної регуляції між ендотелієм, мікроглією та гангліозними клітинами сітківки при гіперглікемії.

Подяка

Автори вдячні к. х. н. Г.В. Андрієвському за люб'язне надання препарату гідратованого C_{60} фулерену для проведення досліджень.

Бібліографічні посилання

- Andrievsky, G., Bruskov, V.I., Tykhomyrov, A.A., Gudkov, S.V., 2009. Peculiarities of the antioxidant and radioprotective effects of hydrated C_{60} fullerene nanostructures *in vitro* and *in vivo*. *Free Rad. Biol. Med.* 47, 786–793.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248–254.
- Dringen, R., Pawlowski, P.G., Hirrlinger, J., 2005. Peroxide Detoxification by brain cells. *J. Neurosci. Res.* 79, 157–165.
- Etem, E.O., Bal, R., Akağaç, A.E., Kuloglu, T., Tuzcu, M., Andrievsky, G.V., Buran, I., Nedzvetsky, V.S., Baydas, G., 2014. The effects of hydrated $C(60)$ fullerene on gene expression profile of TRPM2 and TRPM7 in hyperhomocysteinemic mice. *J. Recept. Signal. Transduct. Res.* 34(4), 317–324.
- Ganesh, B.S., Chintala, S.K., 2011. Inhibition of reactive gliosis attenuates excitotoxicity-mediated death of retinal ganglion cells. *PLoS ONE* 6, e18305.
- Haurigot, V., Villacampa, P., Ribera, A., Llombart, C., Bosch, A., Nacher, V., Ramos, D., Ayuso, E., Segovia, J.C., Bueren, J.A., Ruberte, J., Bosch, F., 2009. Increased intraocular insulin-like growth factor-I triggers blood-retinal barrier breakdown. *J. Biol. Chem.* 284(34), 22961–22969.
- Jiang, T., Chang, Q., Zhao, Z., Yan, S., Wang, L., Cai, J., Xu, G., 2012. Melatonin-mediated cytoprotection against hyperglycemic injury in Müller cells. *PLoS One* 7(12), e50661.
- Klein, B.E., Knudtson, M.D., Tsai, M.Y., Klein, R., 2009. The relation of markers of inflammation and endothelial dysfunction to the prevalence and progression of diabetic retinopathy: Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy. *Arch. Ophthalmol.* 127(9), 1175–1182.
- Liu, B., Ma, X., Guo, D., Guo, Y., Chen, N., Bi, H., 2012. Neuroprotective effect of alpha-lipoic acid on hydrostatic pres-

- sure-induced damage of retinal ganglion cells in vitro. *Neurosci. Lett.* 526(1), 24–28.
- Mamczur, P., Borsuk, B., Paszko, J., Sas, Z., Mozrzymas, J., Wiśniewski, J.R., Gizak, A., Rakus, D., 2015. Astrocyte-neuron crosstalk regulates the expression and subcellular localization of carbohydrate metabolism enzymes. *Glia* 63(2), 328–330.
- Nedzvetsky, V., Andrievsky, G., Chachibaia, T., Tykhomyrov, A., 2012. Differences in antioxidant/protective efficacy of hydrated C₆₀ fullerene nanostructures in liver and brain of rats with streptozotocin-induced diabetes. *J. Diabetes Metab.* 3(8), 1–9.
- Pellerin, L., Magistretti, P.J., 2012. Sweet sixteen for ANLS. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 32, 1152–1166.
- Rungger-Brandle, E., Dosso, A.A., Leuenberger, P.M., 2000. Glial reactivity, an early feature of diabetic retinopathy. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 41(7), 1971–1980.
- Sugaya-Fukasawa, M., Watanabe, T., Tamura, M., Egashira, S., Hisatomi, H., 2010. Glial fibrillary acidic protein is one of the key factors underlying neuron-like elongation in PC12 cells. *Exp. Ther. Med.* 2(1), 85–87.
- Tan, S.M., Deliyanti, D., Figgett, W.A., Talia, D.M., de Haan, J.B., Wilkinson-Berka, J.L., 2015. Ebselen by modulating oxidative stress improves hypoxia-induced macroglial Müller cell and vascular injury in the retina. *Exp. Eye Res.* 136, 1–8.
- Tarr, J.M., Kaul, K., Chopra, M., Kohner, E.M., Chibber, R., 2013. Pathophysiology of diabetic retinopathy. Hindawi Publish. Corp. ISRN Ophthalmol. ID 343560, 1–13.
- Tykhomyrov, A.A., Nedzvetsky, V.S., Klochkov, V.K., Andrievsky, G.V., 2008. Nanostructures of hydrated C₆₀ fullerene (C₆₀HyFn) protect rat brain against alcohol impact and attenuate behavioral impairments of alcoholized animals. *Toxicology* 246(2–3), 158–165.
- Ulas, M., Orhan, C., Tuzcu, M., Ozercan, I.H., Sahin, N., Gencoglu, H., Komorowski, J.R., Sahin, K., 2015. Anti-diabetic potential of chromium histidinate in diabetic retinopathy rats. *BMC Complement. Altern. Med.* 15(16), 1–8.
- Zong, H., Ward, M., Stitt, A.W., 2011. AGEs, RAGE, and diabetic retinopathy. *Diabet. Rep.* 11(4), 244–252.

Надійшла до редколегії 19.09.2015