

THE INVESTIGATION OF THE CENTRAL, PARACENTRAL AND PERIPHERAL THICKNESS OF THE CORNEA AS RISK FACTORS OF PROGRESSING OF PRIMARY OPEN-ANGLE GLAUCOMA IN THE LONG-TERM FOLLOW-UP

Rukov S. A., Kondratenko Yu. N., Novitskiy A. N., Kisil A. R.

Kiev, Ukraine

Recently questions on the central thickness of cornea (CTC) and its role in the risk of development and progression of primary open-angle glaucoma have been discussed in the Ukrainian and foreign publications. Little attention is paid to a question of taking into account paracentral and peripheral thicknesses of the cornea (PcTC and PTC) during the estimation of the rate of progression of POAG in the long-term follow-ups.

The article presents a study of the three basic zones of the cornea (CTC, PcTC and PTC) as a possibility of their influence on the rate of POAG progression in patients with the long-term follow-up. As a result of the investigation there was revealed the substantial difference of PTC index between the groups of patients with a different rate of the POAG progression. The index of PcTC also revealed these differences but at the considerably smaller level than the previous one. The index CTC practically did not reveal the difference between the different groups of patients. The high difference in the cornea thickness in separate segments (lower, lower, temporal and temporal — lower) between all groups of patients was also revealed. The degree of differences in the indices of the measured zones and the separate segments was highest between the groups with slowly and rapidly progressing POAG and smallest between the groups with the average and rapid rate of progression of the pathologic process.



Экспериментальные исследования

УДК 617.735-002-02:616.379-008.64-092.9-091.8

СОСТОЯНИЕ СЕТЧАТОЙ И СОСУДИСТОЙ ОБОЛОЧЕК ГЛАЗА КРОЛИКА С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ, МОДЕЛИРОВАННЫМ ДИТИЗОНОМ. СООБЩЕНИЕ 1. СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ

Э. В. Мальцев, проф., А. В. Зборовская, к. м. н., А. Э. Дорохова, врач.

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии НАМН Украины»

У кроликів з цукровим діабетом, який моделювали за допомогою дитизону в дозі 35 мг/кг, розвиваються ознаки діабетичної ретинопатії. При цьому в сітківці через 6–7 годин (фаза гіпоглікемії) та 33–36 годин (початок фази вторинної стійкої фази гіпоглікемії) після введення дитизону гістологічні ознаки її пошкодження відсутні, але через 16–17 тижнів на тлі розвинутого діабета вони вже значно виражені.

Спостерігається деструкція шарів фоторецепторів і пігментного епітелію, нейрони зовнішнього та внутрішнього ядерних шарів внаслідок часткової відсутності сітчастого шару переміщуються, а значна їх частина гине, як і деякі гангліозні клітини.

Ознаки атрофії, окрім сітківки, виявляються також і в судинній оболонці. Наведена модель діабетичної ретинопатії добре відображує її природу як нейродегенеративного захворювання.

Ключевые слова: диабетическая ретинопатия, сетчатая оболочка, сосудистая оболочка, структурные изменения, дитизиновый диабет.

Ключові слова: діабетична ретинопатія, сітчаста оболонка, судинна оболонка, структурні зміни, дитизиновий діабет.

Введение. По данным ВОЗ, количество больных сахарным диабетом (СД) в мире в 2010 году достигло 230 миллионов человек [3]. К 2030 году оно и вовсе возрастет до 360 миллионов [63]. Ведь, например, только в такой стране как Япония, число

заболевших за последние сорок лет увеличилось в тридцать раз [65]. Весьма показательно, что из 16 миллионов диабетиков, проживавших к 2001 году

© Э. В. Мальцев, А. В. Зборовская, А. Э. Дорохова, 2011

в США, у 90 % имелся СД второго типа, а почти все, болевшие 20 и более лет, страдали от диабетической ретинопатии [18]. Близкие к приведенным данные, но уже ссылаясь на выборку ВОЗ, приводит и М. Ю. Репкина, 2010 [12]. При этом, несмотря на улучшение контроля за распространением этого заболевания, лазерное лечение и витреоретинальную хирургию, диабетическая ретинопатия (ДР) остается ведущей причиной слепоты в индустриальных странах у людей допенсионного возраста. Она развивается у 40,3–90 % лиц с СД, а у 5 % из них прогрессирует до полной слепоты [9, 22, 42, 55]. К сожалению, частота слепоты от ДР не только не снижается [66], но и ожидается ее удвоение к 2030 году [21]. Что же касается Украины, то здесь ДР является у 30–90 % больных СД, причем если в начале заболевания она наблюдается у 5 % пациентов, то через 8 лет — у 93 % [14].

Очевидно, что изучение патогенеза ДР, без чего немислим прогресс ее профилактики и лечения, опирается на клинические, а еще более — на экспериментальные разработки. Способов моделирования СД известно множество [11, 16, 17, 28, 57], однако при этом далеко не всегда у животных развивается ДР, либо развившиеся изменения сетчатой оболочки не полностью соответствуют изменениям ее у человека и в ряде случаев они просто не изучались [15, 19, 23, 31, 33, 35]. В результате многочисленных исследований был установлен ряд метаболических нарушений в сетчатке при ДР. Основными из них являются неэнзиматическое гликозилирование белков, активация полиольного и гексозаминного путей, накопление диацилглицерина и избыточная активность протеинкиназы С, а также повышение уровня сосудистых ростовых факторов и окислительный стресс [10, 12, 14, 29, 34, 65]. Однако, по мнению Brownlee M., 2005 [25], все эти патогенетические пути запускаются единым иницирующим механизмом — повышенным образованием супероксида, в то время как гипергликемия сама по себе не иницирует ни один из них. С этой мыслью соглашаются Yuxi Feng et al., 2007 [66] и Connolly K. M., 2008 [27], а Oku H. et al., 2008 [50] показали, что даже разрушение культивируемых нейронов сетчатки под воздействием эндотелина -1 опосредуется тем же супероксидным анионом.

Важно подчеркнуть, что в последние годы обостренной критике подверглась господствующая вот уже несколько десятилетий точка зрения на ДР как одно из изначально сосудистых осложнений диабета (обзор по ее патогенезу, например, смотри [12, 13, 48, 58]). Согласно ей, ДР появляется как следствие ранних патологических изменений гематоретинального барьера и микроциркуляторного русла сетчатки, ее прогрессирующей гипоксии из-за патологических изменений эндотелия капилляров,

гликолизации белков гемоглобина и гиперкоагуляционных сдвигов в системе гемостаза. Однако ряд исследователей на основании клинических наблюдений [39, 44, 51] и экспериментальных данных [43, 52, 61] справедливо полагают, что вызываемые диабетом ранние изменения нейронов и нейроглии сетчатки крайне важны для развития последующих сосудистых повреждений при ДР. Основанием тому служат такие доказанные ими факты как нарушения цветовой и контрастной чувствительности сетчатки, изменения ретинограммы у диабетиков и апоптотическая гибель ганглиозных клеток, нейронов внутреннего и наружного ядерных слоев, истончение этих слоев у крыс и мышей со стрептозотоциновым диабетом и мышей с генетически детерминированным СД. При этом такие нейродегенеративные признаки клинически и в эксперименте появляются уже задолго до сосудистой патологии. Естественно, что они активно продолжаются и на завершающем пролиферативном этапе ДР [40].

В свете новых воззрений особый интерес представляет исследование состояния сетчатки кролика при СД, поскольку последняя не только лишь частично и слабо васкуляризирована [59, 62], но и практически не изучена при данном заболевании. Это изучение и явилось целью настоящего и последующих этапов работы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

Опыты поставлены на 39 кроликах породы Шиншилла массой 2,5–3 кг, находившихся на обычном рационе питания. Для моделирования у них сахарного «цинкового» диабета средней степени тяжести (при этом у некоторых животных развивалась только легкая степень), использовалась методика воспроизведения абсолютной инсулиновой недостаточности, разработанной Карагандинской школой патофизиологов [1, 5, 6]. Согласно ей, голодавшим в течение двух суток животным, под эфирным наркозом в ушную вену медленно вводился дитизон в истинной дозе 35 мг/кг веса. Динамика базальной гликемии показала колебания уровня глюкозы в сыворотке их крови (его определение проводили с двухнедельным, а после тридцати суток — месячным интервалом глюкозооксидазным методом с помощью ферментативного анализатора глюкозы «Эксан-Г») в пределах $(8,40 \pm 0,30)$ ммоль/л — $(14,40 \pm 2,12)$ ммоль/л при $(4,20 \pm 0,32)$ ммоль/л у контрольных кроликов.

Животные выводились из опыта путем воздушной эмболии после предварительного введения тиопентала натрия в дозе 50 мг/кг через 6–7 часов (фаза гипогликемии), 33–36 часов (начало фазы вторичной стойкой гипергликемии) и 16–17 недель (развитой диабет), т.е. в соответствии с градацией, приводимой в книге [17]. Глаза энуклеировались и для светооптического исследования фиксировались в 10 % нейтральном формалине, а затем заливались в гисторезин либо парафин. Изготовленные срезы толщиной 5 мкм затем окрашивались гематоксилин-эозином либо использовались для проведения ШИК-реакции. Препараты просматривались и фотографировались под микроскопом «Laboval-4» (Carl Zeiss, Jena). При необходимости изучались архивные научные препараты и материалы лаборатории патологической анатомии института.

Из глаз животных, предназначенных для биохимических исследований, сразу же после энуклеации выделялся комплекс сетчатки с сосудистой оболочкой и помещался в морозильную камеру при -55°C (результаты этого фрагмента работы составят предмет самостоятельной публикации).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. Как и следовало ожидать, ни на первые, ни на вторые сутки наблюдения какие-либо выраженные морфологические нарушения в сетчатой (рис. 1 и рис. 6) и сосудистой оболочках еще не определяются. Сохраняется пигментный эпителий сетчатки и ее характерная слоистость. Что же касается возможных метаболических сдвигов в этих образованиях, то результаты биохимического исследования их окислительного статуса явятся материалом следующего сообщения.

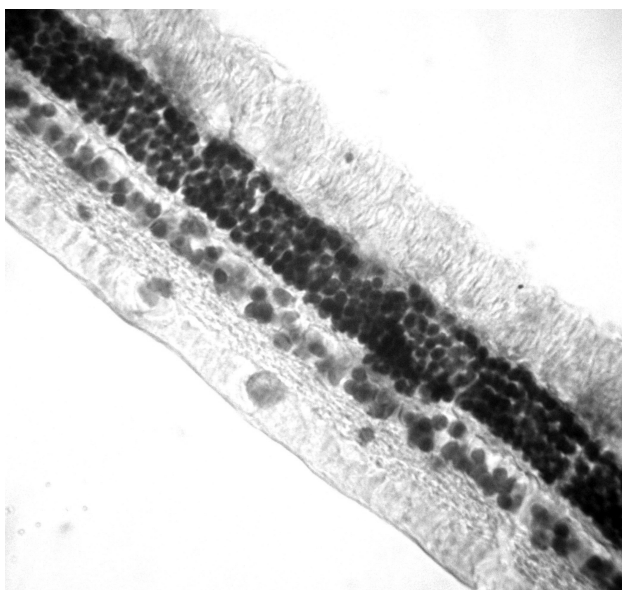


Рис. 1. Сетчатка кролика обычного строения через 33–36 час после введения дитизона. Окр. гематоксилин-эозином. Об. 40, ок. 16.

Совсем иная гистологическая картина, к тому же варьирующая в разных участках препарата и от животного к животному, характерна для сетчатой оболочки кроликов, выведенных из опыта спустя 16–17 недель от его начала. Ее пигментный эпителий на обширных участках отсутствует, либо на его месте располагаются отдельные зерна меланина. Иногда такие зерна собираются в конгломераты, размером превышающие пигментную клетку (рис. 2, см. 3 стр. обл.). В других местах этот эпителий сохранен лучше, хотя и здесь могут определяться его некоторые структурные отклонения. Такие участки обычно располагаются ближе к зубчатой линии, где структура сетчатки изменена в меньшей мере по сравнению с более центрально расположенными ее отделами (рис. 3, см. 3 стр. обл.). Слой фоторецепторов также деструктивно изменен. Иногда он вообще отсутствует, иногда имеются его остатки, но в других участках он сохранен лучше

(рис 4). Не менее резко выражены патологические признаки в ядерных слоях. Последние, как и в норме, могут разделяться наружным сетчатым слоем, но он может и отсутствовать. В таком случае клетки наружного и внутреннего ядерных слоев оказываются лежащими вперемешку, что хорошо заметно благодаря разным размерам их ядер на рис 3, 4 и 5. Как правило, ядра клеток внутреннего ядерного слоя (биполярных, горизонтальных и амакриновых) крупнее ядер нейронов наружного слоя (фоторецептивные клетки). Среди тел нейронов располагаются их фрагменты, а также и гранулы меланина (рис. 3). При этом количество рядов клеток в описываемых слоях существенно уменьшено, так что они истончаются (как и насколько именно — предмет дальнейшего специального морфометрического изучения). Внутренний сетчатый слой выражен лучше наружного и представляется мало измененным. Впрочем, его толщина и в нормальной сетчатке превосходит таковую наружного плексиформного слоя. Ганглиозные клетки могут иметь обычный вид, иногда вакуолизованы (рис. 4 и 5, см. 3 стр. обл.), в других местах они отсутствуют, что позволяет говорить об изреженности слоя ганглиозных клеток. Слой нервных волокон варьирует по толщине, что, впрочем, не удивительно, а для сетчатки кролика весьма характерно, если вспомнить хотя бы о существовании у данного вида такой структурной особенности как утолщенные мякотные или миелиновые лучи (medullary rays), расположенные темпорально и назально от диска зрительного нерва (The rabbit in eye research, 1964 [59]). Именно здесь на поверхности внутренней пограничной мембраны сетчатки кролика располагаются кровеносные сосуды, отдающие петли в слой нервных волокон (рис. 6).

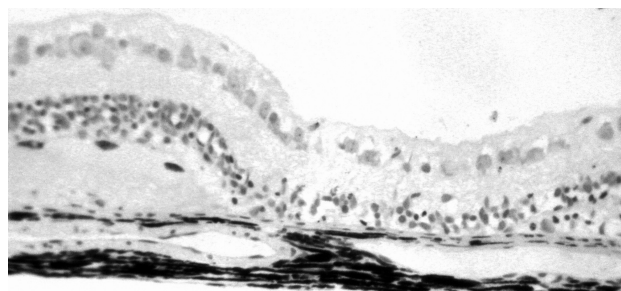


Рис. 4. Сетчатка кролика через 16–17 недель после введения дитизона с признаками дегенерации. Пигментный эпителий отсутствует, слой фоторецепторов частично сохранен, частично отсутствует, отсутствие наружного сетчатого слоя ведет к перемешиванию оставшихся нейронов ядерных слоев. Сохранившиеся ганглиозные нейроны. Волнистость поверхности сетчатки. В сосудистой оболочке гиалинизированные кровеносные сосуды. Окр. гематоксилин-эозином. Об. 10, ок. 16.

Сказанное выше позволяет говорить даже о выраженных атрофических изменениях сетчатой

оболочки кролика к концу периода наблюдения. Данное утверждение тем более справедливо, если учесть то важное обстоятельство, что у некоторых животных структура сетчатой оболочки за тот же промежуток времени подвергается еще более грубым, чем описанные, изменениям. В этом случае сетчатка истончена значительно сильнее, в ней практически отсутствует четкая слоистость, перемешанные нейроны обоих ядерных слоев насчитывают всего 3–5 рядов клеток (некоторые из них с морфологическими признаками апоптозирования, пикнотизирования), рельеф ее внутренней поверхности волнистый, то есть такой, какой замечен и на ранее приведенных рис. 2 и 4. В периферических отделах такой сетчатой оболочки могут вообще не различаться нейроны, а на их месте располагаются мелкие глиальные элементы (рис. 7.)

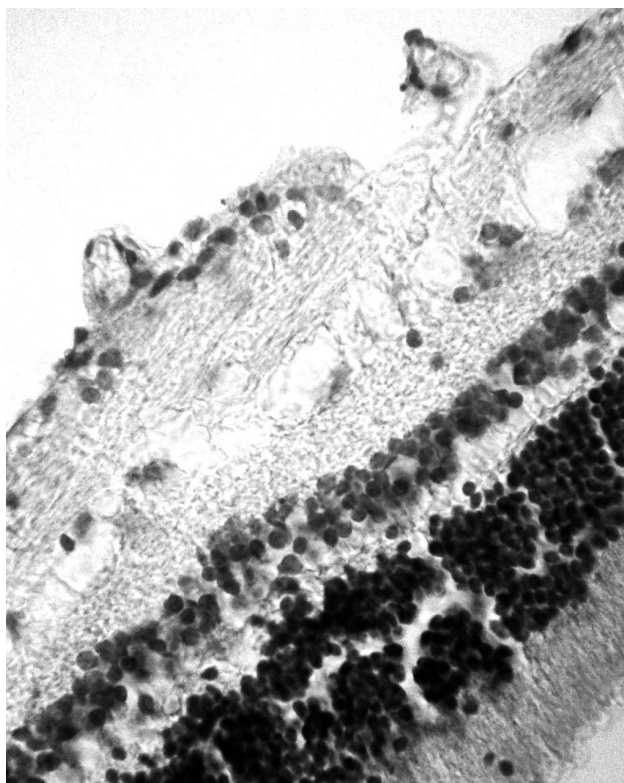


Рис. 6. Кровеносные сосуды на поверхности мягкотного луча сетчатки кролика через 6–7 час после введения дитиона. Гистоструктура сетчатой оболочки сохранена. Окр. гематоксилин-эозином. Об. 40, ок. 6.

Сосудистая оболочка, при сохранении общего принципа ее строения, также может быть несколько истонченной (для более точного ответа на этот вопрос потребуются морфометрические измерения). Подобное состояние этой оболочки (а ее трофическая роль по отношению к очень слабо васкуляризированной сетчатке кролика, естественно, особенно важна) представляется нам прямым последствием описанных глубоких дегенеративных изменений сетчатки, потребность которой в снаб-

жении кислородом и питательными веществами при этом, естественно, существенно снижается. Поэтому и происходит уменьшение количества артериол и склерозирование их в хориоидею наряду с полнокровием оставшихся венул. Некоторые из венул, напротив, имеют щелевидные просветы, облитерированы. Просветы иных кровеносных сосудов зияют, не будучи заполнены кровью, или гиалинизированы (рис. 4). Встречаются эктатически расширенные или тромбированные хориокапилляры, в просвете других отсутствуют эритроциты, что, разумеется, заметно при максимальных увеличениях. И в этих же условиях можно наблюдать участки расслоения стекловидной пластинки, ее неравномерную толщину.

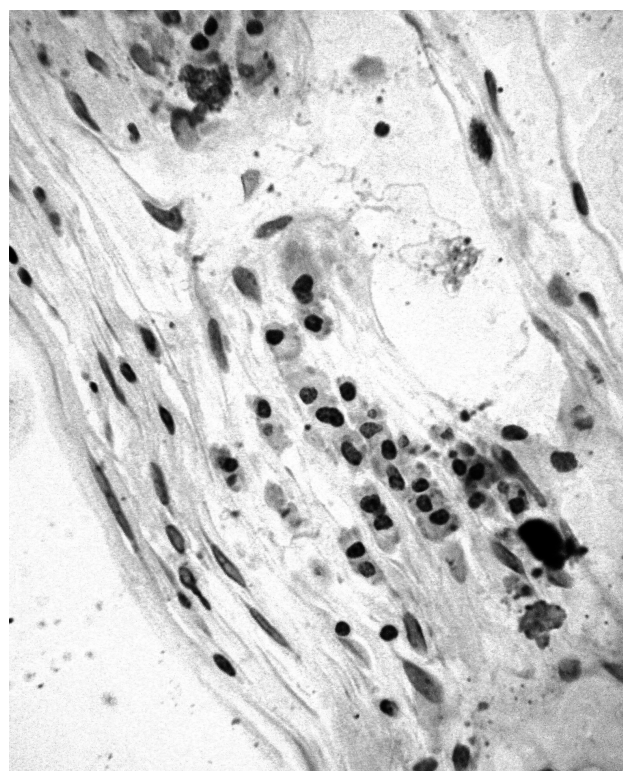


Рис. 7. Разрастание глиальных клеток в периферическом отделе сетчатки кролика через 16–17 недель после введения дитиона. Окр. гематоксилин-эозином. Об. 40, ок. 6.

Локализация ШИК-позитивного материала — это преимущественно сохранившиеся клетки пигментного эпителия, остатки фоторецепторного и ядерных слоев, слои нервных волокон и ганглиозных клеток. Он располагается довольно хаотично, причем, в отличие от контроля и ранних стадий эксперимента, этот материал гранулирован, частицы нередко относительно крупные, но количество его меньше. В ткани сосудистой оболочки заметно слабое диффузное окрашивание. Принимая во внимание, что таким материалом, согласно [2], являются гликолипиды, нейтральные глико- и мукопротеиды, гликоген, сиаломукопротеиды, можно

лишь констатировать наличие каких-то их представителей в сетчатке, но без качественного и количественного их анализа, тем более временного, то есть по стадиям эксперимента.

Рассматривая изложенные материалы, нетрудно заключить, что дегенеративные изменения в сетчатой оболочке глаза кролика с дитизиновым диабетом проявляются как в ее нейрональных структурах, так и в пигментном эпителии. При этом такие изменения настолько выражены, что легко обнаруживаются при световой микроскопии в виде деструкции соответствующих слоев сетчатки, уменьшения количества клеток в них. Определенным изменениям подвергается и микроциркуляторное русло сосудистой оболочки, что может быть особенно важно именно для очень слабо васкуляризированной сетчатки кролика. Завершая гистологическое описание, остается еще раз напомнить, что все отмеченные патологические признаки вовсе не характерны для сетчатки повсеместно, а в ряде случаев варьируют по выраженности в ее разных участках.

Надо заметить, что и при наиболее широко используемой стрептозотоциновой модели СД у крыс апоптотическая гибель ганглиозных клеток, а также горизонтальных и амакриновых имеет место задолго до появления сосудистой патологии [38], сочетается с апоптозированием фоторецепторов наружного ядерного слоя [52]. Очень близкие к этим результаты были получены и на мышцах линии C57BC/6 в 2004 году Martin P. M. et al. [45], причем эти исследователи не только наблюдали истончение ядерных слоев сетчатки, но обратили внимание на фокальный характер апоптоза ганглиозных клеток. Еще ранее о фокальности истончения сетчатки при ДР человека сообщали [32], что неплохо согласуется с полученными нами экспериментальными результатами.

Однако наиболее интересно сопоставление наших результатов с материалами [47], полученными при изучении сетчаток крыс линии WBN/Kob, со спонтанно развивающимся сахарным диабетом. Обнаруженные ими изменения сетчатки очень близки к описанным нами, но без изменений пигментного эпителия. К тому же они относятся этими авторами скорее на счет наследственных, а не вызванных диабетом механизмах своего развития. В нашем же случае какие-либо наследственные факторы исключаются, что, несомненно, свидетельствует в пользу избранной нами модели сахарного диабета. К тому же именно она приводит во многом к тем морфологическим изменениям сетчатой оболочки, которые характерны для последней в случае развития диабетической ретинопатии у человека и давно описаны в литературе, например в монографии В. П. Лекишвили, Д. Дж. Скотта, 1968 [8], в том числе, включая и упоминаемую ими пигментопатию.

Одной из возможных причин гибели нейрональных клеток в наших наблюдениях может являться нарушение превращения глутамата в глутамин клетками Мюллера, вызываемое снижением на 2/3 активности в них транспортера глутамата [51]. Глутамат же обладает выраженными нейротоксическими свойствами [44].

Из других возможных механизмов, объясняющих столь выраженные явления нейродегенерации в сетчатке кролика с дитизиновым диабетом, нам представляются наиболее вероятными следующие. Первый — это резкое прекращение поступления в кровь инсулина (абсолютная его недостаточность) вследствие некроза бета-клеток островков Лангерганса поджелудочной железы под воздействием дитизона [1]. Инсулин же, как установлено [46], является, помимо прочего (например, регуляции сократимости перицитов капилляров сетчатки [24]), и чисто трофическим фактором, необходимым для выживания ганглиозных клеток сетчатки при их эксплантации. И этот механизм представляется более вероятным, чем, скажем, нарушение инсулин — зависимой анаболической активности (в частности, синтеза белков) в нейронах и клетках микрососудов сетчатки вследствие прекращения функционирования их рецепторов инсулина (IRS-2, insulin receptor substrate), на что указывали [21].

Еще одним из обсуждаемых гипотетических механизмов является, например, хелатирование дитизином цинка в молекулах $Cu^{2+} Zn^{2+}$ — супероксиддисмутазы сетчатки (или сосудистой оболочки), что чревато угнетением активности этого фермента, изменением в них уровня супероксидного аниона и развитием окислительного стресса, ответственного за последующие деструктивные изменения. Более того, следует подчеркнуть, что сетчатая и сосудистая оболочки глаза относятся к структурам организма, наиболее богатым цинком [7, 37, 64]. Последнему отводится важная роль в ряде протекающих в них процессов. В их числе, помимо реакции дисмутации супероксидного кислорода, также обеспечение функциональной активности множества (более 300) иных металлоферментов, где цинк выступает в качестве их кофактора — либо в составе каталитического центра, либо поддерживая пространственную структуру белковых молекул. Интересно, что перемещение молекул цинка от пигментного эпителия к фоторецепторам осуществляется специальными переносчиками [36]. И именно эти слои сетчатки содержат цинк в более высокой сравнительно с другими ее слоями концентрации [20, 60], а как показали наши эксперименты, они же подвергаются наиболее выраженной деструкции при его хелатировании дитизином. С другой стороны, иммуногистохимические исследования [49] установили, что как медь-цинковая, так и марганцевая супероксиддисмутаза локализуется во внутрен-

них сегментах фоторецепторного слоя, наружном и внутреннем ядерных слоях сетчатки мыши, то есть опять же именно там, где разворачиваются наиболее выраженные, из установленных нами, деструктивные изменения.

Конечно, возможен и такой эффект хелатирования дитизоном цинка как его связывание в молекулах металлотионеинов (низкомолекулярные богатые цистеином белки), также способных предохранять клетки от свободных радикалов [30].

Во всяком случае можно констатировать, что при такой патологии сетчатки как пигментный ретинит, глаукома, возрастная дегенерация макулы [26, 54, 67] и ее регматогенная отслойка [4] именно окислительный стресс, вызванный увеличением концентрации в сетчатке активных форм кислорода, ответственен и за активацию каспаз с включением последующей классической программированной клеточной смерти и за каспазо-независимые пути апоптотической гибели как фоторецепторных и других нейроэпителиальных клеток, так и клеток пигментного эпителия сетчатки. Установлено, что как стабильная, так и осциллирующая гипергликемия вызывает гиперпродукцию активных форм кислорода, окислительный стресс и апоптозирование эндотелиальных клеток сосудистого русла при их культивировании [53]. Однако роль этого стресса в повреждении элементов сетчатки при интоксикации дитизоном не выяснена.

К сказанному добавим и несколько слов об ином, несколько для нас неожиданным, аспекте настоящего исследования. А именно, о возможности использования дитизона и для изучения роли пигментного эпителия сетчатки при развитии иной ее патологии, кроме ДР. Учитывая, как оказалось, резко выраженную, при данной дозировке этого препарата, гибель слоя пигментного эпителия сетчатой оболочки, нам представляется возможным попытаться применить этот хелатирующий агент (разумеется, в меньшей концентрации) в качестве возможного локального средства для профилактики развития пролиферативной витреоретинопатии. То есть, использовать его, а точнее, — его деструктивные свойства по отношению к пигментному эпителию (как инициатору развития этой патологии) вместо 5-флуороурацила, пока не давшего положительного результата при его применении с той же целью, о чем сообщил в 2008 году la Cour M. [41].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Заключая, остается сказать, что количественная характеристика описанных в данной работе изменений определенных структурных элементов сетчатой оболочки кролика при дитизиновом диабете, как и поиск возможной причины их появле-

ния, составят предмет дальнейших исследований и сообщений об их результатах. Пока же представляется очевидным, что, учитывая наличие видовых различий при моделировании ДР, именно сетчатая оболочка глаза кролика может представлять собой объект, особенно удобный для изучения нейродегенерации при развитии этого вида патологии глаза, а возможно, и при попытках ее фармакологической коррекции. Во всяком случае, ряд зарубежных авторов в публикациях последних лет [56, 61] подчеркивают, что изучение механизмов нейродегенерации важно при определении новых целей для терапии ранних стадий диабетической ретинопатии.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Бавельский З. Е.** Хелатирование цинка панкреатических бета-клеток как один из механизмов нарушения продукции инсулина : автореф. дис. докт. мед. наук. / З. Е. Бавельский — Киев, 1989. — 37 с.
2. **Виноградов В. В.** Углеводные соединения. В кн. Принципы и методы гисто-цитохимического анализа в патологии [под ред. **Струкова А. И., Фукса Б. Б.**] / В. В. Виноградов // Медицина, Ленинградское отделение — 1971. — С. 7–87.
3. **Дедов И. И.** Сахарный диабет: ретинопатия, нефропатия / И. И. Дедов, М. В. Шестакова, Т. И. Миленская // М. : Медицина, 2001. — 176 с.
4. **Ільїнська І. Ф.** Програмована смерть клітин в патогенезі регматогенного відшарування сітківки (аналітичний огляд) / І. Ф. Ільїнська, Д. А. Чічур // Офтальмол. журн. — 2008. — № 5 — С. 82–87.
5. **Лазарис Я. А.** О выздоровлении животных после длительного течения дитизинового диабета / Я. А. Лазарис, Д. М. Богуславская // Пробл. эндокринологии. — 1968. — Т.14, № 1. — С. 91–96.
6. **Лазарис Я. А.** К выявлению роли цинка в патогенезе дитизинового диабета / Я. А. Лазарис, Г. Г. Мейрамов // Пробл. эндокринологии. — 1974. — Т.20, № 5 — С. 90–94.
7. **Лазарис Я. А.** Обмен цинка в животном организме / Я. А. Лазарис, В.М Карлинский // Усп. совр. биол. — 1970 — Т. 70, вып. 2 (5) — С. 255–275.
8. **Лекишвили В. П.** Диабетическая ретинопатия / В. П. Лекишвили., Д. Дж. Скотт // М., Медицина, 1968. — 112 с.
9. **Мальцев Э. В.** Офтальмология на рубеже тысячелетий / Э. В. Мальцев // Белорусск. офтальмол. журн. — 2004. — № 1. — С.48–56.
10. **Мальцев Э. В.** Диабетическая ретинопатия: механизмы развития / Э. В. Мальцев, С. С. Родин, **Махмуд М. Р.** Гхоним // Офтальмол. журн. — 2003. — № 2. — С. 82–88.
11. **Орловский М. А.** Экспериментальные исследования сахарного диабета I типа: причины меж- и внутривидовых различий в резистентности к диабетогенным факторам (обзор литературы и собственных исследований) / М. А. Орловский // Журн. АМН Украины. — 2006. — Т. 12, № 2 — С. 255–268.
12. **Репкина М. Ю.** О патогенезе диабетической ретинопатии / М. Ю. Репкина // Российск. педиатрич. офтальмол. — 2010. — № 2 — С. 42–46.

13. Салдан Й. Р. Патогенез діабетичної ретинопатії: сучасний погляд / Й. Р. Салдан, О. С. Асачева // Офтальмолог. журн. — 2005. — № 4. — С. 47–52.
14. Цисельський Ю. В. Біохімія очних ускладнень сахарного діабета / Ю. В. Цисельський, А. П. Левицький // Офтальмолог. журн. — 2004. — № 3. — С. 11–16.
15. Цисельський Ю. В. Дисбіотичні аспекти патогенезу, профілактики і лікування діабетичної ретинопатії: автореф. дис. докт. мед. наук. 14.03.04 / Ю. В. Цисельський // Патол. фізіол. Одеса. — 2011. — 30 с.
16. Экспериментальное моделирование сахарного диабета для изучения специфического эффекта новых антидиабетических средств [метод. рекоменд.] / Сост. В. В. Полтораки и др. — Харьков: НИИ эндокринологии и химии гормонов. — 1991. — 20 с.
17. Экспериментальный сахарный диабет. Роль в клинической диабетологии / В. Г. Баранов, И. М. Соколовцова, И. Г. Гаспарян, Ю. А. Ярошевский, А. И. Никитин. — Л.: Наука, 1983. — 240 с.
18. Aiello L. P. Systemic considerations in the management of diabetic retinopathy / L. P. Aiello, Cahill M. T., Wong J. S // Am. J. Ophthalmol. — 2001 — V.132, № 5 — P.760–776.
19. Alder V. A. Overview of studies on metabolic and vascular regulatory changes in early diabetic retinopathy / V. A. Alder, Er Ning Su, Dao-Yi Yu, S. Cringle, P. Yu // Austr. N. Z. J. Ophthalmol. — 1998 — V. 26, № 2. — P. 141–148.
20. Akagi T. Differential subcellular localization of zinc in the rat retina / T. Akagi, M. Kanedo, Ishii K., T. Hashikawa // J. Histochem. Cytochem. — 2001. — Vol. 49, № 1 — P. 87–96.
21. Antonetti D. A. Diabetic retinopathy. Seeing beyond glucose — induced microvascular disease / D. A. Antonetti, A. J. Barber, S. K. Bronson, W. M. Freeman [et al.] // Diabetes. — 2006 — V. 55 — P. 2401–2411.
22. Barber A. J. Neural apoptosis in the retina during experimental and human diabetes / A. J. Barber, E. Lieth, S. A. Khin, D. Antonetti [et al.] // J. Clin. Invest — 1998 — V. 102, № 4 — P. 783–791.
23. Barber A. J. The Ins 2 Akita mouse as a model of early retinal complications in diabetes / A. J. Barber, D. A. Antonetti, T. S. Kern [et al.] // Invest Ophthalmol. Vis. Sci — 2005 — V. 46 — P. 2210–2218.
24. Berweck S. Insulin-induced hypopolarization in retinal capillary pericytes / S. Berweck, H. Thieme, A. Liepewienshues [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 1993. — V. 34, № 12 — P. 3402–3407.
25. Brownelee M. The Pathobiology of Diabetic Complications. A Unifying Mechanism / M. Brownelee // Diabetes. — 2005 — Vol. 54, № 6. — P. 1615–1625.
26. Carmody R. J. Reactive oxygen species as mediators of photoreceptor apoptosis in vitro / R. J. Carmody, A. J. Govan, T. Cotter // Exp. Cell Res. — 1999. — № 2 — P.520–530.
27. Connolly K. M. Oxidative stress in Ocular Diseases and the Role of Dietary Antioxidants / K. M. Connolly // Euro news — 2008 — V. 15, № 3. — P. 35–38.
28. Danis R. P. Microvascular retinopathy in the Zucker diabetic fatty rat / R. P. Danis, Y. Yang // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 1993. — Vol. 34, № 7 — P. 2367–2371.
29. Donnelly R. Protein kinase C inhibition and diabetic retinopathy: a shot in the dark at translational research / R. Donnelly, I. Idris, J. Forrester // Br. J. Ophthalmol. — 2004 — Vol.88, № 1 — P. 145–151.
30. Ebadi M. Expression and regulation of brain metallothionein / M. Ebadi, P. Iverser, R. Hao [et al.] // Neurochem Int. — 1995 — Vol. 27, № 1 — P. 1–22.
31. Engerman R. L. Retinopathy in Animal models of Diabetes / R. L. Engerman, T. S. Kern // Diabetes / Metabolism Reviews — 1995 — V. 11, № 2 — P. 109–120.
32. Gardner T. W. The retinal depression sign in diabetic retinopathy / T. W. Gardner, M. Miller, L. Cunningham, G. W. Blankenship // Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. — 1995 — V. 233 — P. 617–620.
33. Feit-Leichman R. A. Vascular damage in a mouse model of diabetic retinopathy: Relation to neuronal and glial changes/ R. A. Feit-Leichman // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 2005 — Vol. 46, № 11. — P.4281–4287.
34. Ferderbar S. Cholesterol oxides as biomarkers of oxidative stress in type 1 and type 2 diabetes mellitus / S. Ferderbar, E. C. Pereira, E. Apolinario [et al.] // Diabetes/ Metabol. Res. Rev. — 2007 — V. 23, № 1 — P. 35–42.
35. Kakehashi A. Characteristics of diabetic retinopathy in SDT rats / A. Kakehashi, Y. Saito, K. Mori [et al.] // Diabetes/ Metabolism Res. Rev. — 2006 — V. 22, № 6 — P. 455–461.
36. Kar-Wah Leung. Expression of ZnT and ZIP Zinc transporters in the human RPE and their regulation by neurotrophic factors / Kar-Wah Leung, Mngen Lin, Xuming Hu [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 2008 — Vol.49, № 3 — P. 1221–1231.
37. Karicoglu Z. A. Zinc in the eye / Z. A. Karicoglu // Surv. Ophthalmol. — 1982 — Vol. 27, № 2 — P.114–122.
38. Kern T. S. Retinal ganglion cells in diabetes / T. S. Kern, A. J. Barber // J. Physiol — 2008. — № 586 — P. 4401–4408.
39. Kobzaki K. Early inner retinal dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats / K. Kobzaki, A. J. Vingrus, B. V.Bui // Invest. Ophthalm. Vis. Sci. — 2008. — Vol.49, № 8 — P. 3595–3604.
40. Kroll P. Pathogenesis and classification of proliferative diabetic vitreoretinopathy / P. Kroll, E. B. Rodrigues, S. Hoerle // Ophthalmologica. — 2007. — V. 221, № 2 — P. 78–94.
41. La Cour M. The retinal pigment epithelium: friend or foe / La Cour M. // Acta Ophthalmol. — 2008 — Vol. 86, № 6 — P. 593–597.
42. Lang G. E. Pharmacological treatment of diabetic retinopathy / G. E. Lang // Ophthalmologica — 2007 — V. 221, № 2 — P. 112–117
43. Lieth E. Retinal neurodegeneration: early pathology in diabetes / E. Lieth, T. W. Gardner, A. J. Barber, D. Antonetti // Clin. Experiment Ophthalmol. — 2000 — V. 28, № 1 — P. 3–8.
44. Lieth E. Glial reactivity and impaired glutamate metabolism in short-term experimental diabetic retinopathy / E. Lieth, A. J. Barber, [et al.] // Diabetes. — 1998 — V.47. — P. 815–820.
45. Martin P. M. Death of retinal neurons in streptozotocin-induced diabetic mice / P. M. Martin, P. Roon, [et al.] // Invest Ophthalmol Vis. Sci. — 2004. — V. 45 — P. 3330–3336.
46. Meyer-Franke A. M. Characterization of the signaling interactions that promote the survival and growth of developing retinal ganglion cells in culture / A. M. Meyer-Franke, M. R. Kaplan [et al.] // Neuron — 1995 — Vol. 15 — P. 805–819.

47. **Miyamura N.** Lens and retinal changes in the WBN/ Kob rat spontaneously diabetic strain / N. Miyamura., T. Amemiya // *Ophthalm. Res.* — 1998. — Vol 30, № 4. — P. 221–232.
48. **Miyamoto K.** Evaluation of retinal microcirculatory alterations in the Goto-Kakizaki rats: A spontaneous model of non-insulin-dependent diabetes / K. Miyamoto, Y. Ogura, [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 1996. — Vol. 37, № 5 — P. 898–905.
49. **Ogawa T.**, Superoxide dismutase in senescence — accelerated mouse retina / T. Ogawa, A. Ohira, T. Amemiya [et al.] // *Histochem. J.* — 2001. — Vol 33, № 1. — P. 43–50.
50. **Oku H.** Endothelin — 1 (ET-1) causes death of retinal neurons through activation of nitric oxide synthase (NOS) and production of superoxide anion / H. Oku, M. Fukuhara, [et al.] // *Exp. Eye Res* — 2008. — Vol. 86, № 1 — P. 118–130.
51. **Quing Li.** Diabetes induced dysfunction of the Glutamate transporter in retinal Muller cells /Quing Li, D. G. Puro // *Invest Ophthalmol. Vis.Sci.* — 2002. — V. 43, № 9 — P. 3109–3116.
52. **Park S. H.** Apoptotic death of photoreceptors in the streptozotocin-induced diabetic rat retina / S. H. Park, J. W. Park [et al.] // *Diabetologia* — 2003. — Vol. 46. — P. 1260–1268.
53. **Piconi L.** Constant and intermittent high glucose enhances endothelial cell apoptosis through mitochondrial superoxide overproduction / L. Piconi, L. Quagliari, [et al.] // *Diabetes. Metab. Res. Rev.* — 2006. — Vol.22, № 3. — P. 198–203.
54. **Sanvicentis N.** Oxidative stress-induced apoptosis in retinal photoreceptor cells is mediated by calpains and caspases and blocked by the oxygen radical scavenger CR — 6 / N. Sanvicentis, V. Gome-Vicente, [et al.] // *J. Biol. Chem.* — 2004 — V. 279, № 38. — P. 39268–39278.
55. **Schwartz S. G.** What does the literature indicate about rates of diabetic retinopathy progression. The impact of treatments on outcomes of severe visual loss and development of proliferative diabetic retinopathy / S. G. Schwartz, H. W. Flunn, B. Wirotko // *Retinal physician.* — 2010 — V. 7, № 3 — P. 52–55.
56. **Silva K. C.** Diabetic retinal neurodegeneration is associated with mitochondrial oxidativ stress and is improved by an angiotensin receptor blocker in a model combining hypertension and diabetes / K. C. Silva, M. A. Rosales, [et al.] // *Diabetes* — 2009. — Vol. 58 — P. 1382–1390.
57. **Shafir E.** Animal models of non-insulin-dependent diabetes / E. Shafir // *Diabetes / Metabolism Reviews.* — 1992. — V. 8, № 3. — P. 179–208.
58. **Stanford M. R.** The pathogenesis of diabetic retinopathy. Sticky blood or sticky vessels, or both / M. R. Stanford // *Br. J. Ophthalmol.* — 2004 — V. 88. — № 4 — P.444–445.
59. **The rabbit in eye research.** Ed by J. H. Prince. Ch. C. Thomas-publisher, Springfield, Illinois, USA. — 1964. — 652 p.
60. **Ugarte M.** Zinc in the retina / M. Ugarte, N. Osborne // *Prog. Neurobiol.* — 2001 — Vol. 64, № 3 — P. 219–249.
61. **Villarroel M.** Neurodegeneration: An early event of diabetic retinopathy / M.Villarroel, A. Cindin, [et al.] // *World J. Diabetes* — 2010 — May, 15. — 1(2). — P. 57–64.
62. **Wangsa-Wirawan N. D.** Retinal oxygen. Fundamental and clinical aspects / N. D. Wangsa-Wirawan, R. A. Linsenmeier // *Arch. Ophthalmol.* — 2003 — Vol. 121, № 4 — P. 547–557.
63. **Wild S.** Global prevalence of diabetes. Estimates for the years 2000 and projection for 2030 / S. Wild, G. Roglic, A. Green [et al.] // *Diabetes Care* — 2004. — V.27 — P. 1047–1053.
64. **Wills N. K.** Copper and zinc distribution in the human retina: Relationship to cadmium accumulation, age and gender / N. K. Wills, V. M. Sadagopa Ramanujam, [et al.] // *Exp. Eye Res.* — 2008. — V. 87, № 2. — P. 80–88.
65. **Yamashita H.** Pathogenesis of Diabetic retinopathy and Strategy to Develop New Therapeutic Modalities / H. Yamashita // *Ophthalmologica.* — 2004. — V. 18 (suppl. 1) — P. 19–28.
66. **Yuxi Feng.** Incipient Diabetic Retinopathy — Insight from an Experimental Model / Yuxi Feng, F. Hagen, J. Lin, H. Hammes // *Ophthalmologica* — 2007. — V. 221, № 4. — P. 269–274.
67. **Zhang B.** Oxidant induced cell death in retinal pigment epithelium cells mediated through the release of apoptosis — inducing factor / B. Zhang, J. Baffi, [et al.] // *J. Cell Science.* — 2003. — V. 116, № 10 — P. 1915–1923.

STATE OF THE RETINAL AND VASCULAR MEMBRANES OF THE RABBIT EYE WITH DIABETES MELLITUS MODELED BY DITHIZONE. REPORT 1. STRUCTURAL CHANGES.

Maltsev E. V., Zborovskaya A. V., Dorokhova A. E.

Odessa, Ukraine

The rabbits with diabetes mellitus modeled by Dithizone at the dose of 35 mg/kg, developed the signs of diabetic retinopathy. The histological signs of the retinal damage are absent after 6–7 hours (phase of hypoglycaemia) and 33–36 hours (beginning of the phase of second stable hyperglycemia) after the introduction of Dithizone, but they are already clearly expressed in 16–17 weeks against the background of developed diabetes. There is observed the destruction of the layers of photoreceptors and pigment epithelium, the neurons of the outer and inner nuclear layers because of the focal absence of the outer reticulated layer get mixed, and their substantial part perishes as well as some ganglionic cells. The signs of atrophy besides the retina are also determined in the vascular membrane. This model of diabetic retinopathy reflects well its nature as neurodegenerative disease.

