

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЕТЧАТОЙ ОБОЛОЧКИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КОНЦЕНТРАЦИИ ЭРИТРОПОЭТИНА В СТЕКЛОВИДНОМ ТЕЛЕ И ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КРЫС, СПУСТЯ 3 И 6 МЕСЯЦЕВ ПОСЛЕ ВОСПРОИЗВЕДЕНИЯ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА

Н.В. Пасечникова, В.А. Науменко, В.В. Вит, Т.С. Пилькевич
 ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова НАМН Украины» (Одесса)

Введение

Сахарный диабет (СД) и его осложнения – одна из важнейших медико-социальных и экономических проблем современного здравоохранения. Распространенность диабетической ретинопатии (ДРП) среди больных СД составляет 10–90 % [1]. В литературе приведены разноречивые сведения, о роли эритропоэтина (ЭПО) в развитии и прогрессировании ДРП. Эритропоэтин (ЭПО) вырабатывается главным образом в почках и в меньшей степени в печени (от 5% до 15%), но сегодня идентифицированы и другие очаги продукции эритропоэтина: головной мозг, матка, сетчатка, в которых экспрессия ЭПО также имеет тканевую специфичность [3–6]. Главным фактором, регулирующим продукцию ЭПО является гипоксия, в условиях гипоксии количество циркулирующего в плазме ЭПО возрастает примерно в 1000 раз [3, 4, 7]. Доказано, что применение ЭПО оказывает протективное действие на ишемию-реперфузию в различных органах и тканях, включая головной мозг, спинной мозг, почки, мышечную ткань сосудов, сердце [8–13]. По мнению некоторых авторов повышенная продукция ЭПО во внутриглазной жидкости у пациентов с диабетом и наличием диабетической ретинопатии имеет защитный характер за счет мощного антиоксидантного и нейропротекторного эффектов, а также противоишемического действия [15]. Но есть и другие данные, свидетельствующие о том, что ЭПО может являться индуктором ангиогенеза и тем самым ухудшать течение диабетической ретинопатии [2].

Исходя из наших предыдущих исследований показано, что введение животным с моделированным стрептозотоциновым диабетом

подкожно рЭПО на протяжении 1 месяца приводит к достоверному повышению концентрации ЭПО как в периферической крови так и в стекловидном теле, по сравнению с животными с моделированным сахарным диабетом и с интактными животными. Изменения сенсорной части сетчатки при введении эритропоэтина сводятся лишь к незначительному отеку ганглиозных клеток, при этом нарушения гистоархитектоники всех слоев сетчатки не обнаруживается.

Связь работы с научными программами, планами, темами. Исследование является составляющей частью научно-исследовательской работы ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова НАМН Украины» на тему «Експериментально-клінічне обґрунтування оптимізації лікування хворих віковою макулярною дегенерацією» (№ державної реєстрації 0113U001661).

Цель: изучить особенность структурных изменений сетчатой оболочки в зависимости от концентрации эритропоэтина в стекловидном теле и периферической крови крыс спустя 3 и 6 месяцев после воспроизведения стрептозотоцинового сахарного диабета.

Материал и методы исследования

Экспериментальное исследование проводилось на 270 крысах. В группу интактных животных вошло 10 крыс. Во вторую группу (крысы с моделированным сахарным диабетом) вошли 141 крыса, в третью группу (крысы с моделированным сахарным диабетом, которым вводили рЭПО) вошли 119 крыс. СД у крыс моделировали одноразовым введением внутривенно стрептозотоцина (SIG-MA, США) в дозе 65 мг на 1 кг веса тела.

Первые симптомы сахарного диабета появились через трое суток после введения стрептозотоцина у всех крыс второй и третьей группы. Отмечалось повышение уровня сахара крови в среднем до 10,0 ммоль/л, а также увеличение приема воды при постоянном увеличении диуреза. Начиная с 10-х суток (период стабильной гипергликемии) [14] крысам третьей группы вводили подкожно рЭПО 3 раза в неделю по 6 ЕД на 100 г массы тела в течение 6 месяцев.

Как показано в наших ранее опубликованных статьях в первые 3 месяца падеж во второй группе составил 79 животных, в третьей группе – 38 животных и нами было выведено 40 животных. Через 3 месяца во второй и третьей группе падеж составил по 18 крыс и нами было выведено 20 крыс. Через 5 месяцев во второй группе падеж животных составил 4, а в третьей – 23 животных (это мы можем

объяснить побочным действием эритропоэтина, а именно тромбозом из за увеличения количества эритроцитов). До проведения опыта животные выдерживались в карантине в течение двух недель. Содержались животные в стандартных условиях вивария. Эксперимент проводили с выполнением этических норм, предусмотренных международными принципами Европейской конвенции «О защите позвоночных животных, которые используются для экспериментов и в других научных целях» (Страсбург, 1985) норм био-медицинской этики, одобренных Первым Национальным конгрессом Украины по биоэтике (2001), а также Закона Украины №3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Киев, 2006).

Эта часть экспериментального исследования проведена на 50 крысах (100 глазах), породы Вистар, массой 240,5-270,0 гр., которые были распределены следующим образом: первая группа – интактные животные (10 крыс), вторая – животные с моделированным сахарным диабетом (20 крыс), третья группа – животные, с моделированным сахарным диабетом, получавшие рекомбинантный эритропоэтин (рЭПО) (20 крыс).

Животных выводили из эксперимента через 3 и 6 месяцев от начала эксперимента декапитацией под эфирным наркозом, после чего в минимальный срок проводили забор 5 мл крови и энуклеацию глаз. Выведение экспериментальных животных проводилось одновременно.

Глазные яблоки животных фиксировали в 10% растворе формалина в течении 24-48 часов, после чего приготавливали стандартную методику обработки материала (заклочение материала в парафин, окрашивание срезов гематоксилином и эозином). Ультроструктурные исследования проведены на 4 сетчатых оболочках экспериментальных животных (2 сетчатки при наблюдении за животными на протяжении 3 месяцев и 2- шести месяцев). Для электронно-микроскопического исследования кусочки ткани фиксировались в 2,5 % растворе глутаральдегида на фосфатном буфере при значении pH - 7,4 с последующей дофиксацией 1 % раствором осмиевой кислоты при том же pH буферного раствора. Затем образцы обезвоживались в спиртах восходящей крепости. Пропитывание материала и его заключение производилось в смеси эпон-аралдит. Затем ультратонкие срезы контрастировались по методике Reynolds. Просматривались и фотографировались срезы в электронном микроскопе ПЭМ-100-01. Гистоморфологические и ультроструктурные исследования проводились

на базе лаборатории патоморфологии и электронной микроскопии с использованием микроскопа Jenamed 2.

Уровень эритропоэтина в плазме крови и стекловидном теле определялся с помощью иммуноферментного анализа. Для этого использовались планшеты для количественного измерения эритропоэтина в сыворотке, плазме и других биологических жидкостях крыс (E90028 Ra 96 Tests Enzym-Linked Immunosorbent Assay Kit for Erythropoetin, производства США).

Статистическую обработку данных проводили с использованием статистической программы Statistica 9.0. Для анализа различий количественных показателей в сравниваемых группах использовали параметрический дисперсионный анализ (ANOVA) с предварительной оценкой нормальности распределения по критерию Шапиро-Уилкса. После проведения дисперсионного анализа использовали критерий множественного сравнения Ньюмана-Кейлса.

Полученные результаты и их обсуждение

При исследовании концентрации ЭПО в периферической крови крыс с моделированным сахарным диабетом, через 3 и 6 месяцев мы выявили достоверное повышение его уровня по сравнению с интактными животными (31,8±1,3 пг/мл) $p=0,002$ и (29,0±0,96 пг/мл) $p=0,003$ соответственно (табл. 1).

Таблица 1

Концентрация ЭПО в периферической крови и стекловидном теле у крыс с длительностью сахарного диабета 3 и 6 месяцев

Группа	M±m [SD]		3 месяца M±m [SD]		6 месяцев M±m [SD]		p
	Кровь	Ст.тело	Кровь	Ст.тело	Кровь	Ст.тело	
Контроль (n=10)	26,2±1,4 [4,3]	331,6±21,8 [57,7]					
СД (n=10)			31,8±1,3 [4,13]	405,8±12,1 [34,1]	29,0±0,96 [2,9]	389,1±10,4 [30,1]	$p_{к-к}=0,55$ $p_{с-с}=0,18$
СД+рЭПО (n=10)			49,4±0,7 [2,2]	566,3±5,3 [14,9]	43,0±1,43 [4,5]	476,9±4,65 [14,7]	$p_{к-к}=0,37$ $p_{с-с}=0,00$
			$p_{12}=0,002$ $p_{13}=0,000$ $p_{23}=0,000$	$p_{1,2}=0,001$ $p_{1,3}=0,0001$ $p_{2,3}=0,0001$	$p_{1,2}=0,003$ $p_{13}=0,000$ $p_{23}=0,000$	$p_{1,2}=0,003$ $p_{1,3}=0,0001$ $p_{2,3}=0,0001$	

Как видно из таблицы 1, при исследовании уровня эритропоэтина в стекловидном теле у крыс со стрептозотоциновым диабетом спустя как 3 так и 6 месяцев от начала эксперимента мы выявили

достоверное повышение его концентрации ($405,8 \pm 12,1$ пг/мл) $p=0,001$ и ($389,1 \pm 10,04$ пг/мл) $p=0,003$ соответственно по сравнению с интактными животными ($331,6 \pm 21,8$). Однако, необходимо отметить что достоверно значимого повышения концентрации ЭПО в периферической крови и в стекловидном теле в данной группе животных относительно 3 и 6 месяцев не произошло.

У крыс с моделированным сахарным диабетом, которым вводили рЭПО как через 3 так и через 6 месяцев в периферической крови нами выявлено значительное достоверное повышение уровня эритропоэтина ($49,4 \pm 0,7$ пг/мл) $p=0,000$ и ($43,0 \pm 1,43$ пг/мл) $p=0,0001$ соответственно по сравнению с интактными животными и с животными с моделированным сахарным диабетом (таб.1).

При исследовании уровня эритропоэтина в стекловидном теле у крыс со стрептозотоциновым диабетом, которым вводили рЭПО спустя как 3 так и 6 месяцев от начала эксперимента мы выявили достоверное повышение его концентрации ($566,3 \pm 5,3$ пг/мл) $p=0,001$ и ($476,9 \pm 4,65$ пг/мл) $p=0,0001$ соответственно по сравнению с интактными животными и с животными с моделированным сахарным диабетом (таб.1). Если сравнивать концентрацию ЭПО в периферической крови у крыс со стрептозотоциновым диабетом, которым вводили рЭПО, относительно 3 и 6 месяцев, то достоверно значимого повышения концентрации ЭПО в периферической крови не произошло. Однако, в этой группе за тот же период в стекловидном теле произошло статистически значимое повышение концентрации ЭПО в стекловидном теле.

Спустя 3 месяца после воспроизведения модели сахарного диабета без применения рЭПО у всех исследованных животных микроскопически в сетчатой оболочке обнаруживался фокальный отек и истончение внутреннего плексиформного слоя, вакуольная дегенерация части ганглиозных клеток и уменьшение их количества. Часть ганглиозных клеток подвергалась пикнозу. Обращает на себя внимание истончение слоя нервных волокон, фокальное разрушение внутренней пограничной мембраны (рис. 1, 2).

Определенные структурные изменения выявляются в сосудистой системе сетчатой оболочки. Сводятся они к дегенерации эндотелиальной выстилки капиллярных сосудов, разрушению стенки некоторых капиллярных сосудов и диапедезу крови в окружающую ткань (рис. 3).

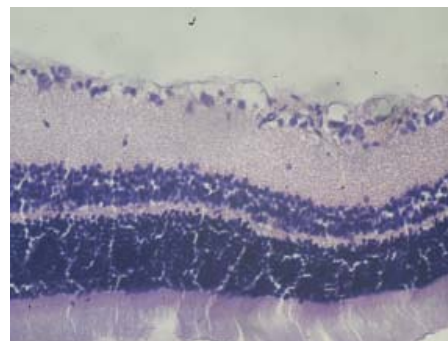


Рис. 1. Световая микроскопия структурных изменений сетчатой оболочки спустя 3 месяца после воспроизведения модели без применения рЭПО. Гематоксилин-эозин. $\times 200$.

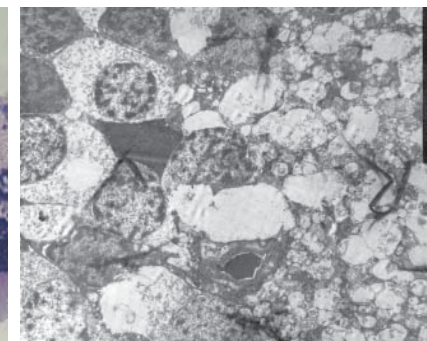


Рис. 2. Электронная микроскопия структурных изменений сетчатой оболочки спустя 3 месяца после воспроизведения модели без применения рЭПО. $\times 2000$.

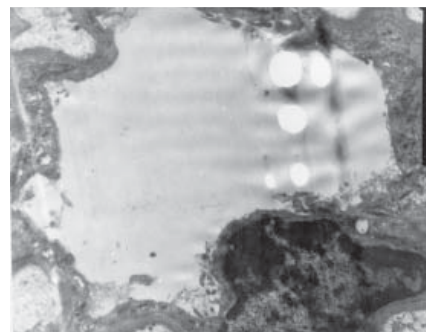


Рис. 3. Электронная микроскопия капиллярного сосуда сетчатки спустя 3 месяца после воспроизведения модели без применения рЭПО.

Спустя 6 месяцев у всех животных с экспериментальным сахарным диабетом, не получавших рЭПО микроскопически отмечалось углубление процессов дегенерации нейронов сетчатой оболочки, особенно слоя ганглиозных клеток (рис 4, 5). Существенно нарушается гистоархитектоника сетчатки и выражены явления отека внутреннего плексиформного слоя и атрофия сетчатки. Часть сосудов облитерирована и обнаруживаются глиальные пролифераты.

Спустя 3 месяца после воспроизведения экспериментального стрептозотоцинового диабета и введения животным рекомбинантного ЭПО у всех животных отмечалось сохранение гистоархитектоники сетчатой оболочки.

Из 10 животных только у 4 выявлен отек внутренних слоев сетчатой оболочки средней степени выраженности. Незначительная часть ганглиозных клеток находится в состоянии вакуольной

дегенерации средней степени выраженности. При этом клетки увеличены в размерах, ядра пузырьковидные и светлые (рис. 6, 7). У остальных 6 животных изменений сетчатой оболочки не выявлено. Следует отметить, что строение кровеносных сосудов у всех 10 животных без существенных структурных изменений (рис. 8).

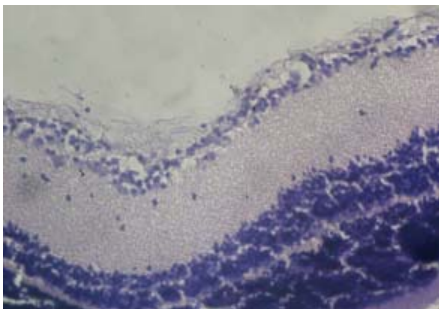


Рис. 4. Световая микроскопия сетчатки спустя 6 месяцев после воспроизведения модели без применения рЭПО. Гематоксилин-эозин. $\times 120$.

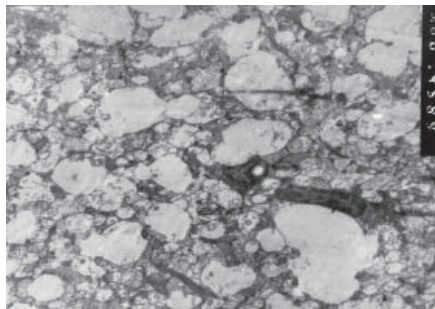


Рис. 5. Электронная микроскопия сетчатки спустя 6 месяцев после воспроизведения модели без применения рЭПО. $\times 1000$.

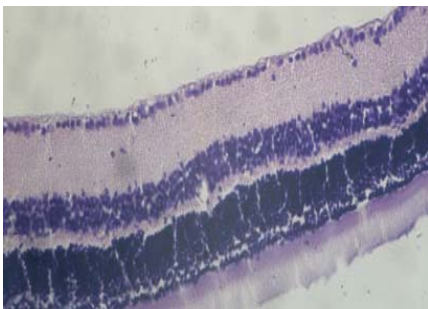


Рис. 6. Световая микроскопия сетчатой оболочки спустя 3 месяца после воспроизведения экспериментального стрептозоточинового диабета и введения животным рЭПО. Гематоксилин-эозин. $\times 120$.

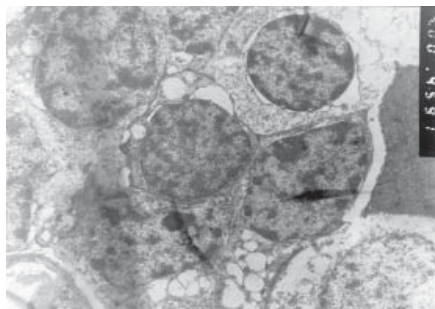


Рис. 7. Электронная микроскопия сетчатой оболочки спустя 3 месяца после воспроизведения экспериментального стрептозоточинового диабета и введения животным рЭПО. $\times 1800$.

Через 6 месяцев после начала эксперимента у 4 животных которым вводился рЭПО мы не выявили никаких изменений сетчатой оболочки, а у 6 животных из 10, структурные изменения сетчатки сводятся лишь к отеку и вакуольной дегенерации части

ганглиозных клеток (рис. 9, 10). Необходимо отметить, что осудистая система сетчатки сохранена у всех десяти животных (рис. 11).

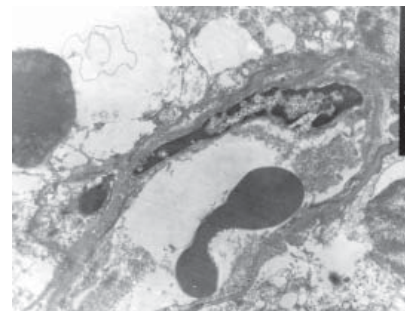


Рис. 8. Электронная микроскопия сетчатой оболочки спустя 3 месяца после воспроизведения экспериментального стрептозоточинового диабета и введения животным рЭПО. $\times 5000$.

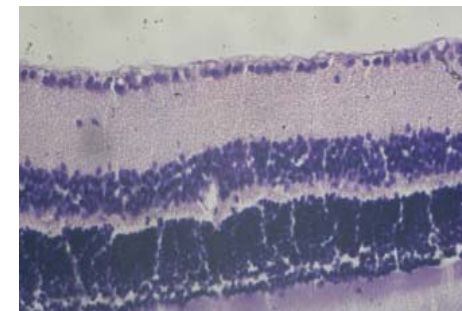


Рис. 9. Световая микроскопия сетчатой оболочки спустя 6 месяцев после воспроизведения экспериментального стрептозоточинового диабета и введения животным рЭПО. Гематоксилин-эозин. $\times 120$.

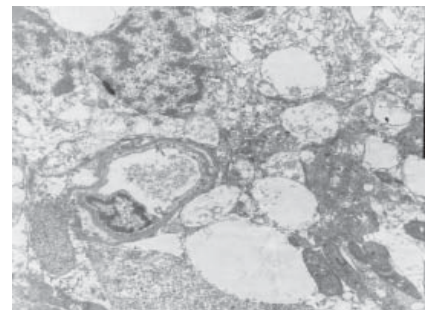


Рис. 10. Электронная микроскопия сетчатой оболочки спустя 6 месяцев после воспроизведения экспериментального стрептозоточинового диабета и введения животным рЭПО. $\times 4000$.

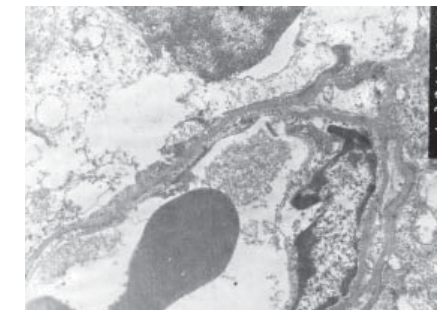


Рис. 11. Электронная микроскопия сетчатой оболочки спустя 6 месяцев после воспроизведения экспериментального стрептозоточинового диабета и введения животным рЭПО. $\times 8000$.

У крыс со стрептозоточиновым диабетом на срок наблюдения 3 и 6 месяцев мы наблюдаем достоверное повышение концентрации ЭПО как в периферической крови, так и в стекловидном теле, при этом необходимо отметить, что нами не выявлено повышения концентрации гемоглобина в периферической крови на протяжении

нии всего эксперимента, а количество эритроцитов даже снижается. Через 3 месяца концентрация гемоглобина во второй группе животных составила 145 г/л, через 6 месяцев – 145,7 г/л. Количество эритроцитов через 3 месяца в данной группе животных составило $4,9 \times 10^{12}$, через 6 месяцев – $3,7 \times 10^{12}$.

У животных с моделированным сахарным диабетом, которым вводили рЭПО отмечалось достоверное повышение концентрации ЭПО как в периферической крови, так и в стекловидном теле на протяжении всего эксперимента. При этом необходимо отметить, что концентрация гемоглобина снижается уже спустя 3 месяца после начала эксперимента, только нарастает количество эритроцитов в течение всего эксперимента, но эритроциты содержали пониженное количество гемоглобина, их размер был меньше, чем в норме. Это явление мы связываем с недостаточным поступлением железа, поэтому эритроциты являются несостоятельными. Через 3 месяца концентрация гемоглобина в 3 группе животных составила 193,8г/л, через 6 месяцев – 197,1г/л. Количество эритроцитов через 3 месяца в данной группе животных составило $10,6 \times 10^{12}$, через 6 месяцев – $11,9 \times 10^{12}$.

Выявляется прямая связь между поддержанием концентрации ЭПО в крови и стекловидном теле и сохранностью структурных элементов сетчатой оболочки. Таким образом, по результатам нашего эксперимента, мы можем предположить, что эритропоэтин может иметь прямое предохраняющее действие на клеточные элементы сетчатой оболочки, в результате снижения вероятности развития явлений апоптоза что было выявлено Z. Cai, D.J. Manalo, G. Wei (2003) при исследовании нейронов головного мозга.

Выводы

1. У животных со стрептозотоциновым диабетом, спустя 3 и 6 месяцев после начала эксперимента, происходит статистически значимое повышение концентрации эритропоэтина, по сравнению с интактными животными, как в периферической крови, так и в стекловидном теле.

2. Введение животным со стрептозотоциновым диабетом на протяжении 3 и 6 месяцев рекомбинантного эритропоэтина приводит к значительному статистически значимому повышению концентрации эритропоэтина по сравнению с интактными животными и с животными с сахарным диабетом, как в периферической крови, так и в стекловидном теле.

3. Через 3 месяца после начала эксперимента при введении рекомбинантного эритропоэтина у 6 животных из 10 структурных изменений сетчатой оболочки не выявлено и только у 4 крыс определяется незначительный отек ганглиозных клеток. При этом нарушения гистоархитектоники всех слоев сетчатки не обнаруживается, а через 6 месяцев после начала эксперимента у 4 из 10 крыс структурных изменений сетчатой оболочки не выявлено и только у 6 крыс структурные изменения сетчатки сводятся лишь к отеку и вакуольной дегенерации части ганглиозных клеток.

4. Через 3 и 6 месяцев при воспроизведении стрептозотоцинового диабета у всех животных определяются грубые структурные изменения сетчатой оболочки, существенно нарушается гистоархитектоника сетчатки, выражены явления отека внутреннего плексиформного слоя и атрофия сетчатки.

5. Через 3 и 6 месяцев после начала эксперимента при введении рекомбинантного эритропоэтина у всех животных сосудистая система сетчатки сохранена, а у всех животных со стрептозотоциновым диабетом со стороны сосудистой системы сетчатки обнаруживаются глиальные пролифераты, а также облитерация части сосудов.

6. Таким образом, необходимо дальнейшее исследование роли эритропоэтина в сохранении сосудистой системы сетчатки при сахарном диабете у экспериментальных животных.

Литература

1. Нестеров А.П. Диабетическая ретинопатия / А.П. Нестеров // Русский международный журнал. - 2000. - № 1. - С. 3-8.
2. Wang Z.Y. Erythropoietin therapy for early diabetic retinopathy through its protective effects on retinal pericytes / Z.Y. Wang, K.K. Zhao, P.Q. Zhao // Med. Hypotheses. - 2011. - Vol. 76, № 2. - P. 266-268.
3. Ермоленко В.М. Эритропоэтин: биологические свойства и применение в клинике / В.М. Ермоленко, А.Ю. Николаев // Терапевтический архив. - 1990. - № 62 (11). - С. 141-145.
4. Spiwak J.L. Serum immunoreactive erythropoietin in health and disease / J.L. Spiwak // J. Perinat. Med. - 1995. - Vol. 23 (1-2). - P. 13-17.
5. Renal and extrarenal erythropoietin production in anaemic rats / A.J. Erslev, J. Caro, E. Kansu, R. Silver // Br. J. Haematol. - 1980. - Vol. 45 (1). - P. 65-72.
6. Tissue-specific regulation of erythropoietin production in the murine kidney, brain and uterus / M. Chikuma, S. Masuda, T. Kobayashi [et al.] // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. - 2000. - Vol. 279. - P. 1242-1248.

7. Bauer C. Erythropoietin - from gene structure to therapeutic applications / C. Bauer // J. Perinat. Med. - 1995. - Vol. 23. - P. 77-81.

8. Erythropoietin prevents neuronal apoptosis after cerebral ischemia and metabolic stress / A.L. Siren, M. Fratelli, M. Brines [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 2001. - Vol. 98. - P. 4044-4049.

9. Erythropoietin prevents motor neuron apoptosis and neurologic disability in experimental spinal cord ischemic injury / M. Celik, N. Gokmen, S. Erbayraktar [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 2002. - Vol. 99. - P. 2258-2263.

10. Preconditioning with erythropoietin protects against subsequent ischemia-reperfusion injury in rat kidney / C.W. Yang, C. Li, J.Y. Jung [et al.] // FASEB J. - 2003. - Vol. 17. - P. 1754-1755.

11. Erythropoietin regulates vascular smooth muscle cell apoptosis by a phosphatidylinositol 3 kinasedependent pathway / T. Akimoto, E. Kusano, T. Inaba [et al.] // Kidney Int. - 2000. - Vol. 58. - P. 269-282.

12. Bogoyevitch M.A. An update on the cardiac effects of erythropoietin cardioprotection by erythropoietin and the lessons learnt from studies in neuroprotection / M.A. Bogoyevitch // Cardiovasc. Res. - 2004. - Vol. 63. - P. 208-216.

13. Hearts from rodents exposed to intermittent hypoxia or erythropoietin are protected against ischemiareperfusion injury / Z. Cai, D.J. Manalo, G. Wei [et al.] // Circulation. - 2003. - Vol. 108. - P. 79-85.

14. Модифікація резистентності до діабетогенних факторів під впливом хронічного стресу та адаптації до періодичної гіпоксії / Ю.М. Колесник, М.О. Орловський, М.А. Калініченко, Т.А. Грекова // Запорозж. мед. журн. - 2005. - № 3. - С. 21-26.

15. Erythropoietin is highly elevated in vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy / Y. Katsura, T. Okano, K. Matsuno [et al.] // Diabetes Care. - 2005. - Vol. 28, № 9. - P. 2252-2254.

Резюме

Пасечникова Н.В., Науменко В.О., Віт В.В., Пількевич Т.С. Структурні зміни сітківки залежно від концентрації еритропоєтину в склоподібному тілі і периферичній крові щурів, через 3 і 6 місяців після відтворення стрептозотоцинового цукрового діабету.

Цукровий діабет (ЦД) - одне з найбільш поширених захворювань. Поширеність діабетичної ретинопатії (ДРП) серед хворих на ЦД становить 10-90%. Мета: вивчити особливості структурних змін сітківки залежно від концентрації еритропоєтину в склоподібному тілі і периферичній крові щурів через 3 і 6 місяців після відтворення стрептозотоцинового цукрового діабету. Експериментальне дослідження проведено на 50 щурах (100 очей), породи Вістар, масою 240,5-270,0 гр. Всі тварини були розподілені на 3 групи: 1-а група - інтактні тварини (10 щурів), друга - тварини з модельованим цукровим діабетом (20 щурів), третя група - тварини, з модельованим цукровим діабетом, які отримували рекомбінантний еритропоєтин (рЕПО) (20 щурів). ЦД у щурів моделювали одноразовим введенням внутрішньочеревно стрептозотоцину (SIGMA, США) в дозі 65 мг на 1 кг ваги тіла. Починаючи з 10 -ї

діби щурам третьої групи вводили підшкірно рЕПО 3 рази на тиждень по 6 ОД на 100 г маси тіла протягом 6 місяців. Введення тваринам з стрептозотоциновим діабетом протягом 3 і 6 місяців рЕПО призводить до статистично значимого підвищення концентрації еритропоєтину в порівнянні з інтактними тваринами і з тваринами з цукровим діабетом, як в периферичній крові, так і в склоподібному тілі. Через 3 і 6 місяців при відтворенні стрептозотоцинового діабету у всіх тварин визначаються грубі структурні зміни сітчастої оболонки, істотно порушується гістоархітектоніка сітківки, виражені явища набряку внутрішнього плексиформного шару і атрофія сітківки. Через 3 місяці після початку експерименту при введенні рЕПО тільки у 4 щурів з 10 визначається незначний набряк гангліозних клітин, у решти 6 щурів структурних змін сітчастої оболонки не виявлено. При цьому порушення гістоархітектоніки всіх шарів сітківки не виявляється, а через 6 місяців після початку експерименту тільки у 6 щурів з 10 структурні зміни сітківки зводяться лише до набряку і вакуольної дегенерації частини гангліозних клітин, а у 4 щурів структурних змін сітчастої оболонки не виявлено. Через 3 і 6 місяців після початку експерименту при введенні рЕПО у всіх тварин судинна система сітківки збережена, а у всіх тварин з стрептозотоциновим діабетом з боку судинної системи сітківки виявляються гліальні проліферати, а також облітерація частини судин.

Ключові слова: стрептозотоциновий діабет, рекомбінантний еритропоєтин, діабетична ретинопатія.

Резюме

Пасечникова Н.В., Науменко В.А., Віт В.В., Пількевич Т.С. Структурные изменения сетчатой оболочки в зависимости от концентрации эритропоэтина в стекловидном теле и периферической крови крыс, спустя 3 и 6 месяцев после воспроизведения стрептозотоцинового сахарного диабета.

Сахарный диабет (СД) — одно из наиболее распространенных заболеваний. Распространенность диабетической ретинопатии (ДРП) среди больных СД составляет 10-90 %. Цель: изучить особенность структурных изменений сетчатой оболочки в зависимости от концентрации эритропоэтина в стекловидном теле и периферической крови крыс спустя 3 и 6 месяцев после воспроизведения стрептозотоцинового сахарного диабета. Экспериментальное исследование проведено на 50 крысах (100 глаз), породы Вистар, массой 240,5-270,0 гр. Все животные были распределены на 3 группы: 1-я группа - интактные животные (10 крыс), вторая - животные с моделированным сахарным диабетом (20 крыс), третья группа - животные, с моделированным сахарным диабетом, получавшие рекомбинантный эритропоэтин (рЭПО) (20 крыс). СД у крыс моделировали одноразовым введением внутрибрюшинно стрептозотоцину (SIGMA, США) в дозе 65 мг на 1 кг веса тела. Начиная с 10-х суток (период стабильной гипергликемии) крысам третьей группы вводили подкожно рЭПО 3 раза в неделю по 6 ЕД на 100 г массы тела в течении 6 месяцев. Введение животным со стрептозотоциновым диабетом на протяжении 3 и 6 месяцев рЭПО приводит к статистически значимому повышению концентрации эритропоэтина по сравнению с интактными животными и с животными с сахарным диабетом, как в периферической крови, так и в стекловидном теле. Через 3 и 6 месяцев при воспроизведении стрептозотоцинового диабета у всех животных определяются грубые структурные изменения сетчатой оболочки, существенно нарушается гистоархитектоника сетчатки, выражены явления отека внутреннего плексиформного слоя и атрофия сетчатки. Через 3 месяца после начала эксперимента при введении рЭПО только 4 крыс из

10 определяется незначительный отек ганглиозных клеток, у остальных 6 крыс структурных изменений сетчатой оболочки не выявлено. При этом нарушения гистоархитектоники всех слоев сетчатки не обнаруживается, а через 6 месяцев после начала эксперимента только у 6 крыс из 10 структурные изменения сетчатки сводятся лишь к отеку и вакуольной дегенерации части ганглиозных клеток, а у 4 крыс структурных изменений сетчатой оболочки не выявлено. Через 3 и 6 месяцев после начала эксперимента при введении рЭПО у всех животных сосудистая система сетчатки сохранена, а у всех животных со стрептозотоциновым диабетом со стороны сосудистой системы сетчатки обнаруживаются глиальные пролифераты, а также облитерация части сосудов.

Ключевые слова: стрептозотоциновый диабет, рекомбинантный эритропоэтин, диабетическая ретинопатия.

Summary

Pasechnikova N.V., Naumenko V.A., Vit V.V., Pilkevich T.S. *Structural changes in the retina, depending on the concentration of erythropoietin in the vitreous body and the peripheral blood of rats after 3 and 6 months after streptozotocin-induced diabetes simulation.*

Diabetes mellitus (DM) is one of the most common diseases. The prevalence of diabetic retinopathy among diabetic patients is 10-90%. To study the feature of structural changes in the retina depending on the concentration of erythropoietin in the vitreous humor and peripheral blood of rats after 3 and 6 months after streptozotocin-induced diabetes simulation. Experimental study was performed on 50 Wistar rats (100 eyes), weighted 240.5-270.0. All animals were divided into 3 groups: Group 1 - intact animals (10 rats), Group 2 - diabetes mellitus simulated animals (20rats), Group 3 - animals with simulated diabetes treated with recombinant erythropoietin (rEPO) (20 rats). SD rats simulated disposable intraperitoneal administration of streptozotocin (SIGMA, USA) at a dose of 65 mg per 1 kg of body weight. Starting from the 10th day (the period of stable hyperglycemia) the rats of the Group 3 were injected subcutaneously rEPO 6 units per 100 g of body weight three times per week for 6 months. REPO administration to streptozotocin-induced diabetic animals for 3 and 6 months resulted in a statistically significant increase in the concentration of erythropoietin compared to the intact animals and animals with diabetes mellitus in the peripheral blood and in the vitreous. After 3 and 6 months after streptozotocin-induced diabetes simulation there was determined serious structural changes in the retina in all animals, histoarchitectonics of the retina was significantly disrupted, there were expressed signs of swelling of the internal plexiform layer and retinal atrophy. 3 months after the experiment had began only in 4 of 10 rats receiving rEPO there was determined mild swelling of ganglion cells, in other 6 rats the structural changes of the retina were not identified. Herewith histoarchitectonics violations in all layers of the retina were not noted. And 6 months after the start of the experiment only 6 out of 10 rats had retinal structural changes reduced only to edema and vacuolar degeneration of the ganglion cells, and in 4 rats the structural changes of the retina were not identified. After 3 and 6 months after the beginning of the experiment when administered rEPO all animals kept the retinal vascular system, and all streptozotocin-induced diabetic animals had vascular retinal glial proliferates and obliteration of blood vessels.

Key words: streptozotocin-induced diabetes, recombinant erythropoietin, diabetic retinopathy.

Рецензент: д.мед.н., проф. А.М. Петруня

УДК 615.27:616-001.31

ПЕРСПЕКТИВИ КОРЕКЦІЇ СИНДРОМУ МЕТАБОЛІЧНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ У ХВОРИХ НА ЧЕРЕПНО-МОЗКОВУ ТРАВМУ З ВИКОРИСТАННЯМ МЕКСИДОЛА В КОМПЛЕКСІ ЛІКУВАННЯ ТА МЕДИЧНОЇ РЕАБІЛІТАЦІЇ

**М.П. Сидоренко, А.Л. Победьонний, Ю.П. Семенець,
А.П. Сидоренко, В.М. Чепелєв**

Луганська обласна клінічна лікарня

Лікарня головного управління МВС України м. Луганська

Вступ

Черепно-мозкова травма (ЧМТ) відноситься до числа найбільш поширених і важких видів ушкоджень [4, 6, 13], особливо у великому промисловому регіоні [10]. Практичне одужання після ЧМТ настає лише у 30 - 50% постраждалих, наслідком цього є велика частота інвалідності [4, 11]. Медико-соціальне значення ЧМТ обумовлено переважним ураженням осіб найбільш активних в соціальному, трудовому і військовому відношенні; економічним збитком у зв'язку з втратою робочого часу з тимчасової непрацездатності, високим рівнем і тяжкістю інвалідизації постраждалих [11,14].

Інтенсивне вивчення в останні роки різних аспектів даного виду патології призвело до перегляду сформованих раніше уявлень про стабільність компенсації у хворих у віддаленому періоді ЧМТ. Показано, що тривалий період майже повної клінічної компенсації у осіб, які перенесли ЧМТ, може змінюватися значним погіршенням стану їх здоров'я, що призводить до суттєвого обмеження життєдіяльності, соціально-трудової дезадаптації [11].

Авторами впродовж тривалого часу проводиться вивчення тонких механізмів ЧМТ як поєднаної так і важкої, а також досліджуються можливості корекції виявлених патологічних змін за допомогою сучасних метаболічно активних препаратів [5, 12].

Продовжуючи дослідження у цьому напрямку, нашу увагу привернула концепція професора Л.Л. Громашевської стосовно формування у хворих з різноманітною патологією клініко-лабораторного синдрому так званої «метаболічної» інтоксикації (СМІ) [2, 3]. Вона полягає в тому, що при більшості патологічних процесів, особливо