

ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО УКРАЇНСЬКИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ  
ІНСТИТУТ МЕДИЦИНИ ТРАНСПОРТУ МОЗ УКРАЇНИ

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТІ  
ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**СІРМАН Яна Вадимівна**

УДК. 616-092.9:616-93:617.731

**ПАТОГЕНЕЗ ДІАБЕТИЧНОЇ РЕТИНОПАТІЇ ТА ОБГРУНТУВАННЯ  
ШЛЯХІВ ЇЇ КОРЕКЦІЇ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)**

14.03.04 – патологічна фізіологія

22 «Охорона здоров'я»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,  
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_ Я.В. Сірман

Одеса – 2022

## АНОТАЦІЯ

*Сірман Я.В.* Патогенез діабетичної ретинопатії та обґрунтування шляхів її корекції (експериментальне дослідження). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія (22 «Охорона здоров'я»). – Державне підприємство Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України, Одеса, 2022.

Тернопільський національний медичний університеті імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, 2022.

У дисертаційній роботі наведено узагальнення і запропоновано нове вирішення актуальної наукової проблеми патогенезу ускладнень експериментального стрептозотоцинового цукрового діабету, зокрема діабетичної ретинопатії і дисфункції ендотелію судин, та їх корекції.

Дослідження проведено на 420 статевозрілих білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-200 г. Тварин було розподілено на 7 груп: 1-а група – 60 інтактних тварин; 2-а група – 60 тварин, у яких моделювали діабетичну ретинопатію без подальшої корекції; 3 група – 60 тварин, у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії; 4 група – 60 тварин, у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта та розчину L-аргініну; 5 група – 60 тварин, у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта та бромфенаку; 6 група – 60 тварин, у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта та L-карнітину та бромфенаку; 7 група – 60 тварин, у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта, розчину L-аргініну та цитиколіну.

Встановлено, що у патогенезі діабетичної ретинопатії важливу роль відіграє порушення ендотелію судин, про що свідчить збільшення рівнів фактора Віллебранда, ендотеліну-1 та асиметричного диметиларгініну ( $p < 0,001$ , порівняно з даними інтактних тварин). Також виявлено дисбаланс вазоконстрикторно-вазодилататорного потенціалу у бік констрикторної компоненти ( $p < 0,001$ ) та пригнічення фізіологічного розслаблення тону судин ( $p < 0,001$ ). Показано, що у щурів, у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта, L-карнітину та бромфенаку (група № 6), зниження патологічно підвищеного рівня маркерів ендотеліальної дисфункції є більш вираженим порівняно з даними 3-ї–5-ї груп, що свідчить про доцільність даного способу корекції. Встановлено, що максимально результативним виявився спосіб корекції у 7-й групі експерименту, де здійснювали корекцію гіперглікемії, введенням афліберцепта, розчину L-аргініну та цитиколіну. Отримані дані свідчать не лише про нормалізацію рівнів маркерів ендотеліальної дисфункції, а і про відновлення фізіологічного стану показників судинного тону (вазоконстрикції та вазодилататції)

Доведено роль дисфункції ендотелію у розвитку експериментальної діабетичної ретинопатії. Розроблено математичну модель прогнозу досліджуваного патологічного стану, яка ґрунтується на аналізі біохімічних показників крові на ранніх етапах експерименту.

Отримане рівняння логістичної регресії має такий вигляд:

$$G(z) = \frac{e^{(-642,032 + 44,993 \cdot x_1 + 35,443 \cdot x_2 + 2,987 \cdot x_3)}}{1 + e^{(-642,032 + 44,993 \cdot x_1 + 35,443 \cdot x_2 + 2,987 \cdot x_3)}}$$

Для отримання відсоткового значення ймовірності важкості розвитку експериментальної діабетичної ретинопатії (у межах від 0-100 %), використовуючи отриману функцію логістичної регресії, потрібно помножити отримане значення функції  $G(z)$  на 100 %.

Доведено інформативність маркерів дисфункції ендотелію – фактора Віллебранда та ендотеліну-1 у прогнозуванні тяжкості прогресування діабетичної ретинопатії. Встановлено результативність комплексного аналізу рівня 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів разом із зазначеними маркерами функціонального стану ендотеліоцитів на 30-у добу для прогнозування подальшого перебігу досліджуваного патологічного процесу.

Отримані результати свідчать про розвиток гіпоксії уже на 30-у добу розвитку експериментальної діабетичної ретинопатії з подальшим прогресуванням патологічних змін на 60-у та 180-у добу дослідження, на що вказує зниження рівня 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів у 2-й групі ( $p < 0,001$ ). Результати 4-ї групи свідчать про те, що залучення донатора оксиду нітрогену та афліберцепта до корекції діабетичної ретинопатії коригує гіпоксичні зрушення та сприяє відновленню фізіологічного шляху синтезу оксиду нітрогену, максимально виражений ефект спостерігається на 180-у добу експерименту. Виявлено, що у щурів у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта, L-карнітину та бромфенаку (група № 6), наявна виражена тенденція до нормалізації досліджуваного маркера гіпоксії порівняно з попередніми способами, але рівень 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів не досягає нормативних значень. Спосіб корекції, обраний у 7-й групі (корекція гіперглікемії, введенням афліберцепта, розчину L-аргініну та цитиколіну) більш виражено нормалізує рівень 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів порівняно з іншими групами експерименту, його результативність виражено проявляється уже на 30-у добу, збільшуючись до 60-ї та 180-ї діб.

Доведено ключову роль фактору росту судин для визначення ступеня тяжкості стрептозотоцинової діабетичної ретинопатії на різних етапах. Особливо виражене підвищення маркера виявлено на 180-у добу розвитку патологічного процесу ( $p < 0,001$ ). Афліберцепт має позитивний вплив на

нормалізацію даного стану, але більш виражений ефект спостерігається у комбінації з тривалим введенням L-аргініну. Також виявлено взаємозв'язок нормалізації фактора росту судин і корекції гіпоксії.

Показано роль запалення у патогенезі діабетичної ретинопатії за результатами збільшення рівня інтерлейкіну 1 В ( $p < 0,001$ ) порівняно з даними інтактної групи.

Встановлено перехід синтезу оксиду нітрогену на альтернативний шлях з посиленням активності індукбельної NO-синтази ( $p < 0,001$ ) при експериментальній діабетичній ретинопатії у щурів із змодельованим стрептозотоциновим діабетом. Отримані результати свідчать про порушення функціонального стану ендотелію та фізіологічного синтезу оксиду нітрогену уже на 30-у добу розвитку експериментальної діабетичної ретинопатії з подальшим прогресуванням патологічних змін на 60-у та 180-у добу дослідження, про що свідчить зниження активності ендотеліальної синтази оксиду нітрогену разом із підвищенням активності індукбельної у 2-й групі ( $p < 0,001$ ), максимально виражене на 3-му етапі. Виявлено, що у щурів у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта, L-карнітіну та бромфенаку (група № 6) наявна виражена результативність запропонованого способу корекції порівняно з попередніми способами: активність eNOS підвищилася на всіх етапах експерименту, але не досягла нормативних значень. Також відмічено позитивний вплив на активність індукбельної NO-синтази та інтерлейкіну 1 $\beta$ , між якими, як відомо, існує тісний взаємозв'язок. Отримані дані засвідчують, що спосіб корекції, обраний у 7-й групі (корекція гіперглікемії, введенням афліберцепта, розчину L-аргініну та цитиколіну), є максимально ефективним із усіх, проаналізованих у дослідженні, його результативність виражено проявилась уже на 30-у добу, збільшуючись до 60-ї та 180-ї діб при аналізі усіх досліджуваних маркерів.

Встановлено дисбаланс між про- та антиоксидантною системою у патогенезі експериментальної стрептозотоцинової діабетичної ретинопатії, що підтверджується підвищенням рівня первинних ( $p < 0,001$ ) та вторинних ( $p < 0,001$ ) продуктів перекисного окиснення ліпідів та зниженням пероксидази ( $p < 0,001$ ). Одержані результати свідчать про підвищення вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів, починаючи із 30-ї та з подальшим прогресуванням на 60-у та 180-у доби експериментальної діабетичної ретинопатії, підтвердженням чого є збільшення рівня дієнових кон'югатів малонового діальдегіду у 2-ї групі з максимумом на 3-му етапі. При цьому спостерігається поетапне зниження активності пероксидази, яка є ферментом антиоксидантного захисту. Максимально ефективною корекцією виявилось поєднання метформіну, афліберцепту, L-аргініну та цитиколіну у щурів 7-ї групи, про що свідчить нормалізація рівня досліджуваних показників на 30-у та 60-у добу експерименту, а на 180-у було зафіксовано зниження вмісту маркерів оксидативного стресу та нормалізація активності антиоксиданта до контрольних показників.

Результати гістологічного дослідження свідчать про те, що розвиток моделі цукрового діабету щурів супроводжується порушенням у сітківці ока у вигляді набрякових зрушень волокон та набряком формуючих її клітин, нерівномірністю розподілу клітин гангліонарного шару і вакуолізації цитоплазми деяких із них. Застосування комплексу коригуючих препаратів порушення метаболізму і ангіопатій, які характерні для цукрового діабету, впливає на стан сітківки. Суттєво зменшуються набрякові зміни її структурних елементів. Візуально збільшується кількість судин на межі із сітківкою. Більш соковитим стає фарбування клітин гангліонарного шару.

На основі проведених досліджень доведено, що з усіх розроблених патогенетично обґрунтованих схем корекції експериментальної стрептозотоцинової діабетичної ретинопатії найбільш ефективним виявився

комплекс із гіпоглікемічною дією (метформін), донатором оксиду нітрогену та антиоксиданом (L-аргінін), мембранстабілізуючим засобом (цитиколін), та інгібітором неоангіогенезу (афліберцепт).

*Наукова новизна одержаних результатів.* Вперше надано комплексну оцінку розвитку ендотеліальної дисфункції при експериментальній діабетичній ретинопатії та обґрунтовано спосіб її корекції.

Вперше експериментально підтверджено доцільність обраних біохімічних показників як маркерів тяжкості досліджуваної патології.

Вперше встановлено послаблення вазодилатаційного процесу на тлі розвитку експериментальної діабетичної ретинопатії, про що свідчить зменшення вмісту S-нітрозотіолів.

Вперше показано, що в патогенезі стрептозотоцинової діабетичної ретинопатії значно підвищується вазоконстрикторний потенціал судин, про що свідчить значне підвищення ендотеліну-1 у тварин.

Доведено, що розвиток експериментальної діабетичної ретинопатії негативно впливає на функціональний стан судин на кожному із етапів дослідження. Вперше виявлено значні зміни рівня фактора Віллебранда та асиметричного диметиларгініну як маркерів ендотеліальної дисфункції у динаміці розвитку патологічного процесу.

Вперше було проведено дослідження шляхів синтезу оксиду нітрогену при експериментальній діабетичній ретинопатії та роль індукцибельної NO синтази у цьому процесі.

Вперше поетапно проаналізовано розвиток гіпоксії на основі динаміки рівня 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів у крові щурів при моделюванні діабетичної ретинопатії.

Вперше визначено дисбаланс між про- та антиоксидантною системою за умов розвитку експериментальної стрептозотоцинової діабетичної ретинопатії.

Вперше досліджено динаміку та роль фактору росту судин для визначення ступеня тяжкості змодельованого патологічного процесу.

Доведено роль про- та протизапальних інтерлейкінів у розвитку дисфункції ендотелію при стрептозотоциновій діабетичній ретинопатії.

Вперше запропоново патогенетично обґрунтований спосіб корекції, де експериментальним шляхом підібрано оптимальне поєднання введення метформіну, афліберцепта, розчину L-аргініну та цитиколіну.

Вперше розроблено математичну прогностичну модель розвитку стрептозотоцинової діабетичної ретинопатії, яка ґрунтується на аналізі біохімічних показників крові на ранніх етапах експерименту.

Вперше встановлено результативність комплексного аналізу рівня 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів разом із маркерами функціонального стану ендотеліоцитів (фактором Віллебранда та ендотеліном-1) на 30-у добу для прогнозування подальшого перебігу досліджуваного патологічного процесу.

*Практичне значення одержаних результатів.* Отримані результати розширюють уявлення про патогенез експериментальної діабетичної ретинопатії, що є безумовно корисним як для науковців в галузі патологічної фізіології, так і для практикуючих лікарів. Результати дослідження дають можливість патогенетично обґрунтувати корекцію стрептозотоцинової діабетичної ретинопатії та профілактику можливих ускладнень даної патології і створюють передумови до розробки рекомендацій з метою запобігання зазначених ускладнень. Позитивний коригуючий ефект від задіяних в ході експерименту складових корекції є суттєвим підґрунтям для подальших досліджень як функціонального стану судин, так і профілактики діабетичної ретинопатії, як складової частини ускладнень цукрового діабету.



**Ключові слова:** експериментальна діабетична ретинопатія, дисфункція ендотелію, фактор Віллебранда, ендотелін-1, S-нітрозотіоли, ендотеліальна NO-синтаза, індукцибельна NO-синтаза, 2,3 діфосфогліцерат еритроцитів, асиметричний диметиларгінін, малоновий діальдегід, дієнові кон'югати, інтерлейкіни, фактор росту судин, глюкоза, пероксидаза, корекція, метформін, афліберцепт, L-аргінін, цитиколін, L-карнітін, бромфенак.

## ANNOTATION

*Sirman J.V.* Pathogenesis of diabetic retinopathy and justification of ways of its correction. – On the rights of the manuscript.

Thesis for the degree of Doctor of Medical Science (M.D.) in specialty 14.03.04 – Pathological Physiology (22 «Health Care»). – State Enterprise Ukrainian Scientific and Research Institute of Transport Medicine, Odesa, 2022.

Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, 2022.

The thesis summarizes and proposes a new solution to the current scientific problem of the complications pathogenesis of experimental streptozotocin diabetes, in particular diabetic retinopathy and vascular endothelium dysfunction and their correction.

The study was conducted on 420 sexually mature white male Wistar rats weighing 180-200 g. The animals were divided into 7 groups: 1<sup>st</sup> group – 60 intact animals; 2<sup>nd</sup> group – 60 animals with modelled diabetic retinopathy without correction; 3<sup>rd</sup> group – 60 animals with modelled diabetic retinopathy and subsequent correction of hyperglycemia; 4<sup>th</sup> group – 60 animals with modelled diabetic retinopathy with subsequent correction of hyperglycemia, administration of aflibercept and L-arginine solution; 5<sup>th</sup> group – 60 animals with modelled diabetic retinopathy and subsequent correction of hyperglycemia, administration of

aflibercept and bromfenac; 6<sup>th</sup> group – 60 animals with modelled diabetic retinopathy and subsequent correction of hyperglycemia, administration of aflibercept, L-carnitine, and bromfenac; 7<sup>th</sup> group – 60 animals with modelled diabetic retinopathy and subsequent correction of hyperglycemia, administration of aflibercept, L-arginine solution and citicoline.

It was established that in the pathogenesis of diabetic retinopathy an important role is played by the disruption of the vascular endothelium, which is evidenced by an increase in the Willebrand factor, endothelin-1 levels and asymmetric dimethylarginine ( $p < 0.001$ , compared to the data of intact animals). It was also revealed an imbalance of the vasoconstrictor-vasodilatation potential towards the constrictor component ( $p < 0.001$ ) and inhibition of the physiological relaxation of vascular tone ( $p < 0.001$ ). It was shown that in rats with modelled diabetic retinopathy and subsequent correction of hyperglycemia, administration of aflibercept, L-carnitine and bromfenac (group № 6), the reduction of the pathologically elevated level of markers of endothelial dysfunction is more pronounced compared to the data of the 3<sup>rd</sup>–5<sup>th</sup> groups, which indicates the expediency of this method of correction. It was found that the correction method in the experimental 7<sup>th</sup> group where correction of hyperglycemia was carried out by the introduction of aflibercept, solution of L-arginine and citicoline, was the most effective. The obtained data indicate not only the normalization of the endothelial dysfunction markers, but also the restoration of the physiological state of vascular tone indicators (vasoconstriction and vasodilation).

It has been proven the role of endothelial dysfunction in the development of experimental diabetic retinopathy. A mathematical model of the investigated pathological condition prognosis has been developed, which is based on the analysis of biochemical indicators of blood at the early stages of the experiment.

The resulting logistic regression equation looks like this:

$$G(z) = \frac{e^{(-642,032+44,993 \cdot x_1+35,443 \cdot x_2+2,987 \cdot x_3)}}{1 + e^{(-642,032+44,993 \cdot x_1+35,443 \cdot x_2+2,987 \cdot x_3)}}$$

To obtain a percentage value of the probability of the experimental diabetic retinopathy severity (in the range from 0-100 %), using the obtained function of logistic regression, it is necessary to multiply the obtained value of the function  $G(z)G(z)$  by 100 %.

It has been proven the informativeness of endothelial dysfunction markers – Willebrand factor and endothelin-1 in predicting the transition of non-proliferative diabetic retinopathy to the proliferative stage. It was established the effectiveness of the comprehensive analysis of the level of erythrocytes' 2,3-diphosphoglycerate with the specified markers of the endotheliocytes functional state on the 30<sup>th</sup> day for predicting the further course of the studied pathological process.

The obtained results indicate of the hypoxia development already on the 30<sup>th</sup> day of the experimental diabetic retinopathy with further progression of pathological changes on the 60<sup>th</sup> and 180<sup>th</sup> days of the study, as indicated by a decrease in the level of erythrocytes' 2,3-diphosphoglycerate in the 2<sup>nd</sup> group ( $p < 0.001$ ). The results of the 4<sup>th</sup> group indicate that the involvement of nitric oxide donor and aflibercept in the correction of diabetic retinopathy corrects hypoxic shifts and promotes the restoration of the physiological pathway of nitric oxide synthesis, the most pronounced effect is observed on the 180<sup>th</sup> day of the experiment. It was found that in rats with modeled diabetic retinopathy and subsequent correction of hyperglycemia, administration of aflibercept, L-carnitine, and bromfenac (group № 6), there was a pronounced tendency to normalize the studied marker of hypoxia compared to previous methods, but the level of erythrocytes' 2,3-diphosphoglycerate did not reaches normative values. The method of correction chosen in the 7<sup>th</sup> group (correction of hyperglycemia by the introduction of aflibercept, solution

of L-arginine and citicoline) more markedly normalizes the level of erythrocytes' 2,3-diphosphoglycerate compared to other experimental groups, its effectiveness is clearly manifested already on the 30th day, increasing to the 60<sup>th</sup> and 180<sup>th</sup> days.

It has been proven the key role of vascular growth factor in determining the severity of streptozotocin diabetic retinopathy at different stages. A particularly pronounced increase in the marker was detected on the 180<sup>th</sup> day of the pathological process development ( $p < 0.001$ ). Aflibercept has a positive effect on the normalization of this condition, but a more pronounced effect is observed in combination with L-arginine long-term administration. The relationship between the normalization of the vascular growth factor and the correction of hypoxia was also revealed.

It was shown the role of inflammation in the pathogenesis of diabetic retinopathy by the results of an increase in the level of interleukin 1 $\beta$  ( $p < 0.001$ ) compared to the data of the intact group.

It was established the transition of nitric oxide synthesis to an alternative pathway with increased activity of inducible NO-synthase ( $p < 0.001$ ) in rats with experimental diabetic retinopathy and simulated streptozotocin diabetes. The obtained results indicate a violation of the endothelium functional state and the physiological synthesis of nitric oxide already on the 30<sup>th</sup> day of the experimental diabetic retinopathy development with further progression of pathological changes on the 60<sup>th</sup> and 180<sup>th</sup> days of the study, as evidenced by decrease in the activity of endothelial nitric oxide synthase along with by increasing the activity of inducible in the 2<sup>nd</sup> group ( $p < 0.001$ ), maximally expressed at the 3<sup>rd</sup> stage. It was found that in rats with modeled diabetic retinopathy and subsequent correction of hyperglycemia, administration of aflibercept, L-carnitine, and bromfenac (group № 6), there was a pronounced effectiveness of the proposed method of correction compared to previous methods: eNOS activity increased at all stages of the experiment but did not reach normative values. It was also noted a positive

effect on the activity of inducible NO-synthase and interleukin 1 $\beta$  between which, as is known, there is a close relationship. The obtained data prove that the method of correction chosen in the 7<sup>th</sup> group (correction of hyperglycemia by administration of aflibercept, L-arginine and citicoline solution) is the most effective of all those analyzed in the study, its effectiveness was clearly manifested already on the 30<sup>th</sup> day, increasing to the 60<sup>th</sup> and 180<sup>th</sup> days analyzing all the investigated markers.

The results of the histological study indicate that the development of the modelled diabetes is accompanied by a disturbance in the retina in the form of edematous shifts of fibers and swelling of the cells forming it, uneven distribution of cells of the ganglion layer and vacuolization of some cells' cytoplasm. The use of corrective drugs complex for metabolic disorders and angiopathy, which are characteristic of diabetes, affects the condition of the retina. Edema changes in its structural elements are significantly reduced. Visually, the number of vessels on the border with the retina increases. The staining of the cells of the ganglion layer becomes juicier.

Based on the conducted studies, it has been proven that of all the developed pathogenetically justified schemes for the correction of experimental streptozotocin diabetic retinopathy, the most effective was a complex with a hypoglycemic effect (metformin), a donor of nitric oxide and an antioxidant (L-arginine), a membrane stabilizer (citicoline), and an inhibitor of neoangiogenesis (aflibercept).

*Scientific novelty of the obtained results.* For the first time, a comprehensive assessment of the development of endothelial dysfunction in experimental diabetic retinopathy was provided and the method of its correction was substantiated.

For the first time, the expediency of the selected biochemical indicators as markers of the severity of the studied pathology was confirmed experimentally.

For the first time, it was established a weakening of the vasodilation process against the background of the development of experimental diabetic, as evidenced by a decrease in the content of S-nitrosothiols.

For the first time, it was shown that in the pathogenesis of streptozotocin diabetic retinopathy, the vasoconstrictor potential of blood vessels significantly increases, as evidenced by a significant increase in endothelin-1 in animals.

It has been proven that the development of experimental diabetic retinopathy negatively affects the functional state of blood vessels at each of the stages of the study. For the first time, significant changes in the level of Willebrand factor and asymmetric dimethylarginine as markers of endothelial dysfunction in the dynamics of the development of the pathological process were revealed.

For the first time, was conducted a study of the pathways of nitric oxide synthesis in experimental diabetic retinopathy and the role of inducible NO synthase in this process.

For the first time, the development of hypoxia was analyzed based on the dynamics of the level of erythrocytes' 2,3-diphosphoglycerate in the blood of rats with simulation of diabetic retinopathy.

For the first time, it was determined the imbalance between the pro- and antioxidant system under the conditions of the experimental streptozotocin diabetic retinopathy development.

For the first time, the dynamics and role of the vascular growth factor were investigated to determine the degree of severity of the simulated pathological process.

The role of pro- and anti-inflammatory interleukins in the development of endothelial dysfunction in streptozotocin diabetic retinopathy has been proven.

For the first time, a pathogenetically justified method of correction was proposed, where the optimal combination of metformin, aflibercept, L-arginine solution and citicoline was selected experimentally.

For the first time, a mathematical prognostic model of the development of streptozotocin diabetic retinopathy was developed, which is based on the analysis of biochemical indicators of blood in the early stages of the experiment.

For the first time, it was established the effectiveness of a complex analysis of the level of erythrocyte 2,3-diphosphoglycerate with markers of the functional state of endothelial cells (Willebrand factor and endothelin-1) on the 30<sup>th</sup> day for predicting the course of the pathological process under study.

*Practical significance of the obtained results.* The obtained results expand the understanding of the pathogenesis of experimental diabetic retinopathy, which is useful both for scientists in the field of pathological physiology and for practicing doctors. The results of the study make it possible to pathogenetically substantiate the correction of streptozotocin diabetic retinopathy and the prevention of possible complications of this pathology and create prerequisites for the development of recommendations to prevent these complications. The positive corrective effect of the components of the correction involved in the experiment is an essential basis for further studies of both the functional state of blood vessels and the prevention of diabetic retinopathy, as a component of the complications of diabetes.

**Keywords:** experimental diabetic retinopathy, endothelial dysfunction (ED), Von Willebrand factor (VWF), endothelin-1, S-nitrosothiols, endothelial NO-synthase, inducible NO-synthase, erythrocytic 2,3-diphosphoglycerate (2.3 - DPG), asymmetric dimethylarginine (ADMA), malonic dialdehyde (MDA), conjugated dienes, interleukin, vascular endothelial growth factor (VEGF), glucose, peroxidase, correction, metformin, aflibercept, L-arginine, citicoline, L-carnitine, bromfenac.

## СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

*Наукові праці, в яких опубліковано основні наукові результати дисертації:*

1. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Analysis of peroxidase activity in diabetic retinopathy and in applying various corrective means. *Journal of Education, Health and Sport*. 2019. Vol. 9, № 11. P. 442–454.
2. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Study of endothelial dysfunction and asymmetric dimethylarginine levels. *Journal of Education, Health and Sport*. 2019. Vol. 9, № 10. P. 395–412.
3. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Study of vasodilation processes. *Journal of Education, Health and Sport*. 2019. Vol. 9, № 12. P. 325–337.
4. Сірман Я. В., Савицький І. В. Патогенез ендотеліальної дисфункції при діабетичній ретинопатії експериментального стрептозотоцинового цукрового діабету. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2019. Т. 19, вип. 3 (67). С. 161–165.
5. Сірман Я. В., Савицький І. В., Прейс Н. І. Динаміка рівню малонового діальдегіду при експериментальній діабетичній ретинопатії та способах її корекції. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2020. Т. 20 № 4. С. 95–100.
6. Сірман Я. В., Савицький І. В. Динаміка активності ендотеліальної синтази оксиду азоту при експериментальній діабетичній ретинопатії. *Офтальмологічний журнал*. 2020. № 6. С. 44–54. (SCOPUS)
7. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Analysis of the relationship between the activity of inducible nitric oxide synthase and interleukin-1 in the pathogenesis of



experimental diabetic retinopathy. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020. Vol. 10, № 1. P. 320–329.

8. Von Willebrand factor level dynamic during the endothelial dysfunction development in experimental diabetic retinopathy / Ya. V. Sirman, I. V. Savytskyi, A. I. Gozhenko, N. S. Badiuk, N. I. Preys, O. F. Dzygal. *PharmacologyOnLine*. 2020. Vol. 3. P. 247–260. (SCOPUS)

9. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Analysis interconnection level index marker by endothelial NOS, hypoxia and dysfunction in the pathogenesis of experimental diabetic retinopathy. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020. Vol. 10, № 3. P. 302–311.

10. Sirman Ya.V., Preys N. I., Savytskyi I. V. Study of reduction of antioxidant protection in the pathogenesis of experimental diabetic retinopathy. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020. Vol. 10, № 11. P. 306–311.

11. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V., Preys N. I. Changes in the asymmetric dimethylarginine and endothelial nitric oxide synthase levels in pathogenesis of investigational diabetic retinopathy. *Вісник морфології*. 2020. Т. 26, № 3. P. 69–74.

12. Features of the system of antioxidant protection and lipid peroxidation in microangiopathies against type 2 diabetes mellitus / I. V. Savitsky, I. I. Gritsan, V. M. Sarakhan, Ya. V. Sirman, N. I. Preys. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020. Vol. 10, № 10. P. 410-417.

13. Results of histological examination of experimental diabetic retinopathy and its correction with metformin, aflibercept, L-arginine solution and cyticolin / Y. V. Sirman, I. V. Savytskyi, N. I. Preys, O. M. Blavatska. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020. Vol. 10, № 12. P. 426–435.

14. Показники коагуляційного гемостазу та системи фібринолізу при цукровому діабеті 2 типу із різною вираженістю ангіопатій / І. І. Грицан,

Н. І. Прейс, Я. В. Сірман, І. В. Савицький, В. М. Сарахан. *Вісник морської медицини*. 2020. № 4 (89). С. 23–29.

15. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V., Preys N. I. Prediction model for severity of diabetic retinopathy derived from review of endothelial dysfunction and hypoxia markers. *Міжнародний ендокринологічний журнал*. 2021. № 1 (17). С. 76–80.

16. Sirman Y. V., Savytskyi I. V. The role of lipid peroxidation in the pathogenesis of experimental diabetic retinopathy. *Journal of Education, Health and Sport*. 2021. Vol. 11, № 2. P. 347–356.

17. Dynamics of vasoconstrictor-vasodilation potential on the background of the development of experimental diabetic retinopathy / Ya. V. Sirman, N. I. Preys, I. V. Savitsky, N. S. Badiuk, O. M. Blavatska, I. I. Hrytsan, S. V. Tsyroviaz. *PharmacologyOnLine*. 2021. Vol. 1. P. 90–95. (SCOPUS)

18. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Research of changes in the level of vascular endothelial growth factor in experimental diabetic retinopathy. comparison of methods of correction. *Journal of Education, Health and Sport*. 2021. Vol. 11, № 4. P. 247–257.

19. Сірман Я. В., Савицький І. В. Зміни активності індукційної синтази оксиду азоту при експериментальній діабетичній ретинопатії та способах її корекції. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2021. Т. 21, вип. 3 (75). С. 208–214.

20. Sirman Y. V., Preis N. I., Savytskyi I. V. Results of construction of correlation fields with trend lines and determination of direction of relationships between studied indicators. *Journal of Education, Health and Sport*. 2021. Vol. 11, № 6. P. 348–361.

21. Сірман Я. В., Прейс Н. І., Савицький І. В. Роль 2,3 діфосфогліцерату еритроциту у патогенезі експериментальної діабетичної ретинопатії. Аналіз

способів корекції. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2021. № 1 (63). С. 92–106.

22. Sirman Y. V., Savytskyi I. V., Blavatska O. M. Dynamic of blood glucose levels in the model of experimental diabetic retinopathy and different ways to correct it. *Journal of Education, Health and Sport*. 2021. Vol. 11, № 07. P. 366–373.

23. Sirman Y. V., Preis N. I., Savytskyi I. V. Research of changes in the level of endothelin-1 in experimental diabetic retinopathy. Comparison of methods of correction. *Journal of Education, Health and Sport*. 2021. Vol. 11, № 10. P. 411–422.

24. Dynamic of changes in the level of Interleukin 1B against the background of the development of experimental diabetic retinopathy and under the influence of various methods of correction / Y. V. Sirman, I. V. Savytskyi, N. I. Preys, O. M. Blavatska. *Journal of Education, Health and Sport*. 2022. Vol. 12, № 1. P. 493–502.

25. Bioflavonoids complex using in the prevention and treatment of diabetes complications / I. I. Hrytsan, I. V. Savytskyi, V. M. Sarakhan, Ya. V. Sirman, N. I. Preys, N. S. Badiuk. *PharmacologyOnLine*. 2020. Vol. 3. P. 279–283. (SCOPUS)

*Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:*

26. Savytskyi I. V., Sirman Ya. V. Role of endothelial dysfunction in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Актуальні проблеми експериментальної та клінічної біохімії* : матеріали міжнародної наук.-практ. конф., 11–12 квітня 2019 р. Харків : ХНМУ, 2019. С. 15.

27. Савицький І. В., Сірман Я. В. Роль дисфункції ендотелію у патогенезі діабетичних ретинопатій. *Шевальовські читання 19* : зб. праць наук.-практ. конф., 20–21 червня 2019 р. Запоріжжя, 2019. С. 51–52.

28. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Pathogenesis of the changes in structure and functions of vessels due to diabetic retinopathy. *XVIII-і читання В. В. Підвисоцького* : Бюлетень матеріалів наук.-практ. конф., 21–22 травня 2019 р. Одеса : УкрНДІ медицини транспорту, 2019. С. 13–14.

29. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Modern views on pathogenesis of diabetic retinopathy. *Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми* : зб. матеріалів наук.-практ. конф. з міжнар. участю Галицькі читання, 19 вересня 2019 р. Івано-Франківськ, 2019. С. 80–81.

30. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Markers of function status of vessels endothelium in experimental diabetic retinopathy. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція* : тези доп. II наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, 21 листопада 2019 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2019. С. 44–45.

31. Sirman J. V., Savytskyi I. V. Investigation of pro-antioxidant and antioxidant systems changes in experimental diabetic retinopathy. *Філатовські читання – 2019* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 23–24 травня 2019 р. Одеса : Чорномор'я, 2019. С. 148.

32. Savytskyi I. V., Sirman Ya. V. Role of endothelial dysfunction in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Філатовські читання – 2019* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 23–24 травня 2019 р. Одеса : Чорномор'я, 2019. С. 149–150.

33. Сірман Я. В., Савицький І. В. Функціональні зміни ендотелію при діабетичній ретинопатії експериментального цукрового діабету. *Фізіологічні та клінічні аспекти ендокринної патології* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 17-18 жовтня 2019 р. Яремче, 2019. С. 58–59.

34. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Function status markers of vessels endothelium in experimental diabetic retinopathy. *Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України* : тези доп. VIII Національного конгресу

патофізіологів України з міжнародною участю, 13–15 травня 2020 р. Одеса : УкрНДІ медицини транспорту, 2020. Т. 1. С. 25.

35. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Some aspects of pathogenesis diabetic retinopathy. *Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України* : тези доп. VIII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю, 13–15 травня 2020 р. Одеса : УкрНДІ медицини транспорту, 2020. Т. 1. С. 300–301.

36. Розвиток ендотеліальної дисфункції при ускладненнях експериментального цукрового діабету / Я. В. Сірман, І. В. Савицький, І. І. Грицан, В. М. Сарахан. *Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм* : матеріали наук.-практ. конф., 29–30 жовтня 2020 р. Тернопіль, 2020. С. 94.

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	26
ВСТУП	27
РОЗДІЛ 1 ЕТІОЛОГІЯ ТА ПАТОГЕНЕЗ ДІАБЕТИЧНОЇ РЕТИНОПАТІЇ. РОЛЬ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ У ЇЇ РОЗВИТКУ (огляд літератури)	35
1.1 Етіологія та патогенез діабетичної ретинопатії	35
1.2 Патогенетичні ланки дисфункції ендотелію	56
1.3 Характеристика синтаз оксиду нітрогену в нормі і при патології	59
1.4 Роль оксиду нітрогену у функціонуванні ендотелію та при патологічних станах. NO при цукровому діабеті	61
1.5 Роль оксиду нітрогену в метаболізмі ока в нормі і при патології	70
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	74
2.1 Характеристика груп дослідження	74
2.2 Моделювання патологічного процесу, досліджувані показники та способи корекції	75
2.3 Статистична обробка отриманих результатів	81
РОЗДІЛ 3 ДИНАМІКА РОЗВИТКУ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ У ЩУРІВ, В ЯКИХ МОДЕЛЮВАЛИ ДІАБЕТИЧНУ РЕТИНОПАТІЮ ТА НА ТЛІ ЇЇ КОРЕКЦІЇ	91
3.1 Результати дослідження динаміки рівня фактора Віллебранда у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу	91
3.2 Результати дослідження динаміки вазоконстрикторно- вазодилататорного потенціалу судин	100
3.2.1 Результати дослідження вмісту S-нітрозотіолів у крові тварин із	100

діабетичною ретинопатією та її корекцією при експериментальному стрептозотоциновому цукровому діабеті	
3.2.2 Результати дослідження рівня ендотеліну-1 у крові експериментальних тварин, яким моделювали стрептозотоцинову діабетичну ретинопатію та на тлі її корекції	106
3.3 Дослідження динаміки вмісту асиметричного диметиларгініну у крові експериментальних тварин, яким моделювали діабетичну ретинопатію та на тлі її корекції	113
РОЗДІЛ 4 ПРОГНОСТИЧНА МОДЕЛЬ ТЯЖКОСТІ ДІАБЕТИЧНОЇ РЕТИНОПАТІЇ НА ОСНОВІ АНАЛІЗУ МАРКЕРІВ ДИСФУНКЦІЇ ЕНДОТЕЛІЮ ТА ГІПОКСІЇ, ДИНАМІКА 2,3 ДІФОСФОГЛІЦЕРАТУ ЕРИТРОЦИТІВ, ГЛЮКОЗИ ТА ФАКТОРА РОСТУ СУДИН У ЕКСПЕРИМЕНТІ ТА РЕЗУЛЬТАТИ ПРОВЕДЕННЯ КОРЕЛЯЦІЙНОГО АНАЛІЗУ	123
4.1 Результати розробки прогностичної математичної моделі тяжкості діабетичної ретинопатії	123
4.2 Результати дослідження динаміки рівня 2,3 -дифосфогліцерату еритроцитів у крові тварин, яким моделювали діабетичну ретинопатію та на тлі її корекції	126
4.3 Результати побудови кореляційних полів з лініями тренду та визначенням направленості взаємозв'язків між досліджуваними показниками	132
4.4 Результати дослідження динаміки рівня глюкози у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу	137
4.5 Результати дослідження динаміки рівня фактора росту судин у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною	140

ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу

## РОЗДІЛ 5 ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ СИНТАЗ ОКСИДУ 148 НІТРОГЕНУ ТА ІНТЕРЛЕЙКІНУ 1 В ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВІЙ ДІАБЕТИЧНІЙ РЕТИНОПАТІЇ ТА НА ТЛІ ЇЇ КОРЕКЦІЇ

5.1 Результати дослідження динаміки активності ендотеліальної 148  
синтази оксиду нітрогену у тварин, яким моделювали діабетичну  
ретинопатію та на тлі її корекції

5.2 Результати дослідження змін активності індукцибельної синтази 156  
оксиду нітрогену у експериментальних тварин, яким моделювали  
діабетичну ретинопатію та на тлі її корекції

5.3 Результати дослідження змін рівня інтерлейкіну 1 $\beta$  у 164  
експериментальних тварин, яким моделювали діабетичну  
ретинопатію та на тлі її корекції

## РОЗДІЛ 6 ВИЗНАЧЕННЯ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ 173 ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ДІАБЕТИЧНІЙ РЕТИНОПАТІЇ ТА ПІД ВПЛИВОМ СПОСОБІВ ЇЇ КОРЕКЦІЇ. ГІСТОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ.

6.1. Результати дослідження динаміки рівня дієнових кон'югатів у 173  
крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною  
ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у  
добу

6.2. Результати дослідження динаміки рівня малонового діальдегіду у 179  
крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною  
ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у  
добу

6.3 Результати дослідження динаміки рівня пероксидази у крові 185



експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу

6.4. Результати гістологічного дослідження при експериментальній діабетичній ретинопатії та її корекції за допомогою метформіну, введенням афліберцепта, розчину L-аргініну та цитиколіну 190

РОЗДІЛ 7 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ 199

ВИСНОВКИ 277

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 280

ДОДАТКИ 359

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

ДР – діабетична ретинопатія

ЦД – цукровий діабет

ФВ – фактор Віллебранда

E1 – ендотелін-1

S-NO – S-нітрозотіоли

NO – оксид нітрогену

eNOS – ендотеліальна синтаза оксиду нітрогену

iNOS – індуцибельна синтаза оксиду нітрогену

2,3 ДФГ – 2,3 діфосфогліцерат еритроцитів

АДМА – асиметричний диметиларгінін

МДА – малоновий діальдегід

ДК – дієнові кон'югати

IL – інтерлейкін

VEGF – фактор росту судин

ЛПВЩ - ліпопротеїди високої щільності

ЛПНЩ - ліпопротеїди низької щільності

## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Діабетична ретинопатія (ДР) за даними ВООЗ – основна причина зниження зору та сліпоти при цукровому діабеті. Дана патологія є основною причиною інвалідизації по зору у населення економічно розвинених країн [1-4] і діагностується у 40-85 % пацієнтів, які страждають на цукровий діабет.

Варто зауважити, що навіть при компенсації вуглеводного обміну продовжується розвиток ДР. Важливим фактором розвитку ретинопатії при цукровому діабеті є не лише гіперглікемія, а й артеріальна гіпертензія [5-9]. На сьогоднішній день доведена ключова роль дисфункції ендотелію у виникненні та прогресуванні ДР [10, 11]. Визначено, що початковими морфологічними ознаками досліджуваного патологічного процесу є проліферація ендотеліоцитів, потоншення базальної мембрани та втрата перицитів, що в свою чергу призводить до виникнення аневризм та порушення діаметру капілярів судин та гемодинаміки [4, 12, 13 ].

Доведено, що саме ендотеліоцити першими «приймають удар» гіперглікемії, глюкозо токсичності та дисліпідемії і під його впливом починають синтезувати атерогенні фактори [10, 14]. Прослідковується збільшення проникності стінки судин та порушення їх еластичності, що призводить до виникнення геморагій та ексудатів. Порушується транскапілярний транспорт, що в свою чергу призводить до ішемії сітківки [14].

Визначають наступні ланки патогенезу діабетичної ретинопатії: прогресуюча гіпоксія, яка стимулює проліферацію судин і призводить до жирової дистрофії і відкладення солей кальцію в сітківці; мікроангіопатія судин сітківки, що призводить до звуження просвіту судин з розвитком гіпоперфузії; феномен обкрадання з подальшим прогресуванням ішемізації, що є причиною утворення інфільтратів і рубців; дегенерація судин з

утворенням мікроаневризм; мікроінфаркти з ексудацією, розростання в сітківці проліферуючих судин з утворенням шунтів і аневризм; функціонування артеріовенозних шунтів, що приводить до дилатації вен і збільшення гіперперфузії сітківки; відшарування сітківки в результаті її ішемічної дезінтеграції [15-21]. За сучасними уявленнями, пізні судинні ускладнення не є фатальними в разі своєчасного початку та адекватного проведення профілактичних і лікувальних заходів [22, 23]. Для цього необхідно адекватно спрогнозувати перебіг захворювання, щоб мати змогу уже на ранніх етапах підібрати ефективну корекцію патогенетичних ланок. Важливе значення має раннє виявлення і прогнозування перебігу мікроангіопатій та своєчасний вплив на модифікуючі фактори ризику [20].

Патогенез ускладнень ЦД носить багатофакторний характер. Значущими є такі фактори, як підвищення проникності судин, порушення енергетичного балансу, зміна метаболізму клітинних мембран, а також індукція поліпептидних ростових факторів. У кожному конкретному випадку набір і вираженість окремих пізніх ускладнень варіюють від їх парадоксальної майже повної відсутності, незважаючи на значну тривалість захворювання, аж до поєднання всіх можливих варіантів у важкій формі [24, 25].

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Представлена робота є фрагментом комплексних клініко-лабораторних досліджень, здійснених ДП «Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України» в межах виконання НДР «Удосконалення профілактики та лікування основних екозалежних та професійно обумовлених захворювань на основі вивчення особливостей їх етіології та патогенезу» (№ державної реєстрації 0116U008822). Фрагменти цієї роботи присвячені визначенню патофізіологічних механізмів розвитку діабетичної ретинопатії та розробці патогенетично обґрунтованих методів її корекції. Дисертант була співвиконавцем зазначеної теми.

**Мета дослідження** – з'ясувати патогенетичні ланки ускладень експериментального стрептозотоцинового цукрового діабету, зокрема діабетичної ретинопатії і дисфункції ендотелію судин та їх корекції.

**Завдання дослідження.**

1. Дослідити дисфункцію ендотелію при діабетичній ретинопатії на тлі експериментального стрептозотоцинового цукрового діабету.
2. Дослідити динаміку рівнів ендотеліну-1, фактору Віллебранда та асиметричного диметиларгініну, як маркерів ендотеліальної дисфункції в патогенезі стрептозотоцинової діабетичної ретинопатії.
3. Дослідити динаміку дисбалансу вазоконстрикторно-вазодилататорного потенціалу під час розвитку змодельованого патологічного процесу.
4. Визначити інформативність дослідження зміни активності ендотеліальної та індукцибельної NO синтази та рівня S-нітрозотіолів для визначення шляху синтезу оксиду нітрогену у патогенезі стрептозотоцинової діабетичної ретинопатії.
5. Встановити рівень 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів як маркера гіпоксії при експериментальній діабетичній ретинопатії.
6. З'ясувати порушення про- і антиоксидантної системи у патогенезі змодельованої діабетичної ретинопатії.
7. Вивчити динаміку фактора росту судин у патогенезі стрептозотоцинової діабетичної ретинопатії.
8. Визначити прогностичні маркери тяжкості перебігу стрептозотоцинової діабетичної ретинопатії.
9. Проаналізувати роль інтерлейкіну 1 $\beta$  в патогенезі експериментальної діабетичної ретинопатії.
10. Дослідити корекцію патогенетичних ланок змодельованої діабетичної ретинопатії за допомогою введення метформіну, афліберцепту, L-карнітину, бромфенаку, розчину L-аргініну та цитиколіну.

11. Створити математичну модель виявлення результативних прогностичних маркерів розвитку діабетичної ретинопатії.

*Об'єкт дослідження:* патогенетичні ланки ускладнень експериментального стрептозотоцинового цукрового діабету, зокрема діабетичної ретинопатії та ендотеліальної дисфункції.

*Предмет дослідження:* експериментальна діабетична ретинопатія, дисфункція ендотелію, зміни маркерів функціонального стану ендотелію: фактора Віллебранда, ендотеліну-1, S-нітрозотіолів, ендотеліальної NO-синтази, індукцибельної NO-синтази, асиметричного диметиларгініну; зміни маркерів гіпоксії та окислювального стресу: 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів, малонового діальдегіду, дієнових кон'югатів, пероксидази; зміни прозапального інтерлейкіну, фактора росту судин, глюкози, дослідження коригуючих засобів: метформіну, афліберцепта, L-аргініну, цитиколіну, L-карнітіну, бромфенаку.

*Методи дослідження:* експериментальні (для моделювання стрептозотоцинової діабетичної ретинопатії на експериментальних тваринах), патофізіологічні (для дослідження патогенезу змодельованого ускладнення цукрового діабету), біохімічні (для визначення змін показників дисфункції ендотелію, гіпоксії, окислювального стресу, запалення та гіперглікемії), гістологічні (для дослідження особливостей структурних змін ока при стрептозотоциновій діабетичній ретинопатії), математико-статистичні (для обробки одержаних даних).

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше була надана комплексна оцінка розвитку ендотеліальної дисфункції при експериментальній діабетичній ретинопатії та обґрунтований спосіб її корекції.

Вперше було дане експериментальне підтвердження доцільності обраних біохімічних показників як маркерів тяжкості досліджуваної патології

Вперше встановлене послаблення вазодилатаційного процесу на тлі розвитку експериментальної діабетичної ретинопатії, про що свідчить зменшення вмісту S-нітрозотіолів.

Вперше показано, що в патогенезі стрептозотоцинової діабетичної ретинопатії значно підвищується вазоконстрикторний потенціал судин, про що свідчить значне підвищення ендотеліну-1 у тварин.

Доведено, що розвиток експериментальної діабетичної ретинопатії негативно впливає на функціональний стан судин на кожному із етапів дослідження. Вперше виявлені значні зміни рівня фактора Віллебранда та АДМА як маркерів ендотеліальної дисфункції в динаміці розвитку патологічного процесу.

Вперше було проведено дослідження шляхів синтезу оксиду нітрогену при експериментальній ДР та роль індукцйбельної NO синтази у цьому процесі.

Вперше поетапно проаналізовано розвиток гіпоксії на основі динаміки рівня 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів у крові щурів при моделюванні діабетичної ретинопатії.

Вперше визначено дисбаланс між про- та антиоксидантною системою під час розвитку експериментальної стрептозотоцинової діабетичної ретинопатії.

Вперше досліджено динаміку та роль фактору росту судин для визначення ступеню тяжкості змодельованого патологічного процесу.

Вперше доведена роль прозапального інтерлейкіну у розвитку дисфункції ендотелію при стрептозотоциновій діабетичній ретинопатії.

Вперше запропоновано патогенетично обґрунтований спосіб корекції, де експериментальним шляхом було підібрано оптимальне поєднання введення метформіну, афліберцепта, розчину L-аргініну та цитиколіну.

Вперше розроблена математична прогностична модель розвитку стрептозотоцинової діабетичної ретинопатії, яка ґрунтується на аналізі

біохімічних показників крові на ранніх етапах експерименту. Отримане рівняння логістичної регресії має наступний вигляд

$$G(z) = \frac{e^{(-642,032+44,993 \cdot x_1+35,443 \cdot x_2+2,987 \cdot x_3)}}{1 + e^{(-642,032+44,993 \cdot x_1+35,443 \cdot x_2+2,987 \cdot x_3)}}$$

Для отримання відсоткового значення ймовірності важкості розвитку експериментальної діабетичної ретинопатії (у межах від 0-100 %), використовуючи отриману функцію логістичної регресії, потрібно помножити отримане значення функції  $G(z)G(z)$  на 100%.

Вперше встановлена результативність комплексного аналізу рівня 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів разом з маркерами функціонального стану ендотеліоцитів (фактором Віллебранда та ендотеліном-1) на 30-у добу для прогнозування подальшого перебігу досліджуваного патологічного процесу.

**Практичне значення одержаних результатів.** Отримані результати розширюють уявлення про патогенез експериментальної діабетичної ретинопатії, що є безумовно корисним, як для науковців в галузі патологічної фізіології, так і для практикуючих лікарів. Отримані результати дають можливість патогенетично обґрунтувати корекцію стрептозотоцинової діабетичної ретинопатії та профілактику можливих ускладнень даної патології. Результати досліджень розкривають патогенез експериментальної діабетичної ретинопатії і створюють передумови до розробки рекомендацій з метою запобігання зазначених ускладнень. Позитивний коригуючий ефект від задіяних в ході експерименту складових корекції є суттєвим підґрунтям для подальших досліджень, як функціонального стану судин, так і профілактики діабетичної ретинопатії як складової частини ускладнень цукрового діабету. Розроблена математична прогностична модель розвитку діабетичної ретинопатії, яка ґрунтується на аналізі біохімічних показників крові на ранніх етапах експерименту.

Отримані результати впроваджено у навчальний процес і науково-дослідну роботу на кафедрах патологічної фізіології Івано-Франківського



національного медичного університету, Харківського національного медичного університету, Національного фармацевтичного університету, Буковинського державного медичного університету, Одеського національного медичного університету, Львівського національного медичного університету, Львівського медичного університету, а також в науково-дослідну роботу ДП Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертантом самостійно проведено інформаційно-патентний пошук, вибір обсягів та методів дослідження, обґрунтування схем дослідження. Автор самостійно здійснила моделювання експериментальної діабетичної ретинопатії, сформувала групи дослідження, підбрала та обґрунтувала засоби корекції, провела експериментальні дослідження, проаналізувала та узагальнила отримані результати, сформулювала основні положення та висновки. Автором написано й оформлено всі розділи дисертації, наукові публікації і автореферат. У всіх наукових працях, що містять результати дисертаційних досліджень, використано матеріал, який автор одержала під час виконання роботи.

**Апробація результатів дисертації.** Матеріали дисертації оприлюднені на: науково-практичній конференції «Шевальовські читання 19» (Запоріжжя 2019); науково-практичній конференції XVIII–і читання В.В. Підвисоцького (Одеса, 2019); науково-практичній конференції з міжнародною участю Галицькі читання «Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми». (Івано-Франківськ 2019); VIII Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю (Одеса, 2020), XII науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, 2020); II науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (Харків, 2019); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Філатовські

читання – 2019» (Одеса, 2019); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Фізіологічні та клінічні аспекти ендокринної патології» (Яремче, 2019); науково-практичній конференції «Актуальні проблеми експериментальної та клінічної біохімії» (Харків, 2019).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 36 наукових робіт, з них 9 статей у фахових виданнях України (1 – у виданні, що індексується у Scopus), 16 – в іноземних періодичних виданнях (3 – у виданнях, що індексуються у Scopus), 11 публікацій у матеріалах наукових конференцій.

**Структура і обсяг дисертації.** Дисертація викладена на 373 сторінках комп'ютерного тексту і складається з анотації, вступу, огляду літератури, (опису) матеріалів і методів, 4-х розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних джерел, що містить 737 найменувань, та додатків. Дисертація ілюстрована 13 таблицями та 90 рисунками. Список використаних літературних джерел та додатки викладено на 93 сторінках.

# РОЗДІЛ 1

## ЕТИОЛОГІЯ ТА ПАТОГЕНЕЗ ДІАБЕТИЧНОЇ РЕТИНОПАТІЇ. РОЛЬ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ У ЇЇ РОЗВИТКУ (огляд літератури)

### 1.1 Етіологія та патогенез діабетичної ретинопатії

На сьогоднішній день за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я цукровий діабет (ЦД) є загальнопланетарною проблемою в усіх країнах та в усіх вікових груп населення. Особливо він розповсюджений серед людей середнього та похилого віку, частка патології серед яких складає в різних країнах від 1,2 до 13,3 % населення. А серед ендокринних захворювань ЦД сягає 70 % [26, 27]. За даними Міжнародної діабетичної федерації понад 425 мільйонів людей у світі у 2018 році страждали на цукровий діабет, серед яких понад 90 % мали ЦД 2-го типу. Слід підкреслити, що летальність у пацієнтів із цукровим діабетом в середньому на 15 % вища ніж у хворих без цього патологічного ускладнення [28]. Ще однією рисою цукрового діабету є те, що він не належить тільки до метаболічних захворювань, зокрема Американська кардіологічна асоціація через негативний вплив на судини із пошкодженням артерій та вен зараховує його до серцево-судинних захворювань. Ще одним фактором на користь даного трактування є те, що зміни серцево-судинної системи, обумовлені цукровим діабетом, спостерігаються у 90-100 % хворих [26, 29].

Немієлінізовані аксони сітківки потребують більше енергії для підтримки мембранних потенціалів, ніж мієлінізовані. До того ж щільність кровоносних судин у сітківці, які абсорбують світло, відносно низька, внаслідок чого напруження кисню на внутрішній сітківці відносно гіпоксичне [30]. На внутрішній сітківці превалює гліколіз, який не так ефективно, як окиснювальне фосфорилування, синтезує аденозинтрифосфат

(АТФ). Останній процес превалює у зовнішніх шарах цієї оболонки. Однак, незважаючи на слабку васкуляризацію та низький  $PO_2$  сітківка має високі метаболічні потреби у порівнянні з іншими тканинами. Поєднання високого метаболізму з низьким рівнем васкуляризації різко обмежує здатність внутрішньої сітківки адаптуватись до метаболічного стресу при діабеті. У той же час зовнішня сітківка, яка отримує кисень та поживні речовини, дифузією через пігментний епітелій більш резистентна до ушкоджуючих факторів діабету [30]. Метаболічні функції сітківки розподілені між глією та нейронами. У глії внутрішньої сітківки засвоєння глюкози відбувається переважно шляхом гліколізу, а у клітинах зовнішньої сітківки окислення глюкози до вуглекислого газу іде шляхом окисненого фосфорилування. Субстрати для метаболічних реакцій у внутрішній сітківці потрапляють через ендотелій капілярів до астроцитів та у нейрони. В зовнішній сітківці субстрати через пігментний епітелій досягають фоторецепторів і клітин Мюллера. Саме тому клітини глії життєво необхідні для функціонування нейронів, оскільки сприяють перетворенню циркулюючої у сітківці глюкози в енергію АТФ та забезпечують її такими важливими компонентами, як лактат. Існує декілька теорій патогенезу діабетичної ретинопатії (ДР). Вони змінювались на протязі останніх десятиліть. І на сьогоднішній день їх можна перерахувати в наступній послідовності [30].

1. Приблизно до середини минулого століття діабетичну ретинопатію розглядали, як запальний процес і називали діабетичним ретинітом.

2. У другій половині століття затвердили термін «діабетична ретинопатія», при чому підкреслювалось, що дане ускладнення цукрового діабету розвивається в результаті структурних та функціональних патологічних порушень мікроциркуляторного русла оболонки сітківки, що і призводить у подальшому до дефектів нейронів та нейроглії сітківки.

3. У першому десятилітті поточного століття з'явилося підтвердження того, що нервові елементи оболонки сітківки ушкоджуються одночасно із

розвитком судинної патології, хоча їх функціональні і морфологічні зміни у подальшому поглиблюються саме мікроциркуляторними порушеннями [30].

Отже, погляд на ДР, як на хронічний запальний процес оболонки сітківки ока існує давно та знаходить підтвердження на сьогоднішній день [31-37]

Існує точка зору, згідно з якою адгезія запальних клітин до стінок мікросудин посилює їх патологічну неоваскуляризацію і проникність [38], а Інтерлейкін 1  $\beta$ , активність якого посилюється при гіперглікемії у клітинах капілярів сітківки, пришвидшує їх апоптоз [39]. Експресія запальних факторів відіграє важиву роль у активації процесів порушення гематоретинального бар'єру при непроліферативній діабетичній ретинопатії, призводячи до ендотеліальної дисфункції і зростання судинної проникності [30]. Доведена активація транскрипційних факторів, які регулюють утворення у сітківці індукцибельної синтази оксиду нітрогену, прозапальні цитокіни та внутрішньоклітинні молекули адгезії [32, 40]. Ряд авторів, перераховуючи ознаки запалення, на початкових етапах діабетичної ретинопатії називають також активацію прозапальних цитокінів і зростання їх кількості у сітківці та скловидному тілі, зміну проникності судин, лейкостаз, експресію прозапальних молекул яку регулює індукцибельна синтаза оксиду нітрогену, внутрішньоклітинну молекулу адгезії 1 та циклооксигеназу 2. І саме запалення, під час якого генеруються активні форми кисню, пошкоджує капіляри сітківки, викликаючи тим самим оклюзію судин через лейкостаз, підвищену проникність стінок ретинальних судин та руйнування їх ендотеліальних клітин [30]. До того ж активні форми кисню активують експресію рецепторів кінцевих продуктів глікозилювання [41], що посилює негативний процес розвитку діабетичної ретинопатії. Хронічне запалення та імунна відповідь сприяють розвитку ДР [30, 42].

Уявлення науковців патофізіологів та офтальмологів у середині минулого століття про патогенез діабетичної ретинопатії, як запальний процес

співвідноситься із дослідженнями змін мікроциркуляторного русла. Нова концепція патогенезу діабетичної ретинопатії була запропонована у 2001 році [43]. Ініційована гіперглікемією ендотеліальна дисфункція мікросудин змінює їх структурно-функціональні властивості, що призводить до розвитку гіпоксії та ішемії сітківки та завершується діабетичною ретинопатією. Спочатку ДР розглядалась тільки як судинне ускладнення цукрового діабету. Проте зараз наше уявлення зводиться до того, що в основі судинних та нейродегенеративних процесів у оболонці сітківки при цукровому діабеті можуть бути різні етіологічні фактори [30, 43]. Серед багатьох факторів, які впливають на розвиток ДР є продукти глікозилювання, тканинна гіпоксія, окислювальний та карбонільний стреси, альдозоредуктаза, дисметаболізм ліпопротеїдів, посилення активності прозапальних цитокінів та збільшення активності протеїнази С. Саме цей комплекс метаболічних порушень призводить до втрати перицитів, опорожнення капілярів, утворення мікроаневризм та неоваскуляризації сітківки, а іноді і до її нейродегенерації. Найбільш чутливим до ішемічно-гіпоксичних порушень є зовнішній рівень сітківки (табл. 1.1) [30].

Гемодинамічні порушення у судинах сітківки у патогенезі ДР з'являються у вигляді розширення судин та підвищення кровотоку у сітківці в середньому на 15 %, порушенням вазодилатації та припиненням надходження крові до капілярів. Інtrarетинальні капіляри являють собою частину внутрішнього бар'єру, складовою якого є ендотеліальні клітини. Вони мають мезенхімне походження та крім бар'єрної функції виконують ще й паракринну, декретуючи біологічно активні речовини, які регулюють скорочення та розслаблення м'язів стінок судин, приймають участь у фібринолізі та згортанні крові, регулюють ангиогенез, запалення та ріст клітин [44]. Деякі з цих біологічно активних речовин надходять через ендотеліальні клітини шляхом активного переміщення, або пасивно. Клітини

пігментного епітелію виконують роль зовнішнього гематоретинального бар'єру.

Таблиця 1.1 - Патогенетичні ланки діабетичної ретинопатії [30]

<i>Діабетична ретинопатія</i>	
Втрата перицитів	Мікроаневризми
Спустошення капілярів та втрата клітин	Ішемія та набряк
Потовщення базальної мембрани	Неоваскуляризація
	Геморагії
	Артеріополярні, гліальні та нейрональні пошкодження
<i>Функціональні порушення</i>	<i>Метаболічні порушення</i>
Дефекти стінок судин (ауторегуляція функцій та проникність кітин)	Поліоловий шлях
Просвіт судин (зміна гемодинаміки, агрегації лейкоцитів та/або тромбоцитів).	Накопичення
Позасудинні дефекти (глії, пігментного епітелію сітківки)	діацилгліцерину/надлишкова активність протеїнази С
	Неензиматичне глікозилювання
	Окислювальний стрес
	Зміна експресії генів
Підвищення рівня альдогексоз у крові (гіперглікемія)	
Цукровий діабет (інсулінова недостатність: ідіопатична, спадкова, ятрогенна, внаслідок панкреатомії, внадлишок гормону росту, введення аллоксану, та ін.).	Експериментальна галактоземія (дієта, збагачена галактозою)

Найчастіше порушення цього бар'єру у хворих на цукровий діабет спостерігається у місцях локалізації аневризми, що підтверджується під час флуоресцентної ангіографії. Порушення гематоретинального бар'єру

призводить до утворення «м'яких» (продукт дегенерації нервових волокон) та «твердих» (накопичення ліпідів, ліпопротеїдів, продуктів їх розпаду зазвичай в зовнішньому сітчатому шарі) ексудатів, крововиливів та діабетичного макулярного набряку. Формування останнього обумовлене інтенсивним кровотоком саме в макулярній частині сітківки, де і відбувається «випотівання» рідинної частини крові через капіляри [30]. Макулярний набряк може бути дифузним або локальним, що в великій мірі залежить від типу цукрового діабету. У хворих із цукровим діабетом 2-го типу частота розвитку набряку значно вища (30, %), ніж у хворих на цукровий діабет 1 типу (7,4 %) [45]. До морфологічних ознак патології сітківки при ДР відносяться втрата клітин ендотелію та перицитів, що призводить до формування безклітинних капілярів, мікроаневризм, геморагій, потовщення базальних мембран мікросудин та неоваскуляризації [30, 46]. Існує точка зору, згідно якої змінами в сітківці хворих на діабет є різні варіанти мікроангіопатій [30, 47]. Враховуючи те, що ендотеліальні клітини є інсулінонезалежними, під час гіперглікемії глюкоза безперешкодно потрапляє до ендотелію судин, розширюючи капіляри, викликаючи його дисфункцію та порушуючи зв'язки між перицитами [48]. Через ушкодження ендотеліальних клітин капілярів трансендотеліально проходять багато речовин, змінюючи чутливість рецепторів ендотеліоцитів та спроможність цих клітин до розмноження, міграції, тривалого функціонування [49]. Після п'яти років захворювання діабетом спостерігаються мікроаневризми, наявність без клітинних капілярів та «тіні» перицитів. Базальні мембрани артеріальних капілярів сітківки товстіші, ніж венозні [30]. Функціональний зв'язок між ендотеліоцитами та перициами реалізується через вікна у базальній мембрані, розширення яких разом із руйнуванням базальної мембрани є початком патологічного процесу, в результаті якого формується неоваскуляризація. Безклітинні капіляри сітківки представлені одними базальними мембранами. Оклюзія капілярів починається з артеріальної



сторони та розповсюджується на всю довжину, тому їхні функції відновленню не підлягають [30, 50].

У фізіологічних умовах кількість ендотеліоцитів та перицитів капілярів сітківки приблизно однакова, проте у хворих на цукровий діабет перицити зменшуються в десятки разів. Цей дисбаланс відбувається не тільки через їх апоптоз, але й завдяки міграції цих клітин та їх транс диференціюванню у макрофаги та фібробластоподібні клітини [51]. Апоптоз перицитів ініціюється однією з цистеїнових протеаз – каспазою-8 [30]. Завдяки наявності актинових волокон перицити змінюють діаметр капіляру, регулюючи його кровотік. Проте під впливом глюкози перицити втрачають свої контактильні якості [30, 52].

Ендотелін, зв'язуючись із відповідними рецепторами на поверхні перицитів, ініціює звуження судин. Тому руйнація перицитів призводить до порушення судинного тону, ексудації та мікроаневризми [30, 53]. Часом у хворих на цукровий діабет деякі мікроаневризми можуть зникати, проте формуються нові [54]. Виділяють декілька їх різновидів: сферичні, поліморфні та мішкоподібні. Їх утворенню сприяє послаблення стінок судин, втрата перицитів, порушення кількості ендотеліоцитів. Мікроаневризми – одне з початкових місць «пропотівання» формених елементів крові у сітківку. [30]. Слід зазначити, що судинна дисфункція може переходити у нейрональну, бо між ними існує зворотня залежність [55]. В основі раннього ушкодження нейронів сітківки при діабетичній ретинопатії лежить порушення зворотнього перетворення клітинами Мюллера глутамату у глутамін.

Загальноприйнятим є те, що хронічна гіперглікемія лежить в основі розвитку ускладнень цукрового діабету, як першого, так і другого типів. Високий рівень глюкози ініціює цілий каскад метаболічних зрушень як в середині клітини, так і в екстрацелюлярному просторі [30]. Початковими механізмами, які приводять до уражень судинних, нервових та інших клітин

організму, вважається високий рівень не тільки глюкози, а й цього ряду метаболітів водного та ліпідного обмінів. До таких метаболітів належить ацетон-ацетат, діацилгліцерин, дезоксіглюкоза, метилгліюксаль, сорбітол та ін [56]. Певну роль у патогенезі діабетичної ретинопатії відіграє гормон резистин, рівень якого підвищується в сироватці крові хворих на ЦД 2-го типу починаючи з легкої непроліферативної ДР [30, 57, 58].

Основу патогенезу діабетичної ретинопатії складають наступні метаболічні механізми [30]:

1. Активація сорбітолового шляху утилізації глюкози із накопиченням у клітині сорбітолу, зв'язування білка з молекулою глюкози без участі ферментів з подальшим утворенням кінцевих продуктів прискореного глікозилювання, посилення синтезу діацилгліцерола, активація перекисного окислення ліпідів та інактивація гліцеральдегід-3-фосфат-дегідрогенази через підвищення рівня супероксиду в мітохондріях [59-61].

2. У відповідь на гіпоксію викид проангіогенних факторів, до яких відноситься VEGF, Інтерлейкін 1, фактор трост гепатоцитів, фактор росту фібробластів, фактор некрозу пухлини  $\alpha$ , інсулін ний фактор росту, тромбоцитарний фактор росту [62-71].

При гіпоксичному ушкодженні у клітинах сітківки збільшується внутрішньоклітинна концентрація специфічного білка, який регулює транскрипцію генів та гену VEGF зокрема, що посилює утворення нових судин [72]. Гіколітичний фермент гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа регулює цитоплазматичні ядерні та мембранні реакції і є головним міжклітинним месенджером збудження апоптозу клітин [73]. Значну роль у патогенезі діабетичної ретинопатії відірають матриксні металопротеїнази, особливо ММП-9, яка захищає клітини капілярів від їх вступу до апоптозу [74]. Рівень цієї металопротеїнази у камерній волозі хворих на цукровий діабет 2-го типу підвищується як за відсутності ознак діабетичної ретинопатії, так і на будь якій стадії захворювання. При цьому рівень

фермента, як тканинного інгібітора матриксних металопротеїназ, збільшується по мірі розвитку тяжкості діабетичних ретинопатій. Під дією VEGF та при участі протеаз в умовах гіпоксії у сітківці відбуваються початкові етапи ангіогенезу: міграція ендотеліоцитів у екстрацелюлярному матриксі та деградація базальної мембрани ендотелію капілярів [75, 76].

Розглянемо наступні патофізіологічні механізми розвитку ускладнень цукрового діабету.

1. Внутрішньоклітинна гіперглікемія призводить до активації поліолового шляху, під час якого альдозоредуктаза перетворюючи глюкозу в сорбітом в якості кофактора використовує НАДФН, тим самим зменшуючи можливість його використання глутатіонредуктазою для відновлення окисленого глутатіону в основний внутрішньоклітинний антиоксидант – відновлений глутатіон. У свою чергу накопичення інертного сорбітолу призводить до гіперосмотичних умов всередині клітин, що призводить до їх загибелі [30].

2. Посилене утворення внутрішньоклітинних попередників кінцевих продуктів глікування. Головний із цих попередників – метілгліоксаль утворюється із проміжного метаболіта гліколізу – гліцеральдегід-3-фосфату.

3. Активація класичних  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  лізоформ протеїнкінази C за рахунок того, що гіперглікемія посилює синтез діацилгліцерину із гліцеральдегід-3-фосфату. Також протеїнкіназа C посилює експресію багатьох генів, у тому числі VEGF та НАДФН оксидаз, які індуюють утворення активних форм кисню, ендотеліну-1 та інших факторів [30].

4. Збільшення активності гексозамінного шляху, що призводить до високого рівня N-ацетилглюкозаміну, який впливає на патологічну експресію генів та погіршує функцію судин [30].

Усі чотири метаболічні шляхи розвитку патологічних проявів ускладнень цукрового діабету і діабетичної ретинопатії зокрема

взаємопов'язані гіперпродукцією су пероксиду в ланцюгу транспорту електронів у мітохондріях як відповідь на гіперглікемію. Супероксид інгібує гліцеральдегід-3-фосфат дегідрогеназу, яка є ключовим ферментом гліколізу. Безумовно, що після такого інгібування кумулюється гліцеральдегід-3-фосфат, що активує протеїнкіназу С, а збільшення рівня фруктозо-6-фосфату активує гексозозаміновий шлях. Далі по ланцюгу гліколізу відбувається подальше накопичення глюкози в клітинах, що спричиняє інтенсифікацію полільного шляху [30]. Інактивація гліцеральдегід-3-фосфат дегідрогенази реалізується у двох напрямках: як шляхом прямого впливу су пероксиду на цей фермент, так і через активацію ним полімерази, яка репарує розриви ДНК та модифікує гліцеральдегід-3-фосфат дегідрогеназу. Варто зазначити, що супероксидний аніон радикал може самостійно блокувати активність важливих ферментів ендотеліальних клітин кровоносних судин, зокрема простациклін синтазу [30].

Сітківка ока найбільш активно використовує кисень серед інших тканин організму, тому і утворення супероксиду у ній найбільш виражене [77].

Основним проявом розвитку ДР є мікроангіопатії, які під час розвитку діабету приймають генералізований характер [78]. На сьогоднішній день ми розділяємо гемодинамічні (внутрішньо капілярна гіпертензія), порушення внутрішньої регуляції судинного тону, прискорення кровотоку), гемореологічні, гормональні, генетичні, імунні, метаболічні та інші фактори, що призводять до порушення судинної проникності, ушкодження стінок капілярів сітківки, утворенню геморагій, які запускають патологічний процес [79-83]. Гіперглікемія відіграє ключову роль у розвитку діабетичної ретинопатії. На ранніх етапах потовщення базальної мембрани капілярів сітківки є маніфестуючим симптомом діабетичної ретинопатії. В подальшому відбувається зменшення кількості перицитів, які є базовими клітинами капілярів сітківки [84]. На тлі цих патологічних зрушень відбувається

розширення капілярів та утворюються мікроаневризми, які розповсюджуються на кордоні неперфузійних зон, як проліферативна відповідь на локальну ішемію. Тож вагомим фактором, який призводить до розвитку ретинопатії, є ретинальна гіпоксія [85-87]. Під час цих змін відбуваються зрушення біохімічних комплексів: не ферментативне глікозилювання білків, внутрішньоклітинний надлишок сорбітолу та гіпоксія. Вони разом із посиленням кровотоку, який спостерігається при ЦД, призводять до ушкодження ендотеліальних клітин. У свою чергу порушення ендотелію разом із посиленням агрегації тромбоцитів та активацією факторів коагуляції призводить до оклюзії капілярів [88-90].

Метаболічні зрушення при діабетичній ретинопатії складаються з не ферментного глікозилювання білків, активації поліолового (сорбітолового) процесу обміну глюкози, посилення вільно радикальних процесів, активації протеїнази С, глюкозотоксичності. Поліоловий шлях суттєво впливає на розвиток діабетичної ретинопатії. Під час цього процесу глюкоза у клітинах за допомогою альдозоредуктази перетворюється у сорбітом. Надлишок останнього накопичується у клітині, тому що маючи велику осмотичну силу він не може пройти через клітинну мембрану, проте порушує водний внутрішньоклітинний баланс, в результаті чого накопичується вода і іони натрію з одночасним виходом із клітини іонів калію. Це призводить до набряку судинної стінки, а також до гіпоксії тканин. Такий шлях обміну глюкози характерний для тканин, які не потребують інсуліну для транспортування глюкози у клітину [90]. Це стосується ендотеліоцитів та нейронів. У фізіологічній нормі у сорбітом перетворюється лише 1-2 % глюкози, а от в умовах гіперглікемії інтенсивність цього шляху збільшується у 7-10 разів, тому сорбітол накопичується у крові, що приводить до гідrataції клітин судинної стінки та їх подальшого руйнування [90, 91]. Активація поліолового шляху призводить до зниження кровотоку та ланки патологічних реакції через вплив на внутрішньоклітинне утворення оксиду нітрогену [92].

При мікроциркуляторних порушеннях основною патогенетичною ланкою є посилене утворення кінцевих продуктів глікозилювання. Доведена ключова роль не ферментного глікозилювання в розвитку діабетичної ретинопатії. В основі цього процесу – зв'язування глюкози із білком без ферментативної участі. При цьому утворюються кінцеві продукти прискореного глікозилювання, які накопичуючись у тканинах призводять до збільшення ригідності тканин та порушують оновлення білків. В результаті цього процесу спостерігається ущільнення скловидного тіла, потовщення базальної мембрани капілярів, посилення агрегації лейкоцитів та тромбоцитів до ендотелію. При потовщенні базальної мембрани ретинальних капілярів відбувається порушення контакту між серицитами та ендотеліальними клітинами. В результаті цього відбувається втрата серицитів, і як наслідок – порушення регуляції ендотеліальної проліферації [90, 93].

При взаємодії з атерогенними фракціями ліпідів продукти глікозилювання посилюють атерогенність сироватки крові та процеси перекисного окислення ліпідів [94, 95]. Вільні радикали, які утворюються під впливом ПОЛ, пригнічують синтез простагліцину, який має судиннорозширюючі властивості та є фізіологічним інгібітором агрегації тромбоцитів, а також призводить до деструкції ендотелію [96]. Також вільні радикали є активними окиснювачами, утворення яких при діабеті різко підвищується. Вони окислюють ліпіди із формуванням ліпідних пероксидів та денатурують білки, викликаючи їх агрегацію. Ліпідні пероксиди приймають активну участь у багатьох процесах, в тому числі і в обміні арахідонової кислоти, тим самим посилюючи агрегацію тромбоцитів [97, 98]. У хворих на всіх стадіях діабетичної ретинопатії в слізівій рідині визначена локальна активація перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) за вмістом малонового діальдегіду, яка корелює зі змінами функціональної активності сітківки [99].

Доведено взаємозв'язок між гіперглікемією та ступенем окислювального стресу, який інгібує синтез ендотеліального оксиду нітрогену, активує ПОЛ, посилює синтез прозапальних адгезивних молекул та гіперактивності гладком'язових судинних клітин до вазоконстрикторних стимулів, сприяючи розвитку змін судинної стінки. Поліморфно-ядерні лейкоцити в умовах окислювального стресу та активації вільних радикалів через фактор активації тромбоцитів накопичують окиснені фосфоліпіди. Останні є похідними вільно радикального ушкодження мембранних фосфоліпідів. В разі неадекватної адгезії відповідної активації клітин не відбувається і клітини, які залучені до процесу, повертаються назад у кровотік [90, 100].

У хворих на цукровий діабет при вивченні протеолітичної активності лімфоцитів та сироватки крові на очному дні виявлений суттєвий дисбаланс у системі протеази-інгібітори. Також у хворих на ретинопатію спостерігалось зростання протеолітичної активності, що підтверджує активацію протеолізу по мірі розвитку діабетичних уражень сітківки. Пригнічення активності антиоксидантних ферментів визначається здебільшого генетичними факторами і цим можна пояснити різну чутливість хворих до гіперглікемії [92].

У хворих із геморагічною формою діабетичної ретинопатії навколо судин спостерігається велика кількість клітин, які секретують біологічно активні речовини: гепарин, гістамін та серотонін [101]. Посилена секреція гепарину є захисною функцією організму проти внутрішньої судинної гіперкоагуляції. У свою чергу гістамін та серотонін, для яких характерним є спазмогенний ефект, посилюють проникність судин та сприяють ішемії і набряку тканин. Доведена роль у розвитку плазморагій та мікрогеморагій при діабетичній ретинопатії гістаміну та аутоалергічних реакцій. Наявність місцевого синдрому при проліферативній діабетичній ретинопатії, посилення активності плазміногену в слізній рідині та зниження активності

антитромбіну 3 пов'язане з його не ферментним глікозилюванням при цукровому діабеті [90].

Динаміка показників гемостазу при діабетичній ретинопатії свідчить про посилення активності прокоагуляційної системи, посилюється концентрація розчинних фібрин-мономерних комплексів та фібрину а також зменшується рівень антитромбіну-3, що свідчить про наявність хронічного ДВЗ-синдрому [102]. Цьому сприяє залучення додаткового шляху гемокоагуляції – моноцитарно-макрофагального, який посилюється за наявності продуктів тканинного розпаду, імунних комплексів, фактора некрозу пухлин, компонентів системи комплементу. Ендотеліоцити також здатні активізувати простагліцилін, який приймає участь у адгезії та агрегації тромбоцитів [103, 104]. У патогенезі діабетичної ретинопатії значне місце посідає підвищення у крові рівня «агресивних» імунних комплексів, які ушкоджують стінки капілярів та порушують мікроциркуляції сітківки та хоріоїдеї, а також активізація ПОЛ [105].

Під час тяжкого перебігу діабетичної ретинопатії спостерігається суттєве посилення ПОЛ на тлі виснаження антиоксидантної системи захисту, зокрема супероксиддисмутази [106]. До уповільнення та стазу кровотоку, сладж-синдрому, децентралізації кровотоку шляхом переходу крові через артеріо-венозні анастомози призводить циркуляція в крові середньо та високомолекулярних циркулюючих імунних комплексів, які не фагоцитуються а відкладаються в інтимі мікросудин та на форменних елементах крові [107]. Під час «хвороби імунного комплексу» на тлі імунного запалення стінки судини порушується мікроциркуляція, ушкоджуються капіляри і стимулюються проліферативні процеси сітківки. В результаті цього розвивається гіпоксія тканин, порушується метаболізм та посилюються імунопатологічні реакції.

Отже мікроциркуляторні порушення ініціюються імунними зрушеннями і мають з ними спільний патогенез. Також до факторів ризику



розвитку діабетичної ретинопатії відноситься порушення ліпідного обміну, яке має суттєвий вплив на проникність клітинних та капілярно-тканинних мембран, а також біоенергетику клітин та тканин [90, 108, 109]. При діабетичній ретинопатії відбуваються склеротичні ураження судин а у проліферативній її стадії спостерігаються внутрішньо судинні зміни, зокрема тромбоемболічні порушення. Перехід до проліферативної стадії супроводжується підвищенням рівня загального холестерину, його атерогенних фракцій у сироватці крові та активацією процесів ПОЛ. При непроліферативній діабетичній ретинопатії посилюється продукція перекисного окислення ліпідів, що пов'язане із пригніченням антиоксидантної системи [110, 111].

Слід зазначити, що непроліферативна діабетична ретинопатія починається на тлі незначної активації ПОЛ, проте із суттєвою дис- та гіперліпідемією. Отже, як пре-, так і проліферативна ДР асоціюється із посиленням ПОЛ, дис- та гіперліпідеміями (підвищенням ЛПНЩ, тригліцеридів та зниженням ЛПВЩ, що свідчить про їх важливу патогенетичну роль [79].

При цукровому діабеті і діабетичній ретинопатії зокрема відбувається порушення імунного гомеостазу, який проявляється посиленням концентрації циркулюючих імунних комплексів (ЦК) та імуноглобуліну G, зниженням концентрації загальної гемолітичної активності комплементу на тлі підвищення концентрації компонентів C3 і C4 у циркуляції, що певною мірою пояснюється застосуванням Імуноглобулінів класу А при утворенні ЦК. Під час діабетичної ретинопатії розвивається депресія клітинної і активація гуморальної ланки імунітету [112-114].

Особливу роль у патогенезі ДР займають інтерлейкіни. Унікальним ангіогенним фактором є інтерлейкін-1, який продукується лейкоцитами та макрофагами. Інтерлейкін-6, підвищенні рівня якого свідчить про активацію В-клітинного імунітету, є імунопатогенетичним маркером проліферативної

діабетичної ретинопатії [90, 112, 115-117]. Підвищення концентрації інтерлейкіну 6 свідчить про процес неоваскуляризації сітківки, а збільшення імуноглобуліну А більш ніж на 0,25 г/л у сльозовій рідині є діагностичним маркером розвитку проліферативної стадії захворювання. Ренін-ангіотензинова система (РАС) приймає активну участь у патогенезі судинних ускладнень на пізніх етапах цукрового діабету [118-120]. Більшість компонентів РАС – АПФ, ангіотензин I і II, ангіотензиноген, проренін, ренін представлені в тканинах ока. Ангіотензинперетворюючий фермент (АПФ) грає важливу роль в регуляції судинного тону, сприяючи утворенню вазоконстриктора ангіотензину II та розщепленню вазодилататора брадикініну. У свою чергу ангіотензин II має прооксидантну, проліферативну та тромбогенну активності [121]. У крові тенденція до підвищення АПФ спостерігається при довготривалих та тяжких формах цукрового діабету, а також при наявності нефропатій. У сльозі спостерігається зворотня залежність: АПФ зменшується, що було пов'язано з пригніченням його локального синтезу, а також порушенням його транспорту із мембранв'язуючого стану до сльози [122, 123].

Також значну роль у патогенезі ДР відіграє протеїнкіназа С, яка регулює процеси проліферації, судинну проникність, активність тканинних факторів росту та синтез білків базальної мембрани судин. При гіперглікемії цей фермент активується у клітинах (в першу чергу в перицитах), що призводить до підвищення проникності стінок судин та посилення продукції факторів росту. Як наслідок, ангіотензин II, ендотеліальний фактор росту та інсуліноподібний фактор росту збільшують проникність ретинальних судин та стимулюють процес проліферації, які сприяють розвитку набряку макули. Багато проангіогенних та антиангіогенних факторів існують і у нормально функціонуючому оці. До проангіогенних факторів належать кислотний та основний фактор росту фібробластів, фактор росту гепатоцитів, Інтерлейкін

8, ангиогенін, плацентарний фактор росту, трансформуючий фактор росту, VEGF A [90].

До антиангіогенних факторів відноситься ангіостатин, інтерферон В, мас пін, ендостатин та тромбоцитарний фактор 4. Доведена роль гормону росту, як стимулюючого фактору розвитку проліферативної діабетичної ретинопатії [124, 125]. Цей фактор вважається ключовою ланкою неоваскуляризації, його концентрація суттєво посилюється у водянистій волозі та скловидному тілі хворих на проліферативну стадію ДР. Підвищений вміст VEGF спостерігається вже на ранніх стадіях діабетичної ретинопатії у тканинах сітківки. Його рівень збільшується при гіпоксії і гіперглікемії, оскільки він утворюється в очах і є медіатором як непроліферативної, так і проліферативної ДР [126]. VEGF не тільки стимулює неоваскулярний ріст, але й спроможний ушкоджувати гематоретинальний бар'єр, порушуючи міжклітинні зв'язки. Існує тісний взаємозв'язок між VEGF і діабетичною ретинопатією, зокрема її проліферативною стадією [127]. Також VEGF відіграє ключову роль в нормальній фізіології ока, підтримуючи життєдіяльність гангліонарних клітин сітківки та забезпечуючи кровопостачання пігментного епітелію сітківки та фоторецепторів. Взаємодія VEGF з різними рецепторами призводить до різнопланових реакцій, в яких він відіграє роль медіатора, зокрема у процесах посилення судинної проникності, запалення, ангиогенезу та лімфаніогенезу. Під час ішемії клітини ретиного епітелію продукують проангіогенні цитокіни, зокрема фактор некрозу пухлин. Взаємозв'язок між цим фактором та змінами на очному дні підтверджують патогенетичне значення TNF-а [128-130]. Також доведена його участь в утворенні фіброваскулярних мембран при проліферативній ДР. Стан імунної системи та селекційне посилення функцій її окремих ланок при довготривалому цукровому діабеті разом із порушеннями у системі гемостазу є важливими механізмами дисбалансу неоваскулогенезу та факторів росту у сітківці [90].

Ключовими ланками патогенезу діабетичної ретинопатії є ацидоз, венозний застій та гіпоксія [131-140]. Для успішної корекції цього укладнення цукрового діабету слід чітко розуміти шляхи розвитку даного захворювання [141-146]. Діабетична ретинопатія розвивається як послідовний процес, на початку якого спостерігається збільшення проникності судин сітківки або непроліферативна стадія. У подальшому відбувається оклюзія капілярів, тобто процес переходить у препроліферативну стадію. І завершується процес неоваскуляризацією і фіброзною проліферацією, або завершуючою проліферативною стадією діабетичного ушкодження сітківки [131, 147-162]. Однією із ранніх морфологічних ознак ушкодження капілярів сітківки є потовщення при діабетичній ретинопатії їх базальних мембран. Далі спостерігається зменшення серицитів, які мають деякі властивості гладкомязових клітин. Як наслідок, відбувається звуження діаметру судин і потоншення їх стінок з утворенням мікроаневризм [163-169]. Мікроаневризми являють собою порушення структури стінок капілярів, спричинене їх розтягуванням. Завдяки тому, що вони знаходяться на кордоні неперфузійних зон, вони формуються як локальна проліферативна відповідь на ішемію [131]. На початкових стадіях патологічного процесу розширення капілярів може бути як анатомічним (в місцях, де зменшується кількість перицитів), так і функціональним (як реакція на збільшення кровотоку) [170-172]. Зміни у судинах під час прогресування діабетичної ретинопатії відбуваються у вигляді суттєвого розширення капілярів із частковим тромбуванням та утворенням сполучень між артеріолами та венулами. При закупорці ретинальних капілярів спостерігається ішемія із преретинальною неоваскуляризацією. Для проліферативної стадії діабетичної ретинопатії характерні крововиливи у скловидне тіло, в результаті чого різко погіршуються зорові функції [173-177].

На сьогоднішній день накопичилась достатня кількість знань про патогенез діабетичних ускладнень і ми можемо розглядати як провідні механізми розвитку діабетичної ретинопатії також і ушкодження білків із регуляторними та аталітичними функціями [131, 178-181]. На клітинному рівні основним шляхом ураження тканин є гіпоксія, некаталітичне глікування білків та поліольний (альдозоредуктазний) шлях, в результаті якого утворюється надлишок сорбітолу [182-188]. У присутності фермента альдозоредуктази і при активації альдозоредуктазного шляху відбувається внутрішньоклітинне перетворення глюкози у сорбітол. Довготривала гіперглікемія є потужним активатором цього процесу. Існує пряма залежність між активністю альдозоредуктази у сітківці та ступенем ретинопатії. Надлишок інтрацелюлярного сорбітолу пов'язаний з його неспроможністю проходити крізь мембрани клітин. Накопичення сорбітолу призводить до високого осмотичного градієнту, при цьому розвивається водний дисбаланс між міжклітинною рідиною та міжклітинним мариксом. Як наслідок спостерігається пригнічення метаболізму і навіть загибель клітин [131]. Патологічну дію сорбітолу можна відобразити у вигляді схеми: надлишок сорбітолу – гіперосмолярність – накопичення рідини та іонів натрію, втрата іонів калію, набряк, тканинна гіпоксія. Поліольний шлях можна вважати основним, проте не єдиним [189-193]. Некаталітичне (не ферментативне) глікування білків слід розглядати як модифікацію білкових молекул шляхом їх взаємодії з глюкозою без участі ферментів. Сполучення глюкози із білком з подальшим формуванням N-глікозиламіну або альмідіну є першою стадією глікозилування. Ця сполука нетривка і швидко розчеплюється. При високих концентраціях глікемії утворюється 1-аміно, 1-деоксікетоза або субстанція Амадорі, яка є стабільною і у подальшому окислюється з утворенням 3-деоксіглюкозону та метилглюксалу. Останньою реакцією окислення цих двох дикарбонільних інтермедіатів є утворення кінцевих продуктів глікування. Деоксіглюкозон та метилглюксаль можуть

інактивуватися також специфічними редуктазами [131]. Цей шлях обміну речовин більш характерний для метаболізму людини. Він активується у присутності альфа-ліполієвої кислоти та завершується посиленням активності редуктази, пригніченням продукції кінцевих продуктів глікірування, а отже призводить до гальмування процесу формування судинних ускладнень діабету [194]. Кінцеві продукти глікозилювання утворюються і більш коротким шляхом через металкаталізуюче аутоокислення цукрів та їх перетворення у реактивні дікарбонільні інтермедіати. У фізіологічних умовах співвідношення кінцевих продуктів які утворюються під час ауто окислення цукрі та субстанції Амадорі приблизно однакові [131, 195].

Довгий час глюкоза вважалась єдиним субстратом для утворення кінцевих продуктів глікозилювання. Проте швидке внутрішньоклітинне утворення кінцевих продуктів глікірування відбувається завдяки таким вуглеводам як гліцераль-3-фосфат, глюкозо-6-фосфат та фруктоза [196-198]. Надлишок кінцевих продуктів глікозилювання призводить до порушення формування та оновлення білкових молекул, потовщення базальних мембран, посилення ригідності тканин через перехресні сшивки між білками. Збільшення кінцевих продуктів глікозилювання та їх накопичення у тканинах, що викликає багато чисельні структурні зміни, обумовлене наявністю специфічних до них рецепторів на поверхні клітин. Взаємодія зазначених продуктів із рецепторами макрофагів індукує продукцію цитокінів, у першу чергу інтерлейкіну 1, та сприяє проліферації клітин судинних стінок та матриксу [131, 199, 200].

При глікіруванні пригнічується активність інгібіторів протеаз, які відповідають за антиоксидантний захист. Взаємодіючи із рецепторами ендотеліоцитів кінцеві продукти глікірування активують продукцію ендотеліну – потужного вазоконстриктора, який може призвести до локальних тромбозів. При цьому у ендотеліоцитах пригнічується утворення

простацикліну, а у тромбоцитах посилюється продукція тромбоксану. Спостерігається дисбаланс у співвідношенні простациклін-тромбоксани яке зміщується у бік збільшення останніх і це додатково активує агрегацію тромбоцитів. В результаті таких зрушень формується синдром дисемінованого внутрішньо судинного згуртування [131, 201].

Збільшується продукція глікогемоглобіну, який відіграє важливу роль як і інші кінцеві продукти глікозирування у патогенезі судинних ускладнень діабету. Ключовим механізмом гіпоксії тканин при цукровому діабеті є глікозилювання гемоглобіну, яке впливає на його спорідненість до кисню. Багатьма дослідженнями доведена значна роль не ферментного глікірування білка у розвитку та прогресуванні мікросудинних ускладнень, характерних для цукрового діабету [131, 202-204]

Під час розвитку цукрового діабету спостерігається дисгенез мітохондрій: порушується ауто фагоцитоз, з'являються мітохондрії з низькою масою та дисфункціональні мітохондрії. Пригнічення окислення у вільних жирнихкислотахта мітохондріях сприяє накопиченню гліацилгліцерола та активації протеїнкінази С. Під час збільшення активації глюкози посилюється потенціал мітохондріальних мембран та гіперпродукція вільних радикалів. Ушкодження мітохондріальної ДНК ще більш посилює мітохондріальну дисфункцію. Існує тісний взаємозв'язок між мітохондріальним дисгенезом, дисфункцією ендотеліальних клітин та гіперпродукцією вільних радикалів у хворих на цукровий діабет [131, 205-211]. Патологічні зрушення у судинному ендотелії, активація прокоагуляційних факторів та агрегація тромбоцитів призводять до оклюзії капілярів [212, 213]. Оклюзія вторинна по відношенню до ушкодження капілярних стінок та змін реологічних характеристик циркулюючої крові. Оклюзія капілярів мікроциркуляторного русла сітківки спричиняє її ішемію [214-217]. Повноцінне функціонування гематоретинального бар'єру є запорукою гомеостазу сітківки. Пігментний епітелій є зовнішнім

гематоретинальним бар'єром, тому що зовнішні шари сітківки живить хоріоїдея. Стінки капілярів сітківки формують внутрішній гематоретинальний бар'єр, який знаходиться у внутрішньому плексиформному шарі. Цей бар'єр контролює обмін речовин між клітинами сітківки та кровю, захищає сітківку від надлишкової гідратації та підтримує її прозорість. Під час загибелі ендотеліоцитів, порушення цілісності базальної мембрани та міжклітинних контактів можливе пошкодження бар'єру, що призводить до метаболічних зрушень та набряку сітківки [131, 218-220].

Порушення внутрішнього гематоретинального бар'єру є вторинними щодо анатомічних пошкоджень капілярних ендотеліоцитів, які в свою чергу пов'язані із осмотичним стресом, локальною гіпоксією сітківки та руйнацією системи міжклітинних контактів. Посилення продукції факторів росту також відіграють значну роль у збільшенні проникності бар'єрів та формуванні макулярного набряку. Зокрема посилення проникності капілярів відбувається під час інтравітреального введення фактора росту судин [131, 221].

Функціональні фактори часто приєднуються до анатомічних змін. Мова іде про підвищення кровотоку в капілярах макули, обумовлене локальною гіпоксією, посилення перфузійного тиску, що призводить до дифузії рідини з капілярів до тканин [222, 223]. Слід підкреслити, що оклюзія та набряк є важливими патологічними симптомами ураження сітківки при цукровому діабеті. При цьому, враховуючи специфіку гемодинаміки очного яблука, набряк переважає в макулі, а оклюзія у периферичних відділах сітківки. Розповсюдження оклюзії призводить до неперфузійних ділянок сітківки що значно посилює продукцію факторів ангиогенезу [131].

## 1.2 Патогенетичні ланки дисфункції ендотелію

Дослідженнями останніх років доведено, що ендотеліоцити судин слід розглядати не як клітини-мішені, а як потужний ендокринний орган, який



секретує біологічно активні речовини. Ендотеліальні клітини є інсулін незалежними, тобто не потребують для транспорту глюкози присутності інсуліну. В умовах гіперглікемії глюкоза безперешкодно потрапляє до ендотеліоцитів, активуючи патофізіологічні реакції вередині клітин, які призводять до ендотеліальної дисфункції [224].

За сучасними уявленнями ендотелій являє собою окремий орган із масою в залежності від віку і статі – від 1,5 до 1,8 кг. Або суцільний моно шар ендотеліоцитів довжиною 7 км. Також його можна порівняти за площею із футбольним полем [225-227]. Ендотеліальні клітини розглядають як пара ендокринний орган, який покриває поверхню людського тіла [228]. Слід виділити судинний ендотелій, який вистилає судини зсередини, і є тонкою напівпроникною мембраною і безперервно виробляє велику кількість біологічно активних речовин [229]. Також він регулює антитромбоцитарну, антикоагулянтну, судиннорухальну, тромболітичну, антиоксидантну, протизапальну та антипроліферативну активності [230, 231]. Завдяки своїй бар'єрній ролі ендотелій регулює гомеостаз, підтримуючи рівновагу таких процесів як: 1) вазодилатація та вазоконстрикція; 2) синтез та інгібування факторів фібринолізу та агрегації тромбоцитів ; 3) секреція про- та протизапальних факторів; 4) синтез та інгібування факторів проліферації. Ендотелій можна розглядати, яке самий великий орган тіла, який знаходиться між кровотоком та стінками судини [225]. Він реагує на вплив вазоактивних субстанцій та механічні стимули. У відповідь на ці подразники він вивільняє біологічно активні речовини, які впливають на гемостаз, регулюють вазомоторну функцію та запускають запальні процеси. Ендотелій продукує як вазоконстрикторні, так і вазодилатуючі фактори. Дисбаланс тону судин у бік вазоконстрикторів формує вазоспазм і в подальшому приводить до судинних катастроф. це свідчить про те, що ендотелій є ключовим регулятором вазомоторного тону [225].

Ендотеліоцити крім вазодилататорів і вазоконстрикторів секретують багато інших активних речовин, зокрема брадикінін, плазміноген, тромбомодулін, ангіотензин 2, ендотелін-1, тромбоксан А2 та реактивні сполуки кисню. Рефлекторні зміни стінок судин забезпечують їх нормальний тонус та здатність до гемодинамічного опору. Це відбувається завдяки ритмічному напруженню (вазоконстрикції) із подальшим розслабленням (вазодилатації) судин мязово-еластичного та м'язового типів. Ендотеліоцити мають високу метаболічну активність і забезпечують регуляцію тонусу та росту судин, атромбогенність та тромбогенність судинної стінки, регуляцію її адгезії. Зміни у магістральних судинах еластичного типу згідно із пульсаціями тиску крові проходять пасивно [225].

Про роль ендотелію, як самостійного органу, відповідального за регуляцію судинного тонусу, було написано в журналі «Nature» [232, 233]. За відкриття ролі оксиду нітрогену, як сигнальної молекули у регуляції серцево-судинної системи Л.Ігнарро, Ф.Мурат та Р.Фуршгот одержали у 1998 році Нобелівську премію в галузі медицини. Автори довели дію нітрогліцерину, як вазодилататора в результаті трансформації за участі ендотелію в NO, який і здійснює основний розслаблюючий ефект на кровоносні судини. Також оксид нітрогену пригнічує такі фізіологічні процеси, як адгезія та агрегація тромбоцитів, проліферація клітин гладких м'язів та адгезія лейкоцитів. Також була доведена важлива роль простацикліну та ендотеліальних гіперполяризуючих факторів у процесах мікроциркуляції [225, 234]. При порушенні нейрогуморальної регуляції тонусу судин, запаленні у судинній стінці та активації процесів тромбогенезу проявляється дисфункція ендотелію. Остання може викликати посилену адгезію лейкоцитів до ендотелію, порушення мікроциркуляції, посилене тромбоутворення та спазм судин. Сама назва «ендотеліальна функція» означає здатність ендотеліоцитів приймати участь у секреції вазоактивних речовин. А ендотеліальна дисфункція трактується як патологічний стан, за якого відбувається

дисбаланс між судиннозвужуючими, тромботичними та проліферативними характеристиками [235] та антимітогенними, антитромбогенними і судиннорозширюючими якостями [236]. Дисфункція ендотелію є ключовою ланкою багатьох патологічних процесів. Її етіологічними факторами можуть бути: 1) вікові зміни; 2) генетичні особливості; 3) гіперглікемія; 4) гіперхолестеринемія; 5) гемодинамічний фактор; 6) гіперцитокінемія, 7) гіпергомоцистеїнемія, 8) екзогенні інтоксикації, 9) ендогенні інтоксикації [225].

Оксиду нітрогену належить ключова роль серед біологічно активних речовин, які секретуються ендотелієм. По співвідношенню NO та ангіотензину II можна визначити розвиток артеріальної гіпертензії. При збільшенні утворення активних форм кисню, яке спостерігається при багатьох захворюваннях, відбувається порушення продукції NO. Оксид зоту регулює судинний тонус, оксидативні процеси, проліферацію та апоптоз, для нього характерні протизапальні та ангіопротекторні якості. Також NO інгібує агрегацію та адгезію тромбоцитів, ендотеліально-лейкоцитарну взаємодію, міграцію моноцитів та має антиоксидантні властивості. Тож можна зробити висновок, що NO є універсальним регулятором функціонального стану ендотелію [225].

### 1.3 Характеристика синтаз оксиду нітрогену в нормі і при патології

В організмі в результаті окислення L-аргініну утворюється оксид нітрогену здебільшого за участю NO-синтази, але участь у цьому процесі приймає також тетрагідробіоптерін (BH<sub>4</sub>), глутатіон та іони кальцію [237, 238]. Крім NO під час цієї реакції утворюється L-цитрулін, який здатний знову переходити у аргінін і тим самим підтримувати рівень останнього у ендотеліоцитах.

З трьох лізоформ NO-синтаз нейрональна (або мозкова) та ендотеліальна постійно секретуються в нейронах та ендотеліоцитах, тому їх називають конститутивними та  $Ca^{2+}$  залежними формами. Індуцибельна (або кальцій-незалежна форма NO-синтази виявляється періодично у макрофагах, епітеліальних клітинах, нейтрофілах, гладкомязових та мікрогліальних клітинах, фібробластах та гепатоцитах [238]. Ця ізоформа активується бактеріальними ліпополісахаридами, прозапальними цитокінами та катехоламінами [238-240]. Конститутивні NO-синтази виділяють невелику кількість оксиду нітрогену, який приймає участь у багатьох фізіологічних реакціях і має позитивну біологічну дію. Для активації індуцибельної NO-синтази потрібен певний час – зокрема макрофагальна NO-синтаза активується після 2-8 годин подразнення клітини, утворюючи велику кількість NO [237, 241], яка в 100-1000 разів перевищує кількість конститутивних форм [238, 242]. Індуцибельна NO-синтаза зберігається набагато довше, ніж короткотермінові ендотеліальна та нейрональна. Оксид нітрогену, утворений завдяки індуцибельній NO-синтазі пригнічує активність запальних клітин, блокує агрегацію тромбоцитів, сприяє загибелі внутрішньоклітинних паразитів та мікроорганізмів та покращує місцеве кровопостачання. В епіцентрі запалення накопичується велика кількість частково відновленого кисню – супероксидний радикал, разом з яким NO у присутності залізовмістких ферментів утворює потужний радикал-окислювач – пероксинітрит [237]. Цей окислювач найбільш активний за своїми спроможностями за інші кисневі радикали. При його утворенні відбувається ушкодження білків, ліпідів клітинних мембран, судинного ендотелію, підвищується агрегація тромбоцитів. Пероксинітрит проникаючи в середину клітини інактивує гліцеральальдегід-3-фосфатдегідрогеназу, блокуючи тим самим синтез АТФта сповільнюючи електронний транспорт в мітохондріях, в результаті чого настає енергетичний дефіцит та загибель клітини [243]. Також він інгібує рибонуклеотидредуктазу, тим самим порушуючи швидкість

реплікації ДНК та безпосередньо ушкоджуючи клітинний генетичний апарат [241]. Тож високі концентрації оксиду нітрогену мають протизапальну дію при запаленні, септичному шоці та ендотоксемії [237].

Збільшення кількості індукцибельної NO-синтази є первинною ланкою патогенезу запальної реакції – утворення запального набряку із подальшою лейкоцитарною інфільтрацією. Ефекти оксиду нітрогену при патологічних станах проявляються довготривалим та суттєвим розширенням мілких судин, підвищенням їх проникності, модуляцією цитотоксичних ефектів лейкоцитів, активацією їх адгезії, регенеративними та проліферативними процесами [237].

#### 1.4 Роль оксиду нітрогену у функціонуванні ендотелію та при патологічних станах. NO при цукровому діабеті

Унікальність оксиду нітрогену полягає в тому, що він поєднує у собі функції як первинного, так і вторинного месенджера, що надає можливість надсилати сигнали на далекі відстані від джерела його синтезу [238, 244]. Оксид нітрогену, як первинний месенджер, регулює синтез таких біологічно-активних речовин ендотелію, як ендотеліальний фактор гіперполяризації, ендотелін та простоциклін [245]. Ефекти NO, як вторинного месенджера перш за все зобов'язані його взаємодії з гем-вмісткими білками, зокрема з ферментом гуанілатциклазою, яка каталізує синтез ЦГМФ у клітинах [244, 246] та цитохромом C450 [238, 247]. Крім цього оксид нітрогену здатен реагувати із цинк-вмісткими та негемованими залізовмісткими білками, толовими групами білків та ненасиченими жирними кислотами з утворенням нітрозотіолів. Останні представляють собою резервуар оксиду нітрогену у клітинах [248]. Від концентрації оксиду нітрогену залежить його фізіологічний ефект: в малих кількостях переважають прямі ефекти NO, спрямовані на підтримку гомеостазу [248]. При високих концентраціях

маніфестують непрямі ефекти, пов'язані з утворенням, а вподальшому – із впливом пероксінітриту, який здебільшого носить патологічний характер [248, 249]. Надлишок NO призводить до модифікації білків, нуклеїнових кислот та ліпідів [248, 250]. Також при підвищеній продукції оксиду нітрогену відбувається гальмування росту та розмноження клітин та інактивація залізовмістких ферментів мітохондрій [238].

Потужним фізіологічним стимулом для постійної секреції ендотелієм оксиду нітрогену є «напруга зсуву», яка обумовлена тиском кровотоку на судинну стінку [251, 252]. Цей зсув активує експресію гену та NO-синтази, яка супроводжується посиленою секрецією оксиду нітрогену [253]. Відсутність гену NO-синтази у трансгенних мишей [254], або при його мутації у людей [255] пов'язане із артеріальною гіпертонією та судинними катастрофами. Помірковані фізичні навантаження та гіпоксія стимулюють ендотеліоцити до більшої продукції NO [238, 256-258].

Варто зауважити, що цукровий діабет пов'язаний не тільки з обміном вуглеводів, але й білків та ліпідів. На сьогоднішній день відомо два типи цукрового діабету для яких характерні однакові метаболічні зміни, у першу чергу гіперглікемія та окислювальний стрес, проте відрізняються за цілим рядом патогенетичних та клінічних ознак [259-261]. Неодноразово доведено, що цукровий діабет II типу являє собою ключовий фактор ризику для серцево-судинної патології а також ускладнює такі процеси, як артеріальна гіпертонія, дисліпідемія та ожиріння [261, 262]. Раніше вважалось, що цукровий діабет I типу більш пов'язаний із розвитком мікросудинних ускладнень, проте на сьогоднішній день цей тип цукрового діабету вважають потужним фактором ризику ішемічної хвороби серця. Тож незалежно від типу цукровий діабет сьогодні вважається «еквівалентом коронарного ризику», який напряду пов'язаний з прискореним розвитком атеросклерозу [259, 263-265]. Ендотеліоцити, які покривають внутрішню стінку судин, є регуляторами судинного тону, а отже і артеріального тиску. Забезпечуючи

тканини і органи киснем та продуктами метаболізму, приймаючи участь у перерозподілі кровотоку та регуляції гемостазу, проліферації та міграції клітин різного типу, ендотеліальні клітини забезпечують цілісність стінки судин та її селекційну проникність [266, 267]. Ці багатoproфільні функції забезпечуються вазо активними сполуками ендотелію, компонентами системи гемостазу та ростовими факторами. Зміни активності багатьох із цих показників у крові хворих на цукровий діабет достеменно можна вважати маркерами ендотеліальної дисфункції. Одним із таких факторів є важлива сигнальна молекула людського організму – оксид нітрогену [259]. Він являє собою нестабільний вільний радикал, малий за розмірами, проте найбільш досліджуваний за останні 30 років у теоретичній та практичній медицині. Цей месенджер приймає активну участь у багатьох як фізіологічних, так і патологічних процесах, і може викликати як позитивну, так і токсичну дію [268, 269].

Перша назва оксиду нітрогену – ендотеліальний фактор релаксації, який утворюється з L-аргініну під впливом NO синтази з подальшим утворенням L-цитруліну та молекулярного кисню [270]. У цій реакції активну участь приймають кальмодулін, нікотинові та флавінові нуклеотиди та тетрагідробіоптерін. Оксид нітрогену утворюється при відновленні нітратів та нітритів. Існують три форми NO-синтази, дві з яких функціонують постійно – це конститутивні ендотеліальна та нейрональна NO-синтази [271]. Ці ізоформи постійно секретуються ендотеліоцитами та нейронами. Для їх активації потрібні кальмодулін та іони кальцію [259, 272, 273]. Фермент індукцйбельна NOS активується як відповідь на вплив бактеріальних ліпосахаридів, ендотоксинів та прозапальних цитокінів. Для її активації не суттєва присутність іонів кальцію [273]. Ця ізоформа спочатку була виявлена у макрофагах, проте зараз її знаходять у гепатоцитах, фібробластах та гладкомязових клітинах. Саме синтезований індукцйбельною NO синтазою оксид нітрогену здійснює цитотоксичну та цитотоксичну дію,

особливо в умовах гіперглікемії. Доведено, що при експериментальному цукровому діабеті у щурів значно зростала активність і NOS у печінці на 45 % та її експресія на 70 % [259, 274].

Основна фізіологічна функція судинного ендотелію полягає у підтримці балансу між вазодилатаційними та вазоконстрикторними ефектами. До цієї функції належать регуляція структури судин, судинного тону, фібринолізу та тромбоутворення, судинного запалення, у тому числі продукція про- та протизапальних сполук і багато інших процесів. Слід зазначити, що майже всі функції ендотелію забезпечуються певними комплексами біологічно активних сполук, для яких характерно велика кількість фізіологічних ефектів. Оксид нітрогену в цьому контексті розглядається як одна з ключових регуляторних сполук, яку продукує ендотелій [259]. Під час транспорту з ендотеліальних клітин до гладкомязових клітин судинної стінки він активує гуанілатциклазу, внаслідок чого в гладких м'язах підвищується концентрація циклічного гуанозинмонофосфату і, як наслідок, цГМФ залежних протеїназ, відбувається розслаблення судин та зниження концентрації кальцію [269].

Для оксиду нітрогену характерна потужна функціональна спроможність, що забезпечує передачу сигналу на далекі дистанції відносно джерела його синтезу [269]. Такі біологічно-активні сполуки, як ендоплазматичний фактор гіперполяризації та простациклін регулюються NO. Він же гальмує утворення вазоконстрикторів, у першу чергу ендотеліну-1 [273]. NO гальмує проліферацію та міграцію ГМК, тим самим пригнічуючи утворення неоінтими і гіпертрофії судин та стимулює ангиогенез та синтез ендотеліального фактору росту. В малих концентраціях оксид нітрогену підтримує структуру стінки судин шляхом пригнічення синтезу зовнішньо клітинного матриксу та зменшення апоптозу. NO активно взаємодіє із мембранними рецепторами, йонними каналами, цитозольними ферментами, які є молекулярними мішенями у просвіті та стінці судин. У вільному стані



період напівжиття оксиду нітрогену складає декілька секунд, після чого він швидко руйнується. Проте, вступаючи в дінітрозольні комплекси заліза із S-нітрозотіолами та толовими лігандами, оксид нітрогену стабілізується, утворюючи у тканинах депо, з якого він звільнюється поступово виконуючи ауто та паракринні функції. Циркуляторний пул NO генерується S-нітрозилюванням із тіловими групами плазмових білків у першу чергу альбуміну. S-нітрозилювання гемоглобіну транспортує нітрузо тілові групи периферичним судинам та регулює доставку кисню [259]. Біологічний ефект NO залежить від його локальної концентрації. В невеликих концентраціях він підтримує важливі фізіологічні функції в організмі, а у великих – за рахунок непрямих ефектів спостерігається його цитотоксична дія [272].

Ендотеліальна дисфункція, яка є маркером судинних захворювань, - це втрата ендотелієм спроможності здійснювати свої фізіологічні процеси. Ця патологія характерна для цукрового діабету, артеріальної гіпертензії та інших хронічних захворювань [275]. Порушення синтезу оксиду нітрогену не тільки асоціюється з патологічним процесом, але й має важливе діагностичне та прогностичне значення та дає можливість оцінити тяжкість та вірогідність прогресування захворювання. В основі формування ендотеліальної дисфункції лежить зниження вмісту NO, який продукується судинним ендотелієм. Основним механізмом, який запускає цей патологічний процес, є пригнічення активності ендотеліальної NO синтази, зменшення синтезу NO з аргініну або посилення його руйнація при взаємодії з активними формами кисню [259]. Виходячи із вищезазначеного, можна зробити висновок, що дефіцит NO відбувається при зменшенні кількості L-аргініну, яка коливається у людей в залежності від віку та дієти в межах 45-50 мкмоль/л [276]. Аргінін є умовно незамінною кислотою, кількість якого залежить від активності аргінази, мембранозв'язуючої транспортної системи та інших факторів. Ріст концентрації L-аргініну в ендотеліоцитах відбувається разом із утворенням проміжного продукту його метаболізмом – аргініну

– NG-гідроксі-L-аргініну. Останній спроможний інгібувати активність аргінази, яка каталізує перетворення аргініну в сечовину та орнітин, а отже знижує продукцію NO, а також полегшує процес окислення аргініну NO-синтазою [259, 277]. Транспорт L-аргініну з кровотоку всередину ендотеліальної клітини є важливим процесом, який детермінує ефективність утворення NO. Негативний вплив на нього мають окислення ліпопротеїдів низької щільності [278]. Іншим вагомим фактором, який пригнічує синтез NO, є підвищення у плазмі крові рівня асиметричного диметиларгініну (АДМА), який є ендogenous інгібітором ендотеліальної NO-синтази, пригнічує секрецію оксиду нітрогену та може стати причиною судинної інсулінорезистентності [259, 279]. Останнє може бути обумовлено зниженням активності діметіламіногідролази, яка каталізує АДМА [279-281]. Слід зазначити, що диметиламіногідролаза дуже чутлива до окислювального стресу, тому збільшення продукції активних форм кисню, яке характерне для гіперглікемії, пригнічує активність цього ферменту, і, як наслідок цього – підвищується концентрація АДМА. Саме цей механізм формування ендотеліальної дисфункції при цукровому діабеті призводить до серцево-судинної патології та летальності у хворих на ЦД [259, 281].

Зниження синтезу NO пов'язане із підвищеною продукцією АФК та взаємодією між цими двома сполуками. У стінці судин є декілька джерел АФК: мітохондріальний ланцюг переносу електронів, оксигеназа арахідонової кислоти (цитохром P450, ліпоксигеназа, циклооксигеназа) НАДФ-Н – оксидази [282]. Вільні радикали в умовах нормальної життєдіяльності мають адаптаційно-компенсаторні значення та виконують регуляторні функції. Проте під час патологічних процесів їх концентрація суттєво збільшується і АФК стають потужним патологічним фактором, який пригнічує захисну функцію антиоксидантних механізмів клітини. Активні форми кисню захоплюють NO і тим самим обмежують його патологічну дію [259, 283]. При взаємодії оксиду нітрогену з АФК утворюється пероксинітрит

[272, 284], який здійснює потужний окислювальний вплив на внутрішньоклітинні мішені, активуючи ПОЛ, інгібуючи транспорт електронів в ланцюзі переносу, що призводить до загибелі клітини шляхом апоптозу або некрозу [285, 286]. «Роз'єднання» ендотеліальної NO синтази, коли ензим замість NO продукує АФК може бути джерелом активних форм кисню. Це пов'язано або з руйнацією самої NO-синтази або з недостатністю одного із коферментів реакції. Усі три ізоформи NO-синтази являють собою оксиредуктази зі складною структурою з двома ідентичними мономерами, які як функціонально так і структурно розподілені на два домени: С-термінальний, редуктазний та N-термінальний – оксидазний. Під час реакції переносу з редуктазного домену однієї субстанції NO-синтази переходять на оксидазний домен другої субстанції. Остання містить гемовий активний центр [259]. Суттєву роль в регуляції активності NO-S відіграє кофактор ВН<sub>4</sub>, забезпечуючи одночасно відновлення молекулярного кисню разом із окисненням L-аргініну та зберігаючи ферментативну стабільність у вигляді димеру [287, 288]. Іноді зниження експресії NO-синтази має генетичний характер, про що свідчить поліморфізм NOS-гену у пацієнтів з есенціальною артеріальною гіпертензією [289], а також пригнічення активності NO-синтази у підлітків із первинною артеріальною гіпертензією на етапі до клінічного її протікання [290].

Ендотеліальна дисфункція розвивається на тлі факторів ризику, пов'язаних із судинними катастрофами. Перш за все вона спостерігається у хронічних курців, хворих на цукровий діабет першого і другого типу, пацієнтів із артеріальною гіпертензією та метаболічним синдромом, у людей із підвищеним рівнем холестерину, ЛПНЩ. При цукровому діабеті відбувається генералізоване ураження усіх ланок системи кровообігу. При цьому відбуваються дегенеративні зміни мілких артарій, вен та капілярів, якімають назву мікроангіопатій, а також ураження середніх та великих артеріальних судин. Такі складення називаються макроангіопатіями [259,

291]. Для цукрового діабету II типу характерні мікросудинні ускладнення у вигляді нейроангіопатій, нефропатій та ретинопатій. В експерименті та клініці ці ускладнення проявляються під час розвитку та прогресування ендотеліальної дисфункції. Під час моделювання стрептозотоцинового цукрового діабету було підтверджено посилення синтезу NO на ранніх етапах ЦД та його ролі у патогенезі діабетичної нефропатії [292, 293]. Останнє може бути обумовлене індукцією NO-синтазою і здійснює більш цитотоксичну та цитостатичну дію замість регуляторної. Для цукрового діабету характерні наступні симптоми розладу обміну речовин: абдомінальне ожиріння, гіперглікемія, ендотеліальні дисфункції судин. Усі зазначені порушення супроводжуються збільшенням кількості вільних жирних кислот та посиленням інсулінорезистентності, які блокують синтез NO [259, 294].

Оскільки активність ендотеліальної NO-синтази регулюється інсуліном шляхом фосфорилування протеїнкінази B, то інсулінорезистентність вважається ключовим фактором розвитку ендотеліальної дисфункції при ожирінні та цукровому діабеті [295]. Активація протеїнкінази C, метаболізму гексозамінів та окислювального стресу відбувається при гіперглікемії, тобто починаються ті порушення, які призводять до ослаблення активності ендотеліальної NO-синтази. Також при гіперглікемії пригнічується синтез оксиду нітрогену за участю ендотеліальної NO-синтази та посилюється її каталізація шляхом генерації АФК [296]. Секреція активних форм кисню при гіперглікемії відбувається через їх вплив на ферментні та не ферментні джерела окислювального стресу. З одного боку це може бути протеїнкіназа C і НАДФ-Н оксидаза, а з другого – утворення кінцевих продуктів глікірування [260]. Протеїнкіназа регулює велику кількість метаболічних процесів шляхом фосфорилування білків. Під час окислювального стресу тетрагідробіоптерін (BH<sub>4</sub>) як один із кофакторів ендотеліальної NO-синтази окислюється. Це призводить до роз'єднання ендотеліальної NO-синтази під час якого фермент

продукує супероксиданіон замість NO з утворенням пероксинітриту [259, 297].

Інсулінорезистентність розвивається у тканинах-мішенях у тому числі і судинному ендотелії [275]. Останній у фізіологічних умовах забезпечуючи передачу сигналу між клітинами потрібен для нормального функціонування судин. Під час експерименту було доведено, що у генетично-модифікованих мишей, які не мають рецепторів до інсуліну на ендотеліоцитах активність NO-синтази знижувалась на 60 % у порівнянні із контролем. Ендотеліальна інсулінорезистентність змінює активність внутрішньоклітинних сигнальних шляхів із посиленням активності мітогенактивованих протеїнкіназ та її пригнічення для фосфатиділінозитол-3-кінази [259]. Це пояснюється зменшенням продукції NO, посиленням транскрипції генів та синтезу ендотеліну та гіперкоагуляцією [298]. На тлі терапії, яка покращує чутливість ендотелію до інсуліну, посилюється синтез NO [299]. Наведені дані свідчать про кореляцію між інсуліном, метаболізмом глюкози та продукцією NO. В умовах інсулінової недостатності гіперглікемія призводить до утворення глікозильованого гемоглобіну та вторинної гемічної тканинної гіпоксії. При цукровому діабеті збільшується кількість різних фракцій гемоглобіну, що свідчить про те, що на тлі зниження напруги кисню у крові збільшується відсоток фракцій із заблокованою кісень вміщувальною функцією. За таких умов необхідний організму кисень, який потрібен для функціонування мітохондріальної ланки транспорту електронів, стає токсичною речовиною [259]. Відбуваються метаболічні зрушення, які свідчать про те, що ключовим механізмом їх виникнення є посилення активності вільно радикального окислення мембранних фосфоліпідів, порушення функціонування мембранних структур, накопичення токсичних продуктів, і, як результат, порушення клітинного метаболізму [300]. Не ферментативне глікування макромолекул, яке теж є характерним для цукрового діабету, з'являється тоді коли білки і фосфоліпіди під впливом

окислювального стресу і гіперглікемії модифікуються з утворенням та накопиченням кінцевих продуктів глікування. Збільшена кількість цих продуктів асоціюється із пригніченням синтезу NO, бо порушується транскрипція ендотеліальної NO-синтази та зростає кількість АФК [301].

При довготривалому цукровому діабеті розвиваються полі органні порушення, обумовлені функціональними та структурними змінами русла судин, артеріол, венул, капілярів [261, 302, 303]. Отже, при цукровому діабеті на тлі метаболічних та гормональних зрушень, які супроводжуються активацією перекисних процесів, порушується система пулу оксиду нітрогену [259].

### 1.5 Роль оксиду нітрогену в метаболізмі ока в нормі і при патології

Оксид нітрогену є модулятором системи кровопостачання до сітчастої оболонки та диску зорового нерва. Джерелом ендогенного синтезу NO можуть бути ендотелії судин сітківки, кон'юктива, рогівка слід зазначити, що всі ізоформи NO синтази приймають активну участь у синтезі NO в тканинах ока. Зокрема в ціліарних артеріях, ендотелії судин хоріоїдеї і сітківки та преламінарній ділянці зорового нерву представлена ендотеліальна NO синтаза [304]. При дезорганізації решітчастої пластини спостерігається активізація індцибельної NOS, а у периваскулярних волокнах зорового нерву знаходиться нейрональна ізоформа [305, 306]. Роль оксиду нітрогену, як фізіологічна, так і патофізіологічна як в організмі в цілому, так і в оці зокрема, пов'язана із реакціями з надлишковим накопиченням іонів кальцію. Будь які з цих процесів, будь то зміна активного іонного транспорту, енергетичний дефіцит, оксидативний стрес чи глутаматова ексайтотоксичність – всі вони супроводжуються підвищенням рівня NO. При цьому оксид нітрогену має під час цих реакцій подвійні властивості. З одного боку відбувається активація ексайтотоксичних реакцій і посилення NO

синтаз підвищує синтез NO, який пригнічує NMDA рецептори, знижуючи токсичну дію глутамату і тим самим відіграючи захисну роль [307]. З другого боку посилене утворення NO та похідних від нього радикалів має виражений ушкоджуючий ефект, який превалює над його захисною дією [304].

Існує гіпотеза з приводу регуляторних властивостей NO у дисках зорових нервів та регуляції кровотоку сітківки. Проведені дослідження підтвердили взаємозв'язок між NOS та регуляцією кровотоку в зоні сітківки [308, 309]. Перемінне підвищення секреції оксиду нітрогену у скловидному тілі та посилення кровотоку у дисках зорових нервів відбувалося через зміни нейроактивності сітківки під впливом мерехтливого світла. Гемодинамічні показники а також оксидна відповідь знижуються при пригніченні синтезу NO. Доведено роль NO, як нейротрансмітера у фоторецепторах сітківки ока. Оксид нітрогену є антагоністом ендотеліну, який приймає активну участь у розвитку ішемії та вазоспазму [304].

NO є універсальним внутрішньоклітинним месенджером у ганліозних та біполярних клітинах сітківки, а також регулює хоріоїдний та ретинальний кровотоки. В основі біологічних ефектів оксиду нітрогену лежить зменшення адгезії та агрегації тромбоцитів до клітинної стінки та регуляція кровотоку за рахунок ефекту вазодилатації [304, 310]. NO через релаксуючу дію впливає на гладкомязові клітини – періцити, а також на ендотелій капілярів сітківки та диску зорового нерва шляхом регуляції судинного опору та зміни просвіту судини [304, 311].

Ендотеліальна та нейрональна NO-синтази регулюють очний кровотік. Зниження парціального тиску кисню та швидкості кровотоку, підвищення концентрації вуглекислоти крові, вплив ацетилхоліну, брадикініну, гістаміну та серотоніну є ключовими факторами, які впливають на рецептори мембран ендотелію ретинальних судин. Концентрація рівня кисню в крові є ключовим модулятором тонуусу періцитів. При гіпоксії у стінці судини посилюється

секреція нітрорадикалів через дифузію NO з ендотеліоцитів до перицитів [304]. Цей процес проходить через міжендотеліальні контакти і комплекси, число яких збільшується при зменшенні калібру судин, особливо це стосується артеріол. Підтримка стану дилатації судинного тонушу потребує посиленої віддачі кисню тканинам. Зміна швидкості кровотоку та діаметру судин призводить до посилення секреції NO [304, 311].

Отже спрацьовують метаболічний та міогенний механізми саморегуляції кровотоку переважно в судинах, які живлять диск зорового нерву та в системі хоріокапілярів. Під час активації цих процесів посилюється робота NO-синтаз. Погіршення гемодинаміки ока при ендотеліальній дисфункції відбувається під час збільшення кількості активних форм кисню, активації індукцйбельної NO-синтази та зниження рівня NO. При збільшенні кількості медіаторів запалення включається оксидантний каскад, коли радикальні продукти, які викликають апоптоз клітин, можуть призвести до розвитку оптичної нейропатії [304, 312].

Якщо судинні ефекти оксиду нітрогену досліджені в достатній мірі, то участь NO, як регулятора метаболічних процесів у внутрішньо очній рідині вивчені недостатньо і не носять системного характеру. При гістохімічному дослідженні веретеноподібних клітин корнеосклеральної та юкстаканалікулярульної частин трабекули гігантські клітини шлеммова каналу нервових волокон та кровоносних судин без пігментного епітелію циліарного тіла а також гладких мязів та ендотелію венозних колекторів були визначені багато чисельні ділянки локалізації NO-синтаз. Присутність NO-синтаз у трабекулах доводять, що оксид нітрогену використовується як нейротрансмітер, який здатен розслабляти контрактильні елементи склеральної шпори та трабекули, посилює відтік внутрішньоочної рідини та розширює міжтрабекулярний простір [304]. Оксид нітрогену змінює спротив відтоку, але цей складний механізм залежить не тільки від впливу NO на структуру дренажної системи та відтоку водянистої вологи, але й на



ціліарний м'яз. Останній, маючи значну кількість NO-синтаз, приймає активну участь у відтоці внутрішньо очної рідини, тому що більшість її волокон кріпляться в юкстаканулярній області трабекулярної мережі. Це забезпечує найбільший спротив відтоку водянистої вологи з ока [313]. При розвитку гіпоксії, яка виникає під час офтальмо гіпертензії, спостерігається посилення продукції NO та зменшується витривалість клітин трабекулярного ендотелію [313]. Доведено, що NO активує відтік водянистої вологи та стимулює творення внутрішньо очної рідини. Різнострамована дія оксиду нітрогену залежить від концентрації та окреслює його участь у патогенезі офтальмогіпертензії [304].

#### *Резюме*

Цукровий діабет є неінфекційною пандемією XIX століття із сталою тенденцією до зростання. Одним із ключових ускладнень цієї патології є діабетична ретинопатія, яка призводить до сліпоти, а отже інвалідності. У патогенезі діабетичної ретинопатії ключова роль належить не лише гіперглікемії, а також порушенням функції судинного ендотелію, гіпоксії та окислювальному стресу., особливо слід підкреслити порушення обміну оксиду нітрогену. Подальше вивчення метаболічних механізмів прогресування діабетичної ретинопатії та патогенетично обґрунтованих методів їх корекції є актуальним завданням сучасної патологічної фізіології.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1 Характеристика груп дослідження

Дослідження проводилося на 420 статевозрілих білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-200 г. Вивчали особливості діабетичної ретинопатії на різних етапах розвитку експериментального стрептозотоцинового цукрового діабету (на 30-у, 60-у та 180-у добу) та оптимізацію методів її корекції.

Упродовж місяця до початку та під час експерименту тварин утримували у віварії при сталій температурі 20-21<sup>0</sup> С з вільним доступом до їжі та води, в окремих клітках та природною зміною світла і темряви (по розміру достатніх для вільного переміщення), експерименти проводилися у жовтні – грудні (за для виключення дії статевих гормонів), з дотриманням положень Директиви ЄЕС №609 (1986) та наказу МОЗ України №690 від 23.09.2009 р.

Відповідно до задач тварини були розподілені на 7 груп:

1-а група – 60 інтактних тварин;

2-а група – 60 тварин, у яких моделювали діабетичну ретинопатію без подальшої корекції.

3 група— 60 тварин, у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії.

4 група – 60 тварин, у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта та розчину L-аргініну.

5 група – 60 тварин, у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта та бромфенаку.

6 група – 60 тварин, у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта, L-карнітину та бромфенаку.

7 група – 60 тварин, у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта, розчину L-аргініну та цитиколіну.

Дослідження проводили згідно з «Правилами виконання робіт з використанням експериментальних тварин», затверджених Наказом МОЗ України № 249 від 01.03.2012 та Законом України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (зі змінами від 15.12.2009 р. та від 16.10.2012 р.), і Актом про відповідність проведених досліджень нормам біоетики №9/15 від 08.11. Висновок комісії з біоетики ДП «Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України» № 9/15 від 08.11.2021 р.

2.2 Моделювання патологічного процесу, досліджувані показники та способи корекції

Стрептозотоциновий цукровий та діабетичну ретинопатію моделювали за допомогою інтраперитонального введення стрептозотоцину (Sigma, США) розчиненому в 0.1 М цитратному буфері з рН 4,5 [314, 315]. Дозу стрептозотоцину 55 мг/кг маси тварини розділили на два введення. Введенню стрептозотоцину передувала високожирова дієта протягом 28-и діб [316]. Авторами даної методики доведено, що годування щурів дієтою з високим вмістом жирів (55 % калорій - у 100 г корму с з високим вмістом жирів було 26 г кокосового масла, 2 г холестерину и 72 г стандартного корму для лабораторних тварин) і введенням стрептозотоцину адекватно моделює патогенез стрептозотоцинового цукрового діабету [316].

*Дози препаратів:*

Гіпоглікемічний препарат - метформін (Merck Sante, виробництво Франція) - у дозі 300 мг/кг маси у питтєвій формі [317] на 0,9% розчині натрія хлориду через шприц з внутрішньошлунковим зондом щоденно, протягом усього експерименту,

Введення розчину L-аргініну, який є донатором NO, (СІМЕСТА, виробництво Китай, стандарт якості USP32) здійснювалось шляхом внутрішньошлункового введення розчину L-аргініну на 0,9% розчині натрію хлориду в дозі 500 мг/кг [318] через шприц з внутрішньошлунковим зондом. Об'єм розчину залежав від маси тварини і не перевищував 1 мл. Препарат вводили 1 раз на добу вранці, щоденно протягом 10 днів [318]. Враховуючи те, що L-аргінін - амінокислота, яка є субстратом для NO-синтази (фермента, який каталізує синтез оксиду азоту. Синтез оксиду азоту із L-аргініну є ключовим моментом у підтримці фізіологічного функціонування ендотелію (В.Ю.Лишневська, О.І.Парасюк, Р.І.Леськів, 2011).

Афліберцепт (anti-VEGF терапію) вводили у формі субкон'юнктивальних ін'єкцій у дозі 0,08 мл (25 мг/мл) [319] з інтервалом 1 введення кожні 30 діб. Вибір препарата обумовлений тим, що одним із основних факторів розвитку діабетичної ретинопатії є гіпоксія та в подальшому - неоваскуляризація. Важливим фактором розвитку неоваскуляризації є надлишкова продукція вазопроліферативного фактору, який збільшує проникність судинної стінки. В свою чергу афліберцепт зв'язує судинний ендотеліальний фактор росту судин, чим попереджає процеси неоваскуляризації та знижує розвиток патологічної апроникності сцудинної стінки (Туманова О.В, та співавтори, 2019).

Бромфенак – інстиляції 0,09 % розчину очних крапель 1 раз на добу [320]. Даний препарат – похідний фенілоцтової кислоти, має у своїй формулі атом бром, що підвищує його ліпофільність, аналгезуючу та

протизапальну активність (за рахунок підвищеної афінності до ЦОГ 2) (М.Л. Максимов, А.А. Звєгінцева, И.Д. Каннер, Н.М. Лапкін, 2021). У ряді досліджень встановлено, що бромфенак в 3,7 раза більш ефективний у порівнянні з диклофенаком, в 6,5 раз порівняно з амфенаком и в 18 разів порівняно з кеторолаком. Встановлено, що бромфенак визначається у рогівці, райдужці, сітківці та внутрішньоочній рідині, судинній обонці та циліарному тілі протягом 24-х мгодин після закапування, що обумовлює доцільність його введення 1 раз/добу ( Спірідонов Е. А., 2015)

L-карнітін (“Sigma”, США) вводили у формі водного розчину через шприц з внутрішньошлунковим зондом у дозі 25 мг/100 г маси тварини [321, 322]. Вибір препарату обґрунтований даними, щодо вираженого захисного впливу цього флавоноїду на тіолову систему сітківки при експериментальному цукровому діабеті та його здатності стабілізувати ферменти антиоксидантного захисту та впливом на систему глутатіону [315].

Цитиколін - 81,8 мг/кг (0,33 мл/кг) вводили внутрішньомязово 1 раз на добу [323]. Вибір препарату обґрунтований доведеним в ряді досліджень ретинопротекторним впливом даного препарату (Венгер, Л. В.; Солдатова, А. М.; Левицький, І. М., 2012).

Препарати, використані у роботі вводили в дозуванні згідно інструкції та відповідно до коефіцієнту видової чутливості [324].

Виведення тварин із експерименту проводилося у три етапи:

- 1-й етап дослідження – 30-а доба після моделювання цукрового діабету;
- 2-й етап дослідження – 60-а доба після моделювання цукрового діабету;
- 3-й етап дослідження – 180-а доба після моделювання цукрового діабету.

Тварин виводили з досліду шляхом декапітації у ранковий час за допомогою гільотини

Здійснювали забір крові з ретроорбітального венозного сплетіння, яке лежить в орбіті позаду очного яблука. Прокол здійснювали круговими рухами скляною піпеткою з відтягнутим капіляром, вістря якого сточене під кутом 45 °. Проколювали конюктивальний мішок у медіальному куті ока між очним яблуком та орбітою. Після проколу піпетку вводили на глибину до 2-4 мм за очне яблуко. Контроль потрапляння у венозне сплетіння – наповнення капіляра піпетки кров'ю. При недостатньому об'ємі забраної крові крові здійснювали забір методом пункції серця [325, 326]

Активність ендотеліальної та індукцибельної синтази оксиду нітрогену визначали спектрофотометричним методом за приростом концентрації нітритів та нітратів у реакційній суміші, що містить 50мМ  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (рН 7,0), 1 мМ  $\text{MgCl}_2$ , 1мМ НАДФН2 и 2мМ  $\text{CaCl}_2$  ( для визначення активності ендотеліальної NO синтази) та 4мМ ЕДТА (для зв'язування ендogenous кальцію при вимірюванні активності індукцибельної NO-синтази) протягом 15 хвилин при температурі 37 ° С. Принцип методу: NO-синтаза каталізує перетворення L-аргініну на цитрулін і оксид нітрогену (NO), NO – нестабільна молекула, яка перетворюється на нітрит і нітрат. Вміст нітритів і нітратів визначали за методом L. Green за допомогою реактиву Грісса. Вміст нітритів пропорціональний активності NO-синтаз[327, 328]

Визначення вмісту дієнових кон'югатів у сироватці крові проводилося спектрофотометричним методом [329]. Враховувалось те, що для первинних продуктів вільнорадикального окислення, одним із яких є дієнові кон'югати, характерне поглинання в ультрафіолетовій області спектра з максимумом при 220 - 230 нм. Коефіцієнт мілімолярної екстинції дієнових кон'югатів - 24,4 ммоль<sup>-1</sup> см<sup>-1</sup> [330].

Визначення вмісту в сироватці крові щурів ТБК-активних продуктів (малонового діальдегіду (МДА)). Визначали спектрофотометричним методом [329]. Вимірювали концентрацію малонового діальдегіду (МДА), який при

нагріванні взаємодіє з 2-тіобарбітурової кислоти, утворюючи пофарбований комплекс з максимумом поглинання при  $\lambda = 533$  нм

У пофарбованих розчинах записували спектр поглинання ТБК-активних продуктів спектрофотометрі СФ-46. Вимірювали  $\Delta E_{535-580}$  та розраховували кількість МДА, приймаючи коефіцієнт молярної екстинції, рівним  $1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .  $A_{\text{мда}} (\text{мкМ/л}) = (D_0 - D_x) \cdot 6 / 0,0156$  [330].

Визначення рівня пероксидази проводилося спектрофотометричним методом [331].

Рівень 2,3 дифосфогліцерату еритроцитів визначали спектрофотометричним методом [332].

Рівень фактора Віллебранда визначали імуноферментним методом по ристоцитиновому часі [333, 334].

Вміст S-нітрозотіолів, які, як відомо, є стабільними метаболітами NO, визначали флюориметричним методом [327, 329]. на приладі Hitachi-M (Японія) (Marzinzin M., Nussler A.K. et al), Принцип методу. Конверсія нітросо групи S-нітрозотіолів у нітрити (за допомогою хлориду ртуті) та подальше кислотокаталізоване нітрозотування 2,4-діамінонафталіну. Перед цим NO<sub>2</sub> має бути повністю видалений за допомогою амонію сульфату (редукує NO<sub>2</sub> до N<sub>2</sub> у кислих умовах). Проведення методу. Розчином амонію сульфату з концентрацією 0,1мМ/л осаджують нітрити з розведеної фізрозчином у 7 разів сироватки або гомогенатів тканин. Центрифугували, До 50 мкл надосадової рідини додавали 200мкл реакційної суміші, що складається з 1 частини 1,1мМ HgCl<sub>2</sub> і 4 частин 0,05 г/л діамінонафталіна 0,62М HCl, інкубували 10 хвилин у темряві при кімнатній температурі. Реакцію зупиняли додаванням 20мкл 2,7М NaOH, Вимірювали флюорисценцію при 360/450 нм. Розрахунок проводили по калібрувальній кривій, побудованій з використанням різних концентрацій відновленого глутатіону (від 0,15 до 10,0 мкмоль/л відновленого глутатіону в 1М HCl). З

відновленого глутатіону отримували нітритно-глутатіон шляхом інкубування з нітритом натрію (10,0 мкмоль/л) при кімнатній температурі.

Визначення вмісту ендотеліну-1, який є маркером вазоконстрикції [335], проводили імуноферментним методом в сироватці крові за допомогою наборів реагентів фірми DRG (Німеччина). [329].

Аналіз домінування вазоконстрикторного чи вазодилатаційного потенціалу виконували шляхом визначення співвідношення рівня ендотеліну-1 до S-NO.

Рівень глюкози у крові експериментальних тварин визначали глкозооксидазним методом за допомогою набору реагентів фірми «Філісит-Діагностика (Дніпро).

Рівень фактора росту ендотелію судин (VEGF) у сироватці крові щурів визначали імуноферментним методом за допомогою наборів реактивів фірми «Вектор БЕСТ» (РФ) [337]

Рівень інтерлейкіну 1 В аналізували імуноферментним методом за допомогою наборів «Вектор БЕСТ» (РФ) (А-8774 та А-8766)

Інтерлейкін 1 В і VGEF мають низьку видову специфічність, що дозволяє (в умовах наявності контрольної групи) використовувати для їх визначення набори, призначені для людини.

Вміст АДМА визначали за допомогою рідинного хроматографа LC 5000 (фірма INGOS, Чехія), довжина хвилі 340 нм, в ізократичному режимі. Для твердофазної екстракції (очистка та концентрування) були використані катриджі Absolut Nexus (Variun) [339].

Гістологічне дослідження: після виведення щурів з експерименту проводили енуклеацію. Одне очне яблуко фіксували 24 години в 4 % розчині параформальдегіду, потім одержані матеріали проводили через спирти зростаючої концентрації і заливали у целоїдин за загальноприйнятою методикою. З отриманих блоків виготовляли гістологічні зрізи 7-9 мкм, які фарбували гематоксиліном-еозином. Отримані препарати досліджували під



світловим мікроскопом і визначали структурні зміни в утвореннях очного яблука.

### 2.3 Статистична обробка отриманих результатів

Для виявлення зміни у досліджуваних показниках між різними групами -та на різних етапах нами були використані параметричні статистичні методи, в основу яких покладено оперування з параметрами статистичного розподілу (середнім та дисперсією).

Використані методи розраховані на нормально розподілені дані, тому ми виконали перевірку всіх даних на нормальність за допомогою критерію асиметрії та ексцесу Є.І. Пустильника. Згідно цього критерію розподіл не відрізняється від нормального, якщо обчислені емпіричні значення асиметрії та ексцесу не перевищують критичних, тобто  $A_{\text{емп}} < A_{\text{кр}}$  та  $E_{\text{емп}} < E_{\text{кр}}$ , де  $A_{\text{емп}}$  та  $E_{\text{емп}}$  – обчислені значення асиметрії та ексцесу, а

$$A_{\text{кр}} = 3 \cdot \sqrt{\frac{6 \cdot (n-1)}{(n+1) \cdot (n+3)}} A_{\text{кр}} = 3 \cdot \sqrt{\frac{6 \cdot (n-1)}{(n+1) \cdot (n+3)}}$$

$$E_{\text{кр}} = 5 \cdot \sqrt{\frac{24 \cdot n \cdot (n-2) \cdot (n-3)}{(n+2)^2 \cdot (n+3) \cdot (n+5)}} E_{\text{кр}} = 5 \cdot \sqrt{\frac{24 \cdot n \cdot (n-2) \cdot (n-3)}{(n+2)^2 \cdot (n+3) \cdot (n+5)}}$$

відповідно їх критичні значення [340].

Всі дані, які ми розглядаємо, виявилися нормально розподіленими, тому можна попарно порівнювати середні значення вибірок. Зауважимо, що в подальших порівняннях ми виконуємо порівняння у незалежних вибірках. Це будуть порівняння між різними групами тварин або порівняння між тією ж групою тварин (але так як у вибірках не має відповідності між тваринами, то вони теж будуть незалежними).

Перш ніж порівнювати середні значення двох вибірок, слід з'ясувати, чи однорідні в них дисперсії. Для цього слід виконати перевірку на гомоскедатичність (однорідність дисперсій).

Статистичні гіпотези будуть такі:

**H<sub>0</sub>**: дисперсія у групі 1 не відрізняється від дисперсії у групі 2.

**H<sub>1</sub>**: дисперсія у групі 1 більша за дисперсію у групі 2.

Гіпотези у критерії напрямлені, тому і критерій односторонній.

Гіпотезу H<sub>0</sub> відхиляють, коли  $F_{\text{емп}} > F_{\text{кр}}$ . Про це ж свідчить і *pp*-значення – імовірність похибки відхилити нульову гіпотезу, коли вона правильна. У різних експериментах приймають H<sub>0</sub>, коли *pp*-значення  $> >$  (встановлений рівень значущості), і відхиляють H<sub>0</sub>, коли *pp*-значення  $< <$ . У всіх подальших розрахунках ми обрали стандартний рівень значущості  $= 0,05 = 0,05$ .

Порівняння середніх виконується за допомогою *tt*-критеріє Стьюдента. При порівнянні середніх напрямлені гіпотези будуть такі:

**H<sub>0</sub>**: середнє групи 1 не відрізняється від середнього групи 2.

**H<sub>1</sub>**: середнє групи 1 більше за середнє групи 2.

Для прийняття рішення абсолютне значення обчисленого *tt* порівнюють з одностороннім критичним. Якщо  $|t_{\text{емп}}| < t_{\text{кр}}$ , то нульову гіпотезу відхилити не можна. Тут аналогічно можна робити висновок і по *pp*-значенню.

Всі тести ми будемо виконувати у статистичному пакеті PASW Statistics 18. Будемо використовувати процедуру t-критерію для незалежних вибірок, яка відразу виконує порівняння дисперсій і середніх.

Переримо гіпотезу однорідності дисперсій та рівності середніх на прикладі тварин 1-ї і 2-ї групи на 1 етапі за фактором Віллебранда.

У даному статистичному пакеті використовується тест Лівіня для порівняння дисперсій (табл. 2.1). Тут значення  $0,078 > 0,05$ , тому дисперсії можна вважати однорідними. Відповідно для порівняння середніх потрібно використовувати значення першого рядка, де передбачається рівність дисперсій. У даному рядку ми маємо двостороннє р-значення рівне 0, що менше за обраний рівень 0,05. У подальших порівняннях ми будемо ділити двостороннє значення на 2, якщо воно не буде рівне 0, для того, щоб отримати значення одностороннє, так як нас цікавить напрямлена гіпотеза.

Отже, у цьому прикладі середнє значення у 2-й групі у 1-му етапі за фактором Віллебранда більше за середнє значення у групі 1.

Таблиця 2.1 - Результати порівняння середніх двох вибірок

Критерій для незалежних вибірок									
	Критерій рівності дисперсій Лівіня		t-критерій рівності середніх						
	F	Знч.	t	ст. св.	Значущість (2-стороння)	Відмінність середніх	Стд. помилка відмінності	95 % довірчий інтервал відмінності середніх	
								Нижня межа	Верхня межа
VAR0 Припускається рівність дисперсій	3,288	,078	-13,325	38	,000	-20,60400	1,54627	-23,73427	-17,47373
Рівність дисперсій не припускається			-13,325	33,442	,000	-20,60400	1,54627	-23,74834	-17,45966

У подальших тестах ми будемо відмічати, чи відмінні середні значення. Якщо ж вони відмінні, то потрібно вказати чи ця відмінність є статистично вірогідною. Результати t-тесту дають відповідь про статистичну вірогідність середніх значень. Крім цього розраховували відсоток відхилення досліджуваних показників порівняно з контрольною групою, в динаміці та в ході корекції. але вони не дають можливості точно вимірювати різницю між середніми значеннями. Зауважимо, що ця різниця є досить умовною. Цю різницю ми будемо розраховувати у відсотках, тобто відсоткова різниця між середніми значеннями 1-ї та 2-ї групи буде рівна:

$$\left(\frac{-20,604}{104,79}\right) \cdot 100\% = 19,66\% \left(\frac{-20,604}{104,79}\right) \cdot 100\% = 19,66\%$$

Таким чином ми продемонстрували порівняння середніх значень між різними групами тварин.

Для визначення статистичної достовірності між незалежними сукупностями величин відповідних параметрів у кожній групі, що наведені у вигляді бокс-плотів в ілюстраціях був застосований тест Манна-Уїтні. Значення  $p < 0,05$  було обране у якості критерію достовірності.

*Перейдемо до аналізу математичної моделі.* Розрахунки параметрів логістичної регресії та характеристик, які описують адекватність моделі, були проведені в статистичному пакеті PASW Statistics 18. У якості функції втрат використовували метод максимальної правдоподібності, статистичну значущість моделі було оцінено по декількох критеріях Хі-квадрат та Хосмера-Лемешева.

Значення *PP*-рівня по критерію Хосмера-Лемешева рівне 1, що говорить про повну узгодженість моделі з реально існуючими у вибірці частотами. Це означає, що частина дисперсії, яка пояснюється за допомогою логістичної регресії складає всі 100 %. Також статистичний пакет надає результати інших критеріїв, більш стійких, ніж традиційні статистики згоди,

які використовуються у логістичній регресії, особливо для дослідження вибірок малого розміру, як у нашому випадку [341]. Міра визначеності (коефіцієнт детермінації) за Коксом і Снелом у нашій моделі рівна 0,632 (63,2 %). Даний критерій показує долю впливу всіх факторних ознак на дисперсію залежної змінної.

Ситуація, коли в моделі пояснювана змінна приймає лише два різних значення, виникають при дослідженні впливу тих чи інших суб'єктивних і об'єктивних факторів на наявність чи відсутність деякої ознаки у окремих індивідуумів, домогосподарств та ін. Якщо дослідження охоплює  $nn$  суб'єктів, тобто якщо є  $nn$  спостережень, то факт наявності чи відсутності такої ознаки у  $ii$ -му спостереженні зручно індексувати числами 1 (наявність ознаки) і 0 (відсутність ознаки). Тим самим визначається індикаторна (дихотомічна, бінарна) змінна  $yy$ , яка приймає у  $ii$ -му спостереженні значення  $y_i y_i$ . При цьому  $y_i = 1 y_i = 1$  при наявності ознаки у  $ii$ -го суб'єкту і  $y_i = 0 y_i = 0$  – відсутність ознаки у  $ii$ -го суб'єкту [342].

Задача логістичної регресії - пояснити наявність або відсутність ознаки, що розглядається, значеннями (точніше, поєднанням значень) деяких факторів (пояснюючих змінних). Відповідно задача полягає в оцінці параметрів моделі бінарного вибору, яка в загальному вигляді записується так:

$$y_i = G(\theta_1 x_{i1} + \dots + \theta_p x_{ip}) + \varepsilon_i, \quad i = 1, \dots, n,$$

де  $x_{i1}, \dots, x_{ip} x_{i1}, \dots, x_{ip}$  – значення  $pp$  пояснюючих змінних у  $ii$ -му спостереженні;

$\theta_1, \dots, \theta_p \theta_1, \dots, \theta_p$  – невідомі параметри;  $\varepsilon_1, \dots, \varepsilon_n \varepsilon_1, \dots, \varepsilon_n$  – випадкові похибки, які відображають вплив на наявність чи відсутність досліджуваної ознаки у  $ii$ -го суб'єкту якихось неврахованих додаткових факторів;

$G(z)G(z)$  -  $SS$ -подібна функція розподілу. У якості функції  $G(z)G(z)$  нами була обрана функція стандартного логістичного розподілу (логіт-модель):

$$\frac{e^z}{1 + e^z}$$

Визначимо залежну дихотомічну змінну  $yy$  як «перехід непроліферативної діабетичної ретинопатії у проліферативну стадію», тобто,  $y_i = 1$  при наявності факту переходу непроліферативної діабетичної ретинопатії у проліферативну стадію і  $y_i = 0$  при відсутності цього факту.

У якості змінних-факторів були використані три наступні:

1.  $x_1x_1$  - 2,3 дифосфоглицерат еритроцитів;
2.  $x_2x_2$  - Ендотелін-1;
3.  $x_3x_3$  - Фактор Віллебранда.

Також були побудовані кореляційні поля з лініями тренду, на яких наявні коефіцієнти детермінації. Також побудовані графіки які ілюструють характер зв'язку (прямий чи обернений).

При сумісній появі двох величин у результаті проведення експерименту дослідник має підстави для встановлення певної залежності між ними, зв'язку.

Строгої функціональної залежності між змінними у реальному світі не існує, так як змінні перебувають під впливом випадкових факторів, наслідки яких передбачити практично неможливо. Тому між змінними існує особлива форма зв'язку, яку називають стохастичною, і яка в математичній статистиці трансформується, не змінюючи своєї сутності, у статистичну залежність [28].

При дослідженні двох змінних  $XX$  та  $YY$  зміна значень  $X = x_iX = x_i$  призводить до зміни значень  $YY$ , яку можна розкласти на два компоненти:

систематичну, що пов'язана із залежністю, яка існує між  $XX$  та  $YY$ , і випадкову, яка зазнає впливу випадкових факторів.

Форму зв'язку між змінними  $X$  і  $Y$  можна встановити, використовуючи кореляційні поля (рис. 2.1).

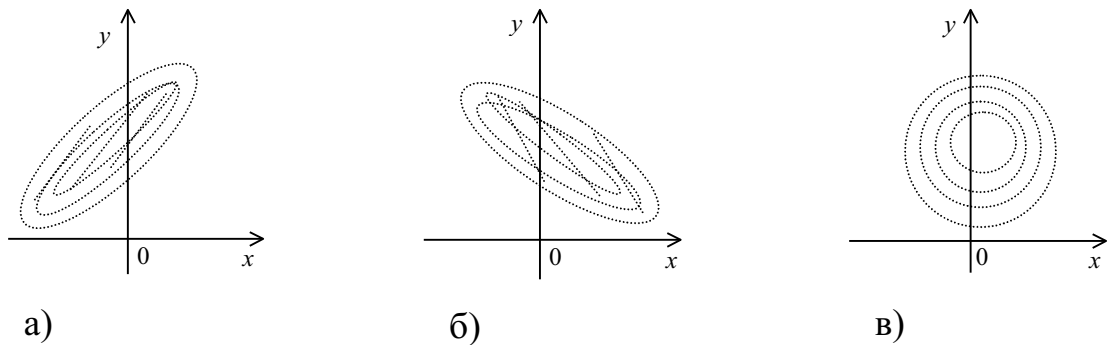


Рисунок 2.1 – Форми кореляційного поля

Тут кожній точці з координатами  $(x_i, y_i)$  відповідає певне числове значення ознак  $XX$  та  $YY$ .

На рис. 2.1а множина точок має тенденцію при збільшенні значень  $XX$  зумовлювати збільшення значень ознаки  $YY$ . Тобто вид зв'язку тут прямий.

На рис. 2.1б множина точок має тенденцію при збільшенні значень  $XX$  зумовлювати зменшення  $YY$ . Тобто вид зв'язку тут обернений.

На рис. 2.1в точки рівномірно розміщені на координатній площині. Це свідчить про відсутність залежності між ознаками  $XX$  і  $YY$ .

Припустимо, що між змінними  $XX$  та  $YY$  теоретично існує певна лінійна залежність. Таке припущення можна висунути на основі аналізу кореляційного поля для пар  $(x_i, y_i)$ , якщо воно матиме такий вигляд, як зображено на рис. 2.2.

Між ознаками  $XX$  і  $YY$  спостерігається досить тісний зв'язок, але не строго функціональний. Деякі спостережувані значення  $yy$ , як правило,

відхилятимуться від передбаченої лінійної залежності під впливом випадкових факторів, які здебільшого є невідомими.

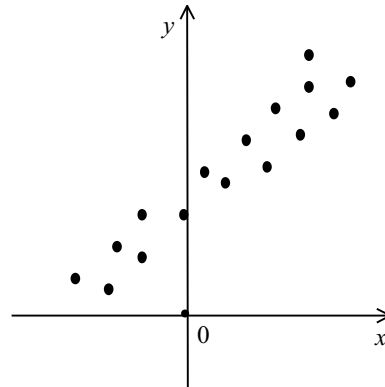


Рисунок 2.2 – Кореляційне поле з лінійною залежністю між змінними

Враховуючи вплив на значення  $Y_i$  випадкових факторів, лінійне рівняння зв'язку (лінійний тренд, рівняння лінійної парної регресії)  $X_i$  та  $Y_i$  можна записати в такому вигляді:

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 x_i + \varepsilon_i,$$

де  $\beta_0, \beta_1$  – невідомі параметри регресії,  $\varepsilon_i$  є випадковою змінною, яка характеризує відхилення  $y_i$  від гіпотетичної теоретичної регресії.

Таким чином, потрібно визначити параметри  $\beta_0, \beta_1$ . Але істинні значення цих параметрів дістати неможливо, так як ми використовуємо інформацію, здобуту від вибірки обмеженого обсягу. Тому отримані значення параметрів будуть лише статистичними оцінками істинних параметрів  $\beta_0, \beta_1$ . Позначимо через  $\beta_0^*, \beta_1^*$  значення параметрів, які ми дістали на основі обробки вибірки. Тоді моделі

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 x_i + \varepsilon_i$$

буде відповідати статистична оцінка

$$\hat{y}_i = \beta_0^* + \beta_1^* x_i.$$



Найчастіше параметри  $\beta_0^*$ ,  $\beta_1^*$  визначаються методом найменших квадратів, який закладений у в основу більшості статистичних пакетів для розрахунку параметрів рівняння регресії (тренду).

Згідно цього методу рівняння лінійної парної регресії  $\hat{y}_i = \beta_0^* + \beta_1^* x_i$  обирають так, щоб сума квадратів відхилень спостережуваних значень від лінії регресії (лінії тренду) була б мінімальною.

Через кореляційне поле проведена лінія регресії  $\hat{y}_i = \beta_0^* + \beta_1^* x_i$ . Відхилення будь-якої точки із координатами  $(x_i, y_i)$ , становить величину  $\varepsilon_i$  (рис. 2.3).

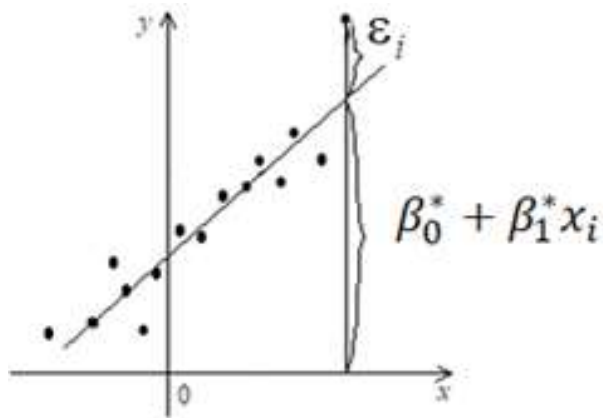


Рисунок 2.3 – Кореляційне поле з лінією регресії (лінією тренду)

Параметри знаходяться за такими формулами:

$$\beta_0^* = \bar{y} - \beta_1^* \cdot \bar{x}$$

$$\beta_1^* = \frac{\frac{\sum x_i y_i}{n} - \bar{x} \bar{y}}{\frac{\sum x_i^2}{n} - (\bar{x})^2},$$

де  $\bar{x}$ ,  $\bar{y}$  – середні значення  $XX$  та  $YY$ .

Важливим показником підбраного рівняння регресії є коефіцієнт детермінації:

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - \bar{y})^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}$$

Коефіцієнт детермінації оцінює адекватність відповідності обраної лінії тренду емпіричним даним та визначає, яка частка варіації одного показника залежить від варіації іншого [342]. Чим ближче він до 1, тим краще тренд відображає залежність між змінними ( $0 \leq R^2 \leq 10 \leq R^2 \leq 1$ ). Якщо він близький до 0, то залежності між змінними немає.

### РОЗДІЛ 3

## ДИНАМІКА РОЗВИТКУ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ У ЩУРІВ, В ЯКИХ МОДЕЛЮВАЛИ ДІАБЕТИЧНУ РЕТИНОПАТІЮ ТА НА ТЛІ ЇЇ КОРЕКЦІЇ

3.1 Результати дослідження динаміки рівня фактора Віллебранда у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу

Підвищення концентрації Фактора Віллебранда у крові у поєднанні з тяжкістю пошкодження судинного ендотелію було неодноразово підтверджено під час змодельованих експериментів на щурах при ендотоксемії та механічному ушкодженні внутрішньої стінки судин, що було доведено також під час клінічних досліджень [343-346]. Ендотеліоцити синтезують Фактор Віллебранда, який знаходиться в нормі у плазмі крові у фізіологічних концентраціях [346].

Значна роль фактор Віллебранда – це функція месенджера у агрегації тромбоцитів та у судинно-тромбоцитарній взаємодії на етапах адгезії [347, 348]. Під час цих реакцій ФВ виконує роль посередника між тромбоцитами та субендотеліальними структурами пошкодженої судинної стінки [349].

Фактор Віллебранда утворюється із невеликим надлишком. Молекули, які не задіяні у реалізації фізіологічних функцій кумулюються у внутрішньоклітинних органелах ендотеліоцитів – тільцях Weibel-Palade. Там вони підлягають посттрансляційній модифікації та мультимеризації та швидко можуть бути мобілізовані [346].

ФВ має велику молекулярну масу та активує тромбоутворення. Сприяючи прикріпленню рецепторів тромбоцитів до колагену і фібронектину судин він тим самим підсилює агрегацію та адгезію тромбоцитів. Утворення фактор Віллебранда посилюється під час ушкодженні ендотелію або під дією

вазопресину. Якщо взяти до уваги, що секреція вазопресину посилюється під час стресів, то можемо зробити висновок, що завдяки активації синтезу Фактор Віллебранда в екстремальних умовах посилюється тромбогенність судин. Слід зазначити, що ФВ також стабілізує молекулу фактор VIII, подовжуючи період її напівіснування та сприяючи транспорту її до ділянки утворення гемостатичної пробки [350].

В ході нашого дослідження змін рівня досліджуваного показника були одержані наступні результати (табл. 3.1).

Таблиця 3.1 - Рівень фактора Віллебранда у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу ( $M \pm m$ ), (%)

Групи	Етапи					
	I етап		II етап		III етап	
1	2	3	4	5	6	7
1 група	84,2 ± 1,28		84,2 ± 1,27		84,2 ± 0,95	
			I-II	p>0,05	I-III II-III	p>0,05 p>0,05
2 група	104,8 ± 0,87		108,9 ± 1,15		112,4 ± 1,18	
	1-2	p<0,001	I-II	p<0,01	I-III	p<0,001
			1-2	p<0,001	II-III 1-2	p<0,05 p<0,001
3 група	102,4 ± 1,36		104,8 ± 1,18		101,5 ± 1,18	
	1-3	p<0,001	I-II	p>0,05	I-III	p>0,05
	2-3	p>0,05	1-3	p<0,001	II-III	p<0,05
			2-3	p<0,01	1-3 2-3	p<0,001 p<0,001
4 група	94,6 ± 1,4		89,7 ± 1,34		86,9 ± 1,13	
	1-4	p<0,001	I-II	p<0,01	I-III	p<0,001
	2-4	p<0,001	1-4	p<0,01	II-III	p>0,05
	3-4	p<0,001	2-4	p<0,001	1-4	p<0,05
			3-4	p<0,001	2-4 3-4	p<0,001 p<0,001

Продовження таблиці 3.1

1	2	3	4	5	6	7
5 група	96,9 ± 1,33		97,5 ± 1,2		98,1 ± 1,24	
	1-5	p<0,001	I-II	p= 0,368	I-III	p=0,256
	2-5	p<0,001	1-5	p<0,001	II-III	p=0,365
	3-5	p<0,01	2-5	p<0,001	1-5	p<0,001
	4-5	p>0,05	3-5	p<0,001	2-5	p<0,001
6 група	92,3 ± 1,35		90,2 ± 1,18		87,2 ± 1,3	
	1-6	p<0,001	I-II	p>0,05	I-III	p<0,01
	2-6	p<0,001	1-6	p<0,001	II-III	p<0,05
	3-6	p<0,001	2-6	p<0,001	1-6	p<0,05
	4-6	p>0,05	3-6	p<0,001	2-6	p<0,001
7 група	90,1 ± 1,41		86,3 ± 1,48		84,6 ± 1,52	
	1-7	p<0,01	I-II	p<0,05	I-III	p<0,01
	2-7	p<0,001	1-7	p>0,05	II-III	p>0,05
	3-7	p<0,001	2-7	p<0,001	1-7	p>0,05
	4-7	p<0,05	3-7	p<0,001	2-7	p<0,001
7 група	5-7	p<0,001	4-7	p<0,05	3-7	p<0,001
	6-7	p>0,05	5-7	p<0,001	4-7	p>0,05
			6-7	p<0,05	5-7	p<0,001
				6-7	p>0,05	

У групі, в якій моделювали діабетичну ретинопатію без подальшої корекції (група № 2) уже на 1-му етапі виявлено підвищення рівня фактору Віллебранда на 19,7 % у порівнянні з даними інтактних тварин (p<0,001). На другому етапі ФВ був вищий на 22,7 % (p<0,001) порівняно з даними 1-ї групи і на 3,8 % порівняно з даними своєї групи на попередньому етапі (p<0,01). Результати третього етапу підтверджують прогресування ендотеліальної дисфункції: порівняно з інтактною групою рівень фактору

Віллебранда вищий 25,1 % ( $p < 0,001$ ). Аналізуючи динаміку ФВ у групі № 2 виявлено, що на 3-му етапі його рівень був більший на 6,8 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з першим етапом, і на 3,1 % ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з другим.

Результати 3-ї групи, у якій тварини одержували лише гіпоглікемічний препарат були наступними. На першому етапі виявлене значне підвищення рівня фактору дисфункції ендотелію – на 17,8 % у порівнянні з даними інтактних тварин ( $p < 0,001$ ), його рівень лише на 2,3 % менший за результати групи без корекції (статистична значущість відсутня). На другому етапі у цій групі рівень ФВ збільшився, і є на 19,7 % ( $p < 0,01$ ) вищим у порівнянні з групою №1. Порівнюючи з групою без корекції виявлено його зниження на 3,9 % ( $p < 0,01$ ). На 3-му етапі рівень досліджуваного маркера в 3-й групі дещо знизився: на 3,2 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з другим етапом. При цьому його рівень на 10,7 % ( $p < 0,001$ ) менший за дані групи № 2 (без корекції) та є вищим на 17 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з інтактними тваринами, що свідчить про виражене прогресування дисфункції ендотелію.

У 4-й групі, на 30-у добу дослідження патологічне підвищення рівня фактору Віллебранда менш виражене у порівнянні із даними попередніх груп на цьому етапі: рівень ФВ був на 10,8 % ( $p < 0,001$ ) менше у порівнянні з групами без корекції, а також на 11 % ( $p < 0,001$ ) вищим порівняно із інтактними тваринами. Рівень досліджуваного маркера у даній групі є на 8,2 % ( $p < 0,001$ ) нижче ніж у групі №3, що свідчить про ефективність додавання до корегуючої терапії донатору оксиду нітрогену вже на ранніх етапах. На 60-у добу суттєво проявляється тенденція щодо нормалізації рівня маркера дисфункції ендотелію у даній групі: рівень ФВ є на 21,4 % ( $p < 0,001$ ) менш патологічно підвищеним, ніж у групі № 2, у якій моделювали діабетичну ретинопатію без подальшої корекції. Порівняно із даними інтактною групи його рівень підвищений на 6,1 % ( $p < 0,01$ ). У порівнянні з даними групи № 3, корекція застосована у 4-ій групі посприяла нормалізації фактору Віллебранда на 16,8 % ( $p < 0,001$ ). У порівнянні з першим етапом, результати

4-ї групи на 2-му етапі є кращими 5,2 % ( $p < 0,01$ ). На 3-ому етапі (180-а доба) зберігається позитивна тенденція щодо нормалізації рівня досліджуваного маркера дисфункції ендотелію: його рівень є на 29,3 % ( $p < 0,001$ ) нижчим, ніж у групі без корекції ДР. Патологічне підвищення виявлено у порівнянні із інтактними тваринами лише на 3,1 % ( $p < 0,05$ ). Порівняно з даними 3-ої групи, у якій використовували гіпоглікемічну терапію, застосування донатора оксиду нітрогену є результативнішим на 16,8 % ( $p < 0,001$ ). Аналізуючи поетапну динаміку рівня фактору Віллебранда у 4-й групі виявлено, що на 3-ому етапі він є 8,9 % ( $p < 0,001$ ) нижче порівняно з першим етапом.

При аналізі даних 5-ої групи рівень фактору Віллебранда є на 13,1 % ( $p < 0,001$ ) вище, ніж у інтактній групі. Порівняно із групою №2 значення маркера ендотеліальної дисфункції є нижчим на 8,2 % ( $p < 0,001$ ), у порівнянні з даними групи №3 застосування бромсинаку у складі корегуючої терапії є на 5,7 % ( $p < 0,01$ ) ефективнішим, а у порівнянні з групою №4 (в якій додавали донатор оксиду нітрогену) статистично значущих відмінностей не встановлено. На другому етапі дослідження виявлена негативна динаміка у вигляді часткового збільшення кількості фактору Віллебранда: порівняно з першою групою він є вищим на 13,6 % ( $p < 0,001$ ). Порівнюючи із даними групи № 2, в якій не корегували змодельовану ДР, рівень ФВ є менш суттєво підвищеним на 11,7 % ( $p < 0,001$ ), а порівнянні з даними третьої групи на 7,5 % ( $p < 0,001$ ). У порівнянні з даними групи № 4 рівень ФВ є патологічно вищим на 8 % ( $p < 0,001$ ). На третьому етапі встановлено, що застосування НПЗС не стримує розвиток дисфункції ендотелію при експериментальній ДР. Рівень фактору Віллебранда є на 14,2 % ( $p < 0,001$ ) вище у порівнянні з даними інтактних тварин. У порівнянні із значно підвищеним рівнем цього маркера у групі без корекції, на 3-ому етапі, у 5-ій групі він є нижчим на 14,6 % ( $p < 0,001$ ). Порівняно із даними групи №3 результати є кращими на 3,5 % ( $p < 0,05$ ). А у порівнянні з групою №4 коригуюча терапія групи № 5

виявилась менш результативною на 11,4 % ( $p < 0,001$ ). Аналізуючи поетапно динаміку збільшення рівня ФВ у групі № 5 статистично значущих відмінностей не виявлено.

У групі № 6, яка отримувала комплексну корекцію метформіном, афліберсептом, L-карнітіном та бромфенаком (тобто, порівняно із групою №5 терапія посилилась введенням L -карнітіну) були одержані наступні результати. Рівень фактору Віллебранду у порівнянні з групою № 2 є нижчим на 13,5 % ( $p < 0,001$ ), а у порівнянні з інтактними тваринами його рівень підвищений на 8,8 % ( $p < 0,001$ ). Порівнюючи з даними групи №3, встановлено зниження досліджуваного маркера на 10,9 % ( $p < 0,001$ ), а у порівнянні з четвертою групою стат.відмінностей не виявлено. Порівнюючи з даними групи №5 рівень ФВ є меншим на 4,9 % ( $p < 0,01$ ). На 30-у добу виявлено, що рівень ФВ є на 20,7 % ( $p < 0,001$ ) нижчим за значення у другій групі. Порівняно з інтактними тваринами підвищення виявлено на рівні 6,7 % ( $p < 0,001$ ). У порівнянні з третьою групою рівень фактору Віллебранда є нижчим на 16,2 % ( $p < 0,001$ ). Порівняно з даними четвертої групи статистично значущі відмінності відсутні. У порівнянні з результатами групи № 5 рівень ФВ нормалізувався на 8,1 % ( $p < 0,001$ ). Порівняно з даними першого етапу стат.відмінності не виявлені. На третьому етапі експерименту у шостій групі встановлено, що рівень фактора Віллебранда є меншим у порівнянні із групою №2 на 28,9 % ( $p < 0,001$ ), а і з третьою групою - на 16,4 % ( $p < 0,001$ ). Спостерігається виявлена на другому етапі відсутність відмінностей порівняно з 4-ю групою. У порівнянні з групою №5 рівень досліджуваного маркера є нижчим на 12,5 % ( $p < 0,001$ ). У порівнянні з даними інтактною групою рівень ФВ є вищим на 3,4 % ( $p < 0,05$ ). При дослідженні динаміки у шостій групі встановлено, що на третьому етапі рівень маркера є нижчим на 5,8 % ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з першим етапом і на 3,45 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з другим.



При дослідженні сьомої групи на першому етапі виявлено, що рівень фактору Віллебранда на 16,3 % ( $p < 0,001$ ) нижче показників другої групи. Його рівень на 6,5 % ( $p < 0,01$ ) перевищує дані інтактних тварин. Нормалізація функціонального стану ендотелію у порівнянні з третьою групою доведена на 13,6 % ( $p < 0,001$ ), у порівнянні з четвертою – на 5 % ( $p < 0,05$ ), з п'ятою на 7,5 % ( $p < 0,001$ ), а у порівнянні з шостою групою стат.відмінності не виявлені. Вищезазначене свідчить про те, що коригуюча терапія, яка складається з медформіну, афліберсепту, цитиколіну та L-аргініну є найбільш ефективною вже на 30 добу дослідження. На 60 добу експерименту встановлено, що рівень фактору Віллебранда у порівнянні з групою № 2 на 26,2 % ( $p < 0,001$ ) наближається до контрольних показників, його рівень статистично не відрізняється від значень інтактних тварин. Концентрація досліджуваного маркера ендотеліальної дисфункції є нижчою на 21,4 % ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з групою №3, на 3,9 % ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з четвертою групою, на 12,9 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з групою №5, на 4,5 % ( $p < 0,05$ ) менше за групу №6. Спостерігається позитивна динаміка у групі № 7 у порівнянні з попереднім етапом- рівень ФВ був нижчим на 4,4 % ( $p < 0,05$ ). На 180-у добу концентрація фактору Віллебранда є на 32,9 % ( $p < 0,001$ ) нижчою за показники групи № 2. Звертає на себе увагу максимально виражена нормалізація рівня фактора Віллебранда- він статистично не відрізняється від даних інтактної групи. Рівень досліджуваного показника ЕД є на 19,9 % ( $p < 0,001$ ) нижчим у порівнянні з третьою групою, на 15,9 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з групою № 5. Він статистично не відрізняється порівняно з 4-ю та 6-ю групами. На цьому етапі рівень ФВ є нижчим на 6,5 % ( $p < 0,01$ ) у порівнянні з даними першого етапу. Отримані дані свідчать, що ефективність запропонованого способу корекції виявляються уже на 30-у добу та поетапно збільшуються, сприяючи нормалізації показника функціонального стану ендотелію (рис 3.1).

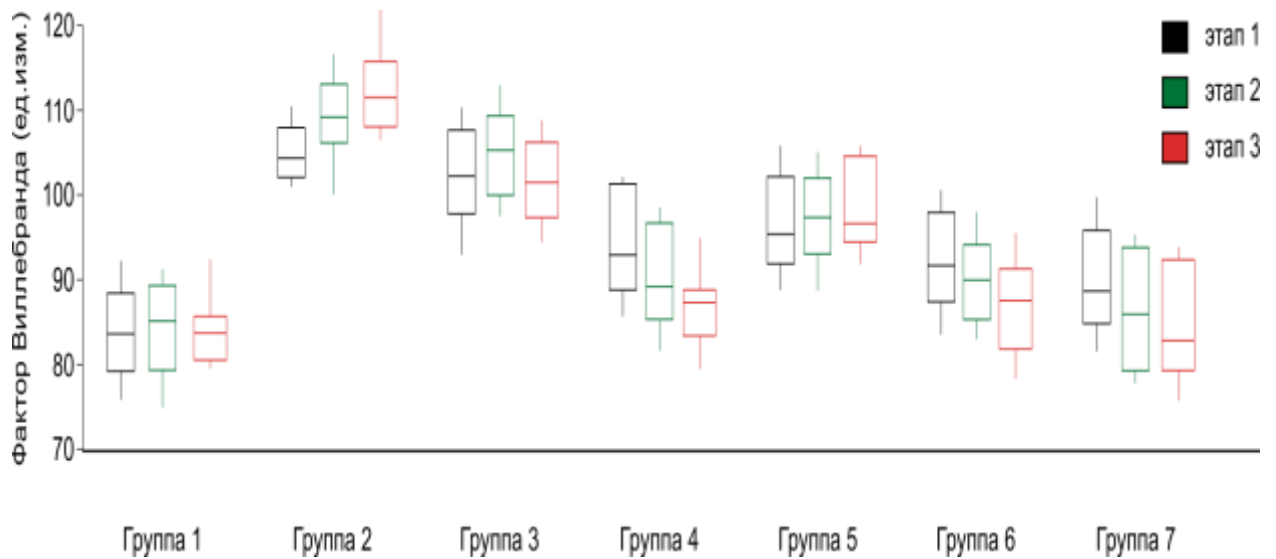


Рисунок 3.1 – Рівень фактора Віллебранда у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу. Бокс плоти ілюструють розподіл величин рівня досліджуваного показника в усіх групах експерименту на кожному із етапів дослідження (n=20)

Слід зазначити, що для ендотеліальної дисфункції характерне як порушення ендотелій-залежної вазодилатації судин, так і посилена адгезивність ендотеліальної вистилки [350]. Тож можна підкреслити, що фактор Віллебранда є важливим діагностичним маркером ступеню адгезивності ендотелію. Оскільки пошкодження ендотеліоцитів супроводжується посиленням синтезу фактора Віллебранда, цей показник можна розглядати як важливий діагностичний тест ступеня пошкодження ендотелію судин [351, 352].

Під час експерименту нами було підтверджено важливість визначення фактора Віллебранда для прогнозу розвитку діабетичних ретинопатій. На тлі розвитку змодельованої нами ДР встановлені об'єктивні зміни і виявлено, що фактор Віллебранда значно виходить за фізіологічні рамки під час даної

патології. Доказом ефективності обраної моделі та інформативності аналізу рівня фактор Віллебранда як маркера змін при досліджуваній патології можна зазначити суттєву різницю у показниках першої (інтактної групи) та показниками в 2-7-ій груп. Також доцільно було детально порівняти результати груп, в яких проводилось лікування із контрольною групою та із групою експериментальної діабетичної ретинопатії без корекції. Нами встановлена статистично достовірна різниця між групами, де проводилось лікування та групою без корекції змодельованого патологічного процесу. Виявлено, що покращення в групах 3, 4, 5, 6, 7 по наростаючій відрізнялось від 2-ї групи.

І якщо показники 3-ї групи виражено не відрізнялись від 2-ї, то в усіх інших була відмічена суттєва нормалізація рівня фактор Віллебранда. Порівнюючи ступінь покращень у різних групах слід зазначити, що поліпшення найбільш виражено у 7-й групі експерименту.

Варто зауважити, що навіть при компенсації вуглеводного обміну продовжується розвиток ДР, тому гіперглікемія – не єдиний фактор розвитку ретинопатії при цукровому діабеті. Серед інших важливих причин варто зазначити роль артеріальної гіпертензії, порушення судинного тонуусу та розвиток макулярного набряку [353-357]. На сьогоднішній день доведена ключова роль дисфункції ендотелію у виникненні та прогресуванні ДР [358, 359]. Визначено, що початковими морфологічними ознаками досліджуваного патологічного стану є проліферація ендотеліоцитів, потоншення базальної мембрани та втрата перицитів, що в свою чергу призводить до виникнення аневризм та порушення діаметру капілярів судин та гемодинаміки [360-362].

Доведено, що саме ендотеліоцити першими «приймають удар» гіперглікемії, глюкозо токсичності та дисліпідемії і під його впливом починають синтезувати атерогенні фактори [358, 363]. Прослідковується збільшення проникності стінки судин та порушення їх еластичності, що

призводить до виникнення геморагій та ексудатів. Порушується транскапілярний транспорт, що в свою чергу призводить до ішемії сітківки [363].

### 3.2 Результати дослідження динаміки вазоконстрикторно-вазодилатційного потенціалу судин

#### 3.2.1 Результати дослідження вмісту S-нітрозотіолів у крові тварин із діабетичною ретинопатією та її корекцією при експериментальному стрпозотоциновому цукровому діабеті

Доведено, що S-нітрозотіоли на рівні з динітрозотіоловими комплексами заліза з глутатіоном або цистеїном в якості тіолових лігандів є ендотеліальним фактором релаксації [364]. Також S-нітрозотіоли виконують функцію основної транспортної форми оксиду нітрогену, яка переносить його між клітинами. У подальшому S-нітрозотіоли в зоні із високим вмістом тіолів а негемового заліза утворюють динітрозольні комплекси заліза, катаболізм яких вивільняє оксид нітрогену. S-NO розслаблюють судини а також виступають в якості стабілізаторів оксиду нітрогену та утворюють фізіологічне депо NO, виконуючи його транспортну функцію [365, 366]. Одним із шляхів утворення оксиду нітрогену є його вивільнення із S-нітрозотіолів. Останні є донорами NO і, як зазначалось відіграють ключову роль у транспортуванні та виділенні цієї молекули в організмі людини [367-369]. Катаболізм S-нітрозотіолів має суттєве значення для розуміння метаболізму людини. Ключовим питанням є вивчення взаєморегуляції оксиду нітрогену із його похідними чи продуктів його окислення, у першу чергу нітрит іонів а також S-нітрозотіолів для розуміння інтрацелюлярних змін при переході від фізіологічних до патологічних станів у клітині. Оксид нітрогену, який продукується ендотеліоцитами, мігрує до міжклітинного простору, де захоплюється еритроцитами та транспортується до м'язевих

клітин, викликаючи у них вазодилатвацію [370]. Загальна формула S-нітрозотіолів – RSNO, де R представляє собою цистеїн місткий пептид, RS – піолатаніон, і NO<sup>-</sup> – нітрозогрупи [369]. З моменту ідентифікації S-нітрозотіолів, як ключових компонентів реакцій, що активують синтез оксиду нітрогену, значно зріс інтерес до їх обмінних реакцій. Синтезовані RSNO відіграють ключову роль в дослідженні NO-залежних механізмів передачі сигналів та використовуються в якості донорів оксиду нітрогену. Дослідження перш за все сфокусовані на SNO, як на проміжній ланці утворення оксиду нітрогену та маркері його синтезу [371]. S-нітрозотіоли стабілізують рівень оксиду нітрогену на високо консервативному цистеїну у бета-ланці гемоглобіну [372].

На першому етапі встановлене виражене зниження вмісту S-нітрозотіолів у крові тварин, яким моделювали діабетичну ретинопатію: рівень S-NO знизився у 2-й групі на 110,4 % у порівнянні з даними 1-ї групи ( $p < 0,001$ ) (табл. 3.2).

На 60-у добу (II-й етап) виявлене ще більш виражене зниження вазодилатційного потенціалу: вміст S-NO менший на 139,9 % у порівнянні з інтактними тваринами ( $p < 0,001$ ). Порівнюючи дані 2-ї групи I-го та II-го етапу виявлено ослаблення вазодилатції, але статистично значущих відмінностей не встановлено.

На III-му етапі дослідження виявлено, що у групі, в якій моделювали діабетичну ретинопатію, вміст S-нітрозотіолів знизився на 190,7 % порівняно з інтактними тваринами ( $p < 0,001$ ), що свідчить про ще більш виражене зменшення вазодилатції та значне порушення синтезу оксиду нітрогену. Проводячи поетапний аналіз S-нітрозотіолів на кожному із етапів експерименту у групі №2 виявлено наступне: відмінності між даними I-го та III-го етапу склали 37,8 % ( $p < 0,05$ ), статистичні відмінності між II та III етапом не виявлено.

Таблиця 3.2 – Вміст S-нітрозотіолів у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу ( $M \pm m$ ), (мкмоль/л)

Групи	Етапи					
	I етап		II етап		III етап	
1	2	3	4	5	6	7
1 група	0,38 ± 0,01		0,37 ± 0,01		0,38 ± 0,01	
			I-II	p>0,05	I-III II-III	p>0,05 p>0,05
2 група	0,18 ± 0,01		0,16 ± 0,01		0,13 ± 0,01	
	1-2	p<0,001	I-II	p>0,05	I-III	p<0,05
			1-2	p<0,001	II-III 1-2	p>0,05 p<0,001
3 група	0,24 ± 0,01		0,22 ± 0,01		0,18 ± 0,01	
	1-3	p<0,001	I-II	p= 0,15	I-III	p<0,01
	2-3	p<0,01	1-3	p<0,001	II-III	p<0,05
			2-3	p<0,001	1-3 2-3	p<0,001 p<0,01
4 група	0,28 ± 0,01		0,3 ± 0,01		0,31 ± 0,01	
	1-4	p<0,001	I-II	p>0,001	I-III	p<0,05
	2-4	p<0,001	1-4	p<0,001	II-III	p>0,05
	3-4	p<0,05	2-4	p<0,001	1-4	p<0,001
			3-4	p<0,001	2-4 3-4	p<0,001 p<0,001
5 група	0,31 ± 0,01		0,27 ± 0,02		0,24 ± 0,01	
	1-5	p<0,001	I-II	p<0,05	I-III	p<0,001
	2-5	p<0,001	1-5	p<0,001	II-III	p>0,05
	3-5	p<0,001	2-5	p<0,001	1-5	p<0,001
	4-5	p>0,05	3-5	p<0,05	2-5	p<0,001
			4-5	p>0,05	3-5 4-5	p<0,01 p<0,001

Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5	6	7
6 група	0,28 ± 0,01		0,33 ± 0,01		0,26 ± 0,01	
	1-6	p<0,001	I-II	p<0,05	I-III	p>0,05
	2-6	p<0,001	1-6	p<0,05	II-III	p<0,001
	3-6	p<0,05	2-6	p<0,001	1-6	p<0,001
	4-6	p= 0,417	3-6	p<0,001	2-6	p<0,001
	5-6	p= 0,154	4-6	p>0,05	3-6	p<0,001
			5-6	p<0,01	4-6	p<0,01
					5-6	p>0,05
7 група	0,31 ± 0,01		0,32 ± 0,02		0,36 ± 0,01	
	1-7	p<0,001	I-II	p>0,05	I-III	p<0,01
	2-7	p<0,001	1-7	p<0,05	II-III	p<0,05
	3-7	p<0,001	2-7	p<0,001	1-7	p>0,05
	4-7	p>0,05	3-7	p<0,001	2-7	p<0,001
	5-7	p>0,05	4-7	p>0,05	3-7	p<0,001
	6-7	p>0,05	5-7	p<0,05	4-7	p<0,001
			6-7	p>0,05	5-7	p<0,001
				6-7	p<0,001	

У третій групі на першому етапі вміст S-нітрозотіолів є нижчим на 56,78 % (p<0,001) відносно інтактної групи, і вищим на 25,5 % (p<0,01) порівняно з групою №2. На другому етапі він на 69,9 % (p<0,001) знизився відносно 1-ї групи і є на 29,2 % (p<0,001) більшим ніж у групі без корекції. На етапі №3 рівень маркера є нижчим на 104,6 % (p<0,001) порівняно з 1-ю групою. Відносно групи №2 він вищий на 29,4 % (p<0,01). Проводячи поетапну характеристику доведено невпинне зменшення вазодилататорного потенціалу – на 30,5 % (p<0,01) порівняно з 1-м етапом і на 19,6 % (p<0,05) порівняно з 2-им.

У групі № 4 вміст S-нітрозотіолів на першому етапі на 34,1 % (p<0,001) нижчий ніж у 1-й групі. Порівняно з групою без корекції він більший на

36,25 % ( $p < 0,001$ ) і порівняно з групою №3 – на 14,5 % ( $p < 0,05$ ). На другому етапі рівень маркера на 24,3 % ( $p < 0,001$ ) нижчий відносно інтактної групи, порівняно з 2-ю групою він більший на 48,2 % ( $p < 0,001$ ), а стосовно групи №3 кращий на 26,8 % ( $p < 0,001$ ). На третьому етапі вмість маркера вазодилатації нижчий на 22,2 % ( $p < 0,001$ ) відносно 1-ї групи; порівнюючи з 2-ю групою встановлено його підвищення на 57,9 % ( $p < 0,001$ ), а порівнюючи з 3-ю – на 41,1 % ( $p < 0,001$ ). Стосовно першого етапу рівень показника підвищився на 9,1 % ( $p < 0,05$ ).

У групі № 5 рівень маркера вазодилатації був на 23,1 % ( $p < 0,001$ ) нижчим порівняно з інтактною групою. Відносно групи №2 показник є вищим на 41,5 % ( $p < 0,001$ ), відносно третьої групи – на 21,5 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з групою №4 статистично значущих відмінностей не встановлено. На другому етапі спостерігається зниження вмісту S-NO на 14,9 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з 30-ю добою. Рівень маркера на 40,5 % ( $p < 0,001$ ) нижчий відносно інтактної групи, порівняно з 2-ю і 3-ю групами він вищий на 41,4 % ( $p < 0,001$ ) і 17,3 % ( $p < 0,05$ ) відповідно. Відносно 4-ї групи достовірних відмінностей не встановлено. На третьому етапі зниження вмісту S-нітрозотіолів є ще більш вираженим – на 28,7 % ( $p < 0,001$ ) відносно першого етапу. Порівняно з групою №1 рівень нижчим на 58,9 % ( $p < 0,001$ ). У порівнянні з групою №2 вміст маркера вазодилатації вищий на 45,4 % ( $p < 0,001$ ), з групою №3 – на 22,6 % ( $p < 0,01$ ). А відносно групи №4 рівень показника є нижчим на 29,9 % ( $p < 0,001$ ).

При дослідженні вмісту S-нітрозотіолів у крові щурів шостої групи встановлено, що рівень є на 32,2 % ( $p < 0,001$ ) нижчим ніж у інтактних тварин, на 37,1 % ( $p < 0,001$ ) вищим порівняно з групою № 2. Відносно 3-ї групи рівень маркера теж є вищим – на 15,7 % ( $p < 0,05$ ). А у порівнянні з даними груп 4 та 5 статистично значущих відмінностей не виявлено. На другому етапі вміст S-NO є вищим на 13,8 % ( $p < 0,05$ ) відносно попереднього етапу. Порівняно з групою №1 вміст маркера нижчий на 13,2 % ( $p < 0,05$ ). Відносно



2-ї групи встановлено підвищення показника на 52,8 % ( $p < 0,001$ ), а відносно 3-ї – на 33,4 % ( $p < 0,001$ ). Статистично значущих відмінностей порівняно з групою №4 не виявлено. У порівнянні з групою №5 результат є кращим на 19,4 % ( $p < 0,01$ ). На третьому етапі покращення вмісту S-NO є дещо менш вираженим – він нижчий на 27,5 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з 60-ю добою і на 45,6 % ( $p < 0,001$ ) менший порівняно з інтактною групою. Відносно групи № 2 рівень маркера вищий на 49,9 % ( $p < 0,001$ ), а відносно групи №3 – на 29 % ( $p < 0,001$ ). У порівнянні з 4-ю групою на третьому етапі корекція використана 6-й групі є менш ефективною на 19,1 % ( $p < 0,01$ ). Порівняно з групою №5 достовірних відмінностей не виявлено.

У сьомій групі на першому етапі рівень S-NO нижчий на 22,7 % ( $p < 0,001$ ) відносно норми. Порівняно зі значеннями 2-ї групи вміст маркера є вищим на 41,7 % ( $p < 0,001$ ). Відносно групи № 3 він більший на 21,7 % ( $p < 0,001$ ). Відмінностей порівняно з 4-ю, 5-ю та 6-ю групами не встановлено.

На другому етапі вміст S-NO на 15,7 % ( $p < 0,05$ ) нижчий порівняно з інтактною групою. Відносно групи №2 значення маркера вище на 51,8 % ( $p < 0,001$ ), відносно 3-ї – на 31,9 % ( $p < 0,001$ ), а порівняно з 5-ю – на 17,7 % ( $p < 0,05$ ). Порівняно з 4-ю та 6-ю групою статистично значущих відмінностей не виявлено.

На третьому етапі спостерігається позитивна динаміка, яка проявляється у підвищенні рівня S-NO на 15,6 % ( $p < 0,01$ ) відносно 1-го і на 11 % ( $p < 0,05$ ) відносно 2-го етапу. Стосовно інтактної групи статистичних відмінностей не виявлено, що свідчить про нормалізацію рівня маркера в групі №7. Відносно усіх наступних груп проявляється підвищення показника: на 64,3 % ( $p < 0,001$ ) вище ніж у 2-ї групі, на 49,4 % ( $p < 0,001$ ) вище ніж у 3-й, на 15 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з 4-ю групою, на 34,6 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з 5-ю, і на 28,7 % ( $p < 0,001$ ) відносно групи № 6. Тобто можемо стверджувати, що корекція, використана у 7-й групі, є найбільш ефективною стосовно нормалізації патологічно зниженого

вазодилатційного потенціалу і є максимально вираженою на 3-му етапі експерименту. Динаміка вмісту досліджуваного маркера наочно проілюстрована на рис. 3.2.

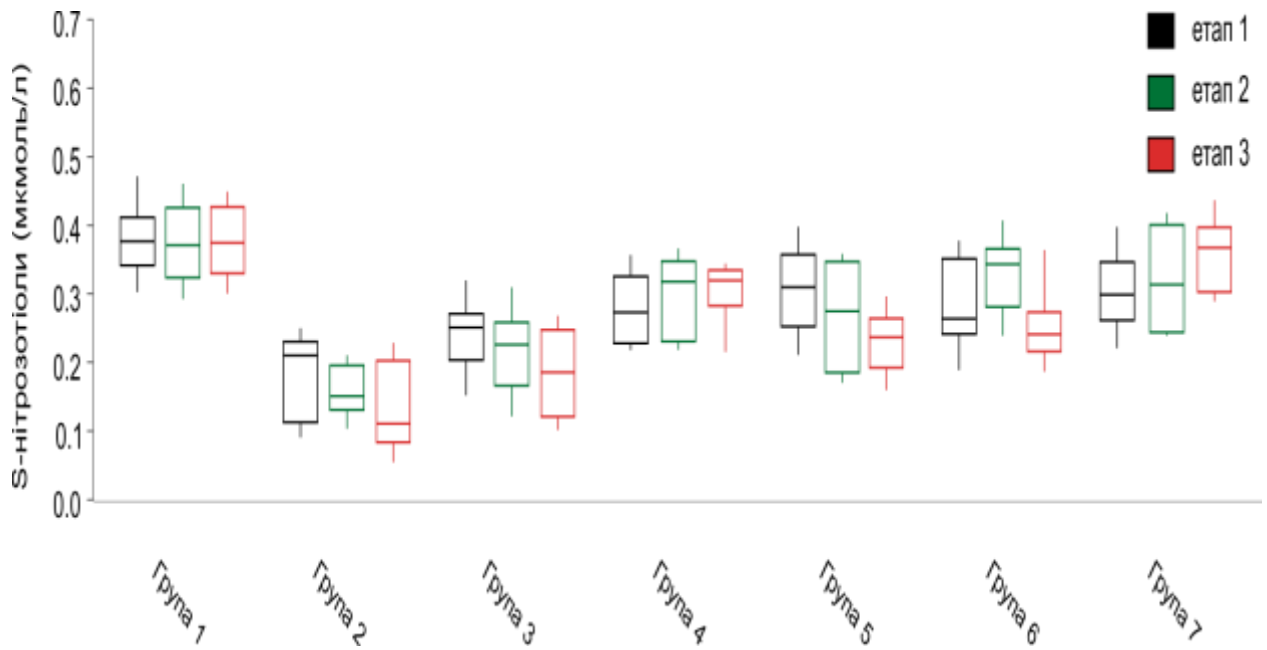


Рисунок 3.2 – Вміст S-нітрозотіолів у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу. Бокс плоти ілюструють розподіл величин рівня досліджуваного показника в усіх групах експерименту на кожному із етапів дослідження (n=20)

3.2.2 Результати дослідження рівня ендотеліну-1 у крові експериментальних тварин, яким моделювали стрептозотоцинову діабетичну ретинопатію та на тлі її корекції

За патологічних умов спостерігається значне збільшення кількості ендотеліну-1, який у взаємодії із V-рецепторами викликає вазоспастичний ефект [373, 374]. Також стимулюють експресію ендотеліну-1 гіперхолестеринемія, ліпопротеїд низької щільності, гіпоксія, гіперглікемія, ангіотензин-2, кортизол та тромбін [375]. Ендотелін-1 стимулюючи рецептори на клітинах гладеньких м'язів призводить до стійкої

вазоконстрикції та проліферації середніх оболонок малих за діаметром судин. Слід зазначити, що ендотелін-1 у 100 разів потужніший за ангіотензин-2 і під час його введення спостерігається зниження коронарного кровотоку на 90 % [373, 376]. Через активацію цитокінів ендотелін-1 посилює запальний процес, а також синтез і секрецію таких факторів, як фактор росту фібробластів, який через формування позаклітинного матриксу спричиняє розвиток судинних патологій [373, 375-379]. Під час розвитку ендотеліальної дисфункції ендотелін-1 не лише приймає активну участь у цьому процесі, але й може призвести до інсулінрезистентності через збільшення активних форм кисню, у першу чергу супероксиданіону. Слід зазначити, що тісно пов'язаний з активними формами кисню Е-1 опосередковано ініціює дисфункцію серцево-судинної системи та діабетичні ускладнення [380]

Даний маркер вважається класичним вазоконстриктором, який під час експериментів проявляє і мітогенні функції. Існує тісний кореляційний зв'язок між швидкістю розвитку ендотеліальної дисфункції та концентрацією ендотеліну-1 у плазмі крові. Також ряд дослідників відзначали під час змодельованої гіперхолестеринемії високий рівень ендотеліну у піддослідних тварин. Та ж тенденція відзначалась і у хворих з гіперхолестеринемією. При серцево-судинній патології, зокрема нестабільній стенокардії чи гострому інфаркті міокарді у пацієнтів також спостерігалась підвищена концентрація зазначеного показника у плазмі крові [381, 382].

Уже на першому етапі встановлене значне підвищення досліджуваного показника в групі зі змодельованою патологією у порівнянні з даними інтактних тварин. Рівень маркера ендотеліальної дисфункції підвищений на цьому етапі на 56,8% ( $p < 0,001$ ) (табл 3.3).

На другому етапі рівень Е1 у групі № 2 підвищений на 62,4 %, порівняно з групою № 1 ( $p < 0,001$ ).

Таблиця 3.3 – Рівень ендотеліну-1 у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу ( $M \pm m$ ), (пкг/л)

Групи	Етапи					
	I етап		II етап		III етап	
1	2	3	4	5	6	7
1 група	3,03 ± 0,18		3,03 ± 0,16		3,03 ± 0,18	
			I-II	p>0,05	I-III II-III	p>0,05 p>0,05
2 група	7,02 ± 0,22		8,05 ± 0,2		8,34 ± 0,2	
	1-2	p<0,001	I-II	p<0,001	I-III	p<0,001
			1-2	p<0,001	II-III 1-2	p>0,05 p<0,001
3 група	5,31 ± 0,21		5,9 ± 0,2		6,42 ± 0,18	
	1-3	p<0,001		p<0,05	I-III	p<0,001
	2-3	p<0,001	I-II	p<0,001	II-III	p<0,05
			1-3	p<0,001	1-3	p<0,001
			2-3	p<0,001	2-3	p<0,001
4 група	5,18 ± 0,15		5 ± 0,19		4,93 ± 0,18	
	1-4	p<0,001	I-II	p>0,05	I-III	p>0,05
	2-4	p<0,001	1-4	p<0,001	II-III	p>0,05
	3-4	p>0,05	2-4	p<0,001	1-4	p<0,001
			3-4	p<0,001	2-4 3-4	p<0,001 p<0,001
5 група	5,04 ± 0,18		5,16 ± 0,2		5,21 ± 0,2	
	1-5	p<0,001	I-II	p>0,05	I-III	p>0,05
	2-5	p<0,001	1-5	p<0,001	II-III	p>0,05
	3-5	p>0,05	2-5	p<0,001	1-5	p<0,001
	4-5	p>0,05	3-5	p<0,001	2-5	p<0,001
			4-5	p>0,05	3-5 4-5	p<0,001 p>0,05

Продовження таблиці 3.3

1	2	3	4	5	6	7
6	4 ± 0,21		3,84 ± 0,21		3,64 ± 0,2	
група	1-6	p<0,001	I-II	p>0,05	I-III	p>0,05
	2-6	p<0,001	1-6	p<0,01	II-III	p>0,05
	3-6	p<0,001	2-6	p<0,001	1-6	p<0,05
	4-6	p<0,001	3-6	p<0,001	2-6	p<0,001
	5-6	p<0,001	4-6	p<0,001	3-6	p<0,001
			5-6	p<0,001	4-6	p<0,001
7	4,12 ± 0,16		3,58 ± 0,16		3,11 ± 0,13	
група	1-7	p<0,001	I-II	p<0,05	I-III	p<0,001
	2-7	p<0,001	1-7	p>0,01	II-III	p<0,05
	3-7	p<0,001	2-7	p<0,001	1-7	p>0,05
	4-7	p<0,001	3-7	p<0,001	2-7	p<0,001
	5-7	p<0,001	4-7	p<0,001	3-7	p<0,001
	6-7	p>0,05	5-7	p<0,001	4-7	p<0,001
			6-7	p>0,05	5-7	p<0,001
				6-7	p<0,05	

Також встановлено, що у другій групі на 60-у добу значення даного показника зросло на 12,9 % порівняно з результатами цієї ж групи на попередньому етапі (p<0,001), що свідчить про подальший розвиток ендотеліальної дисфункції при ДР, та підтверджує обтяжуючий вплив вазоконстрикції у патогенезі зазначеного ускладнення цукрового діабету. На третьому етапі були одержані наступні результати: між групою, в якій діабетичну ретинопатію моделювали без подальшої корекції та інтактними тваринами на 180-у добу виявлені відмінності на рівні значущості p<0,001 (рівень ендотеліну 1 у крові експериментальних тварин був вищим на 63,7 %). Аналізуючи динаміку E1 протягом усіх етапів експерименту нами було встановлено, що порівняно з 30-ю добою значення цього показника

збільшилось на 15,9 % ( $p < 0,001$ ), при порівнянні даних 2-го та 3-го етапів отримані дані, що свідчать про стат.незначуще, але наявне підвищення показника ендотеліальної дисфункції тобто прогресування порушення структурно-функціонального стану ендотелію та збільшення патологічної вазоконстрикції на тлі розвитку експериментальної діабетичної ретинопатії. Аналізуючи дані маркера вазоконстрикції (рівень ендотеліну-1) та вазодилатації (вміст S-нітрозотіолів) у 2-й групі можемо стверджувати про патологічне зрушення вазоконстрикторно-вазодилатаційного потенціалу, яке більш виражено проявлялось на кожному наступному етапі експерименту.

У третій групі на першому етапі рівень досліджуваного маркера є на 42,9 % ( $p < 0,001$ ) вищим за значення інтактних тварин. Порівняно з групою № 2 його рівень є нижчим на 32,1 % ( $p < 0,001$ ). На другому етапі вміст E1 є на 9,9 % ( $p < 0,05$ ) вищим порівняно з попереднім етапом. Відносно групи інтактних тварин він вищий на 48,6 % ( $p < 0,001$ ), а порівняно з групою без корекції нижчий на 36,7 % ( $p < 0,001$ ). На третьому етапі рівень даного маркера патологічно підвищився на 17,3 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з 1-м етапом і на 8,2 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з 2-им. Це свідчить про те, що лише корекції гіперглікемії є недостатньо для нормалізації судинного тону при експериментальній діабетичній ретинопатії і вазоконстрикція невпинно прогресує. Відносно першої групи значення E1 є вищим на 52,7 % ( $p < 0,001$ ), а відносно другої – нижчим на 29,9 % ( $p < 0,001$ ).

У групі № 4 рівень ендотеліну-1 на першому етапі вищий на 41,5 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з інтактною групою, відносно 2-ї групи він менш виражений на 35,5 % ( $p < 0,001$ ). Статистично значущих відмінностей порівняно з групою №3 не встановлено. На другому етапі вміст E1 переважає на 39,4 % ( $p < 0,001$ ) у порів'янні з інтактною групою, порівняно з групою №2 він нижчий на 61,1 % ( $p < 0,001$ ), і порівняно з 3-ю менший на 17,9 % ( $p < 0,001$ ). На третьому етапі рівень досліджуваного маркера на 38,5 %

( $p < 0,001$ ) вищий відносно групи №1. Порівняно з групою №2 він нижчий на 69,2 % ( $p < 0,001$ ), а у порівнянні з 3-ю – на 30,2 % ( $p < 0,001$ ).

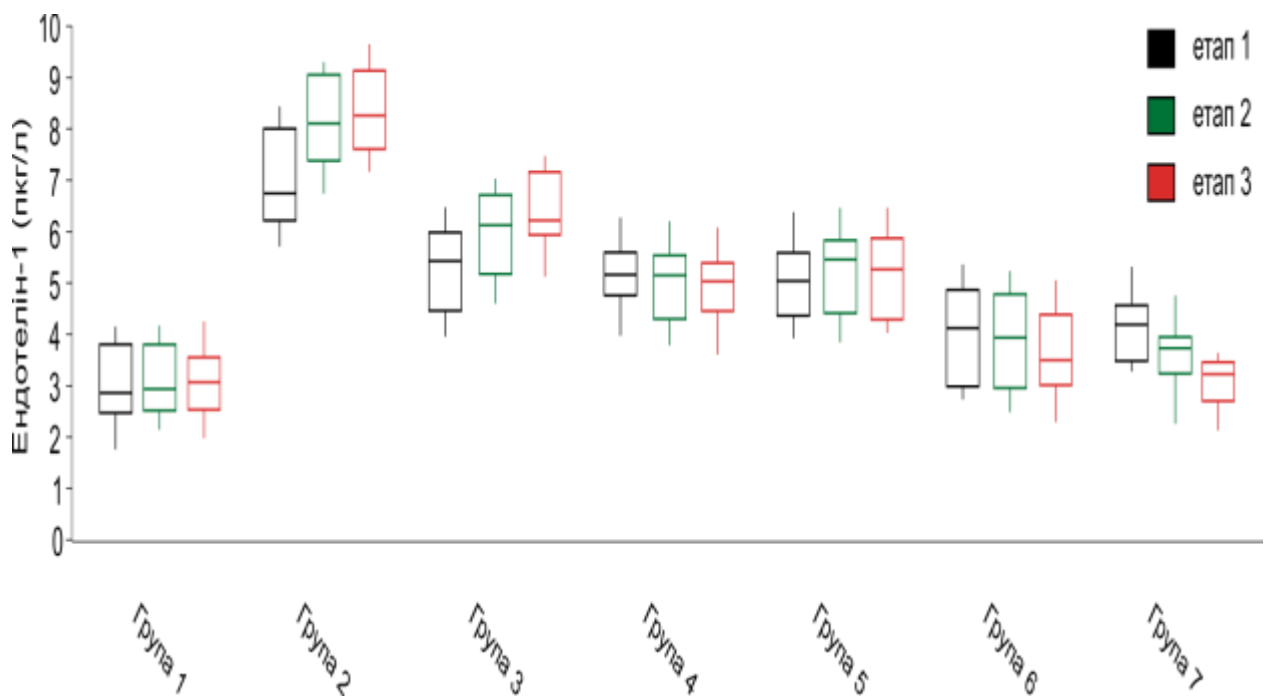
У крові тварин п'ятої групи на першому етапі рівень E1 є підвищеним на 39,9 % ( $p < 0,001$ ) відносно даних інтактних щурів, порівняно з групою №2 він нижчий на 39,2 % ( $p < 0,001$ ). Статистично значущих відмінностей у порівнянні з групами №3 та №4 не виявлено. На другому етапі вміст ендотеліну-1 на 41,2 % ( $p < 0,001$ ) вищий порівняно з 1-ю групою, нижчий відносно 2-ї групи щурів на 56,2 % ( $p < 0,001$ ) і на 14,3 % ( $p < 0,001$ ) відносно 3-ї групи. Статистично значущих відмінностей порівняно з групою №4 не виявлено. На третьому етапі значення досліджуваного маркера вищі на 41,7 % ( $p < 0,001$ ) відносно інтактної групи. Порівняно з групою № 2 рівень нижчий на 60,20 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з групою № 3 – на 23,3 % ( $p < 0,001$ ). Відмінності у порівнянні з групою №4 не встановлені.

У групі № 6 на першому етапі рівень показника вазоконстрикції вищий на 24,29 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з 1-ю групою. Відносно усіх наступних груп він є нижчим: порівняно з 2-ю – на 75,3 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з 3-ю на 32,6 % ( $p < 0,001$ ), відносно 4-ї групи тварин - на 29,4 % ( $p < 0,001$ ) і відносно 5-ї на 25,9 % ( $p < 0,001$ ). На етапі № 2 (60-а доба експерименту) рівень E1 вищий на 21,2 % ( $p < 0,01$ ) порівняно з першою групою. У порівнянні з групою № 2 він нижчий на 109,3 % ( $p < 0,001$ ), у порівнянні з 3-ю – на 53,1 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з 4-ю менший на 29,9 % ( $p < 0,001$ ) і стосовно 5-ї нижчий на 33,9 % ( $p < 0,001$ ). На третьому етапі вміст показника на 16,7 % ( $p < 0,05$ ) вищий за значення норми, на 129,2 % ( $p < 0,001$ ) нижчий порівняно з данми групи № 2. Підвищення значно менш виражене відносно усіх груп з корекцією: відносно 3-ї на 76,4 % ( $p < 0,001$ ), відносно 4-ї на 35,5 % ( $p < 0,001$ ), і відносно 5-ї – на 43,1 % ( $p < 0,001$ ).

У сьомій групі рівень E1 на 26,5 % ( $p < 0,001$ ) вищий відносно інтактної групи на 1-у етапі. Порівняно з 2-ю групою він менший на 70,2 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з 3-ю – на 28,8 % ( $p < 0,001$ ), відносно 4-ї – на 25,6 % ( $p < 0,001$ ), і

відносно 5-ї на 22,3 % ( $p < 0,001$ ). Статистично значущих відмінностей у порів'янні з групою № 6 на цьому етапі не виявлено. На другому етапі рівень маркера є на 15,2 % ( $p < 0,05$ ) нижчим порівняно з попереднім. Відносно першої групи він вищий на 15,3 % ( $p < 0,01$ ). Порівняно з 2-ю – нижчий на 125,1 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з 3-ю – на 64,6 % ( $p < 0,001$ ), відносно 4-ї та 5-ї груп нижчий на 39,7 % ( $p < 0,001$ ) та 44,1 % ( $p < 0,001$ ) відповідно. Порівняно з шостою групою відмінності статистично не встановлені. На третьому етапі рівень показника нижчий на 32,6 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з 1-м етапом і на 15,1 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з 2-м.

Динаміка рівня показника наочно проілюстрована на рис 3.3.



.Рисунок 3.3 – Рівень ендотеліну-1 у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу. Бокс плоти ілюструють розподіл величин рівня досліджуваного показника в усіх групах експерименту на кожному із етапів дослідження (n=20)



Привертає увагу відсутність відмінностей між даними інтактних тварин та 7-ї групи, що свідчить про нормалізацію рівня ендотеліну-1 у крові щурів. Відносно 2-ї групи результат є кращим на 168,3 % ( $p < 0,001$ ), відносно 3-ї – на 106,4 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з 4-ю – на 58,6 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з 5-ю на 67,5 % ( $p < 0,001$ ), відносно 6-ї групи виявлено покращення на 17,1 % ( $p < 0,05$ ). Отримані дані свідчать про нормалізацію тонуусу судин у щурів 6-ї та 7-ї груп, більш виражене покращення спостерігається у сьомій групі.

3.3 Дослідження динаміки вмісту асиметричного диметиларгініну у крові експериментальних тварин, яким моделювали діабетичну ретинопатію та на тлі її корекції

Ключову роль в регуляції функції ендотелію відіграє оксид нітрогену, для синтезу якого необхідна амінокислота L-аргінін. Важливим інгібітором NO-синтази є, як зазначалось, асиметричний диметиларгінін, який блокує сполучення L-аргініну з ферментом. Концентрація цього інгібітора у крові варіює і залежить від багатьох реакцій, як на клітинному, так і на тканинному рівнях [383, 384]. Аргінінові залишки білків, які під дією S-аденозил-метіонін залежних метилтрансфераз підлягають посттрансляційному метилуванню, відіграють ключову роль у метаболізмі названих ферментів. Оскільки метилування – процес незворотній, вплинути на нього можна лише шляхом протеолізу, тому метильованим білкам властивий активний метаболізм [383, 385]. Вільний АДМА, який виділяється під час протеолізу під дією внутрішньоклітинної диметиларгініндиметіламіногідролази, на яку впливають декілька факторів, але у першу чергу – гліколізовані білки [386].

Інгібування диметиларгініндиметіламіногідролази супроводжується пригніченням синтезу NO та збільшенням вмісту АДМА [383, 387]. Приблизно 10 % від загальної кількості АДМА потрапляючи у кров'яне русло, частково гідролізується внутрішньоклітинно, а частково виводиться

нирками. АДМА здійснює негативний вплив на клітини, сприяючи окислювальному стресу, укорочуючи теломери, інгібуючи вивільнення NO, збільшуючи секрецію Інтерлейкіну-8 та фактору хемотаксису моноцитів 1 [388]. Його вплив розповсюджується і на весь організм в цілому: збільшенням артеріального тиску, посиленням легеневого та загальнопериферійносудинного спротиву, зниженням серцевого викиду [383, 389]. Процеси атерогенезу такі, як експресія прозапальних та хемотаксичних цитокінів, адгезія моноцитів [383, 390, 391] та накопичення окислених ліпопротеїдів низької щільності активують АДМА в макрофагах [392]. У пацієнтів із факторами ризику атеросклерозу, таких як цукровий діабет [393-395], гіперхолестеринемія [393], гіпергомоцистеїнемія [396, 397] та ожиріння спостерігається підвищена концентрація АДМА у плазмі крові. Це корелює із показниками початкового атеросклерозу, такими як товщина інтима-медіа сонних артерій [383, 398]. Результати дослідження даного маркеру представлені у табл. 3.4.

При аналізі рівня АДМА на першому етапі нашого дослідження встановлене значне (на 65,6 %) його підвищення у групі, в якій моделювали діабетичну ретинопатію ( $p < 0,001$ ).

На другому етапі експерименту були одержані наступні дані: спостерігається збільшення рівня досліджуваного маркера ендотеліальної дисфункції: встановлене його підвищення на 71,9 % порівняно з інтактними тваринами ( $p < 0,001$ ) і на 18,6 % порівняно з групою експерименту без корекції ( $p < 0,001$ ).

На 180-у добу виявлене ще більш виражене збільшення АДМА у щурів зі змодельованою діабетичною ретинопатією: порівняно з даними групи № 1 його рівень патологічно підвищений на 75,8 % ( $p < 0,001$ ). У порівнянні з даними першого етапу рівень АДМА вищий на 29,8 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з результатами етапу № 2 – виявлено збільшення концентрації інгібітора ендотеліальної NO-синтази на 13,8 % ( $p < 0,001$ ).

Таблиця 3.4. – Рівень асиметричного диметиларгініну у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу ( $M \pm m$ ), (мкМ/л)

Групи	Етапи					
	I етап		II етап		III етап	
1	2	3	4	5	6	7
1 група	$20,8 \pm 1,28$		$20,8 \pm 0,86$		$20,8 \pm 1,25$	
			I-II	$p > 0,05$	I-III II-III	$p > 0,05$ $p > 0,05$
2 група	$60,4 \pm 1,16$		$74,2 \pm 1,35$		$86,1 \pm 1,07$	
	1-2	$p < 0,001$	I-II	$p < 0,001$	I-III	$p < 0,001$
			1-2	$p < 0,001$	II-III 1-2	$p < 0,001$ $p < 0,001$
3 група	$40,3 \pm 1,2$		$49,1 \pm 1,21$		$51,6 \pm 1,09$	
	1-3	$p < 0,001$	I-II	$p < 0,001$	I-III	$p < 0,001$
	2-3	$p < 0,001$	1-3	$p < 0,001$	II-III	$p > 0,05$
			2-3	$p < 0,001$	1-3 2-3	$p < 0,001$ $p < 0,001$
4 група	$38,2 \pm 1,34$		$34,1 \pm 1,47$		$30,9 \pm 1,43$	
	1-4	$p < 0,001$	I-II	$p < 0,05$	I-III	$p < 0,001$
	2-4	$p < 0,001$	1-4	$p < 0,001$	II-III	$p > 0,05$
	3-4	$p > 0,05$	2-4	$p < 0,001$	1-4	$p < 0,001$
			3-4	$p < 0,001$	2-4 3-4	$p < 0,001$ $p < 0,001$
5 група	$46,1 \pm 1,47$		$49,3 \pm 1,22$		$46,9 \pm 1,43$	
	1-5	$p < 0,001$	I-II	$p > 0,05$	I-III	$p > 0,05$
	2-5	$p < 0,001$	1-5	$p < 0,001$	II-III	$p > 0,05$
	3-5	$p < 0,01$	2-5	$p < 0,001$	1-5	$p < 0,001$
	4-5	$p < 0,001$	3-5	$p > 0,05$	2-5	$p < 0,001$
			4-5	$p < 0,001$	3-5 4-5	$p < 0,01$ $p < 0,001$

Продовження таблиці 3.4

1	2	3	4	5	6	7
6 група	36,8 ± 1,43		31,2 ± 1,2		28,7 ± 1,02	
	1-6	p<0,001	I-II	p<0,01	I-III	p<0,001
	2-6	p<0,001	1-6	p<0,001	II-III	p>0,05
	3-6	p<0,05	2-6	p<0,001	1-6	p<0,001
	4-6	p>0,001	3-6	p<0,001	2-6	p<0,001
	5-6	p<0,001	4-6	p>0,05	3-6	p<0,001
			5-6	p<0,001	4-6	p>0,05
7 група	32,2 ± 1,26		26,8 ± 1,21		21,9 ± 1,11	
	1-7	p<0,001	I-II	p<0,01	I-III	p<0,001
	2-7	p<0,001	1-7	p<0,001	II-III	p<0,01
	3-7	p<0,001	2-7	p<0,001	1-7	p>0,05
	4-7	p<0,05	3-7	p<0,001	2-7	p<0,001
	5-7	p<0,001	4-7	p<0,001	3-7	p<0,001
	6-7	p<0,05	5-7	p<0,001	4-7	p<0,001
6-7			p<0,01	5-7	p<0,001	
				6-7	p<0,001	

У 3-й групі, в якій була проведена лише корекція гіперглікемії, на першому етапі встановлено збільшення досліджуваного маркера на 48,4 % (p<0,001) у порів'янні зі значеннями інтактних тварин, а відносно групи без корекції підйом рівня є менш вираженим на 49,9 % (p<0,001).

На другому етапі порів'яно з інтактною групою рівень показника є вищим на 57,6 % (p<0,001), а порів'яно з групою №2 – нижчим на 51,1 % (p<0,001). Порів'яно з попереднім етапом спостерігається патологічне підвищення АДМА на 17,9 % (p<0,001).

На третьому етапі встановлено прогресування збільшення вмісту асиметричного диметиларгініну – його рівень є на 59,7 % (p<0,001) вищим за значення інтакної групи, і на 21,9 % (p<0,001) вищим порів'яно з

результатами 1-го етапу своєї групи. Порівняно з даними групи без корекції підвищення є менш вираженим на 66,9 % ( $p < 0,001$ ). Результати даної групи підтверджують те, що для нормалізації функціонального стану ендотелію та фізіологічної активності eNOS корекція лише гіпоглікемічними засобами є недостатною.

У 4-й групі, в якій до корекції залучений афліберцепт та донатор оксиду нітрогену, на першому етапі виявлене підвищення показника на 45,6 % ( $p < 0,001$ ) відносно значень інтактних тварин. У порівнянні з 2-ю групою рівень маркера є нижчим на 58,1 % ( $p < 0,001$ ), відмінностей у порівнянні з 3-ю групою не виявлено.

На другому етапі спостерігається менш виражений підйом рівня асиметричного диметиларгініну - на 12 % ( $p < 0,05$ ) нижче порівняно з першим етапом. Відносно 1-ї групи на етапі №2 його вміст є вищим на 39 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з 2-ю групою – нижчий на 117,6 % ( $p < 0,001$ ), а порівняно з 3-ю на даному етапі відмінності уже наявні – рівень АДМА нижчий на 43,9 % ( $p < 0,001$ ).

На третьому етапі вміст показника є на 32,7 % ( $p < 0,001$ ) вищим порівняно з результатами інтактною групи. Відносно групи №2 рівень є нижчим на 178,7 % ( $p < 0,001$ ), а відносно 3-ї – на 67 % ( $p < 0,001$ ). У порівнянні з першим етапом рівень даного маркера є менш підвищеним на 23,6 % ( $p < 0,001$ ). Вищезазначене свідчить про доцільність використання L-аргініну для нормалізації рівня АДМА та урівноваження порушень функціонального стану ендотелію.

У групі № 5, в якій змодельований патологічний стан коригували за допомогою метформіну, введення афліберцепта та бромфенаку, на першому етапі виявлено підвищення рівня АДМА на 54,9 % ( $p < 0,001$ ) відносно інтактною групи. Порівняно з 2-ю групою вміст маркера є нижчим на 31 % ( $p < 0,001$ ). Але відносно двох попередніх груп, в яких коригували експериментальну патологію, рівень інгібітора ендотеліальної синтази

оксиду нітрогену є підвищеним – відносно 3-ї групи на 12,6 % ( $p < 0,01$ ), а відносно 4-ї – на 17,1 % ( $p < 0,001$ ).

На другому етапі відмінність порівняно з інтактною групою є дещо більшою – на 57,8 % ( $p < 0,001$ ), що свідчить про відсутність вираженості позитивного ефекту корекції. Порівняно з 2-ю групою рівень показника є нижчим на 50,5 % ( $p < 0,001$ ). Порівняно з групою №3 статистично значущих відмінностей не встановлено, а порівняно з групою №4 у 5-й результативність є нижчою на 30,8 % ( $p < 0,001$ ).

На третьому етапі вміст АДМА є на 55,6 % ( $p < 0,001$ ) вищим за значення інтактних тварин (дещо менше ніж на 60-у добу, хоча при поетапному аналізі динаміки статистично значущих відмінностей не виявлено). Порівняно з 2-ю групою рівень є нижчим на 83,6 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з 3-ю – на 10 % ( $p < 0,01$ ), а у порівнянні з групою №4 вміст маркера є вищим на 34,1 % ( $p < 0,001$ ). Вищезазначене свідчить про те, що даний спосіб корекції не є ефективним для нормалізації рівня досліджуваного інгібітора ендотеліальної синтази оксиду нітрогену та маркера дисфункції ендотелію.

У 6-й групі, в якій експериментальну ДР коригували за допомогою нормалізації гіперглікемії, введення афліберцепта, L-карнітину та бромфенаку, на першому етапі рівень АДМА є вищим на 43,5 % ( $p < 0,001$ ) відносно групи №1; нижчим на 64,1 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з групою №2, нижчим на 9,5 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з 3-ю групою. При порівнянні з даними 4-ї групи статистично значущих відмінностей не виявлено. Порівняно з 5-ю групою рівень маркера є кращим (менш вираженим) на 25,3 % ( $p < 0,001$ ).

На другому етапі патологічне збільшення рівня АДМА є менш вираженим на 17,9 % ( $p < 0,01$ ) порівняно з першим. Відносно групи №1 вміст показника є вищим на 33,4 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з 2-ю групою він є нижчим на 57,4 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з 5-ю – менший на 58 % ( $p < 0,001$ ). У порівнянні з 4-ю групою статистично значущих відмінностей не виявлено.

На третьому етапі у порів'янні з першим рівень АДМА є більш нормалізованим на 28,2 % ( $p < 0,001$ ). Відносно інтактної групи вміст маркера є вищим на 27,5 % ( $p < 0,001$ ), у порів'янні з групою №2 він нижчий на 200,1 % ( $p < 0,001$ ), відносно 3-ї групи нижчий на 79,8 % ( $p < 0,001$ ), відносно 5-ї на 63,4 % ( $p < 0,001$ ), у порів'янні з 4-ю – стат. значущості не виявлено. Характеризуючи дані 6-ї групи в цілому можемо стверджувати про наявність вираженої позитивної динаміки, але повна нормалізація рівня маркера не встановлена. Відсутність відмінностей між 4-ю та 6-ю групами протягом усього експерименту дозволяє стверджувати про рівноцінність ефективності від введення L-аргініну (4-а група) і L-карнітину та бромфенаку (6-а група) для нормалізації рівня асиметричного диметиларгініну (метформін та афліберцепт вводився в обох групах в однакових дозах).

У сьомій групі, в якій змодельовану стрептозотоцинову діабетичну ретинопатію коригували за допомогою метформіну, введенням афліберцепта, розчину L-аргініну та цитиколіну були одержані наступні результати: відносно 1-ї групи рівень АДМА є вищим на 35,4 % ( $p < 0,001$ ); порів'яно з 2-ю він нижчий на 87,6 % ( $p < 0,001$ ), порів'яно з 3-ю нижчий на 25,2 % ( $p < 0,001$ ), відносно 4-ї менший на 18,6 % ( $p < 0,01$ ), відносно 5-ї на 43,2 % ( $p < 0,001$ ), і порів'яно з 6-ю групою також є менш вираженим – на 14,3 % ( $p < 0,05$ ).

На другому етапі рівень досліджуваного маркера є на 20,1 % ( $p < 0,01$ ) нижчим у порів'янні з попереднім етапом. Порів'яно з групою №1 вміст маркера є вищим на 22,4 % ( $p < 0,001$ ), а відносно усіх наступних груп експерименту він нижчий: на 176,9 % ( $p < 0,001$ ) порів'яно з 2-ю, на 83,2 % ( $p < 0,001$ ) порів'яно з 3-ю, на 27,2 % ( $p < 0,001$ ) у порів'янні з 4-ю, на 83,9 % ( $p < 0,001$ ) порів'яно з 5-ю, і на 16,4 % ( $p < 0,01$ ) відносно 6-ї групи.

На третьому етапі рівень АДМА є нижчим на 47 % ( $p < 0,001$ ) порів'яно з 1-м етапом і на 22,4 % ( $p < 0,01$ ) порів'яно з 2-им. Відмінностей порів'яно з даними інтактних тварин не виявлено, що свідчить про нормалізацію

досліджуваного показника під впливом запропонованого способу корекції. Відносно 2-ї групи результат є кращим на 293,3 % ( $p < 0,001$ ), відносно 3-ї – на 135,7 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з 4-ю – на 41,1 % ( $p < 0,001$ ), у порівнянні з 5-ю групою – на 114,2 % ( $p < 0,001$ ) і у порівнянні з шостою групою – на 31 % ( $p < 0,001$ ). Тобто можемо стверджувати що введення донатора оксиду нітрогену у поєднанні з цитиколіном дає максимально виражений із досліджених способів коригуючий ефект, нормалізуючи рівень асиметричного диметиларгініну.

АДМА, який є структурним аналогом L-аргініну пригнічує активність усіх ізоформ NO-синтаз, тим самим інгібуючи утворення оксиду нітрогену в тканинах та плазмі крові. Доведено, що АДМА суттєво пригнічує синтез NO [399, 400]. Між рівнем оксиду нітрогену у плазмі у фізіологічних умовах присутня чітка кореляція, при зрушенні якої спостерігається розвиток судинних патологій [401]. Під час досліджень було доведено, що L-аргінін активує вазомоторні реакції *in vivo* [402-404]. І це незважаючи на те, що вміст ендogenous L-аргініну в 30 разів вищий у фізіологічних концентраціях в плазмі крові константи Міхаеліса-Ментена для L-аргініну в реакції, яка каталізується NO-синтазою [399, 402, 405]. Спочатку вважалось дещо парадоксальним вплив L-аргініну на судинний тонус, оскільки NO-синтаза була повністю насичена субстратом і додатковий вплив екзогенного аргініну не міг впливати на інтенсивність синтезу оксиду нітрогену [404]. Дещо пізніше були виявлені такі ендogenous аналоги L-аргініну, як N-монометил-L-аргінін (NMMA), асиметричний N-N-диметил-L-аргінін (ADMA) і симетричний N-N-диметил-L-аргінін (SDMA) [56, 63]. Інгібувати активність NO-синтази здатні двоє із них – ADMA і NMMA [407, 408]. Це дозволяє нам пояснити «аргініновий парадокс», оскільки потрібна більш висока концентрація субстрату для активації NO-синтази в присутності її ендogenous інгібіторів. АДМА в фізіологічних умовах є сильнішим



інгібітором ніж NMMA, тому що його концентрація у плазмі крові у 5 разів вища [399, 409, 410].

Враховуючи вищезазначене інформативним є подальший аналіз маркерів фізіологічного синтезу оксиду нітрогену та використання L-аргініну для корекції патологічних станів, спричинених різко підвищеним рівнем АДМА в крові.

Динаміка рівня показника наочно проілюстрована на рис 3.4.

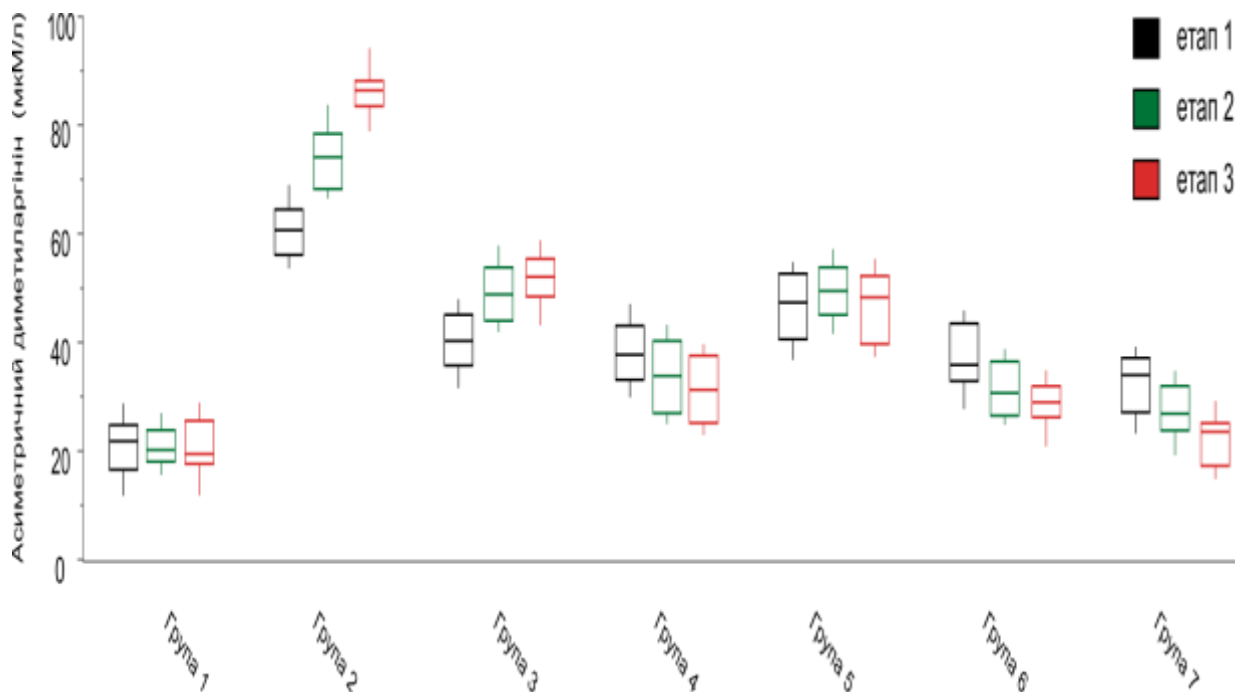


Рисунок 3.4 – Рівень асиметричного диметиларгініну у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу. Бокс плоти ілюструють розподіл величин рівня досліджуваного показника в усіх групах експерименту на кожному із етапів дослідження (n=20)

### Резюме

У результаті нашого дослідження доведене порушення структурно-функціонального стану ендотелію при експериментальній діабетичній

ретинопатії, про що свідчить підвищення рівня фактора Віллебранда, АДМА та ендотеліну-1 у 2-й групі ( $p < 0,001$ ), максимально виражене на 3-му етапі. Також встановлене виражене порушення балансу вазоконстрикції / вазодилатації у бік переважання вазоконстрикторно потенціалу. Підтверджено, що корекція досліджуваного ускладнення цукрового діабету лише гіпоглікемічним препаратом навіть при довготривалому введенні не коригує розвиток ендотеліальної дисфункції ( $p < 0,001$ ). Виявлено, що додавання у корекції до гіпоглікемічних препаратів афліберцепта та розчину L-аргініну значно ( $p < 0,001$ ) покращує стан ендотелію, але не вирішує проблему в повному обсязі. Прослідковується, що корекція змодельованого патологічного стану шляхом зниження гіперглікемії, введення афліберцепта та бромфенаку (група № 5) позитивно впливає на нормалізацію рівня маркерів функціонування ендотелію ( $p < 0,001$ ), але ефект є менш вираженим, ніж у наступних групах. Виявлено, що у щурів у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта, L-карнітину та бромфенаку (група №6) зниження патологічно підвищеного рівня маркерів ЕД є більш вираженим у порівнянні з даними 3-ї - 5-ї груп, що свідчить про доцільність даного способу корекції. Встановлено, що максимально результативним виявився спосіб корекції у 7-й групі експерименту в якій здійснювали корекцію гіперглікемії, введення афліберцепта, розчину L-аргініну та цитиколіну – отримані дані не лише про нормалізацію рівнів маркерів ендотеліальної дисфункції, а і про відновлення фізіологічного стану показників судинного тону (вазоконстрикції та вазодилатації).

Результати даного розділу опубліковані у наукових працях автора [411-427].

## РОЗДІЛ 4

### ПРОГНОСТИЧНА МОДЕЛЬ ТЯЖКОСТІ ДІАБЕТИЧНОЇ РЕТИНОПАТІЇ НА ОСНОВІ АНАЛІЗУ МАРКЕРІВ ДИСФУНКЦІЇ ЕНДОТЕЛІУ ТА ГІПОКСІЇ, ДИНАМІКА 2,3 ДІФОСФОГЛІЦЕРАТУ ЕРИТРОЦИТІВ, ГЛЮКОЗИ ТА ФАКТОРА РОСТУ СУДИН У ЕКСПЕРИМЕНТІ ТА РЕЗУЛЬТАТИ ПРОВЕДЕННЯ КОРЕЛЯЦІЙНОГО АНАЛІЗУ

4.1 Результати розробки прогностичної математичної моделі тяжкості діабетичної ретинопатії

У результаті аналізу ряду досліджених біохімічних маркерів крові нами був встановлений взаємозв'язок між експериментальною діабетичною ретинопатією та високим рівнем у крові піддослідних тварин фактора Віллебранда і ендотеліну-1 (які є загальноприйнятими маркерами дисфункції ендотелію) та 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів (показника гіпоксії).

Перейдемо до аналізу моделі. Розрахунки параметрів логістичної регресії та характеристик, які описують адекватність моделі, були проведені в статистичному пакеті PASW Statistics 18. У якості функції втрат використовували метод максимальної правдоподібності, статистичну значущість моделі було оцінено по декількох критеріях Хі-квадрат та Хосмера-Лемешева.

Значення *pp*-рівня по критерію Хосмера-Лемешева рівне 1, що говорить про повну узгодженість моделі з реально існуючими у вибірці частотами. Це означає, що частина дисперсії, яка пояснюється за допомогою логістичної регресії складає всі 100 %. Також статистичний пакет надає результати інших критеріїв, більш стійких, ніж традиційні статистики згоди, які використовуються у логістичній регресії, особливо для дослідження

вибірок малого розміру, як у нашому випадку [428]. Міра визначеності (коефіцієнт детермінації) за Коксом і Снелом у нашій моделі рівна 0,632 (63,2 %). Даний критерій показує долю впливу всіх факторних ознак на дисперсію залежної змінної. У таблиці 3.1 наведена класифікація випадків і відповідні відсотки коректних передбачень наявності або відсутності факту переходу непроліферативної діабетичної ретинопатії у проліферативну стадію.

Таблиця 4.1 – Класифікація випадків коректних передбачень наявності або відсутності факту переходу непроліферативної діабетичної ретинопатії у проліферативну стадію

Спостережувані значення		Прогноз		
		Змінна «перехід непроліферативної діабетичної ретинопатії у проліферативну стадію»		Відсоток коректних передбачень
		0	1	
Змінна «перехід непроліферативної діабетичної ретинопатії у проліферативну стадію»	0	4	0	100 %
	1	0	16	100 %
Загальний відсоток				100 %

Таким чином, було встановлено, що отримана модель у 100 % вірно передбачає наявність або відсутність тяжкості прогресування діабетичної ретинопатії.

Далі наведемо параметри прогнозової моделі (табл 4.2).

Отже, отримане рівняння логістичної регресії має наступний вигляд

$$G(z) = \frac{e^{(-642,032+44,993 \cdot x_1+35,443 \cdot x_2+2,987 \cdot x_3)}}{1 + e^{(-642,032+44,993 \cdot x_1+35,443 \cdot x_2+2,987 \cdot x_3)}}$$

Таблиця 4.2 – Параметри розробленої прогностичної моделі

	Константа	$x_1$ - 2,3 дифосфо- глицерат еритроцитів	$x_2$ - Ендотелін-1	$x_3$ - Фактор Віллебранда
Оцінка параметру	-642,032	44,993	35,443	2,987

Для отримання відсоткового значення ймовірності подальшої тяжкості прогресування діабетичної ретинопатії (у межах від 0-100 %), використовуючи отриману функцію логістичної регресії, потрібно помножити отримане значення функції  $G(z)$  на 100 %.

Підставляючи у цю формулу значення показників (фактора Віллебранда, ендотеліну-1, 2,3 діфосфоглицерату еритроцитів) конкретної тварини на 30, 60 та 180-у добу дексперименту, яка не відноситься до даної досліджуваної групи, можна визначити ступінь ризику подальшого прогресування змодельованої діабетичної ретинопатії. Наведемо приклади використання даної формули, виходячи із конкретних клінічних параметрів, визначених у піддослідних тварин, у яких у подальшому був підтверджений факт переходу непроліферативної діабетичної ретинопатії у проліферативну стадію.

**Приклад** з високою ймовірністю факту переходу непроліферативної діабетичної ретинопатії у проліферативну стадію (лабораторна тварина 16).

$$G(z) \cdot 100\% = \frac{e^{(-642,032+44,993 \cdot 2,98+35,443 \cdot 6,21+2,987 \cdot 101,94)}}{1 + e^{(-642,032+44,993 \cdot 2,98+35,443 \cdot 6,21+2,987 \cdot 101,94)}} \cdot 100\% = 99,99\%.$$

**Приклад** з низькою ймовірністю факту переходу непроліферативної діабетичної ретинопатії у проліферативну стадію (лабораторна тварина 17).

$$G(z) \cdot 100\% = \frac{e^{(-642,032+44,993 \cdot 2,67+35,443 \cdot 5,68+2,987 \cdot 101,46)}}{1 + e^{(-642,032+44,993 \cdot 2,67+35,443 \cdot 5,68+2,987 \cdot 101,46)}} \cdot 100\% = 0\%.$$

Отже, можемо стверджувати наступне.

1. Нами розроблена математична модель прогнозу досліджуваного патологічного стану, яка ґрунтується на аналізі біохімічних показників крові на ранніх етапах експерименту.

2. Отримане рівняння логістичної регресії має наступний вигляд

$$G(z) = \frac{e^{(-642,032+44,993 \cdot x_1+35,443 \cdot x_2+2,987 \cdot x_3)}}{1 + e^{(-642,032+44,993 \cdot x_1+35,443 \cdot x_2+2,987 \cdot x_3)}}$$

3. Для отримання відсоткового значення ймовірності подальшої тяжкості прогресування діабетичної ретинопатії (у межах від 0-100 %), використовуючи отриману функцію логістичної регресії, потрібно помножити отримане значення функції  $G(z)$  на 100 %.

4. Доведена інформативність маркерів дисфункції ендотелію – Фактора Віллебранда та ендотеліну-1 у прогнозуванні розвитку експериментальної діабетичної ретинопатії.

5. Встановлена результативність комплексного аналізу рівня 2,3-дифосфогліцерату еритроцитів разом з зазначеними маркерами функціонального стану ендотеліоцитів на 30-у добу для прогнозування подальшого перебігу досліджуваного патологічного процесу.

4.2 Результати дослідження динаміки рівня 2,3-дифосфогліцерату еритроцитів у крові тварин, яким моделювали діабетичну ретинопатію та на тлі її корекції (Табл 4.3).

Результати дослідження рівня 2,3-дифосфогліцерату еритроцитів у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції (табл 4.3).

У другій групі, в якій щурам моделювали патологічний стан без корекції, виявлене значне – на 65,0 % ( $p < 0,001$ ) підвищення досліджуваного маркера гіпоксії на 1-му етапі. На 2-му етапі його рівень на 66,4 % ( $p < 0,001$ )

вищий за значення інтактних тварин, а на 3-му етапі підвищення вмісту 2,3-діфосфогліцерату еритроцитів є ще більш збільшеним – він на 70,2 % ( $p < 0,001$ ) вищим порівняно з даними щурів 1-ї групи. На третьому етапі показник є вищим на 14,9 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з першим, і на 11,0 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з другим етапом, тобто можемо стверджувати, що з тривалістю терміну розвитку ДР без корекції гіпоксія невпинно прогресує.

Таблиця 4.3 – Рівень 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу ( $M \pm m$ ), (ммоль/мл)

Групи	Етапи					
	I етап		II етап		III етап	
1	2	3	4	5	6	7
1 група	1,21 ± 0,02		1,22 ± 0,03		1,22 ± 0,03	
			I-II	$p > 0,05$	I-III	$p > 0,05$
					II-III	$p > 0,05$
2 група	3,47 ± 0,13		3,63 ± 0,15		4,08 ± 0,11	
	1-2	$p < 0,001$	I-II	$p > 0,05$	I-III	$p < 0,001$
			1-2	$p < 0,001$	II-III	$p < 0,05$
					1-2	$p < 0,001$
3 група	3,1 ± 0,1		3,07 ± 0,15		3,15 ± 0,13	
	1-3	$p < 0,001$	I-II	$p > 0,05$	I-III	$p > 0,05$
	2-3	$p < 0,05$	1-3	$p < 0,001$	II-III	$p > 0,05$
			2-3	$p < 0,01$	1-3	$p < 0,001$
					2-3	$p < 0,001$
4 група	2,91 ± 0,14		2,7 ± 0,12		2,4 ± 0,13	
	1-4	$p < 0,001$	I-II	$p > 0,05$	I-III	$p < 0,01$
	2-4	$p < 0,01$	1-4	$p < 0,001$	II-III	$p > 0,05$
	3-4	$p > 0,05$	2-4	$p < 0,001$	1-4	$p < 0,001$
			3-4	$p < 0,05$	2-4	$p < 0,001$
				3-4	$p < 0,001$	

Продовження таблиці 4.3

1	2	3	4	5	6	7
5 група	3,03 ± 0,14		2,97 ± 0,12		2,95 ± 0,12	
	1-5	p<0,001	I-II	p>0,05	I-III	p>0,05
	2-5	p<0,05	1-5	p<0,001	II-III	p>0,05
	3-5	p>0,001	2-5	p<0,001	1-5	p<0,001
	4-5	p>0,001	3-5	p>0,05	2-5	p<0,001
			4-5	p>0,05	3-5	p>0,05
					4-5	p<0,01
6 група	2,30 ± 0,13		2,11 ± 0,13		2,01 ± 0,13	
	1-6	p<0,001	I-II	p>0,05	I-III	p>0,05
	2-6	p<0,001	1-6	p<0,001	II-III	p>0,05
	3-6	p<0,001	2-6	p<0,001	1-6	p<0,001
	4-6	p<0,01	3-6	p<0,001	2-6	p<0,001
	5-6	p<0,001	4-6	p<0,01	3-6	p<0,001
		5-6	p<0,001	4-6	p<0,05	
				5-6	p<0,001	
7 група	2,05 ± 0,14		1,68 ± 0,11		1,27 ± 0,12	
	1-7	p<0,001	I-II	p<0,01	I-III	p<0,001
	2-7	p<0,001	1-7	p<0,001	II-III	p<0,001
	3-7	p<0,001	2-7	p<0,001	1-7	p>0,001
	4-7	p<0,001	3-7	p<0,001	2-7	p<0,001
	5-7	p<0,001	4-7	p<0,001	3-7	p<0,001
	6-7	p>0,05	5-7	p<0,001	4-7	p<0,001
		6-7	p<0,01	5-7	p<0,001	
				6-7	p<0,001	

У 3-й групі, в якій корекція проводилась лише гіпоглікемічним препаратом, на першому етапі виявлене підвищення рівня 2,3-ДФГ на 60,82 % (p<0,001) порівняно з 1-ю групою, а у порівнянні з 2-ю групою рівень показника є нижчим на 12,0 % (p<0,05). На другому етапі вміст досліджуваного маркера є патологічно підвищеним на 60,3 %



( $p < 0,001$ ) відносно інтактної групи, порівняно з групою № 2 рівень є нижчим на 18,2 % ( $p < 0,01$ ). На третьому етапі вміст 2,3 діфосфогліцерату більший на 61,4 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з 1-ю групою, і на 29,4 % ( $p < 0,001$ ) нижчим відносно групи без корекції. Поетапної динаміки у 3-й групі статистично не виявлено.

У групі № 4 на 1-у етапі виявлено, що рівень 2,3 ДФГ є вищим на 58,2 % ( $p < 0,001$ ), ніж у крові інтактної групи. Порівняно з групою, в якій модлювали ДР без корекції рівень маркера менш підвищений на 19,4 % ( $p < 0,01$ ). Статистично значущих відмінностей порівняно з 3-ю групою не встановлено. На другому етапі рівень маркера на 54,7 % ( $p < 0,001$ ) вищий порівняно з 1-ю групою, в той же час він на 34,7 % ( $p < 0,001$ ) нижчий порівняно з групою №2 і на 13,9 % ( $p < 0,05$ ) нижчий відносно групи №3. На третьому етапі рівень показника продовжує частково нормалізовуватися – він на 21,0 % ( $p < 0,01$ ) нижчий порівняно з першим етапом. Відносно 1-ї групи на третьому етапі рівень 2,3 ДФГ є вищим на 49,4 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з 2-ю групою він нижчий на 69,9 % ( $p < 0,001$ ), а у порівнянні з групою №3 – менший на 31,3 % ( $p < 0,001$ ).

У 5-й групі на першому етапі рівень 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів є збільшеним на 59,9 % ( $p < 0,001$ ). Порівняно з групою № 2 рівень маркера є нижчим на 14,5 % ( $p < 0,05$ ). Відносно 3-ї та 4-ї груп статистично значущих відмінностей не виявлено. На другому етапі рівень даного показника вищий на 58,9 % ( $p < 0,001$ ) відносно інтактної групи, а порівняно з групою №2 він нижчий на 22,2 % ( $p < 0,001$ ). Як і на попередньому етапі, відмінностей відносно 3-ї та 4-ї груп не виявлено. На третьому етапі рівень 2,3 ДФГ вищий на 58,8 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з групою № 1, відносно групи № 2 він нижчий на 38,2 % ( $p < 0,001$ ). Відносно 3-ї групи відмінностей не виявлено, а порівняно з 4-ю групою корекція є менш результативною – рівень 2,3 ДФГ вищий на 18,7 % ( $p < 0,01$ ).

У групі № 6 на першому етапі рівень досліджуваного маркера гіпоксії є вищим на 47,3 % ( $p < 0,001$ ) відносно значень інтактних тварин. Порівняно з групою без корекції рівень є нижчим на 50,7 % ( $p < 0,001$ ), відносно 3-ї групи – менш виражений на 34,5 % ( $p < 0,001$ ), відносно 4-ї – на 26,2 % ( $p < 0,01$ ), а порівняно з п'ятою групою – менший на 31,6 % ( $p < 0,001$ ). На другому етапі рівень 2,3 ДФГ на 42,3 % ( $p < 0,001$ ) вищий за значення інтактних щурів, і на 71,8 % ( $p < 0,001$ ) нижчий відносно результатів 2-ї групи. Порівняно з 3-ю групою вміст маркера у крові щурів 6-ї групи є нижчим на 45,3 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з 4-ю – на 27,5 % ( $p < 0,01$ ), і на 40,5 % ( $p < 0,001$ ) меншим відносно групи № 5. На третьому етапі рівень показника гіпоксії на 39,4 % ( $p < 0,001$ ) вищий за значення інтактних щурів, а у порівнянні з групою без корекції – нижчий на 103,4 % ( $p < 0,001$ ). Порівнюючи з попередніми групами, в яких коригували ДР, встановлено, що результативність способу корекції у 6-й групі є кращою на 57,1 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з 3-ю групою, на 19,7 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з 4-ю (в 4-ю групі використовували донатор оксиду нітрогену, який зменшує прояви гіпоксії), і на 47,2 % ( $p < 0,001$ ) менший ніж у 5-й групі. Поетапних статистично значущих відмінностей не виявлено.

У 7-й групі на першому етапі встановлено, що рівень досліджуваного маркера є на 40,7 % ( $p < 0,001$ ) більшим, ніж у крові інтактних щурів. Відносно групи зі змодельованою ДР без корекції вмість 2,3 ДФГ є нижчим (ближчим до нормативних значень) на 69,5 % ( $p < 0,001$ ), відносно 3-ї групи – на 51,3 % ( $p < 0,001$ ), відносно 4-ї – на 41,9 % ( $p < 0,001$ ), і відносно 5-ї групи – на 48,0 % ( $p < 0,001$ ). Порівняно з результатами групи № 6 статистично значущих відмінностей не виявлено. На другому етапі виявлене виражене (на 21,7 % ( $p < 0,01$ )) зниження рівня 2,3 ДФГ еритроцитів порівняно з попереднім етапом. Відносно групи № 1 рівень показника є підвищеним на 27,5 % ( $p < 0,001$ ), а порівняно з групою № 2 – нижчим на 115,9 % ( $p < 0,001$ ). Аналізуючи відмінності від попередніх груп з корекцією встановлено наступне: рівень є нижчим на 82,6 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з 3-ю групою, на

60,3 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з 4-ю, на 76,6 % ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з 5-ю групою, і на 26,7 % ( $p < 0,01$ ) наблизений до норми порівняно з даними групи № 6. На третьому етапі результативність запропонованої корекції є максимально вираженою – рівень 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів нормалізувався до значень інтактної групи (статистично значущих відмінностей між 1-ю та 7-ю групами не виявлено). У порівнянні з даними групи № 2 результат є кращим на 221,2 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з 3-ю групою – на 148,1 % ( $p < 0,001$ ). Відносно 4-ї групи рівень маркера є нижчим на 88,9 % ( $p < 0,001$ ), відносно 5-ї на 132,4 % ( $p < 0,001$ ), і порівняно з 6-ю групою – менший на 57,9 % ( $p < 0,001$ ). Проводячи поетапний аналіз виявлено що на третьому етапі рівень маркера гіпоксії є на 61,2 % ( $p < 0,001$ ) нижчим порівняно з 1-м етапом і на 32,4 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з 2-им.

Динаміку рівня 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів у крові тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції наведено на рис. 4.1.

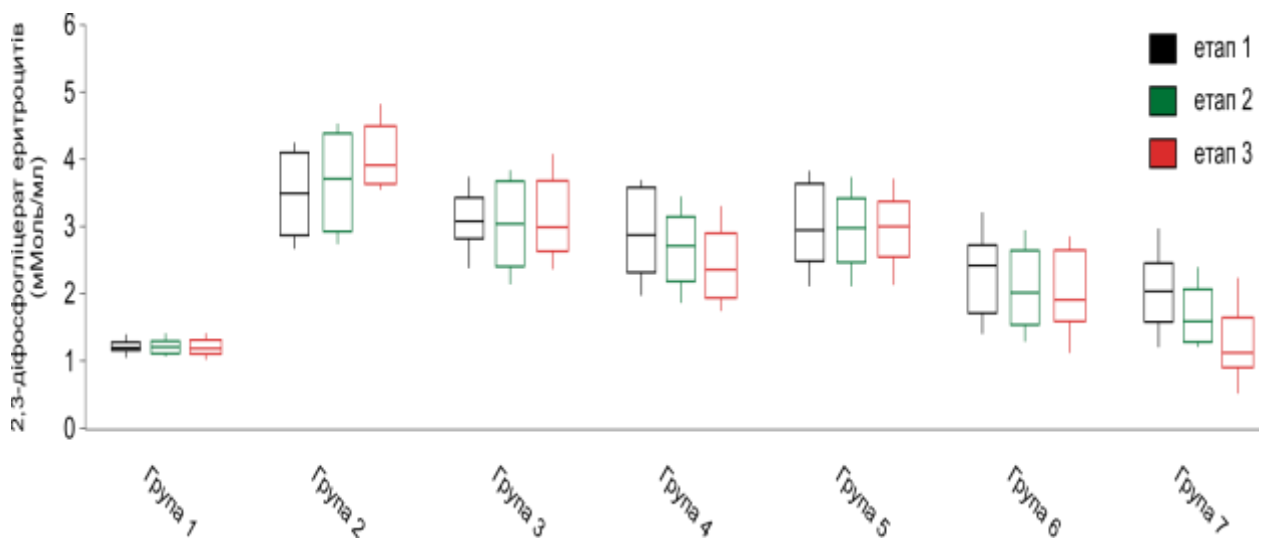


Рисунок 4.1 – Рівень 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу. Бокс плоти ілюструють розподіл величин рівня досліджуваного показника в усіх групах експерименту на кожному із етапів дослідження (n=20)

Характеризуючи динаміку досліджуваного маркера у групах з корекцією варто зауважити, що найбільш результативною була схема терапії у 7-й групі, дані 6-ї групи аож свідать про її ефективність, але дещо менш виражену. Корекція залучена у 5-й групі є недостатньою, у 4-ї позитивний вплив (більш виражений ніж у 5-й) обумовлений залученням донатора оксиду нітрогену. Результати 3-ї групи свідчать про те, що однієї корекції гіперглікемії є недостатньо для корекції усіх патологічних зрушень, спричинених цукровим діабетом та діабетичною ретинопатією.

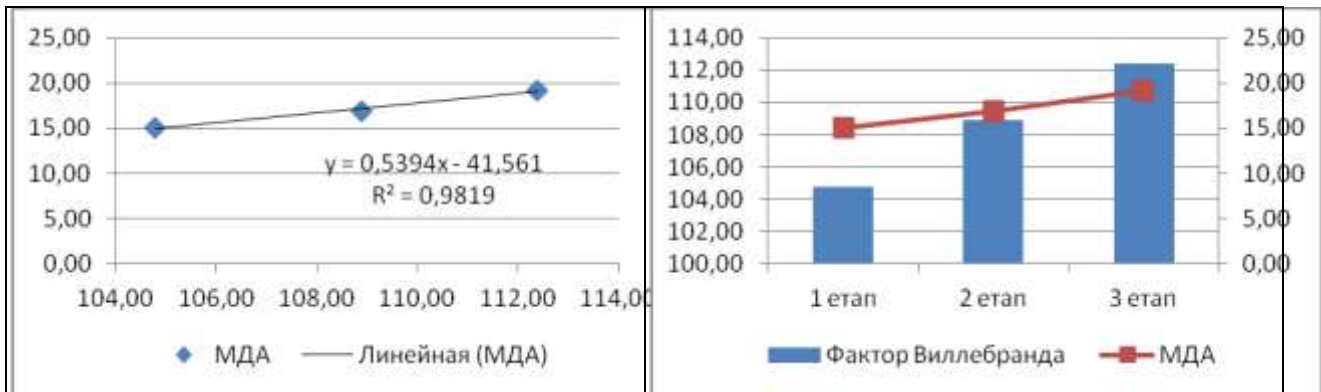
4.3 Результати побудови кореляційних полів з лініями тренду та визначенням направленості взаємозв'язків між досліджуваними показниками

Проаналізуємо залежність між середніми значеннями показників Фактору Віллебранда, Ендотеліну-1 та МДА, Дієнових кон'югатів, Пероксидаза у групі 2 (рис. 4.2).

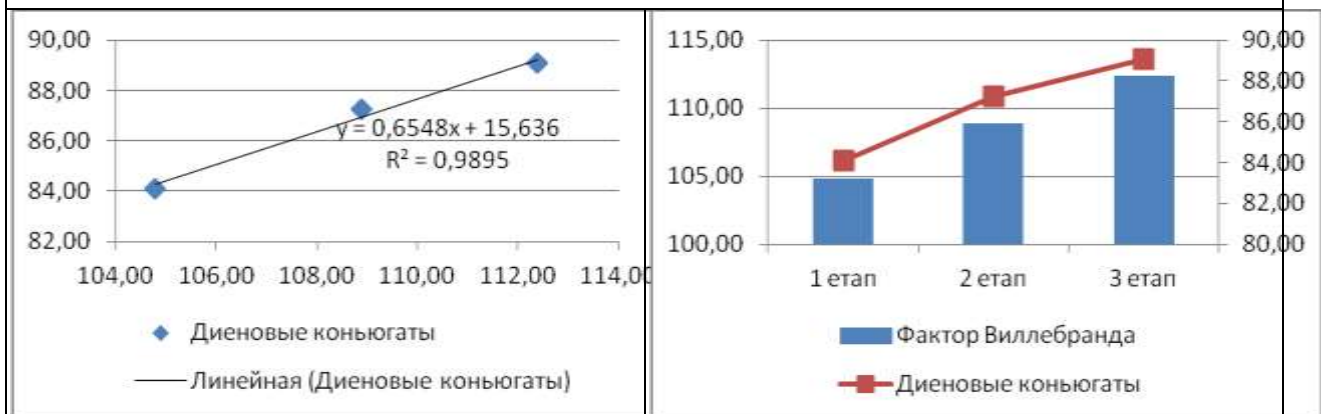
Зауважимо, що кількість етапів у нас рівна 3, тому розрахунок коефіцієнту кореляції та його інтерпретація не є коректними. А ось проаналізувати кореляційні поля та провести аналіз показників на основі графіків є доцільним.

Для візуалізації залежності між кожною парою показників ми побудуємо два графіки:

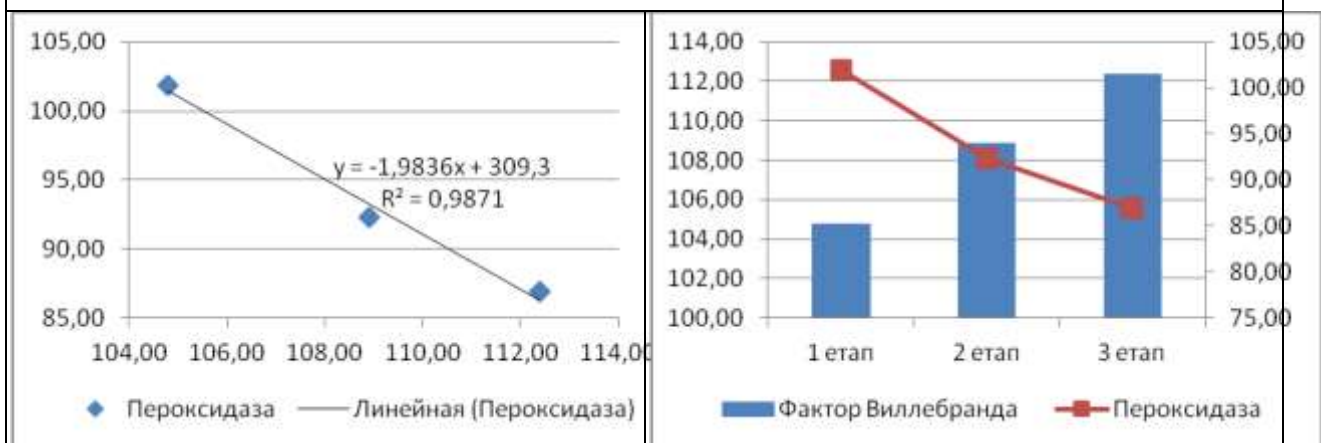
1. *Кореляційне поле з лінійним трендом та коефіцієнтом детермінації.* Кожне кореляційне поле матиме три точки (по кількості етапів) з координатами точок  $(x_i; y_i; x_{i+1}; y_{i+1})$ , де  $x_i$  означитиме значення 1-го показника на  $i$ -му етапі,  $y_i$  - значення 2-го показника на  $i$ -му етапі. Кореляційне поле, лінійний тренд та коефіцієнт детермінації ми отримали за допомогою відповідних функцій в MS Excel;



а) залежність між показниками Фактору Виллебранда та МДА  
(прямий зв'язок)



б) залежність між показниками Фактору Виллебранда та Дієнові кон'югати  
(прямий зв'язок)



в) залежність між показниками Фактору Виллебранда та Пероксидази  
(обернений зв'язок)

Рисунок 4.2 – Графіки залежності між середніми значеннями показників Фактору Виллебранда, МДА, Дієнових кон'югатів, Пероксидази

2. *Графік із значенням обох показників*, на якому ми використовуємо дві осі (ліву та праву), так як кожна пара показників має різні одиниці виміру.

З рис. 4.2 видно, що між показником Фактор Віллебранда та показником МДА прослідковується прямий лінійний зв'язок, так як точки кореляційного поля практично розміщені на прямій ( $R^2 = 0,982$ ). Аналогічний тип прямого лінійного зв'язку ми прослідковуємо між Фактором Віллебранда та Дієновими кон'югатами ( $R^2 = 0,99$ ).

А ось між Фактором Віллебранда та Пероксидазою прослідковуємо обернений лінійний зв'язок ( $R^2 = 0,987$ ). Із збільшенням показників Фактору Віллебранда за етапами ми прослідковуємо зменшення показників Пероксидази.

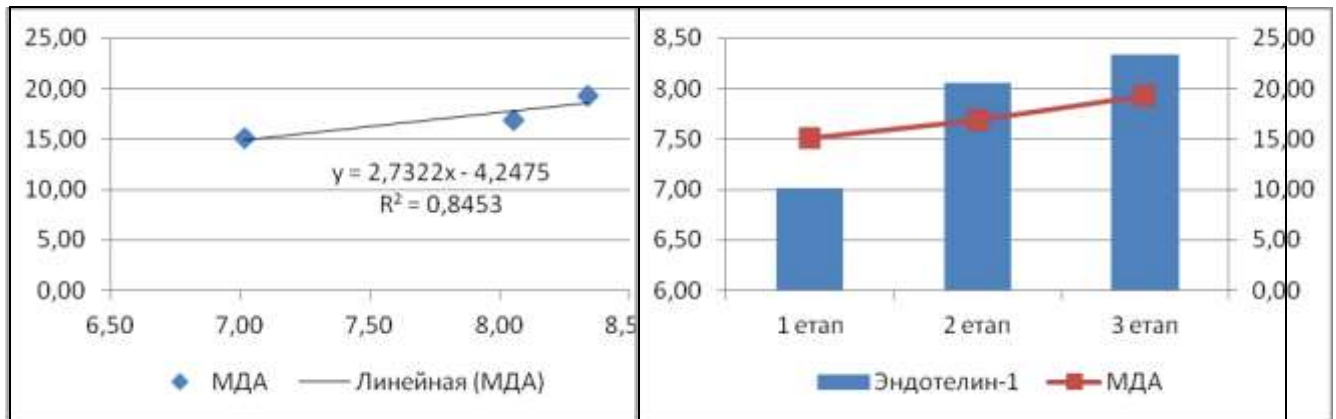
Аналогічно проаналізуємо залежність між середніми значеннями показників Ендотеліну-1 та МДА, Дієнових кон'югатів, Пероксидази у групі 2.

З рис. 4.3 бачимо, що тут ситуація аналогічна попередньому. Перші два показники МДА, Дієнові кон'югати мають практично прямий ліній зв'язок з показниками Ендотеліну-1 ( а)  $R^2 = 0,845R^2 = 0,845$ ; б)  $R^2 = 0,973R^2 = 0,973$  ). А показник Пероксидаза має обернений лінійний зв'язок з показниками Ендотеліну-1 ( $R^2 = 0,976R^2 = 0,976$ ).

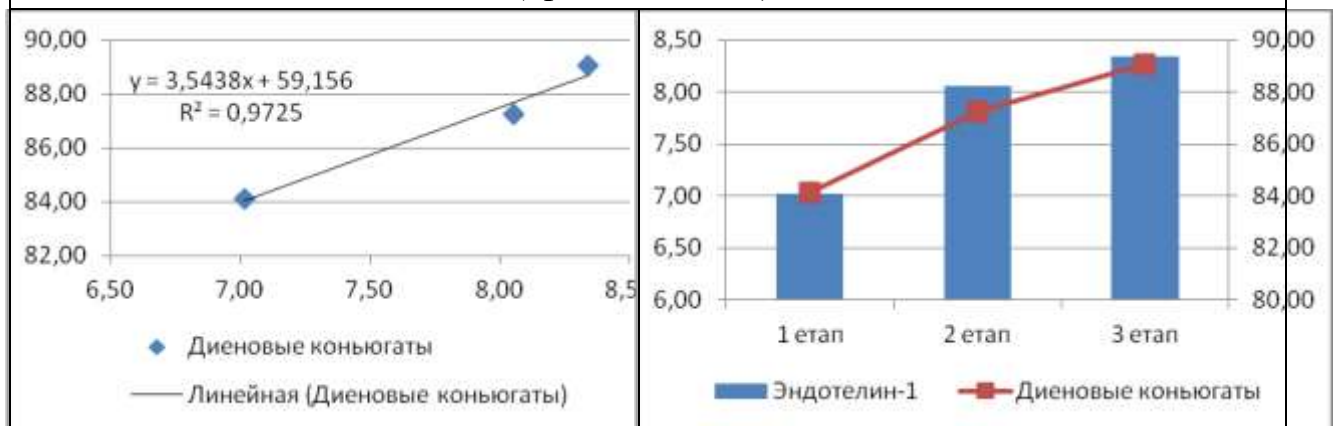
Проведемо аналіз залежності показників 2,3 дифосфоглицерату, фактору Виллебранда та eNOS (рис. 4.4).

З рис. 4.4 бачимо, що у перших двох парах показників а) та б) прослідковується обернений лінійний зв'язок між показниками. Із збільшенням показників eNOS за етапами, показники 2,3 дифосфоглицерату та фактору Виллебранда зменшуються.

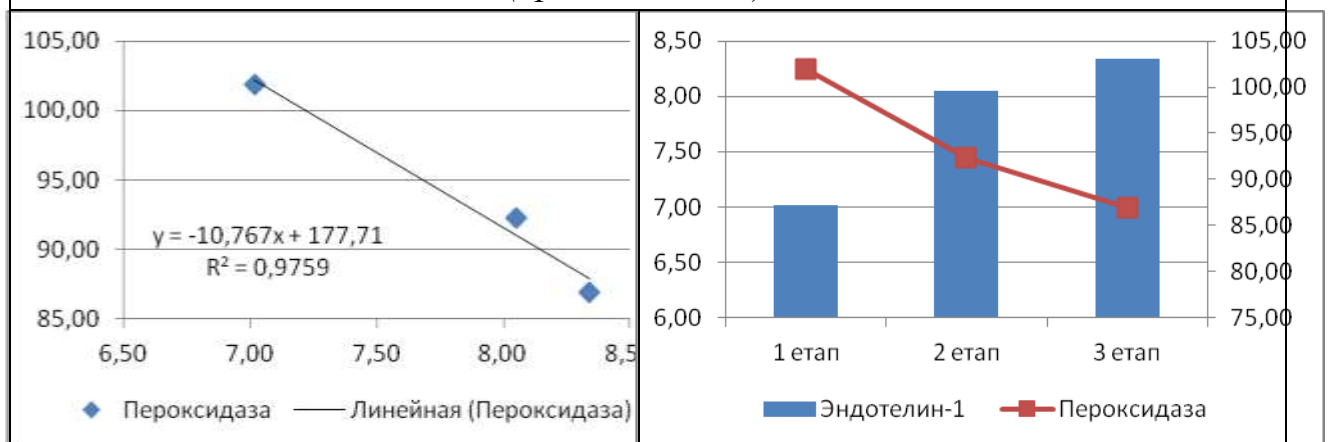
У випадку оберненої залежності між показниками фактору Виллебранда та eNOS прослідковується практично функціональний зв'язок, так як коефіцієнт детермінації рівний майже 1 ( $R^2 = 0,996R^2 = 0,996$ ).



а) залежність між показниками Ендотеліну-1 та МДА  
(прямий зв'язок)

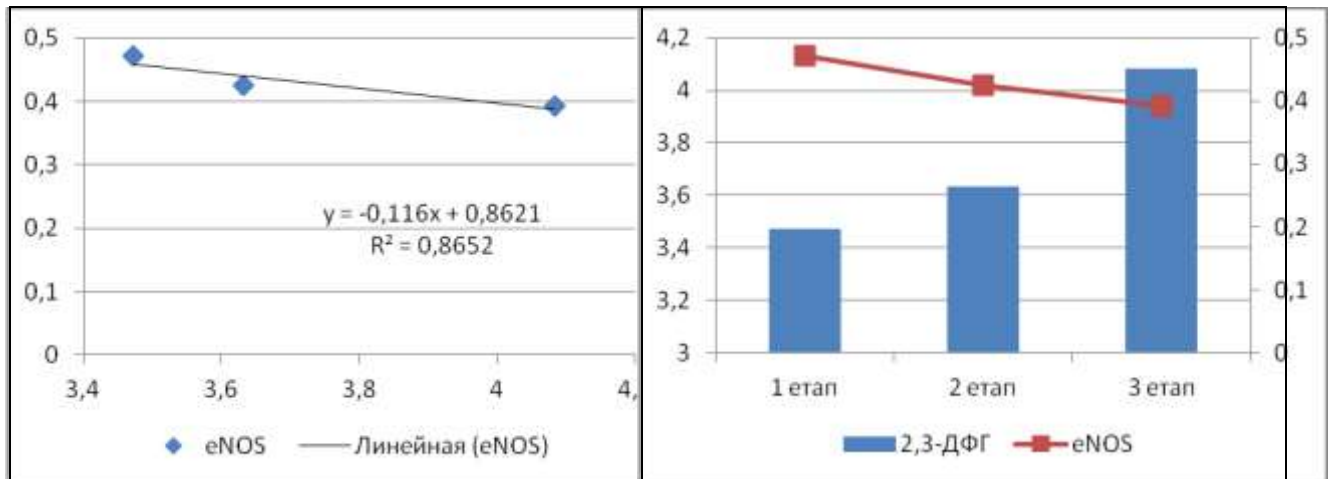


б) залежність між показниками Ендотеліну-1 та Дієнових коньюгатів  
(прямий зв'язок)

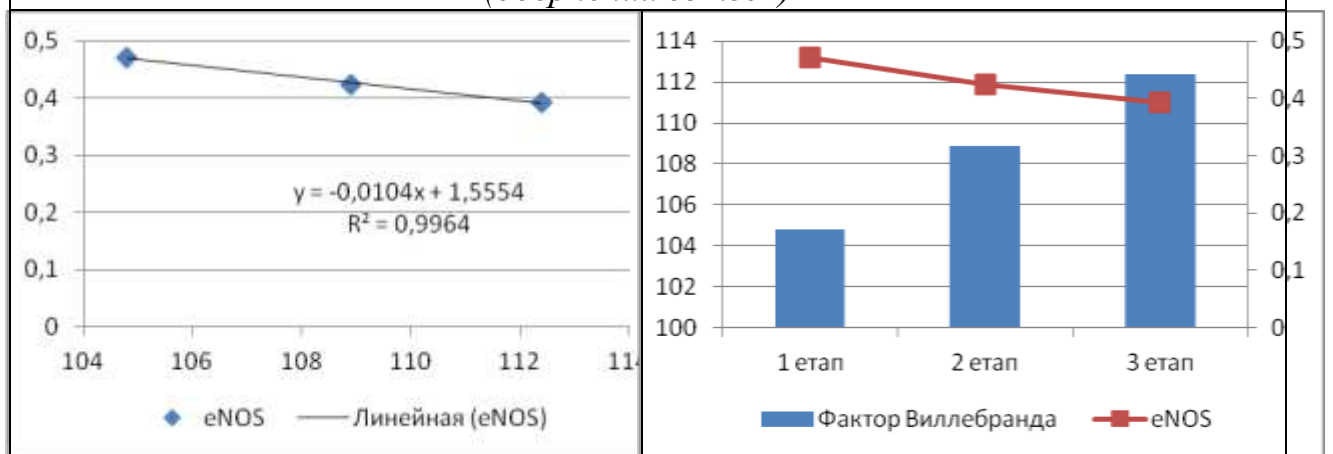


в) залежність між показниками Ендотеліну-1 та Пероксидази  
(обернений зв'язок)

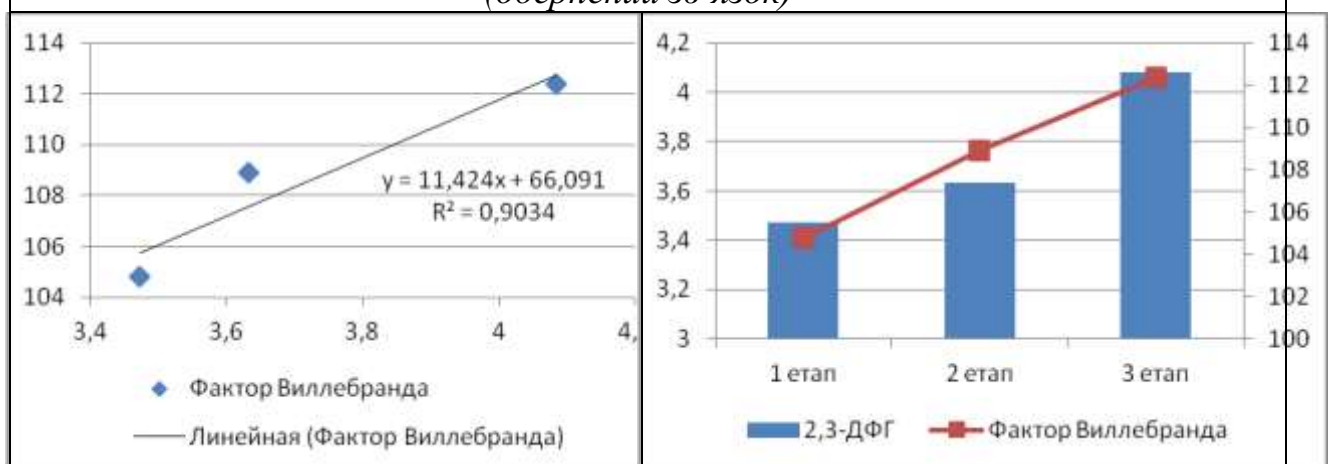
Рисунок 4.3 – Графіки залежності між середніми значеннями показника Ендотеліну-1 та середніми значеннями показників МДА, Дієнових коньюгатів, Пероксидаза



а) залежність між показниками 2,3 діфосфоглицерату та eNOS (обернений зв'язок)



б) залежність між показниками фактору Виллебранда та eNOS (обернений зв'язок)



в) залежність між показниками 2,3 дифосфоглицерату та фактору Виллебранда (прямий зв'язок)

Рисунок 4.4 – Графіки залежності між середніми значеннями показнику 2,3 дифосфоглицерату, фактору Виллебранда та eNOS



А ось залежність між показниками 2,3 діфосфоглицерату та фактору Виллебранда має прямий зв'язок між змінними ( $R^2 = 0,903$ ,  $R^2 = 0,903$ ). Всі тренди, зображені на рисунках 4.2–4.4 дуже добре узгоджені з емпіричними даними, так як характеризуються високими коефіцієнтами детермінації.

4.4 Результати дослідження динаміки рівня глюкози у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу ( $M \pm m$ ) (Табл 4.4).

Результати дослідження вмісту глюкози у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції наведено у таблиці 4.4. Отримані нами результати свідчать про розвиток експериментального діабету при введенні стрептозотоцину у дозі 55 мг/кг маси тварини на тлі високожирної дієти.

Таблиця 4.4 – Вміст глюкози у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу ( $M \pm m$ ) (ммоль/л)

Групи	Етапи					
	І етап (А)		2 етап (В)		3 етап (С)	
1	2	3	4	5	6	7
Група 1	3,5 ± 0,06		3,74 ± 0,07		3,46 ± 0,06	
	-	-	1А-1В	p<0,05	1А-1С 1В-1С	p>0,05 p<0,01
Група 2	15,62 ± 0,37		21,86 ± 0,4		24,79 ± 0,4	
	1А-2А	p<0,001	1В-2В	p<0,001	1С-2С	p<0,001
			2А-2В	p<0,001	2А-2С 2В-2С	p<0,001 p<0,001

Продовження таблиці 4.4

1	2	3	4	5	6	7
Група 3	9,63 ± 0,28		8,63 ± 0,28		6,99 ± 0,28	
	1A-3A	p<0,001	1B-3B	p<0,001	1C-3C	p<0,001
	2A-3A	p<0,001	2B-3B	p<0,001	2C-3C	p<0,001
			3A-3B	p<0,05	3A-3C	p<0,001
					3B-3C	p<0,001
Група 4	6,93 ± 0,25		7,08 ± 0,26		5,74 ± 0,27	
	1A-4A	p<0,001	1B-4B	p<0,001	1C-4C	p<0,001
	2A-4A	p<0,001	2B-4B	p<0,001	2C-4C	p<0,001
	3A-4A	p<0,001	3B-4B	p<0,001	3C-4C	p<0,01
			4A-4B	p>0,05	4A-4C	p<0,01
				4B-4C	p<0,001	
Група 5	10,12 ± 0,3		8,74 ± 0,24		6,8 ± 0,3	
	1A-5A	p<0,001	1B-5B	p<0,001	1C-5C	p<0,001
	2A-5A	p<0,001	2B-5B	p<0,001	2C-5C	p<0,001
	3A-5A	p>0,05	3B-5B	p>0,05	3C-5C	p>0,05
	4A-5A	p<0,001	4B-5B	p<0,001	4C-5C	p<0,05
			5A-5B	p<0,001	5A-5C	p<0,001
				5B-5C	p<0,001	
Група 6	9,01 ± 0,2		8,4 ± 0,22		7 ± 0,24	
	1A-6A	p<0,001	1B-6B	p<0,001	1C-6C	p<0,001
	2A-6A	p<0,001	2B-6B	p<0,001	2C-6C	p<0,001
	3A-6A	p>0,05	3B-6B	p>0,05	3C-6C	p>0,05
	4A-6A	p<0,001	4B-6B	p<0,001	4C-6C	p<0,01
	5A-6A	p<0,01	5B-6B	p>0,05	5C-6C	p>0,05
			6A-6B	p<0,05	6A-6C	p<0,001
				6B-6C	p<0,001	

Продовження таблиці 4.4

1	2	3	4	5	6	7
	7,52 ± 0,24		6,22 ± 0,31		5,39 ± 0,25	
Група 7	1A-7A	p<0,001	1B-7B	p<0,001	1C-7C	p<0,001
	2A-7A	p<0,001	2B-7B	p<0,001	2C-7C	p<0,001
	3A-7A	p<0,001	3B-7B	p<0,001	3C-7C	p<0,001
	4A-7A	p>0,05	4B-7B	p<0,05	4C-7C	p>0,05
	5A-7A	p<0,001	5B-7B	p<0,001	5C-7C	p<0,001
	6A-7A	p<0,001	6B-7B	p<0,001	6C-7C	p<0,001
			7A-7B	p<0,01	7A-7C	p<0,001
				7B-7C	p<0,05	

Корекція гіпоглікемічними засобами у 3-й групі мала позитивний ефект, але не була спроможна була повністю нормалізувати рівень глікемії, тому виникла необхідність у застосуванні додаткових засобів. Застосування афліберцепту та донатора оксиду нітрогену у 4-й групі мала більш виражений позитивний ефект у порівнянні з групою №3, проте результат не досягав контрольних показників. Доведено, що поєднане введення бромфенаку та афліберцепту у 5-й групі проявило себе менш результативно при дослідженні рівня глюкози крові на усіх етапах у порівнянні з даними 4-ї групи, в якій до корекції залучали донатор NO. Доведено, що введення афліберцепту, L-карнітину та бромфенаку тваринам 6-ї групи мало більш виражений позитивний ефект у порівнянні з групою №5, але не досягало значень 4-ї групи експерименту. Максимально ефективною корекцією виявилось поєднання метформіну, афліберцепту, L-аргініну та цитиколіну щурам 7-ї групи, про що свідчить нормалізація рівня досліджуваних показників на 30-у та 60-у добу експерименту, а на 180-у було зафіксовано максимально виражене зниження гіперглікемії. Отримані дані підтверджують виникнення та прогресування цукрового діабету у групі без корекції (p<0,001). Доведена поетапне зниження гіперглікемії під впливом

метформіну. Звертає на себе увагу те, що у групах, в яких до корекції залучали донатор оксиду нітрогену – нормалізація рівня глюкози є більш вираженою та тривалою.

4.5 Результати дослідження динаміки рівня фактора росту судин у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу

Доведено, що VEGF у сироватці крові є інформативним в якості маркера розвитку діабетичної ретинопатії [429].

У сітківці під впливом VEGF в умовах гіпоксії та за участю протеаз відбуваються початкові етапи ангіогенезу: міграція ендотеліальних клітин у екстрацелюлярному матриксі та деградація базальної мембрани капілярного ендотелію. VEGF регулює розвиток новоутворених судин до стадії залучення перицитів, що стабілізують судинну мережу [430, 431]. Також фактор росту судин стимулює посилення проникності стінки судин, порушення функцій гематоретинального бар'єру через фосфорилування щільних контактів ендотеліоцитів [432]. Збільшення проникності гематоретинального бар'єру призводить до розвитку діабетичного макулярного набряку. VEGF спричиняє посилення експресії молекул адгезії лейкоцитів VCAM1, ECAM1, PECAM-1, P-selectin, які у свою чергу посилюють адгезію лейкоцитів у мікросудинах сітківки. В результаті відбувається порушення проникності гематоретинального бар'єру, втрата ендотеліоцитів, інфільтрація сітківки лейкоцитами та діapedез [430, 433].

Отримані нами дані підтверджують розвиток діабетичної ретинопатії, особливо виражене підвищення маркера виявлене на 180-у добу розвитку патологічного процесу ( $p < 0,001$ ). Афліберцепт безумовно має позитивний вплив на нормалізацію даного стану, але більш виражений ефект спостерігається у комбінації з тривалим введенням L-аргініну. Також

виявлено взаємозв'язок нормалізації фактора росту судин і корекції гіпоксії (табл.4.5).

Таблиця 4.5 – Рівень фактора росту судин у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу ( $M \pm m$ ) (мкг/мл)

Групи	Етапи					
	I етап (A)		2 етап (B)		3 етап (C)	
1	2	3	4	5	6	7
Група 1	28,9 ± 0,44		30,45 ± 0,5		30,19 ± 0,51	
	-	-	1A-1B	p<0,05	1A-1C 1B-1C	p>0,05 p>0,05
Група 3	42,93 ± 0,5		50,75 ± 0,42		54,12 ± 0,43	
	1A-3A	p<0,001	1B-3B	p<0,001	1C-3C	p<0,001
	2A-3A	p<0,001	2B-3B	p<0,001	2C-3C	p<0,001
			3A-3B	p<0,001	3A-3C 3B-3C	p<0,001 p<0,001
Група 4	39,46 ± 0,32		37,97 ± 0,34		34,48 ± 0,43	
	1A-4A	p<0,001	1B-4B	p<0,001	1C-4C	p<0,001
	2A-4A	p<0,001	2B-4B	p<0,001	2C-4C	p<0,001
	3A-4A	p<0,001	3B-4B	p<0,001	3C-4C	p<0,001
			4A-4B	p<0,01	4A-4C	p<0,001
					4B-4C	p<0,001
Група 5	41,27 ± 0,43		40,65 ± 0,61		38,92 ± 0,53	
	1A-5A	p<0,001	1B-5B	p<0,001	1C-5C	p<0,001
	2A-5A	p<0,001	2B-5B	p<0,001	2C-5C	p<0,001
	3A-5A	p<0,05	3B-5B	p<0,001	3C-5C	p<0,001
	4A-5A	p<0,01	4B-5B	p<0,001	4C-5C	p<0,001
			5A-5B	p>0,05	5A-5C	p<0,01
					5B-5C	p<0,05
Група 2	48,5 ± 0,4		67,32 ± 0,42		73,94 ± 0,38	
	1A-2A	p<0,001	1B-2B	p<0,001	1C-2C	p<0,001
			2A-2B	p<0,001	2A-2C 2B-2C	p<0,001 p<0,001

Продовження таблиці 4.5

Група 6	38,28 ± 0,48		36,67 ± 0,46		35,29 ± 0,43	
	1A-6A	p<0,001	1B-6B	p<0,001	1C-6C	p<0,001
	2A-6A	p<0,001	2B-6B	p<0,001	2C-6C	p<0,001
	3A-6A	p<0,001	3B-6B	p<0,001	3C-6C	p<0,001
	4A-6A	p<0,05	4B-6B	p<0,05	4C-6C	p>0,05
	5A-6A	p<0,001	5B-6B	p<0,001	5C-6C	p<0,001
			6A-6B	p<0,05	6A-6C	p<0,001
					6B-6C	p<0,05
Група 7	33,52 ± 0,43		31,65 ± 0,41		30,45 ± 0,52	
	1A-7A	p<0,001	1B-7B	p>0,05	1C-7C	p>0,05
	2A-7A	p<0,001	2B-7B	p<0,001	2C-7C	p<0,001
	3A-7A	p<0,001	3B-7B	p<0,001	3C-7C	p<0,001
	4A-7A	p<0,001	4B-7B	p<0,001	4C-7C	p<0,001
	5A-7A	p<0,001	5B-7B	p<0,001	5C-7C	p<0,001
	6A-7A	p<0,001	6B-7B	p<0,001	6C-7C	p<0,001
			7A-7B	p<0,01	7A-7C	p<0,001
				7B-7C	p>0,05	

У групі № 2, в якій моделювали діабетичну ретинопатію без подальшої корекції на першому етапі виявлене збільшення рівня фактора росту судин порівняно з контрольною групою на 67,8 % (p<0,001). На другому етапі виявлено збільшення досліджуваного маркера на 121 % порівняно з інтактною групою, та на 38,8 % (p<0,001) порівняно з своєю групою на попередньому етапі. На третьому етапі встановлено, що рівень VEGF на 144,9 % (p<0,001) більший порівняно з інтактною групою, на 52,4 % (p<0,001) перевищує значення своєї групи 1-го етапу, і на 9,8 % (p<0,001) – 2-го етапу.

У групі № 3, в якій була проведена корекція гіпоглікемії при змодельованій діабетичній ретинопатії встановлено, що на першому етапі рівень досліджуваного показника на 48,5 % перевищує результати контрольної групи, а порівняно з групою №2 він нижчий на 11,5 %. На другому етапі спостерігається збільшення VEGF, його рівень вищий як

порівняно з інтактною групою – на 66,7 % ( $p < 0,001$ ), так і порівняно з попереднім етапом – на 18,2 % ( $p < 0,001$ ), у порівнянні з групою №2 він нижчий на 24,6 % ( $p < 0,001$ ). На третьому етапі встановлено більш виражене підвищення VEGF відносно інтактної групи – на 79,2 % ( $p < 0,001$ ). Порівняно з даними своєї групи першого етапу він більший на 26 % ( $p < 0,001$ ), другого етапу – на 6,6 %, але у порівнянні з групою №2 його підвищення менш виражено на 26,8 % ( $p < 0,001$ ).

У четвертій групі, в якій експериментальну діабетичну ретинопатію коригували за допомогою корекції гіперглікемії, введення афліберцепта та розчину L-аргініну на 1-у етапі виявлено збільшення рівня фактора росту судин на 36,5 % ( $p < 0,001$ ), а порівняно з 2-ю на 3-ю групами його значення є менш підвищеними на 18,6 % ( $p < 0,001$ ) і на 8 % відповідно. На другому етапі встановлено збільшення показника на 24,7 % ( $p < 0,001$ ) відносно інтактної групи. Звертає на себе увагу те, що підвищення маркера є менш вираженим відносно 2 –ї групи на 43,6 % ( $p < 0,001$ ), відносно 3 –ї – на 25,2 % ( $p < 0,001$ ), і у порівнянні з даними своєї групи попереднього етапу – на 3,8 % ( $p < 0,001$ ). На третьому етапі проявляється ще більш виражений ефект даного способу корекції: рівень маркера проліферації порівняно з інтактною групою вищий на 14,2 % ( $p < 0,001$ ), у порівнянні з групою № 2 він нижчий на 53,4 % ( $p < 0,001$ ), з 3-ю менш виражений на 36,3 % ( $p < 0,001$ ). Також його значення є меншим відносно результатів своєї групи 1-го етапу – на 12,6 % ( $p < 0,001$ ), 2-го етапу – на 9,2 % ( $p < 0,001$ ).

У п'ятій групі, в якій патологічний стан коригували за допомогою гіперглікемічного препарату, введення афліберцепта та бромфенаку одержані наступні дані. На 1-у етапі рівень VEGF є вищим на 42,8 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з інтактною групою і на 4,6 % ( $p < 0,01$ ) відносно групи № 4. У порівнянні з групою №2 його підвищення менш виражено на 14,9 % ( $p < 0,001$ ), а у порівнянні з групою №3 – на 3,9 % ( $p < 0,05$ ). На другому етапі рівень VEGF більший на 33,5 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з 1-ю групою, але

підвищення є менш вираженим відносно 2-ї групи – на 39,6 % ( $p < 0,001$ ), відносно 3-ї на 19,9 % ( $p < 0,001$ ), відносно своєї групи 1-го етапу – на 1,5 %. А у порівнянні з групою №4 – маркер проліферації підвищений на 7 % ( $p < 0,001$ ). На третьому етапі VEGF підвищений на 28,9 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з групою № 1, і на 12,9 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з групою №4. Відносно усіх наступних груп порівняння його підвищення є менш вираженим – порівняно з групою № 2 – на 47,4 % ( $p < 0,001$ ), групою № 3 – на 28 % ( $p < 0,001$ ), своєю групою 1-го етапу – на 5,7 % ( $p < 0,01$ ), і своєю групою 2-го етапу – на 4,3 % ( $p < 0,05$ ).

У шостій групі, в якій експериментальним тваринам проводили корекцію гіперглікемії, вводили афліберцепт, L-карнітин та бромфенак встановлено, що на першому етапі рівень фактора росту судин є на 32,4 % ( $p < 0,001$ ), а відносно усіх інших груп його підйом є менш вираженим: на 21 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з групою №2, на 10,83 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з групою №3, на 3 % ( $p < 0,05$ ) відносно 4-ї групи, і на 7 % відносно 5-ї ( $p < 0,001$ ). Встановлена позитивна тенденція прослідковується також на 2-у та 3-у етапах експерименту, що свідчить про результативність даного способу корекції.

Найбільш виражений позитивний ефект спостерігається при застосуванні гіпоглікемічного препарату у комплексі з введенням афліберцепта, розчину L-аргініну та цитиколіну (у групі № 7). На першому етапі рівень VEGF вищий на 15,9 % ( $p < 0,001$ ), відносно усіх інших груп експерименту його рівень є меншим: порівняно з 2-ю групою – на 30,9 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з 3-ю – на 21,9 % ( $p < 0,001$ ), відносно групи №4 він нижчий на 15 % ( $p < 0,001$ ), відносно групи №5 – на 18,8 % ( $p < 0,001$ ), і порівняно з 6-ю групою – на 12,4 % ( $p < 0,001$ ). На другому етапі зберігається позитивний вплив коригуючих засобів на рівень маркера проліферації – порівняно з інтактною групою він є статистично не значущим і є більшим на 3,9 %. Відносно групи без корекції його значення є нижчим на 52,9 %



( $p < 0,001$ ), також його значення є нижчим порівняно з усіма попередніми групами, в яких коригували патологічний стан – відносно 3-ї групи – на 37,6 % ( $p < 0,001$ ), відносно 4-ї – на 16,6 % ( $p < 0,001$ ), у порівнянні з 5-ю – на 22,1 % ( $p < 0,001$ ), а відносно 6-ї – на 13,7 % ( $p < 0,001$ ). Порівняно з попереднім етапом своєї групи підйом є менш вираженим на 5,6 % ( $p < 0,01$ ). На третьому етапі рівень маркера максимально наближається до значень інтактної групи – відмінність складає 0,9 % і є статистично незначущою. Порівняно з даними інших груп рівень даний спосіб корекції є більш наближеним до значень норми - на 58,8 % ( $p < 0,001$ ) відносно 2-ї групи, на 43,7 % ( $p < 0,001$ ) відносно 3-ї, на 11,7 % ( $p < 0,001$ ) відносно 4-ї, на 21,8 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з групою №5, і на 13,7 % ( $p < 0,001$ ). Відносно даних своєї групи на 180-у добу результат є кращим на 9,2 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з 1-м етапом, і на 3,8 % порівняно з 2-им.

Каркасом для ангиогенезу служить мережа ендотеліоцитів, яка формується під час васкулогенезу [434-436]. Неадекватний ангиогенез лежить в основі такого патологічного процесу як проліферативна діабетична ретинопатія. Причинами прогресуючого зниженняостроти зору у хворих на цукровий діабет є надлишкова проліферація судин очного яблука. Дисбаланс між інгібіторами та стимуляторами ангиогенезу характерний для розвитку діабетичної ретинопатії. Під час ішемії сітківки посилюється гіперпродукція VEGF, яка відіграє ключову роль в активації патологічного новоутворення судин [434, 437].

#### *Резюме.*

Доведена роль дисфункції ендотелію у розвитку експериментальної діабетичної ретинопатії. Нами розроблена математична модель прогнозу досліджуваного патологічного стану, яка ґрунтується на аналізі біохімічних показників крові на ранніх етапах експерименту.

Отримане рівняння логістичної регресії має наступний вигляд

$$G(z) = \frac{e^{(-642,032+44,993 \cdot x_1+35,443 \cdot x_2+2,987 \cdot x_3)}}{1 + e^{(-642,032+44,993 \cdot x_1+35,443 \cdot x_2+2,987 \cdot x_3)}}$$

Для отримання відсоткового значення ймовірності подальшої тяжкості прогресування діабетичної ретинопатії (у межах від 0-100 %), використовуючи отриману функцію логістичної регресії, потрібно помножити отримане значення функції  $G(z)G(z)$  на 100 %. Доведена інформативність маркерів дисфункції ендотелію – Фактора Віллебранда та ендотеліну-1 у прогнозуванні розвитку експериментальної діабетичної ретинопатії. Встановлена результативність комплексного аналізу рівня 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів разом з зазначеними маркерами функціонального стану ендотеліоцитів на 30-у добу для прогнозування подальшого перебігу досліджуваного патологічного процесу.

Отримані нами результати свідчать про розвиток гіпоксії уже на 30-у добу розвитку експериментальної діабетичної ретинопатії з подальшим прогресуванням патологічних змін на 60-у та 180-у добу дослідження, про що свідчить зниження рівня 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів у 2-й групі ( $p < 0,001$ ), максимально виражене на 3-му етапі. При аналізі даних групи № 3 встановлено, що корекція патологічного стану за допомогою гіпоглікемічних засобів має позитивний вплив, але не дозволяє виражено скоригувати патологічний розвиток гіпоксії. Результати 4-ї групи свідчать про те, що залучення донатора оксиду нітрогену та афліберцепта до корекції діабетичної ретинопатії коригує гіпоксичні зрушення та сприяє відновленню фізіологічного шляху синтезу оксиду нітрогену, максимально виражений ефект спостерігається на 180-у добу експерименту, але нормативних значень досягти не вдається. Прослідковується, що корекція змодельованого патологічного стану шляхом зниження гіперглікемії, введення афліберцепта та бромфенаку (група № 5) дає позитивні результати, але менш виражені, аніж залучення до комплексної корекції розчину L-аргініну. Виявлено, що у

щурів у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта, L-карнітину та бромфенаку (група № 6) наявна виражена тенденція до нормалізації досліджуваного маркера гіпоксії у порівнянні з попередніми розглянутими способам, але рівень 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів не досягає нормативних значень. Отримані дані дозволяють стверджувати, що спосіб корекції, обраний у 7-й групі (корекцію гіперглікемії, введення афліберцепта, розчину L-аргініну та цитиколіну) більш виражено нормалізує рівень 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів порівняно з іншими групами нашого експерименту, його результативність виражено проявляється уже на 30-у добу, збільшуючись до 60-ї та 180-ї діб.

Отримані дані підтверджують виникнення та прогресування цукрового діабету у групі без корекції ( $p < 0,001$ ). Доведена поетапне зниження гіперглікемії під впливом метформіну. Звертає на себе увагу те, що у групах, в яких до корекції залучали донатор оксиду нітрогену – нормалізація рівня глюкози є більш вираженою та тривалою.

Результати аналізу фактора росту судин підтверджують розвиток діабетичної ретинопатії, особливо виражене підвищення маркера виявлене на 180-у добу розвитку патологічного процесу ( $p < 0,001$ ). Афліберцепт безумовно має позитивний вплив на нормалізацію даного стану, але більш виражений ефект спостерігається у комбінації з тривалим введенням L-аргініну. Також виявлено взаємозв'язок нормалізації фактора росту судин і корекції гіпоксії.

Результати даного розділу опубліковані у наукових працях автора [438-442].

## РОЗДІЛ 5

### ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ СИНТАЗ ОКСИДУ НІТРОГЕНУ ТА ІНТЕРЛЕЙКІНУ 1 В ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВІЙ ДІАБЕТИЧНІЙ РЕТИНОПАТІЇ ТА НА ТЛІ ЇЇ КОРЕКЦІЇ

5.1 Результати дослідження динаміки активності ендотеліальної синтази оксиду нітрогену у тварин, яким моделювали діабетичну ретинопатію та на тлі способів її корекції

Цукровий діабет характеризується порушенням продукції оксиду нітрогену. Зниження рівня вільного оксиду нітрогену призводить до недостатньої дилатації капілярів, вазоспазму та переважанню ефекту вазоконстрикторних факторів [443-445].

Основним фактором, який обумовлює біологічний ефект NO, є його локальна концентрація. Оксид нітрогену, який продукується у невеликих/фізіологічних кількостях забезпечує регуляцію важливих функцій організму [9]. При високих концентраціях NO за рахунок довготривалої надмірної продукції починають переважати його непрямі ефекти, які обумовлюють цитотоксичну дію. Варто зауважити, що порушення продукції і біодоступності оксиду нітрогену – не лише фактор серцево-судинних захворювань, а має також прогностичне значення і дозволяє провети оцінку ризику та вірогідності прогресування патологічного процесу. Ключова ланка формування дисфункції ендотелію – зниження рівня біологічно активного оксиду нітрогену, який продукується ендотелієм та зниження його біодоступності [446].

Оксид нітрогену відіграє ключову роль у регуляції функціонального стану ендотелію та судинного тонуусу у пацієнтів, які страждають на цукровий діабет [447].

Ендотеліальна синтаза оксиду нітрогену – фермент, який забезпечує перетворення донатора оксиду нітрогену L-аргініну у NO (фізіологічний шлях синтезу оксиду нітрогену) та цитрулін [448].

Результати дослідження активності ендотеліальної синтази оксиду нітрогену в умовах нашого дослідження представлені у табл.5.1.

Таблиця 5.1 – Активність ендотеліальної синтази оксиду нітрогену у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу ( $M \pm m$ ), (мікромоль/літр/годину)

Групи	Етапи					
	I етап		II етап		III етап	
1	2	3	4	5	6	7
1 група	0,74 ± 0,02		0,75 ± 0,02		0,75 ± 0,02	
			I-II	p>0,05	I-III II-III	p>0,05 p>0,05
2 група	0,47 ± 0,02		0,42 ± 0,02		0,4 ± 0,02	
	1-2	p<0,001	I-II	p<0,05	I-III	p<0,01
			1-2	p<0,001	II-III 1-2	p>0,05 p<0,001
3 група	0,53 ± 0,02		0,5 ± 0,02		0,44 ± 0,02	
	1-3	p<0,001	I-II	p>0,05	I-III	p<0,01
	2-3	p<0,05	1-3	p<0,001	II-III	p<0,05
			2-3	p<0,01	1-3 2-3	p<0,001 p<0,05
4 група	0,58 ± 0,02		0,62 ± 0,02		0,66 ± 0,02	
	1-4	p<0,001	I-II	p>0,05	I-III	p<0,01
	2-4	p<0,001	1-4	p<0,001	II-III	p<0,05
	3-4	p<0,05	2-4	p<0,001	1-4	p<0,01
			3-4	p<0,001	2-4 3-4	p<0,001 p<0,001

Продовження таблиці 5.1

1	2	3	4	5	6	7
5 група	0,55 ± 0,02		0,53 ± 0,02		0,5 ± 0,02	
	1-5	p<0,001	I-II	p>0,05	I-III	p<0,05
	2-5	p<0,01	1-5	p<0,001	II-III	p>0,05
	3-5	p>0,05	2-5	p<0,001	1-5	p<0,001
	4-5	p>0,05	3-5	p>0,05	2-5	p<0,001
			4-5	p<0,001	3-5	p<0,05
6 група	0,63 ± 0,02		0,66 ± 0,02		0,7 ± 0,02	
	1-6	p<0,001	I-II	p>0,05	I-III	p<0,01
	2-6	p<0,001	1-6	p<0,001	II-III	p>0,05
	3-6	p<0,001	2-6	p<0,001	1-6	p<0,05
	4-6	p<0,05	3-6	p<0,001	2-6	p<0,001
	5-6	p<0,01	4-6	p<0,05	3-6	p<0,001
5-6			p<0,001	4-6	p>0,05	
7 група	0,65 ± 0,02		0,69 ± 0,02		0,76 ± 0,02	
	1-7	p<0,01	I-II	p>0,05	I-III	p<0,001
	2-7	p<0,001	1-7	p<0,05	II-III	p<0,05
	3-7	p<0,001	2-7	p<0,001	1-7	p>0,05
	4-7	p<0,05	3-7	p<0,001	2-7	p<0,001
	5-7	p<0,001	4-7	p<0,01	3-7	p<0,001
	6-7	p>0,001	5-7	p<0,001	4-7	p<0,01
			6-7	p>0,05	5-7	p<0,001
				6-7	p<0,05	

У другій групі, в якій діабетичну ретинопатію моделювали без подальшої корекції, уже на першому етапі виявлене значне зниження активності eNOS – на 58,1 % у порівнянні з даними інтактних тварин (p<0,001). На другому етапі зниження активності досліджуваного фермента e

ще більш вираженим – на 76,4 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з даними інтактних щурів та на 10,9 % у порівнянні з результатами своєї групи на попередньому етапі ( $p < 0,05$ ). На третьому етапі експерименту встановлене ще більш виражене пригнічення активності eNOS – вона нижча на 87,5 % ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з значеннями інтактної групи. Порівняно з даними попереднього етапу у 2-й групі відмінності є статистично не значущими, а у порівнянні з першим етапом активність фермента є нижчою на 20 % ( $p < 0,01$ ).

У групі № 3, в якій моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії метформіном, були отримані наступні дані. На першому етапі активність ендотеліальної синтази оксиду нітрогену є нижчою на 41,4 % у порівнянні з даними інтактної групи ( $p < 0,001$ ). Спостерігається позитивна динаміка під впливом гіпоглікемічного засобу – у даній групі активність досліджуваного ферменту є на 10,5 % вищою, ніж у групі зі змодельованою ДР без корекції ( $p < 0,05$ ). На другому етапі у 3-й групі зниження активності eNOS є більш вираженим – на 51 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з групою №1, але у порівнянні з групою зі змодельованою діабетичною ретинопатією без подальшої корекції на цьому ж етапі її активність є вищою на 14,4 % ( $p < 0,01$ ).

Порівняно з даними своєї групи на 1-му етапі відмінності на 60-у добу у 3-й групі є статистично не значущими. На третьому етапі виявлене ще більш виражене зниження активності ендотеліальної синтази оксиду нітрогену – вона є нижчою на 68,9 % у порівнянні з даними інтактної групи ( $p < 0,001$ ). Порівняно з групою без корекції активність фермента є вищою на 11,6 % ( $p < 0,05$ ). Аналізуючи поетапно динаміку групи №3 на 180-у добу (3-й етап) порівняно з даними 1-го етапу встановлене зниження активності eNOS на 18,6 % ( $p < 0,01$ ), у порівнянні з даними 2-го етапу вона патологічно знижена на 11,7 % ( $p < 0,05$ ).

У групі № 4 окрім гіпоглікемічного засобу для корекції дисфункції ендотелію при діабетичній ретинопатії був залучений розчин L-аргініну –

донатора оксиду нітрогену та афліберцепт. На першому етапі активність eNO-синтази є зниженою на 28,8 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з інтактною групою. У порівнянні з даними 2-ї групи, в якій ДР моделювали без подальшої корекції активність фермента є вищою на 18,5 % ( $p < 0,001$ ), а у порівнянні з 3-ю групою (корекція метформіном) – на 8,9 % ( $p < 0,05$ ). На другому етапі активність eNOS є нижчою порівняно з даними групи №1 на 21,2 % ( $p < 0,001$ ) – зниження менш виражене, ніж на 1-му етапі, хоча статистичних відмінностей між даними 1-го та 2-го етапів у 2-й групі не встановлено. Позитивним моментом є те, що при порівнянні з групою без корекції активність ендотеліальної синтази оксиду нітрогену у 4-й групі є вищою на 31,3 % ( $p < 0,001$ ), а порівняно з 3-ю групою – на 19,7 % ( $p < 0,001$ ). На третьому етапі (180-а доба експерименту) зниження активності досліджуваного фермента є ще менш вираженим – на 12,9 % порівняно з інтактною групою ( $p < 0,01$ ). У порівнянні з патологічно зниженою активністю eNO-синтази у 2-й групі в 4-й гр. вона є вищою на 40,9 % ( $p < 0,001$ ), а порівняно з 3-ю групою (корекція ДР лише гіпоглікемічним препаратом), - на 33,1 % ( $p < 0,001$ ). Аналізуючи поетапно динаміку активності зазначеного ензима у 4-й групі встановлено, що її активність на 3-му етапі є на 12,9 % вищою ( $p < 0,01$ ) у порівнянні з 1-м етапом, і на 6,9 % - порівняно з 2-им ( $p < 0,05$ ).

В щурів п'ятої групи моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта та бромфенаку. На першому етапі встановлено, що активність синтази оксиду нітрогену є нижчою за нормативні значення на 34,5 % ( $p < 0,001$ ). У порівнянні з групою номер 2 у крові тварин 5-ї групи активність eNOS є вищою на 14,9 % ( $p < 0,01$ ). Статистично значущих відмінностей при проведенні порівняльного аналізу з 3-ю та 4-ю групами не виявлено. На другому етапі зниження активності ензиму у порівнянні з даними групи №1 є більш вираженим – уже на 42,3 % ( $p < 0,001$ ), хоча статистично значущих відмінностей при порівнянні



даних 1-го і 2-го етапів у 5-й групі не встановлено. У порівнянні з результатами групи без корекції активність eNO-синтази є вищою на 19,4 % ( $p < 0,001$ ). Порівняно з 3-ю групою статистично значущих відмінностей не виявлено. А у порівнянні з результатами 4-ї групи корекція у 5-й групі є менш ефективною на 17,4 % ( $p < 0,001$ ). На третьому етапі спостерігається зниження ефективності даного способу корекції – активність eNOS знижена на 50,3 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з даними інтактної групи. У порівнянні з результатами групи №2 активність ензиму є вищою на 21,3 % ( $p < 0,001$ ), а у порівнянні з 3-ю – на 11 % ( $p < 0,05$ ). При цьому варто зауважити, що ефективність даного способу корекції є меншою, ніж у 4-й групі (корекція метформіном, розчином L-аргініну та афліберцепта) активність досліджуваного ферменту є на 33,1 % нижчою порівняно з групою № 4 ( $p < 0,001$ ). При аналізі поетапної динаміки у 5-й групі встановлено, що порівняно з 1-м етапом на 3-му активність eNO-синтази є нижчою на 10,9 % ( $p < 0,05$ ), а у порівнянні з 2-им статистичної значущості не встановлено.

При дослідженні результатів 6-ї групи, в якій змодельовану діабетичну ретинопатію коригували за допомогою метформіну, введення афліберцепта, L-карнітіну та бромфенаку встановлено наступне. На 30-у добу активність досліджуваного маркера є на 18,9 % ( $p < 0,001$ ) нижчою за значення інтактних тварин (зниження значно менш виражене у порівнянні з даними інших груп на цьому ж етапі). У порівнянні з даними групи без корекції активність eNOS є вищою на 24,8 % ( $p < 0,001$ ). Порівняно з результатами попередніх груп, в яких коригували змодельовану патологію, були отримані наступні дані: у порівнянні з 3-ю групою дана корекція є результативнішою на 15,9 % ( $p < 0,001$ ), у порівнянні з 4-ю – на 7,7 % ( $p < 0,05$ ), порівняно з 5-ю на 11,6 % ( $p < 0,01$ ). Активність eNOS на 60-у добу у 6-й групі є 13,1 % ( $p < 0,001$ ) нижчою порівняно з групою №1 (зниження менш виражене ніж на попередньому етапі, хоча статистичні відмінності між 1-им і 2-им етапами не встановлені). У порівнянні з результатами групи щурів зі змодельованою ДР

без корекції активність фермента є вищою на 35,9 % ( $p < 0,001$ ). У порівнянні з 3-ю групою активність ендотеліальної синтази оксиду нітрогену є вищою на 25,1 % ( $p < 0,001$ ), з 4-ю – на 6,7 % ( $p < 0,05$ ), 5-ю – на 20,5 % ( $p < 0,001$ ). На третьому етапі були отримані наступні дані: порівняно з даними першої групи зниження ще менш виражене – на 7,8 % ( $p < 0,05$ ). У порівнянні з даними групи без корекції активність ензиму є вищою на 43,6 %. Порівняно з 3-ю групою результат є кращим на 36,2 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з 5-ю на 28,3 % ( $p < 0,001$ ), у порівнянні з даними групи №4 статистично значущих відмінностей не виявлено. Поетапний аналіз динаміки показника у 6-й групі показав, що на 3-му етапі його активність є вищою на 10,1 % ( $p < 0,01$ ) порівняно з 1-м етапом, а порівняно з 2-им відмінності є статистично не значущими.

У експериментальних тварин 7-ї групи, в яких змодельовану діабетичну ретинопатію коригували за допомогою метформіну, введення афліберцепта, розчину L-аргініну та цитиколіну, уже на першому етапі спостерігається позитивна динаміка: активність ендотеліальної синтази оксиду нітрогену є нижчим за значення інтактних тварин, але лише на 15,2 % ( $p < 0,01$ ) (найменш виражене зниження на цьому етапі, порівняно з даними інших груп). У порівнянні з групою без корекції, активність eNOS є вищою на 27,1 % ( $p < 0,001$ ), у порівнянні з 3-ю групою – на 18,6 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з 4-ю – на 10,6 % ( $p < 0,05$ ), а з 5-ю – на 14,4 % ( $p < 0,001$ ). Статистично значущі відмінності між даними 6-ї та 7-ї груп на цьому етапі не виявлені. Позитивна тенденція щодо ефективності відновлення активності досліджуваного фермента зберігається у 7-й групі і на 60-у добу: у порівнянні з інтактними тваринами вона знижена лише на 8,9 % ( $p < 0,05$ ). Порівняно з групою №2 виявлене підвищення патологічно зниженої активності eNOS на 38,2 % ( $p < 0,001$ ), у порівнянні з групою №3 – на 27,8 % ( $p < 0,001$ ), з групою №4 – на 10,1 % ( $p < 0,01$ ), порівняно з групою №5 – на 23,4 % ( $p < 0,001$ ). Статистичних відмінностей між даними 6-ї та 7-ї груп на цьому

етапі не виявлено. На 180-у добу встановлена відсутність статистично значущих відмінностей між даними 7-ї групи та інтактної, що підтверджує максимально виражену ефективність даного способу корекції, яка більш виражено проявляється на віддаленому етапі. Активність ендотеліальної синтази оксиду нітрогену є вищою у цій групі порівняно з групою №2 на 48,4 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з групою №3 – на 41,6 % ( $p < 0,001$ ), з групою №4 – на 12,6 % ( $p < 0,01$ ), у порівнянні з 5-ю групою експериментальних тварин – на 34,3 % ( $p < 0,001$ ) і у порівнянні з 6-ю – на 8,4 % ( $p < 0,05$ ). Аналізуючи поетапну динаміку у 7-й групі при порівнянні 1-го і 2-го етапу статистично-значущих відмінностей не виявлено, на третьому етапі у порівнянні з 1-м активність eNOS підвищилась на 14,9 % ( $p < 0,001$ ), а у порівнянні з 2-м – на 9,5 % ( $p < 0,05$ ).

Динаміка активності показника наочно проілюстрована на рис 5.1.

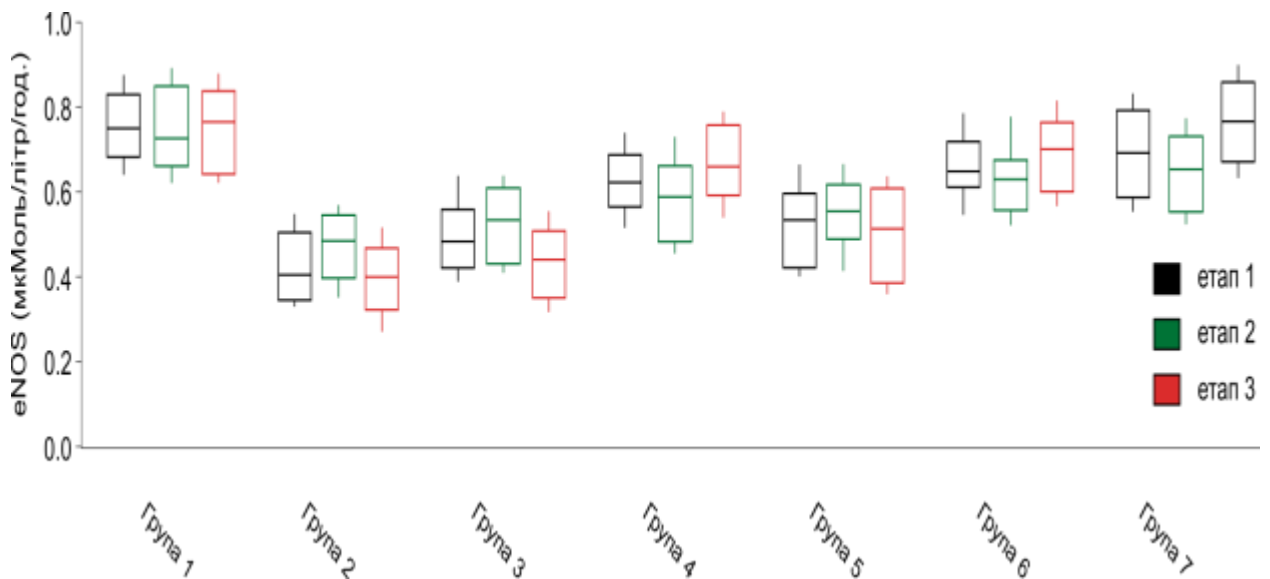


Рисунок 5.1 – Активність ендотеліальної синтази оксиду нітрогену у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу. Бокс плоти ілюструють розподіл величин рівня досліджуваного показника в усіх групах експерименту на кожному із етапів дослідження (n=20)

5.2 Результати дослідження змін активності індукцибельної синтази оксиду нітрогену у експериментальних тварин, яким моделювали діабетичну ретинопатію та на тлі її корекції

Індукцибельна, або як її ще називають, кальцій незалежна NO-синтаза має яскраво виражені цитостатичну та цитотоксичну функції і зосереджена в основному у макрофагах. Має дуже потужну активність, яка в 100 разів перевищує дія конститутивних ізоферментів. Регулюється під впливом Інтерлейкінів, глюкокортикоїдів та тромбоцитарних факторів росту до транскрипції гена iNOS [449]. Активація цього фермента призводить до довготривалого утворення NO макрофагами у великій кількості. Активаторами цієї ізоформи NO-синтази можуть бути деякі форми простагландинів, велика кількість вільних радикалів, бактеріальні ліпополісахариди, ендотоксин,  $\gamma$ -інтерферон та протизапальні цитокіни. Механізм індукцибельної NO-синтази працює у макрофазі, в ядрі якого із подальшою транскрипцією у мессенджер РНК цитокіни активують ген iNO-синтази [449]. Під час цієї реакції відновлюється синтез індукцибельної NOS, яка запускає механізм постійної секреції NO. У фагосомі оксид нітрогену з'єднується із супероксиданіоном. При цьому утворюються токсичні вільні радикали, які мають бактерицидну дію – гідроксильний радикал та пероксинітрит [449, 450]. NO – нестабільна сполука і у біологічних системах швидко перетворюється в нітрит-аніон, який утворюється або ферментативно у процесі ресинтезу  $\text{NO}_3^-$  нітритредуктазою, або неферментативно – через окислення NO в присутності достатньої кількості кисню [451]. Більшість проміжних продуктів пулу оксиду нітрогену у процесі метаболізму перетворюються у більш стабільні нітрати. Проте під дією нітрат- та нітритредуктаз вони можуть знову відновлюватись

до NO, тим самим завершуючи повний цикл обміну оксиду нітрогену [449, 452].

Результати дослідження активності індуцибельної синтази оксиду нітрогену представлені у табл. 5.2.

Таблиця 5.2 – Активність індуцибельної синтази оксиду нітрогену у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу ( $M \pm m$ ), (мікромоль/літр/годину)

Групи	Етапи					
	I етап		II етап		III етап	
1	2	3	4	5	6	7
1 група	$3,64 \pm 0,27$		$3,64 \pm 0,23$		$3,64 \pm 0,25$	
			I-II	$p > 0,05$	I-III II-III	$p > 0,05$ $p > 0,05$
2 група	$12,03 \pm 0,29$		$14,37 \pm 0,26$		$16,23 \pm 0,23$	
	1-2	$p < 0,001$	I-II	$p < 0,001$	I-III	$p < 0,001$
			1-2	$p < 0,001$	II-III 1-2	$p < 0,001$ $p < 0,001$
3 група	$8,93 \pm 0,25$		$9,43 \pm 0,25$		$9,84 \pm 0,22$	
	1-3	$p < 0,001$	I-II	$p > 0,05$	I-III	$p < 0,01$
	2-3	$p < 0,001$	1-3	$p < 0,001$	II-III	$p > 0,05$
			2-3	$p < 0,001$	1-3 2-3	$p < 0,001$ $p < 0,001$
4 група	$7,21 \pm 0,22$		$6,00 \pm 0,18$		$5,29 \pm 0,25$	
	1-4	$p < 0,001$	I-II	$p < 0,001$	I-III	$p < 0,001$
	2-4	$p < 0,001$	1-4	$p < 0,001$	II-III	$p < 0,05$
	3-4	$p < 0,001$	2-4	$p < 0,001$	1-4	$p < 0,001$
			3-4	$p < 0,001$	2-4 3-4	$p < 0,001$ $p < 0,001$

Продовження таблиці 5.2

1	2	3	4	5	6	7
5 група	5,42 ± 0,27		5,04 ± 0,16		6,1 ± 0,24	
	1-5	p<0,001	I-II	p>0,05	I-III	p<0,05
	2-5	p<0,001	1-5	p<0,001	II-III	p<0,001
	3-5	p<0,001	2-5	p<0,001	1-5	p<0,001
	4-5	p<0,001	3-5	p<0,001	2-5	p<0,001
			4-5	p<0,001	3-5	p<0,001
					4-5	p<0,05
6 група	5,00 ± 0,24		4,61 ± 0,21		4,35 ± 0,18	
	1-6	p<0,001	I-II	p>0,05	I-III	p<0,05
	2-6	p<0,001	1-6	p<0,01	II-III	p>0,05
	3-6	p<0,001	2-6	p<0,001	1-6	p<0,05
	4-6	p<0,001	3-6	p<0,001	2-6	p<0,001
	5-6	p>0,05	4-6	p<0,001	3-6	p<0,001
		5-6	p>0,05	4-6	p<0,01	
				5-6	p<0,001	
7 група	5,23 ± 0,26		4,4 ± 0,23		3,69 ± 0,25	
	1-7	p<0,001	I-II	p<0,05	I-III	p<0,001
	2-7	p<0,001	1-7	p<0,05	II-III	p<0,05
	3-7	p<0,001	2-7	p<0,001	1-7	p>0,05
	4-7	p<0,001	3-7	p<0,001	2-7	p<0,001
	5-7	p>0,05	4-7	p<0,001	3-7	p<0,001
	6-7	p>0,05	5-7	p<0,05	4-7	p<0,001
		6-7	p>0,05	5-7	p<0,001	
				6-7	p<0,05	

При дослідженні активності iNOS у 2-й групі виявлене її значне підвищення – на 69,7 % (p<0,001). На другому етапі патологічне збільшення активності є ще більш виражним порівняно з інтактними тваринами – на 74,7 % (p<0,001), у порівнянні з попереднім етапом збільшення виявлене на 16,3 % (p<0,001). На третьому етапі встановлено прогресування підвищення

активності iNOS – на 77,6 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з інтактною групою; на 25,9 % ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з даними 2-ї групи на 1-му етапі, і на 11,5 % ( $p < 0,001$ ) на 2-му.

При аналізі даних групи № 3 виявлене підвищення активності досліджуваного ферменту на першому етапі на 59,2 % ( $p < 0,001$ ), але менш виражене, ніж у групі №2 – на 34,7 % ( $p < 0,001$ ). На другому етапі встановлене збільшення на 61,4 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з групою № 1, а у порівнянні з групою № 2 патологічне збільшення iNOS є нижчим на 52,5 % ( $p < 0,001$ ).

На третьому етапі активність індукцйбельної синази оксиду нітрогену в 3-й групі більша на 63 % ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з даними щурів 1-ї групи, на 9,2 % ( $p < 0,01$ ) вища за дані 3-ї групи на першому етапі, але є менш вираженою ніж у 2-й групі на третьому етапі – на 64,9 % ( $p < 0,001$ ).

При дослідженні активності iNOS у крові щурів 4-ї групи виявлене підвищення на 49,5 % ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з інтактною групою. При цьому активність даного фермента є нижчою на 66,9 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з результатами групи № 2 (в якій не коригували патологічний процес) і на 23,9 % ( $p < 0,001$ ) нижчою за результати 3-ї групи (в якій проводили лише корекцію гіперглікемії). На другому етапі під впливом коригуючої терапії активність досліджуваного показника дещо знизилась у порівнянні з попереднім етапом – на 20 % ( $p < 0,001$ ). Активність показника є вищою на 39,3 % ( $p < 0,001$ ) ніж у інтактних тварин. Порівняно з даними 2-ї групи – менш виражена на 139,5 % ( $p < 0,001$ ), а відносно 3-ї – на 57 % ( $p < 0,001$ ). На третьому етапі в 4-й групі порівняно з 1-ю активність iNOS є збільшеною на 31,1 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з 2-ю – активність менша на 206,9 % ( $p < 0,001$ ), а порівнюючи з групою №3 – нижча на 86,1 % ( $p < 0,001$ ) (що свідчить про позитивний вплив залучення донатора оксиду нітрогену до складу коригуючої терапії). У порівнянні з першим етапом активність iNOS на

третьому етапі є менш підвищеною на 36,4 % ( $p < 0,001$ ), а у порівнянні з другим – на 13,5 % ( $p < 0,05$ ).

При аналізі активності індукцйбельної синтази NO у 5-й групі встановлено, що на першому етапі вона вища на 32,8 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з даними інтактних тварин. Відносно групи без корекції (№2) активність нижча на 122 % ( $p < 0,001$ ), відносно 3-ї групи – менш виражена на 64,8 % ( $p < 0,001$ ), а у порівнянні з групою № 4 – нижча на 32,9 % ( $p < 0,001$ ). На другому етапі – активність досліджуваного ферменту є вищою на 27,7 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з даними 1-ї групи, у порівнянні з групою № 2 – активність фермента нижча на 185,2 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з групою № 3 – менша на 87,1 % ( $p < 0,001$ ), а порівняно з 4-ю – нижча на 19,1 %. ( $p < 0,001$ ) На третьому етапі активність досліджуваного показника підвищилась на 11,1 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з 1-м етапом і на 17,4 % ( $p < 0,001$ ) - порівняно з 2-им. Відносно інтактних тварин активність iNOS є вищою на 40,3 % ( $p < 0,001$ ). Порівняно з групою № 2, в якій моделювали діабетичну ретинопатію без корекції, активність фермента є менш вираженою на 166,1 % ( $p < 0,001$ ), і на 61,4 % ( $p < 0,001$ ) нижчою порівняно з групою № 3, в якій змодельовану ДР коригували лише гіпоглікемічним препаратом. У порівнянні з групою № 4, у якій до корекції долучали донатор оксиду нітрогену – у п'ятій групі ефективність (нормалізація активності iNOS) є менш вираженою на 13,3 % ( $p < 0,05$ ). Отримані дані свідчать про наявність більш вираженої результативності порівняно з двома попередніми способами корекції (група №3 та №4), але ефект не є довготривалим – на третьому етапі спостерігається збільшення патологічної підвищеності активності iNOS.

При аналізі активності iNOS у крові експериментальних тварин 6-ї групи, в якій моделювали ДР з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта, L-карнітину та бромфенаку, на першому етапі виявлене її підвищення на 27,7 % ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з інтактними щурами, а порівняно з результатами групи № 2 – вона нижча на 140,6 %



( $p < 0,001$ ). Даний спосіб корекції на 78,6 % ( $p < 0,001$ ) більш виражено сприяє зниженню патологічно підвищеної активності індукцибельної синтази порівняно з 3-ю групою, і на 44,09 % ( $p < 0,001$ ) – у порівнянні з 4-ю. Статистично значущих відмінностей у порівнянні з 5-ю групою не виявлено. На другому етапі порівняно з 1-ю групою активність фермента є вищою на 21 % ( $p < 0,01$ ), а порівняно з 2-ю групою – нижча на 211,7 % ( $p < 0,001$ ). Порівняно з 3-ю групою активність є менш вираженою на 104,4 % ( $p < 0,001$ ), у порівнянні з 4-ю – на 30,1 % ( $p < 0,001$ ), що безумовно свідчить про результативність корекції у 6-й групі. У порівнянні з 5-ю групою статистично значущих відмінностей не встановлено. На третьому етапі в шостій групі виявлене патологічне підвищення активності досліджуваного фермента лише на 16,3 % ( $p < 0,05$ ). Порівняно з групою без корекції активність є нижчою на 272,9 % ( $p < 0,001$ ). При порівнянні ефективності коригуючих засобів 6-ї групи у порівнянні з попередніми засобами корекції встановлено наступне: порівняно з 3-ю групою активність iNOS є менш вираженою на 126,1 % ( $p < 0,001$ ), у порівнянні з 4-ю – на 21,5 % ( $p < 0,01$ ) і у порівнянні з 5-ю на 40,1 % ( $p < 0,001$ ). Вищезазначене свідчить про позитивний вплив розглянутого способом корекції на нормалізацію активності маркера гіперпродукції оксиду нітрогену та розвитку запального процесу. Також встановлено, що у порівнянні з даними цієї ж групи першого етапу активність є нижчою на 14,9 % ( $p < 0,05$ ).

У сьмій групі, в якій при моделюванні ДР проводилась корекція гіперглікемії, введення афліберцепта, розчину L-аргініну та цитиколіну, активність iNOS на першому етапі була вищою за дані інтактних щурів на 30,4 % ( $p < 0,001$ ). Порівняно з даними групи №2 активність фермента є нижчим на 130,1 % ( $p < 0,001$ ), у порівнянні з групою №3 – на 70,8 % ( $p < 0,001$ ), у порівнянні з 4-ю -на 37,8 % ( $p < 0,001$ ). Статистичних відмінностей на цьому етапі при порівнянні з 5-ю та 6-ю групами не виявлено. На другому етапі встановлено що досліджуваний показник є на 17,2 % ( $p < 0,05$ ) більшим за

дані інтактної групи, патологічне підвищення є на 18,9 % ( $p < 0,05$ ) нижчим порівняно з першим етапом. У порівнянні з 2-ю групою активність нижча на 226,7 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з 3-ю – на 114,3 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з 4-ю – на 36,4 % ( $p < 0,001$ ), а з 5-ю – 14,5 % ( $p < 0,05$ ). Відносно 6-ї групи статистично значущих відмінностей не виявлено. Звертають на себе увагу дані 3-го етапу експерименту – встановлено максимально виражену нормалізацію активності індукцибельної синтази оксиду нітрогену – відмінностей між 7-ю та інтактною групами не встановлено. Порівняно з 2-ю групою активність є нижчою на 339,4 % ( $p < 0,001$ ). У порівнянні з 3-ю групою встановлено нормалізацію активності фермента на 166,4 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з 4-ю – на 43,2 % ( $p < 0,001$ ), у порівнянні з 5-ю групою – на 65,1 % ( $p < 0,001$ ), і відносно 6-ї групи – на 17,8 % ( $p < 0,05$ ). Вищезазначене є підтвердженням позитивного впливу використаного способу корекції. В даній групі на першому етапі результат є дещо нижчим, ніж у 6-й групі, але в подальшому ефективність є більш значно вираженою та стійкою.

Існує два шляхи синтезу оксиду нітрогену - ферментативний та не ферментативний. Ферментативна продукція оксиду нітрогену відбувається через взаємодію із білками під загальною назвою « «NO-синтази» (NOS), які розподіляються на конститутивну, яка в свою чергу ділиться на ендотеліальну (eNOS) та нейрональну та індукцибельною (iNOS) [453-455]. NO, який утворюється за допомогою ендотеліальної синтази оксиду нітрогену є регулятором клітинного метаболізму та активності нейронів і забезпечує достатнє кровопостачання [456-458]. Індукцибельна NO-синтаза активується під впливом прозапальних та імуногенних факторів [455, 459]. Нітритредуктазний механізм синтезу оксиду нітрогену обумовлює не ферментативний шлях через відновлення нітратів або нітритів до NO [453, 460]. У фізіологічних умовах ендогенний оксид нітрогену утворюється із амінокислоти L-аргініну. Така реакція каталізується NO-синтазою — гемопротейном, який за своїми властивостями схожий із цитохромом P-450,

який має як відновлюючий так і окислюючий домени. Індуцибельна синтаза оксиду нітрогену продукується клітинами під впливом медіаторів запалення, у першу чергу цитокінів та у присутності ендотоксинів [461]. Запалення, вазо спазм, ішемія, ендотеліальна дисфункція призводять до «розеднання» субодиниць NOS, що надає можливість цьому ферменту, так як і оксиду нітрогену продукувати нітрозотіоли, пероксінітрит, супероксидний радикал та інші сполуки із подальшим зменшенням біодоступності оксиду нітрогену, що призводить до пригнічення базального рівня NO [462, 463]. Зменшення активності ендотеліальної NO-синтази спонукає до компенсаторної активації патологічної форми фермента – індуцибельної синтази оксиду нітрогену. Рівень останньої стрімко збільшується під впливом ендотоксинів та прозапальних цитокінів, і, як наслідок, підвищується рівень NO [462, 464]. Індуцибельна форма синтази оксиду нітрогену на відміну від конститутивних, які утворюють невелику кількість оксиду нітрогену у фізіологічних умовах, продукують високі дози NO, які є цитотоксичними [465]. Як зазначалося, у фізіологічних умовах ендотелій перманентно виробляє невелику кількість оксиду нітрогену із L-аргініну за допомогою ендотеліальної NO-синтази [466, 467]. В даному випадку NO регулює фізіологічний тонус судин, пригнічує проліферацію їх гладкої мускулатури та попереджає прогресування атеросклерозу та патологічну перебудову судинної стінки [468, 469]. При збільшенні концентрації NO він здійснює токсичний ефект на клітини, що пов'язано з утворенням потужного окислювача у вигляді реакційного та токсичного вільного радикалу – пероксінітриту, що утворюється шляхом взаємодії супероксидного аніон-радикалу із оксидом нітрогену. Висока концентрація оксиду нітрогену перш за все порушує синтез ДНК та енергетичний обмін клітин [466].

Динаміка активності показника наочно проілюстрована на рис. 5.2.

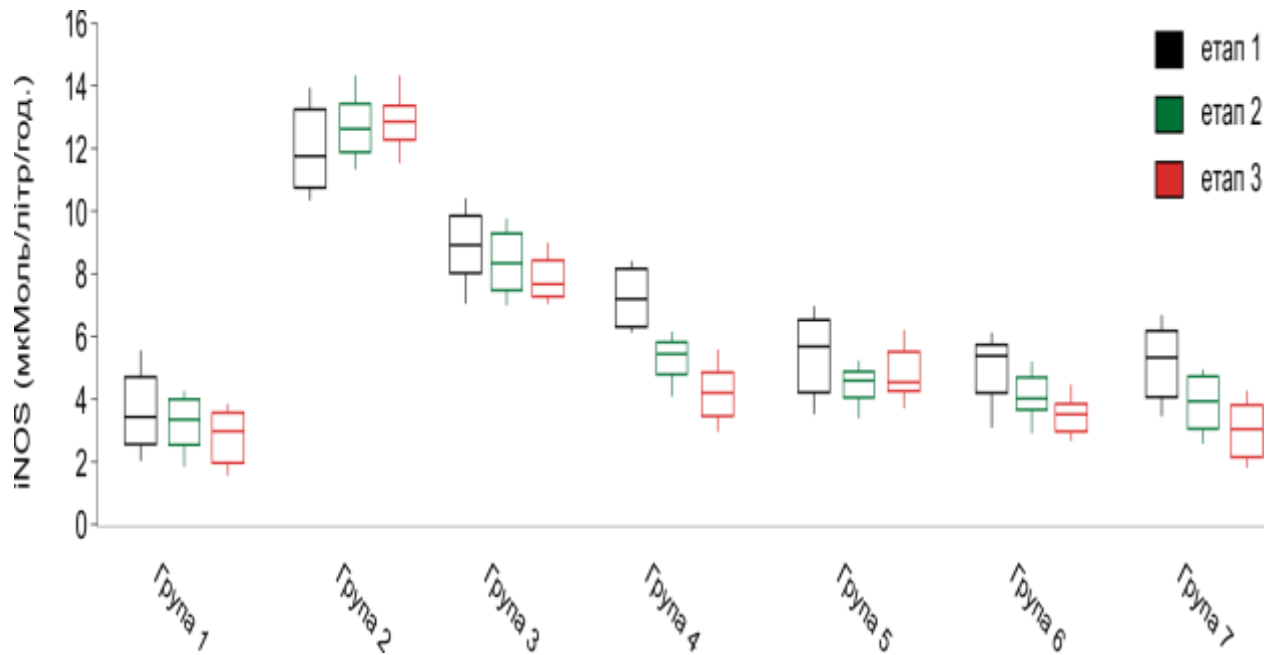


Рисунок 5.2 – Активність індукцибельної синтази оксиду нітрогену у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу. Бокс плоти ілюструють розподіл величин рівня досліджуваного показника в усіх групах експерименту на кожному із етапів дослідження (n=20)

5.3 Результати дослідження змін рівня інтерлейкіну  $1\beta$  у експериментальних тварин, яким моделювали діабетичну ретинопатію та на тлі її корекції

Інтерлейкін  $1\beta$  слід розглядати як ранній медіатор запального процесу. Його ключовим біологічним ефектом є активація фагоцитозу та хемотаксису макрофагів і індукція продукції інтерлейкіну 6 та ФНП а. Слід зазначити, що інтерлейкін 1 продукується макрофагами/моноцитами і для нього характерно більш ніж 50 біологічних функцій. Він є ключовою ланкою для синтезу багатьох цитокінів – інтерлейкіну 2, 3, 6, ФНП а. Також він є медіатором для місцевої чи гострофізної відповіді [470, 471]. Усі дії інтерлейкіну-1 спрямовані на посилення захисних реакцій та відновлення пошкоджених клітин. Проте

веика кількість цього цитокіну є ключовою ланкою патогенезу ряду неінфекційних захворювань та інфекційно-токсичного шоку [471]. Інтерлейкін  $1\beta$ , що продукується клітинами назовні, є потужним раннім прозапальним медіатором [470].

Результати дослідження динаміки прозапального інтерлейкіну у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу свідчать про дизбаланс даних маркерів на кожному із етапів експерименту у групі зі зодельованою патологією без корекції. У групах, в яких коригували ДР спостерігається позитивна динаміка. Максимально виражена нормалізація на ранніх етапах виявлена у групах, в яких застосовували бромфенак. Але також звертає на себе увагу покращення стану про- і протизапальної системи під впливом донатора оксиду нітрогену, який тварини отримували тривалий час (виражена результативність спостерігається на третьому етапі) (табл. 5.3).

Статистично значущі відмінності у групах інтактних тварин відсутні, що свідчить про їх гомогенність та придатність до подальшого дослідження і порівняння. У групі, в якій не коригували патологічний процес, на першому етапі виявлене значне підвищення рівня Інтерлейкіну- $1\beta$  порівняно з даними інтактних щурів – на 49,6 %. На другому етапі його рівень є вищим на 56,7 % відносно інтактної групи і на 15,5% порівняно з даними своєї групи на попередньому етапі. На третьому етапі спостерігається ще більш виражене підвищення досліджуваного маркера – його значення є вищим на 62,6 % порівняно з 1-ю групою, на 26,4 % більш виражений у порівнянні зі своєю групою на 1-у етапі і на 12,9 % - на другому.

У третій групі, в якій тварини зі змодельованим цукровим діабетом отримували метформін, підвищення рівня прозапального цитокіну є менш вираженим – на 15,07 % порівняно з групою №2, але відносно 1-ї групи він більший на 68 %.

Таблиця 5.3 – Рівень інтелейкіну  $1\beta$  у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу ( $M \pm m$ ), (мкМ/л)

Групи	Етапи					
	I етап (A)		2 етап (B)		3 етап (C)	
1	2	3	4	5	6	7
Група 1	$34,75 \pm 0,55$		$35,29 \pm 0,37$		$35,06 \pm 0,43$	
	-	-	1A-1B	$p > 0,05$	1A-1C 1B-1C	$p > 0,05$ $p > 0,05$
Група 2	$68,91 \pm 0,42$		$81,52 \pm 0,52$		$93,66 \pm 0,44$	
	1A-2A	$p < 0,001$	1B-2B 2A-2B	$p < 0,001$ $p < 0,001$	1C-2C 2A-2C 2B-2C	$p < 0,001$ $p < 0,001$ $p < 0,001$
Група 3	$58,52 \pm 0,48$		$63,75 \pm 0,51$		$69,11 \pm 0,52$	
	1A-3A	$p < 0,001$	1B-3B	$p < 0,001$	1C-3C	$p < 0,001$
	2A-3A	$p < 0,001$	2B-3B 3A-3B	$p < 0,001$	2C-3C	$p < 0,001$
				$p < 0,001$	3A-3C 3B-3C	$p < 0,001$ $p < 0,001$
Група 4	$52,4 \pm 0,51$		$49,09 \pm 0,46$		$45,88 \pm 0,35$	
	1A-4A	$p < 0,001$	1B-4B	$p < 0,001$	1C-4C	$p < 0,001$
	2A-4A	$p < 0,001$	2B-4B	$p < 0,001$	2C-4C	$p < 0,001$
	3A-4A	$p < 0,001$	3B-4B	$p < 0,001$	3C-4C	$p < 0,001$
			4A-4B	$p < 0,001$	4A-4C 4B-4C	$p < 0,001$ $p < 0,001$
Група 5	$43,79 \pm 0,5$		$38,84 \pm 0,4$		$43,88 \pm 0,42$	
	1A-5A	$p < 0,001$	1B-5B	$p < 0,001$	1C-5C	$p < 0,001$
	2A-5A	$p < 0,001$	2B-5B	$p < 0,001$	2C-5C	$p < 0,001$
	3A-5A	$p < 0,001$	3B-5B	$p < 0,001$	3C-5C	$p < 0,001$
	4A-5A	$p < 0,001$	4B-5B	$p < 0,001$	4C-5C	$p < 0,001$
			5A-5B	$p < 0,001$	5A-5C 5B-5C	$p > 0,05$ $p < 0,001$

Продовження таблиці 5.3

1	2	3	4	5	6	7
Група 6	39,88 ± 0,39		35,97 ± 0,45		38,24 ± 0,51	
	1A-6A	p<0,001	1B-6B	p>0,05	1C-6C	p<0,001
	2A-6A	p<0,001	2B-6B	p<0,001	2C-6C	p<0,001
	3A-6A	p<0,001	3B-6B	p<0,001	3C-6C	p<0,001
	4A-6A	p<0,001	4B-6B	p<0,001	4C-6C	p<0,001
	5A-6A	p<0,001	5B-6B	p<0,001	5C-6C	p<0,001
			6A-6B	p<0,001	6A-6C	p<0,05
					6B-6C	p<0,01
Група 7	48,12 ± 0,46		40,41 ± 0,48		36,84 ± 0,47	
	1A-7A	p<0,001	1B-7B	p<0,001	1C-7C	p<0,01
	2A-7A	p<0,001	2B-7B	p<0,001	2C-7C	p<0,001
	3A-7A	p<0,001	3B-7B	p<0,001	3C-7C	p<0,001
	4A-7A	p<0,001	4B-7B	p<0,001	4C-7C	p<0,001
	5A-7A	p<0,001	5B-7B	p<0,05	5C-7C	p<0,001
	6A-7A	p<0,001	6B-7B	p<0,001	6C-7C	p>0,05
			7A-7B	p<0,001	7A-7C	p<0,001
				7B-7C	p<0,001	

На другому етапі значення показника є меншим на 21,8 % порівняно з групою без корекції, але на 80 % перевищує дані інтактних тварин, відносно попереднього етапу рівень збільшився на 8,9 %. На третьому етапі значення прозапального цитокіну є на 18 % вищим відносно 1-го етапу і на 8,4 % у порівнянні з 2-м. Його рівень нижчий на 26,2 %, ніж у групі без корекції, а порівняно з інтактними тваринами підвищений на 97 %. У крові щурів 4-ї групи, які на тлі змодельованого патологічного процесу отримували метформін, афліберцепт та розчину L-аргініну, рівень інтерлейкіну 1 β менш підвищений на 23,9 % порівняно з 2-ю групою та на 10,4 % порівняно з 3-ю.

Відносно групи №1 він збільшений на 50,8 %. На другому етапі експерименту значення показника на 39,1 % переважають дані інтактних тварин, а у порівнянні з групою №2 та №3 вони є менш підвищеними на 39,8 % і 22,9 % відповідно, і на 6,3 % нижчий порівняно з 1-м етапом. На етапі № 3 виявлена ще більш виражена позитивна тенденція – рівень досліджуваного цитокіну на 12,4 % менший порівняно з 1-м етапом і на 6,5 % порівняно з другим. Також він нижчий відносно 2-ї та 3-ї груп на 51,01 % і 33,6 % відповідно. Але у порівнянні з інтактною групою він підвищений на 30,9 %.

У п'ятій групі, в якій корекція змодельованої діабетичної ретинопатії здійснювалась за допомогою введення метформіну, афліберцепта та бромфенаку прослідковується результативність впливу на запальний процес. Так, на першому етапі рівень досліджуваного показника є на 36,4 % меншим порівняно з групою №2, на 25,2 % порівняно з групою №3 і на 16,4 % порівняно з 4-ю, відносно інтактних тварин його рівень підвищений на %. На другому етапі прослідковуються ще більш виражена нормалізація патологічно підвищеного маркера, він є на 11,3 % нижчим порівняно з 1-м етапом, на 52,3 % менший відносно групи № 2, на 39 % відносно групи № 3 і на 20,9 % порівняно з четвертою. У порівнянні з 1-ю групою він підвищений на 10 %. Але на 3-му етапі рівень маркера знову підвищився і є на 12,9 % вищим відносно 2-го етапу та наближається до значень 1-го етапу – відмінність склала 0,2 %. Порівняно з групою №2 він нижчий на 53 %, з групою № 3 – на 36,5 %, і з групою №4 на 4,3 %. Відносно інтактної групи він підвищений на 25 %.

У шостій групі, в якій моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта, L-карнітіну та бромфенаку, тенденція до нормалізації рівня прозапального цитокіну є ще більш вираженою. Так на 1-у етапі його значення є нижчим відносно 2-ї групи на 42,1 %, відносно 3-ї на 31,8 %, у порівнянні з 4-ю на 23,9 % і у



порівнянні з 5-ю на 8,9 %. Стосовно інтактої групи рівень вищий на 14,7 %. На другому етапі експерименту результат є кращим на 9,8 % порівняно з 1-м етапом. Відносно 2-ї, 3-ї, 4-ї та 5-ї груп рівень інтерлейкіну 1  $\beta$  менш підвищений на 55,8 %, 43,6 %, 26,72 %, і 7,4 % відповідно. У порівнянні з групою № 1 виявлене підвищення лише на 1,9 %. Але на 3-му етапі ми знову спостерігаємо підвищення рівня показника: він на 6,3 % вищий ніж на 2-му етапі, та лише на 4 % менш виражений ніж на 1-у. Порівняно з 2-ю групою він нижчий на 59, 2 %, порівняно з 3-ю – на 44,6 %, у порівнянні з 4-ю групою – на 16,6 %, і з 5-ю – на 12,8 %. Відносно інтактних тварин рівень маркера на даному етапі вищий на 9 %.

У 7-ї групі, в якій патологічний стан коригували компенсацією гіперглікемії, введенням афліберцепта, розчину L-аргініну та цитиколіну на першому етапі рівень прозапального цитокіну на 30,2 % менший порівняно з групою № 2, на 17,8 % порівняно з групою № 3 і на 8,2 % нижчий порівняно з групою № 4. А відносно групи № 5 та № 6 він є більш підвищеним на 9,9 % і 20,7 % відповідно. На другому етапі підвищення рівня даного маркера є менш вираженим у порівнянні з попереднім етапом – на 16 %, та на 50,4 %, 36,6 % та 17,7 % у порівнянні з 2-ю, 3-ю та 4-ю групами відповідно. Відносно 5-ї та 6-ї груп його значення залишається підвищеним, на 4 % порівняно з 5-ю групою і на 12,3 % у порівнянні з 6-ю. На 3-му етапі рівень маркера є менш вираженим: на 60,7 % порівняно з групою №2, на 46,7 % порівняно з 3-ю, на 19,7 % порівняно з 4-ю, на 16 % у порівнянні з 5-ю та на 3,7 % відносно 6-ї групи. У порівнянні з попередніми етапами він нижчий на 23,4 % і 8,83%. Тобто на першому та другому етапі показник запалення є більш підвищений у порівнянні з двома попередніми групами (№ 5 та № 6), але на третьому етапі встановлена виражене зниження рівня маркера, що свідчить про результативність корекції 7-ї групи на більш віддалених етапах експерименту.

Інформативність дослідження динаміки даного маркера в умовах нашого експерименту обумовлена також тим, що діабетичні мікро- та макроангіопатії супроводжуються гіпоксією клітин ендотелію та активацією макрофагів, продукуючих цитокіни і, зокрема, інтерлейкіни. При цьому утворюється «цитокіновий каскад», під час якого в залежності від ступеню гіпоксії або реоксигенації, відбувається дисбаланс співвідношення про- та протизапальних медіаторів, а вподальшому проліферація та апоптоз клітин. Усе зазначене визначає ступінь запальної реакції, тяжкість процесів вільно радикального ушкодження, загибель клітин в зоні зменшеного кровопостачання [472].

Також варто зауважити, що під впливом інтерлейкіну 1 ендотеліцити судин продукують поліпептиди, аналогічні тромбоцитарному фактору росту, тим самим індукуючи вивільнення судинних медіаторів, та стимулюючи проліферацію і клітинну міграцію. Також з високим вмістом Інтерлейкіну 1  $\beta$  пов'язане порушення балансу вазоконстикторно-вазодилітаційної системи, тобто медіаторне ушкодження ендотелію [473].

Також з літературних джерел відомо про наявність взаємозв'язку між збільшенням рівня Інтерлейкіну 1 $\beta$  та активності індукцибельної синтази оксиду нітрогену [474]. Розвиток запального процесу підтверджений нами при аналізі динаміки рівня прозапального цитокіну. Вище представлені результати, які свідчать про збільшення активності індукцибельної NO-синтази в умовах нашого експерименту. На усіх етапах прослідковується однонаправленість змін даних маркерів, яка є найбільш вираженою у групі № 2, в якій моделювали діабетичну ретинопатію без подальшої корекції.

### *Резюме*

Отримані нами результати свідчать про порушення функціонального стану ендотелію та фізіологічного синтезу оксиду нітрогену уже на 30-у добу розвитку експериментальної діабетичної ретинопатії з подальшим прогресуванням патологічних змін на 60-у та 180-у добу дослідження, про

що свідчить зниження активності ендотеліальної синтази оксиду нітрогену разом із підвищенням активності індуцибельної у 2-й групі ( $p < 0,001$ ), максимально виражене на 3-му етапі. Також звертає на себе увагу значне збільшення рівня прозапального цитокіну ( $p < 0,001$ ). При аналізі даних групи №3 встановлено, що корекція патологічного стану за допомогою гіпоглікемічних засобів має позитивний вплив, але не дозволяє виражено скоригувати порушення функціонального стану ендотелію та відновити функціональний синтез оксиду нітрогену, що ще раз підтверджує необхідність залучення додаткових засобів корекції окрім нормалізації рівня глікемії.

Результати 4-ї групи свідчать про те, що залучення донатора оксиду нітрогену та афліберцепта до корекції діабетичної ретинопатії коригує ендотеліальну дисфункцію та сприяє відновленню фізіологічного шляху синтезу оксиду нітрогену, максимально виражений ефект спостерігається на 180-у добу експерименту, але нормативних значень досягти не вдається. Спостерігається позитивний вплив на зниження рівня інтерлейкіну 1  $\beta$ , але він не досягає наближення до норми.

Прослідковується, що корекція змодельованого патологічного стану шляхом зниження гіперглікемії, введення афліберцепта та бромфенаку (група № 5) дає позитивні результати, але менш виражені, аніж залучення до комплексної корекції розчину L-аргініну при дослідженні синтаз NO, при аналізі рівня прозапального цитокіну результати є кращими. Також варто зауважити, що даний спосіб корекції не характеризується довготривалістю і на 180-у добу уже спостерігається виражене зниження його ефективності.

Виявлено, що у щурів у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта, L-карнітіну та бромфенаку (група № 6) наявна виражена результативність запропонованого способу корекції у порівнянні з попередніми розглянутими способами, активність eNOS підвищується уже на першому етапі і продовжує

відновлюватися на наступних етапах експерименту, але не досягає нормативних значень. Також прослідковується позитивний вплив на активність індукцибельної NO-синтази та інтерлейкіну 1  $\beta$ , між якими (як відомо) існує тісний взаємозв'язок. Отримані дані дозволяють стверджувати, що спосіб корекції, обраний у 7-й групі (корекцію гіперглікемії, введення афліберцепта, розчину L-аргініну та цитиколіну) є максимально ефективним із усіх, проаналізованих в нашому дослідженні, його результативність виражено проявляється уже на 30-у добу, збільшуючись до 60-ї та 180-ї діб при аналізі усіх досліджуваних маркерів даного розділу.

Результати даного розділу опубліковані у наукових працях автора [475-479].

**РОЗДІЛ 6**  
**ВИЗНАЧЕННЯ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ ПРИ**  
**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ДІАБЕТИЧНІЙ РЕТИНОПАТІЇ ТА ПІД**  
**ВПЛИВОМ СПОСОБІВ ЇЇ КОРЕКЦІЇ**  
**ГІСТОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ**

6.1 Результати дослідження динаміки рівня дієнових кон'югатів у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу

Варто зауважити, що первинні продукти ПОЛ, до яких відносяться дієнові кон'югати належать до токсичних метаболітів, які деструктують білки, нуклеїнові кислоти, ліпопротеїди та ферменти [480]. Подальші продукти перекисного окислення ліпідів представлені малоновим діальдегідом, який відіграє ключову роль у синтезі стероїдних гормонів та простагландинів. Кінцеві продукти ПОЛ утворюються шляхом взаємодії діальдегідів із вільними групами мембранних сполук. Безперервне накопичення ПОЛ дестабілізує мембрани та сприяє пошкодженню клітин [480].

Однією із ключових ланок патогенезу дестабілізації мембран і подальшого розвитку патології є посилення процесів ПОЛ [481, 482]. На початковій стадії цього процесу утворюються дієнові кон'югати жирних кислот. З останніх при взаємодії із гідроксильними радикалами утворюються гідроперекиси ліпідів. Слід зазначити, що утворені сполуки ПОЛ спричиняють порушення у фосфоліпідному комплексі, що, у свою чергу призводить до функціонального дисбалансу у клітинах, органах, а у подальшому і в цілому організмі. При контакті із перекисними радикалами жирні кислоти розпадаються на фрагменти, на периферії яких знаходяться

альдегідні групи із високою реакційною спроможністю [481]. Якщо розрив жирної кислоти відбувся з 2-х боків, то утворюється малоновий діальдегід, який реагуючи із СНЗ та SH групами білків пригнічує активність гідролази та цитохром оксидази. Отже, перекисне окислення ліпідів відіграє ключову роль у дисрегуляції метаболізму мембранних ліпідів, проникності біологічних мембран та впливу на їх фізико-хімічні якості як у фізіологічних, так і у патологічних умовах [482].

Враховуючи вищезазначене, актуальним є дослідження динаміки рівня первинних продуктів ПОЛ в умовах досліджуваної патології та для підбору оптимальних способів її корекції. Аналізуючи зміни рівнів первинних продуктів ПОЛ можемо стверджувати про позитивний ефект корекції у 6-й та 7-й групі. Спосіб терапії запропонований у групі № 7 виявився більш результативним для нормалізації процесів перекисного окислення ліпідів (табл. 6.1).

Таблиця 6.1. – Рівень дієнових кон'югатів у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу (М ± m), (мкМ/л)

Групи	Етапи					
	I етап		II етап		III етап	
1	2	3	4	5	6	7
1 група	50,19 ± 1,5		50,18 ± 2,02		50,18 ± 1,56	
			I-II	p>0,05	I-III II-III	p>0,05 p>0,05
2 група	84,12 ± 1,91		87,24 ± 1,63		89,07 ± 2,03	
	1-2	p<0,001	I-II	p>0,05	I-III	p<0,05
			1-2	p<0,001	II-III 1-2	p>0,05 p<0,001

Продовження таблиці 6.1

1	2	3	4	5	6	7
3 група	72,4 ± 2,1		75,3 ± 2,04		75,48 ± 1,88	
	1-3	p<0,001	I-II	p>0,05	I-III	p>0,05
	2-3	p<0,001	1-3	p<0,001	II-III	p>0,05
			2-3	p<0,001	1-3	p<0,001
					2-3	p<0,001
4 група	68,12 ± 1,94		66,14 ± 1,77		63,24 ± 1,58	
	1-4	p<0,001	I-II	p>0,05	I-III	p<0,05
	2-4	p<0,001	1-4	p<0,001	II-III	p>0,05
	3-4	p>0,05	2-4	p<0,001	1-4	p<0,001
			3-4	p<0,001	2-4	p<0,001
					3-4	p<0,001
5 група	68,74 ± 1,87		68,42 ± 1,7		65,01 ± 1,96	
	1-5	p<0,001	I-II	p>0,05	I-III	p>0,05
	2-5	p<0,001	1-5	p<0,001	II-III	p>0,05
	3-5	p>0,05	2-5	p<0,001	1-5	p<0,001
	4-5	p>0,05	3-5	p<0,01	2-5	p<0,001
			4-5	p>0,05	3-5	p<0,001
				4-5	p>0,05	
6 група	64,12 ± 1,42		64,01 ± 1,69		62,12 ± 1,76	
	1-6	p<0,001	I-II	p>0,05	I-III	p>0,05
	2-6	p<0,001	1-6	p<0,001	II-III	p>0,05
	3-6	p<0,01	2-6	p<0,001	1-6	p<0,001
	4-6	p>0,05	3-6	p<0,001	2-6	p<0,001
	5-6	p<0,05	4-6	p>0,05	3-6	p<0,001
			5-6	p<0,05	4-6	p>0,05
					5-6	p>0,05
7 група	66,03 ± 1,72		59,53 ± 1,65		51,07 ± 1,52	
	1-7	p<0,001	I-II	p<0,01	I-III	p<0,001
	2-7	p<0,001	1-7	p<0,001	II-III	p<0,001
	3-7	p<0,05	2-7	p<0,001	1-7	p>0,05
	4-7	p>0,05	3-7	p<0,001	2-7	p<0,001
	5-7	p>0,05	4-7	p<0,01	3-7	p<0,001
	6-7	p>0,05	5-7	p<0,001	4-7	p<0,001
			6-7	p<0,05	5-7	p<0,001
				6-7	p<0,001	

На першому етапі у 2-й групі рівень вторинних продуктів перекисного окислення ліпідів на 40,3 % ( $p < 0,001$ ) вищий порівняно з інтактною групою, на другому етапі він є підвищеним на 42,5 % ( $p < 0,001$ ). На третьому етапі значення показника на 43,7 % ( $p < 0,001$ ) вище відносно групи № 1 і на 5,6 % ( $p < 0,05$ ) більше порівняно з першим етапом.

У третій групі на першому етапі вміст вторинних продуктів ПОЛ на 30,7 % ( $p < 0,001$ ) перевищує значення, отримані при дослідженні інтактних тварин. Порівняно з групою № 2 рівень є нижчим на 16,2 % ( $p < 0,001$ ). На другому етапі рівень маркера вищий на 33,3 % ( $p < 0,001$ ), а порівняно з групою № 2 він вищий на 15,8 % ( $p < 0,001$ ). На третьому етапі рівень є вищим на 33,5 % ( $p < 0,001$ ) відносно 1-ї групи, і на 18 % ( $p < 0,001$ ) нижчим порівняно з групою № 2.

У групі № 4 вміст досліджуваного показника на першому етапі більший на 26,3 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з інтактною групою. У порівнянні з даними групи №2 рівень менш виражений на 23,5 % ( $p < 0,001$ ). Порівняно з групою № 3 статистично значущих відмінностей не встановлено. На другому етапі рівень маркера на 24,1 % ( $p < 0,001$ ) вище порівняно з групою інтактних щурів. Відносно 2-ї групи він нижчий на 31,9 % ( $p < 0,001$ ), а відносно 3-ї – на 13,8 % ( $p < 0,001$ ). На третьому етапі вміст вторинних продуктів ПОЛ є на 7,7 % ( $p < 0,05$ ) менш підвищеним порівняно з 30-ю добою експерименту. У порівнянні з 1-ю групою рівень показника вищий на 20,6 % ( $p < 0,001$ ). Порівняно з 2-ю та 3-ю групою він нижчий на 40,8 % ( $p < 0,001$ ) і 19,4 % ( $p < 0,001$ ) відповідно.

У п'ятій групі рівень дієнових кон'югатів на 26,9 % ( $p < 0,001$ ) вищий порівняно з інтактною групою. Порівняно з групою без корекції вміст маркера нижчий на 22,4 % ( $p < 0,001$ ), а відносно 3-ї та 4-ї груп статистично значущих відмінностей не виявлено. На другому етапі рівень вторинних продуктів ПОЛ на 26,6 % ( $p < 0,001$ ) вищий порівняно з групою № 1, на 27,5 % ( $p < 0,001$ ) нижчий у порівнянні з групою № 2, і на 10 % ( $p < 0,01$ ) нижчий відносно 3-ї



групи. У порівнянні з групою № 4 статистично значущих відмінностей не встановлено. На третьому етапі вміст ДК вищий на 22,8 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з групою №1. Відносно групи №2 він нижчий на 37 % ( $p < 0,001$ ), відносно групи № 3 – менший на 16,1 % ( $p < 0,001$ ), а у порівнянні з групою № 4 статистично значущих відмінностей не виявлено. Також не встановлено статистично поетапних відмінностей.

У шостій групі на першому етапі рівень досліджуваного показника на 21,7 % ( $p < 0,001$ ) вищий даних інтактної групи. Вміст маркера менший у порівнянні з групою № 2 на 31,2 % ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з групою № 2, на 12,9 % ( $p < 0,01$ ) у порівнянні з групою № 3, на 7,2 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з 5-ю групою. Відносно групи № 4 статистично значущих відмінностей не встановлено. На другому етапі рівень показника на 21,6 % ( $p < 0,001$ ) вищий порівняно з 1-ю групою, у порівнянні з групою №2 вміст нижчий на 36,3 % ( $p < 0,001$ ), у порівнянні з групою №3 – нижчий на 17,6 % ( $p < 0,001$ ). Відносно 4-ї групи статистично значущих відмінностей не виявлено. Порівняно з 5-ю групою рівень маркера нижчий на 6,9 % ( $p < 0,05$ ). На третьому етапі рівень показника більший на 19,2 % ( $p < 0,001$ ) відносно інтактної групи. У порівнянні з групою №2 рівень нижчий на 43,4 % ( $p < 0,001$ ), у порівнянні з 3-ю групою – на 21,5 % ( $p < 0,001$ ). Відносно 4-ї та 5-ї групи стат.відмінностей не встановлено. Поетапних відмінностей також не встановлено.

У сьомій групі на першому етапі рівень досліджуваного маркера вищий на 23,9 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з інтактною групою. Порівняно з 2-ю та 3-ю групою вміст показника нижчий на 27,4 % ( $p < 0,001$ ) і 9,6 % ( $p < 0,05$ ) відповідно. Порівняно з групами 4, 5 та 6 статистично значущих відмінностей не встановлено. На другому етапі рівень ДК менший на 10,9 % ( $p < 0,01$ ) порівняно з першим етапом. Відносно групи № 1 вміст маркера вищий на 15,7 % ( $p < 0,001$ ), а порівняно з усіма наступними групами він є нижчим: на 46,5 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з 2-ю групою, на 26,5 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з 3-ю, на 11,1 % ( $p < 0,01$ ) у порівнянні з 4-ю, на 14,9 % ( $p < 0,001$ ) у

порівнянні з 5-ю групою, і на 7,7 % ( $p < 0,05$ ) менший відносно 6-ї групи. На третьому етапі спостерігається позитивна динаміка у вигляді нормалізації підвищеного рівня ДК – на 29,3 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з 1-м етапом і на 16,6 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з 2-м. Відносно 1-ї групи статистичних відмінностей не виявлено, що свідчить про нормалізацію рівня вторинних продуктів перекисного окислення ліпідів під впливом способу корекції проаналізованого у сьомій групі. Відносно 2-ї групи рівень є нижчим на 74,4 % ( $p < 0,001$ ), відносно 3-ї – на 47,8 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з 4-ю він менший на 23,8 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з 5-ю на 27,3 % ( $p < 0,001$ ) і у порівнянні з 6-ю нижчий на 21,6 % ( $p < 0,001$ ). Аналізуючи зміни рівнів первинних продуктів ПОЛ можемо стверджувати про позитивний ефект корекції у 6-й та 7-й групі. Спосіб терапії запропонований у групі № 7 виявився більш результативним для нормалізації процесів перекисного окислення ліпідів (рис 6.1).

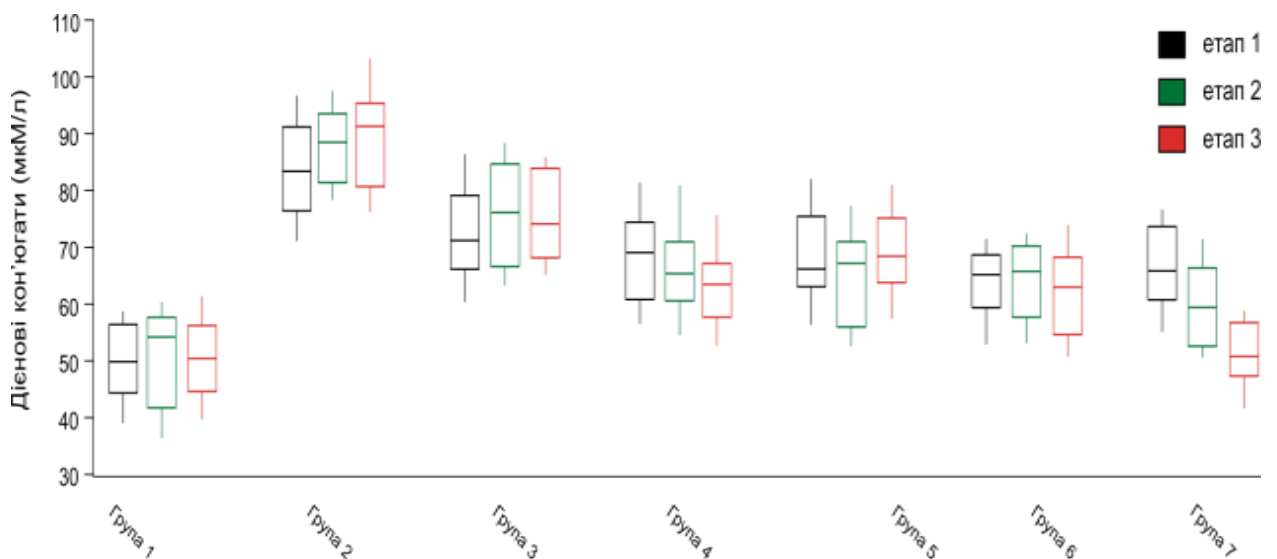


Рисунок 6.1 – Рівень дієнових кон'югатів у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу. Бокс плоти ілюструють розподіл величин рівня досліджуваного показника в усіх групах експерименту на кожному із етапів дослідження (n=20)

6.2 Результати дослідження динаміки рівня малонового діальдегіду у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу

Варто зауважити, що реакція клітини на будь-який зовнішній фактор впливу проявляється перекисним окисненням ліпідів (ПОЛ), яке може бути реалізоване шляхом утворення альдегідів, кетонів, пероксидів, похідних оксиду нітрогену, активованих форм кисню, сірки та ін. Ліпіди клітинної мембрани є специфічним субстратом для утворення вільних радикалів [483]. Посилення ПОЛ спричиняє дисметаболізм клітини, що призводить до збільшення проникності клітинних мембран для води, водню, натрію і в результаті цього процесу – до цитолізу [484]. Зазначений патологічний процес є ключовим у патогенезі багатьох захворювань, в тому числі і при цукровому діабеті, що проявляється у першу чергу судинними ускладненнями, зокрема діабетичними ретинопатіями. Обмінні процеси сітківки в умовах гіпоксії перебудовуються на анаеробний шлях, що призводить до накопичення вільних радикалів та недоокислених продуктів. При цьому спостерігається кореляція між накопиченням гідроперексидів у плазмі крові та змінами у сітківці під час експериментального цукрового діабету [483]. Ключову роль у патогенезі ускладнень цукрового діабету відіграє хронічна гіперглікемія, вона а також суттєві коливання рівня глюкози у крові призводять до активації окислювального стресу та надлишкового глікозилювання, що й формує процес ускладнення цукрового діабету [485].

У групі № 2, в якій моделювали діабетичну ретинопатію без подальшої корекції на першому етапі встановлене підвищення рівня малонового діальдегіду на 66,5 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з інтактною групою (табл. 6.2). На другому етапі виявлене підвищення на 10,3 % ( $p < 0,01$ ) у порів'янні з попереднім етапом і на 70 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з групою № 1. На третьому

етапі рівень первинних продуктів ПОЛ підвищився на 21,4 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з першим етапом, на 12,4 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з другим і на 73,7 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з даними інтактних тварин.

Таблиця 6.2 – Рівень малонового діальдегіду у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу ( $M \pm m$ ), (мкмоль/л)

Групи	Етапи					
	I етап		II етап		III етап	
1	2	3	4	5	6	7
1 група	5,06 ± 0,39		5,05 ± 0,27		5,06 ± 0,37	
			I-II	$p > 0,05$	I-III II-III	$p > 0,05$ $p > 0,05$
2 група	15,11 ± 0,45		16,86 ± 0,33		19,24 ± 0,42	
	1-2	$p < 0,001$	I-II	$p < 0,01$	I-III	$p < 0,001$
			1-2	$p < 0,001$	II-III 1-2	$p < 0,001$ $p < 0,001$
3 група	12,02 ± 0,29		11,81 ± 0,29		10,05 ± 0,36	
	1-3	$p < 0,001$	I-II	$p > 0,05$	I-III	$p < 0,001$
	2-3	$p < 0,001$	1-3	$p < 0,001$	II-III	$p < 0,001$
			2-3	$p < 0,001$	1-3 2-3	$p < 0,001$ $p < 0,001$
4 група	8,74 ± 0,32		8,04 ± 0,38		7,53 ± 0,34	
	1-4	$p < 0,001$	I-II	$p > 0,05$	I-III	$p < 0,01$
	2-4	$p < 0,001$	1-4	$p < 0,001$	II-III	$p > 0,05$
	3-4	$p < 0,001$	2-4	$p < 0,001$	1-4	$p < 0,001$
			3-4	$p < 0,001$	2-4 3-4	$p < 0,001$ $p < 0,001$

Продовження таблиці 6.2

1	2	3	4	5	6	7
5 група	7,65±0,32		8,00±0,41		8,16±0,31	
	1-5	p<0,001	I-II	p>0,05	I-III	p>0,05
	2-5	p<0,001	1-5	p<0,001	II-III	p>0,05
	3-5	p<0,001	2-5	p<0,001	1-5	p<0,001
	4-5	p<0,05	3-5	p<0,001	2-5	p<0,001
			4-5	p>0,05	3-5	p<0,001
6 група	6,72±0,32		6,51±0,4		6,14±0,39	
	1-6	p<0,01	I-II	p>0,05	I-III	p>0,05
	2-6	p<0,001	1-6	p<0,001	II-III	p>0,05
	3-6	p<0,001	2-6	p<0,001	1-6	p<0,05
	4-6	p<0,001	3-6	p<0,001	2-6	p<0,001
	5-6	p<0,05	4-6	p<0,01	3-6	p<0,001
5-6			p<0,01	4-6	p<0,01	
7 група	6,83±0,31		6,25±0,38		5,21±0,35	
	1-7	p<0,001	I-II	p>0,05	I-III	p<0,001
	2-7	p<0,001	1-7	p<0,01	II-III	p<0,05
	3-7	p<0,001	2-7	p<0,001	1-7	p>0,05
	4-7	p<0,001	3-7	p<0,001	2-7	p<0,001
	5-7	p<0,05	4-7	p<0,001	3-7	p<0,001
6-7			p>0,05	5-7	p<0,01	4-7
	6-7	p>0,05		5-7	p<0,001	6-7

У групі № 3 на першому етапі рівень показника підвищений на 57,9 % (p<0,001) порівняно з інтактною групою. Відносно групи №2 він нижчий на 25,8 % (p<0,001). На другому етапі вміст МДА вищий на 57,2 % (p<0,001) відносно групи №1 і нижчий на 42,8 % (p<0,001) порівняно з даними групи

№2. На третьому етапі рівень малонового діальдегіду на 19,6 % ( $p < 0,001$ ) нижчий порівняно з 1-м етапом і на 17,6 % ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з другим. Відносно інтактної групи він підвищений на 49,7 % ( $p < 0,001$ ), а порівняно з групою без корекції нижчий на 91,5 % ( $p < 0,001$ ).

У групі №4 на першому етапі рівень маркера вищий на 42,1 % ( $p < 0,001$ ). Відносно 2-ї групи значення показника менш виражене на 73,1 % ( $p < 0,001$ ), а відносно 3-ї – на 37,6 % ( $p < 0,001$ ). На другому етапі вміст вторинних продуктів ПОЛ є більшим на 37,2 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з інтактними тваринами, відносно 2-ї групи рівень нижчий на 109,6 % ( $p < 0,001$ ), і відносно 3-ї – на 46,8 % ( $p < 0,001$ ). На третьому етапі результат є на 15,9 % ( $p < 0,01$ ) кращим у порівнянні з 1-м етапом. Відносно 1-ї групи рівень показника більший на 32,9 % ( $p < 0,001$ ), а порівняно з групою №2 він менш виражений на 155,5 % ( $p < 0,001$ ). Відносно групи №3 вміст МДА менший на 33,4 % ( $p < 0,001$ ).

У п'ятій групі рівень МДА на 30-у добу вищий на 33,9 % ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з даними інтактних тварин. Відносно групи без корекції рівень нижчий на 97,6 % ( $p < 0,001$ ), відносно 3-ї – на 57,1 % ( $p < 0,001$ ), а відносно 4-ї групи – менший на 14,2 % ( $p < 0,05$ ). На другому етапі вміст маркера підвищений на 36,8 % ( $p < 0,001$ ) відносно інтактної групи. Порівняно з групою №2 рівень нижчий на 110,7 % ( $p < 0,001$ ), а порівняно з 3-ю – на 47,6 % ( $p < 0,001$ ). У порівнянні з групою № 4 статистично значущих відмінностей не виявлено. На третьому етапі вміст вторинних продуктів ПОЛ на 38 % ( $p < 0,001$ ) підвищений у порівнянні з інтактною групою. Порівняно з групою без корекції його рівень є меншим на 135,9 % ( $p < 0,001$ ), а порівняно з 3-ю групою – нижчий на 23,2 % ( $p < 0,001$ ). Відмінностей порівняно з 4-ю групою не виявлено.

У шостій групі на першому етапі рівень маркера вищий на 24,7 % ( $p < 0,01$ ) порівняно з інтактною групою. Відносно групи №2 він нижчий на 125,1 % ( $p < 0,001$ ). Також виявлене зниження значень МДА порівняно з усіма

попередніми групами з корекцією: на 78,9 % ( $p < 0,001$ ) відносно 3-ї групи, на 30 % ( $p < 0,001$ ) відносно 4-ї і на 13,9 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з 5-ю. На другому етапі рівень маркера підвищений на 22,4 % ( $p < 0,001$ ). У порівнянні з групою № 2 він нижчий на 159 % ( $p < 0,001$ ), у порівнянні з 3-ю – на 81,4 % ( $p < 0,001$ ), відносно 4-ї групи менший на 23,6 % ( $p < 0,01$ ), і відносно 5-ї – на 22,9 % ( $p < 0,01$ ). На третьому етапі рівень маркера вищий на 17,6 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з інтактною групою. Відносно групи зі змодельованою ДР без корекції рівень маркера нижчий на 213,5 % ( $p < 0,001$ ). Порівняно з групою № 3 він менший на 63,7 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з 4-ю – на 22,7 % ( $p < 0,05$ ), а відносно групи №5 нижчий на 32,9 % ( $p < 0,001$ ). Статистично значуща поетапна динаміка не встановлена.

У групі № 7 рівень маркера на 25,9 % ( $p < 0,001$ ) вищий відносно інтактної групи. Порівняно з 2-ю групою значення маркера менш виражено на 121,2 % ( $p < 0,001$ ). Відносно групи № 3 вміст малонового діальдегіду нижчий на 75,9 % ( $p < 0,001$ ), відносно групи № 4 – на 27,8 % ( $p < 0,001$ ), а порівняно з 5-ю – на 11,9 % ( $p < 0,05$ ). Порівняно з групою № 6 статистично значущих відмінностей не виявлено. На другому етапі рівень маркера на 19,1 % ( $p < 0,05$ ) вищий за дані 1-ї групи. У порівнянні з групою № 2 він нижчий на 169,8 % ( $p < 0,001$ ). Відносно групи № 3 вміст МДА менший на 88,9 % ( $p < 0,001$ ), відносно групи № 4 – на 28,7 % ( $p < 0,001$ ), і відносно 5-ї на 28 % ( $p < 0,01$ ). Статистично значущих відмінностей між даними групи № 6 та № 7 на цьому етапі також не виявлено.

На третьому етапі спостерігається більш виражена позитивна динаміка – рівень вторинних продуктів ПОЛ на 31,3 % ( $p < 0,001$ ) нижчий порівняно з 1-м етапом і на 20,1 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з етапом № 2. Вважаючи на відсутність відмінностей порівняно з інтактною групою можемо сверджувати, що на третьому етапі корекція, використана у 7-й групі, нормалізує стан перекисного окислення ліпідів. Відносно групи № 2 виявлене зниження на 269,6 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з групою №3 – на 92,9 %

( $p < 0,001$ ), порівняно з групою № 4 – на 44,7 % ( $p < 0,001$ ), у порівнянні з групою №5 рівень нижчий 56,7 % ( $p < 0,001$ ), а у порівнянні з шостою – на 17,9 % ( $p < 0,05$ ) (рис. 6.2.).

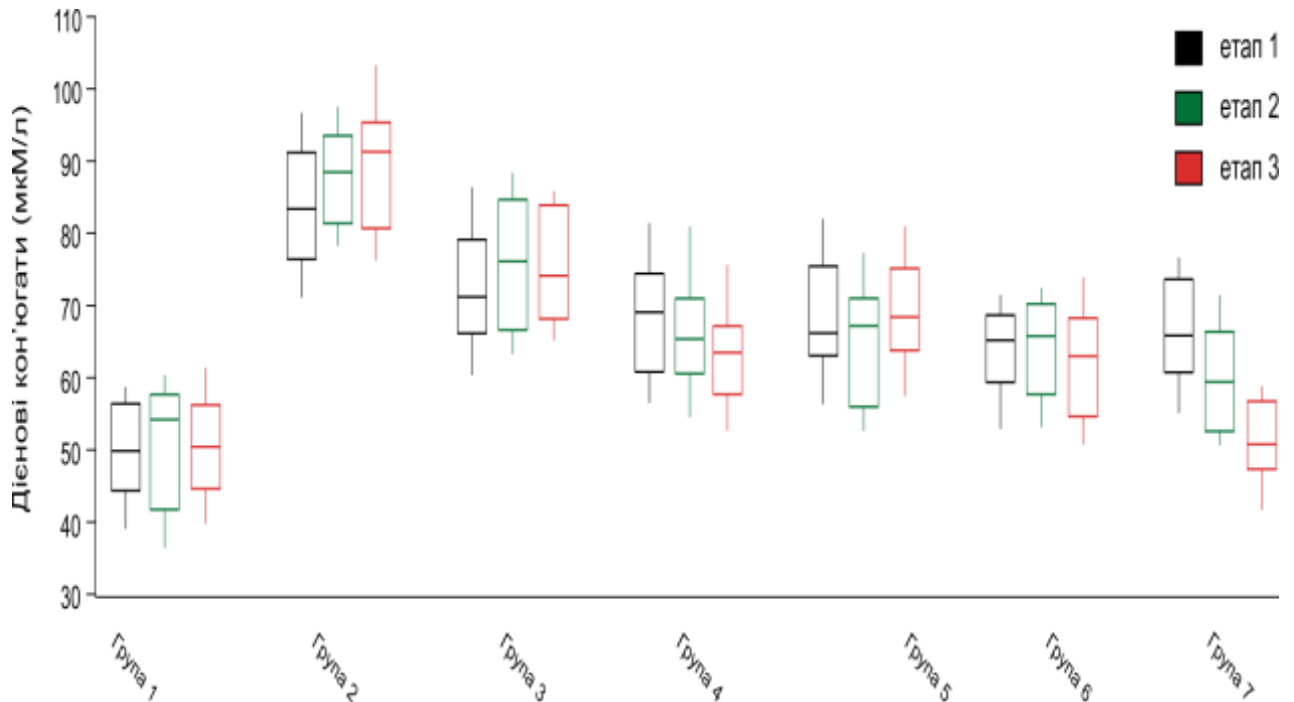


Рисунок 6.2 – Рівень малонового діальдегіду у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу. Бокс плоти ілюструють розподіл величин рівня досліджуваного показника в усіх групах експерименту на кожному із етапів дослідження (n=20)

6.3 Результати дослідження динаміки рівня пероксидази у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу

Пероксидаза є одним із ферментів, які нейтралізують перекис водню і представляють собою важливу ланку антиоксидантного захисту. Вона являє собою ланку із ланцюга переносу електронів в мітохондріальному альтернативном дихальному ланцюзі. Вона приймає участь в окислювально-



відновлювальних реакціях фотосинтезу, відновленні нітратів та нітритів азотного обміну, процесах дихання, бере участь у регуляції розвитку та органогенезі [486-488]

В клітині пероксидази відіграють важливу роль у підтримці молекул у відновленому стані що є однією із заборук гомеостазу. Пероксидази належать до індукцибельних ферментів, які під впливом різноманітних факторів можуть змінюватись за своїми лізоформами або підвищувати активність вже існуючих молекулярних форм [489].

Результати досліджень рівня пероксидази у крові тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції наведено у таблиці 6.3.

Таблиця 6.3. – Рівень пероксидази у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу ( $M \pm m$ )

Групи	Етапи					
	I етап		II етап		III етап	
1	2	3	4	5	6	7
1 група	152,1 ± 2,63		152,1 ± 3,89		152,1 ± 3,02	
			I-II	p>0,05	I-III	p>0,05
2 група	101,89 ± 1,88		92,3 ± 3,43		86,9 ± 3,22	
	1-2	p<0,001	I-II	p<0,01	I-III	p<0,001
			1-2	p<0,001	II-III	p>0,05
3 група	104,3 ± 2,92		108,9 ± 2,57		112,1 ± 3,15	
	1-3	p<0,001	I-II	p>0,001	I-III	p<0,05
	2-3	p>0,05	1-3	p<0,001	II-III	p>0,05
			2-3	p<0,001	1-3	p<0,001
				2-3	p<0,001	

Продовження таблиці 6.3

1	2	3	4	5	6	7
4 група	112,4 ± 3,1		121,7 ± 2,86		124,6 ± 2,43	
	1-4	p<0,001	I-II	p>0,05	I-III	p<0,01
	2-4	p<0,01	1-4	p<0,001	II-III	p>0,05
	3-4	p<0,05	2-4	p<0,001	1-4	p<0,001
			3-4	p<0,001	2-4	p<0,001
3-4	p<0,01	3-4	p<0,01	3-4	p<0,01	
5 група	109,89 ± 2,26		114,2±3,08		120,1±2,74	
	1-5	p<0,001	I-II	p>0,05	I-III	p<0,01
	2-5	p<0,01	1-5	p<0,001	II-III	p>0,05
	3-5	p>0,05	2-5	p<0,001	1-5	p<0,001
	4-5	p>0,05	3-5	p>0,05	2-5	p<0,001
4-5			p<0,05	3-5	p<0,05	
6 група	124,7 ± 3,08		129,8 ± 2,96		132,3 ± 3,58	
	1-6	p<0,001	I-II	p>0,001	I-III	p>0,05
	2-6	p<0,001	1-6	p<0,001	II-III	p>0,05
	3-6	p<0,001	2-6	p<0,001	1-6	p<0,001
	4-6	p<0,01	3-6	p<0,001	2-6	p<0,001
	5-6	p<0,001	4-6	p<0,05	3-6	p<0,001
5-6			p<0,001	4-6	p<0,05	
7 група	134,2 ± 2,63		141,9 ± 3,11		150,6 ± 3,05	
	1-7	p<0,001	I-II	p<0,05	I-III	p<0,001
	2-7	p<0,001	1-7	p<0,05	II-III	p<0,05
	3-7	p<0,001	2-7	p<0,001	1-7	p>0,001
	4-7	p<0,001	3-7	p<0,001	2-7	p<0,001
	5-7	p<0,001	4-7	p<0,001	3-7	p<0,001
	6-7	p<0,05	5-7	p<0,001	4-7	p<0,001
6-7			p<0,01	5-7	p<0,001	
				6-7	p<0,001	

У другій групі, в якій не коригували патологічний процес, виявлено зниження даного маркера на 49,3 % ( $p < 0,001$ ) відносно норми на першому етапі.

На другому етапі активність показника є нижчою на 64,8 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з даними інтактних тварин і на 10,4 % ( $p < 0,01$ ) відносно результатів 1-го етапу. На третьому етапі активність даного маркера є на 75 % ( $p < 0,001$ ) нижчою відносно інтактної групи. Порівняно з першим етапом спостерігається зниження на 17,2 % ( $p < 0,001$ ).

У групі № 3 виявлено, що на першому етапі активність пероксидази є нижчою на 45,8 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з 1-ю групою. Відмінностей стосовно групи № 2 не виявлено.

На другому етапі відмінність від інтактної групи становила 39,7 % ( $p < 0,001$ ) у бік зниження активності, а порівняно з групою №2 активність є вищою на 15,2 % ( $p < 0,001$ ).

На третьому етапі активність фермента дещо підвищилась – на 6,9 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з 1-м етапом. Вона є нижчою на 35,68 % ( $p < 0,001$ ) відносно інтактної групи, і на 22,5 % ( $p < 0,001$ ) вищою стосовно групи № 2.

У 4-й групі на першому етапі активність пероксидази нижча на 35,3 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з групою № 1, а у порівнянні з групами № 2 та № 3 спостерігається покращення на 9,3 % ( $p < 0,01$ ) та 7,2 % ( $p < 0,05$ ) відповідно.

На другому етапі активність фермента вища на 7,6 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з попереднім. Відносно групи №1 вона нижча на 24,9 % ( $p < 0,001$ ), а порівняно з результатами 2-ї і 3-ї груп вища на 24,2 % ( $p < 0,001$ ) та 10,5 % ( $p < 0,001$ ) відповідно.

На третьому етапі порівняно з першим результат є кращим на 9,79 % ( $p < 0,01$ ). У порівнянні з даними інтактної групи активність маркера знижена на 22,1 % ( $p < 0,001$ ). Відносно 2-ї групи активність маркера вища на 30,3 % ( $p < 0,001$ ), а порівняно з групою № 3 – на 10 % ( $p < 0,01$ ).

У п'ятій групі на 30-у добу експерименту активність маркера на 38,4 % ( $p < 0,001$ ) нижча ніж у інтактній групі. Порівняно з 2-ю групою активність вища на 7,3 % ( $p < 0,01$ ). Відносно 3-ї та 4-ї груп статистично значущих відмінностей не виявлено.

На другому етапі (60-а доба дослідження) активність маркера нижча на 33,2 % ( $p < 0,001$ ). Порівняно з 2-ю групою активність менш знижена на 19,2 % ( $p < 0,001$ ). Відносно 3-ї групи статистично значущих відмінностей не виявлено. А порівняно з групою №4 активність пероксидази нижча на 6,6 % ( $p < 0,05$ ).

На третьому етапі активність вища на 8,5 % ( $p < 0,01$ ) порівняно з першим етапом. Відносно інтактної групи рівень активності нижчий на 26,6 % ( $p < 0,001$ ), а порівняно з 2-ю групою – вищий на 27,6 % ( $p < 0,001$ ). У порівнянні з групою № 3 активність маркера вища на 6,66 % ( $p < 0,05$ ). Стосовно групи № 5 статистично значущих відмінностей не виявлено.

У шостій групі на першому етапі активність пероксидази нижча на 21,98 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з групою №1, і на 18,3 % ( $p < 0,001$ ) вища у порівнянні з групою № 2. Відносно усіх наступних груп, в яких коригували змодельовану патологію, активність маркера 6-й групі була вищою: на 16,4 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з 3-ю групою, на 9,9 % ( $p < 0,01$ ) порівняно з 4-ю, і на 11,9 % ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з групою № 5.

На другому етапі значення показника було нижчим на 17,2 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з групою №1. Відносно 2-ї групи активність вища на 28,9 % ( $p < 0,001$ ), відносно 3-ї – на 16,1 % ( $p < 0,001$ ), у порівнянні з 4-ю та 5-ю групами активність також була більшою – на 6,2 % ( $p < 0,05$ ) і 12 % ( $p < 0,001$ ) відповідно.

На третьому етапі активність маркера на 14,9 % ( $p < 0,001$ ) нижча відносно інтактної групи. Порівняно з 2-ю групою активність вища на 34,3 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з 3-ю – на 15,3 % ( $p < 0,001$ ), у порівнянні з 4-ю – більша на 5,8 % ( $p < 0,05$ ), а відносно – 5-ї – на 9,2 % ( $p < 0,01$ ).

У групі № 7 на першому етапі активність пероксидази нижча на 13,3 % ( $p < 0,001$ ) відносно інтактної групи тварин. Порівняно з 2-ю групою виявлене підвищення активності на 24,1 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з 3-ю – на 22,3 % ( $p < 0,001$ ), у порівнянні з 4-ю – на 16,2 % ( $p < 0,001$ ). Відносно 5-ї групи активність є кращою на 18,1 % ( $p < 0,001$ ), а відносно 6-ї – на 7,1 % ( $p < 0,05$ ).

На другому етапі виявлене підвищення активності маркера на 5,4 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з 30-ю добою. Відносно інтактної групи активність є нижчою на 7,18 % ( $p < 0,05$ ), а порівняно з групою № 2 вона вища на 34,9 % ( $p < 0,001$ ). Спостерігається позитивна динаміка порівняно з усіма групами, в яких коригували патологічний процес: активність пероксидази вища на 23,3 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з 3-ю групою, на 14,2 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з 4-ю, на 19,5 % ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з групою № 5 і на 8,5 % ( $p < 0,01$ ) у порівнянні з шостою.

На третьому етапі виявлена більш виражена нормалізація активності досліджуваного показника: на 10,9 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з першим етапом і на 5,8 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з другим, відмінностей у порівнянні з інтактною групою не встановлено (що безумовно свідчить про ефективність корекції). Порівняно з групою № 2 активність пероксидази вища на 42,3 % ( $p < 0,001$ ). Також виявлений більш виражений позитивний ефект у порівнянні з усіма попередніми групами в яких проводили корекцію ДР: на 25,6 % ( $p < 0,001$ ) відносно 3-ї групи, на 17,3 % ( $p < 0,001$ ) - відносно 4-ї, на 20,2 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з п'ятою групою і на 12,1 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з шостою.

Можемо стверджувати про результативність застосування способу корекції у 6-й групі для нормалізації активності пероксидази, хоча ефективність не є стовітсотковою. У групі № 7 виявлені більш виражені позитивні результати – активність показника підвищилась до значень норми (рис 6.3).

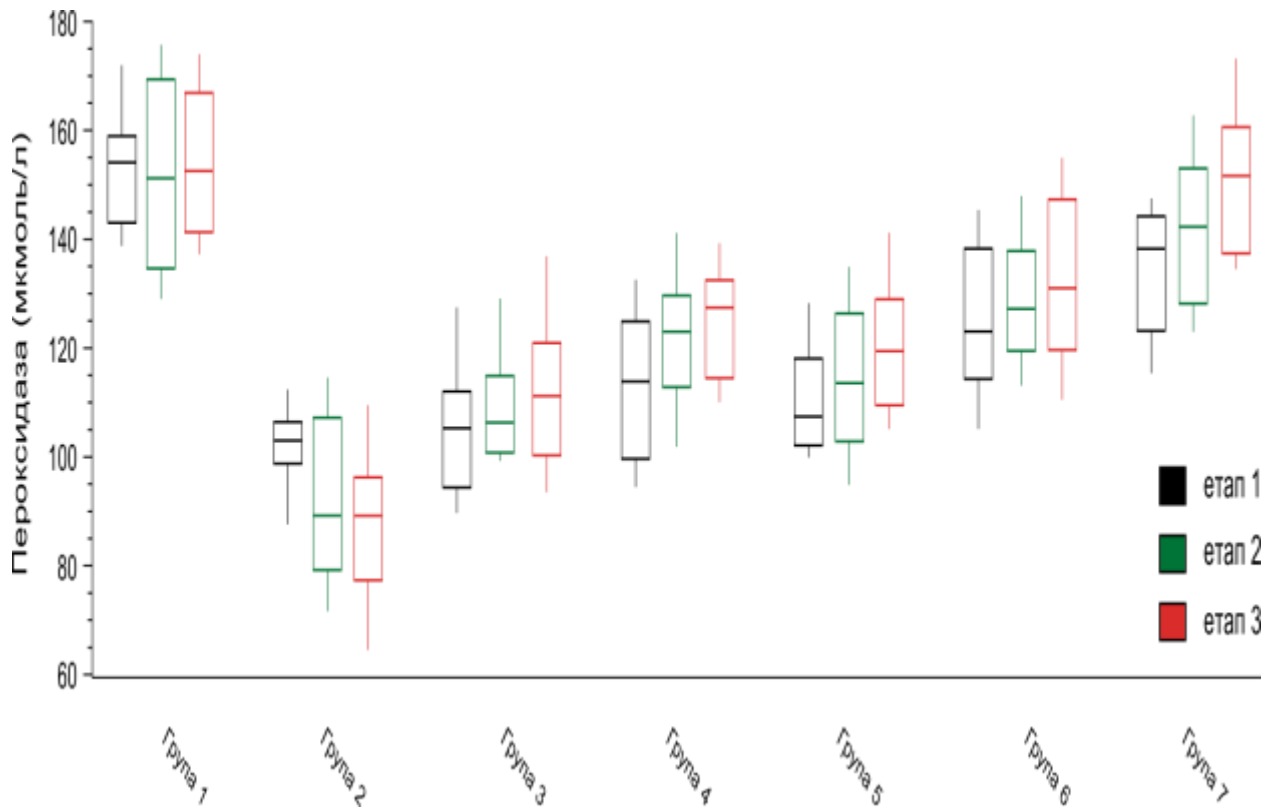


Рисунок 6.3 – Рівень пероксидази у крові експериментальних тварин зі змодельованою діабетичною ретинопатією та при різних способах її корекції на 30-у, 60-у та 180-у добу. Бокс плоти ілюструють розподіл величин рівня досліджуваного показника в усіх групах експерименту на кожному із етапів дослідження (n=20)

6.4 Результати гістологічного дослідження при експериментальній діабетичній ретинопатії та її корекції за допомогою метформіну, введенням афліберцепта, розчину L-аргініну та цитиколіну

Дослідження гістологічних препаратів сітківки здорового щура показало наступне. По своїй організації сітківка представляє собою багат шарове утворення. Зовнішній шар (пігментний) утворений клітинами сплюсненими з сплюсненими овальними ядрами, цитоплазма яких містить одиничні гранули меланіну різних розмірів. Над ними розміщений шар утворений стовбчатими структурами еозинофільного фарбування - палички

і колбочки. Зверху цей шар прикритий тонкою щільною однорідною мембраною. Ближче внутрішньо розміщується достатньо широкий шар клітин з округлими різної хромності ядрами (рис. 6.4.).

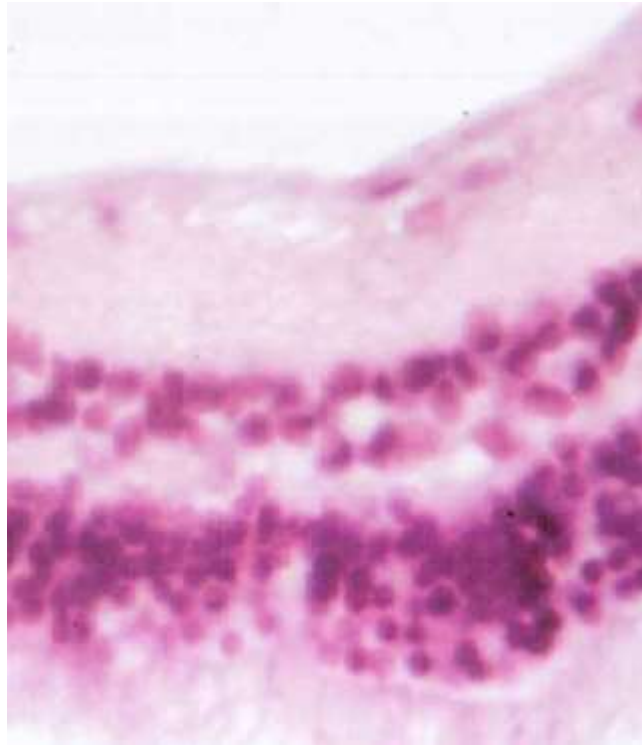


Рисунок 6.4 – Сітківка здорового щура. Зовнішній гранулярний шар зхвилеподібним зовнішнім краєм. Тонкий внутрішній гранулярний шар з клітинами із досить великими ядрами. Гангліонарний шар містить нейрони з різною хромністю ядер. Фарб. Гематоксилін-еозин. Зб.: x 300.

Ядра різного розміру, переважно – середнього. Цитоплазма клітин представлена тонким обідком навколо ядра. Вона забарвлена блідо еозинофільно. Зовнішній гранулярний, зовнішній край цього шару слабо виражений. Цей шар відокремлений від більш внутрішніх утворень шаром, який утворений непорядковано розташованими короткими тонкими волокнами. Над ним розташований шар з округлими клітинами, які мають середні, блідно зафарбовані ядра та тонкий обідок цитоплазми. Ці клітини по зовнішньому вигляду аналогічні попередньо описаному зовнішньому

гранулярному шару, проте візуально він меншої ширини. Над ним розташований шар, що утворений тонкими ніжними, короткими, блідо-еозинофільними волокнами. Ближче до порожнини ока знаходяться в один ряд гангліонарні клітини, для яких характерно наявність середніх розмірів ядер з різним ступенем інтенсивності фарбування та достатньо великою за обсягом дуже блідно пофарбованою цитоплазмою. Над ним визначається тонкий шар неупорядкованих тонких волокон, частина з яких формує аркоподібні утворення. Зверху сітківка прикрита тонкою однорідною посилено еозинофільною мембраною.

Гістологічне дослідження сітківки ока щура із змодельованим цукровим діабетом показало наступне. Пошарова організація сітківки у піддослідних тварин зберігається. Зовнішній пігментний шар представлений одним рядом клітин, в основному із плоскими ядрами, в яких відсутні пігментні гранули. Щільність розміщення клітин візуально дещо менша, ніж у контролі. Також спостерігається присутність одиничних клітин з округлими ядрами, чие фарбування світліше, ніж у плоских. Зовнішня гліальна мембрана тонка, блідо еозинофільна. Шар паличок та ковбочок представлений щільними, розташованими стовбчиками структурами. Особливістю цього шару в експериментальних тварин була неоднакова інтенсивність їх фарбування, поруч з помірковано-еозинофільними утвореннями. Були присутні бліді стовбчаті структури, а також мали місце невеликі «прогалини» в цьому шарі.

Зовнішній гранулярний шар візуально тої ж ширини, як і у контрольних тварин. Клітини, що розташовуються в ньому мають округлі, поміркованої хромності ядра. Особливість експериментальних щурів полягає в тому, що замість легкої хвилястості зовнішнього краю цього шару у інтактних щурів, в них він формує доволі значні виступи, в яких клітини розріджені, цілком вірогідно, що через набряк.



Зовнішній сітчатий шар формується короткими тонкими волокнами, блідо еозинофільними. На відміну від контролю, розташування волоконнабрякле і розріджене. кількість волокон візуально знижено.

Внутрішній гранулярний шар потоншений та представлений клітинами з округлими ядрами та різним ступенем хромності. Особливістю цього шару у піддослідних тварин було виражене розрідження їх розподілу та одноманітно невеликі розміри ядер. Це може бути пов'язано із зменшенням кількості клітинних елементів або набряком тканин. Внутрішній сітчатий шар сітківки за шириною відповідає даним контрольних тварин. В тій частині цього шару, який прилягає до гангліонарного, спостерігається наявність ділянок набрякливо-розріджених ділянок. Волокна, які формують цей шар тонкі, блідо-еозинофільні, короткі.

Шар гангліонарних клітин відрізняється нерівномірним розподілом клітин. Ділянки з рівномірно розподіленими нейронами межують із ділянками, де такі клітини поодинокі. Слід підкреслити вакуолізацію значної частини гангліонарних клітин. При тому в ділянках із більш щільним розміщенням клітин вакуолі в їх цитоплазмі дрібні, а ядра достатньо великі, поміркоїваної хромності. В ділянках, де гангліонарні клітини розріджені в їх цитоплазмі вакуолі великі, а ядра дрібні, темно пофарбовані (рис. 6.5).

У шарі нервових волокон аочна організація їх розподілу змазана, а самі волкна набрякливо-набухлі. Зовнішня гліальна мембрана з ділянками набухання-розрихлення, блідо-забарвлена. Особливістю структури ока цих тварин була наявність в кришталиці окремих темних гранулблизьче до його зовнішньої поверхні (рис 6.6).

Морфологічне дослідження сітківки щурів з моделлю цукрового діабету, які отримували комплексну корекцію виявило ряд позитивних змін у порівнянні з даними тварин, у яких моделювали патологічний процес без подальшої корекції. Стан зовнішнього пігментного шару практично мало відрізняється від контрольної групи. В основному він складається із клітин зі

сплюсненими ядрами, з округлими світлими ядрами наявні окремі клітини. Гранули пігменту окремі, окремі, дрібні, зустрічаються рідко. Особливістю цієї групи була наявність помірно повнокровних судин, які прилягали до пігментного шару. Візуально їх дещо більше ніж у тварин із не коригованим цукровим діабетом.

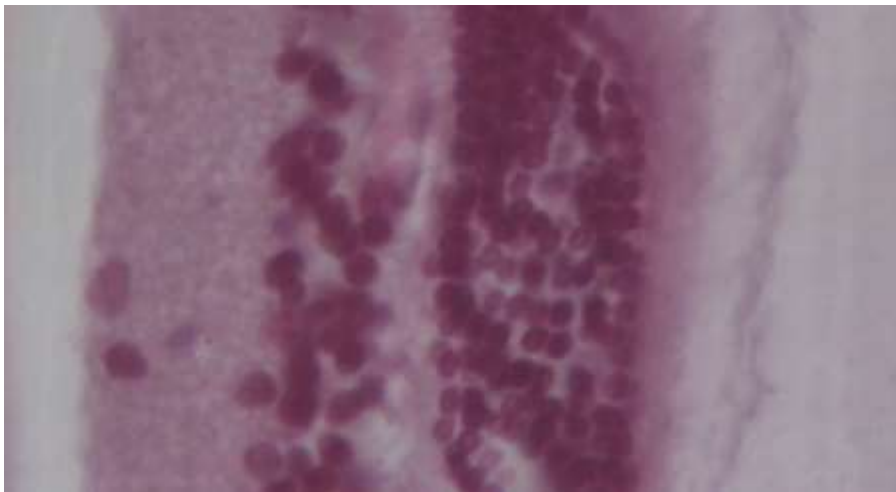


Рисунок 6.5 – Сітківка щура зі змодельованим цукровим діабетом. 60-а доба дослідження. Розрідження внутрішнього гранулярного шару. Розрідження клітин в гангліонарному шарі, їх різна хромність. Фарб.: Гематоксилін-еозин.

Зб: x 300.



Рисунок 6.6 – Наявність включень у кришталик щура з експериментальним цукровим діабетом. Фарб.: Гематоксилін-еозин. Зб.:x50.

Зовнішня гліальна мембрана тонка, однорідна, блідо еозинофільна. Шар паличок та колбочок представлений стовбчатими структурами монотонно поміркованого еозинофільного фарбування. У тварин з некоригованим цукровим діабетом спостерігались прогалини даного шару, поодинокі візуально вони менші за розмірами ніж у тварин, у попередній групі.

Зовнішній гранулярний шар характеризується шириною, яка близька до контрольних показників. Його особливість полягає в тому, що ці клітини формують або щільні скупчення, або ділянки з поміркованою щільністю розподілу. Клітини цього шару мають округлі ядра, соковито пофарбовані, в основному середніх розмірів. Ще однією особливістю цього шару є слабка вираженість хвилястості зовнішнього шару. Шар фіброзних волокон відрізняється тим, що ділянки, де розміщені одні волокна, межують з ділянками, куди проникають клітини із гранулярних шарів (рис. 6.7.).

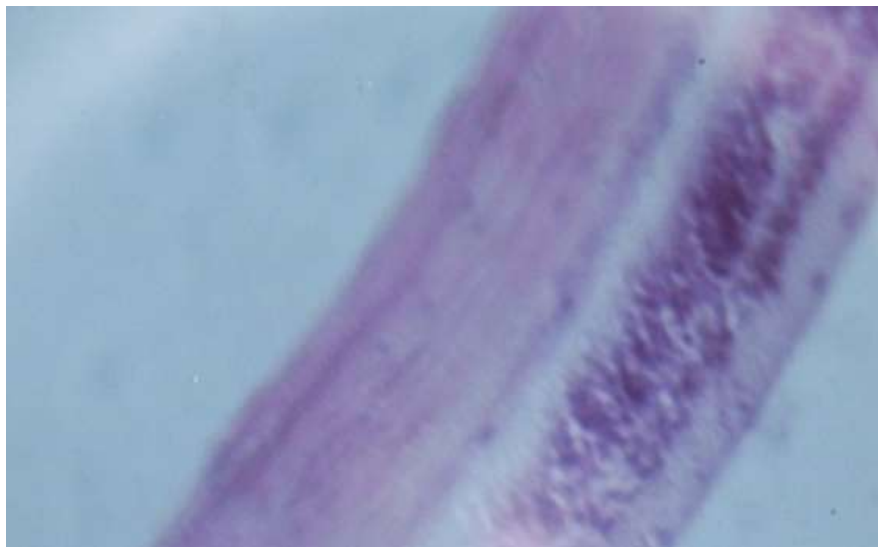


Рисунок 6.7 – Сітківка щура на 60-у добу моделювання цукрового діабету на тлі комплексної корекції. зовнішній гранулярний шар з різної щільності розподілення клітин. Проникнення клітин в сітчатий шар.

Фарб.: Гематоксилін-еозин. Зб.:x100.

Внутрішній гранулярний шар тонкий, розподілення клітин достатньо рівномірне. Набрячне розрідження не виражене. Тільки поодинокі клітини проникають в сусідні шари. Внутрішній шар волокон (шар нервових волокон) достатньо однорідний. Волокна блідо пофарбовані. Особливістю цього шару у щурів, які отримували комплексну корекцію, є відсутність вираженого набряку чи вакуолізації структур цього шару. Слід підкреслити, що це більш виражено в частині цього шару, яка наближена до гранулярного. Що стосується гангліфонарного шару, то візуально щільність розподілення в ньому клітин вища у тварин з коригованим патологічним станом. Проте пов'язано це із появою між нейронами клітин з соковито зафарбованими ядрами, які відокремились від внутрішнього гранулярного шару. Гангліонарні клітини характеризуються набряком тіла та його нечіткими кордонами, з доволі блідо пофарбованими ядрами. Вакуолізація клітин не спостерігається (рис. 6.8).

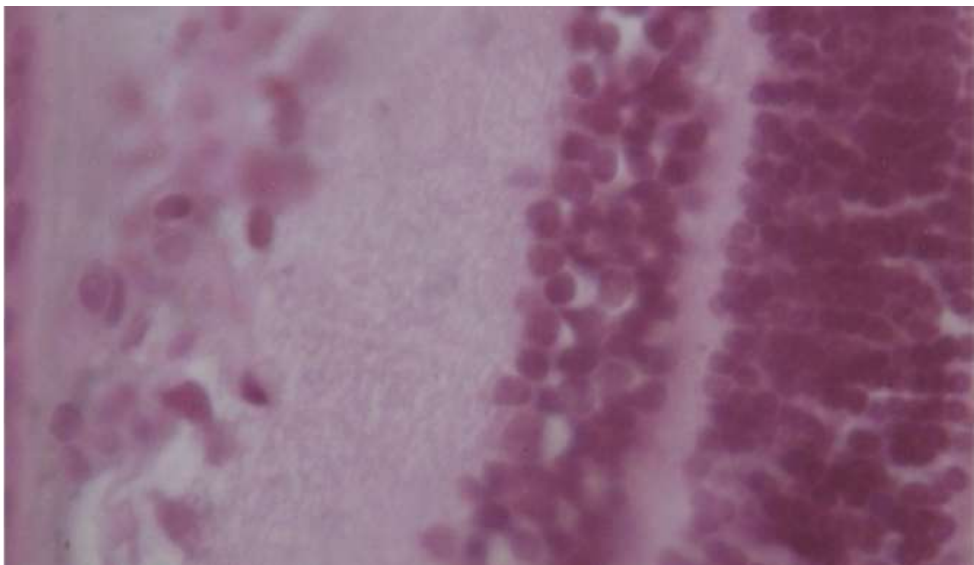


Рисунок 6.8 – Сітківка щура на 60-у добу моделювання цукрового діабету.

Розрідження внутрішнього гранулярного шару. Розрідження клітин в гангліонарному шарі, їх різна хромність.

Фарб.: Гематоксилін-еозин. Зб.:300.

Для шару нервових волокон характерне їх набрякання та неупорядкований розподіл. В кришталіку темні, точкові включення зберігаються.

Таким чином результати наших досліджень довели, що розвиток моделі цукрового діабету щурів супроводжується порушенням у сітківці ока у вигляді набрякових зрушень волокон та набряком формуючих її клітин, нерівномірністю розподілу клітин гангліонарного шару і вакуолізації цитоплазми деяких із них. Застосування комплексу коригуючих препаратів порушення метаболізму і ангіопатій, які характерні для цукрового діабету впливає на стан сітківки. Суттєво зменшуються набрякові зміни її структурних елементів. Візуально збільшується кількість судин на межі із сітківкою. Більш соковитим стає фарбування клітин гангліонарного шару.

#### *Резюме*

Одержані результати свідчать про підвищення вмісту перекисного окиснення ліпідів, починаючи із 30-ї та з подальшим прогресуванням на 60-у та 180-у доби експериментальної діабетичної ретинопатії, підтвердженням якого є збільшення рівня дієнових кон'югатів малонового діальдегіду у 2-ї групі, максимум якого спостерігається на 3-му етапі. При цьому спостерігається поетапне зниження активності пероксидази, яка є ферментом антиоксидантного захисту. Корекція гіпоглікемічними засобами у 3-й групі мала позитивний ефект, але не була спроможна знизити рівень первинних і вторинних продуктів перекисного окислення ліпідів, та відновила антиоксидантну активність, тому виникла необхідність у застосуванні додаткових засобів. Застосування афліберцепту та донатора оксиду нітрогену у 4-й групі для корекції розвитку діабетичної ретинопатії суттєво пригнічувала окислювальний стрес, максимум якого припадав на 180-у добу експерименту, проте не досягав контрольних показників. Доведено, що поєднане введення бромфенаку та афліберцепту у 5-й групі значно знижувала кількість первинних і вторинних продуктів ПОЛ, підвищувала

активність пероксидази, але не так суттєво, як у 4-й групі. Доведено, що введення афліберцепту, L-карнітину та бромфенаку тваринам 6-ї групи знижувало вміст дієнових кон'югаїв та малонового діальдегіду разом з підвищенням активності пероксидази вже на 30-у і було продовжено на 60-у а 180-у добу дослідження, проте теж не досягало контрольних показників. Максимально ефективною корекцією виявилось поєднання метформіну, афліберцепту, L-аргініну та цитиколіну щурам 7-ї групи, про що свідчить нормалізація рівня досліджуваних показників на 30-у та 60-у добу експерименту, а на 180-у було зафіксовано зниження вмісту маркерів оксидативного стресу та нормалізація активності антиоксиданта до контрольних показників.

Результати гістологічного дослідження свідчать про те, що розвиток моделі цукрового діабету щурів супроводжується порушенням у сітківці ока у вигляді набрякових зрушень волокон та набряком формуючих її клітин, нерівномірністю розподілу клітин гангліонарного шару і вакуолізації цитоплазми деяких із них. Застосування комплексу коригуючих препаратів порушення метаболізму і ангіопатій, які характерні для цукрового діабету впливає на стан сітківки. Суттєво зменшуються набрякові зміни її структурних елементів. Візуально збільшується кількість судин на межі із сітківкою. Більш соковитим стає фарбування клітин гангліонарного шару.

Результати даного розділу опубліковано у наукових працях автора [490-497].

## РОЗДІЛ 7

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Хотілося б ще раз наголосити, що для цукрового діабету характерні ряд ускладнень, які можуть призвести до інвалідності, повної втрати працездатності і навіть передчасної смерті. За даними досліджень Cost of Diabetes in Europe-Type 2 (CODE-2) у хворих із цукровим діабетом, середній вік яких сягав 67 років, ускладнення спостерігались у 59 % пацієнтів, із них у 23 % було 2, а 3 % -3 ускладнення цукрового діабету 2 типу. Летальність при цукровому діабеті скорочує життя пацієнтів на 12-14 років через судинні катастрофи, які були зафіксовані у 75-80 % випадків. У розвинених країнах світу смертність від цукрового діабету займає в загальній структурі 3-4 місце та є причиною зниження зору та сліпоти у дорослого населення [498, 499].

Безпосередньо від цукрового діабету, а саме діабетичної коми помирають не більше 1-4 % хворих. Основною причиною летальності при зазначеній патології є судинні ускладнення: нефропатії, нейропатії, ретинопатії, ампутації, інсульту, серцево-судинні захворювання, у патогенезі яких ключову роль відіграють гіперглікемія та пов'язані із нею метаболічні ефекти [498, 500]. Ускладнення, які виникають на пізніх періодах цукрового діабету, розподіляються на мікро- та макроангіопатії, формування яких при цукровому діабеті визначає прогноз щодо якості та тривалості життя пацієнтів, тому можна сказати, що «діабет починається як хвороба обміну речовин», а закінчується як судинна катастрофа» [498, 501].

Отримані в нашому дослідженні дані щодо рівня глюкози в експериментальних групах підтверджують виникнення та прогресування цукрового діабету та діабетичної ретинопатії ( $p < 0,001$ ). Доведена поетапне зниження гіперглікемії під впливом метформіну. Звертає на себе увагу те, що у групах, в яких до корекції залучали донатор оксиду нітрогену – нормалізація рівня глюкози є більш вираженою та тривалою.

В результаті даного експериментального дослідження доведена роль дисфункції ендотелію у розвитку експериментальної діабетичної ретинопатії.

Нами розроблена математична модель прогнозу досліджуваного патологічного стану, яка ґрунтується на аналізі біохімічних показників крові на ранніх етапах експерименту. Отримане рівняння логістичної регресії має наступний вигляд

$$G(z) = \frac{e^{(-642,032+44,993 \cdot x_1+35,443 \cdot x_2+2,987 \cdot x_3)}}{1 + e^{(-642,032+44,993 \cdot x_1+35,443 \cdot x_2+2,987 \cdot x_3)}}$$

Для отримання відсоткового значення ймовірності подальшої тяжкості прогресування діабетичної ретинопатії (у межах від 0-100 %), використовуючи отриману функцію логістичної регресії, потрібно помножити отримане значення функції  $G(z)G(z)$  на 100 %.

Доведена інформативність маркерів дисфункції ендотелію – Фактора Віллебранда та ендотеліну-1 у прогнозуванні розвитку експериментальної діабетичної ретинопатії. Встановлена результативність комплексного аналізу рівня 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів разом з зазначеними маркерами функціонального стану ендотеліоцитів на 30-у добу для прогнозування подальшого перебігу досліджуваного патологічного процесу.

При проведенні аналізу встановлено, що між показником фактор Віллебранда та показником МДА у групі, в якій моделювали патологічний процес без подальшої корекції, прослідковується прямий лінійний зв'язок, аналогічний тип прямого лінійного зв'язку ми прослідковуємо між фактором Віллебранда та дієновими кон'югатами. Отримані дані свідчать про взаємозв'язок розвитку ендотеліальної дисфункції та прогресування окислювального стресу при експериментальній діабетичній ретинопатії. А ось між фактором Віллебранда та пероксидазою прослідковуємо обернений



лінійний зв'язок, тобто зі збільшенням показників фактору Віллебранда за етапами ми прослідковуємо зменшення показників пероксидази. Вищезазначене свідчить про негативний вплив зниження антиоксидантного захисту на функціональний стан ендотеліоцитів. При аналізі кореляційного зв'язку із ендотеліном-1 виявлена ситуація аналогічна попередній. Перші два показники МДА, Дієнові кон'югати мають практично прямий ліній зв'язок з показниками ендотеліну-1, показник пероксидаза має обернений лінійний зв'язок з ендотеліном-1.

Аналіз залежності показників 2,3 діфосфоглицерату, фактора Віллебранда та eNOS показав наступні дані: із збільшенням показників eNOS за етапами, показники 2,3 дифосфоглицерату та фактору Віллебранда зменшуються, що підтверджує необхідність відновлення eNO-синтазного шляху синтезу оксиду нітрогену для нормалізації структурно-функціонального стану ендотелію та корекції гіпоксичного впливу. Також можемо стверджувати про підтвердження негативного впливу гіпоксії та його сприяння розвитку ендотеліальної дисфункції. У випадку оберненої залежності між показниками фактору Віллебранда та eNOS прослідковується практично функціональний зв'язок, так як коефіцієнт детермінації рівний майже 1. А ось залежність між показниками 2,3 дифосфоглицерату та фактору Віллебранда має прямий зв'язок між змінними.

Результати дослідження рівня фактора Віллебранда, який є маркером ендотеліальної дисфункції, наочно представлені на рис. 7.1-7.9

Основним фактором ризику розвитку мікросудинних ускладнень при цукровому діабеті є гіперглікемія. Багаточисельними дослідженнями був доведений взаємозв'язок між хронічною гіперглікемією та формуванням мікро- і макросудинних ускладнень у хворих на цукровий діабет [498]. Тож вчені дійшли висновку, що гіперглікемія є ключовою ланкою розвитку зазначених патологічних станів.

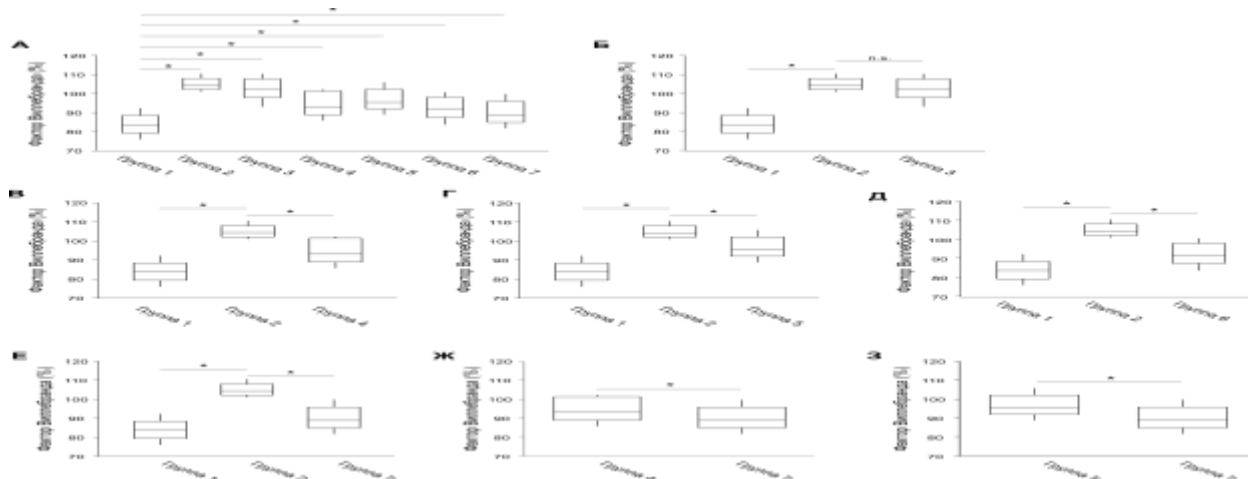


Рисунок 7.1 – Зміни рівня фактора Віллебранда через 30 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (А) Бокс-плоти ілюструють розподілення величин рівня фактора Віллебранда в кожній групі дослідження. Символ \* відображає наявність статистично достовірної відмінності між результатами, отриманими в контрольній групі ( $n = 20$  щурів) та експериментальними групами 2-7 ( $n = 20$  тварин у кожній групі); Тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ . (Б) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня фактора Віллебранда в контрольній групі, 2 групі і групі 3. Відмінності між результатами, отриманими в групах 1 і 2 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 3 статистично не достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p > 0,05$ ).

Патологічна дія гіперглікемії на мікроциркуляцію судин пов'язана з активацією біохімічних реакцій, регулюючих функціональні зміни стінки судин: поіоловий шлях метаболізму глюкози та накопичення сорбітолу, не ферментне глікозилювання білків, активація утворення вільних радикалів і оксидативного стресу, посилення дії протеїнази С [502]. Високий рівень глюкози у крові активує формування кінцевих продуктів глікозилювання через не ферментне глікозилювання білків та ліпідів. Кінцеві продукти взаємодіючи із білками трансформують їх третичну структуру і тим самим порушують нормальне функціонування. Такі порушення еластину та колагену призводять до патологічних змін функції і тонуусу судин, насамперед до зменшення еластичності та розтягування артерій [498]. Циркулюючі кінцеві продукти глікозилювання зв'язуються із рецепторами різних клітин і посилюють експресії цитокінів, факторів росту, про

коагулянтів та прозапальних молекул з подальшим регулюванням експресії генів [503].

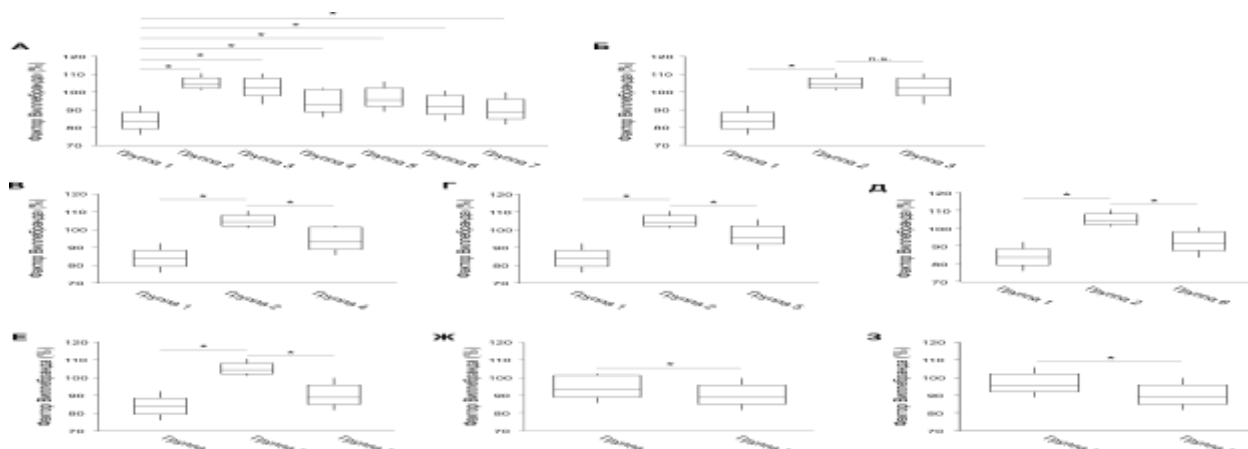


Рисунок 7.2 – Зміна рівня фактора Віллебранда через 30 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (В) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня фактора Віллебранда в контрольній групі, 2 групі та групі 4. Відмінності між результатами, отриманими в групі 2 та 4 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Г) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня фактора Віллебранда в контрольній групі, 2 групі та групі 5. Відмінності між результатами, отриманими в групі 2 та 5 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Д) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня фактора Віллебранда в контрольній групі, 2 групі та групі 6. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 6 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

Доведено, що високі концентрації глюкози пригнічують реплікацію ендотеліоцитів та їх відновлення після ушкодження. Гікозилювання колагену і інших білків, до яких призводить гіперглікемія, сприяє зміні еластичних можливостей судинної стінки [498, 504].

На гуморальні, метаболічні та фізичні подразники, такі як гіперглікемія, гіперліпідемія, окислювальний стрес, ендотеліоцити реагують активацією продукції біологічно активних речовин та регулюючи тонус гладкомязових клітин судин, впливаючи на клітинну проліферацію, підтримуючи неадгезивність інтими та імунні й запальні процеси в стінках судин. Ендотеліоцити дуже чутливі до великих концентрацій глюкози у крові та гідростатичного тиску інтими судин, окислених ліпопротеїдів плазми та інших ушкоджуючих факторів [498]. Все вищезазначене призводить до ендотеліальної дисфункції і, як наслідок, до розвитку судинних ускладнень

цукрового діабету. Ключова роль у патогенезі ендотеліальної дисфункції за даними багатьох авторів належить внутрішньоклітинному оксидативному стресу [505].

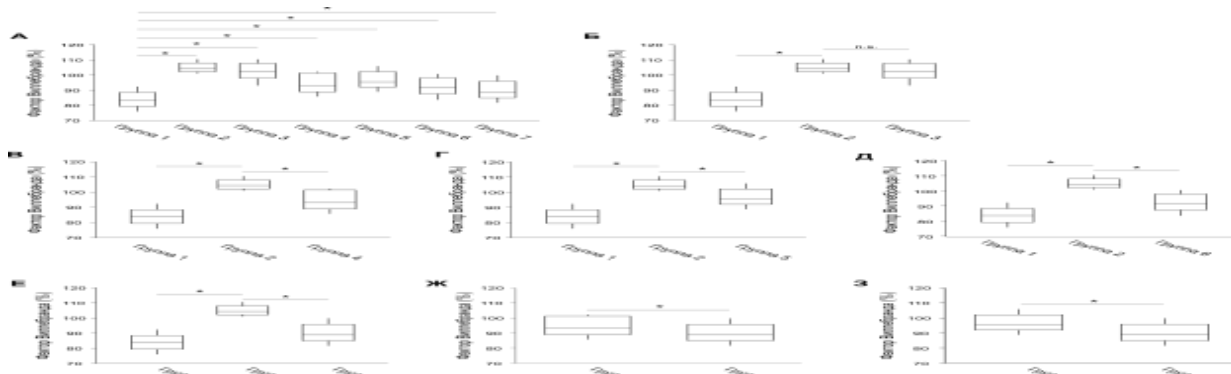


Рисунок 7.3 – Зміна рівня фактора Віллебранда через 30 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Е) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня фактора Віллебранда в контрольній групі, 2 групі та групі 7. Відмінності між результатами, отриманими в групі 2 та 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Ж) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня фактора Віллебранда в групі 4 та групі 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 4 та 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (З) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня фактора Віллебранда в групах 5 та 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 5 та 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

ЕД призводить до порушень клітинного метаболізму судин мікрокапілярного рівня. Частка ускладнень цукрового діабету, який обумовлений ізольованим ураженням ендотелію магістральних судин складає не більш ніж 30 %. У більшості випадків порушення судинного русла спостерігається на всіх його рівнях.

Клінічними проявами цього патофізіологічного процесу є діабетичні мікро та макроангіопатії. Більшість хворих, які звертаються до лікарів на ранніх а іноді і на пізніх стадіях цукрового діабету, пов'язане не з рівнем глюкози крові, а з проявами неврологічних або судинних ускладнень. При цьому у кожного другого пацієнта вже сформовані незворотні патоморфологічні зміни в органах [498, 506].

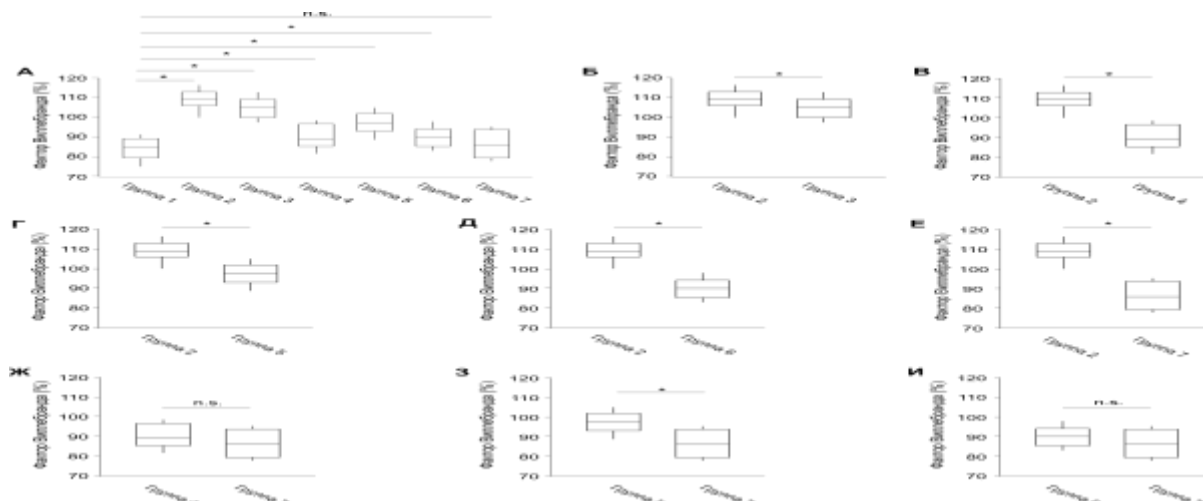


Рисунок 7.4 – Зміна рівня фактора Віллебранда через 60 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (А) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня фактора Віллебранда в кожній групі дослідження. Символ \* відображає наявність статистично достовірної відмінності між результатами, отриманими в контрольній групі ( $n = 20$  тварин) та експериментальними групами 2-7 ( $n = 20$  тварин у кожній групі); Тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ . (Б) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня фактора Віллебранда в групах 2 та 3. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 3 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (В) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня фактора Віллебранда в групах 2 і 4. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 і 4 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

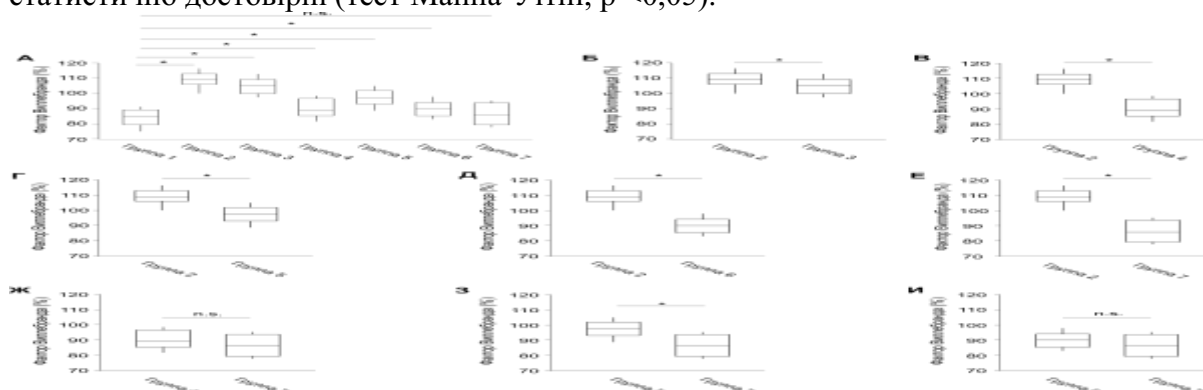


Рисунок 7.5 – Зміна рівня фактора Віллебранда через 60 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Г) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня фактора Віллебранда в групах 2 і 5. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 і 5 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Д) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня фактора Віллебранда в групах 2 і 6. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 6 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Е) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня фактора Віллебранда в групі 2 та групі 7. Відмінності між результатами, отриманими в групі 2 та 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

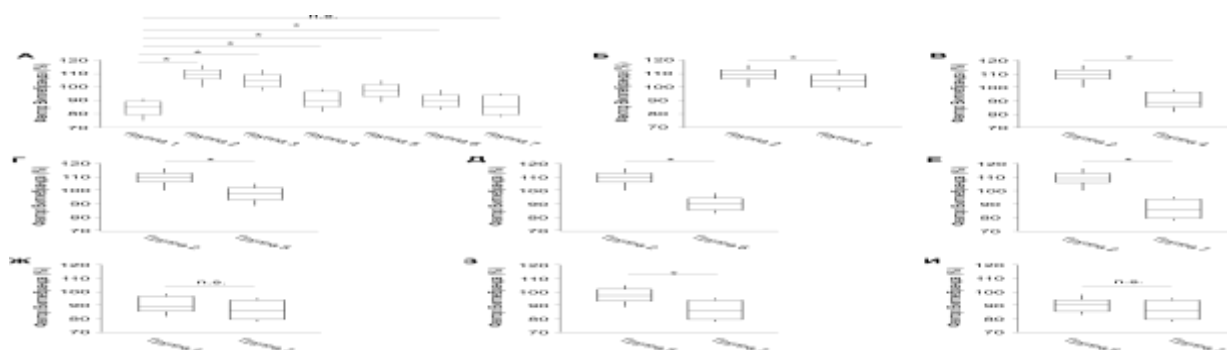


Рисунок 7.6 – Зміна рівня фактора Віллебранда через 60 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Ж) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня фактора Віллебранда в групах 4 і 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 4 і 7 статистично не достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p > 0,05$ ). (З) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня фактора Віллебранда в групах 5 і 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 5 і 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (І) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня фактора Віллебранда в групах 6 і 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 6 і 7 статистично не достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p > 0,05$ ).

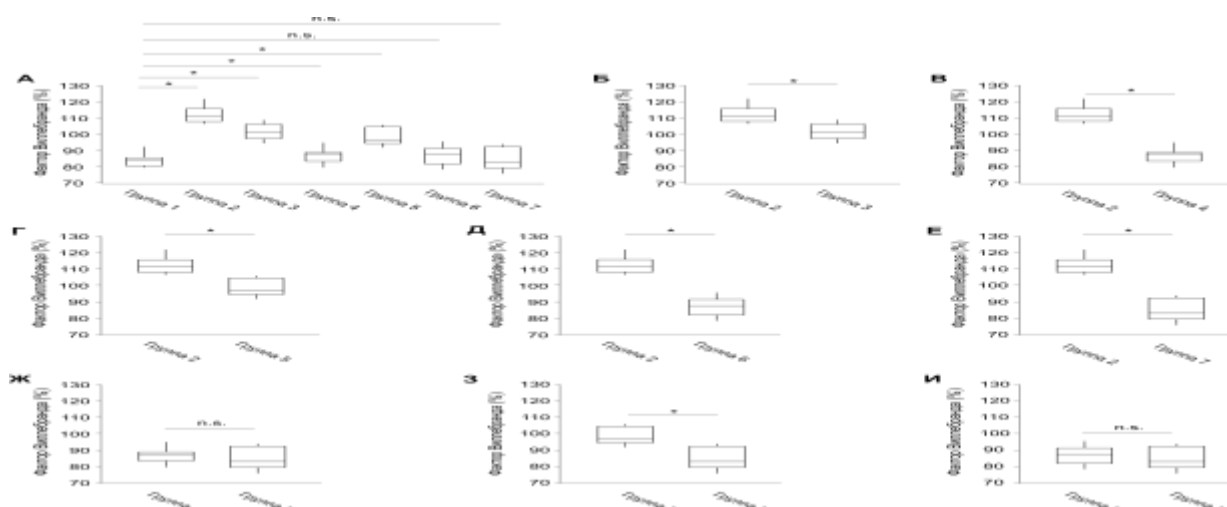


Рисунок 7.7 – Зміна рівня фактора Віллебранда через 180 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (А) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня фактора Віллебранда в кожній групі дослідження. Символ \* відображає наявність статистично достовірної відмінності між результатами, отриманими в контрольній групі ( $n = 20$  тварин) та експериментальними групами 2-5 ( $n = 20$  тварин у кожній групі); Тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ . (Б) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня фактора Віллебранда в групах 2 та 3. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 3 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (В) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня фактора Віллебранда в групах 2 і 4. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 і 4 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

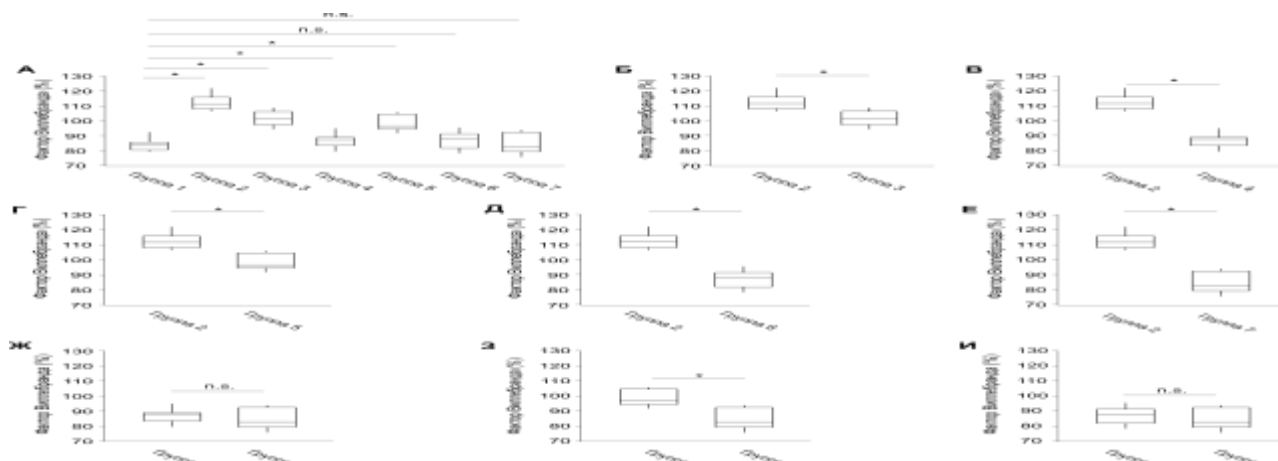


Рисунок 7.8 – Зміна рівня фактора Віллебранда через 180 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Г) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня фактора Віллебранда в групах 2 і 5. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 і 5 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Д) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня фактора Віллебранда в групах 2 і 6. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 6 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Е) Бокс-плоти ілюструють розподіл великого рівня фактора Віллебранда в групі 2 та групі 7. Відмінності між результатами, отриманими в групі 2 та 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

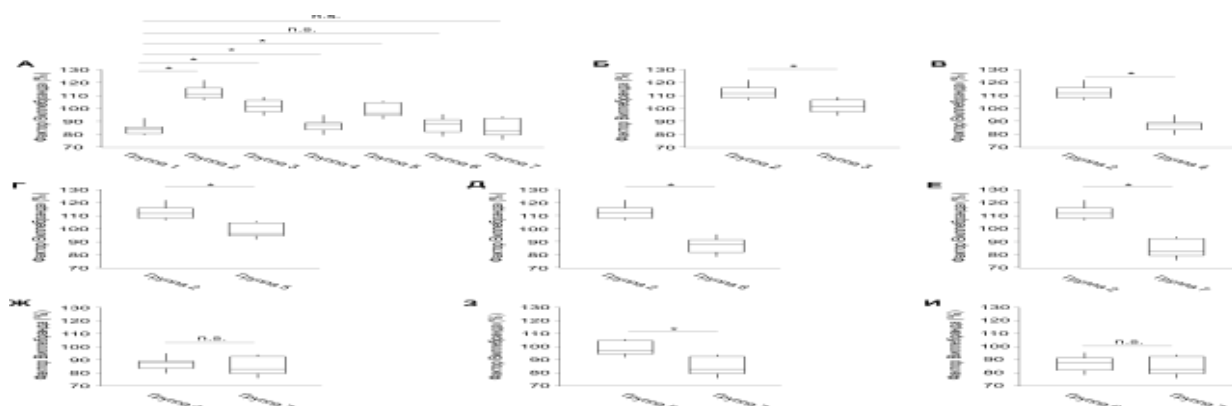


Рисунок 7.9 – Зміна рівня фактора Віллебранда через 180 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Ж) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня фактора Віллебранда в групах 4 і 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 4 і 7 статистично не достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p > 0,05$ ). (З) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня фактора Віллебранда в групах 5 і 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 5 і 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (І) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня фактора Віллебранда в групах 6 і 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 6 і 7 статистично не достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p > 0,05$ ).

### *Індуцибельна синтаза оксиду нітрогену*

На сьогоднішній день відомо декілька шляхів утворення активних форм нітрогену: за участю ендотеліальної, нейрональної та індуцибельної NO синтази, а також під дією нітритредуктазної активності гемвмістких білків (гемоглобіну, міоглобіну, цитохрому P 450, цитохром оксидази та при не ферментативних перетвореннях йонів NO<sub>2</sub> у кислому середовищі [507-511]).

Одержані в нашому дослідженні результати свідчать про підвищення активності індуцибельної синтази оксиду нітрогену, починаючи із 30-ї та з подальшим прогресуванням на 60-у та 180-у доби експериментальної діабетичної ретинопатії, що свідчить про порушення фізіологічного шляху синтезу оксиду нітрогену. Корекція гіпоглікемічними засобами у 3-й групі мала позитивний ефект, але не була спроможна знизити активність індуцибельної синтази оксиду нітрогену, яка на 2-му та 3-му етапі підвищилася, тому виникла необхідність у застосуванні додаткових засобів. Застосування афліберцепту та донатора оксиду нітрогену у 4-й групі для корекції розвитку діабетичної ретинопатії суттєво знижувала активність iNOS (найбільш результативно на 180-у добу експерименту), проте не досягала контрольних показників. Доведено, що корекція, проведена у 5-й та 6-й групах, значно знижувала активність індуцибельної синтази оксиду нітрогену але не досягала контрольних показників. У п'ятій групі на 180-у добу активність маркера навпаки підвищується. Максимально ефективною корекцією виявилось поєднання метформіну, афліберцепту, L-аргініну та цитиколіну щурам 7-ї групи, про що свідчить нормалізація рівня маркера на 60-у добу експерименту, а на 180-у було зафіксовано зниження вмісту маркера до контрольних показників.

Результати дослідження активності індуцибельної синтази оксиду нітрогену наочно представлені на рис. 7.10-7.18



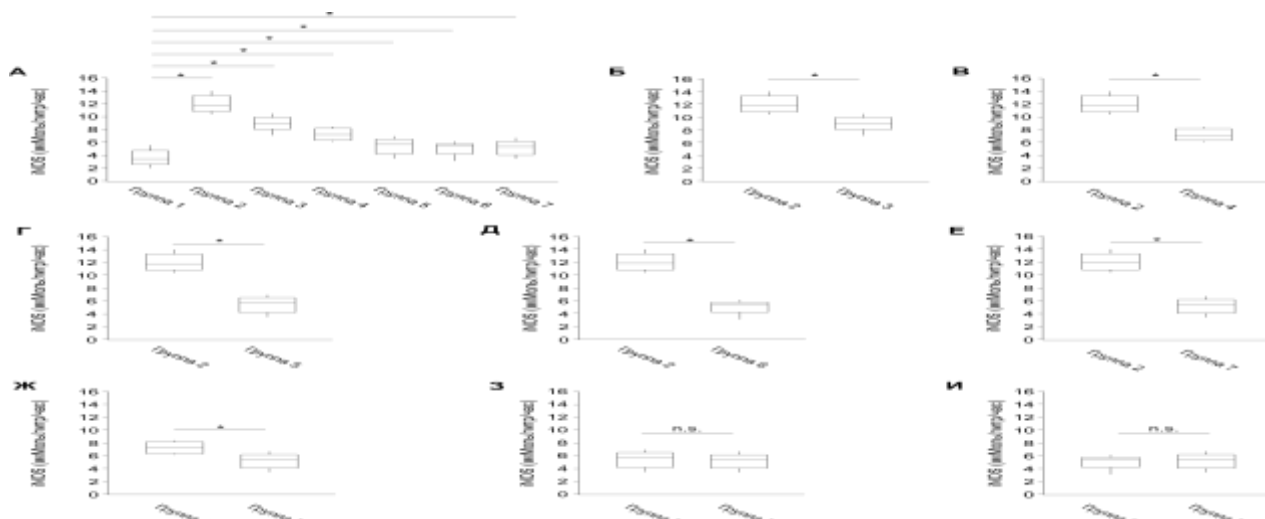


Рисунок 7.10 – Зміна активності індукцибельної синтази оксиду нітрогену через 30 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (А) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності iNOS у кожній групі досліджень. Символ \* відображає наявність статистично достовірної відмінності між результатами, отриманими в контрольній групі 1 (n = 20 тварин) та експериментальними групами 2-7 (n = 20 тварин у кожній групі); Тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ . (Б) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності iNOS у групах 2 та 3. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 3 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (В) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності iNOS у групах 2 і 4. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 4 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

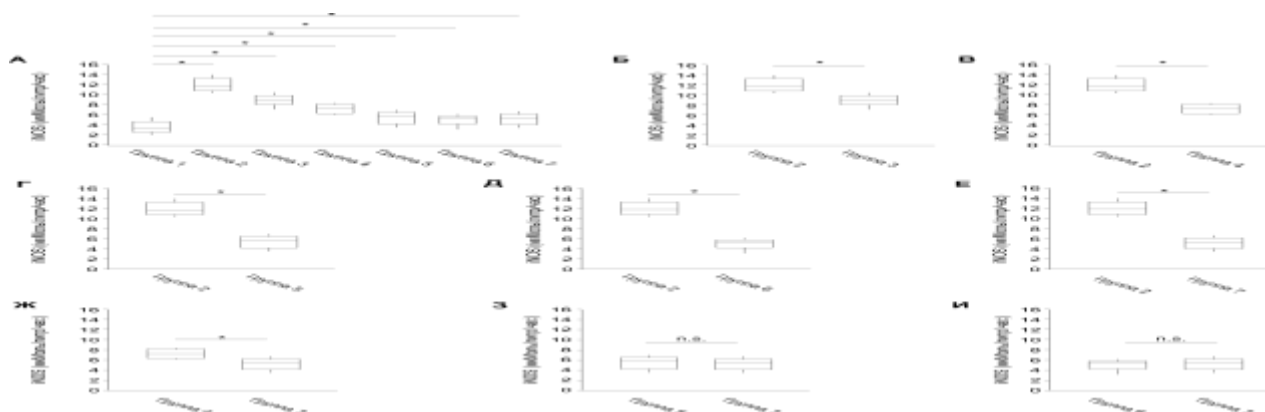


Рисунок 7.11 – Зміна активності індукцибельної синтази оксиду нітрогену через 30 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Г) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності iNOS у групах 2 та 5. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 5 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Д) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності iNOS у групах 2 і 6. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 6 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Е) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності iNOS у групах 2 та 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

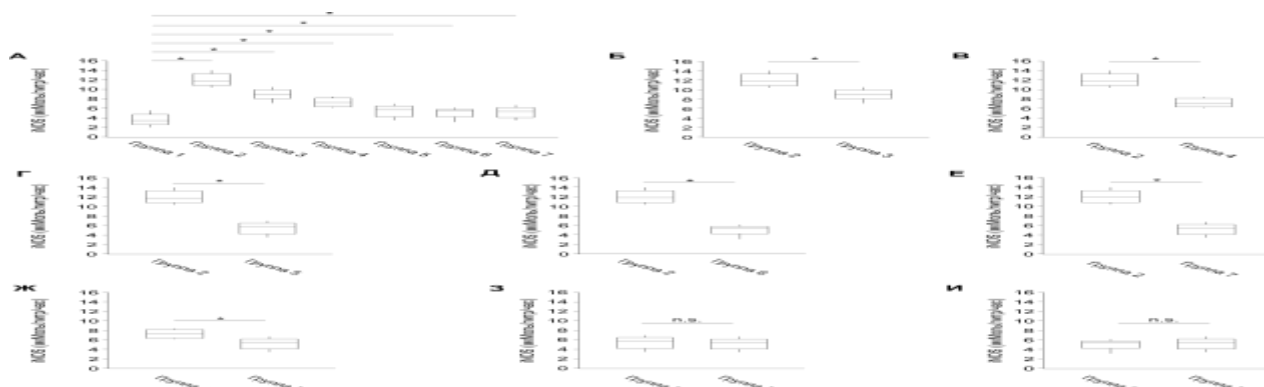


Рисунок 7.12 – Зміна активності індукцйбельної синтази оксиду нітрогену через 30 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Ж) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності iNOS в групах 4 і 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 4 і 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (З) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності iNOS в групах 5 і 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 5 і 7 статистично не достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p > 0,05$ ). (І) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності iNOS в групах 6 і 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 6 і 7, статистично не достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p > 0,05$ ).

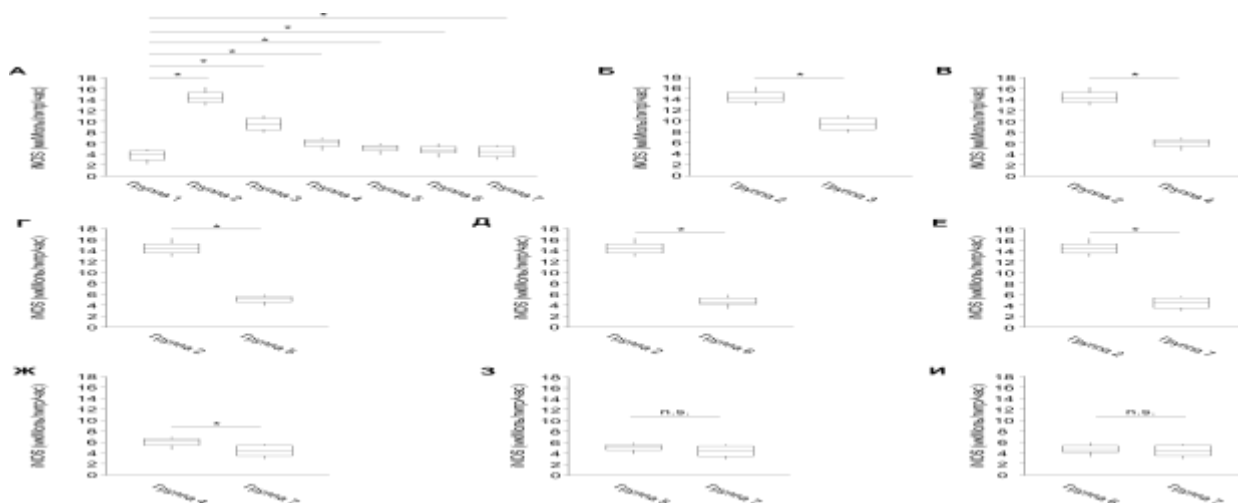


Рисунок 7.13 – Зміна активності індукцйбельної синтази оксиду нітрогену через 60 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (А) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності iNOS у кожній групі досліджень. Символ \* відображає наявність статистично достовірного відмінності між результатами, отриманими в контрольній групі 1 ( $n = 20$  тварин) та експериментальними групами 2-7 ( $n = 20$  тварин у кожній групі); Тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ . (Б) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності iNOS у групах 2 та 3. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 3 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (В) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності iNOS у групах 2 і 4. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 4 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

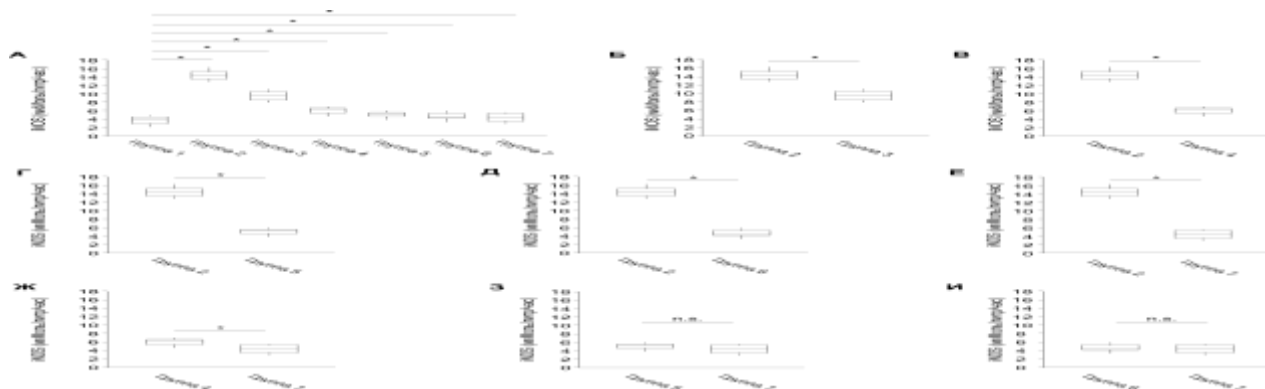


Рисунок 7.14 – Зміна активності індукцибельної синтази оксиду нітрогену через 60 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Г) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності iNOS у групах 2 та 5. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 5 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Д) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності iNOS у групах 2 і 6. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 6 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Е) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності iNOS у групах 2 та 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ )

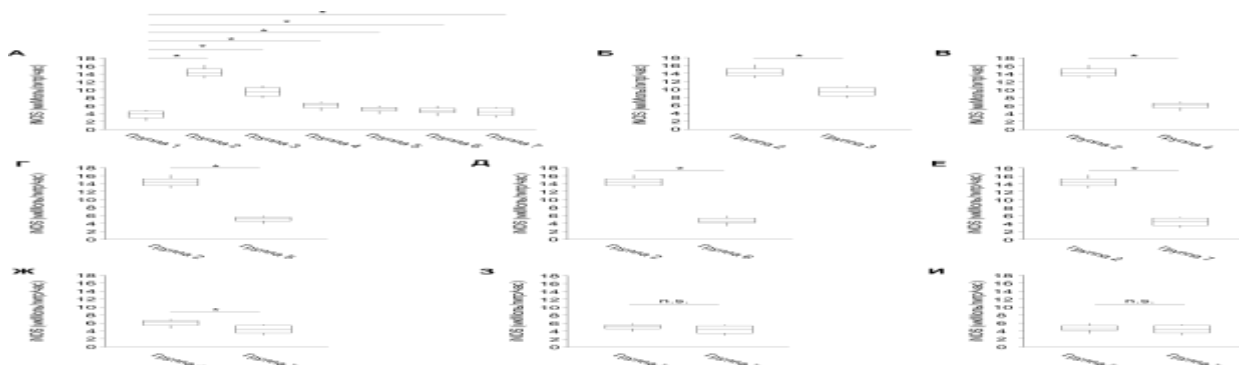


Рисунок 7.15 – Зміна активності індукцибельної синтази оксиду нітрогену через 60 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Ж) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності iNOS в групах 4 і 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 4 і 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (З) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності iNOS в групах 5 і 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 5 і 7 статистично не достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p > 0,05$ ). (І) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності iNOS в групах 6 і 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 6 і 7, статистично не достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p > 0,05$ ).

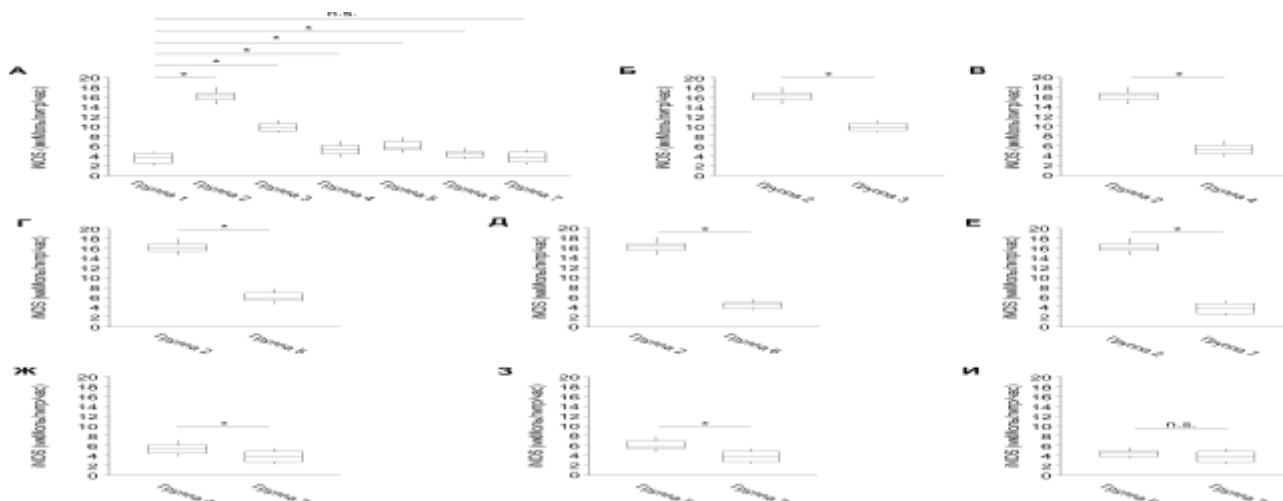


Рисунок 7.16 – Зміна активності індукцибельної синтази оксиду нітрогену через 180 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (А) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності iNOS у кожній групі досліджень. Символ \* відображає наявність статистично достовірної відмінності між результатами, отриманими в контрольній групі 1 (n = 20 тварин) та експериментальними групами 2-7 (n = 20 тварин у кожній групі); Тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ . (Б) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності iNOS у групах 2 та 3. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 3 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (В) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності iNOS у групах 2 та 4. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 4 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

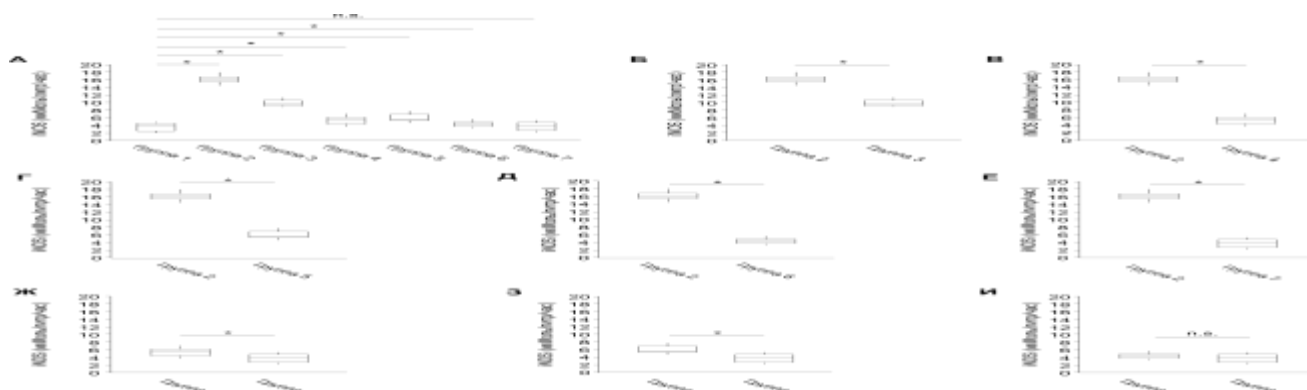


Рисунок 7.17 – Зміна активності індукцибельної синтази оксиду нітрогену через 180 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Г) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності iNOS у групах 2 та 5. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 5 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Д) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності iNOS у групах 2 і 6. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 6 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Е) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності iNOS у групах 2 та 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

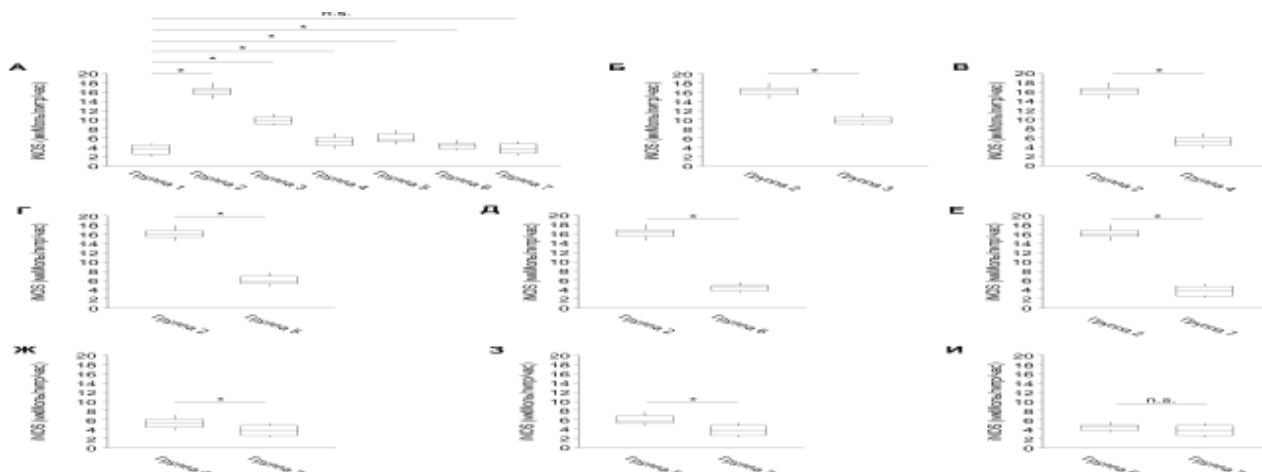


Рисунок 7.18 – Зміна активності індукцибельної синтази оксиду нітрогену через 180 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Ж) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності iNOS у групах 4 та 7. Відмінності між результатами, отриманими у групах 4 та 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (З) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності iNOS в групах 5 і 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 5 і 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (І) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності iNOS в групах 6 і 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 6 і 7, статистично не достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p > 0,05$ ).

Інформативність даного маркера в умовах нашого дослідження обумовлена нижченаведеними даними. Конститутивні ендотеліальна, та нейрональна  $Ca^{2+}$  залежні NO-синтази, а також  $Ca^{2+}$ -незалежна iNO-синтаза продукують оксид нітрогену із гуанідинового нітрогену L-аргініну за участю коферментів NADPH, FAD, FMN, тетрагідробіоптерину у присутності кисню [512, 513]. Оксид нітрогену є універсальним регулятором фізіологічних процесів, під час яких він регулює імунні реакції, тонус судин, регуляцію дихання, механізми нейропередачі.

Ці біологічні ефекти обумовлені наявністю у молекулі NO вільного радикала із про- та антиоксидантною активністю, ліпофільністю, малим розміром і через це – здатністю до дифузії через мембрани а також спроможністю до ендогенного утворення активних форм NO:  $NO^-$ ,  $NO^+$ ,  $NO_2$ ,  $N_2O_3$ ,  $N_2O_4$ ,  $ONOO^-$  (АФНО) [507].

Індукція індукцибельної NOS спостерігається під час запалення, росту пухлин та при інших патологічних станах під впливом  $\gamma$  інтерферону, Інтерлейкіну  $1\beta$ , білків теплового шоку та фактору некрозу пухлин, переважно в епітеліоцитах, макрофагах, моноцитах та атипівих клітинах [513]. Інфільтруючі пухлину макрофаги, які в умовах гіпоксії активують іNOS також можуть синтезувати оксид нітрогену [514].

Індукцибельна синтаза оксиду нітрогену активується цитокінами через сигнальний каскад [512, 515-518]. Рівень NO, який продукується іNOS, може в 1000 разів перевищувати рівні оксиду нітрогену, які продукуються ендотеліальною NOS [519-521]. Кінцевими продуктами обміну оксиду нітрогену є іони  $NO_2^-$  і  $NO_3^-$ . При функціональному навантаженні, гіпоксії/ішемії, або при переході гемвістких білків в дезоксіформу йони  $NO_2^-$  швидко перетворюються у NO у тканинах та крові людей у циклі оксиду нітрогену [507].

Оксид нітрогену може, минаючи ферментативні та не ферментативні системи, напряду взаємодіяти із супероксидним аніон-радикалом. Під час таких реакцій утворюються молекули NO та аніони пероксинітритів, які після протонування розпадаються на активні  $NO_2$  та OH-радикали, що здатні приймати участь у ланцюгових вільно радикальних процесах та пошкоджувати практично всі біохімічні структури [507, 522-524].

На сьогоднішній день відомі два шляхи дії оксиду нітрогену, якими реалізується NO-сигналізація. Перший з них – циклін залежний, коли оксид нітрогену взаємодіє з розчинною гуанілатциклазою з утворенням циклічного гуанозинмонофосфату. Останній індукує цГМФ залежну протеїнкіназу G, яка фосфорилує багато чисельні субстрати [525].

Збільшена кількість цГМФ призводить до зниження агрегації тромбоцитів та до вазорелаксації [526].

Інший сигнальний шлях – гуанілатциклазозалежний. В цьому випадку оксид нітрогену та його активні форми нітрозилують або нітрують

білки, які містять тіолові гем та тирозинові залишки або метали перемінної валентності. При надлишку NO стимулюється його реакція з білками, ліпідами та нуклеїновими кислотами, що призводить до патологічних змін [507, 527, 528].

Активація ендотеліну-1 напряду пов'язана із збільшенням кількості вільних радикалів, експресією індукцибельної синтази оксиду нітрогену, дія якої набагато потужніша у порівнянні з ендотеліальної NO- синтазою [529, 530].

Результати дослідження рівня ендотеліну-1, який є маркером ендотеліальної дисфункції, наочно представлені на рис. 7.19-7.27.

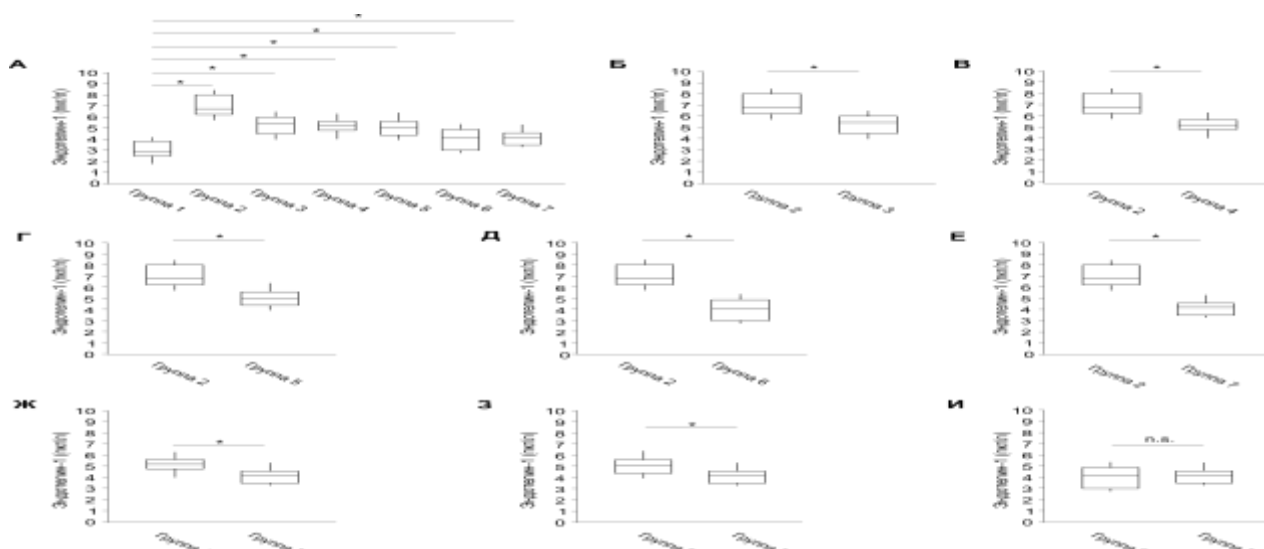


Рисунок 7.19 – Зміна рівня ендотеліну-1 через 30 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (А) Бокс-плоти ілюструють розподіл величини рівня ендотеліну-1 у кожній групі досліджень. Символ \* відображає наявність статистично достовірної відмінності між результатами, отриманими в контрольній групі 1 ( $n = 20$  тварин) та експериментальними групами 2-7 ( $n = 20$  тварин у кожній групі); Тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ . (Б) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня ендотеліну-1 у групах 2 та 3. Відмінності результатів, отриманих у групах 2 та 3 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (В) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня ендотеліну-1 у групах 2 та 4. Відмінності результатів, отриманих у групах 2 та 4 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

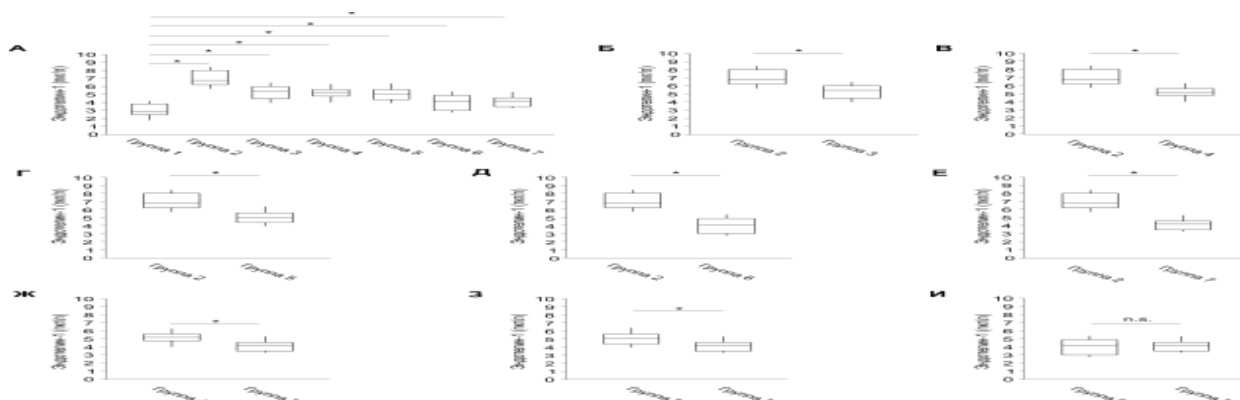


Рисунок 7.20 – Зміна рівня ендотеліну-1 через 30 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Г) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня ендотеліну-1 у групах 2 та 5. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 5 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Д) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня ендотеліну-1 у групах 2 та 6. Відмінності результатів, отриманих у групах 2 та 6 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Е) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня ендотеліну-1 у групах 2 та 7. Відмінності результатів, отриманих у групах 2 та 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

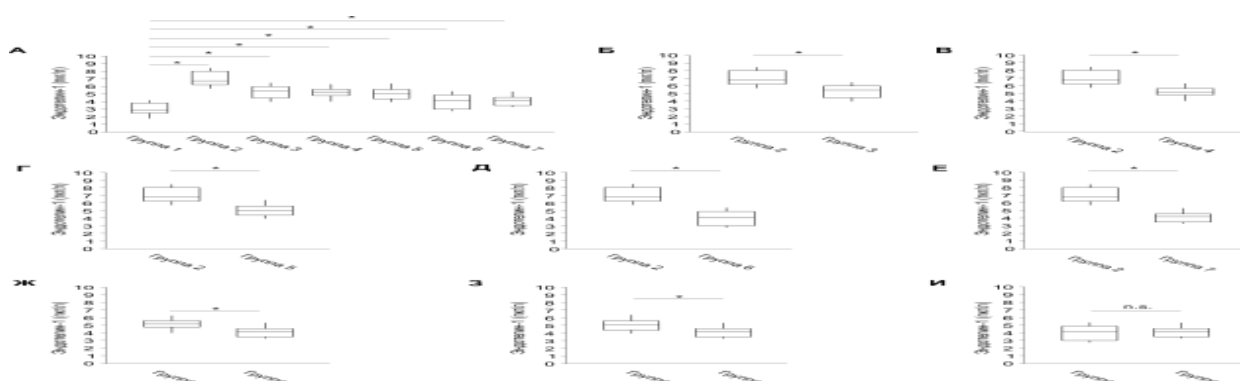


Рисунок 7.21 – Зміна рівня ендотеліну-1 через 30 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Ж) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня ендотеліну-1 у групах 4 і 7. Відмінності результатів, отриманих у групах 4 та 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (З) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня ендотеліну-1 у групах 5 і 7. Відмінності результатів, отриманих у групах 5 і 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (І) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня ендотеліну-1 у групах 6 та 7. Відмінності результатів, отриманих у групах 6 та 7, статистично не достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p > 0,05$ ).



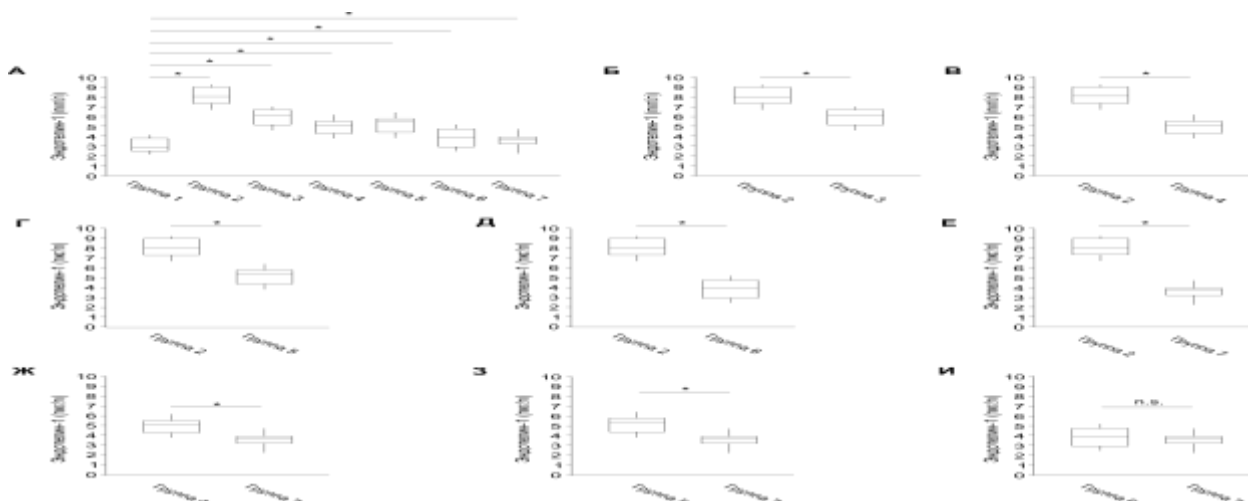


Рисунок 7.22 – Зміна рівня ендотеліну-1 через 60 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (А) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня ендотеліну-1 у кожній групі досліджень. Символ \* відображає наявність статистично достовірної відмінності між результатами, отриманими в контрольній групі 1 ( $n = 20$  тварин) та експериментальними групами 2-7 ( $n = 20$  тварин у кожній групі); Тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ . (Б) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня ендотеліну-1 у групах 2 та 3. Відмінності результатів, отриманих у групах 2 та 3 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (В) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня ендотеліну-1 у групах 2 та 4. Відмінності результатів, отриманих у групах 2 та 4 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

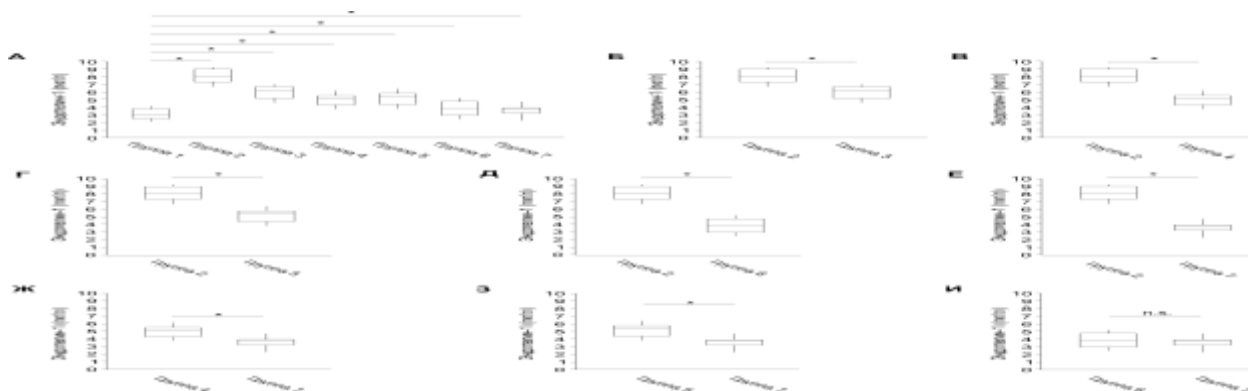


Рисунок 7.23 – Зміна рівня ендотеліну-1 через 60 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Г) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня ендотеліну-1 у групах 2 та 5. Відмінності результатів, отриманих у групах 2 та 5 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Д) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня ендотеліну-1 в групах 2 та 6. Відмінності результатів, отриманих у групах 2 та 6 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Е) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня ендотеліну-1 у групах 2 та 7. Відмінності результатів, отриманих у групах 2 та 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

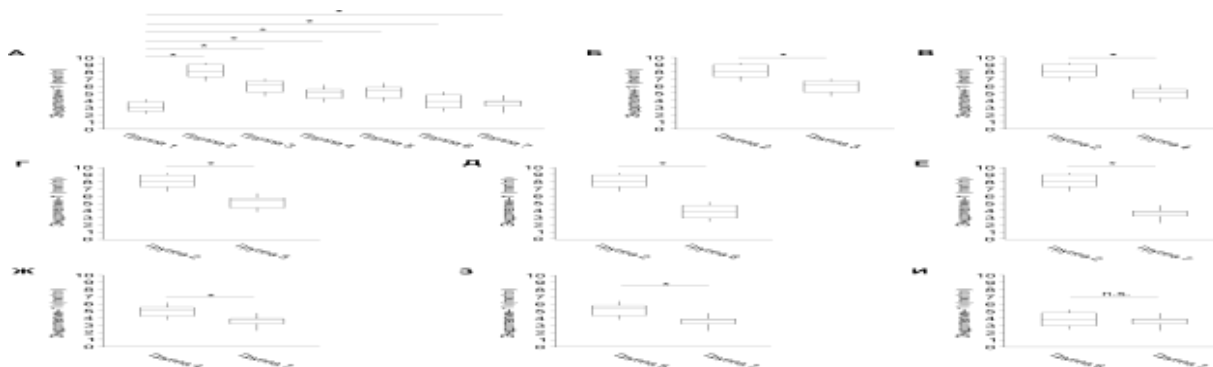


Рисунок 7.24 – Зміна рівня ендотеліну-1 через 60 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Ж) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня ендотеліну-1 у групах 4 і 7. Відмінності результатів, отриманих у групах 4 та 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (З) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня ендотеліну-1 у групах 5 і 7. Відмінності результатів, отриманих у групах 5 і 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (І) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня ендотеліну-1 у групах 6 та 7. Відмінності результатів, отриманих у групах 6 та 7, статистично не достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p > 0,05$ )

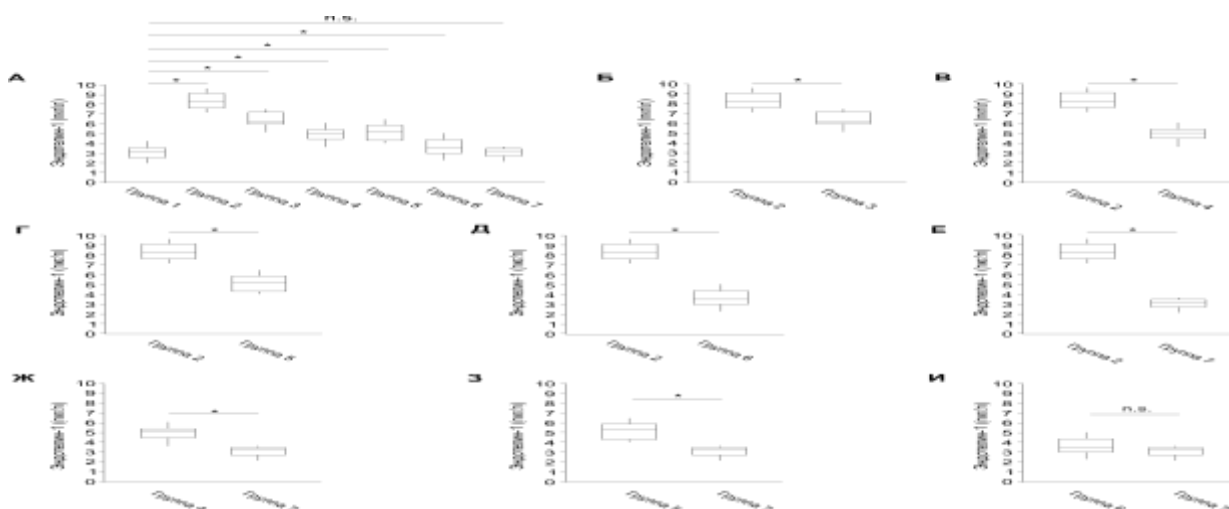


Рисунок 7.25 – Зміна рівня ендотеліну-1 через 180 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (А) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня ендотеліну-1 у кожній групі досліджень. Символ \* відображає наявність статистично достовірної відмінності між результатами, отриманими в контрольній групі 1 ( $n = 20$  тварин) та експериментальних групах 2-7 ( $n = 20$  тварин у кожній групі); Тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ . (Б) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня ендотеліну-1 у групах 2 та 3. Відмінності результатів, отриманих у групах 2 та 3 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (В) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня ендотеліну-1 у групах 2 та 4. Відмінності результатів, отриманих у групах 2 та 4 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

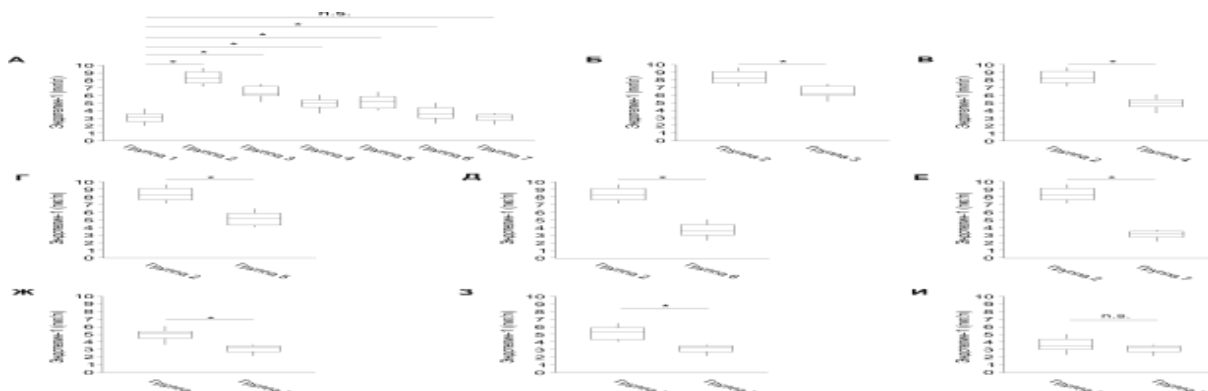


Рисунок 7.26 – Зміна рівня ендотеліну-1 через 180 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Г) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня ендотеліну-1 у групах 2 та 5. Відмінності результатів, отриманих у групах 2 та 5 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Д) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня ендотеліну-1 в групах 2 та 6. Відмінності результатів, отриманих у групах 2 та 6 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Е) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня ендотеліну-1 у групах 2 та 7. Відмінності результатів, отриманих у групах 2 та 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

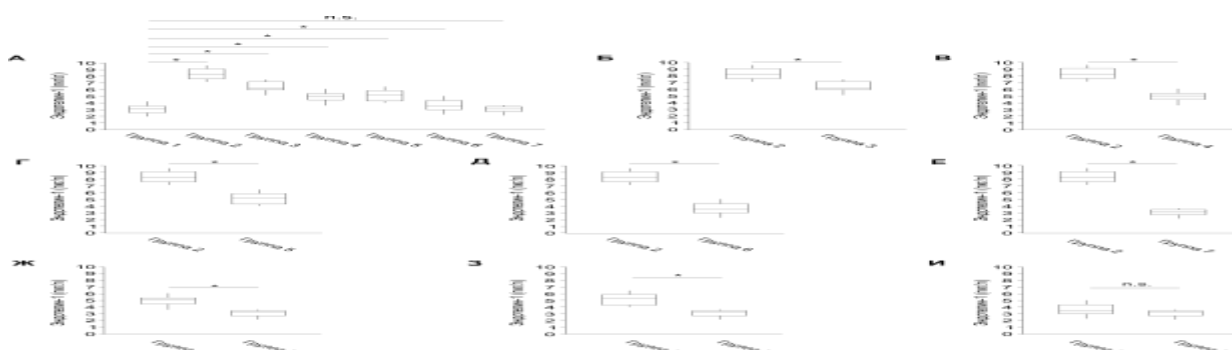


Рисунок 7.27 – Зміна рівня ендотеліну-1 через 180 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Ж) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня ендотеліну-1 у групах 4 і 7. Відмінності результатів, отриманих у групах 4 та 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (З) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня ендотеліну-1 у групах 5 і 7. Відмінності результатів, отриманих у групах 5 і 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (І) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня ендотеліну-1 у групах 6 та 7. Відмінності результатів, отриманих у групах 6 та 7, статистично не достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p > 0,05$ ).

Активация індукцибельної NO-синтази посилюється прозапальними цитокінами та активованими формами кисню і обумовлює посилений синтез оксиду нітрогену, [531]. Слід підкреслити, що цей процес не пов'язаний із

обміном L-аргініну і активується у відповідь на зменшення його рівня у кітинах [532]. Під час пригнічення активності ендотеліальної NO-синтази індукується система синтезу оксиду нітрогену через індукцибельну NO-синтазу, а також залучається активація ангиогенезу.

Під час цього процесу відбувається зниження приросту індекса резистентності ендотелійзалежної відповіді на регургітацію, яке неадекватне рівня оксиду нітрогену та пов'язане із експресією ендотеліну-1. Збільшення концентрації ендотеліну робить ендотелій менш чутливим до вазодилатаційного ефекту оксиду нітрогену [529].

Підвищення рівня ендотеліну-1 активує процеси вазоконстрикції, гіпоксії, ішемії в тканинах, і, як наслідок, призводить до збільшення кількості вільних радикалів у першу чергу су пероксид-аніону ( $O_2^-$ ) [533].

Надлишок оксиду нітрогену взаємодіє з останнім із утворенням високо цитотоксичного пероксинітриту, який через систему зворотнього зв'язку посилює індукцибельну синтазу оксиду нітрогену та через неї синтез NO, ангиогенних факторів ендотеліну-1 і VEGF, а також пригнічує базальний рівень активності ендотеліальної синтази оксиду нітрогену [529].

L-аргінін регулює відновлення активності ендотеліальної синтази оксиду нітрогену, що призводить до нормалізації функцій ендотелію через збільшення доступності оксиду нітрогену для гладком'язових волокон. Це створює вазорелаксуючий ефект, інгібує вазоконстрикторну дію Ендотеліну-1, в результаті чого збільшуються функціональні можливості артерій та сприяє покращенню кровотоку та забезпечення тканин киснем [529].

Ендотелінами називається група біологічно активних пептидів, яка регулює функціональний стан ендотелію і має широкий спектр дії. Ці сполуки є типовими вазоконстрикторами і їх ефекти впливають як на системну, так і на регіональну гемодинаміку. Підвищений рівень ендотеліну спостерігається при багатьох патологічних станах, зокрема при

атеросклерозі, артеріальній гіпертензії, аритміях, ішемічній хворобі серця та серцевій й недостатності [534].

В умовах нашого експерименту встановлене порушення функціонального стану судин уже на 30-у добу розвитку експериментальної діабетичної ретинопатії з подальшим прогресуванням патологічних змін на 60-у та 180-у добу дослідження, про що свідчить значне підвищення рівня ендотеліну-1 у 2-й групі ( $p < 0,001$ ), максимально виражене на 3-му етапі. При аналізі даних групи №3 встановлено, що корекція патологічного стану за допомогою гіпоглікемічних засобів має позитивний вплив, але не дозволяє виражено скоригувати патологічно збільшений рівень ендотеліну-1, що свідчить про необхідність залучення додаткових засобів корекції окрім корекції гіперглікемії. Результати 4-ї групи свідчать про те, що залучення донатора оксиду нітрогену та афліберцепта до корекції діабетичної ретинопатії коригує рівень досліджуваного маркера, максимально виражений ефект спостерігається на 180-у добу експерименту, але нормативних значень досягти не вдається. Виявлено, що у 5-й групі, в якій корекція змодельованого патологічного стану проводилась шляхом зниження гіперглікемії, введення афліберцепта та бромфенаку дає позитивні результати, але менш виражені, аніж у 4-ї групі, де до комплексної корекції додавали розчин L-аргініну. Виявлено, що у щурів 6-ї групи, у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта, L-карнітіну та бромфенаку наявна виражена результативність запропонованого способу корекції у порівнянні з попередніми розглянутими способами, рівень маркера вазоконстрикції знижується уже на першому етапі і продовжує відновлюватися на наступних етапах експерименту, але не досягає нормативних значень. Отримані дані дозволяють стверджувати, що спосіб корекції, обраний у 7-й групі, який включає в себе зниження гіперглікемії, введення афліберцепта, розчину L-

аргініну та цитиколіну є максимально результативним для нормалізації тону судин та структурного і функціонального стану ендотелію.

*Цитокіни* утворюють між собою систему, яка взаємопов'язана [535-537]. Дана система саморегулюється, утворюючи баланс між про- та протизапальними цитокінами [538]. Будь яка дія одного цитокіну коригує функції інших, тож від балансу цих біологічно активних речовин залежить імунна система [539, 540]. В залежності від взаємодії чи протидії цитокінів при певних умовах відбувається маніфестування гуморального чи клітинного типу імунної реакції [535, 541]. Кожен із цитокінів має специфічні для нього рецептори. Після їх взаємодії інформація передається з клітинної мембрани до ядра, в результаті чого відбувається каскадна реакція, яка запускає індукцію, пригнічення або активацію генів які регулюються специфічними для них цитокінами [542]. Практично всі реакції гомеостазу в органах і системах регулюються цитокінами. Давно відомо, що нейрокринна і імунна системи функціонують як єдиний біологічний комплекс. Підтвердженням цього є те, що нервовими та лімфоїдними клітинами продукуються аналогічні гуморальні фактори. Частина цитокінів проникає до тканин головного мозку через гематоенцефалічний бар'єр [535, 543]. Функціональний стан імунної системи ми можемо визначити за рівнем цитокінів у сироватці крові. Окремо слід виділити серед цитокінів інтерлейкіни і в першу чергу інтерлейкін 1  $\beta$ , інтерлейкіни 2, 4, 6, 8, 10 та фактор некрозу пухлин. Регулюють процеси запалення прозапальні (інтерлейкіни 1, 2, 6, 8) та протизапальні (інтерлейкіни 4, 10) цитокіни. Для перших характерні як локальні, так і системні ефекти. На початку локального процесу спостерігається активація запалення шляхом посилення місцевого кровотоку, розширення судин та підвищення їх проникності. При цьому відбувається накопичення ексудату та посилюється набряк і біль [535]. В подальшому активується експресія адгезивних молекул на ендотеліоцитах. Адгезивні молекули шляхом зв'язування лейкоцитів крові призводять до їх

міграції через капіляри до тканин. У подальшому лейкоцитарна міграція до джерела запалення або інфекції регулюється цитокінами-хемокінами [535, 544].

*Інтерлейкін-1* – це лімфоцит-активуючий фактор та ендогенний піроген. Він складається із трьох цитокінів: Інтерлейкін 1 $\alpha$ , Інтерлейкін 1 $\beta$ , Інтерлейкін 1 Ra (який є антагоністом рецептору Інтерлейкін 1, а також двох рецепторів R1 і R2). Інтерлейкіни 1 $\alpha$  та Інтерлейкіни 1 $\beta$  хоч і щільно з'єднані генами, проте кодуються нарізно і розрізняються за структурою [535]. Схожість їх структури займає лише 26 %. Інтерлейкін-1 продукується ендотеліальними і мезенхімальними клітинами, макрофагами, В-лімфоцитами та деякими іншими тканинами [545, 546]. Інтерлейкіни 1 $\alpha$  та 1 $\beta$  незважаючи на свою гомологію, конкурують між собою за один і той самий рецептор. Переважаючою формою є Інтерлейкін 1 $\beta$ . Слід зазначити, що біологічні властивості обох форм Інтерлейкіну 1 подібні. Інтерлейкін 1 $\alpha$  має аутокринну і паракринну дію та індукує Т-лімфоцити [535].

Інтерлейкін 1 $\beta$  – цитокін із широким спектром дії, який регулює неспецифічний захист імунітету, для нього характерні багато інших функцій [547, 548]. У момент презентації макрофагами антигенного пептиду Т-лімфоцитам хелперам 1-го типу під впливом інтерлейкіну-1 починається синтез Інтерлейкіну-2. Крім того на Т-лімфоцитах під впливом Інтерлейкіну-1 активується рецептор до інтерлейкіну 2. Тим самим формуються умови для дозрівання клону специфічно активованих клітин та проліферації лімфоцитів [535]. Інтерлейкін 1 у тісному контакті з Інтерлейкін 4 активує продукцію антитіл та проліферацію В лімфоцитів впливаючи ЦНС викликає анорексію, сонливість, посилює продукцію гепатоцитами білків гострої фази, активує продукцію фосфоліпази А2 та простагландину Е2 що призводить до лихоманки, посилює експресію адгезивних молекул в результаті чого посилюється адгезія лейкоцитів до епітеліальних клітин, активує гранулоцити, кератиноцити, остеобласти, НК-клітини, посилює продукцію

інших прозапальних цитокінів – ін. терлейкіну 6, 8,  $\gamma$ -інтерферону, ФНП-а. Сумісно з останнім ініціює стан схожий на септичний шок [535, 545, 549].

Цитокінами називають білки, що секретуються переважно активованими клітинами імунної системи. Вони не мають специфічності відносно антигенів і являють собою медіатори міжклітинних взаємозв'язків при запаленні, гемопоезі, відповіді імунітету та міжсистемних взаємодіях [550-553]. Цитокіни розподіляються на декілька груп. Для інтерферонів характерна противірусна активність, інтерлейкіни спеціалізуються на взаємодії із лейкоцитами, хемотоксичні цитокіни – це хемокіни, а гемопоетичні цитокіни є колоніє стимулюючими факторами. Окремо можна виділити також фактор некрозу пухлин [551, 554]. В основі функції цитокінів лежить індукційність, тобто локальність функціонування, залежність їх індукції від стимулюючого впливу, взаємозв'язок та взаємодія компонентів, їх надлишок, що призводить до активації чи пригнічення їх синтезу та секреції [551, 552, 554]. На сьогоднішній день відомо 18 інтерлейкінів і вивчені їх основні функції [550, 552]. Зокрема Інтерлейкіну 1 належить ключова роль у патогенезі інсулінової недостатності. Як прозапальний цитокін він може індукувати локальну запальну реакцію та гіпотонію, лихоманку і навіть шок. Цей інтерлейкін секретується макрофагами, здатний до секреції інших цитокінів, що призводить до активації В і Т лімфоцитів [556-558].

Отже, в розвитку цукрового діабету та його ускладнень цитокінам належить важлива роль, яка потребує подальших досліджень [550]

У патогенезі цукрового діабету 2 типу, для якого характерні прояви запалення, велике значення має дисбаланс імунної системи із гіперсекрецією цитокінів та розвитком імуносупресивного стану [559, 560]. Цей процес є ключовим для розвитку мікро- та макросудинних порушень, ендотеліальної дисфункції і призводить до розвитку артеріальної гіпертензії, діабетичної нефропатії, нейропатії та ретинопатії [561, 562].



Значна кількість вільних радикалів, яка виробляється під час перекисного окислення ліпідів, стимулює посилений синтез прозапальних цитокінів, зокрема Інтерлейкінів 1, 6, 8 та ФНП. Посилена секреція цитокінів формує запальний процес та призводить до патологічних змін [563, 564].

Значна роль у патогенезі цукрового діабету наєжить порушенню механізмів міжклітинних взаємодій. Регуляторами цих процесів є система цитокінів, що впливають на ангиогенез, гемопоез, проліферацію клітин, характер імунної відповіді, запалення та інші процеси. У фізіологічних умовах цитокіни потрапляють до кровотоку в дуже незначних кількостях. Їх підвищення свідчить про активацію патологічного процесу і використовується як діагностичний маркер патологічного процесу та ефективності корекції. Цитокіни представляють собою активні білки із широким спектром біологічних ефектів [565]. Вони відповідають за реакцію організму на імунні ушкодження, чужорідні тіла, а також регенерацію та репарацію і запалення. Такий спектр біологічних можливостей дозволив авторам розглядати їх як «мікроендокринну систему». Як в нормі, так і при патології цитокіни представляють собою нейротрансмітери для міжклітинної взаємодії, які регулюють комунікативні зв'язки між імунною системою та клітинами інших органів та тканин [565, 566].

Між собою цитокіни утворюють мережу взаємозв'язаних елементів – цитокінову мережу, у якій секреція та активація чітко регулюються і відбуваються в короткий, заздалегідь визначений, проміжок часу. Цитокіни секретуються лише в певних випадках на поверхні активованих клітин. Слід підкреслити, що як експресовані, так і секретовані цитокіни мають спільну властивість – зв'язуватися тільки зі специфічними для них рецепторами на цитоплазматичній мембрані клітин мішеней. В результаті цього активуються комплекси реакцій, які стимулюють або пригнічують активність регульованих ними генів [567]. Для цитокінів не характерна хімічна чи ферментативна активність. Вони діють як гормони, опосередковано

регулюючи функції клітин мішеней через вторинні месенджери. Вони можуть впливати на клітину аутокринно, паракринно чи ендокринно дистанційно [568].

Цитокіни, відповідальні за взаємодію з лейкоцитами, називаються інтерлейкінами. Інтерлейкін 1 приймає участь на всіх етапах імунної відповіді. Він впливає на диференціювання В і Т лімфоцитів та інших імунокомпетентних клітин, активує APC і CD4 лімфоцити. активним інгібіторами секреції інтерлейкіну-1 є Інтерлейкіни 4, 10, 12 та ФНП а [565].

Основні клітини, які виробляють Інтерлейкін 1 – макрофаги та моноцити. Також він утворюється клітинами Лангерганса,  $\beta$ -лімфоцитами, фібробластами, ендотеліальними, гліальними та синовіальними клітинами. Основними умовами для синтезу Інтерлейкіну 1 макрофагами та моноцитами є їх активація бактеріальними продуктами а також внаслідок фагоцитозу та адгезії. Продукція посилюється під впливом колхіцину, цитохалахіну В, інгібітора синтезу білка циклогексаміду. Інгібіторами синтезу інтерлейкіну-1 є глюкокортикоїди, простагландин Е 2 та фактори, які підвищують рівень циклічного аденозинмонофосфату [565, 569]. Вплив інтерлейкіну-1 на клітини мішені дуже різноманітний. Макрофаги, активовані В і Т клітини, базофіли, клітини ендотелію, мязів та хряща, кровотворні клітини та плазмоцити. Усі вони експресують рецептори загальні для  $\alpha$  і  $\beta$  форм інтерлейкіну-1 [565].

Ефекти інтерлейкіну-1 розподіляються на запальні, імунологічні, кровотворні та міжсистемні. Інтерлейкін-1 має ключове значення для активації початкових імунологічних реакцій, зокрема до активації Т – хелперів. Мембранний інтерлейкін-1 активує взаємодію макрофагів із Т клітинами. Також він з іншими цитокінами сприяє проліферації активованих В клітин та їх диференціювання до плазматичних клітин. Разом із антигеном Інтерлейкін 1  $\beta$  стимулює антитіло утворення [570].

Для Інтерлейкіну-1 характерні прозапальні властивості. Він індукує значну частину локальних та загальних проявів запалення. Перш за все це відбувається через підвищення адгезивності ендотелію судин для формених елементів крові та посилення прокоагулянтної активності клітин. Інтерлейкін-1 посилює рухливість нейтрофілів, сприяє активації клітин в епіцентрі запалення, посилює продукцію простагландинів, синтезу фібронектину та колагену, стимулює продукцію супероксидрадикалів, фагоцитоз та викликає деградацію тучних клітин. В результаті цього формується ексудативна та проліферативна складова запальної реакції [565, 571].

Діабетичні мікро- та макроангіопатії супроводжуються гіпоксією клітин ендотелію та активацією макрофагів, продукуючих цитокіни і, зокрема, інтерлейкіни. Спостерігається «цитокіновий каскад», під час якого в залежності від ступеню гіпоксії або реоксигенації, відбувається дисбаланс співвідношення про- та протизапальних медіаторів, а в подальшому проліферація та апоптоз клітин. Це визначає ступінь запальної реакції, тяжкість процесів вільно радикального ушкодження, загибель клітин в зоні зменшеного кровопостачання [572]. Інтерлейкін 1  $\beta$  та ФНП а є ключовими медіаторамі мікрогліальних нейроімунних реакцій, які місцево продукуються у відповідь на ішемію [565].

Під впливом інтерлейкіну 1 ендотеліцити судин продукують поліпептиди, аналогічні тромбоцитарному фактору росту. Вони стимулюють проліферацію та клітинну міграцію та індукують вивільнення судинних медіаторів запалення, що призводить до дисемінованої внутрішньо судинної коагуляції. Дисбаланс між ендотеліальними вазодилататорами та вазоконстрикторами в бік останніх під час цукрового діабету також пов'язаний з високим вмістом цитокінів, зокрема Інтерлейкіну 1  $\beta$ , що свідчить про медіаторне ушкодження ендотелію судин [565].

Отримані нами результати свідчать про те, що уже на 30-у добу розвитку експериментальної діабетичної ретинопатії звертає на себе увагу значне збільшення рівня прозапального цитокіну. При аналізі даних групи №3 встановлено, що корекція патологічного стану за допомогою гіпоглікемічних засобів має позитивний вплив, але потребує залучення додаткових засобів корекції окрім нормалізації рівня глікемії. Результати 4-ї групи свідчать про те, що залучення донатора оксиду нітрогену та афліберцепта до корекції діабетичної ретинопатії має позитивний вплив на зниження рівня Інтерлейкіну 1  $\beta$ , але він не досягає наближення до норми. Прослідковується, що корекція змодельованого патологічного стану шляхом зниження гіперглікемії, введення афліберцепта та бромфенаку (група №5) дає позитивні результати, але менш виражені, аніж залучення до комплексної корекції розчину L-аргініну при дослідженні синтази оксиду нітрогену, при аналізі рівня прозапального цитокіну результати є кращими. Також варто зауважити, що даний спосіб корекції не характеризується довготривалістю і на 180-у добу уже спостерігається виражене зниження його ефективності.

Виявлено, що у щурів у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта, L-карнітину та бромфенаку (група №6) наявна виражена результативність запропонованого способу корекції у порівнянні з попередніми розглянутими способами. Що ж стосується корекції, застосованої у 7-й групі, то на першому та другому етапі показник запалення є більш підвищений у порівнянні з двома попередніми групами (№5 та №6), але на третьому етапі встановлена виражене зниження рівня маркера, що свідчить про результативність корекції 7-ї групи на більш віддалених етапах експерименту.

#### *Дослідження ендотеліальної синтази оксиду нітрогену*

Якщо розглянути діабетичну мікроангіопатію, то для неї характерні внаслідок порушення обміну полісахаридів проліферація ендотелію,

потовщення базальної мембрани. Для білків плазми та інших макромолекул підвищується проникність стінки судин, різко збільшується кількість глікозильованих білків у стінці судин, уповільнюється кровотік і, як результат, погіршується трофіка ендотелію та розвивається гіпоксія [573, 574].

Результати дослідження активності ендотеліальної синтази оксиду нітрогену наочно представлені на рис. 7.28-7.36.

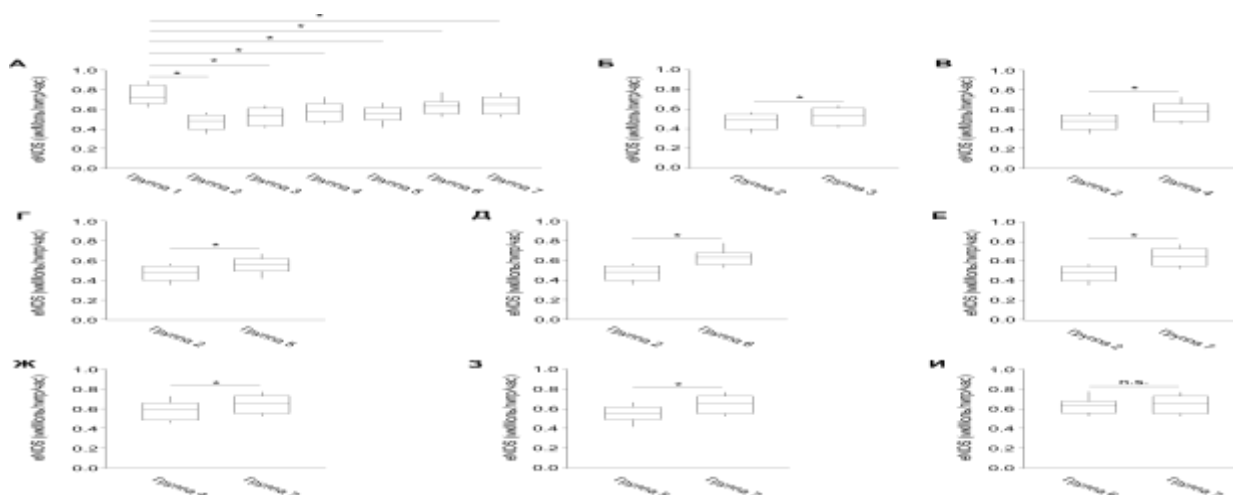


Рисунок 7.28 – Зміна активності ендотеліальної синтази оксиду нітрогену через 30 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (А) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності eNOS у кожній групі досліджень. Символ \* відображає наявність статистично достовірної відмінності між результатами, отриманими в контрольній групі 1 (n = 20 тварин) та експериментальними групами 2-7 (n = 20 тварин у кожній групі); Тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ . (Б) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності eNOS у групах 2 та 3. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 3 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (В) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності eNOS у групах 2 і 4. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 4 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

Ключовим патофізіологічним механізмом патогенезу цукрового діабету та його ускладнень є ендотеліальна дисфункція. Одночасно на всіх стадіях розвитку патологічного процесу ендотелій є органом-мішенню. Багаточисельними дослідженнями підтверджений тісний взаємозв'язок між ендотеліальною дисфункцією та розвитком цукрового діабету [575].

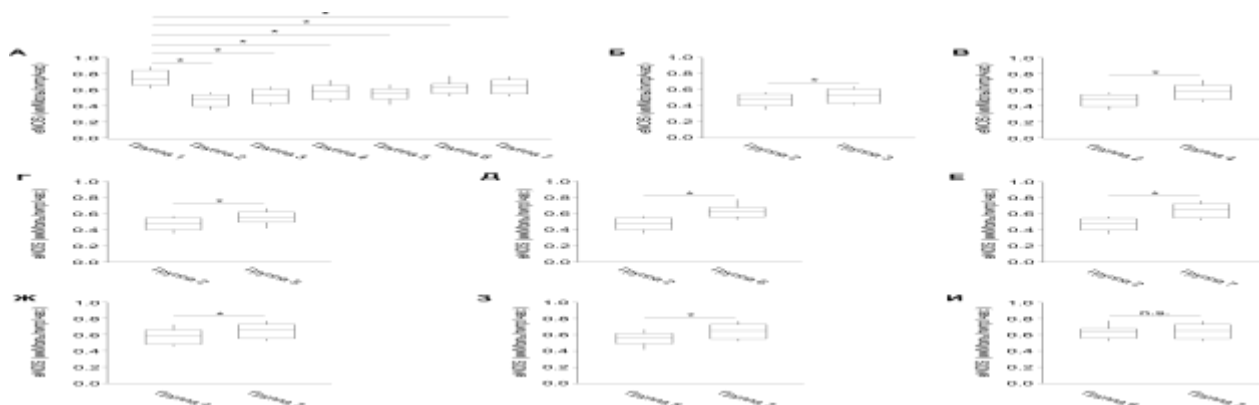


Рисунок 7.29 – Зміна активності ендотеліальної синтази оксиду нітрогену через 30 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Г) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності eNOS у групах 2 та 5. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 5 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Д) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності eNOS у групах 2 та 6. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 6 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Е) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності eNOS у групах 2 та 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

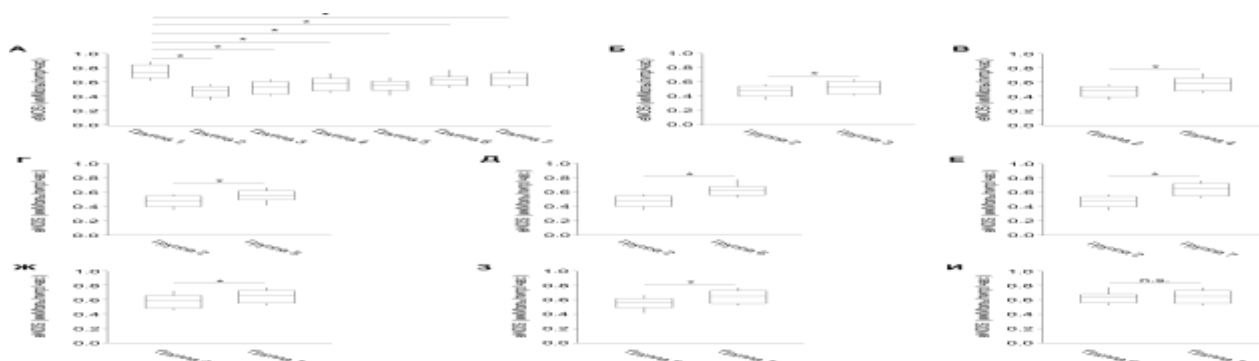


Рисунок 7.30 – Зміна активності ендотеліальної синтази оксиду нітрогену через 30 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Ж) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності eNOS у групах 4 і 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 4 і 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (З) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності eNOS у групах 5 і 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 5 і 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (І) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності eNOS у групах 6 і 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 6 та 7, статистично не достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p > 0,05$ ).

Патогенез судинних ускладнень розвивається під впливом багатьох етіологічних факторів і тому у хворих на цукровий діабет виявляється цілий

ряд патологічних процесів, які прискорюють розвиток захворювання. Дисліпопротеїнемія, хронічна гіперглікемія, гіпертензії, порушення гемореологічних властивостей крові, гіперліпідемія є основними факторами патогенезу мікро- та макросудинних порушень при цукровому діабеті та формують патологічні кола із прогресуючим порушенням у судинних стінках.

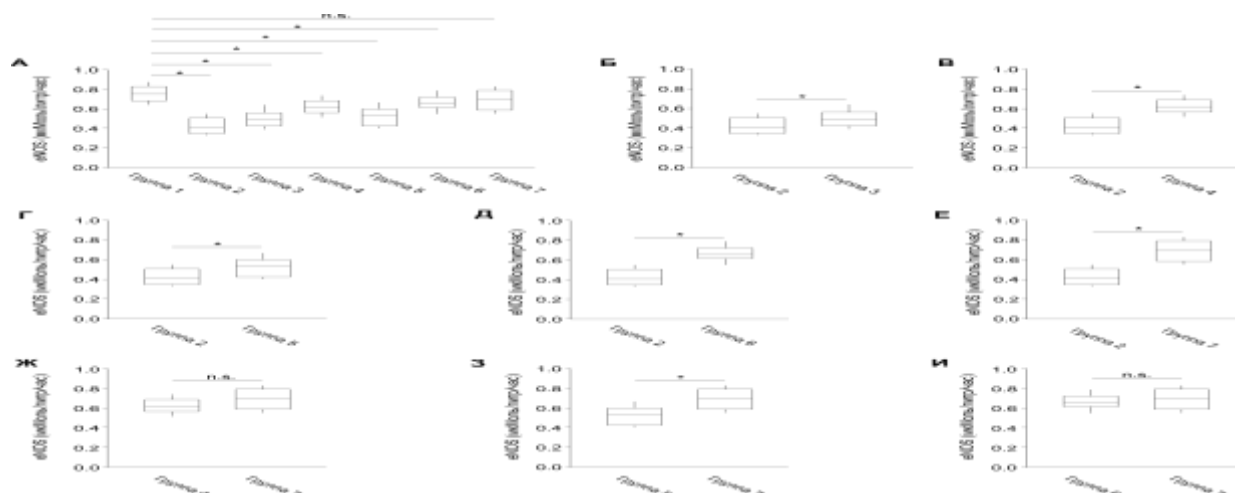


Рисунок 7.31 – Зміна активності ендотеліальної синтази оксиду нітрогену через 60 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (А) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності eNOS у кожній групі досліджень. Символ \* відображає наявність статистично достовірної відмінності між результатами, отриманими в контрольній групі 1 ( $n = 20$  тварин) та експериментальними групами 2-7 ( $n = 20$  тварин у кожній групі); Тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ . (Б) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності eNOS у групах 2 і 3. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 і 3 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (В) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності eNOS в групах 2 і 4. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 і 4 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

І тому активація цих систем викликає запалення, посилює вазоконстрикцію та ендотеліальну дисфункцію та сприяє утворенню діабетичних ангіопатій. Проте, все ж таки гіперглікемія вважається основною причиною формування ендотеліальної дисфункції під впливом цукрового діабету [573]. Взаємозв'язок між метаболічними розладами та васкулярною патологією є ключовим механізмом патофізіологічного комплексу, який

формує інсулінорезистентність, дисліпідемії, гіперглікемії, ендотеліальну дисфункцію, а також протромботичні та прозапальні стани. Комбінація зазначених синдромів активує формування ланцюга васкулярних ускладнень, які негативно впливають на хід і тяжкість захворювання [573]. Саме тому дослідження маркерів ранніх метаболічних порушень, які сприяють формуванню ендотеліальних дисфункцій при цукровому діабеті, є дуже актуальною і має велике медичне та соціальне значення [576]. Гіперглікемія викликає цілу низку порушень обміну речовин і лежить в основі патогенезу судинних ускладнень при цукровому діабеті. Ендотеліальні клітини судин є інсуліннезалежними, а тому при гіперглікемії глюкоза безперешкодно потрапляє до ендотеліоциту, активуючи патологічні реакції, що можуть призвести до розвитку ендотеліальної дисфункції.

Гіперглікемія сприяє загибелі ендотеліоцитів через активацію глікозилювання та окислювальних процесів [577]. Слід зазначити, що ендотеліальна дисфункція є одним із синдромів інсулінорезистентності, збільшуючи реактивність судин та призводячи до кардіоваскулярних порушень [578]. Гіперглікемія активує поліоловий шлях окислення глюкози за допомогою альдозоредуктази. Глюкоза під час такої реакції перетворюється в сорбітол, виснажуючи коензим НАДФ-Н. У фізіологічних умовах альдозоредуктаза інактивує альдегіди алкоголю і функціонально не дуже активна. НАДФ-Н відновлює антиоксидантні структури у першу чергу токоферол та глутатіон, а також є компонентом NOS, тож при зниженні концентрації НАДФ-Н підвищується кількість вільних радикалів, послаблюється антиоксидантний захист та пригнічується синтез NO [573, 579]. Сорбітол призводить до дисбалансу в клітньому гомеостазі, тому що погано проникає через плазмолему та накопичується в клітинах, що призводить до підвищення осмолярності і в подальшому до дегенерації клітин [579, 580].



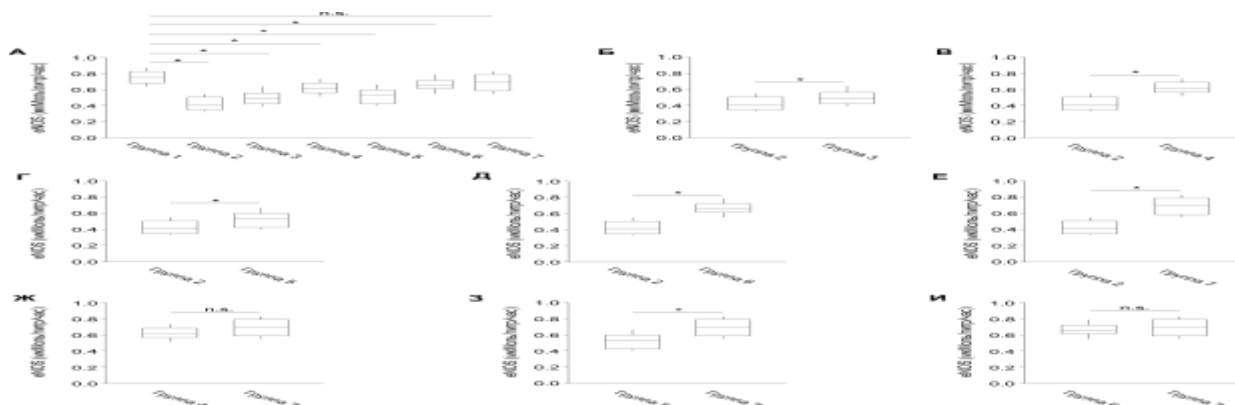


Рисунок 7.32 – Зміна активності ендотеліальної синтази оксиду нітрогену через 60 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Г) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності eNOS у групах 2 та 5. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 5 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Д) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності eNOS у групах 2 та 6. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 6 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Е) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності eNOS у групах 2 та 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

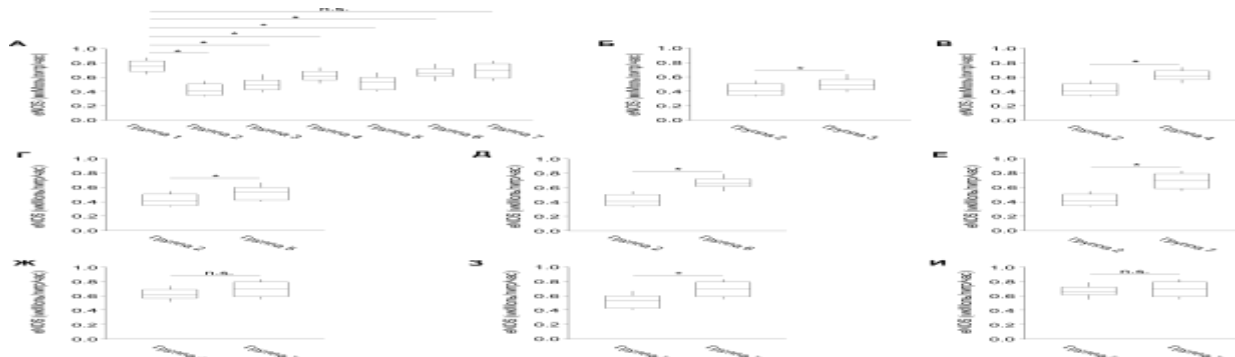


Рисунок 7.33 – Зміна активності ендотеліальної синтази оксиду нітрогену через 60 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Ж) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності eNOS в групах 4 і 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 4 і 7 статистично не достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p > 0,05$ ). (З) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності eNOS в групах 5 і 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 5 і 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (І) Бокс-плоти ілюструють розподіл великого рівня eNOS в групах 6 і 7. Розміщення між результатами, отриманими в групах 6 і 7 статистично не достовірне (тест Манна-Уїтні,  $p > 0,05$ ).

Під дією гіперглікемії при цукровому діабеті глікозуються білки та інші молекули, тобто відбувається неферментативна реакція галактози,

глюкози та фруктози з аміногрупами білкових молекул нуклеїнових кислот та ліпідів з утворенням інтермедіатів, які приймають участь у комплексі вільних хімічних реакцій, в результаті чого утворюються незворотні сполуки – так звані кінцеві продукти глікозилювання. Якщо глюкоза не повністю метаболізується гліколітичним шляхом, її надлишок перетворюється в N-ацетіл-глюкозамін, що в поєднанні із реоніном та серіном активізує внутрішньоклітинні патологічні процеси [573, 581, 582]. Концентрація кінцевих продуктів глікозилювання пропорційна рівня глюкози в крові, а тому навіть невелике підвищення глікемії збільшує їх утворення [581]. Кінцеві продукти глікозилювання відіграють значну роль у патогенезі діабетичних ангіопатій, тому що призводять до збільшення активних форм кисню та активують окислювальний стрес. Також у плазмі вони сприяють активації окислених ліпопротеїдів низької щільності, які проникають до субендотелію та приймають участь у атерогенезі.

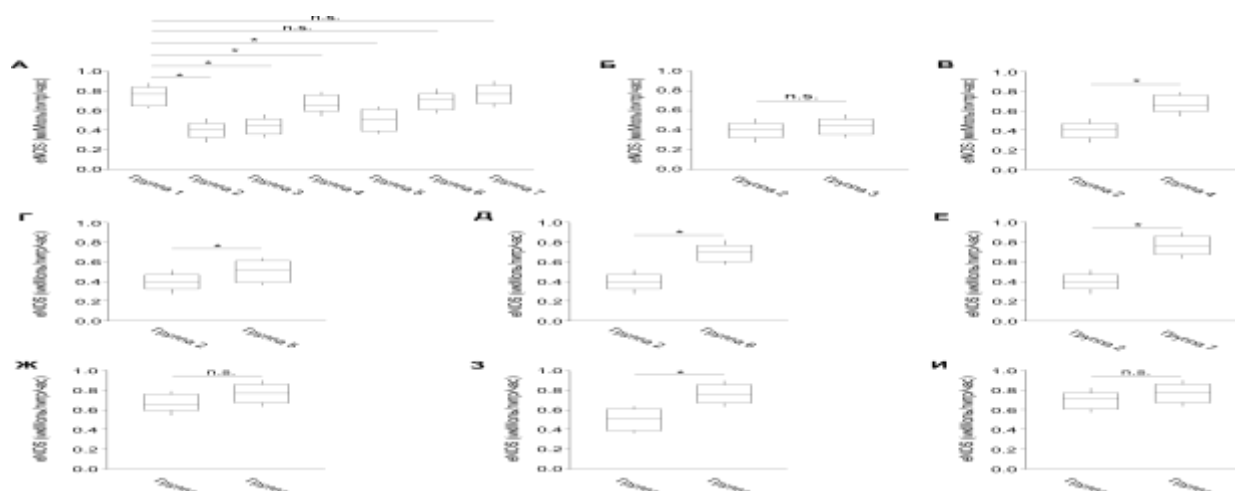


Рисунок 7.34 – Зміна активності ендотеліальної синтази оксиду нітрогену через 180 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (А) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності eNOS у кожній групі досліджень. Символ \* відображає наявність статистично достовірних відмінностей між результатами, отриманими в контрольній групі 1 ( $n = 20$  тварин) та експериментальних групах 2-7 ( $n = 20$  тварин у кожній групі); Тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ . (Б) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності eNOS у групах 2 та 3. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 3, статистично не достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p > 0,05$ ). (В) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності eNOS в групах 2 і 4. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 і 4 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

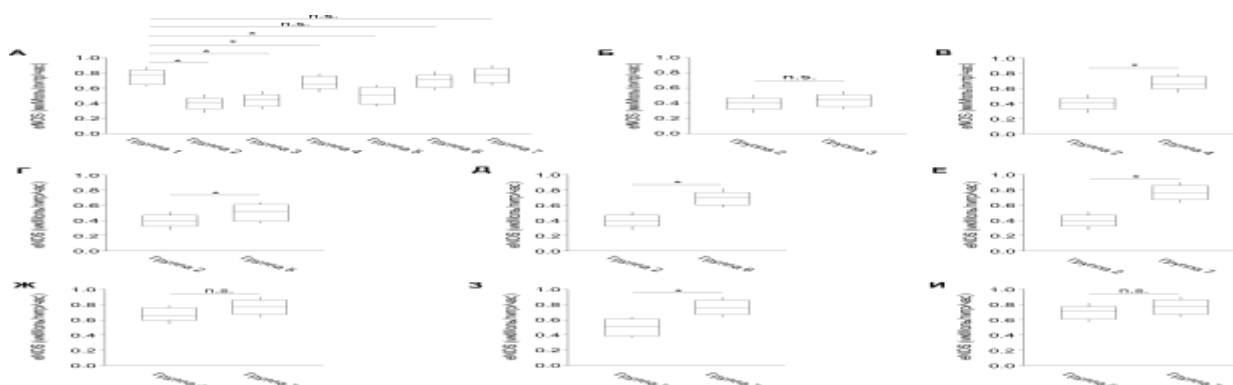


Рисунок 7.35 – Зміна активності ендотеліальної синтази оксиду нітрогену через 180 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Г) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності eNOS у групах 2 та 5. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 5 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Д) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності eNOS у групах 2 та 6. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 6 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Е) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності eNOS у групах 2 та 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

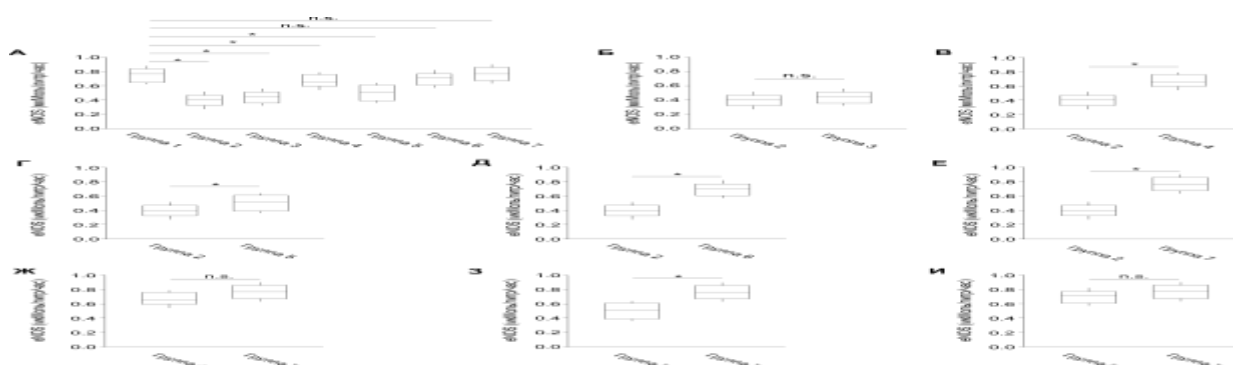


Рисунок 7.36 – Зміна активності ендотеліальної синтази оксиду нітрогену через 180 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Ж) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності eNOS в групах 4 і 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 4 і 7 статистично не достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p > 0,05$ ). (З) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності eNOS в групах 5 і 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 5 і 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (І) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності eNOS в групах 6 і 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 6 і 7 статистично не достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p > 0,05$ ).

Накопичення продуктів глікозилювання та їх посилена продукція, спровокована гіперглікемією викликає підвищення їх експресії VEGF [581]. Глікозильовані форми майже всіх білків, альбумінів, глобулінів, колагену

утворюються внаслідок неферментативного глікозилювання. В умовах гіперглікемії під впливом глікозилюваного гемоглобіну в тканинах розвивається гіпоксія. Глікозилювання альбуміну порушує транспорт жирних кислот, білірубіну та лікарських речовин. Він може накопичуватись у базальних мембранах клубочків та капілярах інших тканин. При глікозилюванні білків кристалика відбувається порушення світло пропускання [573]. Під час глікозилювання ліпопротеїдів рецептори їх не впізнають, внаслідок чого подовжується їх циркуляція в судинному руслі, і, як наслідок, відбувається активація процесу атеросклерозу. Також змінюється характеристика глікозилюваного колагену, який стає більш стійким до дії колагенази, менш розчинним та викликає посилене утворення імунних комплексів, звязуючись з альбуміном та імуноглобуліном G [573, 579, 583]. Найбільш суттєвою ланкою пошкодження ендотелію при цукровому діабеті є дисбаланс у системі синтезу оксиду нітрогену. NO ендотеліального походження є додатковим інсулін незалежим способом транспортування глюкози до клітини. При порушенні сигнального шляху інсуліну та при ендотеліальній дисфункції відбувається порушення захоплення м'язами глюкози. Тільки дві з трьох ізоформ NOS – ендотеліальна та ендогенна посилюються фізичною активністю. Оксид нітрогену збільшується від 50 до 200 % при скороченні скелетного м'язу, а інтенсивні тренування підсилюють постійну NO-залежну вазодилатацію [573]. Пригнічення захоплення глюкози скелетними м'язами та іншими чутливими до інсуліну тканинами відбувається при послабленні всіх трьох ізоформ синтази оксиду нітрогену, що свідчить про залежність цього процесу від NO [584, 585]. Під час гіперглікемії знижується доступність L-аргініну, послаблюється дифузія NO до гладкомязових клітин, посилюється деструкція оксиду нітрогену під впливом активних форм кисню, а також інактивація судиннорозширюючих речовин [584, 586].

При дефіциті оксиду нітрогену спостерігається порушення йонного балансу клітин – відсутня гіперполяризація клітинної мембрани через дефіцит енергії виходу, збільшується концентрація внутрішньоклітинних йонів кальцію, підвищується тонус гладкомязових клітин та посилюється їх скорочення, прискорюється агрегація та адгезія тромбоцитів [573]. У сукупності ці зміни призводять до розвитку атеросклерозу, підвищення тону судин, тромбоутворення, гіпертензії та прискорення апоптозу.

Ряд маркерів ендотеліальної дисфункції корелює із дисбалансом системи L-аргінін – NO. Зокрема спостерігається пригнічення вивільнення простагландину I<sub>2</sub>, збільшення вазоконстрикторних простагландинів, ендотеліну та підвищенню рівня циркулюючих ендотеліальних клітин [587, 588]. При дефекті субстратів і кофакторів ендотеліальної синтази оксиду нітрогену та її ендогенних інгібіторів і зниженні її експресії при цукровому діабеті зменшується продукція NO. Для нормального функціонування NO-синтази потрібні такі кофактори, як L-аргінін, флавін-аденін-динуклеотид, аргінінподібні субстрати та НАДФ, флавін-мононуклеотид, гем. Дефіцит будь якого з цих коферментів призводить до катаболізму eNOS і як результат до послаблення синтезу оксиду нітрогену [573].

При дефіциті BH<sub>4</sub> NOS синтезує з кисню не оксид нітрогену а НАДФ-H та супероксидрадикал. Кількість кофактору залежить від швидкості його інактивації та синтезу. Інактивація BH<sub>4</sub> відбувається у судинній стінці шляхом взаємодії з активними формами кисню. BH<sub>4</sub> необхідний для функціонування таких важливих ферментів, як 6-піруват-тетрагідтоптерінсинтази, ГМФ-циклу гідролази та сепіаптерін редуктази. Внутрішньосудинна дія BH<sub>4</sub> у пацієнтів із серцево-судинними захворюваннями нормалізує функцію ендотелію у той час, як у фізіологічному стані кофактор ніяк не впливає на ендотеліоцити [573]. Можна зробити припущення, що при патологічних змінах доступність BH<sub>4</sub> у судинах обмежена [585]. Підвищення ангіотензину II при цукровому діабеті

призводить до зниження активності дигідрофолатредуктази, фермента, який перетворює  $\text{N}^5\text{H}_4$  з його окисленої неактивної форми у дигідробіоптерин під впливом активності 26S протеосоми [589, 590].

Збільшення активності аргінази при цукровому діабеті яке сприяє підвищенню аргініну в уреазному циклі призводить до виснаження синтезу NO. Під час цього процесу синтезується глютамін, який інгібуючи аргінін сукцинатсинтазу регулює перетворення цитруліну в аргінін. У той же час пролін, який генерується в аргіназному циклі, посилює синтез колагену в субендотеліальному шарі, тим самим посилюючи запалення та забезпечуючи основу для фіксації моноцитів та T клітин [591]. Активність аргінази та її експресія при цукровому діабеті посилюється. Аргіназа 2, яка генерується в ендотеліоцитах під час запалення, обмежує синтез NO, проте полегшує транспорт L-аргініну для утворення колагену [573, 592, 593]. L-аргінін при введенні впливає на інтенсивність вазомотронних реакцій, хоч і концентрація цієї амінокислоти ендогенно у плазмі крові вище константи Міхаеліса-Ментен при каталізації очищеної NOS більше ніж у 30 разів. Спочатку така парадоксальна дія амінокислоти на судинний тонус була не зрозумілою, бо вважалося, що NO-синтаза каталізує виключно L-аргінін і його екзогенна інекція не має впливати на продукцію оксиду нітрогену [594, 595]. Сьогодні ми пояснюємо цей феномен тим, що пригнічення синтезу оксиду нітрогену є наслідком активації ендогенних інгібіторів ендотеліальної NOS L-аргініну першу чергу асиметричного диметиларгініну (АДМА), симетричного диметиларгініну (СДМА) та монометиларгініну (ММА) [573, 596]. АДМА та ММА спроможні, конкуруючи між собою, пригнічувати активність усіх ізоформ NO-синтази [597, 598]. Це і пояснює «аргініновий парадокс», оскільки у присутності ендогенних інгібіторів для насичення NO-синтаз потрібна більша кількість субстрату, яка може бути забезпечена його екзогенним введенням. У фізіологічних умовах АДМА більш сильний інгібітор, ніж ММА, тому що його концентрація у плазмі крові перевищує

рівень конкурента майже у п'ять разів [573]. З іншого боку є дані, що в деяких тканинах концентрація ММА може бути такою ж як АДМА а може навіть трохи більше [599]. При гідролізі білків утворюється АДМА, склад якого містить метильовані залишки аргініну і при внутрішньоклітинному гідролізі транспортується до зовнішньоклітинного простору [600]. Високий рівень АДМА і ММА спостерігається при ендотеліальній дисфункції, серцево-судинних захворюваннях, хронічній нирковій недостатності, метаболічному синдромі, цукровому діабеті 2 типу та ожирінні. Підвищена концентрація АДМА у плазмі крові також асоціюється із нефропатіями [601]. Низька активність eNO-синтази спостерігається при порушенні її надходження до кавеол при дисбалансі активності та фосфорилування зазначеного фермента [573, 596, 602]. При хронічному пригніченні активності eNO-синтази швидко розвивається атеросклероз, судинні ураження та важкі форми гіпертонічної хвороби [603, 604].

Також впливає на рівень експресії eNO-синтази поліморфізм у її промоторі, в результаті чого зменшується транскрипція цього гену та утворюється недостатня кількість цього ферменту, внаслідок чого різко зменшується кількість оксиду нітрогену в умовах окислювального стресу при цукровому діабеті [573, 605]. Тож дефект генів, що кодують продукцію та посилена деградація ендотелій-релаксуючих факторів формує ендотеліальну дисфункцію [606, 607]. Зниження синтезу оксиду нітрогену в ендотелії судин призводить до вазоконстрикції і в кінцевому результаті – до гіпоксії. Паралельно підвищується концентрація іонів кальцію у нейронах, що пригнічує трансмісійну передачу збудження та порушує передачу нервового імпульсу через синапс [608]. Оксид нітрогену також відіграє значну роль у регуляції дофаміну у гіпофізі [609]. Вагомою причиною пригнічення передачі сигналів на дофамінові D-рецептори є послаблення активності ендотеліальної NO-синтази та стимуляції індукційної NO-синтази. Разом із тим відбувається стимуляція дофамінергічних D<sub>2</sub>-рецепторів за допомогою Ca<sup>2+</sup>-

залежних механізмів [610]. У фізіологічних умовах індукцйбельна NO-синтаза практично відсутня у тканинах головного мозку. Її рівень зростає при пухлинах головного мозку, після перенесених травм голови та при нейродегенеративних розладах [611, 612]. Ген індукцйбельної NO-синтази людини, який знаходиться у 17-й хромосомі, під впливом патологічних факторів продукує оксид нітрогену у кількості, яка у 100-1000 разів перевищує його синтез ендотеліальною NO-синтазою у фізіологічних умовах [573, 612, 613]. У патогенезі діабетичних порушень важливу роль відіграє дисфункція мікроциркуляторного русла, під час якої змінюється система гемостазу та порушуються реологічні властивості ендотелію судин, гемокоагуляції, тромбоцитів та фібринолізу. Суттєвий внесок у тромбогенез привносить зменшення тромборезистентності судинної стінки [614]. Вже на ранніх стадіях діабетичної ангіопатії спостерігаються гемореологічні ефекти: підвищення вязкості крові, фібринолітичної активності плазми та агрегаційної спроможності еритроцитів та тромбоцитів [615].

Порушення нормального функціонування ендотелію при цукровому діабеті проявляється у порушенні його вазомоторної, антитромботичної, протизапальної та адгезивної функції [616]. Переважна більшість протидіабетичних засобів не мають ендотеліопротекторного впливу. Тому, не викликає сумнівів необхідність пошуку нових способів корекції, які будуть мати не лише гіпоглікемічну дію, а покращуватимуть вазодилатуючу та інші функції ендотелію при цукровому діабеті, активуватимуть ендотеліальну NO-синтазу (eNOS) і нормалізовуватимуть продукцію оксиду нітрогену [617].

Реакцію утворення оксиду нітрогену із L-аргініну каталізує синтаза оксиду нітрогену. Відомо декілька форм NO-синтаз, які відрізняються локалізацією і способом активації: нейрональна (тип 1), макрофагальна (індукцйбельна) (iNO синтаза) (тип 2), і ендотеліальна (тип 3) (eNO синтаза) [618]. Ендотеліальна NO-синтаза є конститутивною, тобто каталізує постійне



утворення оксиду нітрогену, продукується у ендотелії судин, регулює тонус гладком'язових клітин судинної стінки [619, 620].

Неодноразово доведено, що довготривале інгібування eNOS в експерименті призводить до органічних наслідків тяжкої і довготривалої артеріальної гіпертензії (АГ), включаючи атеросклероз і судинні органи пошкодження [621-623]. Підтверджено залучення NO до регуляції артеріального тиску, встановлено, що його недостатність чи прискорений розпад при дисфункції ендотелією призводить до розвитку АГ та серцево-судинних захворювань [624].

Оксид нітрогену є регулятором основних функцій ендотелію, відіграє ключову роль у релаксації та зниженні міграції і проліферації судинних гладком'язових клітин, інгібуванні адгезії тромбоцитів і лейкоцитів до ендотелію, інгібуванні окиснення ліпопротеїдів низької щільності [621, 625, 626].

NO утворюється під дією  $Ca^{2+}$ /кальмодулін-залежної ізоформи фермента синтази оксиду нітрогену (eNOS) шляхом окиснення термінального атома нітрогену гуадіну у L-аргініні [627].

Оксид нітрогену, який є універсальним фізіологічним регулятором процесів клітинного метаболізму та міжклітинного взаємодіяння в біологічних системах являє собою хімічну сполуку вільно радикальної структури. Багатьма дослідженнями доведено участь NO в регуляції багатьох функцій організму та органу зору зокрема. І хоча фізіологічна та патофізіологічна роль оксиду нітрогену в оці ще не достатньо досліджена, проте доведено участь NO у патогенезі цілої низки очних захворювань [628-631]. Утворюється NO під дією ферментів NO синтаз при окисненні L-аргініну з одночасним синтезом цитруліну [632]. Серед NO-синтаз виділяють дві конститутивні (нейрональну та ендотеліальну) та індукційну [628, 633]. Зазначені ізоформи суттєво відрізняються за своїми кінетичними та каталітичними якостями одна від одної. Конститутивні eNOS продукують

NO в невеликих кількостях та постійно експресуються клітинами організму. Вони також є кальцій залежними [628].

Отримані нами результати свідчать про зниження активності ендотеліальної синтази оксиду нітрогену уже на 30-у добу розвитку експериментальної діабетичної ретинопатії з подальшим прогресуванням патологічних змін на 60-у та 180-у добу дослідження, що відповідно означає порушення функціонального шляху синтезу оксиду нітрогену. Це також підтверджується наведеними вище даними щодо збільшення активності індукцибельної синтази оксиду нітрогену на тді розвитку змодельованого патологічного процесу. Максимально виражений позитивний вплив прослідковується у групах, в яких до комплексної корекції був залучений донатор оксиду нітрогену.

#### *Дослідження S-нітрозотіолів*

Результати дослідження вмісту S-нітрозотіолів в умовах нашого експерименту наочно представлені на рис. 7.37-7.45.

При цукровому діабеті порушення гемостазу мають комплексний характер. Оголення субендотеліальних шарів та ушкодження судинного ендотелію сприяє при цукровому діабеті гіперактивності тромбоцитів, їх адгезії та агрегації, активує плазменні фактори згортання крові та пригнічує фібриноліз та антикоагулянтну систему [573, 634]. Існує взаємозв'язок при цукровому діабеті між порушенням мікроциркуляції, рівнем гіпоксії та концентрацією холестерину.

Показники першої фази агрегації тромбоцитів незмінні, проте у другій незворотній фазі їх агрегація значно посилюється при прогресуванні діабетичних мікро- та макроангіопатій [635]. Розвиток діабетичних мікроангіопатій сприяє утворенню великої кількості «спустошених» кров'яних пластинок з відсутніми тромбоцитарними гранулами. Така дегрануляція кров'яних пластинок стимулює penetрацію біологічно-активних речовин в просвіт капілярів перш за все серотоніну,  $\beta$ -

тромбоглобуліну, фібриногену та АТФ [573]. Усі вони активно приймають участь у внутрішньосудинному мікротромбоутворенні [585, 636, 637].

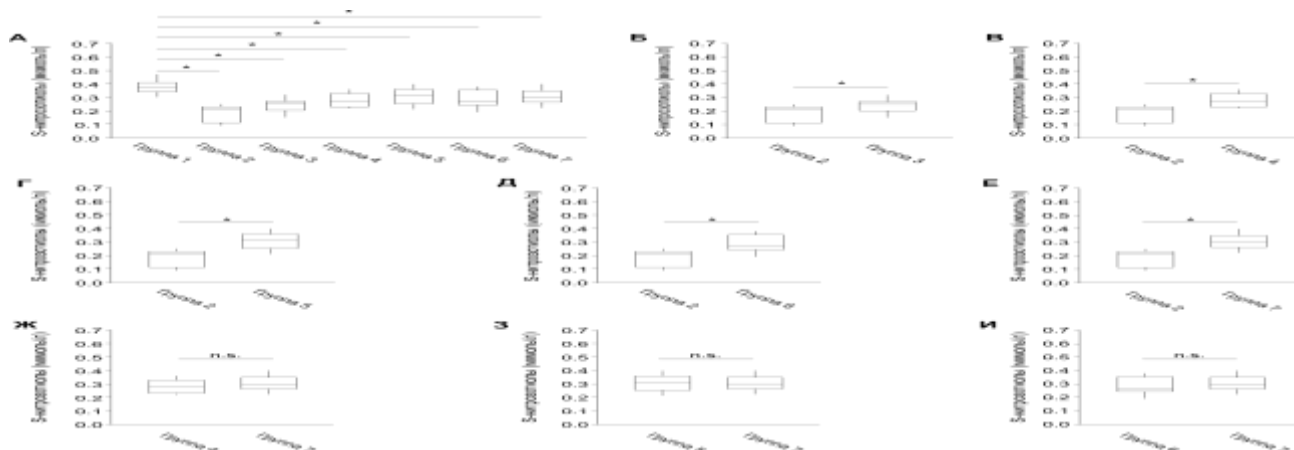


Рисунок 7.37– Зміна вмісту S-нітрозотіолів через 30 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (А) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин вмісту S-нітрозотіолів у кожній групі результатів. Символ \* відображає наявність статистично достовірної відмінності між результатами, отриманими в контрольній групі 1 ( $n = 20$  тварин) та експериментальних групах 2-7 ( $n = 20$  тварин у кожній групі); Тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ . (Б) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин вмісту S-нітрозотіолів у групах 2 та 3. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 3 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (В) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин вмісту S-нітрозотіолів у групах 2 та 4. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 4 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

Підвищення адгзивно-агрегаційних якостей кров'яних пластинок активує внутрішньосудинне тромбоутворення та призводить до хронічного ДВЗ-синдрому та розвитку діабетичних судинних ушкоджень [638]. Під час ушкодження судинного ендотелію порушується синтез та секреція регуляторів системи гомеостазу, до яких відносяться ангіотензин III, оксид нітрогену, простагландин I 1, С-реактивний білок та інші. На цьому тлі активно секретуються речовини, які сприяють тромбоутворенню, серед яких найбільше значення мають інгібітори фібринолізу, ендотелін-1, калікреїн, фібриноген, VI, IX, X, XI і XII фактори згортання крові.

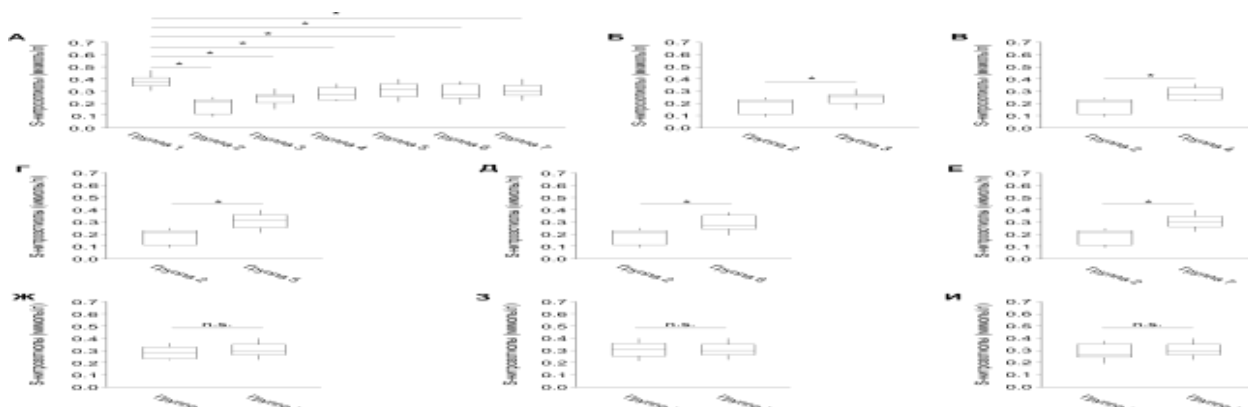


Рисунок 7.38 – Зміна вмісту S-нітрозотіолів через 30 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Г) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин вмісту S-нітрозотіолів у групах 2 і 5. Відмінності між результатами, отриманими в групі 2 та 5 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Д) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин вмісту S-нітрозотіолів у групах 2 та 6. Відмінності результатів, отриманих у групі 2 та 6 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Е) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин вмісту S-нітрозотіолів у групах 2 і 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

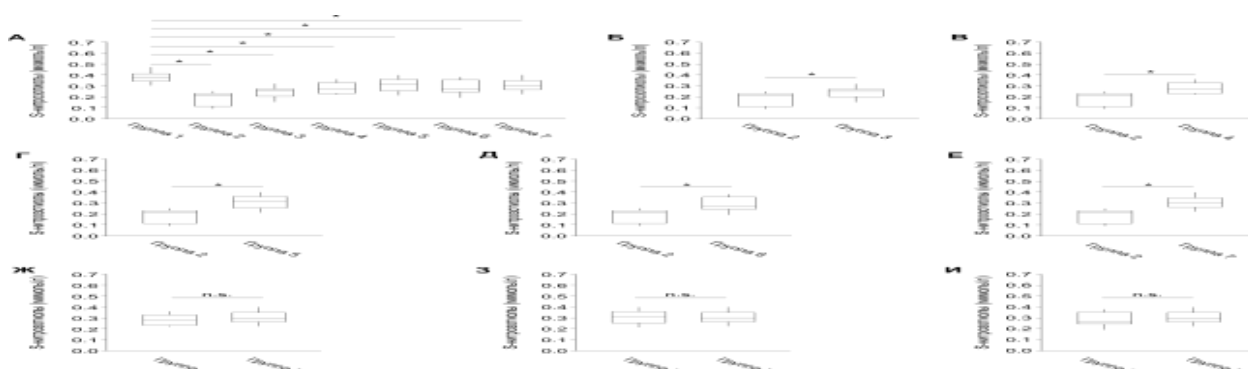


Рисунок 7.39 – Зміна вмісту S-нітрозотіолів через 30 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Ж) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин вмісту S-нітрозотіолів у групах 4 та 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 4 та 7 статистично не достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p > 0,05$ ). (З) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин вмісту S-нітрозотіолів у групах 5 і 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 5 і 7 статистично не достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p > 0,05$ ). (І) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин вмісту S-нітрозотіолів у групах 6 і 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 6 та 7, статистично не достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p > 0,05$ ).

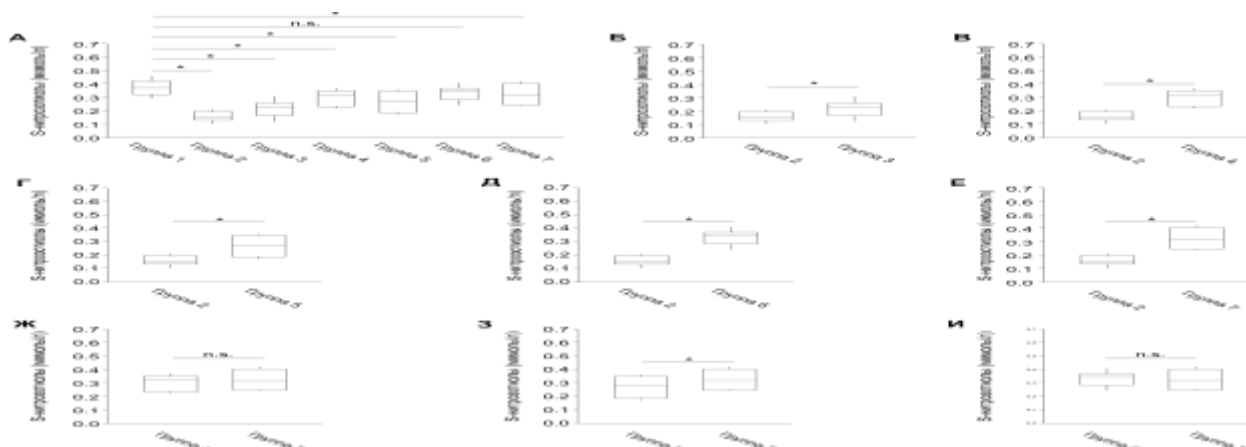


Рисунок 7.40 – Зміна вмісту S-нітрозотіолів через 60 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (А) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин вмісту S-нітрозотіолів у кожній групі дослідження. Символ \* відображає наявність статистично достовірної відмінності між результатами, отриманими в контрольній групі 1 ( $n = 20$  тварин) та експериментальними групами 2,3,4,5,6,7 ( $n = 20$  тварин у кожній групі); Тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ . (Б) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин вмісту S-нітрозотіолів у групах 2 та 3. Відмінності результатів, отриманих у групах 2 та 3 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (В) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин вмісту S-нітрозотіолів у групах 2 і 4. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 4 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

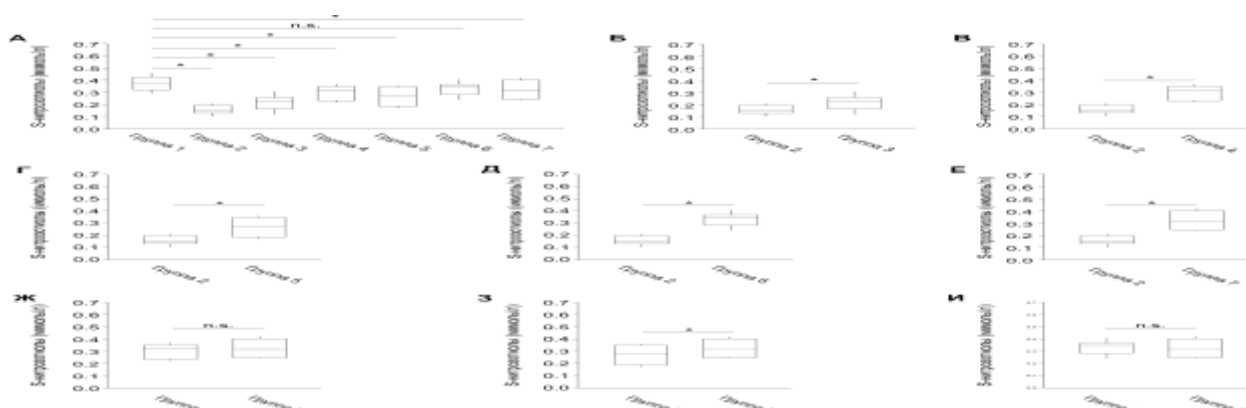


Рисунок 7.41 – Зміна вмісту S-нітрозотіолів через 60 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Г) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин вмісту S-нітрозотіолів у групах 2 і 5. Відмінності між результатами, отриманими в групі 2 та 5 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Д) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин вмісту S-нітрозотіолів у групах 2 та 6. Відмінності результатів, отриманих у групі 2 та 6 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (Е) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин вмісту S-нітрозотіолів у групах 2 і 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

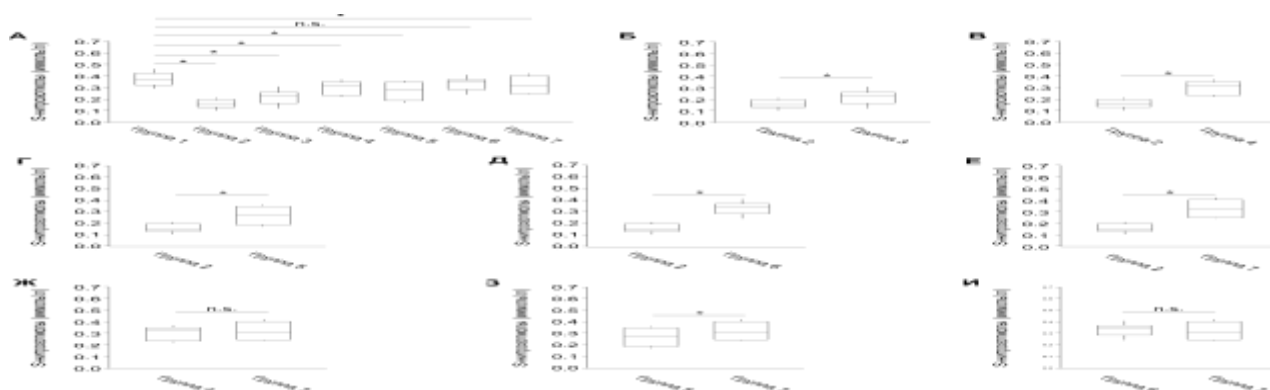


Рисунок 7.42 – Зміна вмісту S-нітрозотіолів через 60 днів після моделювання діабетичної ретинопатії.

Примітка. (Ж) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин вмісту S-нітрозотіолів у групах 4 та 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 4 та 7 статистично не достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p > 0,05$ ). (З) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин вмісту S-нітрозотіолів у групах 5 та 7. Відмінності результатів, отриманих у групах 5 та 7 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (І) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин вмісту S-нітрозотіолів у групах 6 і 7. Відмінності між результатами, отриманими в групах 6 та 7, статистично не достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p > 0,05$ ).

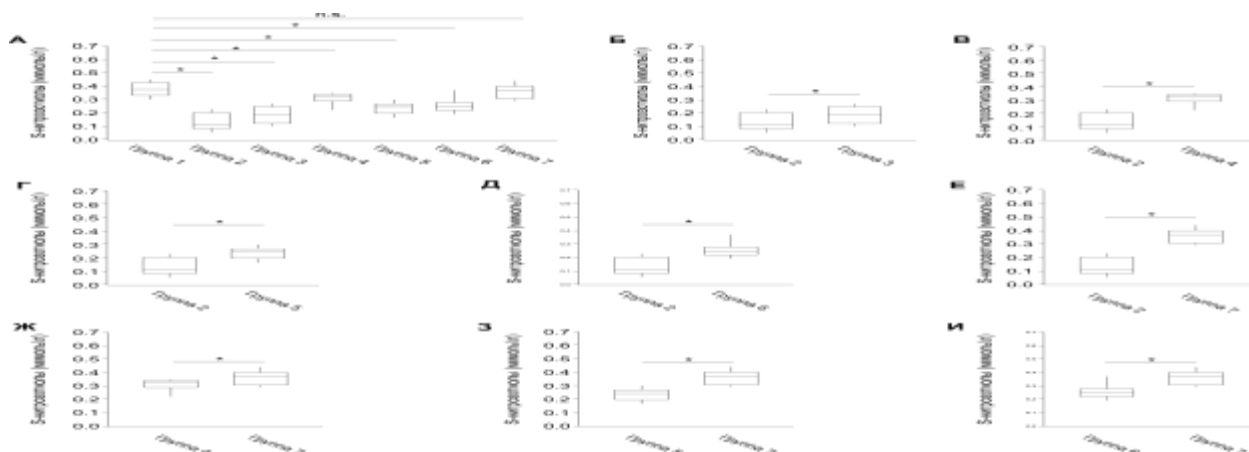


Рисунок 7.43 – Зміна вмісту S-нітрозотіолів через 180 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (А) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин вмісту S-нітрозотіолів у кожній групі дослідження. Символ \* відображає наявність статистично достовірної відмінності між результатами, отриманими в контрольній групі 1 ( $n = 20$  тварин) та експериментальними групами 2-7 ( $n = 20$  тварин у кожній групі); Тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ . (Б) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин вмісту S-нітрозотіолів у групах 2 та 3. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 3 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ). (В) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин вмісту S-нітрозотіолів у групах 2 та 4. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 та 4 статистично достовірні (тест Манна-Уїтні,  $p < 0,05$ ).

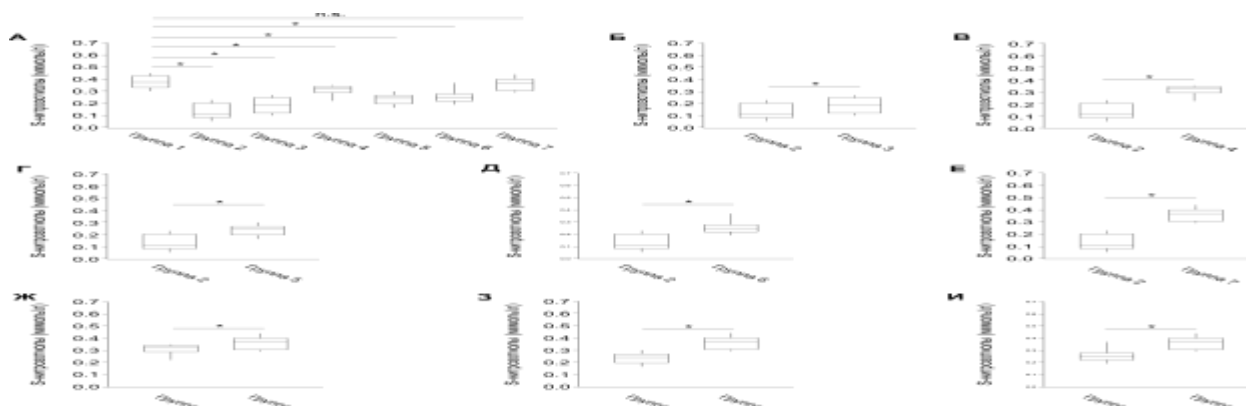


Рисунок 7.44 – Зміна вмісту S-нітрозотіолів через 180 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Г) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин вмісту S-нітрозотіолів в групах 2 і 5. Відмінність між результатами отриманими в групах 2 і 5 статистично достовірна (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (Д) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин вмісту S-нітрозотіолів в групах 2 і 6. Відмінності між результатами отриманими в групах 2 і 6 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (Е) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин вмісту S-нітрозотіолів в групах 2 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 2 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ).

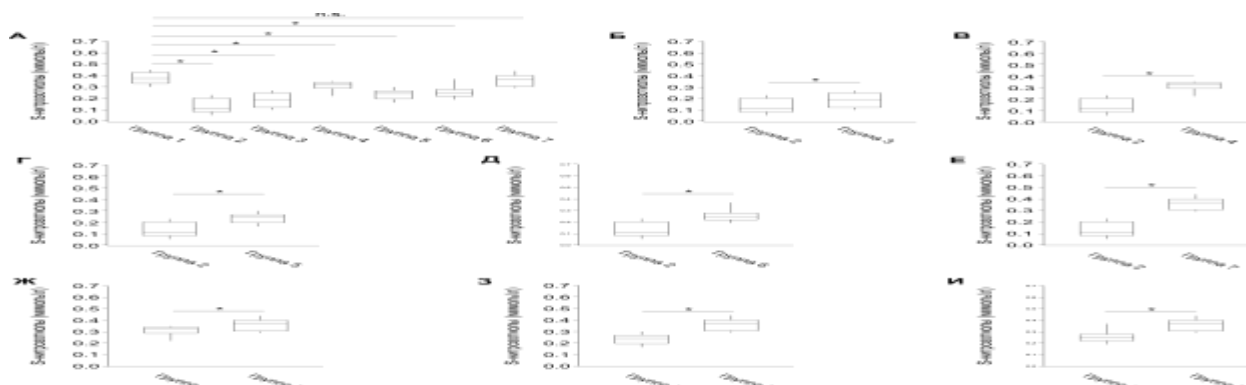


Рисунок 7.45 – Зміна вмісту S-нітрозотіолів через 180 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Ж) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин вмісту S-нітрозотіолів в групах 4 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 4 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (З) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин вмісту S-нітрозотіолів в групах 5 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 5 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (І) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин вмісту S-нітрозотіолів в групах 6 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 6 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ).

При цукровому діабеті гіперактивний стан тромбоцитів спостерігається через порушення обміну арахідонової кислоти у кров'яних пластинках, у той час як хронічна гіперглікемія призводить до гіперпродукції ТхА<sub>2</sub> [573]. Також гіперпродукція ТхА<sub>2</sub> призводить до пригнічення чутливості аденілатциклази, збільшення вмісту арахідонової кислоти у фосфоліпідах мембран кров'яних пластин, росту активності фосфоліпази А<sub>2</sub>, зменшення рівня цАМФ у тромбоцитах, зменшення активності глутатіонпероксидази у тромбоцитах, а також до дефіциту вітаміну Е [639, 640]. Зниження активності фосфоліпази А<sub>2</sub>, підвищення рівня тригліцеридів, вивільнення арахідонової кислоти із фосфоліпідів мембран ендотеліоцитів, підвищення рівня загального холестерину та ЛПНЩ призводять до пригнічення синтезу простагландину І<sub>2</sub> при цукровому діабеті [573, 641, 642].

Однією із ланок патогенезу реологічного статусу крові є дестабілізація еритроцитів, яка виникає як наслідок активації перекисного окислення ліпідів, послаблення антиоксидантних систем та неферментного глікозилювання білків у клітинах мембран при цукровому діабеті [643].

Накопчення продуктів розпаду клітин, продуктів гемолізу еритроцитів, деендотелізація судин, ряд інших факторів, які підвищують внутрішньосудинну агрегацію тромбоцитів, призводять до розвитку ДВЗ синдрому та інших судинних ускладнень [573, 644, 645]. Під впливом ендотоксину імунних комплексів інтерлейкін-1, ТНФ- $\alpha$ ,  $\gamma$ -інтерферону відбувається стимуляція ендотелію та локальна активація клітин крові, у першу чергу тромбоцитів.

Активованій ендотелій крім прокоагулянтної активності, збільшення рівня адгезії лейкоцитів також посилює секрецію інтерлейкіну-1, інтерлейкіну-6, тромбоцитарного фактору росту, ендотеліну, колонієстимулюючих факторів, підвищення синтезу І<sub>2</sub>. Протизапальні цитокіни також підвищуються при цукровому діабеті. Гостра гіпоглікемія, яку можна частно спостерігати, як ускладнення цукрознижувальної терапії,



стимулює не тільки нейроглію, нейкопенічні реакції, а й гормональну дисрегуляцію та гемореологічні порушення на тлі динаміки симпатоадреналової системи [573]. Слід зазначити, що як гемодинамічні, так і гемореологічні порушення, які розвиваються на тлі оксидативного стресу, ендотеліальної дисфункції та активації факторів апоптозу, підвищують ризик утворення локальних ділянок судинних порушень та тканинної ішемії [646].

Отже, гіперглікемія при активації процесів вільнорадикального окислення та неферментативного глікозилювання білків, призводить до ендотеліальної дисфункції та гемореологічних порушень із мікроваскулярними ураженнями. Додаткова наявність інсулінорезистентності та гіперінсулінемії сприяє розвитку дисліпідемії, артеріальної гіпертензії та атеросклерозу, що в подальшому і призводить до утворення та прогресування діабетичних ангіопатій. Судинний ендотелій постійно оновлюється. Біологічно активні речовини разом з віджившими фрагментами кровотоком разносяться по організму і впливають на клітини мішені [573].

Молекула оксиду нітрогену являє собою простий радикал який легко утворює ковалентні зв'язки завдяки неспареному електрону [647, 648]. Тривалість життя оксиду нітрогену у фізіологічних умовах всього декілька секунд після чого він перетворюється нітриту. він легко проникає крізь клітинні мембрани завдяки малій величині молекули та відсутності заряду. NO приймає участь у багатьох фізіологічних процесах, зокрема регулює артеріальний тиск та кровотік, тонус судин, проліферацію гладкомязових клітин та адгезію тромбоцитів [649].

Зниження продукції оксиду нітрогену ендотелієм спричиняє підвищення артеріального тиску та розвиток ендотеліальної дисфункції [647, 650]. Також дефіцит оксиду нітрогену відіграє ключову роль у патогенезі атеросклерозу, артеріальній гіпертензії, інфаркті міокарда, цукровому діабеті та інших захворювань, які супроводжуються ендотеліальною дисфункцією.

Введення L-аргініну – субстрату для синтезу оксиду нітрогену – при зводить до нормалізації артеріального тиску у пацієнтів із есенціальною артеріальною гіпертензією. При введенні інгібіторів синтезу NO спостерігається суттєве збільшення периферичного судинного спротиву. Як нейромедіатор оксид нітрогену приймає активну участь у координації між кровотоком та нейрональною активністю, формуванням пам'яті, та больовою чутливістю [647, 649].

Надлишкове накопичення оксиду нітрогену спостерігається під час запалення, що призводить до збільшення кількості продуктів його метаболізму – пероксинітритної кислоти та пероксинітритного аніону, які є потужними оксидантами [647, 648]. Це призводить до окислення ліпідів клітинних мембран, які сприяють поглибленню та розширенню наявного запалення шляхом збільшення судинної проникності та формування запального набряку. Високий вміст оксиду нітрогену пригнічує активність конститутивної синтази оксиду нітрогену та розчинної гуанілатциклази. Це призводить до збільшення концентрації внутрішньоклітинного кальцію  $2+$  і пригнічення синтезу циклічного гуанозинмонофосфату. NO впливає на запальну відповідь та імунну систему. Оксид нітрогену знижує активність Th1-клітин, активує розвиток Th2-відповіді, а також активує хемотаксис нейтрофілів і еозинофілів та пригнічує їх апоптоз [649]. NO пригнічує продукцію інтерлейкіну-2 та  $\gamma$ -інтерферону Th1-клітинами [647, 649]. Оксид нітрогену регулює синтез прозапальних цитокінів альвеолярними макрофагами в залежності від активації цих клітин, не впливаючи на базальний синтез фактору некрозу пухлини моноцитами периферичної крові. Оксид нітрогену в організмі синтезується з L-аргініну комплексом цитохром P450-подібних гемопротейнів — синтазами оксиду нітрогену. Ці ферменти виконують свою функцію без участі АТФ і саме тому називаються синтазами а не синтетазами. Група NO-синтаз складається із трьох ізоформ:

ендотеліальної, нейрональної та макрофагальної. Ці фзоформи відповідно є продуктами експресії генів [647, 649].

На ранній стадії запалення як конститутивна так і індукцибельна синтази оксиду нітрогену відіграють важливу роль у синтезі NO, тим самим модлюючи свій прозапальний ефект [651]. NO-синтазы контролюють продукцію інтерлейкіну-4, 11, 13, які відносяться до інгібіторів запальної реакції [651]. Отже можна зробити висновок, що оксид нітрогену та NO-синтази є універсальними регуляторами запалення [647].

В організмі існує два основних шляхи утворення NO: ферментативний і неферментативного. Ферментативний синтез NO в клітинах здійснюється сімейством білків із загальною назвою «NO-синтаза» (NOS), які традиційно поділяються на конститутивну (cNOS) і індукцибельну (iNOS) [652-654]. Оксид нітрогену, що синтезується cNOS, забезпечує адекватне кровопостачання, впливає на активність нейронів, регулює метаболізм клітин [652, 655-657]. Під впливом імуногенних і прозапальних стимулів відбувається експресія гена, відповідального за синтез iNOS [654, 658]. Під неферментативним шляхом розуміють відновлення нітритів або нітратів до NO (нітріредуктазний механізм) [652, 659].

Вазоконстрикція є ключовою патогенетичною ознакою серцево-судинних захворювань, яка спрямована в першу чергу на покращення кровопостачання життєво-важливих органів, проте довготривалий спазм судин призводить до порушення мікроциркуляції у тканинах та розвитку ішемії. Важливим фактором підтримки судинного тону є потужний вазодилататор – оксид нітрогену, який є термодинамічно нестійкою молекулою, період життя якої у крові людини складає менше п'яти секунд, тому набагато більший обсяг NO складають його похідні – нітрати, нітрити, пероксінітрити та тіонітрити [660].

Період їх життя в організмі складає від декількох хвилин до годин і вони визначають вміст NO в організмі [661]. Синтез оксиду нітрогену

відбувається у базальному та стимульованому режимі. У фізіологічних умовах базальний режим регулює судинний тонус і перешкоджає адгезії формених елементів крові на судинний ендотелій. У стимульованому режимі продукція NO посилюється під час динамічної напруги м'язів судин, зменшення вмісту кисню у тканинах та у відповідь на вихід у кров АТФ, ацетилхоліну, брадикініну, гістаміну, норадреналіну та ін [660, 662]. Саме ендотеліальна синтаза оксиду нітрогену забезпечує базальний режим синтезу NO [660, 663].

### *Динаміка АДМА*

Результати дослідження рівня асиметричного диметиларгініну, який є маркером ендотеліальної дисфункції, наочно представлені на рис. 7.46-7.54

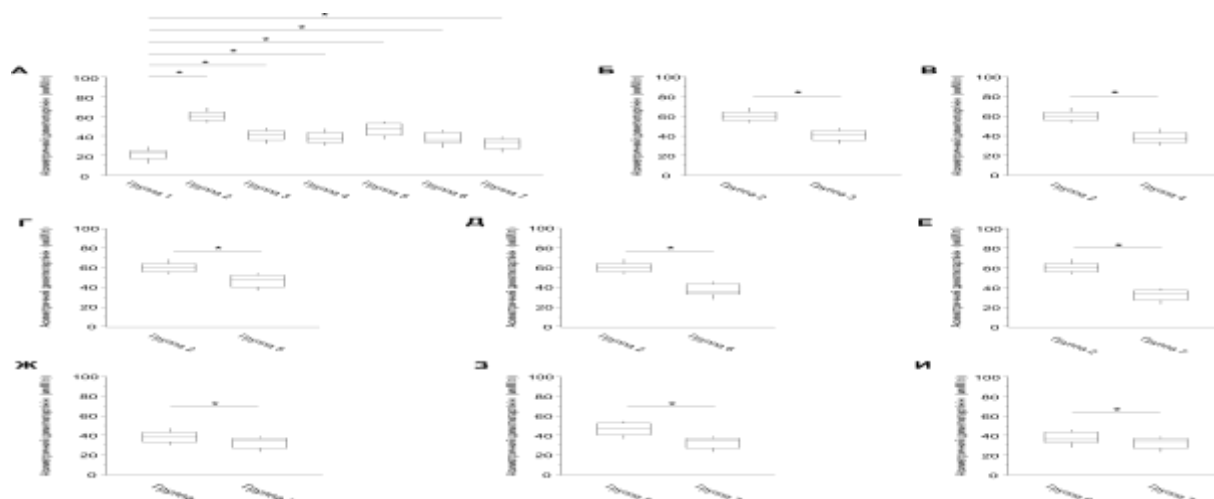


Рисунок 7.46 – Зміна рівня асиметричного диметиларгініну через 30 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (А) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в кожній групі дослідження. Символ \* відображає наявність статистично достовірної відмінності між результатами отриманими в контрольній групі 1 ( $n = 20$  тварин) і експериментальними групами 2-7 ( $n = 20$  тварин в кожній групі); Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ . (Б) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в групах 2 і 3. Відмінності між результатами отриманими в групах 2 і 3 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (В) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в групах 2 і 4. Відмінності між результатами отриманими в групах 2 і 4 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ).

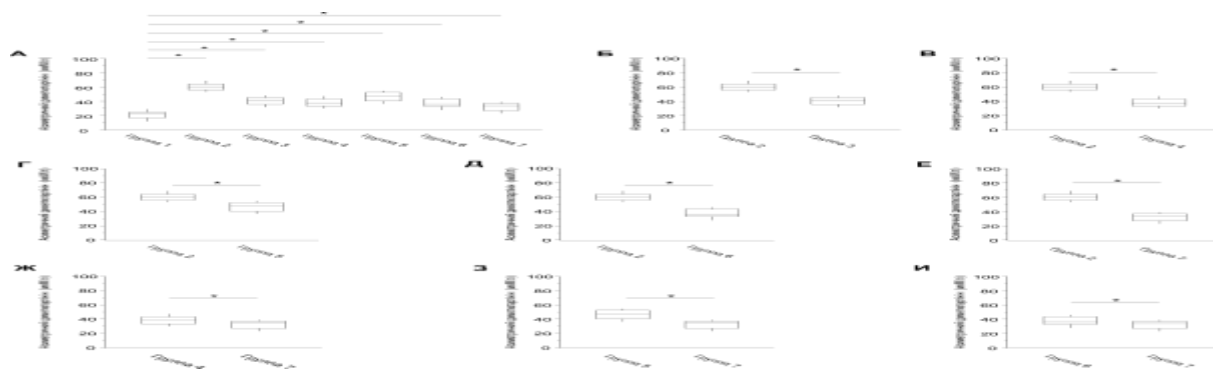


Рисунок 7.47 – Зміна рівня асиметричного диметиларгініну через 30 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Г) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в групах 2 і 5. Відмінності між результатами отриманими в групах 2 і 5 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (Д) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в групах 2 і 6. Відмінності між результатами отриманими в групах 2 і 6 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (Е) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в групах 2 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 2 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ).

Дисфункція ендотелію, яка пов'язана із порушенням секреції оксиду нітрогену є важливою ланкою у патогенезі цукрового діабету та відіграє ключову роль у виникненні та прогресуванні діабетичних ретинопатій [664, 665]. Також зменшення ендотелій залежної вазодилатації спостерігається і при прогресуванні атеросклерозу [666].

Від пригнічення активності ендотеліальної синтази оксиду нітрогену залежить не тільки есенціальна, а і вторинні гіпертензії [667]. Порушення в метаболізмі оксиду нітрогену виникають не тільки через відсутність субстрату у вигляді аргініну в ендотеліоцитах, але й через активацію його інгібіторів. Тож пригнічення активності ендотеліальної NO синтази у багатьох випадках відбувається через накопичення метильованих похідних аргініну, які є інгібіторами зазначеного ферменту.

Найтипівішими представниками цих інгібіторів є асиметричний диметиларгінін (АДМА). В той же час слід підкреслити, що симетричний диметиларгінін не є інгібітором NO-синтази [664, 666, 668]. Основним патофізіологічним ефектом АДМА та гомоцистеїну є пригнічення ендотелій

залежної вазодилатації. Цей процес залежить від декількох факторів, але перш за все від послаблення синтезу оксиду нітрогену в ендотеліоцитах та обмеженні його доступності до м'язової гуанілатциклази.

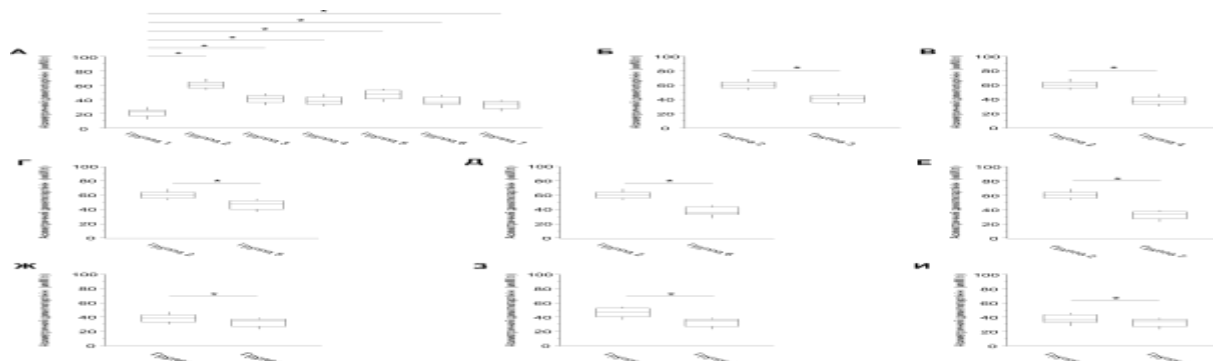


Рисунок 7.48 – Зміна рівня асиметричного диметиларгініну через 30 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Ж) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в групах 4 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 4 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (З) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в групах 5 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 5 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (І) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в групах 6 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 6 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ).

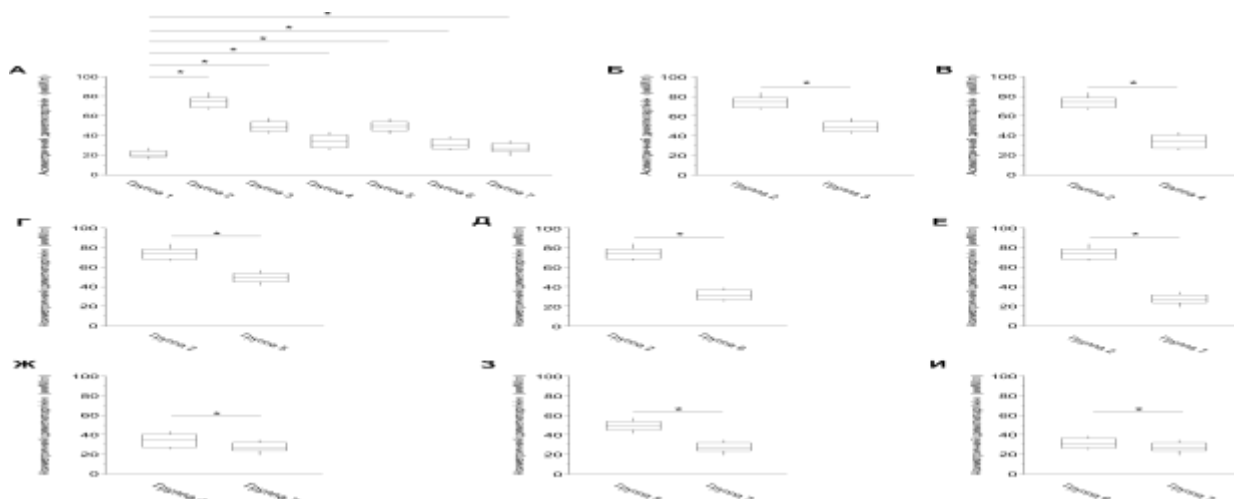


Рисунок 7.49 – Зміна рівня асиметричного диметиларгініну через 60 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (А) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в кожній групі дослідження. Символ \* відображає наявність статистично достовірної відмінності між результатами отриманими в контрольній групі 1 ( $n = 20$  тварин) і експериментальних групах 2-7 ( $n = 20$  тварин в кожній групі); Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ . (Б) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в групах 2 і 3. Відмінності між результатами отриманими в групах 2 і 3 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (В) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в групах 2 і 4. Відмінності між результатами отриманими в групах 2 і 4 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ).

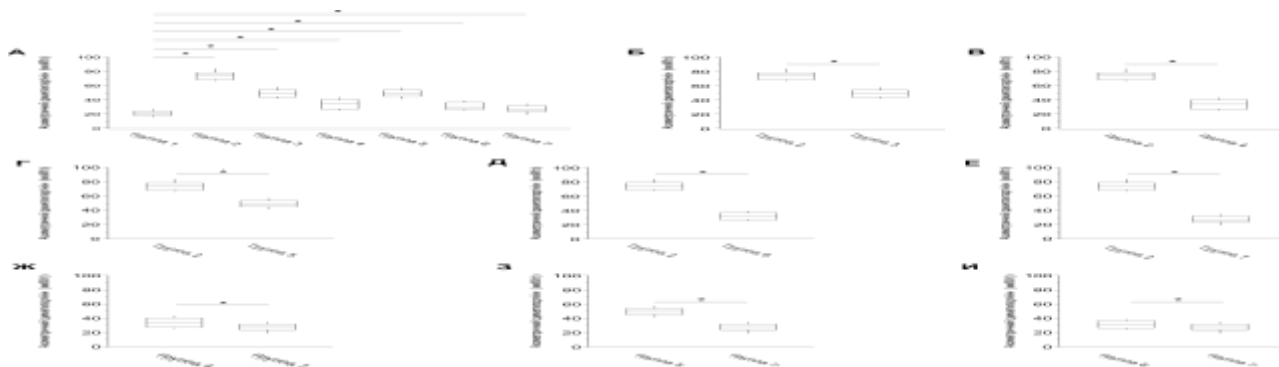


Рисунок 7.50 – Зміна рівня асиметричного диметиларгініну через 60 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Г) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в групах 2 і 5. Відмінність між результатами отриманими в групах 2 і 5 статистично достовірна (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (Д) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в групах 2 і 6. Відмінності між результатами отриманими в групах 2 і 6 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (Е) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в групах 2 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 2 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ).

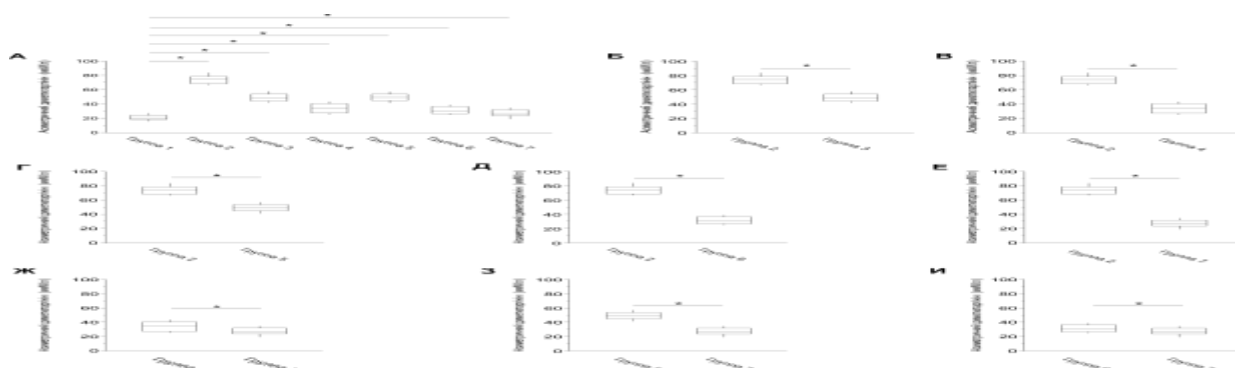


Рисунок 7.51 – Зміна рівня асиметричного диметиларгініну через 60 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Ж) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в групах 4 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 4 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (З) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в групах 5 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 5 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (І) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в групах 6 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 6 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ).

Вперше у 1992 році було доведено, що саме АДМА на відміну від інших метильованих похідних аргініну є ендogenousним інгібітором синтезу оксиду нітрогену [664, 669-671]. Доведено, що після ін'єкційного введення АДМА спостерігається суттєве підвищення артеріального тиску [672].

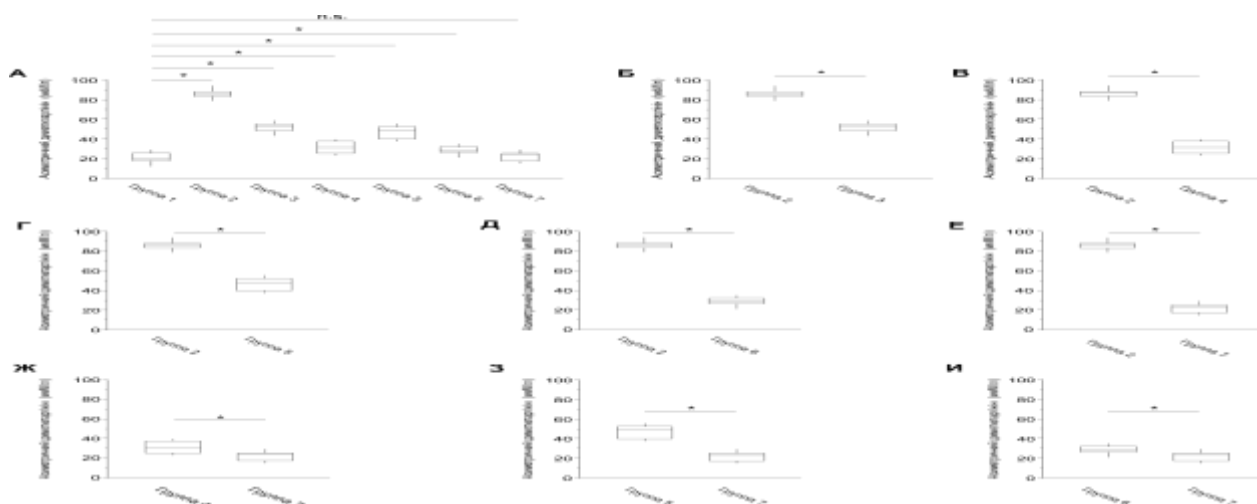


Рисунок 7.52 – Зміна рівня асиметричного диметиларгініну через 180 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (А) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в кожній групі дослідження. Символ \* відображає наявність статистично достовірної відмінності між результатами отриманими в контрольній групі 1 ( $n = 20$  тварин) і експериментальними групами 2-7 ( $n = 20$  тварин в кожній групі); Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ . (Б) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в групах 2 і 3. Відмінності між результатами отриманими в групах 2 і 3 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (В) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в групах 2 і 4. Відмінності між результатами отриманими в групах 2 і 4 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ).

Перетворення L-аргінін-NO відбувається безпосередньо за участі ендотеліальної NO-синтази (eNOS). Встановлено, що АДМА є ендогенним конкурентним інгібітором саме ендотеліальної NO-S [673]. Враховуючи вищезазначене актуальним є дослідження рівня АДМА та ендотеліальної синтази оксиду нітрогену при судинних ускладненнях цукрового діабету, зокрема при діабетичних ретинопатіях.

Підсумовуючи отримані нами результати, можемо стверджувати, що у ході нашого експерименту було підтверджено розвиток ендотеліальної дисфункції на тлі експериментальної діабетичної ретинопатії, про що свідчить виражене підвищення рівня АДМА на кожному із етапів дослідження.



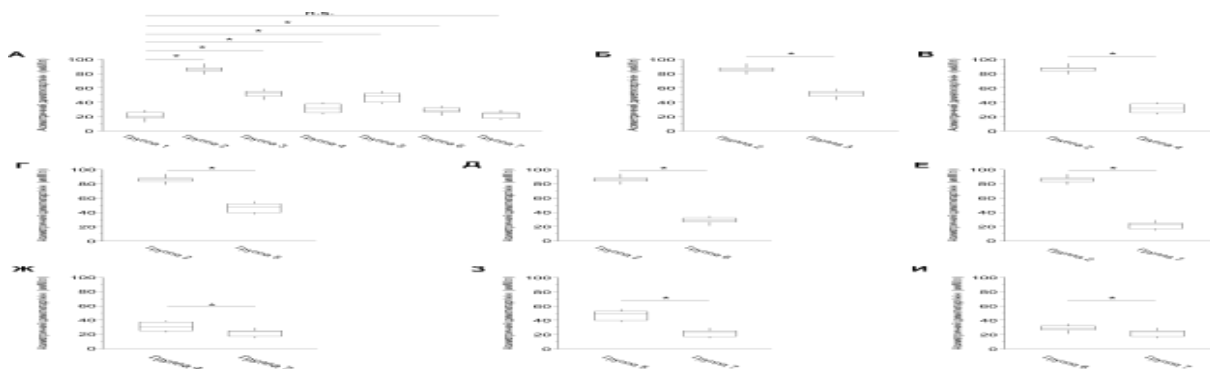


Рисунок 7.53 – Зміна рівня асиметричного диметиларгініну через 180 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Г) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в групах 2 і 5. Відмінність між результатами отриманими в групах 2 і 5 статистично достовірна (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (Д) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в групах 2 і 6. Відмінності між результатами, отриманими в групах 2 і 6 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (Е) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в групах 2 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 2 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ )

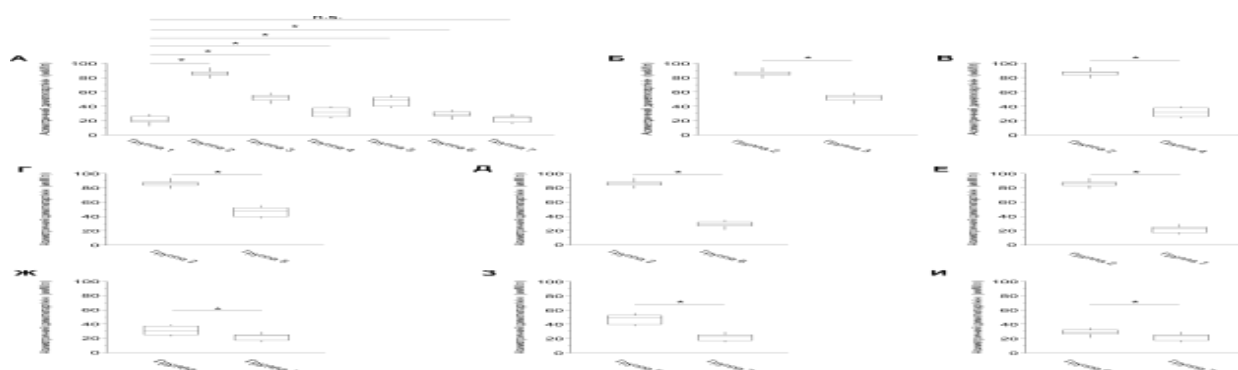


Рисунок 7.54 – Зміна рівня асиметричного диметиларгініну через 180 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Ж) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в групах 4 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 4 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (З) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в групах 5 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 5 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (І) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в групах 6 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 6 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ).

Разом із тим, підтверджується інгібуючий вплив асиметричного диметиларгініну на активність ендотеліальної NO-синтази. Як зазначалося,

активність eNO-S є маркером фізіологічного синтезу оксиду нітрогену, а її зниження є ще одним показником функціонального стану ендотелію.

У результаті нашого дослідження доведене порушення структурно-функціонального стану ендотелію при експериментальній діабетичній ретинопатії, про що свідчить підвищення рівня фактора Віллебранда, АДМА та ендотеліну-1 у 2-й групі ( $p < 0,001$ ), максимально виражене на 3-му етапі. Також встановлене виражене порушення балансу вазокостриції / вазодияції у бік переважання вазоконстрикторно потенціалу. Підтверджено, що корекція досліджуваного ускладнення цукрового діабету лише гіпоглікемічним препаратом навіть при довготривалому введенні не коригує розвиток ендотеліальної дисфункції ( $p < 0,001$ ). Виявлено, що додавання у корекції до гіпоглікемічних препаратів афліберцепта та розчину L-аргініну значно ( $p < 0,001$ ) покращує стан ендотелію, але не вирішує проблему в повному обсязі. Прослідковується, що корекція змодельованого патологічного стану шляхом зниження гіперглікемії, введення афліберцепта та бромфенаку (група №5) позитивно впливає на нормалізацію рівня маркерів функціонування ендотелію ( $p < 0,001$ ), але ефект є менш вираженим, ніж у наступних групах. Виявлено, що у щурів у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта, L-карнітину та бромфенаку (група №6) зниження патологічно підвищеного рівня маркерів ЕД є більш вираженим у порівнянні з даними 3-ї - 5-ї груп, що свідчить про доцільність даного способу корекції. Встановлено, що максимально результативним виявився спосіб корекції у 7-й групі експерименту в якій здійснювали корекцію гіперглікемії, введення афліберцепта, розчину L-аргініну та цитиколіну – отримані дані не лише про нормалізацію рівнів маркерів ендотеліальної дисфункції, а і про відновлення фізіологічного стану показників судинного тону (вазоконстрикції та вазодилатації).

*Аналіз окислювального стресу при діабетичній ретинопатії*

Гіперглікемія та окислювальний стрес є ключовими факторами патогенезу захворювання. В основі окислювального стресу лежать два процеси – окислена модифікація білків та перекисне окислення ліпідів (ПОЛ). Всі клітинні структури можуть бути мішенями для зазначеного стресу. В особливій зоні ризику знаходиться інсуліновий апарат підшлункової залози, тому що в  $\beta$ -клітинах міститься незначна кількість антиоксидантів [674, 675]. Проміжні метаболіти реакцій окислювального стресу можуть бути біомаркерами. Вони не завжди відображають стан метаболічних зрушень при тій чи іншій патології, але можуть відображати певний патологічний процес, тому що свідчать про високу токсичність і розвиток окислювального стресу [674]. Слід підкреслити, що діабетична ретинопатія – це хронічна прогресуюча патологія, під час якої відбуваються мікросудинні порушення, які призводять до підвищеної проникності та неоваскуляризації у сітківці, ішемії та макулярного набряку [676, 677].

Результати дослідження первинних продуктів ПОЛ в умовах нашого експерименту представлені на рис.7.55.

Гіперглікемія стимулює розвиток оксидативного стресу, який у свою чергу є потужним патофізіологічним механізмом розвитку мікросудинних ускладнень при цукровому діабеті [678]. Посилена продукція активних форм кисню спостерігається як під час розвитку так і при прогресуванні діабетичної ретинопатії. Оксидативний стрес (ОС) лежить в основі патогенезу як інсулінорезистентності, так і судинних діабетичних ускладнень, зокрема діабетичної ретинопатії [676]. При розвитку ОС, який посилюється під час токсичного впливу гіперглікемії на метаболічні процеси, спостерігається підвищення кількості вільних радикалів та пригнічення системи антиоксидантного захисту [679].

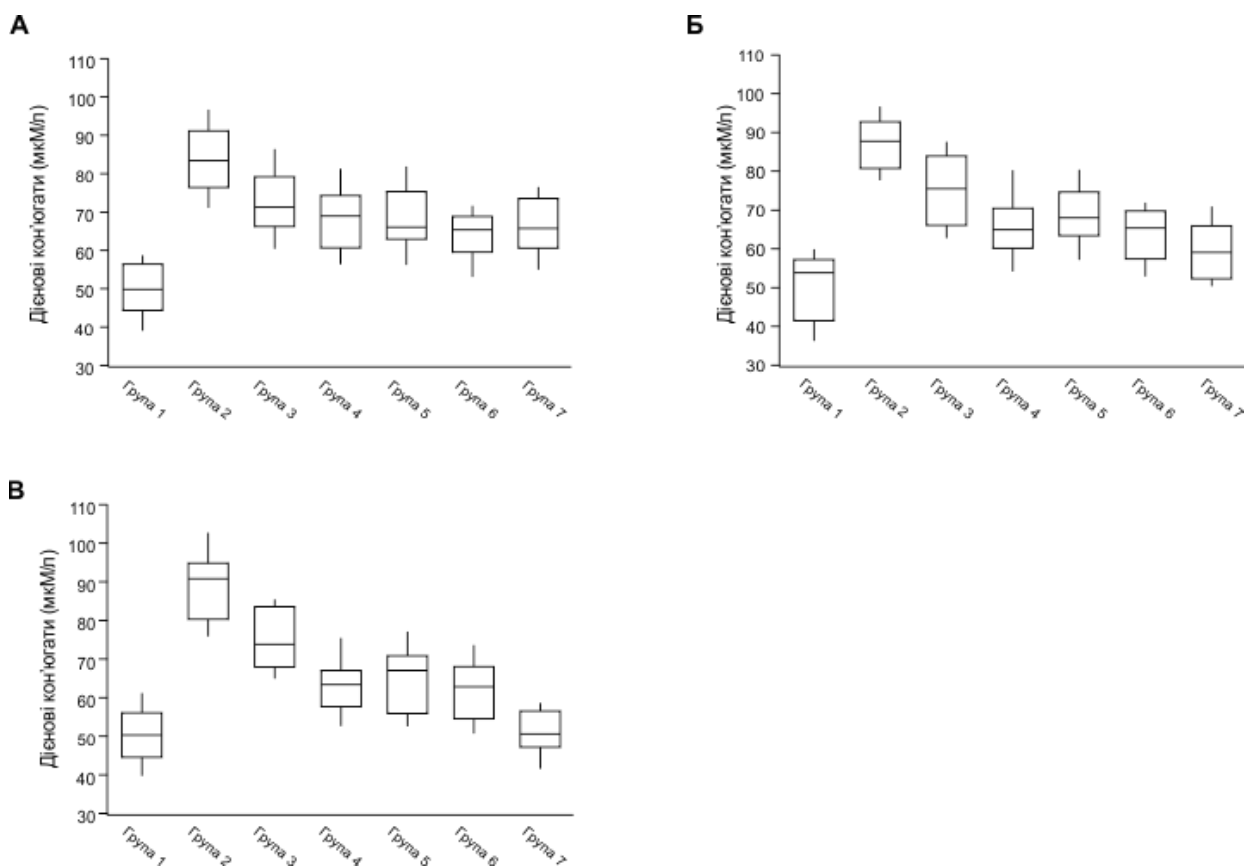


Рисунок 7.55 – Зміна рівня дієнових кон'югатів у кожній із груп експерименту на 30-у, 60-у та 180-у добу після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (А) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня дієнових кон'югатів в кожній групі на першому етапі дослідження (n=20 у кожній із груп дослідження). (Б) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня дієнових кон'югатів в кожній групі на другому етапі дослідження (n=20 у кожній із груп дослідження). (В) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня дієнових кон'югатів в кожній групі на третьому етапі дослідження (n=20 у кожній із груп дослідження)

Результати дослідження вторинних продуктів ПОЛ в умовах нашого експерименту представлені на рис.7.56

Було доведено, що оксидативний стрес не тільки сприяє розвитку ретинопатії, але підтримує цуй патологічний стан навіть при нормалізації рівня глюкози [676, 680]. Зниження активності у сітківці ока антиоксидантних ферментів, таких як глутатіонредуктаза, глутатіонпероксидаза, супероксиддисмутаза та каталаза, що спостерігається при цукровому діабеті, також сприяють розвитку оксидативного стресу [681, 682]. За однією із гіпотез, оксидативний стрес при діабетичній ретинопатії є

пов'язуючою ланкою між метаболічними шляхами, які зазнали ушкоджень через гіперглікемію. Активні форми кисню, які утворюються у мітохондріях, деструктують ДНК, і тим самим активують полі-АДФ-рибозо-полімеразу [676].

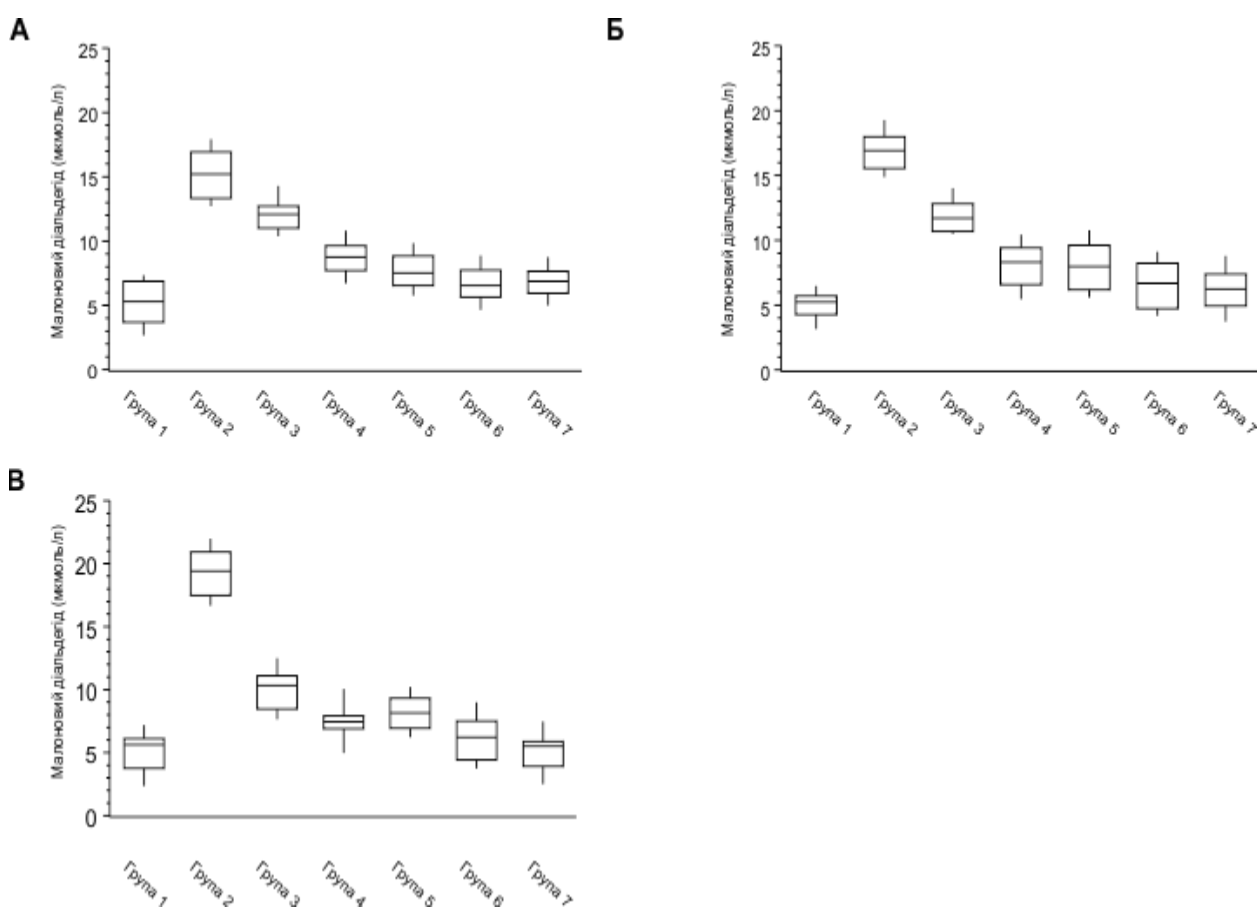


Рисунок 7.56 – Зміна рівня малонового діальдегіду у кожній із груп експерименту на 30-у, 60-у та 180-у добу після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (А) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня дієнових кон'югатів в кожній групі на першому етапі дослідження (n=20 у кожній із груп дослідження). (Б) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня малонового діальдегіду в кожній групі на другому етапі дослідження (n=20 у кожній із груп дослідження). (В) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня малонового діальдегіду в кожній групі на третьому етапі дослідження (n=20 у кожній із груп дослідження)

Також незаперечним фактом є зв'язок між ускладненнями та гіперглікемією, яка запускає розвиток інсулінорезистентності та пригнічує секрецію інсуліну, особливо це стосується першої стадії його глюкозо

індукованої продукції [683]. Також сприяє утворенню вільних радикалів надлишок жирних кислот, що посилюють негативні ефекти гіперглікемії. До посилення деструкції мітохондріального білка фратоксину у  $\beta$ -клітинах підшлункової залози призводить утворення активних форм кисню, що в свою чергу посилює прогресування цукрового діабету. Під впливом вільних радикалів посилюються мутації у мітохондріальних ДНК тим самим різко обмежуючи їх можливості до репарації. У свою чергу вільні радикали індукують розвиток гіперглікемії за рахунок дисфункції мітохондрій [683].

Неферментативне глікозилювання, яке активується при гіперглікемії із розвитком окислювального стресу посилює перекисне окислення ліпідів, тому що гліколізовані білки є джерелом вільних радикалів. В свою чергу окислювальний стрес призводить до ендотеліальної дисфункції – ключової ланки у патогенезі мікро- та макроаніопатій [683].

Збільшення кількості вільних радикалів, яке супроводжується окислювальним стресом, блокує синтез нуклеїнових кислот та білка [684], призводить до посилення перекисного окислення ліпідів, сприяє роз'єднанню процесів окислювального фосфорилування, пригнічує гліколіз та активність аденілатциклази та глюкозо-6-фосфатази. Все це у сукупності призводить до порушень метаболізму [684]. Також слід зазначити, що супероксидні радикали посилюють перекисне окислення ліпідів [685, 686]. Рядом авторів було доведено значне підвищення продуктів ПОЛ у сітківці та крові при моделюванні цукрового діабету на 28-у добу експерименту [687].

Результати дослідження активності пероксидази в умовах нашого експерименту представлені на рис. 7.57.

Пероксидаза - фермент класу оксидоредуктаз, який каталізує окислення субстратів і володіє високою специфічністю щодо окислення перекисів водню. У лейкоцитах і, зокрема, у значній кількості в нейтрофільних гранулоцитах крові пероксидазу вперше була виявлена Агнер К. у 1941 році [688] Потім пероксидазу було виявлено в моноцитах макрофагів,

купферовських клітинах печінки (мілопероксидаза) та еритроцитах, а також в еозинофілах, мегакаріюцитах та тромбоцитах. Крім того, пероксидаза була знайдена в слизових і молочних залозах, слизових оболочках кишок. Ряд авторів виявили пероксидазную активність у лізосомах, які зазвичай характеризуються як центри активності кислих гідролаз [688, 689].

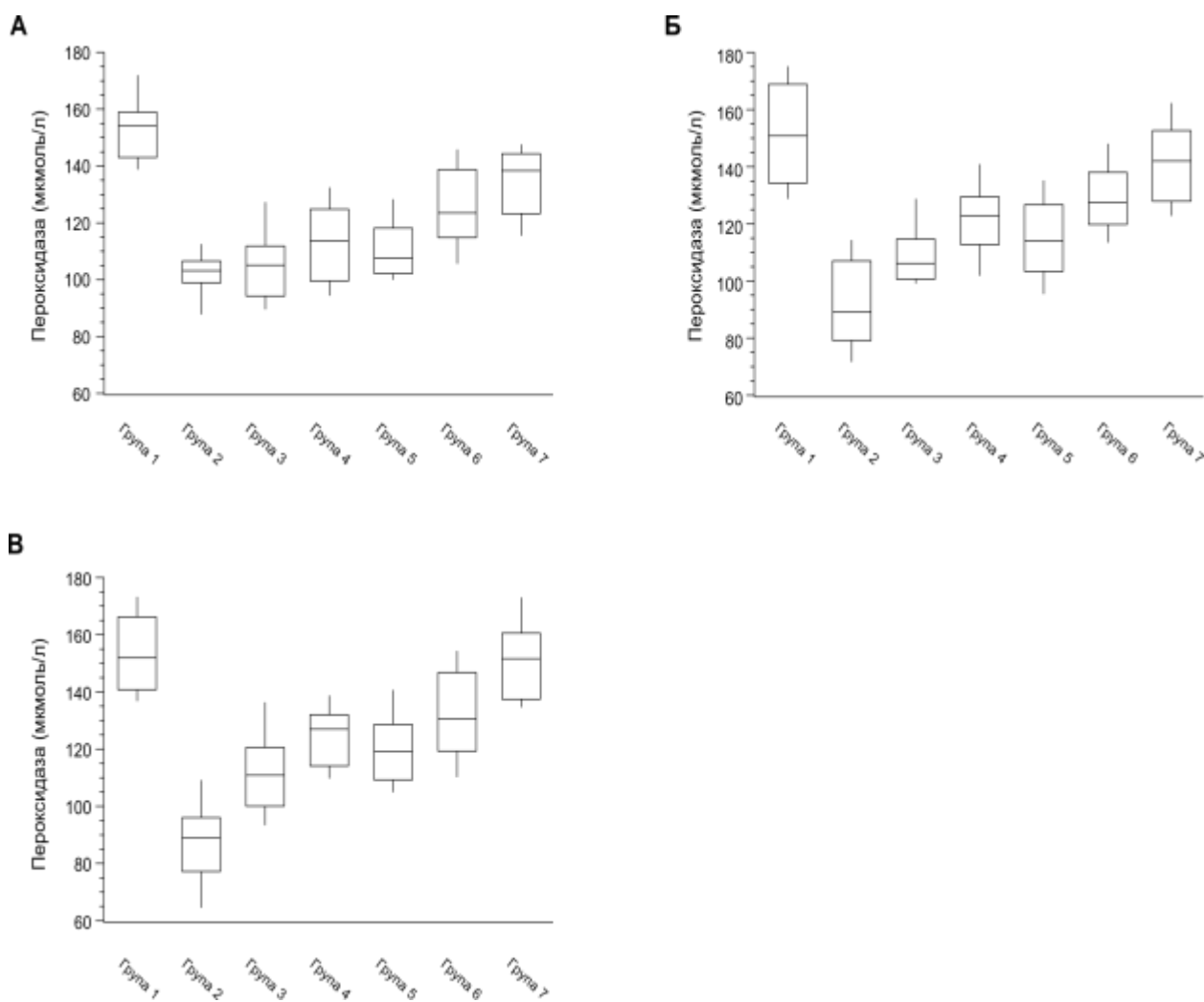


Рисунок 7.57 – Зміна активності пероксидази у кожній із груп експерименту на 30-у, 60-у та 180-у добу після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (А) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності пероксидази в кожній групі на першому етапі дослідження (n=20 у кожній із груп дослідження). (Б) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності пероксидази в кожній групі на другому етапі дослідження (n=20 у кожній із груп дослідження). (В) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин активності пероксидази в кожній групі на третьому етапі дослідження (n=20 у кожній із груп дослідження)

Одержані результати свідчать про підвищення вмісту перекисного окислення ліпідів, починаючи із 30-ї та з подальшим прогресуванням на 60-у та 180-у доби експериментальної діабетичної ретинопатії, підтвердженням якого є збільшення рівня дієнових кон'югатів маленового діальдегіду у 2-ї групі, максимум якого спостерігається на 3-му етапі. При цьому спостерігається поетапне зниження активності пероксидази, яка є ферментом антиоксидантного захисту. Корекція гіпоглікемічними засобами у 3-й групі мала позитивний ефект, але не була спроможна знизити рівень первинних і вторинних продуктів перекисного окислення ліпідів, та відновила антиоксидантну активність, тому виникла необхідність у застосуванні додаткових засобів. Застосування афліберцепту та донатора оксиду нітрогену у 4-й групі для корекції розвитку діабетичної ретинопатії суттєво пригнічувала окислювальний стрес, максимум якого припадав на 180-у добу експерименту, проте не досягав контрольних показників. Доведено, що поєднане введення бромфенаку та афліберцепту у 5-й групі значно знижувало кількість первинних і вторинних продуктів ПОЛ, підвищувало активність пероксидази, але не так суттєво, як у 4-й групі. Доведено, що введення афліберцепту, L-карнітину та бромфенаку тваринам 6-ї групи знижувало вміст дієнових кон'югатів та маленового діальдегіду разом з підвищенням активності пероксидази вже на 30-у і було продовжено на 60-у а 180-у добу дослідження, проте теж не досягало контрольних показників. Максимально ефективною корекцією виявилось поєднання метформіну, афліберцепту, L-аргініну та цитиколіну щурам 7-ї групи, про що свідчить нормалізація рівня досліджуваних показників на 30-у та 60-у добу експерименту, а на 180-у було зафіксовано зниження вмісту маркерів окислативного стресу та нормалізація активності антиоксиданта до контрольних показників.

*Гіпоксія* 2,3 діфосфогліцерат нами був обраний в якості маркера гіпоксії у зв'язку з тим, що він накопичується разом із активацією гліколізу та



розвитком окислювального стресу, що суттєво впливає на резистентність еритроцитів, які втрачають можливість регулювати утворення супероксиданіонів, а отже на конформацію гемоглобіну. Останнє призводить до резистентності еритроцитів до окислювального стресу та регулює разом із обміном глюкози обмін тіолів у клітинах червоної крові. Окислювальний стрес пригнічує спроможність гемоглобіну зв'язувати кисень внаслідок утворення метгемоглобіну. І 2,3 діфосфогліцерат є побічним продуктом гліколізу, що накопичується при анаеробному метаболізмі. [690]. Типовий патологічний процес – гіпоксія, виникає внаслідок пригнічення транспорту кисню до клітин та тканин організму чи як результат порушення його використання під час реакції біологічного окислення [690].

Гіпоксія викликає суттєві зрушення у метаболізмі еритроцитів. У першу чергу це стосується активації гліколізу, розвитку окислювального стресу та накопичення 2,3 діфосфогліцерату. Під час гіпоксії відбувається вихід заліза з білкових комплексів у середині клітини, що у свою чергу активує окислювальний стрес [691]. Із розвитком гіпоксії відбуваються зміни у фосфорилуванні тирозинових залишків білка еритроцитів, які впливають на внутрішньоклітинну передачу сигналів, об'єм клітин та їх структуру та на мембранний транспорт [692]. За цих умов окислювальний стрес суттєво впливає на активність гліцераальдегід-3-фосфатдегідрогенази [691, 693].

Збільшення кількості дезоксигемоглобіну пригнічує резистентність еритроцитів до окислювального стресу. Самі еритроцити спроможні регулювати утворення супероксиданіонів в залежності від напруження кисню та конформації гемоглобіну. Остання визначає перехід основних шляхів метаболізму глюкози в еритроцитах, що сприяє резистентності їх до окислювального стресу. Також конформація гемоглобіну регулює разом із обміном глюкози метаболізм тіолів в еритроцитах. При гіпоксії у еритроцитах відбувається зниження відновлюваного потенціалу системи

глутатіону [691, 694]. Розвиток окислювального стресу призводить до пригнічення транспортної функції еритроцитів та спроможності гемоглобіну зв'язувати кисень внаслідок утворення метгемоглобіну. Окислювальне пошкодження відбувається і у мембранних білках, які підтримують цілісність мембрани та приймають участь у транспорті іонів [691, 695]. 2,3-діфосфогліцерат є побічним продуктом гліколізу (шунт Rapoport-Luebering), який накопичується при анаеробному метаболізмі [696].

Результати дослідження рівня маркера гіпоксії-2,3 діфосфогліцерату еритроцитів в умовах нашого експерименту представлені на рис.7.58-7.66.

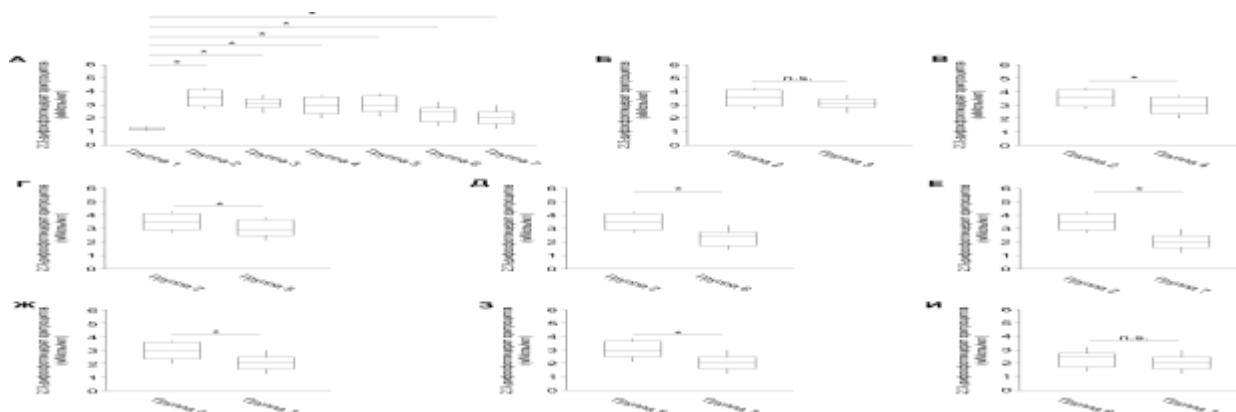


Рисунок 7.58 – Зміна рівня 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів через 30 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (А) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня 2,3-ДФГ еритроцитів в кожній групі дослідження. Символ \* відображає наявність статистично достовірної відмінності між результатами отриманими в контрольній групі 1 (n = 20 тварин) і експериментальними групами 2-7 (n = 20 тварин в кожній групі); Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ . (Б) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня 2,3-ДФГ еритроцитів в групах 2 і 3. Відмінності між результатами отриманими в групах 2 і 3 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p > 0,05$ ). (В) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня 2,3-ДФГ еритроцитів в групах 2 і 4. Відмінності між результатами отриманими в групах 2 і 4 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ).

Велике значення під час розвитку ускладнень цукрового діабету відіграють компенсаторні механізми гіпоксії, які пов'язані із транспортом кисню крові у тканинних капілярах. Цей механізм полягає в зменшенні спорідненості гемоглобіну по відношенню до кисню (зрушення кривої дисоціації оксигемоглобіну праворуч) і є ефективним засобом проти

вторинної тканинної гіпоксії та при цьому не потребує енергії [697-700]. Основним механізмом адаптації до гіпоксії є шлях анаеробного окислення глюкози у еритроцитах та зростання вмісту 2,3 дифосфогліцерату – аллостеричного регулятора спорідненості гемоглобіну до кисню [701, 702].

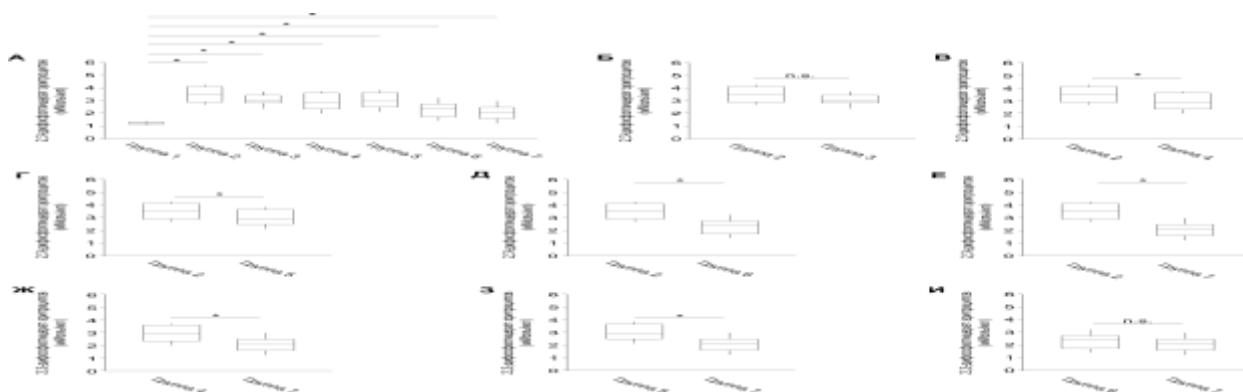


Рисунок 7.59 – Зміна рівня 2,3 дифосфогліцерату еритроцитів через 30 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Г) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня 2,3-ДФГ еритроцитів в групах 2 і 5. Відмінність між результатами отриманими в групах 2 і 5 статистично достовірна (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (Д) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня 2,3-ДФГ еритроцитів в групах 2 і 6. Відмінності між результатами отриманими в групах 2 і 6 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (Е) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня 2,3-ДФГ еритроцитів в групах 2 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 2 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ).

Транспортування киснем гемоглобіну пов'язане із рівнем 2,3 дифосфогліцерату еритроцитів. Також цей маркер є резервним джерелом для синтезу аденозинтрифосфату в разі його дефіциту у клітині [703]. Слід зазначити, що кількісна зміна органічних фосфатів у клітині призводить до комплексу структурних перебудов еритроцитарних мембран [697, 701, 702]. Синтез оксиду нітрогену, як неодноразово зазначалося, відбувається із амінокислоти L-аргініну та молекули кисню. Під час реакції окислення NO-синтаза каталізує утворення у рівних кількостях NO та L-цитруліну. Киснева концентрація – важливий фактор, що зумовлює активність NO-синтази, оскільки молекулярний кисень є її ко-субстратом [704, 705].

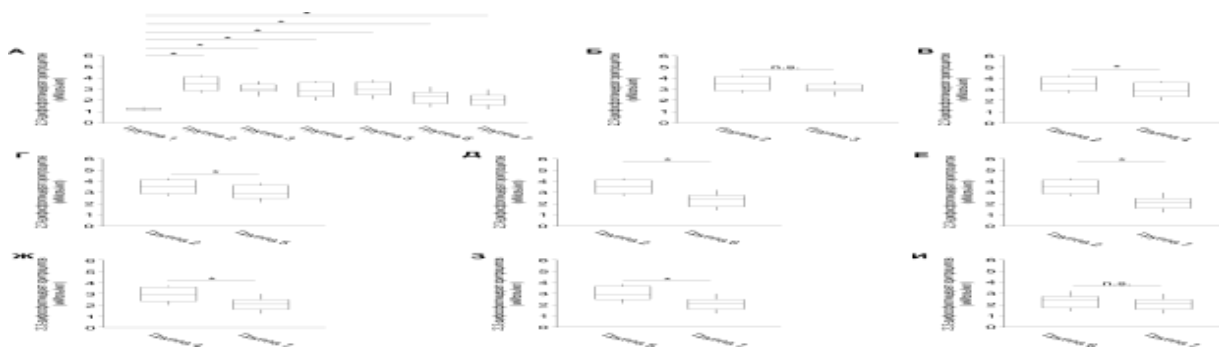


Рисунок 7.60 – Зміна рівня 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів через 30 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Ж) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня 2,3-ДФГ еритроцитів в групах 4 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 4 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (З) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня 2,3-ДФГ еритроцитів в групах 5 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 5 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (І) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня 2,3-ДФГ еритроцитів в групах 6 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 6 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p > 0,05$ ).

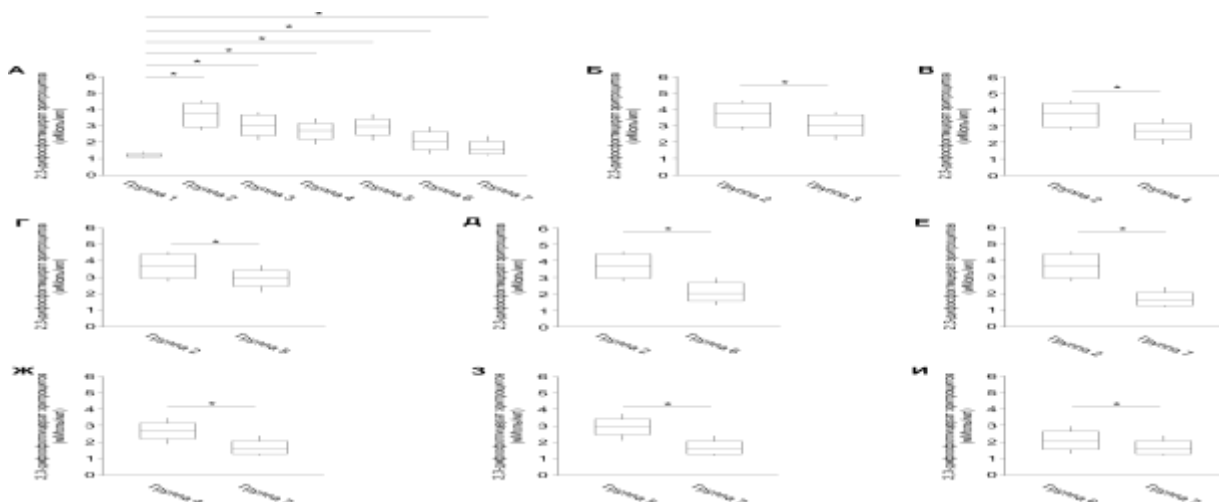


Рисунок 7.61 – Зміна рівня 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів через 60 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (А) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня 2,3-ДФГ еритроцитів в кожній групі дослідження. Символ \* відображає наявність статистично достовірної відмінності між результатами отриманими в контрольній групі 1 ( $n = 20$  тварин) і експериментальними групами 2-7 ( $n = 20$  тварин в кожній групі); Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ . (Б) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня 2,3-ДФГ еритроцитів в групах 2 і 3. Відмінності між результатами отриманими в групах 2 і 3 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (В) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня 2,3-ДФГ еритроцитів в групах 2 і 4. Відмінності між результатами отриманими в групах 2 і 4 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ).

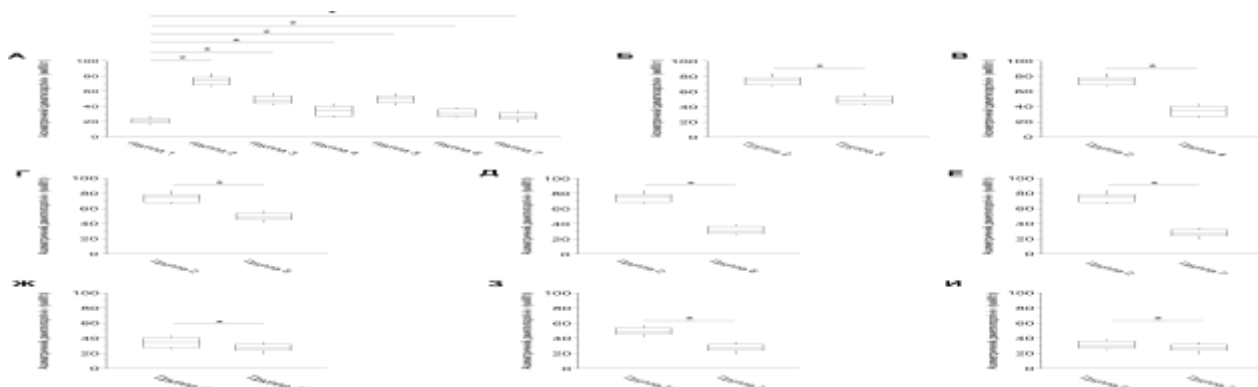


Рисунок 7.62 – Зміна рівня 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів через 60 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Г) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в групах 2 і 5. Відмінності між результатами отриманими в групах 2 і 5 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (Д) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в групах 2 і 6. Відмінності між результатами отриманими в групах 2 і 6 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (Е) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня АДМА в групах 2 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 2 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ).

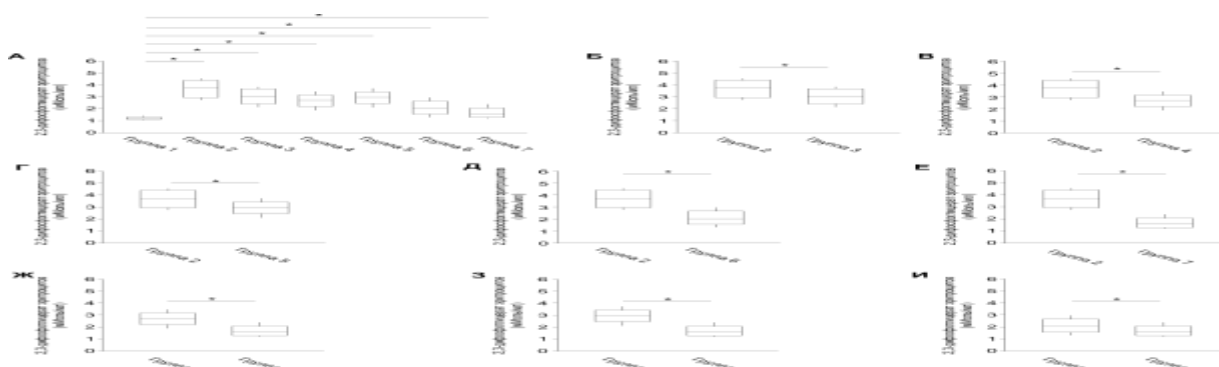


Рисунок 7.63 – Зміна рівня 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів через 60 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Ж) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня 2,3-ДФГ еритроцитів в групах 4 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 4 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (З) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня 2,3-ДФГ еритроцитів в групах 5 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 5 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (І) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня 2,3-ДФГ еритроцитів в групах 6 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 6 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ).

Варто зауважити, що у метаболізмі людини для оптимального транспорту кисню у крові окрім гемоглобіну значну роль відіграє 2,3-

дифосфогліцерат (2,3-ДФГ). Останній регулює трансформування оксигемоглобіну у гемоглобін і кисень в залежності від парціального тиску кисню у легенях. У фізіологічних умовах активність 2,3-ДФГ у людей пригнічена. Збільшення його концентрації спостерігається під час гіпоксії та при інших патологічних процесах [706].

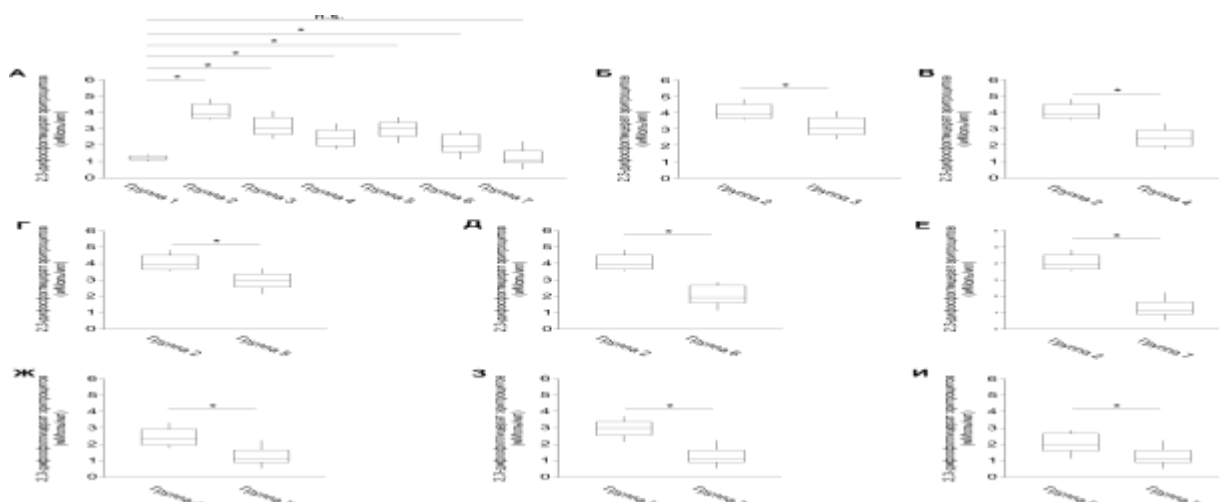


Рисунок 7.64 – Зміна рівня 2,3 дїфосфогліцерату еритроцитів через 180 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (А) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня 2,3-ДФГ еритроцитів в кожній групі дослідження. Символ \* відображає наявність статистично достовірної відмінності між результатами отриманими в контрольній групі 1 ( $n = 20$  тварин) і експериментальними групами 2-7 ( $n = 20$  тварин в кожній групі); Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ . (Б) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня 2,3-ДФГ еритроцитів в групах 2 і 3. Відмінності між результатами отриманими в групах 2 і 3 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (В) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня 2,3-ДФГ еритроцитів в групах 2 і 4. Відмінності між результатами отриманими в групах 2 і 4 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ).

Зменшення парціального кисню у крові призводить до активації гліколізу, збільшення рівня лактату, зниженню рН середовища, що сприяє посиленню синтезу АТФ та 2,3 дїфосфогліцерату у еритроцитах із подальшим підвищенням їх концентрації. 2,3-ДФГ шляхом приєднання до молекули гемоглобіну сприяє віддачі останнім кисню, що призводить до збільшення його парціального тиску у капілярах та послабленню гіпоксії, тобто активуються процеси компенсації гіпоксії в організмі [706].

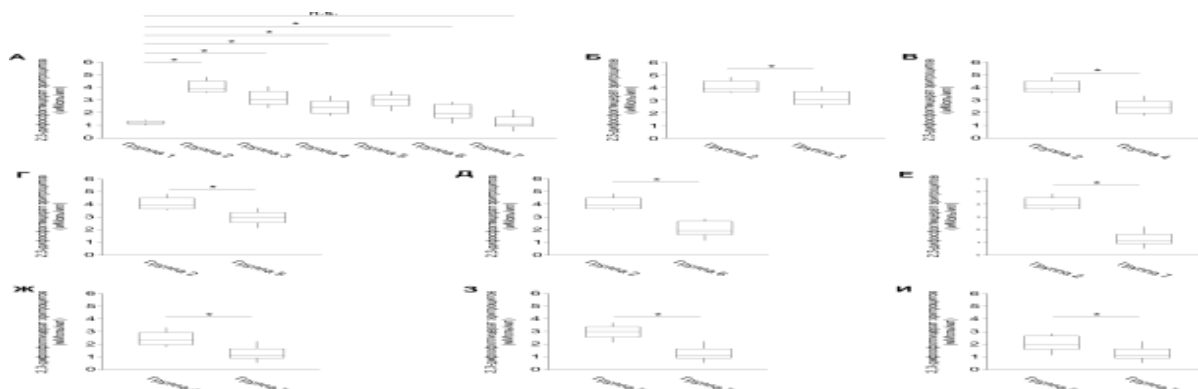


Рисунок 7.65 – Зміна рівня 2,3 дїфосфогліцерату еритроцитів через 180 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Г) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня 2,3-ДФГ еритроцитів в групах 2 і 5. Відмінність між результатами отриманими в групах 2 і 5 статистично достовірна (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (Д) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня 2,3-ДФГ еритроцитів в групах 2 і 6. Відмінності між результатами отриманими в групах 2 і 6 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (Е) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня 2,3-ДФГ еритроцитів в групах 2 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 2 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ).

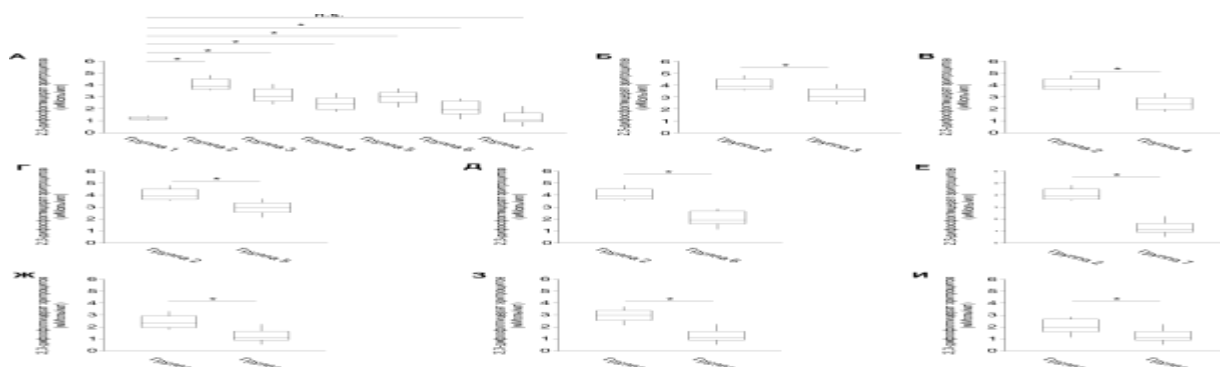


Рисунок 7.66 – Зміна рівня 2,3 дїфосфогліцерату еритроцитів через 180 днів після моделювання діабетичної ретинопатії

Примітка. (Ж) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня 2,3-ДФГ еритроцитів в групах 4 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 4 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (З) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня 2,3-ДФГ еритроцитів в групах 5 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 5 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ). (І) Бокс-плоти ілюструють розподіл величин рівня 2,3-ДФГ еритроцитів в групах 6 і 7. Відмінності між результатами отриманими в групах 6 і 7 статистично достовірні (Mann-Whitney Test,  $p < 0,05$ ).

Важливо забезпечити фізіологічний транспорт кисню до тканин організму при захворюваннях пов'язаних із гіпоксією: анемією, цукровим діабетом, хронічною серцевою недостатністю та ін. Під час посилення

дисоціації оксигемоглобіну шляхом медикаментозної корекції можна суттєво збільшити надходження кисню кров'ю до капілярів. У зв'язку з цим актуальним стає використання лікарських засобів, які активують нормалізацію 2,3-ДФГ, а отже посилюють кисневу напругу в крові [706-708].

З часу відкриття судинних ефектів оксиду нітрогену і його ролі як регулятора багатьох метаболічних процесів, цей напрям наукових досліджень став пріоритетним для медико-біологічних наук [709-711]. NO здатен регулювати як фізіологічні, так і патофізіологічні процеси та взаємозв'язок між системними ефектами в умовах норми і патології [712-715].

Оксид нітрогену приймає активну участь у процесах адаптації організму до гіпоксії [716-719]. На стан оксиду нітрогену впливають фізіологічні кисеньзв'язуючі властивості крові, тому що гемоглобін є однією із ключових мішеней оксиду нітрогену [709]. Пул NO може змінювати споріднення гемоглобіну до кисню через внутрішньоеритроцитарні механізми регуляції, кисневозалежний характер утворення оксиду нітрогену, дію S-нітрозогемоглобіну та нітрозилгемоглобіну, регуляцію судинного тону, транспорт та утилізацію кисню. Подальше вивчення ролі оксиду нітрогену у патогенезі багатьох захворювань, як універсального регулятора багатьох клітинних реакцій та його зміни під час розвитку гіпоксії дасть пояснення розвитку патологічних ланок цілого ряду хвороб [709].

Кисневозв'язуючі властивості крові впливають на систему L-аргінін-NO, і остання може визначати функціональні властивості гемоглобіну через внутрішньоеритроцитарні механізми регуляції завдяки спорідненості до кисню, регуляції судинного тону та дії пероксинітриту [720, 721]. Оксид нітрогену і його похідні – пероксинітрити приймають участь у модифікації гемоглобіну і спорідненості до кисню на рівні еритроцитів [722]. Донори пероксинітриту і оксиду нітрогену синтезовані з пероксиду водню та нітриту впливають на місцезнаходження кривої дисоціації оксигемоглобіну.



Зазначені сигнальні молекули здатні по різному моделювати спорідненість гемоглобіну до кисню в залежності від кислотності середовища [720].

Отримані нами результати свідчать про розвиток гіпоксії уже на 30-у добу розвитку експериментальної діабетичної ретинопатії з подальшим прогресуванням патологічних змін на 60-у та 180-у добу дослідження, про що свідчить зниження рівня 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів у 2-й групі ( $p < 0,001$ ), максимально виражене на 3-му етапі. При аналізі даних групи №3 встановлено, що корекція патологічного стану за допомогою гіпоглікемічних засобів має позитивний вплив, але не дозволяє виражено скоригувати патологічний розвиток гіпоксії. Результати 4-ї групи свідчать про те, що залучення донатора оксиду нітрогену та афліберцепта до корекції діабетичної ретинопатії коригує гіпоксичні зрушення та сприяє відновленню фізіологічного шляху синтезу оксиду нітрогену, максимально виражений ефект спостерігається на 180-у добу експерименту, але нормативних значень досягти не вдається. Прослідковується, що корекція змодельованого патологічного стану шляхом зниження гіперглікемії, введення афліберцепта та бромфенаку (група №5) дає позитивні результати, але менш виражені, аніж залучення до комплексної корекції розчину L-аргініну. Виявлено, що у щурів у яких моделювали діабетичну ретинопатію з подальшою корекцією гіперглікемії, введенням афліберцепта, L-карнітину та бромфенаку (група №6) наявна виражена тенденція до нормалізації досліджуваного маркера гіпоксії у порівнянні з попередніми розглянутими способам, але рівень 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів не досягає нормативних значень. Отримані дані дозволяють стверджувати, що спосіб корекції, обраний у 7-й групі (корекцію гіперглікемії, введення афліберцепта, розчину L-аргініну та цитиколіну) більш виражено нормалізує рівень 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів порівняно з іншими групами нашого експерименту, його результативність виражено проявляється уже на 30-у добу, збільшуючись до 60-ї та 180-ї діб.

### *VEGF*

Судинний ендотеліальний фактор росту (VEGF) посилює проникність капілярів [723]. Він відноситься до гомодімерних глікопротеїнів за своєю будовою схожий на фактор росту тромбоцитів і має афінність до п'яти типів рецепторів, які реалізують свої ефекти через тирозинкіназну систему. VEGF регулює як фізіологічні, так і патологічні процеси, зокрема імунну відповідь, ембріогенез, регенерацію та канцерогенез [724-726]. VEGF є важливим фактором для формування судин у ембріональному та ранньому постнатальному періодах. Він також регулює утворення ниркових клубочків та роботу гломерулярного фільтру, приймає активну участь в ре моделюванні міокарду, регенерації міоцитів та ендохондральному кісткоутворенні. Діючи як хемоаттрактант він мобілізує ендотеліальні клітини кісткового мозку. Вплив VEGF на судинну стінку у дорослих людей багаторівневий та багатфункціональний. Він посилює проникність судин, призводить до їх дилатації, забезпечує виживання ендотеліоцитів [726]. При патологічних процесах, під час яких розвивається ішемія VEGF активує неоангіогенез, який індукує колатеральний кровообіг, що забезпечує виживання клітин та їх регенерацію [727]. При цукровому діабеті VEGF, який продукується клітинами пігментного епітелію сітківки, стимулює утворення нових судин та розвиток макулярного набряку. Характерним для цукрового діабету I-го типу є прогресування допроліферативної діабетичної ретинопатії із розвитком неоваскуляризації, а при цукровому діабеті II-го типу відбувається формування ретинального набряку, який супроводжується зниженням центрального зору [724, 726, 728, 729].

Утворення у постнатальному періоді нових кровоносних судин відбувається або з раніше існуючих (безпосередньо ангіогенез) чи з гемопоетичних клітин-попередниць (васкулогенез). У вузькому значенні терміну ангіогенез являє собою формування нових капілярів з раніше існуючих через міграцію проліферації диференційованих ендотеліоцитів

[730]. Стимулом як у фізіологічних, так і у патологічних умовах до ангіогенезу є киснева недостатність (ішемія або гіпоксія), яка через активований гіпоксією фактор-1 (HIF-1) індукує експресію багатьох ангіогенів, але у першу чергу – фактору росту ендотелію судин (VEGF) та його рецепторів (VEGFR1 и VEGFR2). Фактор росту судин селективно активує проліферацію та міграцію ендотеліоцитів, їх попередників та моноцитів, збільшує судинну проникність [730, 731]. Під васкулогенезом ми розуміємо процес формування нових судин з гемопоетичних клітин. У васкулогенезі важлива роль належить ендотеліальним прогеніторним клітинам. Ці клітини являють собою гетерогенну популяцію, для якої характерна активація маркерів клітин гематопоетичного (CD14, CD34, CD133) та ендотеліального (VEGFR2, CD31, CD144, фактор Віллебранда) ряду. Джерелами прогеніторних клітин є тканинні резидентні клітини, кістковий мозок та мезенхімальні попередники. При ушкодженні ендотелію або під час ішемії ендотеліальні прогеніторні клітини мігрують до кровотоку, а звідти – в зону пошкодження, накопичуючись у ній та диференціюючи до ендотеліоцитів. Мережа ендотеліальних клітин, яка формується під час васкулогенезу, створює каркас для ангіогенезу [730-732]. Класичним прикладом патологічного процесу, в основі якого є неадекватний ангіогенез є діабетична ретинопатія. Надлишкова проліферація зорового нерву, райдужної оболонки, судин сітківки, проростання судин до скловидного тіла є ключовою причиною прогресуючого зменшення гостроти зору у хворих на цукровий діабет. Для проліферативної діабетичної ретинопатії характерний дисбаланс між інгібіторами та стимуляторами ангіогенезу. Гіперпродукція VEGF, яку спричиняє ішемія сітківки, відіграє важливу роль в активації процесу новоутворення судин [730, 733]. Також посилює продукцію VEGF у ретинальних клітинах гіперглікемія та пов'язані із нею порушення метаболізму: стрес ендоплазматичного ретикулуму [734, 735], накопичення пізніх продуктів глікірування [734], окислювальний

стрес [736]. VEGF у сітківці продукують астроцити, клітини пігментного епітелію, ендотеліоцити, клітини Мюллера, серицити та гангліонарні клітини [730, 737].

Отримані нами дані підтверджують розвиток діабетичної ретинопатії, особливо виражене підвищення маркера виявлене на 180-у добу розвитку патологічного процесу ( $p < 0,001$ ). Афліберцепт безумовно має позитивний вплив на нормалізацію даного стану, але більш виражений ефект спостерігається у комбінації з тривалим введенням L-аргініну. Також виявлено взаємозв'язок нормалізації фактора росту судин і корекції гіпоксії.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі проведено узагальнення і запропоновано нове вирішення актуальної наукової проблеми патогенезу ускладнень експериментального стрептозотоцинового цукрового діабету, зокрема діабетичної ретинопатії і дисфункції ендотелію судин та їх корекції.

1. На тлі моделювання стрептозотоцинового цукрового діабету у щурів розвивалася діабетична ретинопатія та ендотеліальна дисфункція судин, про що свідчить наявність набрякових зрушень волокон та набряк формуючих клітин сітківки, нерівномірністю розподілу клітин гангліонарного шару і вакуолізації цитоплазми деяких із них та підвищення біохімічних маркерів порушення структури та функціонування ендотеліоцитів.

2. Встановлено, що у патогенезі діабетичної ретинопатії важливу роль відіграє порушення ендотелію судин, про що свідчить збільшення рівнів фактора Віллебранда (на 19,7 % на 30-у добу, на 22,7 % на 60- у і на 25,1 % на 180-у добу), ендотеліну-1 (на 56,8 % на I-у етапі, на 62,4 % на II-у і на 63,7 % на III-у етапі) та асиметричного диметиларгініну (на 65,6 % на I-у етапі, на 71,9 % на II-у і на 75,8 % на III-у етапі), порівняно з даними інтактних тварин) ( $p < 0,001$ ).

3. Виявлено дисбаланс вазоконстрикторно-вазодилататорного потенціалу у бік констрикторної компоненти та пригнічення фізіологічного розслаблення тону судин при експериментальній діабетичній ретинопатії, про що свідчить збільшення рівня ендотеліну-1 на кожному із етапів дослідження ( $p < 0,001$ ) та зменшення вмісту S-нітрозотіолів (на 110,4 % на 30-у добу, на 139,9 % на 60-у та на 190,7 % на 180-у добу, у порівнянні з інтактною групою).

4. Встановлено перехід синтезу оксиду нітрогену на альтернативний шлях, про що свідчить посилення активності індукцибельної NO-синтази при експериментальній діабетичній ретинопатії у щурів із змодельованим стрептозотоциновим діабетом (на 69,7 % на I-у етапі, на 74,7 % на II- у, і на 77,6 % на III-у етапі у порівнянні з інтактною групою,  $p < 0,001$ ) та зменшення активності ендотеліальної синтази оксиду азоту (на 58,1 % на I-у етапі, на 76,4 % на II-у етапі, та на 87,5 % на III-у етапі дослідження) .

5. Доведено збільшення рівня 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів (на 65 % на 30-у добу; на 66,4 % на 60-у та на 70,2 % на 180-у добу у групі зі змодельованою патологією, порівняно з інтактною групою,  $p < 0,001$ ) у крові щурів, що підтверджує значну роль гіпоксії у розвитку експериментальної діабетичної ретинопатії.

6. Встановлено дисбаланс між про- та антиоксидантною системою у патогенезі експериментальної стрептозотоцинової діабетичної ретинопатії, що підтверджується підвищенням рівня первинних та вторинних продуктів перекисного окислення ліпідів та зниженням антиоксидантного захисту, про що свідчить підвищення рівня дієнових кон'югатів на 40,3 % на I-у етапі, на 42,5 % на II-у етапі, на 43,7 % на III етапі, збільшення рівня малонового діальдегіду на 66,5 %, 70 % та 73,7 % відповідно на кожному із етапів, та зниження активності пероксидази на 49,3 % на 30-у добу, 64,8 % на 60-у добу, та на 75 % на 180-у добу дослідження у порівнянні з інтактною групою ( $p < 0,001$ ).

7. Доведена вагома роль фактору росту судин для визначення ступеню тяжкості стрептозотоцинової діабетичної ретинопатії на різних етапах (спостерігається його підвищення на 67,8 % на I-у, на 121 % на II-у та на 144,9 % на III етапі порівняно з інтактною групою,  $p < 0,001$ ).

8. Доведено діагностичну значущість значущість 2,3 діфосфогліцерату еритроцитів, фактора Віллебранда та ендотеліну-1 для прогнозу перебігу досліджуваної патології.

9. Встановлена роль запалення у патогенезі діабетичної ретинопатії, судячи по збільшенню рівня інтерлейкіну 1 В ( $p < 0,001$ ) порівняно з даними інтактної групи (на 49,6 % на 30-у добу експерименту, на 56,7 % на 60-у та на 62,6 % на 180-у добу).

10. Розроблено патогенетично обгрунтовані схеми корекції експериментальної стрептозотицинової діабетичної ретинопатії, найбільш ефективним із них виявився комплекс із гіпоглікемічною дією (метформін), донатором оксиду нітрогену та антиоксиданом (L-аргінін), мембранстабілізуючим засобом (цитиколін), та інгібітором неоангіогенезу (афліберцепт), про що свідчить найбільш виражена нормалізація досліджуваних показників у 7-й групі, порівняно з іншими групами експерименту, в яких коригували патологічний процес ( $p < 0,001$ ).

11. Апробована розробка математичної моделі для прогнозу та оцінки ступеня тяжкості перебігу діабетичної ретинопатії. Отримане рівняння логістичної регресії має наступний вигляд

$$G(z) = \frac{e^{(-642,032 + 44,993 \cdot x_1 + 35,443 \cdot x_2 + 2,987 \cdot x_3)}}{1 + e^{(-642,032 + 44,993 \cdot x_1 + 35,443 \cdot x_2 + 2,987 \cdot x_3)}}$$

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Воробьева И. В., Репкина М. Ю. Практические рекомендации о наблюдении больных с диабетической ретинопатией. *РМЖ. Эндокринология*. 2009. Т. 17, № 24. С. 1591-1595.
2. Аметов А. С., Курочкин И. О., Зубков А. А. Сахарный диабет и сердечно-сосудистые заболевания . *РМЖ*. 2014. № 13. С. 954–959.
3. Prevention and treatment of diabetic retinopathy: evidence from clinical trials and perspectives / M. Abbate, P. Cravedi, I. Iliev et al. *Curr. Diabetes Rev.* 2011. Vol. 7. P. 190–200.
4. Воробьева И. В., Гигинеишвили Д. Н. Роль дисфункции эндотелия в патогенезе диабетической ретинопатии у больных сахарным диабетом 2 типа. Обзор. *Офтальмология*. 2012. Т. 9, № 3. С. 9–13.
5. American Diabetes Association: Standarts of medical care in diabetes. 2011. *Diabetes care*. 2011. Vol. 34, Suppl. 1. P. S4–88.
6. Шестакова М. В., Шамхалова М. Ш. Современный подход к профилактике и лечению диабетической ретинопатии: результаты исследования DIRECT, 2009. *Справочник поликлинического врача*. 2009. № 1. С. 3–39.
7. The autodigestion hypothesis and receptor cleavage in diabetes and hypertension / F. A. Delano, A. Y. Chen, K. I. Wu et al. *Drug Discov. Today Dis. Models*. 2011. Vol. 8. P. 37–46.
8. Wright A. D., Dodson P. M. Diabetic Retinopathy and Blockade of the Renin Angiotensin System: New Data from the DIRECT Study Programme. *Eye*. 2010. Vol. 24. P. 1–6.
9. Porta M., Maldari P., Mazzaglia F. New approaches to the treatment of diabetic retinopathy. *Diabetes Obes. Metab.* 2011. Vol. 13. P. 784–790.



10. Гаврилова Н. А., Тищенко О. Е. Влияние сулодексида на функциональное состояние эндотелия у больных сахарным диабетом и диабетической ретинопатией. *Сахарный диабет*. 2011. № 2. С. 66–68.

11. Астахов Ю. С., Шадричев Ф. Е., Лисочкина А. Б. Диабетическая ретинопатия. *Офтальмология – 2006. Клинические рекомендации / под ред. Л. К. Мошетовой, А. П. Нестерова, Е. А. Егорова*. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2006. С. 139–163.

12. Касаткина С. Г., Касаткин С. Н. Значение дисфункции эндотелия у больных сахарным диабетом 2-го типа. *Фундаментальные исследования*. 2011. № 7. С. 248–252.

13. Нероев В. В., Сарыгина О. И., Левкина О. А. Роль сосудистого эндотелиального фактора роста в патогенезе диабетической ретинопатии. *Вестник офтальмологии*. 2009. № 2. С. 58–60.

14. Колединцев М. Н., Верзин Р. А. Роль коррекции состояния эндотелия и базальной мембраны сосудистой стенки при диабетической ретинопатии. *Эффективная фармакотерапия. Эндокринология*. 2015. № 5. С. 43.

15. Балаболкин М. И. *Диабетология*. М. : Медицина, 2001. 320 с.

16. Дедов И. И., Мельниченко Г. А., Фадеев В. В. *Эндокринология: учебник*. М. : Медицина, 2000. 632 с.

17. Сдобникова С. В., Мирзабекова К. А. Патогенетические особенности и методы лечения различных стадий диабетической ретинопатии. *Вестник офтальмологии*. 2013. № 3. С. 54–57

18. Жабоедов Г. Д., Копаенко А. И. Нарушение антиэндотоксинового иммунного статуса у больных диабетической ретинопатией с сахарным диабетом типа 2. *Вестник офтальмологии*. 2005. Т. 121, № 6. С. 20–31.

19. Мохорт Т. В. Диабетическая ретинопатия: точка зрения эндокринолога, основанная на результатах многоцентровых исследований. *Офтальмология. Восточная Европа*. 2012. № 4. С. 102–118.

20. Петруня А. М., Маньковский Б. Н., Спектор А. В. Прогнозирование течения диабетической ретинопатии. *Український медичний альманах*. 2012. Т. 15, № 3. С. 9–10.

21. Гаврилова Н. А., Тищенко О. Е. Влияние сулодексида на функциональное состояние эндотелия у больных сахарным диабетом и диабетической ретинопатией. *Сахарный диабет*. 2011. № 2. С. 66–68.

22. Аметов А.С., Демидова Т. Ю., Косых С. А. Микроальбуминурия у больных сахарным диабетом 2 типа и артериальной гипертензией. Возможности терапии. *Проблемы эндокринологии*. 2005. Т. 51, № 4. С. 3–6.

23. Иванова Н. В., Ярошева Л. М., Ярошева Н. А. Консервативное лечение диабетической ретинопатии. *Офтальмология. Восточная Европа*. 2014. № 1. С. 141–151.

24. Галстян Г. Р. Хронические осложнения сахарного диабета: этиопатогенез, клиника, лечение. *Русский медицинский журнал*. 2002. Т. 10, № 27. С. 23–31.

25. Williamson J. R., Tilton R. G., Chang K. Basement membrane abnormalities in diabetes mellitus: relationship to clinical microangiopathy. *Diabetes Metabolism reviews*. 1998. Vol. 4. P. 339–370.

26. Эндотелий. Физиология и патология: монография / А. С. Кузнецова, А. И. Гоженко, Е. С. Кузнецова и др. Одесса : «Феникс», 2018. 284 с.

27. Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, Cushman M, et al. Heart disease and stroke statistic – 2016 update. A report from the American Heart Association. *Circulation*. 2016. Vol. 133, № 4. P. 38–360.

28. Excess mortality among persons with type 2 diabetes / M. Tancredi, A. Rosengren, A. M. Svensson et al. *N. Engl. J. Med.* 2015. Vol. 373, № 18. P. 1720–1732.

29. Clinical update: Cardiovascular disease in diabetes mellitus. Atherosclerotic cardiovascular disease and heart failure in type 2 diabetes mellitus.

Mechanisms, management, and clinical considerations / C. C. Low Wang, C. N. Hess, W. R. Hiatt, A. B. Goldfine. *Circulation*. 2016. Vol. 133. P. 2459–2502.

30. Мальцев Э. В., Зборовская А. В., Дорохова А. Э. Фундаментальные аспекты развития и лечения диабетической ретинопатии : монография. Одесса : Астропринт, 2018. 220 с.: ил.

31. Цитокины и их роль в патогенезе диабетической ретинопатии / Е. Б. Третьяк, О. Н. Сыроедова, О. Неухаус и др. *Вестник офтальмологии*. 2010. Vol. 126, № 6. P. 53–57.

32. Сердюк В. Н., Ищенко В. А. Содержание фактора некроза опухолей альфа в крови у пациентов с сахарным диабетом 2 типа на разных стадиях диабетической ретинопатии. *Офтальмология*. 2017. Т. 7, № 3. С. 264–271.

33. A central role for inflammation in the pathogenesis of diabetic retinopathy / A. M. Jousen, V. Poulaki, M. L. Le et al. *FASEB J*. 2004. Vol. 18. P. 1450–1452.

34. Baicalein reduces inflammatory process in a rodent model of diabetic retinopathy / Y. Li-ping, S. Hui-li, W. Le-meng et al. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2009. Vol. 50, № 5. P. 2319–2327.

35. Muller cell-derived VEGF is essential for diabetes-induced retinal inflammation and vascular leakage / W. Juanjuan, X. Xueliang, M. H, Elliot et al. *Diabetes*. 2010. Vol. 59. P. 2297–2305.

36. Tang J., Kern T. S. Inflammation in diabetic retinopathy. *Prog. Retin Eye Res*. 2011. Vol. 30. P. 343–358.

37. Therapeutic potential of monoclonal antibody blocking in WNT pathway in diabetic retinopathy / L. Kuong, H. Yang, D. Lexi et al. *Diabetes*. 2012. Vol. 61. P. 2948–2957.

38. Association of the TLR4 signaling pathway in the retina of streptozotokine-induced diabetic rats / W. Yang Ling, W. Kang, Y. Shu-Jing et al. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol*. 2015. Vol. 253, № 3. P. 389–398.

39. Kowluru R. A., Odenbach S. Role of interleukin-1b in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Br. J. Ophthalmol.* 2004. Vol. 88, № 10. P. 1343–1347.
40. Salicylate – based anti-inflammatory drugs inhibit the early lesion of diabetic retinopathy / Ling Zheng, S. J. Howell, D. A. Hatala et al. *Diabetes.* 2007. Vol. 56, № 2. P. 337–345.
41. Dachun Yao, Brownlee M. Hyperglycemia-induced reactive oxygen species increase expression of the receptor for advanced glycation end products (RAGE) and RAGE ligands. *Diabetes.* 2010. Vol. 59. P. 249–255.
42. Effect of the blockade of the IL-23-Th17-IL-17A pathway on streptozotocin-induced diabetic retinopathy in rats / Haiyan Xu, Min Cai, Z, Xuedong et al. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 2015. Vol. 253, № 9. P. 1485–1492.
43. Pathogenesis and intervention strategies in diabetic retinopathy / Yu. Dao-Yi, S. E. Cringle, Er Ning Su et al. *Clin. Exp. Ophthalmol.* 2001. Vol. 29, № 3. P. 164–166.
44. Воробьева И. В., Гигинеишвили Д. Н. Роль дисфункции эндотелия в патогенезе диабетической ретинопатии у больных сахарным диабетом 2 типа. *Офтальмология.* 2012. Т. 9, № 3. С. 9–12.
45. Шадричев Ф. Е., Григорьева Н. Н., Залевская А. Г. Дислипидемия и диабетическая ретинопатия. *Офтальмологические ведомости.* 2009. Т. II, № 4. С. 31–42.
46. Sacha E. Diabetic retinopathy. Current opinion on pathophysiology, diagnostics and therapy. *Przegl. Lek.* 2005. Vol. 62, № 4. P. 238–42
47. Garner A. Histopathology of diabetic retinopathy in man. *Eye.* 1993. Vol. 7, № 2. P. 250–253.
48. Цитокины и их роль в патогенезе диабетической ретинопатии / Е. Б. Третьяк, О. Н. Сыроедова, О. Неухаус и др. *Вестник офтальмологии.* 2010. Vol. 126, № 6. P. 53–57.

49. Lorenzi M., Mizutani M. New insights into the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Focus on diabetic retinopathy*. 1997. Vol. 4, № 3. P. 14–16.
50. Цисельский Ю. В. Основные аспекты патофизиологии диабетической ретинопатии и её следствий. *Эндокринология*. 2005. Vol. 10, № 1. P. 92–104.
51. Pericyte migration. A novel mechanism of pericyte loss in experimental diabetic retinopathy / F. Pfister, Yuxi Feng, M. vom Hagen et al. *Diabetes*. 2008. Vol. 57, № 9. P. 2495–2502.
52. Kohner E. M., Chibber R. The pathogenesis of diabetic retinopathy. *Europ. J. Ophthalmol.* 1995. Vol. 5, 2A suppl. P. 165.
53. Geographic distribution and morphology of the diabetic retinal microvascular abnormalities: A trypsin digestion study / A. W. Fryczkowski, N. P. Marsico, T. E. Whitaker et al. *Annals Ophthalmol.* 1997. Vol. 29, № 6. P. 367–373.
54. Hellstedt T., Immonen I. Disappearance and formation rates of microaneurysms in early diabetic retinopathy. *Br. J. Ophthalmol.* 1996. Vol. 80, № 2. P. 135–139.
55. Retinal neurodegeneration: early pathology in diabetes / E. Lieth, T. W. Gardner, A. J. Barber et al. *Clin. Exp. Ophthalmol.* 2000. Vol. 28, № 1. P. 3–8.
56. Леус Н. Ф. Метаболические механизмы развития и перспективы медикаментозного лечения диабетической ретинопатии. *Офтальмол. журнал*. 2003. № 5. P. 75–80.
57. Wolf G. Insulin resistance and obesity: resistin, a hormone secreted by adipose tissue. *Nutr. Rev.* 2004. Vol. 62, № 10. P. 389–394.
58. Малачкова Н. В., Кирилюк М. Л., Комаровская И. В. Связь уровня резистина в крови пациентов с диабетической ретинопатией при сахарном диабете 2 типа в сочетании с ожирением. *Офтальмол. журнал*. 2017. № 4. С. 9–13.

59. Protective effect of perindopril on diabetic retinopathy is associated with decreased vascular endothelial growth factor-to-pigment epithelium-derived factor ratio / Zhi Zheng, Haibin Chen, Genjie Ke et al. *Diabetes*. 2009. Vol. 58, № 4. P. 954–964.

60. Improvement of retinal vascular injury in diabetic rats by statins is associated with the inhibition of mitochondrial reactive oxygen species pathway mediated by peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator 1  $\alpha$  / Zhi Zheng, Haibin Chen, Hong Wang et al. *Diabetes*. 2010. Vol. 59. P. 2315–2325.

61. Mamta Kanwar, Kowluru R. A. Role of glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase in the development and progression of diabetic retinopathy. *Diabetes*. 2009. Vol. 58, № 1. P. 227–234.

62. Костин О. А, Тахчиди Х. П. Жидкие заместители стекловидного тела в лечении пролиферативной диабетической ретинопатии. Материалы VII съезда офтальмологов. 2000. С. 451.

63. Дислипедимия и диабетическая ретинопатия / Ф. А. Шадричев, Н. Н. Григорьева, А. Г. Залевская и др. Офтальмол. ведомости. 2009. Vol. II, № 4. P. 31–42.

64. Репкина М. Ю. О патогенезе диабетической ретинопатии. 2010. № 2. С. 42–46.

65. Цісельський Ю. В. Дисбіотичні аспекти патогенезу, профілактики і лікування діабетичної ретинопатії. 2011. 30 с.

66. Hepatocyte growth factor in vitreous and serum from patients with proliferative diabetic retinopathy / A. Canton, R. Burgos, C. Hernandez et al. *Br. J. Ophthalmol.* 2000. Vol. 16. P. 242–260.

67. Chiarelli F., Santilli F., Mohn A. Role of growth factors in the development of diabetic complications. *Horm. Res.* 2000. Vol. 53. P. 53–67.

68. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*. 2001. Vol. 414. P. 813–820.

69. Idris I., Gray S., Donnelly R. Protein kinase C activation: isozyme-specific effects on metabolism and cardiovascular complications in diabetes. *Diabetologia*. 2001. Vol. 44. P. 659–673.

70. Donnelly R., Idris I., Forrester J. V. Protein kinase C inhibition and diabetic retinopathy: a shot in the dark at translational research. *Br. J. Ophthalmol.* 2004. Vol. 88, № 1. P. 145–151.

71. Kroll P., Rodrigues E. B., Hoerle S. Pathogenesis and classification of proliferative diabetic vitreoretinopathy. *Ophthalmologica*. 2007. Vol. 221, № 2. P. 78–94.

72. Анти-VEGF препараты для лечения диабетической ретинопатии / А. Г. Кузьмин, Д. В. Липатов, О. М. Смирнова и др. *Офтальмохирургия*. 2009. № 3. С. 53–57.

73. Mamta Kanwar, Kowluru R. A. Role of glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase in the development and progression of diabetic retinopathy. *Diabetes*. 2009. Vol. 58, № 1. P. 227–234.

74. Abrogation of MMP-9 gene protects against the development of retinopathy in diabetic mice by preventing mitochondrial damage / R. A. Kowluru, G. Mohammed, J. dos Santos et al. *Diabetes*. 2011. Vol. 60. P. 3023–3033.

75. Могілевський С. Ю., Бушуєва О. В., Натрус Л. В. Особливості діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу. *Архів офтальмології України*. 2017. Т. 5, № 1. С. 37–44.

76. Воробьева И. В., Меркушенкова Д. А. Диабетическая ретинопатия у больных сахарным диабетом 2 типа. Эпидемиология, современный взгляд на патогенез. *Офтальмология*. 2012. Т. 9, № 4. С. 18–22.

77. Dao-Yi Yu., Cringle S. J. Oxygen distribution and consumption within the retina in vascularized and avascular retinas and in animal models of retinal diseases. *Prog. Retin Eye Res*. 2001. Vol. 20, № 2. P. 175–208.

78. Сдобникова С. В., Мирзабекова К. А. Патогенетические особенности и методы лечения различных стадий диабетической ретинопатии. *Вестник офтальмологии*. 2013. № 3. С. 54–57.

79. Балаболкин М. И., Клебанова Е. М., Кремнинская В. М. Патогенез ангиопатий при сахарном диабете. *Сахарный диабет*. 1999. № 1. С. 2–8.

80. Retina / S. J. Ryan, A. P. Schachat, C. P. Wilkinson et al. 5th ed. Elsevier Saunders, 2013. 2564 p.

81. Сорокин Е. Л., Смолякова Г. П. Структурно-функциональные особенности нарушений транскапиллярного обмена сетчатки у больных диабетической ретинопатией. *Вестник офтальмологии*. 1997. Т. 113, № 2. С. 16–18.

82. Характер поражения органа зрения у больных сахарным диабетом в Украине по данным обращаемости в институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова АМН Украины / Н. В. Пасечникова, С. К. Дмитриев, В. А. Науменко и др. *Офтальмол. журнал*. 2008. № 1. С. 47–50.

83. ICohner E. Diabetic retinopathy. *Br. Med. J.* 1993. Vol. 307. P. 1195–1198.

84. Кацнельсон Л. А., Форофонова Т. И., Бунин А. Я. Сосудистые заболевания глаза. М., 1990. 272 с.

85. Bloomgarden Z. T. Screening for and managing diabetic retinopathy: current approaches. *Am. J. Health Syst. Pharm.* 2007. Vol. 64. P. 8–14.

86. Можеренков В. П. Глазные проявления сахарного диабета. *Клиническая офтальмология*. 2002. Т. 3, № 1. С. 31–33.

87. Нестеров А. П. Роль местных факторов в патогенезе диабетической ретинопатии. *Вестник офтальмологии*. 1994. № 7. С. 7–9.

88. Сметанкин И. Г. Диабетическая ретинопатия: этиопатогенез, клиника, лечение. *Нижегородский медицинский журнал*. 2001. № 4. С. 103–108.



89. Сорокин Е. Л., Смолякова Г. П. Структурно-функциональные особенности нарушений транскапиллярного обмена сетчатки у больных диабетической ретинопатией. *Вестник офтальмологии*. 1997. Т. 113, № 2. С. 16–18.

90. Suzen S., Buyukbingol E. Recent studies of aldose reductase enzyme inhibition for diabetic complications. *Curr. Med. Chem.* 2003. Vol. 10, № 15. P. 1329–1352.

91. Ocular disease, knowledge and technology applications in patients with diabetes / J. Threatt, J. F. Williamson, K. Huynh, R. M. Davis. *Am. J. Med. Sci.* 2013. Vol. 345. P. 266–270.

92. Lorenzi M. The polyol pathway as a mechanism for diabetic retinopathy: attractive, elusive, and resilient. *Exp. Diabetes Res.* 2007. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1950230/>

93. Вербова Н. И., Лебедева Е. А. Роль гликозилированных продуктов метаболизма в формировании сосудистых осложнений сахарного диабета. *Проблемы эндокринологии*. 1997. Т. 43, № 1. С. 43–45.

94. Закери Т. Блумгарден Ежегодная конференция американской диабетической ассоциации. *Международный медицинский журнал*. 1999. Т. 22, № 4. С. 49–54.

95. Кацнельсон Л. А., Форофонова Т. И., Бунин А. Я. Сосудистые заболевания глаза. М., 1990. 272 с.

96. Giugliano D., Ceriello A., Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complication. *Diabetes Care*. 1996. Vol. 19. P. 257–267.

97. Патология мембраны тромбоцитов при сосудистых осложнениях диабета 1-го типа / Е. Б. Кравец, Н. В. Рязанцева, Н. М. Яковлева, О. М. Чудакова. *Проблемы эндокринологии*. 2006. Т. 52, № 6. С. 10–14.

98. Нестеров А. П. Диабетические поражения органов зрения. *Проблемы эндокринологии*. 1997. № 3. С. 16–19.

99. A role for the polyol pathway in the early neuroretinal apoptosis and glial changes induced by diabetes in the rat / V. Asnaghi, C. Gerhardinger, T. Hoehn et al. *Diabetes*. 2003. Vol. 52, № 2. P. 506–11.

100. Балаболкин М. И., Клебанова Е. М., Креминская В. М. Патогенез ангиопатий при сахарном диабете. *Сахарный диабет*. 1999. № 1. С. 2–8.

101. Гогина И. Ф. Аутоаллергические и аутоиммунные аспекты патогенеза непролиферативной и пролиферативной диабетической ретинопатии.. *Офтальмолог. журнал*. 1991. № 5. С. 286–290.

102. Изменения общего гемостаза у больных диабетической ретинопатией / В. Ю. Евграфов, О. А. Маркова, В. Л. Гришин, В. С. Ефимов. *Вестн. офтальмологии*. 2004. Т. 120, № 3. С. 29–31.

103. Балашова Л. М. Морфологические особенности и иммуногемостатические механизмы развития диабетической ретинопатии.. *Вестник офтальмологии*. 1999. Т. 115, № 5. С. 45–48.

104. Пространский М. П. О роли простациклина и тромбксана в патогенезе диабетической ретинопатии. Тез. докл. 8 Съезда офтальмологов Укр. ССР. Одесса, 1990. С. 405–406.

105. Антитела к коллагену 2 и 4 типов, фактор некроза опухоли альфа и циркулирующие иммунные комплексы в слезе и сыворотке крови у больных с различными стадиями диабетической ангиоретинопатии / Л. М. Балашова, Н. С. Зайцева, Л. Е. Теплинская, Л. В. Ковальчук. *Вестник офтальмологии*. 2000. Т. 116, № 3. С. 31–35.

106. Занозина О. В., Боровков Н. Н., Щербатюк Т. Г. Свободно-радикальное окисление при сахарном диабете 2-го типа: источники образования, составляющие, патогенетические механизмы токсичности. *Современные технологии в медицине*. 2010. № 3. С. 104–112.

107. Петруня А. М. Иммунные и микроциркуляторные нарушения у пациентов с диабетической ретинопатией и их коррекция. *Вестник офтальмологии*. 1996. Т. 122, № 1. С. 43–46.

108. Сорокин Е. Л., Смолякова Г. П. Структурно-функциональные особенности нарушений транскапиллярного обмена сетчатки у больных диабетической ретинопатией. *Вестник офтальмологии*. 1997. Т. 113, № 2. С. 16–18.

109. Чеснокова Н. Б., Кузнецова Т. П., Давыдова Г. А. Гиперлиппротеидемия и протеиназно-ингибиторный баланс у больных пролиферативной диабетической ретинопатией при наличии твердых экссудатов в сетчатке. *Вестник офтальмологии*. 1999. Т. 115, № 1. С. 14–16.

110. Винецкая М. И. Ферменты антирадикальной защиты и показатели перекисного окисления липидов слезы и крови у больных с диабетической ретинопатией. Тез. докл. 7 съезда офтальмологов России, 4.1. М., 2000. С. 423.

111. Ковалев В. Ю. Перекисное окисление липидов и состояние антиоксидантной системы у больных с диабетической ретинопатией. Тез. докл. 8 Съезда офтальмологов России. М., 2005. С. 403.

112. Жабоедов Г. Д. Иммунные механизмы пролиферации при диабетической ретинопатии. *Международный мед. журнал*. 2001. Т. 7, № 1. С. 48–50.

113. Жабоедов Г. Д., Скрипкин Р. Л., Сидорова М. В. Иммунопатологические процессы в сетчатке при развитии диабетической ретинопатии. *Вестник офтальмологии*. 2000. Т. 116, № 6. С. 36–39.

114. Проявление иммунопатологии и обоснование иммунотерапии диабетической ретинопатии / Н. С. Зайцева, Л. К. Дудникова, О. С. Слепова, Л. С. Ли. *Вестник офтальмологии*. 1997. Т. 113, № 1. С. 27–31.

115. Метаев С. А. Состояние системного и локального цитокинового иммунитета у пациентов с различной стадией пролиферативной диабетической ретинопатии. Тез. докл. 7 съезда офтальмологов России, 4.1. М., 2000. С. 460–461.

116. Doganay S., Evereklioglu C. Comparison of serum NO, TNF-alpha, IL-1 beta, sIL-2R, IL-6 and IL-8 levels with grades of retinopathy in patients with diabetes mellitus. *Eye*. 2002. Vol. 16, № 2. P. 163–170.

117. Kawashima M., Shoji J. Soluble IL-6 receptor in vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy.. *Jpn. J. Ophthalmol.* 2007. Vol. 51, № 2. P. 100–104.

118. Активность ангиотензинпревращающего фермента в крови и слезе у больных диабетической ретинопатией / В. В. Нероев, Н. Б. Чеснокова, Т. Д. Охочимская и др. *Вестник офтальмологии*. 2006. Т. 122, № 3. С. 11–13.

119. Функциональная диагностика ретинальной ишемии. Сообщение 1. Реакция мюллеровских клеток на ранних стадиях диабетической ретинопатии / В. В. Нероев, М. В. Зуева, И. В. Цапенкой др. *Вестник офтальмологии*. 2004. Т. 120, № 6. С. II–IS.

120. Функциональная диагностика ретинальной ишемии. Сообщение 2. Роль мюллеровских клеток в развитии неоваскуляризации сетчатки при диабетической ретинопатии / В. В. Нероев, М. В. Зуева, И. В. Цапенкой др. *Вестник офтальмологии*. 2005. Т. 121, № 1. С. 22–24

121. Дедов И. И. Сахарный диабет: ретинопатия, нефропатия. М., 2001. С. 175.

122. Роль ренин-ангиотензиновой системы в патогенезе диабетической ретинопатии / М. Т. Азнабаев, У. Р. Алтынбаев, И. Н. Сережин, А. Р. Шамратова. *Проблемы эндокринологии*. 2006. Т. 52, № 1. С. 47–49.

123. Сорокин Е. Л. Значение симпатико-адреналовой системы и коры надпочечников в развитии диабетической микроангиопатии сетчатки.. *Проблемы эндокринологии*. 1998. Т. 44, № 6. С. 6–9.

124. Жабоедов Г. Д., Сидорова М. В., Скрипник Р. Л. Содержание Т-лимфоцитов и экспрессия молекулы адгезии ICAM-1 в сетчатке и хориоиде глаза при диабетической ретинопатии. *Вестник офтальмологии*. 2000. Т. 117, № 5. С. 41–43.

125. Wilkinson-Berka J. L., Wraight C., Werther G. The role of growth hormone, insulin-like growth factor and somatostatin in diabetic retinopathy. *Curr. Med. Chem.* 2006. Vol. 13, № 27. P. 3307–3317.

126. Noma H., Funatsu H., Yamashita H. Regulation of angiogenesis in diabetic retinopathy: possible balance between vascular endothelial growth factor and endostatin. *Arch. Ophthalmol.* 2002. Vol. 120, № 8. P. 1075–1080.

127. Ермакова Н. А., Сыроедова О. Н., Анциферов М. Б. Роль фактора роста эндотелия сосудов в развитии диабетической ретинопатии у больных сахарным диабетом 1-го типа. *Вестник офтальмологии.* 2008. Т. 124, № 1. С. 25–28.

128. Антитела к коллагену 2 и 4 типов, фактор некроза опухоли альфа и циркулирующие иммунные комплексы в слезе и сыворотке крови у больных с различными стадиями диабетической ангиоретинопатии / Л. М. Балашова, Н. С. Зайцева, Л. Е. Теплинская, Л. В. Ковальчук. *Вестник офтальмологии.* 2000. Т. 116, № 3. С. 31–34.

129. Сравнительное исследование роли цитокинов при различных формах глазных заболеваний / О. С. Слепова, В. П. Макарова, В. Н. Кушнир, Г. Ю. Захарова. *Вестник офтальмологии.* 1998. Т. 114, № 3. С. 28–32.

130. Doganay S., Evereklioglu C. Comparison of serum NO, TNF-alpha, IL-1 beta, sIL-2R, IL-6 and IL-8 levels with grades of retinopathy in patients with diabetes mellitus. *Eye.* 2002. Vol. 16, № 2). P. 163–170.

131. Сакович В. Н., Ахмад Абед Аль Рахим Абдаллах Акрабави Влияние никотинамида и содержащих его препаратов на состояние биоэнергетических процессов в сетчатке при экспериментальном диабете. *Офтальмологический журнал.* 2013. № 6. С. 79–85.

132. Маслова О. В., Сунцов Ю. И. Эпидемиология сахарного диабета и микрососудистых осложнений. *Сахарный диабет.* 2011. № 3. С 7–11

133. Roesch K. Gene expression changes within Müller glial cells in retinitis pigmentosa Mol / K. Roesch, M. B. Stadler, C. L. Cepko. *Vis.* 2012. Vol. 18. P. 1197–1214.

134. Predicting development of proliferative diabetic retinopathy / K. H. Nwanyanwu et al. *Diabetes Care.* 2013. Vol. 36, № 6. P. 1562–1568.

135. Siu T. L., Morley J. W., Coroneo M. T. Toxicology of the retina: advances in understading the defence mechanisms and pathogenesis of drug- and light-induced retinopathy. *Clin. Exp. Ophthalmol.* 2008. Vol. 36. P. 176–185.

136. Sosenko J. M., Palmer J. P., Greenbaum C. J. Patterns of metabolic progression to type 1 diabetes in the diabetes prevention trial-type 1. *Diabetes Care.* 2006. Vol. 29. P. 643–649.

137. Berezin A. Metabolic memory phenomenon in diabetes mellitus: Achieving and perspectives. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clin. Res. & Reviews.* 2016. Vol. 10, № 2. P. 176–183.

138. Trends in the prevalence of diabetes and impaired fasting glucose in association with obesity in Iran: 2005–2011 / A. Esteghamati et al. *Diabetes Research Clinical Practice.* 2014. Vol. 103, № 2. P. 319–327

139. Impact of HbA1c, followed from onset of type 1 diabetes, on the development of severe retinopathy and nephropathy: the VISS Study (Vascular Diabetic Complications in Southeast Sweden) / M. Nordwall et al. *Diabetes Care.* 2015. Vol. 38, № 2. P. 308–315.

140. Proteasome Dysfunction Associated to Oxidative Stress and Proteotoxicity in Adipocytes Compromises Insulin Sensitivity in Human Obesity. / A. Díaz-Ruiz, R. Guzmán-Ruiz, N. R. Moreno et al. *Antioxidants and Redox Signaling.* 2015. Vol. 23, № 7. P. 597–612.

141. Балаболкин М. И., Занозина О. В. Необходимость и достаточность использования антиоксидантов в терапии больных сахарным диабетом 2-го типа. *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* 2006. С. 112–118.

142. Frequency and risk factors for neovascular glaucoma after vitrectomy in eyes with proliferative diabetic retinopathy / A. Goto et al. *J. Glaucoma*. 2013. Vol. 22, № 7. P. 572–576.

143. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus / American Diabetes Association et al. *Diabetes care*. 2014. Vol. 37. Suppl. 1. P. 81–90.

144. Obrosova I. G., Drel V. R., Kumagai A. K. Early diabetes-induced biochemical changes in the retina: comparison of rat and mouse models. *Diabetologia*. 2006. Vol. 49. P. 13–17

145. Microvascular damage in type 1 diabetic patients is reversed in the first year after simultaneous pancreas–kidney transplantation / M. Khairoun et al. *Am. J. Transplantation*. 2013. Vol. 13, № 5. P. 1272–1281

146. Stitt A. W., McGoldrick C., Rice-McCaldin A. Impaired retinal angiogenesis in diabetes. *Diabetes*. 2005. Vol. 54. P. 785–794.

147. Полякова М. А., Гаврилова Н. А. Современные представления о патогенетических механизмах развития диабетической оптической нейропатии. *Патол. физиология и эксперим. терапия*. 2012. № 3. С.129–132

148. Воробьева И. В. Современные подходы к ранней диагностике, патогенетическому лечению диабетической ретинопатии. *Вестник офтальмологии*. 2016. № 5. С.60–67

149. Ермакова Н. А. Диабетическая ретинопатия. Клиника, диагностика, классификация, лечение. *Клинич. офтальмология*. 2013. № 1. С. 33.

150. Мальцев Э. В., Зборовская А. В., Дорохова А. Э. Роль непосредственной васкуляризации сетчатки в нейропротекции ее структур при развитии диабетической нейропатии. Филатовские чтения – 2015 : материалы науч.-практ. конф. с междунар. участием, посв. 140-летию со дня рождения акад. В. П. Филатова, 21-22 мая 2015 г. Одесса, 2015. С. 131–132.

151. Barile G. R., Pachydaki S. I., Tari S. R. The RAGE axis in early diabetic retinopathy. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2005. Vol. 46. P. 2916–2924.

152. Butty V., Campbell C., Mathis D. Impact of diabetes susceptibility loci on progression from prediabetes to diabetes in at-risk individuals of the diabetes prevention Trial-Type 1 (DPT-1). *Diabetes.* 2008. Vol. 57. P. 2348–2359.

153. Baicalein reduces inflammatory process in a rodent model of diabetic retinopathy / L. Yang, H. Sun, L. Wu et al. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2011. Vol. 50. P. 2319–2327

154. The effects of medical management on the progression of diabetic retinopathy in persons with type 2 diabetes: the Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes (ACCORD) eye study / E. Y. Chew, M. D. Davis, R. P. Danis et al. *Ophthalmology.* 2014. Vol. 121. P. 2443–2451.

155. High Serum Bilirubin Levels and Diabetic Retinopathy: The Hisayama Study / Yasuda Miho, Kiyohara Yutaka, Wang Jie Jin et al. *Am. Acad. Ophthalmol.* 2011. Vol. 118, № 7. P. 1423–1428.

156. Dervan E., Lillis D., Flynn L. Factors that influence the patient uptake of diabetic retinopathy screening. *Irish J. Med. Sci.* 2008. Vol. 177. P. 303–308.

157. Trillo A. H. The impact of visual and non-visual factors on quality of life and adaptation in adult with visual impairment.. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2012. Vol. 53, № 7. P. 4234–4241.

158. Guidry C., King J. L., Mason J. O. Fibrocontractive muller cell phenotypes in proliferative diabetic retinopathy. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2009. Vol. 50. P. 1929–1939.

159. Joly S., Pernet V., Dorfman A. L. Light-induced retinopathy: comparing adult and juvenile rats. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2006. Vol. 47. P. 3202–3213.

160. Santos J. M., Tewari S., Kowluru R. A. Compensatory mechanism protects retinal mitochondria from initial insult in diabetic retinopathy. *Free Radical Biology and Medicine.* 2012. Vol. 53, № 9. P. 1729–1737



161. Photoreceptor cells are major contributors to diabetes-induced oxidative stress and local inflammation in the retina / Y. Du et al. *Proceedings National Acad. Sciences*. 2013. Vol. 110, № 41. P. 16586–16591.

162. Ethnic differences in glycemic markers in patients with type 2 diabetes / B. H. R. Wolffenbuttel et al. *Diabetes care*. 2013. Vol. 36, № 10. P. 2931–2936.

163. Дедов И. И., Сунцов Ю. И., Маслова О. В. Скрининг осложнений сахарного диабета как метод оценки лечебно-профилактической помощи больным. *Проблемы эндокринологии*. 2010. № 1. С. 3–8.

164. Сидорова М. В. Диабетическая ретинопатия. Патогенез, клиника, лечение : монография. Киев : СМП «АВЕРС», 2006. 156 с.

165. Weerasekera L. Y., Balmer L. A., Ram R. Characterization of Retinal Vascular and Neural Damage in a Novel Model of Diabetic Retinopathy. *Investigative Ophthalmol. and Vis. Sci*. 2015. Vol. 56, № 6. P. 3721–3730.

166. Connective tissue growth factor is involved in structural retinal vascular changes in long-term experimental diabetes / R. J. Van Geest et al. *J. Histochemistry Cytochemistry*. 2014. Vol. 62, № 2. P. 109–118.

167. Schwartz S. G., Brantley M. A., Flynn H. W. Genetics and diabetic retinopathy. *Current Diabetes Reviews*. 2013. Vol. 9, № 1. P. 86–92.

168. Diabetes in older adults / M. S. Kirkman et al. *Diabetes care*. 2012. Vol. 35, № 12. P. 2650–2664.

169. Pannicke T., Iandiev I., Wurm A. Diabetes alters osmotic swelling characteristics and membrane conductance of glial cells in rat retina. *Diabetes*. 2006. Vol. 55. P. 633–639.

170. Мальцев Э. В., Зборовская А. В., Дорохова А, Э. Роль и место нейродегенерации в патогенезе диабетической нейропатии. Сравнительное моделирование. Актуальні питання офтальмології : матеріали наук.-прак. конф. офтальмологів Закарпатської, Львівської, Івано-Франківської, Тернопільської, Чернівецької областей, 26–27 квітня 2012 р. Ужгород, 2012. С. 121–123.

171. Скибчик В. А., Соломенчук Т. М. Риск микро- и макрососудистых осложнений у больных сахарным диабетом. *Международ. эндокринолог. журнал.* 2006. № 1. С. 61–68.

172. Caballero S., Sengupta N., Afzal A. Ischemic vascular damage can be repaired by healthy, but not diabetic, endothelial progenitor cells. *Diabetes.* 2007. Vol. 56. P. 960–967.

173. Науменко В. А., Крыжова Н. Н. Критерии ранней диагностики пролиферативной стадии диабетической ретинопатии. *Офтальмология. Восточная Европа.* 2013. № 1 (16). С. 82–87.

174. Сидорова М. В. Диабетическая ретинопатия. Патогенез, клиника, лечение : монография. Киев : СМП «АВЕРС», 2006. 156 с.

175. Титов В. Н. Становление в филогенезе, этиология и патогенез синдрома резистентности к инсулину. Отличия от сахарного диабета второго типа. *Вестн. Рос. акад. мед. наук.* 2012. № 4. С. 65–73.

176. Nittala K., Forsblom C., Summanen P. Heritability of proliferative diabetic retinopathy. *Diabetes.* 2008. Vol. 57. P. 2176–2180.

177. Li B., Zhang H.-Q., Shi Y. Over expression of nuclear transport factor 2 may protect against diabetic retinopathy. *Mol. Vis.* 2009. Vol. 15. P. 861–869.

178. Шуко А. Г., Зайцева Н. В., Злобин И. В. Изменение уровня внутриглазных цитокинов у пациентов с сосудистой и неоваскулярной патологией сетчатки в зависимости от активности патологического процесса. *Вестн. Офтальмологии.* 2013. Т. 129, № 3. С. 74–77.

179. Adamiec-Mroczek J., Oficjalska-Mlynczak J., Misiuk-Hojlo M. Proliferative diabetic retinopathy – the influence of diabetes control on the activation of the intraocular molecule system. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2009. Vol. 21. P. 145–148

180. Risk factors for proliferative diabetic retinopathy in a Latino American population / M. G. Nittala et al. *Retina.* 2014. Vol. 34, № 8. P. 1594.

181. Perche O., Doly M., Ranchon-cole I. Caspase-dependent apoptosis in light-induced retinal degeneration. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2007. Vol. 48. P. 2753–2759.

182. Upregulation of Glutamate–Aspartate Transporter by Glial Cell Line–Derived Neurotrophic Factor Ameliorates Cell Apoptosis in Neural Retina in Streptozotocin - Induced Diabetic Rats / L. Wang et al. *CNS Neuroscience Therapeutics*. 2013. Vol. 19, № 12. P. 945–953.

183. Bloomgarden Z. T. Diabetic retinopathy and diabetic neuropathy. *Diabetes Care*. 2007. Vol. 30, № 3. P. 760–765.

184. Ceriello A. Postprandial hyperglycemia and diabetes complications. *Diabetes*. 2005. Vol. 54. P. 1–7

185. Kassab A., Piwowar A. Cell oxidant stress delivery and cell dysfunction onset in type 2 diabetes. *Biochimie*. 2012. Vol. 94, № 9. P. 1837–1848.

186. Obrosova I. G., Drel V. R., Kumagai A. K. Early diabetes-induced biochemical changes in the retina: comparison of rat and mouse models. *Diabetologia*. 2006. Vol. 49. P. 13–17

187. Jeppesen P. B., SYu M., Chuyko A. L. Influence of various vitamin B6 forms on the level of lipid peroxidation in the retina of the animal in streptozotocine diabetes. Проблемы экологической и медицинской генетики и клинической иммунологии. 2010. Vol. 6, № 103. P. 228–239.

188. Parkin C. G., Davidson J. A. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement from the American diabetes association and the European and the European association for the study of diabetes. *Diabetes Care*. 2007. Vol. 30, № 1. P. 192–193.

189. Idris I., Warren G., Donnelly R. Association between thiazolidinedione treatment and risk of macular edema among patients with type 2 diabetes. *Archives of Internal Medicine*. 2012. Vol. 172, № 13. P. 1005–1011.

190. Yadav U. C. S., Srivastava S. K., Ramana K. V. Prevention of VEGF-induced growth and tube formation in human retinal endothelial cells by aldose Reductase Inhibition. *J. Diabetes and its Complications*. 2012. Vol. 26, № 5. P. 369–377.

191. Upregulation of Glutamate–Aspartate Transporter by Glial Cell Line–Derived Neurotrophic Factor Ameliorates Cell Apoptosis in Neural Retina in Streptozotocin - Induced Diabetic Rats / L. Wang et al. *CNS Neuroscience Therapeutics*. 2013. Vol. 19, № 12. P. 945–953.

192. Reddy G. B., Satyanarayana A., Balakrishna N. Erythrocyte aldose reductase activity and sorbitol levels in diabetic retinopathy. *Mol. Vis.* 2008. Vol. 14. P. 593–601.

193. Sun W., Oates P. J., Coutcher J. B. A selective aldose reductase inhibitor of a new structural class prevents or reverses early retinal abnormalities in experimental diabetic retinopathy. *Diabetes*. 2006. Vol. 55. P. 2757–2762.

194. Hashim Z., Zarina S. Osmotic stress induced oxidative damage: possible mechanism of cataract formation in diabetes. *J. of diabetes and its complications*. 2012. Vol. 26, № 4. P. 275–279.

195. Unlocking the biology of RAGE in diabetic microvascular complications / M. B. Manigrasso et al. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2014. Vol. 25, № 1. P. 15–22.

196. The Role of Oxidative Stress in Diabetic Neuropathy: Generation of Free Radical Species in the Glycation Reaction and Gene Polymorphisms Encoding Antioxidant Enzymes to Genetic Susceptibility to Diabetic Neuropathy in Population of Type I. Diabetic Patients / M. A. Babizhayev, V. V. Nosikov, I. A. Stokov et al. *Cell Biochem. and Biophys.* 2015. Vol. 71, № 3. P. 1425–1443.

197. Photoreceptor cells are major contributors to diabetes-induced oxidative stress and local inflammation in the retina / Y. Du et al. *Proceedings National Acad. Sciences*. 2013. Vol. 110, № 41. P. 16586–16591.

198. Schaffer S. W., Jong C. J., Mozaffari M. Role of oxidative stress in diabetes-mediated vascular dysfunction: unifying hypothesis of diabetes revisited. *Vascular Pharmacology*. 2012. Vol. 57, № 5. P. 139–149.

199. Пасечникова Н. В., Науменко В. А., Метелиціна І. П. Исследование уровня некоторых про- и противовоспалительных цитокинов при развитии и прогрессировании диабетической ретинопатии. *Укр. мед. альманах*. 2009. Т. 12, № 6. С. 140–142.

200. Пасечникова Н. В., Метелиціна І. П., Науменко В. А. Изменение уровня некоторых про – и противовоспалительных цитокинов у больніх диабетической ретинопатией после лазернойкоагуляции сетчатки. *Офтальмол. журнал*. 2010. № 2. С. 4–7.

201. Barber A. J., Gardner T. W., Abcouwer S. F. The Significance of Vascular and Neural Apoptosis to the Pathology of Diabetic Retinopathy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2011. Vol. 52. P. 1156–1163.

202. Gálvez M. I. Rubosixtaurin and other PKC inhibitors in diabetic retinopathy and macular edema. *Curr. Diabetes Rev.* 2009 .Vol. 5, № 1. P. 14–17.

203. Cohen R. M., LeCaire T. J., Lindsell C. J. Relationship of prospective GHb to glycated serum proteins in incident diabetic retinopathy. *Diabetes Care*. 2008. Vol. 31. P. 151–153.

204. Maessen D. E. M., Stehouwer C. D. A., Schalkwijk C. G. The role of methylglyoxal and the glyoxalase system in diabetes and other age-related diseases. *Clinical Science*. 2015. Vol. 128, № 12. P. 839–861.

205. Дедов І. І., Петеркова В. А., Кураева Т. Л. Российский консенсус по терапии сахарного диабета у детей и подростков. *Сахарный диабет*. 2010. Т. 13, № 5. С. 1–8.

206. Pavlyuchenko K., Oleynyk T., Korobova A. The progression of diabetic retinopathy in type 2 of diabetes mellitus and its treatment with statins. Congress of the European Society of Ophthalmology (SOE 2013) : abstracts, 8–11 June 2013. Copenhagen, Denmark, 2013. P. 15.

207. Roesch K., Stadler M. B., Cepko C. L. Gene expression changes within Müller glial cells in retinitis pigmentosa. *Mol. Vis.* 2012. Vol. 18. P. 1197–1214.

208. Kaur H., Chen S., Xin X. Diabetes-induced extracellular matrix protein expression is mediated by transcriptional coactivator p300. *Diabetes.* 2006. Vol. 55. P. 3104–3111.

209. Hereditary spastic paraplegia: clinical-genetic characteristics and evolving molecular mechanisms / T. L. Giudice et al. *Experimental.* 2014. Vol. 261. P. 518–539.

210. Oshitari T., Yamamoto S., Hata N. Mitochondria- and caspase-dependent cell death pathway involved in neuronal degeneration in diabetic retinopathy. *Br. J. Ophthalmol.* 2008. Vol. 92. P. 552–556.

211. Reusch J. E. B., Bridenstine M., Regensteiner J. G. Type 2 diabetes mellitus and exercise impairment. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders.* 2013. Vol. 14, № 1. P. 77–86.

212. Klaassen I., Van Noorden C. J. F., Schlingemann R. O. Molecular basis of the inner blood-retinal barrier and its breakdown in diabetic macular edema and other pathological conditions. *Progress Retinal Eye Research.* 2013. Vol. 34. P. 19–48.

213. An integrated index for the identification of diabetic retinopathy stages using texture parameters / U.R.Acharya et al. *Journal of Medical Systems.* 2012. Vol. 36, № 3. P. 2011–2020

214. Веселовская Н. М., Жеребко І. Б., Кухар Н. В. Досвід лікування діабетичного макулярного набряку в пацієнтів із цукровим діабетом 2-го типу і на тлі корекції ліпідного обміну. *Офтальмологія.* 2016. № 2, т. 02. С. 169–177.

215. Vascular endothelial growth factor and diabetic retinopathy: role of oxidative stress / R. B. Caldwell, M. Bartoli, M. A. Behzadian et al. *Curr. Drug Targets.* 2005. Vol. 6, № 4. P. 511–524.

216. Maltsev E., Zborovska O., Dorokhova O. Neurodegenerative changes in the retina in dithizone model of diabetes mellitus. 13th Euretina Congress : programme, 26-29 September 2013. Hamburg, 2013. P. 94.

217. Inhibition of aldose reductase by *Gentiana lutea* extracts / C. Akileshwari et al. *Experimental Diabetes Research*. 2012. 15 p.

218. Тиханов В. И. Сопоставление результатов перекисного (свободнорадикального) окисления липидов печени на фоне введения гексаметония и 3-часового охлаждения животных с результатами индуцированного перекисного окисления липидов микросом печени в присутствии гексаметония *in vitro*. *Дальневосточ. мед. журнал*. 2016. № 1. С. 82–85.

219. Nentwich M. M., Ulbig M. W. Diabetic retinopathy-ocular complications of diabetes mellitus. *World J. Diabetes*. 2015. Vol. 6, № 3. P. 489.

220. Muranaka K., Yanagi Y., Tamaki Y. Effect of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  and its ligand on blood-retinal barrier in a streptozotocin-induced diabetic model. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2006. Vol. 47. P. 4547–4552.

221. Терещенко А. В., Белый Ю. А., Ковалевская М. А. К вопросу оценки эффективности анти-VEGF-терапии макулярного отека при ВМД. *Офтальмохирургия*. 2014. № 4. С. 95–100

222. Binion D. G., Otterson M. F., Rafiee P. Curcumin inhibits VEGF-mediated angiogenesis in human intestinal microvascular endothelial cells through COX-2 and MAPK inhibition. *Gut*. 2008. Vol. 57. P. 1509–1517.

223. Polyethylene glycol-modified pigment epithelial-derived factor: new prospects for treatment of retinal neovascularization / Y. J. Bai, L. Z. Huang, X. L. Xu et al. *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 2012. Vol. 342, № 1. P. 131–139.

224. Lorenzi M., Cagliero E. Pathobiology of endothelial and other vascular cells the cellular perspective. *Diabetes*. 1991. Vol. 9. P. 223–227.

225. Пузик С. Г. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе артериальной гипертензии и прогрессировании атеросклероза. *Семейная медицина*. 2018. № 2 (76). С. 69–74.

226. Билецкий С. В., Билецкий С. С. Эндотелиальная дисфункция и патология сердечно-сосудистой системы. *Внутр. мед.* 2008. Т. 2, № 8. С. 36–4.

227. Ельский В. Н., Ватутин Н. Т., Калинкина Н. В. Роль дисфункции эндотелия в генезе сердечно-сосудистых заболеваний. *Ж-л АМН України*. 2008. № 14. С. 51–62.

228. Сторожаков Г. И., Верещагина Г. С., Малышева Н. В. Эндотелиальная дисфункция при артериальной гипертензии у пациентов пожилого возраста. *Клин. геронтол.* 2003. № 1 (9). С. 23–28.

229. Петрищев Н. Н. Физиология и патофизиология эндотелия. Дисфункция эндотелия: причины, механизмы, фармакологическая коррекция. Санкт Петербург : СпбгМУ, 2003. 181 с.

230. Корж А. Н. Современные представления о структуре, функции и биологической роли сосудистого эндотелия. *Международ. мед. журн.* 2003. № 1. С. 130–134.

231. Калинкина Н. В., Кашанская О. К., Кетинг Е. В. Ремоделирование артерий при сердечно-сосудистых заболеваниях. *Серце і судини*. 2004. № 4. С. 87–91.

232. Tentolouris N., Liatis S., Katsilambros T. Sympathetic system activity in obesity and metabolic syndrome. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2006. Vol. 1083. P. 129–152

233. Гетьман О. И., Гирич В. В. Динамика показателей содержания оксида азота и продуктов перекисного окисления липидов у больных с артериальной гипертензией. *Укр. терапевт. журн.* 2011. № 3. С. 89–92.



234. Edwards G., Feletou M., Weston A.H. Endothelium-derived hyperpolarising factors and associated pathways: a synopsis. *Pflugers Arch.* 2010. Vol. 459. P. 863–79.

235. Viridis A, Ghiadoni L, Taddei S. Human endothelial dysfunction: EDCFs. *Pflugers Arch.* 2010. Vol. 459. P. 1015–23.

236. Assessment of atherosclerosis: the role of flow-mediated dilatation / M. Charakida, S. Masi, T. F. Luscher et al. *European Heart Journal.* 2010. Vol. 31. P. 2854–2861.

237. Эффективность ингибиторов NO-синтаз при воспалении / О. Попович, Е. Страту, Я. Корецкий, В. Гикавый. *Вестник современной науки.* 2016. № 10. С.104–108.

238. Метельская В. А., Гуманова Н. Г. Оксид азота: роль в регуляции биологических функций, методы определения в крови человека. *Лабораторная медицина.* 2005. № 7. С. 19–23.

239. Гришина Г. В. Применение регуляторов синтеза оксида азота при инфузионной терапии геморрагического шока в эксперименте : автореф. дис. ... канд. биол. наук. СПб., 2014. 23 с.

240. Stimulation of the nitric oxide synthase pathway in human hepatocytes by cytokines and endotoxin / A. K. Nussler, M. Di Silvio, T.R. Billiar et al. *J. Exp. Med.* 1992. Vol. 176. P. 261–264.

241. Малкоч А. В., Майданник В. Г., Курбанов Э. Г. Физиологическая роль оксида азота в организме. *Нефрология и диализ.* 2000. № 1–2. С. 69–75.

242. Macrophage oxidation of L-arginine to nitrite and nitrate: nitric oxide is an intermediate / M. A. Marletta, P. S. Yoon, R. Iyengar et al. *Biochemistry.* 1988. № 27. P. 8706–8711

243. Lowenstein C. J., Dinerman J. L., Snyder S. H. Nitric oxide: a physiologic messengers. *Ann. intern. Med.* 1994. Vol. 120. P. 227–237.

244. Murad F. The nitric oxide-cyclic GMP signal transduction system for intracellular and intercellular communication. *Recent. Prog. Horm. Res.* 1994. Vol. 49. P. 239–248.

245. Fleming I., Busse R. NO: the primary EDRF. *J. Mol. Cell Cardiol.* 1999. Vol. 31. P. 5–14.

246. Murad F. Discovery of some of the biological effects of nitric oxide and its role in cell signaling. *Biosci. Rep.* 1999. Vol. 19. P. 133–154.

247. Wink D. A., Mitchell J. B. Chemical biology of nitric oxide: insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. *Free Radic. Biol. Med.* 1998. Vol. 25. P. 434–456.

248. Davis KL, Martin E, Turko IV, Murad F. Novel effects of nitric oxide. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2001. Vol. 41. P. 203–236.

249. Moncada S., Palmer R. M. J., Higgs E. A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol. Rev.* 1991. Vol. 43. P. 109–142.

250. Murad F. Discovery of some of the biological effects of nitric oxide and its role in cell signaling. *Biosci. Rep.* 1999. Vol. 19. P. 133–154.

251. Fleming I., Busse R. NO: the primary EDRF. *J. Mol. Cell Cardiol.* 1999. Vol. 31. P. 5–14.

252. Traub O., Berk B. C. Laminar shear stress. *Arterioscl. Thromb. Vasc. Biol.* 1998. Vol. 18. P. 677–693.

253. Regulation of endothelial cell nitric oxide synthase mRNA expression by shear stress / M. Uematsu, Y. Ohara, J. P. Navas et al. *Am. J. Physiol.* 1995. Vol. 269. P. 1371–1381.

254. Hypertension in mice lacking the gene for endothelial nitric oxide synthase / P. L. Huang, Z. Huang, H. Mashimo et al. *Nature.* 1995. Vol. 377. P. 239–242.

255. Endothelial nitric oxide synthase gene expression is positively associated with essential hypertension / Y. Miyamoto, Y. Saito, N. Kajiyama et al. *Hypertension.* 1998. Vol. 32. P. 3–8.

256. NOS3 genotype-dependent correlation between blood pressure and physical activity / T. Kimura, T. Yokoyama, Y. Matsumura et al. *Hypertension*. 2003. Vol. 41. P. 355–360.

257. Wink D. A., Mitchell J. B. Chemical biology of nitric oxide: insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. *Free Radic. Biol. Med.* 1998. Vol. 25. P. 434–456.

258. Production and storage of nitric oxide in adaptation to hypoxia / E. B. Manukhina, I. Yu. Malyshev, B. V. Smitin et al. *Nitric Oxide: Biol. & Chem.* 1999. Vol. 3. P. 393–401.

259. Дзугкоев С. Г., Дзугкоева Ф. С., Метельская В. А. Роль оксида азота в формировании эндотелиальной дисфункции при сахарном диабете. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика* 2010. № 9 (8). С. 63–68.

260. Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes*. 2005. Vol. 54. P. 1615–25.

261. Why to screen heart disease in diabetes / G. P. Fadini, S. V. de Kreutzenberg, A. Tiengo, A. Avogaro. *Atherosclerosis*. 2009. Vol. 204. P. 11–15.

262. Clinical value of the metabolic syndrome for long-term prediction of total and cardiovascular mortality: prospective, population-based cohort study / J. Sundstrom, U. Riserus, L. Byberg et al. *Br. Med. J.* 2006. Vol. 332. P. 878–882.

263. High risk of cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes in the UK: a cohort study using the general practice research database / S. S. Soedamah-Muthu, J. H. Fuller, H. E. Mulnier et al. *Diabetes Care*. 2006. Vol. 29. P. 798–804.

264. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001. Vol. 285. P. 2486–2497.

265. Shabab A. Why does diabetes mellitus increase the risk of cardiovascular disease? *Acta Med. Indones.* 2006. Vol. 38. P. 33–41.

266. Бувальцев В. И. Дисфункция эндотелия как новая концепция профилактики и лечения ИБС. *ММЖ.* 2001. № 3. P. 202–208.

267. Endothelial dysfunction in diabetes / A. S. De Vriese, T. J. Verbeuren, J. Van de Voorde et al. *Br. J. Pharmacol.* 2000. Vol. 130, № 5. P. 963–974.

268. Метельская В. А., Гуманова Н. Г. Оксид азота: роль в регуляции биологических функций, методы определения в крови человека. *Лаб. мед.* 2005. № 7. С. 19–24.

269. Murad F. Discovery of some of the biological effects of nitric oxide and its role in cell signaling. *Biosci. Rep.* 1999. Vol. 19. P. 133–54.

270. Isoforms of nitric oxide synthase: characterization and purification from different cell types / U. Forstermann et al. *Biochem. Pharmacol.* 1991. Vol. 42. P. 1849–1857.

271. Forstermann U., Boissle J.-P., Kleinert H. Expressional control of the “constitutive” isoforms of nitric oxide synthase (NOS I and NOS III). *FASEB J.* 1998. Vol. 12. P. 773–790.

272. Moncada S., Palmer R. M. J., Higgs E. A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol. Rev.* 1991. Vol. 43. P. 109–42.

273. Fleming L., Busse R. NO: the primary EDRF. *J. Mol. Cell Cardiol.* 1999. Vol. 31. P. 5–14.

274. Madar Z., Kalet-Litman S., Stark A. H. Inducible nitric oxide synthase activity and expression in liver and hepatocytes of diabetic rats. *Pharmacology.* 2005. Vol. 73. P. 106–112.

275. Diabetes and vascular disease: Pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: Part I / M. A. Creager, T. F. Luscher, F. Cosentino, J. A. Beckman. *Circulation.* 2003. Vol. 108. P. 1527–1532.

276. Boger R. H., Bode-Boger S. M. The clinical pharmacology of L-arginine. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2001. Vol. 41. P. 79–99.

277. Arginase reciprocally regulates nitric oxide synthase activity and contributes to endothelial dysfunction in aging blood vessels / D. E. Berkowitz, R. White, D. Li et al. *Circulation*. 2003. Vol. 108. P. 2000–2006.

278. Modulation of vascular tone by low density lipoproteins: effects on L-arginine transport and nitric oxide synthesis / M. T. Jay, S. Chirico, R. C. Siow et al. *Exp. Physiol*. 1997. Vol. 82. P. 349–360.

279. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and other endogenous nitric oxide synthase inhibitors as an important cause of vascular insulin resistance / K. Toutouzas, M. Riga, E. Stefanidi et al. *Horm. Metab. Res*. 2008. Vol. 40. P. 655–659.

280. Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine are increased in patients with type 2 diabetes mellitus / F. Abbasi, T. Asagmi, J. P. Cooke et al. *Am. J. Cardiol*. 2001. Vol. 88. P. 201–203.

281. Impaired nitric oxide synthase pathway in diabetes mellitus: Role of asymmetric dimethylarginine and dimethylarginine dimethylaminohydrolase / K. Y. Lin, A. Ito, T. Asagami et al. *Circulation*. 2002. Vol. 106. P. 987–992.

282. Wolin M. S., Gupte S. A., Oeckler R. A. Superoxide in the vascular system. *J. Vasc. Res*. 2002. Vol. 39. P. 191–207.

283. Paradoxical activation of endothelial nitric oxide synthase by NADPH oxidase / Q. Zhang, P. Malik, D. Pandey et al. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2008. Vol. 28. P. 1627–1633.

284. Novel effects of nitric oxide / K. L. Davis, E. Martin, I. V. Turko, F. Murad. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol*. 2001. Vol. 41. P. 203–236.

285. Ванин А. Ф. Оксид азота в биомедицинских исследованиях. *Вестник РАМН*. 2000. Vol. 24. P. 3–10.

286. Зенков Н. К., Ланкин В. З., Меньщикова Е. Б. Окислительный стресс. Маик : Наука, Интерпериодика 2001. 344 с.

287. Marletta M. A. Nitric oxide synthase: aspects concerning structure and catalysis. *Cell*. 1994. Vol. 78. P. 927–30.

288. Vasquez-Vivar J., Kalyanaraman B., Martasek P. The role of tetrahydrobiopterin in superoxide generation from eNOS: enzymology and physiological implications. *Free Radic. Res.* 2003. Vol. 37. P. 121–7.

289. Association analysis of CA repeat polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene to essential hypertension in Japanese / T. Nakayama, J. Soma, J. Takahashi et al. *Clin. Genet.* 1997. Vol. 51. P. 26–30.

290. Defective L-arginine-nitricoxide pathway in offspring of essential hypertensive patients / S. Taddei, A. Viridis, P. Matter et al. *Circulation.* 1996. Vol. 94. P. 1296–1303.

291. Аметов А. С., Демидова Т. Ю., Косых С. А. Синтез оксида азота в эндотелии сосудов у больных СД 2-го типа. *Клин. мед.* 2005. № 28. С. 62–68.

292. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells / M. Ganagisawa, H. Kurihara, S. Kimura et al. *Nature.* 1988. Vol. 332. P. 411–415.

293. Walker G. D., Vilerti G. C. Textbook of Diabetes / C. E. Modensen, E. Stande (Eds.). 1991. Vol. 3. P. 263–821.

294. Triggle C. R., Ding H. A review of endothelial dysfunction in diabetes: a focus on the contribution of a dysfunctional eNOS. *J. Am. Soc. Hypertens.* 2010. Vol. 4. P. 102–115.

295. Nishio Y. Endothelial dysfunction in diabetes. *Nippon Rinsho.* 2010. Vol. 68. P. 823–826.

296. West I. C. Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabet. Med.* 2000. Vol. 17. P. 171–180.

297. Rask-Madsen C., King G. L. Proatherosclerotic mechanisms involving protein kinase C in diabetes and insulin resistance. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005. Vol. 25. P. 487–496.

298. The role of endothelial insulin signaling in the regulation of vascular tone and insulin resistance / D. Vicent, J. Ilany, T. Kondo et al. *J. Clin. Invest.* 2003. Vol. 111. P. 1373–1380.

299. Activation of the AMP-activated kinase by antidiabetic drug metformin stimulates nitric oxide synthesis in vivo by promoting the association of heat shock protein 90 and endothelial nitric oxide synthase / B. J. Davis, Z. Xie, B. Viollet et al. *Diabetes*. 2006. Vol. 55. P. 496–505.

300. Endothelial nitric oxide in diabetes mellitus: too much or not enough? / K. Farkas, B. Sarman, G. Jermendy, A. Somogyi. *Diabetes Nutr. Metab.* 2000. Vol. 13. P. 287–297.

301. Advanced glycation end products: Sparking the development of diabetic vascular injury / A. Goldin, J. A. Beckman, A. M. Schmidt, M. A. Creager. *Circulation*. 2006. Vol. 114. P. 597–605.

302. Epstein M. Diabetes and hypertension: the bad companions. *J. Hypertens.* 1997. Vol. 15 (Suppl. 12). P. 55–62.

303. Diabetic neuropathies / A. I. Vinic, T. S. Park, K. B. Stansberry, G. L. Pittenger. *Diabetologia*. 2000. Vol. 43. P. 957–73.

304. Курилина Е. И., Чурюмов Д. С. Роль метаболического звена оксида азота в механизмах развития глаукомной оптической нейропатии и перспективы нейропротекции при глаукоме: современные аспекты. *Международный медицинский журнал*. 2013. № 1. С. 53–59.

305. Nathanson J. A., McKee M. Alterations of ocular nitric oxide synthase in human glaucoma. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1995. Vol. 36, № 9. P. 1774–1784.

306. Oku H. Neuro J. Function of nitric oxide in the retina. *Ophthalmology. Japan*. 2002. Vol. 19. P. 213–219.

307. Remessy A., Khalil I. Neuroprotective effect of cannabidiol in N-methyl-D-aspartate-induced retinal neurotoxicity: involvement of peroxynitrite. *Am. J. of Pathology*. 2003. Vol. 163. P. 1997–2008.

308. Oz O., Gurelik G, Hondur A. A short duration transient ischemia induces apoptosis in retinal layers: an experimental study in rabbits. *Eur. J. Ophthalmol.* 2005. Vol. 15. P. 233–238.

309. Роль вазоспазма в патогенезе глаукоматозной оптической нейропатии / Н. И. Курышева, Н. Д. Нагорнова, Н. П. Чигованина, Е. Л. Кадыкова. *Глаукома*. 2004. № 2. С. 18–24.

310. Koss M. C. Functional role of nitric oxide in regulation of ocular blood flow . *Eur. J. Pharmacol.* 1999. Vol. 74, № 2. P. 161–174.

311. Chatterjee A., Black S. M., Catravas J. D. Endothelial nitric oxide (NO) and its pathophysiologic regulation . *Vasc. Pharmacol.* 2008. Vol. 49, № 4–6. P. 134–140.

312. Toda N., NakanishiToda M. Nitric oxide: ocular blood flow, glaucoma, and diabetic retinopathy. *Prog. Retin. Eye Res.* 2007. Vol. 26, № 3. P. 205–238.

313. Liu R., Flammer J., Haefliger I. Isoproterenol, Forskolon and cAMP-induced nitric oxide production in pig ciliary processes. *Invest. Ophthalm. Vis. Sci.* 1999. Vol. 40, № 8. P. 1833–1837.

314. Полторак В. В., Блох К. О., Малашенко А. М. Экспериментальное моделирование сахарного диабета для изучения специфического эффекта новых антидиабетических веществ (Метод. рекоменд.). Харьков, 1991. 20 с.

315. Пасечникова Н. В., Мороз О. А. Защитное действие кверцетина и липоата на функциональные группы белков сетчатки при моделировании диабета. *Офтальмологічний журнал*. 2015. № 3. С. 76–81

316. Экспериментальная модель сахарного диабета 2-го типа у крыс, вызванная диетой с высоким содержанием жиров и стрептозотоцином в низкой дозе / О. А. Кайдаш, В. В. Иванов, А. И. Венгеровскийи др. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020. № 19 (2). С.41–47.

317. Роль метформина в профилактике диабетической нефропатии при экспериментальном сахарном диабете 2 типа / В. К. Байрашева, А. Ю. Бабенко, Ю. В. Дмитриев и др. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2016. № 15 (3). С.70–80.

318. Покровский М. В., Покровская Т. Г., Корчаков В. И. Эндотелиопротекторные эффекты L-аргинина при моделировании дефицита



окси азота. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2008. № 71 (2). С. 29–31.

319. Efficacy of Subconjunctival Aflibercept Versus Bevacizumab for Prevention of Corneal Neovascularization in a Rat Model / O. Gal-Or, E. Livny, R. Sella et al. *Cornea*. 2016. Vol. 3, № 7. P. 991–996.

320. Павлова О. Н. Исследование динамики активности каталазы в сыворотке крови крыс при механическом воздействии на гематоофтальмический барьер / О. Н. Павлова, О. Н. Гуленко, Р. Г. Каримова и др. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2020. № 5 (95) Ч. 1. С. 153–158.

321. Быков И.Л. Влияние L-карнитина на метаболические нарушения при экспериментальной недостаточности ацил-КоА дегидрогеназ. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2004. Т. 67, № 6. С. 48–52.

322. Влияние коэнзима Q 10, афобазола и L-карнитина на эндотелиальную функцию у крыс с экспериментальным сахарным диабетом / С. Г. Дзугкоев, Ф. С. Дзугкоева, Н. В. Гуманова, В. А. Метельская. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2012. № 3 (132). С.48–51.

323. Dynamics of vasoconstriction and vasodilation potential on the background of experimental rhegmatogenous retinal detachment and its correction / I. V. Savytskyi, I. M. Levytskyi, G. V. Levytska et al. *Journal of Education, Health and Sport*. 2016. Vol. 6, № 2. P. 367–375.

324. Guidance for Industry and Reviewers Estimating the Safe Starting Dose in Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers US of Department of Health and Human Services, FDA, CDER and CBER. URL: <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>.

325. Метод забора крови у животных / А. В. Дьякон, И. С. Хрыкина, А. А. Хегай и др. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2013. № 11–12. С. 84–85.

326. Задорожна Г. О., Хоменко О. М. Методичний посібник для виконання експериментальних робіт із використанням щурів. Дніпро, 2019. 40 с.

327. Ковальова О. М., Демиденко Г. В., Горбач Т. В. Диагностика эндотелиальной функции – оценка вазоактивного пула оксида азота. Міністерство охорони здоров'я України. Український центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи. Методичні рекомендації. Київ : в-во СПД ФО Тарасенко В.П. 2007.16 с.

328. Клинико-прогностическое значение полиморфизма гена эндотелиальной по-синтетазы у больных с острыми коронарными синдромами / А. Н. Пархоменко, Я. М. Лутай, О. И. Иркин и др. *Медицина неотложных состояний*. 2014. Т. 3, № 58. С. 45–53.

329. Габрилян Н. И., Мишкорудная М. Н. Определение средних молекул скрининг-методом / Спектрофотометрическое определение содержания ГПЛ в плазме крови. *Лаб. дело*. 1983. № 3. С. 33–36.

330. Гаврилов Б. В., Мишкорудная М. И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови. *Лабораторное дело*. 1983. №3. С.33–36.

331. Попов Т., Нейковська Л. Метод определения пероксидазной активности крови. *Гигиена и санитария*. 1971. № 10. С. 89–93.

332. Мранова И. С. Определение 2,3ДФГ и АТФ в эритроцитах. *Лабораторное дело*. 1975. № 7. С. 652 – 654

333. Харламова У. В.,Ильичева О. Е. Диагностическое значение лабораторных маркеров повреждения эндотелия у больных на программном гемодиализе. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2012.№ 7.С.39–41.

334. Баркаган З. С., Момот А. П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М. : Изд. «Ньюдиамед», 2001. 296 с.

335. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих / В. П. Реутов, Е. Г. Сорокина, В. Е. Охотин, Н. С. Косицын. М. : Наука, 1997. 156 с.

336. Горячковский А. М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике. Одесса, 2005, 607 с.

337. Ткаченко А. С. Уровень VEGF и ФНО- $\alpha$  при хроническом каррагенаниндуцированном гастроэнтероколите. *Вісник проблем біології і медицини*. 2013. Вип. 3, т. 2 (103). С. 231–234

338. Бондарев Є. В., Штриголь С. Ю., Горбач Т. В. Вміст інтерлейкінів ІІ-1 $\beta$  та ІІ-10 у крові при гострій холодовій травмі у щурів. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2017. № 1 (57). С. 21–25.

339. Tarlink T. Determination of arginine, asymmetric dimethylarginine and symmetric dimethylarginine in human plasma and other biological samples by high-performance liquid chromatography. *Anal. Biochem.* 2002. Vol. 303. P. 31–137.

340. Лупан І. В., Авраменко О. В., Акбаш К. С. Комп'ютерні статистичні пакети: навчально-методичний посібник. 2-е вид. Кіровоград: «КОД» 2015. 236 с.

341. Базилевич К. А., Мазорчук М. С., Сухобрус А. А. Моделювання в економіці, організація виробництва та управління проектами. *Системи обробки інформації*. 2016. Вип. 2 (139). С.149–155.

342. Носко В. П. Эконометрика. Кн. 2. Ч. 3, 4: учебник. М. : Издательский дом «Дело» РАНХиГС, 2011. 576 с.

343. Малая Л. Т., Корж А. Н, Балковая Л. Б. Эндотелиальная дисфункция при патологии сердечно-сосудистой системы. Х. : Торсинг, 2000. 432 с.

344. Мазаев А. А., Наймушин Я. А., Хаспекова С. Г. Фактор Виллебранда и растворимый Р-селектин у больных с острым коронарным синдромом без подъема сегмента ST при лечении антагонистом гликопротеинов IIb/IIIa зпифибатидом. *Кардиология*. 2007. № 6. С. 4–9.

345. Серик С. А. Иммуновоспалительная активность при ишемической болезни сердца. *Український кардіологічний журнал*. 2002. № 1. С. 40–45.

346. Поливода С. Н., Черепок А. А. Фактор Виллебранда как маркер эндотелиальной дисфункции у пациентов с заболеваниями сердечно-сосудистой системы. *Український ревматологічний журнал*. 2000. № 1. С. 13–18.

347. Лутай М. И. Атеросклероз: современный взгляд на патогенез. *Український кардіологічний журнал*. 2004. № 1. С. 22–34.

348. Лутай М. И., Голикова И. П., Деяк С. И. Взаимосвязь фактора Виллебранда с сосудистодвигательной функцией эндотелия у больных с разной степенью выраженности атеросклероза венечных артерий. *Український кардіологічний журнал*. 2003. № 6. С. 13–17.

349. Вознюк Л. А., Півторак К. В., Семененко С. І. Фактор Віллебранда як критерій запалення і дисфункції ендотелію у хворих на ішемічну хворобу серця. *Вісник проблем біології і медицини*. 2012. Т. 1, № 2 (92). С. 39–42.

350. Эндотелиальная дисфункция в хирургии. Современный взгляд на проблему / С. В. Поройский, А. В. Воронков, И. Н. Тюренков и др. *Вестник ВОЛГГМУ*. 2011. Т. 3, № 39. С. 13–17.

351. Harrison D. G. Cellular and molecular mechanism of endothelial cell disfunction.. *J. Clin. Invest.* 1997. Vol. 100. P.2153–215.

352. Lip G., Blann A. Von Willebrand factor and its relevance to cardiovascular disorders. *Br. Heart J.* 1995. Vol. 12, № 6. P.580–583.

353. American Diabetes Association: Standarts of medical care in diabetes.2011. *Diabetes care*. 2011. Vol. 34, Suppl. I. P. S4–88.

354. Шестакова М. В., Шамхалова М. Ш. Современный подход к профилактике и лечению диабетической ретинопатии: результаты исследования DIRECT, 2009. *Справочник поликлинического врача*. 2009. № 1. С. 3–39.

355. The autodigestion hypothesis and receptor cleavage in diabetes and hypertension / F. A. Delano, A. Y. Chen, K. I. Wu et al. *Drug Discov. Today Dis. Models*. 2011. Vol. 8. P. 37–46.

356. Wright A. D., Dodson P. M. Diabetic Retinopathy and Blockade of the Renin Angiotensin System: New Data from the DIRECT Study Programme. *Eye*. 2010. Vol. 24. P. 1–6.

357. Porta M., Maldari P., Mazzaglia F. New approaches to the treatment of diabetic retinopathy. *Diabetes Obes. Metab.* 2011. Vol. 13. P. 784–790.

358. Гаврилова Н. А., Тищенко О. Е. Влияние сулодексида на функциональное состояние эндотелия у больных сахарным диабетом и диабетической ретинопатией. *Сахарный диабет*. 2011. № 2. С. 66–68.

359. Астахов Ю. С., Шадричев Ф. Е., Лисочкина А. Б. Диабетическая ретинопатия. Офтальмология – 2006. Клинические рекомендации / под ред. Л. К. Мошетовой, А. П. Нестерова, Е. А. Егорова. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2006. С. 139–163.

360. Воробьева И. В., Гигинеишвили Д.Н. Роль дисфункции эндотелия в патогенезе диабетической ретинопатии у больных сахарным диабетом 2 типа. Обзор. *Офтальмология*. 2012. № 9 (3). С. 9–13.

361. Касаткина С. Г., Касаткин С. Н. Значение дисфункции эндотелия у больных сахарным диабетом 2-го типа. *Фундаментальные исследования*. 2011. № 7. С. 248–252.

362. Нероев В.В., Сарыгина О.И., Левкина О.А. Роль сосудистого эндотелиального фактора роста в патогенезе диабетической ретинопатии. *Вестник офтальмологии*. 2009. № 2. С. 58–60.

363. Колединцев М. Н., Верзин Р.А. Роль коррекции состояния эндотелия и базальной мембраны сосудистой стенки при диабетической ретинопатии. *Эффективная фармакотерапия. Эндокринология*. 2015. № 5. С. 43.

364. Ванин А.Ф. Динитрозильные комплексы железа и S-нитрозотиолы - две возможные формы стабилизации и транспорта оксида азота в биосистемах.. *Биохимия*, 1998. Т. 63. вып. 7. С. 924–938

365. Vanin A. F., Malenkova I. V., Serezhencov V. A. Iron catalyzes both decomposition and synthesis of S-nitrosothiols: optical and electron paramagnetic resonance studies.. *Nitric oxide: Biology and Chemistry*. 1997. Vol. 3. P. 191–203.

366. Inhibition of ribonucleotide reductase by nitric oxide derived from thionitrites: Reversible modification of both subunits / B. Roy, M. Lepoivre, Y. Henry, M. Fontecare. *Biochemistry*. 1995. Vol. 34. P. 5411–5420.

367. S-Nitrosothiols signal hypoxia-mimetic vascular pathology / L. A. Palmer, A. Doctor, P. Chhabra et al. *J. Clin. Invest.* 2007. Vol. 117. № 9. P. 2592–2601.

368. S-Nitrosothiol measurements in biological systems / A. Gow, A. Doctor, J. Mannick, B. Gaston. *J. Chromatogr. B*. 2007. Vol. 851. № 1–2. P. 140–151.

369. Patel R. P., Yuan S., Kevi C. G. S-Nitrosothiols and Nitric Oxide Biology. *Nitric Oxide: biology and pathobiology*. Third edition. Elsevier Inc., 2017. P. 45–56.

370. Ignarro L. J. Nitric oxide as a unique signaling molecule in the vascular system: a historical overview. *J. Physiol. Pharmacol.* 2002. Vol. 53. № 4. P. 503–514.

371. Immunohistochemical detection of S-nitrosylated proteins / A. J. Gow, C. W. Davis, D. Munson, H. Ischiropoulos. *Methods Mol. Biol.* 2004. Vol. 279. P. 167–172.

372. Эритроциты и NO: факты, гипотезы взаимодействия, перспективы для диагностики и терапии сердечно-сосудистых заболеваний / М. В. Кручинина, А. А. Громов, И. О. Светлова и др. *Атеросклероз*. 2014. Т. 10, № 3. С. 68–80.

373. Пенішкевич Я. І., Кучук О. П., Кузьо О. О. Роль ендотеліну-1 у патогенезі розвитку діабетичної ретинопатії. *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*. 2016. Т. 15, № 2. С. 114–116.

374. Титов В. Н. Анатомические и функциональные основы эндотелий-зависимой вазодилатации, оксид азота и эндотелин. *Рос. кардиолог. ж.* 2008. № 1. С. 71–85.

375. Xu F. P., Chen M. S., Wang Y. Z. Leptin induces hypertrophy via endothelin-1-reactive oxygen species pathway in cultured neonatal rat cardiomyocytes. *Circulation*. 2004. Vol. 110. P. 1269–1275.

376. Минушкина Л. О., Затеищиков Д. А. Есть ли перспективы у антагонистов рецепторов эндотелина? *Фарматека*. 2003. № 6. С. 51–58.

378. Патарая С. А., Преображенский Д. В., Сидоренко Б. А. Биохимия и физиология семейства эндотелинов. *Кардиолог*. 2000. № 6. С. 78–85.

379. Guidry C., Hook M. Endothelins produced by endothelial cells promote collagen gel contraction by fibroblasts. *J. Cell. Biol.* 1991. Vol. 115. P. 873–880.

380. Xu F. P., Chen M. S., Wang Y. Z. Leptin induces hypertrophy via endothelin-1-reactive oxygen species pathway in cultured neonatal rat cardiomyocytes. *Circulation*. 2004. Vol. 110. P. 1269–1275.

381. Концентрація ендотеліну-1 у плазмі крові корелює з вираженістю клінічних проявів стабільної стенокардії напруження / М. І. Лутай, В. А. Слободський, Т. І. Гавриленко та ін. *Український медичний часопис*. 2004. № 4 (42). С. 105–108.

382. Бельчина Ю. Б., Соколова Л. К. Состояние эндотелия у больных сахарным диабетом 1-го типа и метаболической кардиомиопатией. *Ліки України*. 2013. № 4. С. 65–68.

383. Галявич А. С., Гайнутдинов Э. Р. Асимметричный диметиларгинин и продукты метаболизма оксида азота у больных острой и хронической формами ишемической болезни сердца. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2009. № 8 (1). С. 31–34.

384. Relationship between obesity, smoking, and the endogenous nitric oxide synthase inhibitor, asymmetric dimethylarginine / H. M. Eid, H. Amesen, E. M. Hjerkiim et al. *Metabolism*. 2004. Vol. 53. P. 1574–9

385. Teerlink T. ADMA metabolism and clearance. *Vase Med*. 2005. Vol. 10 (Suppl. 1). P. S73–81.

386. Lu C. W., Xiong Y., He P. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase-2 overexpression improves impaired nitric oxide synthesis of endothelial cells induced by glycated protein. *Nitric Oxide*. 2006. Vol. 8. P. 5.

387. Regulation of nitric oxide synthesis by dimethylarginine dimethylaminohydrolase / R. J. MacAllister, H. Parry, M. Kimoto et al. *Br. J. Pharmacol*. 1996. Vol. 119. P. 1533–40.

388. Bode-Boger S. M., Scalera F., Martens-Lobenlioffer J. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) accelerates cell senescence. *Vase Med*. 2005. Vol. 10 (Suppl. 1). P. S65–71.

389. Kielstein J. T., Tsikas D., Fliser D. Effects of asymmetric dimethylarginine (ADMA) infusion in humans. *Eur. J. Clin. Pharmacol*. 2006. Vol. 62 (Suppl. 13). P. 39–44.

390. Asymmetric dimethylarginine increases mononuclear cell adhesiveness in hypercholesterolemic humans / J. R. Chan, R. H. Boger, S. M. Bode-Boger et al. *Arterioscler. Thromb. Vase Biol*. 2000. Vol. 20. P. 1040–1046.

391. An endogenous inhibitor of nitric oxide synthase regulates endothelial adhesiveness for monocytes / R. H. Boger, S. M. Bode-Boger, P. S. Tsao et al. *JACC*. 2000. Vol. 36. P. 2287–2295.

392. Asymmetric dimethylarginine upregulates TOX-1 in activated macrophages: role in foam cell formation / I. V. Smirnova, M. Kajstura, T. Sawamura et al. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol*. 2004. Vol. 287. P. H782–789.



393. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia / R. H. Boger, S. M. Bode-Boger, A. Szuba et al. *Circulation*. 1998. Vol. 98. P. 1842–1847.

394. Impaired nitric oxide synthase pathway in diabetes mellitus: role of asymmetric dimethylarginine and dimethylarginine dimethylaminohydrolase / K. Y. Tin, A. Ito, T. Asagami et al. *Circulation*. 2002. Vol. 106. P. 987–992.

395. Paiva H, Lehtimaki T, Laakso J, et al. Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine in type 2 diabetes associate with glycemic control and glomerular filtration rate but not with risk factors of vasculopathy. *Metabolism*. 2003. Vol. 52. P. 303–307.

396. Endothelial dysfunction induced by hyperhomocyst (e) inemia: role of asymmetric dimethylarginine / M. C. Stuhlinger, R. K. Oka, E. E. Graf et al. *Circulation*. 2003. Vol. 108. P. 933–938

397. Homocysteine impairs the nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine / M. C. Stuhlinger, P. S. Tsao, Her. III et al. *Circulation*. 2001. Vol. 104. P. 2569–2575.

398. CREED Investigators. Asymmetric dimethylarginine, C-reactive protein, and carotid intima-media thickness in end-stage renal disease / C. Zoccali, F. A. Benedetto, R. Maas et al. *J. Am. Soc. Nephrol*. 2002. Vol. 13. P. 490–496.

399. Асимметричный диметиларгинин и его роль в этиологии и патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний / Р. Н. Родионов, И. О. Блохин, М. М. Галагудза и др. *Артериальная гипертензия*. 2008. № 4. С. 306–314.

400. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure / P. Vallance, A. Leone, A. Calver et al. *Lancet*. 1992. Vol. 339. P. 572–575.

401. Boger R. H., Cooke J. P., Vallance P. ADMA: an emerging cardiovascular risk factor. *Vasc. Med*. 2005. Vol. 10, Suppl. 1. P. S1–S2.

402. L-Arginine improves endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic humans / M. A. Creager, S. J. Gallagher, X. J. Girerd et al. *J. Clin. Invest.* 1992. Vol. 90. P. 1248–1253.

403. Supplementation of hypercholesterolaemic rabbits with L-arginine reduces the vascular release of superoxide anions and restores NO production / R. H. Boger, S. M. Bode-Boger, A. Mugge et al. *Atherosclerosis.* 1995. Vol. 117. P. 273–284.

404. Boger R. H. Asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, explains the "L-arginine paradox" and acts as a novel cardiovascular risk factor. *J. Nutr.* 2004. Vol. 134. P. 2842S–2847S.

405. Purification and characterization of particulate endothelium-derived relaxing factor synthase from cultured and native bovine aortic endothelial cells / J. S. Pollock, U. Forstermann, J. A. Mitchell et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1991. Vol. 88. P. 10480–10484.

406. Leiper J., Vallance P. Biological significance of endogenous methylarginines that inhibit nitric oxide synthases. *Cardiovasc. Res.* 1999. Vol. 43. P. 542–548.

407. Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthase in vitro and in vivo / D. D. Rees, R. M. Palmer, R. Schulz et al. *Br. J. Pharmacol.* 1990. Vol. 101. P. 746–752.

408. Faraci F. M., Brian J. E. J., Heistad D. D. Response of cerebral blood vessels to an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase. *Am. J. Physiol.* 1995. Vol. 269. P. H1522–H1527.

409. Purification and characterization of D-3-aminoisobutyrate-pyruvate aminotransferase from rat liver / S. Ueno, H. Morino, A. Sano, Y. Kakimoto. *Biochim. Biophys. Acta.* 1990. Vol. 1033. P. 169–175.

410. High-performance liquid chromatographic assay of N(G)-monomethyl-L-arginine, N(G),N(G)-dimethyl-L-arginine, and N(G),N(G)'-dimethyl-L-arginine

using 4-fluoro-7-nitro-2, 1,3-benzoxadiazole as a fluorescent reagent / S. Nonaka, M. Tsunoda, K. Imai, T. Funatsu. *J. Chromatogr.* 2005. Vol. A 1066. P. 41–45.

411. Сірман Я. В., Савицький І. В. Патогенез ендотеліальної дисфункції при діабетичній ретинопатії експериментального стрептозотоцинового цукрового діабету. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії.* 2019. Т. 19, вип. 3 (67). С. 161–165.

412. Von Willebrand factor level dynamic during the endothelial dysfunction development in experimental diabetic retinopathy / Ya. V. Sirman, I. V. Savytskyi, A. I. Gozhenko, N. S. Badiuk, N. I. Preys, O. F. Dzygal. *PharmacologyOnLine.* 2020. Vol. 3. P. 247–260.

413. Dynamics of vasoconstrictor-vasodilation potential on the background of the development of experimental diabetic retinopathy / Ya. V. Sirman, N. I. Preys, I. V. Savitsky, N. S. Badiuk, O. M. Blavatska, I. I. Hrytsan, S. V. Tsypoviaz. *PharmacologyOnLine.* 2021. Vol. 1. P. 90–95.

414. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V., Preys N. I. Changes in the asymmetric dimethylarginine and endothelial nitric oxide synthase levels in pathogenesis of investigational diabetic retinopathy. *Вісник морфології.* 2020. Т. 26. № 3. С. 69–74.

415. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Study of vasodilation processes. *Journal of Education, Health and Sport.* 2019. Vol. 9, № 12. P. 325–337.

416. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Study of endothelial dysfunction and asymmetric dimethylarginine levels. *Journal of Education, Health and Sport.* 2019. Vol. 9, № 10. P. 395–412.

417. Sirman Y. V., Preis N. I., Savytskyi I. V. Research of changes in the level of endothelin-1 in experimental diabetic retinopathy. Comparison of methods of correction. *Journal of Education, Health and Sport.* 2021. Vol. 11, № 10. P. 411–422.

418. Савицький І. В., Сірман Я. В. Роль дисфункції ендотелію у патогенезі діабетичних ретинопатій. *Шевальовські читання 19* : зб. праць наук.-практ. конф., 20–21 червня 2019 р. Запоріжжя, 2019. С. 51–52.

419. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Pathogenesis of the changes in structure and functions of vessels due to diabetic retinopathy. *XVIII-і читання В. В. Підвисоцького* : Бюлетень матеріалів наук.-практ. конф., 21–22 травня 2019 р. Одеса : УкрНДІ медицини транспорту, 2019. С. 13–14.

420. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Modern views on pathogenesis of diabetic retinopathy. *Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми* : зб. матеріалів наук.-практ. конф. з міжнар. участю Галицькі читання, 19 вересня 2019 р. Івано-Франківськ, 2019. С. 80–81.

421. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Some aspects of pathogenesis diabetic retinopathy. *Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України* : тези доп. VIII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю, 13–15 травня 2020 р. Одеса : УкрНДІ медицини транспорту, 2020. Т. 1. С. 300–301.

422. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Markers of function status of vessels endothelium in experimental diabetic retinopathy. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція* : тези доп. II наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, 21 листопада 2019 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2019. С. 44–45.

423. Savytskyi I. V., Sirman Ya. V. Role of endothelial dysfunction in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Філатовські читання – 2019* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 23–24 травня 2019 р. Одеса : Чорномор'я, 2019. С. 149–150.

424. Сірман Я. В., Савицький І. В. Функціональні зміни ендотелію при діабетичній ретинопатії експериментального цукрового діабету. *Фізіологічні та клінічні аспекти ендокринної патології* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 17-18 жовтня 2019 р. Яремче, 2019. С. 58–59.

425. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Function status markers of vessels endothelium in experimental diabetic retinopathy. *Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України* : тези доп. VIII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю, 13–15 травня 2020 р. Одеса : УкрНДІ медицини транспорту, 2020. Т. 1. С. 25.

426. Розвиток ендотеліальної дисфункції при ускладненнях експериментального цукрового діабету / Я. В. Сірман, І. В. Савицький, І. І. Грицан, В. М. Сарахан. *Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм* : матеріали наук.-практ. конф., 29–30 жовтня 2020 р. Тернопіль, 2020. С. 94.

427. Savytskyi I. V., Sirman Ya. V. Role of endothelial dysfunction in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Актуальні проблеми експериментальної та клінічної біохімії* : матеріали міжнародної наук.-практ. конф., 11–12 квітня 2019 р. Харків : ХНМУ, 2019. С. 15.

428. Базилевич К. А., Мазорчук М. С., Сухобрус А. А. Моделювання в економіці, організація виробництва та управління проектами. *Системи обробки інформації*. 2016. Вип. 2 (139). С. 149–155.

429. Уровень VEGF-A в слезной жидкости при диабетической ретинопатии / Ю. А. Борзилова, Л. А. Болдырева, И. В. Шлык и др. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2015. № 6 (155). С.16–18.

430. Воробьева И. В., Меркушенкова Д. А. Диабетическая ретинопатия у больных сахарным диабетом второго типа. Эпидемиология, современный взгляд на патогенез. Обзор. *Офтальмология*. 2012, № 9 (4). С. 18–21

431. Distler J. W., Hirth A., Kurowska-Stolarska M. Angiogenic and angiostatic factors in the molecular control of angiogenesis. *Q. J. Nucl. Med.* 2003. Vol. 47. P. 149-161.

432. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr. Rev.* 2004. Vol. 25. P. 581–611.

433. Rangasamy S., McGuire P. G., Das A. Diabetic retinopathy and inflammation: novel therapeutic targets. *Middle East Afr. J. Ophthalmol.* 2012. Vol. 19. P. 52–59.

434. Ангиогенез при пролиферативной диабетической ретинопатии: перспективы анти-VEGF-терапии (обзор литературы) / В. И. Коненков, В. В. Климонтов, В. В. Черных, Н. В. Тянь. *Офтальмохирургия.* 2013. № 4. С. 111–115.

435. Повещенко А. Ф., Коненков В. И. Механизмы и факторы ангиогенеза. *Успехи физиол. наук.* 2010. Т. 41, № 2. P. 68–89.

436. Tongers J., Roncalli J. G., Losordo D. W. Role of endothelial progenitor cells during ischemia-induced vasculogenesis and collateral formation. *Microvasc. Res.* 2010. Vol. 79, № 3. P. 200–206.

437. Willard A. L., Herman I. M. Vascular complications and diabetes: current therapies and future challenges. *J. Ophthalmol.* 2012. Vol. 2012. P. 209538..

438. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V., Preys N. I. Prediction model for severity of diabetic retinopathy derived from review of endothelial dysfunction and hypoxia markers. *Міжнародний ендокринологічний журнал.* 2021. № 1 (17). С. 76–80.

439. Сірман Я. В., Прейс Н. І., Савицький І. В. Роль 2,3-діфосфогліцерату еритроциту у патогенезі експериментальної діабетичної ретинопатії. Аналіз способів корекції. *Актуальні проблеми транспортної медицини.* 2021. № 1 (63). С. 92–106.

440. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Research of changes in the level of vascular endothelial growth factor in experimental diabetic retinopathy. comparison of methods of correction. *Journal of Education, Health and Sport.* 2021. Vol. 11, № 4. P. 247–257.

441 Sirman Y. V., Preis N. I., Savytskyi I. V. Results of construction of correlation fields with trend lines and determination of direction of relationships

between studied indicators. *Journal of Education, Health and Sport*. 2021. Vol. 11, № 6. P. 348–361.

442. Sirman Y. V., Savytskyi I. V., Blavatska O. M. Dynamic of blood glucose levels in the model of experimental diabetic retinopathy and different ways to correct it. *Journal of Education, Health and Sport*. 2021. Vol. 11, № 07. P. 366–373.

443. L-аргинин в слезной жидкости больных с диабетической ретинопатией и возможная роль оксида азота в патогенезе ишемии сетчатки / М. М. Архипова, В. В. Нероев, Л. А. Баратова, В. С. Лысенко. *Вестник офтальмологии*. 2000. Т. 116, № 2. С. 23–24

444. Архипова М. М., Ванин А. Ф. Патогенетические принципы терапии ишемии сетчатки при некоторой сосудистой патологии глазного дна на основе изучения роли оксида азота. *Вестник офтальмологии*. 2001. № 1. С. 51–53.

445. Donati G., Pournaras C. Endogenous deficiency of Nitric Oxide is an aggravating factor in retinal vein occlusion. *Klin. Monatsbl. Augenheilk.* 1998. Vol. 212. P. 324–335.

446. Дзукоев С. Г., Дзукоева Ф. С., Метельская В. А. Роль оксида азота в формировании эндотелиальной дисфункции при сахарном диабете. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2010. № 9 (8). С. 63–68.

447. Monisha B., Vats P. Reactive metabolites and antioxidant gene polymorphisms in type 2 diabetes mellitus. *Indian Journal of Human Genetics*. 2014. Vol. 20. № 1. P. 10–19.

448. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих / В. П. Реутов, Е. Г. Сорокина, В. Е. Охотин, Н. С. Косицын. М. : [б. и.], 1998. 158 с

449. Курилина Е. И., Чурюмов Д. С. Роль метаболического звена оксида азота в механизмах развития глаукомной оптической нейропатии и

перспективы нейропротекции при глаукоме: современные аспекты. *Международный медицинский журнал*. 2013. № 1. С. 53–59.

450. Neufeld A., Kawai S., Das S. Loss of retinal ganglion cells following retinal ischemia: the role of inducible nitric oxide synthase. *Exp. Eye Res.* 2002. Vbl. 75. P. 521–528.

451. Выявление и оценка депо NO в организме бодрствующей крысы / С. Ю. Машина, А. Ф. Ванин, В. А. Сереженков и др. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2003. Т. 136, № 7. С. 32–36.

452. Nitrite as a vascular endocrine nitric oxide reservoir that contributes to hypoxic signaling, cytoprotection, and vasodilation / M. T. Gladwin, N. J. Raat, S. H. Shiva et al. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2006. Vol. 291. P. 2026–2035.

453. Зарипова Р. И., Гайнутдинов Х. Л., Зефиоров Т. Л. Влияние блокады NO-синтаз на продукцию NO в сердце крыс при гипокинезии. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2014. № 5. С. 554–556.

454. Оксид азота и цикл в миокарде: молекулярные, биохимические и физиологические аспекты / В. П. Реутов, В. Е. Охотин, А. В. Шуклин и др. *Успехи физиол. наук*. 2007. Т. 38, № 4. С. 39–58.

455. Forstermann U., Sessa W. C. Nitric oxide synthases: regulation and function. *European Heart Journal*. 2012. Vol. 33. P. 829–837.

456. Alderton W. K., Cooper C. E., Knowles R. G. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem. J.* 2001. Vol. 357 (Pt 3). P. 593–615.

457. Sangwon F. K., Daniel A. H., Solomon H. S. Sangwon F. Inducible Nitric Oxide Synthase Binds, S-Nitrosylates, and Activates Cyclooxygenase-2. *Science*. 2005. Vol. 310. P. 1966–1970.

458. Nitric oxide in cell survival: a janus molecule / V. Calabrese, C. Cornelius, E. Rizzarelli et al. *Antioxidants and Redox Signaling*. 2009. Vol. 11, № 11. P. 2717–2739.



459. Daff S. NO synthase: structures and mechanisms . *Nitric Oxide*. 2010. Vol. 23, № 1. P. 1–11.
460. Осипов А. Н., Борисенко Г. Г., Владимиров Ю. А. Биологическая роль нитрозильных комплексов гемопротеинов. *Успехи биол. хим.* 2007. Т. 47. С. 259–292.
461. Перцева Т. А., Гашинова Е. Ю., Ефимова. Н. А. Влияние курения на концентрацию оксида азота в выдыхаемом воздухе у пациентов с хроническим обструктивным заболеванием легких. *Український пульмонологічний журнал*. 2010. № 3. С.19–21.
462. Рождественская Т. А., Лазуко С. С. Влияние индуцибельной NO-синтазы и оксида азота в сыворотке крови беременных с артериальной гипертензией на состояние плодового кровотока. *Проблемы репродукции*. 2015. № 5. С. 127–131.
463. Kietadisorn R., Juni Rio P., Moens AnL. Tackling endothelial dysfunction by modulating NOS uncoupling: new insights into its pathogenesis and therapeutic possibilities. *Am. Endocrinology and Metabolism*. 2012. Vol. 302, № 5. P. E481–E495.
464. Матякубова С. А. Современные возможности профилактики гестационной гипертензии. *Молодой ученый*. 2014. № 10. С. 80–85.
465. Nitric oxide and redox mechanisms in the immune response / D. A. Wink, H. B. Hines, R. Y. S. Cheng et al. *J. Leukoc. Biol.* 2011. Vol. 89, № 6. P. 873–891.
466. Белая А. Ю., Красносельский Н. В. Оценка эндотелиальной дисфункции и состояние соединительной ткани у больных с раком молочной железы. *Харківська хірургічна школа*. 2015. № 6 (75). С. 92–96.
467. Akt as a therapeutic target in cancer / L. S. Steelman, K. M. Stadelman, W. H. Chappell et al. *Expert. Opin. Ther. Targets*. 2008. Vol. 12. P. 1139–1165.
468. Activation of the Akt/mammalian target of rapamycin / 4E-BP1 pathway by ErbB2 overexpression predicts tumor progression in breast cancers /

X. Zhou, M. Tan, V. Stone Hawthorne et al. *Clin. Cancer Res.* 2004. Vol. 10. P. 6779–6788.

469. Zhao J., Guan J. L. Signal transduction by focal adhesion kinase in cancer. *Cancer Met. Rev.* 2009. Vol. 28. P. 35–49.

470. Акімова В. М. Цитокіновий спектр крові при гострому деструктивному апендициті. *Вісник проблем біології і медицини.* 2012. Т. 2 (95), вип.3. С. 36–39.

471. Никитин Е. В., Чабан Т. В., Сервецкий С. К. Сучасні уявлення про систему цитокінів. *Інфекційні хвороби.* 2013. № 2. С. 64–69.

472. Eltzschig Н. К., Carmeliet P. Hypoxia and inflammation. *N. Engl. J. Med.* 2011. Vol. 364. P. 656–665.

473. Супрун Э. В., Терещенко С. В. Роль эндотелиальной дисфункции в формировании осложненной сахарного диабета и перспективы ее коррекции рецепторным антагонистом Интерлейкина-1. *Вісник наукових досліджень.* 2017. № 2. С. 5–12.

474. Case J. P., Baliunas A. J., Block J. A. Lack of efficacy of acetaminophen in treating symptomatic knee osteoarthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled comparison trial with diclofenac sodium. *Arch. Intern. Med.* 2003. Vol. 163. P. 169–178.

475. Сірман Я. В., Савицький І. В. Динаміка активності ендотеліальної синтази оксиду нітрогену при експериментальній діабетичній ретинопатії. *Офтальмологічний журнал.* 2020. № 6. С. 44–54.

476. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Analysis interconnection level index marker by endothelial NOS, hypoxia and dysfunction in the pathogenesis of experimental diabetic retinopathy. *Journal of Education, Health and Sport.* 2020. Vol. 10, № 3. P. 302–311.

477. Сірман Я. В., Савицький І. В. Зміни активності індукційної синтази оксиду нітрогену при експериментальній діабетичній ретинопатії та способах її корекції. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник*

Української медичної стоматологічної академії. 2021. Т. 21, вип. 3 (75). С. 208–214.

478. Dynamic of changes in the level of Interleukin 1B against the background of the development of experimental diabetic retinopathy and under the influence of various methods of correction / Y. V. Sirman, I. V. Savytskyi, N. I. Preys, O. M. Blavatska. *Journal of Education, Health and Sport*. 2022. Vol. 12, № 1. P. 493–502.

479. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Analysis of the relationship between the activity of inducible nitric oxide synthase and interleukin-1 in the pathogenesis of experimental diabetic retinopathy. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020. Vol. 10, № 1. P. 320–329.

480. Пшембаева Р. К., Бидельманова А. Д. Показатели свободнорадикального окисления слюны в частности перекисного окисления липидов у лиц, пользующихся протезами из разных материалов. *Наука и здравоохранение*. 2013. № 3. С. 60–62.

481. Веремейчик А. П. Особенности процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы у больных экземой на фоне лазеротерапии. *Медицинский журнал*. 2006. № 2. С. 29–31.

482. Владимиров Ю. А. Роль нарушений свойств липидного слоя мембран в развитии патологических процессов. *Патол. физиология и эксперим. терапия*. 1989. № 4. С. 7–19.

483. Экгардт В. Ф., Ковалев В. Ю., Орлова Н. С. Показатели перекисного окисления липидов у больных с различными стадиями диабетической ретинопатии. *Вестник Оренбургского государственного университета*. 2004. № 13. С. 221–222.

484. Гиперпродукция оксида азота в патофизиологии кровеносных сосудов (обзор) / Ж. К. Стокле, Б. Мюле, Р. Андрианцитохайна, А. Клещев. *Биохимия*. 1998. № 7 (63). С. 976–983.

485. Применение антиоксидантов в рациональной терапии сахарного диабета типа 2 / О. В. Занозина, Н. Н. Боровков, М. И. Балаболкин и др. *Фарматека*. 2006. № 11. С. 90–94.

486. Кобринец Л. А. Изменение активности ферментов антиоксидантной системы у проростков люпина вызванной действием соединений свинца. *Вестник Брестского государственного технического университета*. 2012. № 2 С. 86–89.

487. Рогожин, В. В. Peroксидаза как компонент антиоксидантной системы живых организмов. СПб. : ГИОРД, 2004. 240 с.

488. Андреева, В. А. Фермент пероксидаза: участие в защитном механизме растений. М. : Наука, 1988. С. 7–24.

489. Peroксидазы как маркеры устойчивости растений к патогену. Минова, А. Л. Кабачевская, Е. М. Ляхнович, Г. В. Волотовский, И. Д. Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : материалы Десятого съезда Белорусского общественного объединения фотобиологов и биофизиков, 19–21 июня 2012 г. Минск : Изд. Центр БГУ, 2012. С. 128–130

490. Sirman Y. V., Savytskyi I. V. The role of lipid peroxidation in the pathogenesis of experimental diabetic retinopathy. *Journal of Education, Health and Sport*. 2021. Vol. 11, № 2. P. 347–356.

491. Сірман Я. В., Савицький І. В., Прейс Н. І. Динаміка рівню малонового діальдегіду при експериментальній діабетичній ретинопатії та способах її корекції. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2020. Т. 20 № 4. С. 95–100.

492. Sirman Ya. V., Preys N. I., Savytskyi I. V. Study of reduction of antioxidant protection in the pathogenesis of experimental diabetic retinopathy. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020. Vol. 10, № 11. P. 306–311.

493. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Analysis of peroxidase activity in diabetic retinopathy and in applying various corrective means. *Journal of Education, Health and Sport*. 2019. Vol. 9, № 11. P. 442–454.

494. Features of the system of antioxidant protection and lipid peroxidation in microangiopathies against type 2 diabetes mellitus / I. V. Savitsky, I. I. Gritsan, V. M. Sarakhan, Ya. V. Sirman, N. I. Preys. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020. Vol. 10, № 10. P. 410-417.

495. Bioflavonoids complex using in the prevention and treatment of diabetes complications / I. I. Hrytsan, I. V. Savytskyi, V. M. Sarakhan, Ya. V. Sirman, N. I. Preys, N. S. Badiuk. *PharmacologyOnLine; Archives*. 2020. Vol. 3. P. 279–283.

496. Results of histological examination of experimental diabetic retinopathy and its correction with metformin, aflibercept, L-arginine solution and cyticolin / Y. V. Sirman, I. V. Savytskyi, N. I. Preys, O. M. Blavatska. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020. Vol. 10, № 12. P. 426–435.

497. Sirman J. V., Savytskyi I. V. Investigation of pro-antioxidant and antioxidant systems changes in experimental diabetic retinopathy. *Філатовські читання – 2019* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 23–24 травня 2019 р. Одеса : Чорномор'я, 2019. С. 148.

498. Супрун Э. В., Терещенко С. В. Роль эндотелиальной дисфункции в формировании осложнений сахарного диабета и перспективы ее коррекции рецепторным антагонистом интерлейкина-1. *Вісник наукових досліджень*. 2017. № 2. С. 5–12.

499. Deaths: Final data for 2008 / A. M. Mini'no, S. L. Murphy, J. Xu, K. D. Kochanek. *National Vital Statistics Reports*. 2011. Vol. 8 (Suppl. 7). P. 9–11.

500. Global IDF/ISPAD Guideline for diabetes in childhood and adolescence. *IDF*. 2011. P. 31–37.

501.Аметов А. С., Соловьева О. Л. Сердечно-сосудистые осложнения при сахарном диабете: патогенез и пути коррекции. *РМЖ. Эндокринология*. 2011. № 27. С. 1694–1699.

502. Endothelial dysfunction and microvascular complications in type 1 diabetes mellitus / S. Jin, C. Noh, S. Yang et al. *J. Korean Med. Sci.* 2008. Vol. 1. P. 77–82.

503.Кайдашев И. П. NF-κB-сигнализация как основа развития системного воспаления, инсулинорезистентности, липотоксичности, сахарного диабета 2-го типа и атеросклероза. *Международный эндокринологический журнал*. 2011. № 3 (35). С. 35–40.

504. Cerebral endothelial expression of Robo1 affects brain infiltration of polymorphonuclear neutrophils during mouse stroke recovery / S. Gangaraju, K. Sultan, S. N. Whitehead et al. *Neurobiol. Dis.* 2013. Vol. 54. P. 24–31.

505.Majnzal T. Endothelium dysfunction: pathophysiology, diagnosis and prognosis. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 2008. Vol. 133, № 47. P. 2465–2470.

506. Распространенность сахарного диабета 2 типа и других нарушений углеводного обмена в зависимости от критериев диагностики / А. В. Древаль, И. В. Мисникова, И. А. Барсуков и др. *Сахарный диабет*. 2010. № 4. С. 116–121

507.Дерягина В. П., Реутов В. П. Модулирование образования активных форм азота ингредиентами растительных продуктов при ингибировании канцерогенеза. *Успехи молекулярной онкологии*. 2019. № 6 (1). С. 18–36.

508. Реутов В. П. Цикл оксида азота в организме млекопитающих и принцип цикличности. *Биохимия*. 2002. № 67 (3). С. 353–376.

509. Реутов В. П., Ажипа Я. И., Каюшин Л. П. Изучение методом электронного парамагнитного резонанса продуктов взаимодействия окислов азота с некоторыми органическими соединениями. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1978. № 9. С. 299–301.

510. Реутов В. П., Ажипа Я. И., Каюшин Л. П. Исследование парамагнитных центров, возникающих при взаимодействии двуокиси азота с олеиновой кислотой и тирозином. *Доклады Академии наук СССР*. 1978. Т. 241, № 6. С. 1375–1377.

511. Реутов В. П., Орлов С. Н. Физиологическое значение гуанилатциклазы и роль окиси азота и нитросоединений в регуляции активности этого фермента. *Физиология человека*. 1993. Т. 19, № 1. С. 124–137.

512. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide / L. J. Ignarro, G. M. Buga, K. S. Wood et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1987. Vol. 84. P. 9265–9269.

513. Förstermann U., Sessa W.C. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur. Heart. J.* 2012. Vol. 33, № 7. P. 829–837.

514. Intersection of interferon and hypoxia signal transduction pathways in nitric oxide-induced tumor apoptosis / D. S. Tendler, C. Bao, T. Wang et al. *Cancer Res.* 2001. Vol. 61, № 9. P. 3682–3688.

515. Nathan C. F., Hibbs J. B. Role of nitric oxide synthesis in macrophage antimicrobial activity. *Curr. Opin. Immunol.* 1991. Vol. 3, № 1. P. 65–70.

516. Alderton W. K., Cooper C. E., Knowles R. G. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem. J.* 2001. Vol. 357. P. 593–615.

517. Биологическая активность оксида азота в механизмах опухолевого роста / В. Н. Запорожан, А. И. Гоженко, Т. В. Корнеев, В. Г. Дубинина. *Успехи физиологических наук*. 2004. № 35 (1). С. 66–82.

518. Зенков Н. К., Меньщикова Е. Б., Реутов В. П. NO-синтазы в норме и при патологии различного генеза. *Вестник РАМН*. 2000. № 4. С. 30–34.

519. Formation of nitric oxide metabolites during growth of transplanted tumors with different metastatic potential / V. P. Deryagina, N. I. Ryzhova, L. V. Krivosheeva, I. S. Golubeva. *Biochemistry (Moscow)*. Suppl. Series B: Biomed. Chemistry. 2015. Vol. 9, № 2. P. 130–136.

520. Кондакова И. В., Загребельная Г. В., Реутов В. П. Влияние пероксидных радикалов и оксида азота на пролиферирующую активность опухолевых клеток. *Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия медико-биологических наук*. 2003. № 1. С. 78–82.

521. Reutov V. P. Nitric oxide cycle in mammals and the cyclicity principle. *Biochemistry*. 2002. Vol. 67, № 3. P. 293–311.

522. Дерягина В. П. Образование свободнорадикальных соединений при действии нитрита натрия на организм животных и в условиях *in vitro*. *Токсикологический вестник*. 2003. № 6. С. 20–25.

523. Menshikova E. B., Zenkov N. K., Reutov V. P. Nitric oxide and NO-synthase in mammals in different functional states. *Biochemistry (Moscow)*. 2000. Vol. 65, № 4. P. 409–426.

524. Reutov V. P., Kayushin L. P., Sorokina E. G. Physiological role of nitric oxide cycle in human and animal organism. *Hum. Physiol.* 1994. Vol. 20. P. 219–229.

525. Friebe A., Koesling D. Regulation of nitric oxide-sensitive guanylyl cyclase. *Circ. Res.* 2003. Vol. 93. P. 96–105.

526. Nitric oxide-sensitive guanylyl cyclase is the only nitric oxide receptor mediating platelet inhibition / O. Dangel, E. Mergia, K. Karlisch et al. *J. Thromb. Haemost.* 2010. Vol. 8. P. 1343–1352.

527. Biological nitric oxide signaling: chemistry and terminology / T. A. Heinrich, R. S. da Silva, K. M. Miranda et al. *Brit. J. Pharmac.* 2013. Vol. 169, № 7. P. 1417–1429.

528. DNA deaminating ability and genotoxicity of nitric oxide and its progenitors / D. A. Wink, K. S. Kaspizak, C. M. Maragos et al. *Science*. 1991. Vol. 254, № 5034. P. 1001–1003.

529. Гуландом З. Ш. Влияние L-аргинина на дисфункцию эндотелия у больных с врождённым пролапсом митрального клапана. *Казанский медицинский журнал*. 2014. Т. 95, № 3. С. 326–331.



530. Habid S., Ali A. Biochemistry of nitric oxide. *Ind. J. Clin. Biochem.* 2011. Vol. 26, № 1. P. 3–17.

531. Дисфункция эндотелия и факторы риска при ишемической болезни сердца / А. Е. Филиппов, А. М. Ханджян, К. А. Солодухин и др. . *Клин. мед.* 2006. № 2. С. 28–32.

532. Аргинин в медицинской практике / Ю. М. Степанов, И. Н. Колонов, А. И. Журбина, А. Ю. Филлипова. *Журн. АМН Украины.* 2004. Т. 10, № 1. С. 340–352.

533. Shibuga M. Vascular endothelial growth factor receptor-1 (VEGFR)/Fl+1 a dual regulator for angiogenesis. *Angiogenesis.* 2006. Vol. 9, № 4. P. 225–230.

534. Жуков В. И., Ткаченко А. С. Система перекисного окисления липидов и активность апоптоза при экспериментальном хроническом гастроэнтероколите. *Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация.* 2013. № 18 (161), вып. 23. С. 134–137.

535. Акімова В. М. Імунні механізми в патогенезі запалення органів черевної порожнини : дис. ... д-ра біол. н. ; 14.03.04 / Сумський державний університет. Суми, 2019. 429 с.

536. Кетлинский С. А., Симбирцев А. С. Цитокины. СПб. : Фолиант, 2008. 551 с.

537. Порядин Г. В., Салмаси Ж. М., Казимирский А. Н. Иммунная система и воспаление. *Современные проблемы аллергологии, иммунопатологии, иммунофармакологии.* 2002. № 5. С. 269–280.

538. Гусев Е. Ю., Черешнев В. А. Системное воспаление с позиции теории типового патологического процесса. *Цитокины и воспаление.* 2007. № 4. С. 9–21.

539. Дранник Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология. 4-е вид. перероб. і допов. К., 2010. 552 с.

540. Ярилин А.А. Апоптоз и его место в иммунных процессах . *Иммунология*. 1996. № 6. С. 10–23.

541. Казмирчук В. Е., Ковальчук Л. В. Иммунодефицитная и иммунозависимая патология: проблема, причины и следствия. *Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія*. 2009. № 6–7. С. 23–28.

542. Чуклин С. Н., Переяслов А. А. Интерлейкины. Львов : Лига-Пресс, 2005. 481 с.

543. Гусев Е. Ю., Черешнев В. А. Системное воспаление: теоретические и методологические подходы к описанию модели общепатологического процесса. Часть 1. Общая характеристика процесса. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2012. № 4. С. 3–12.

544. Fantuzzi G., Faggioni R., Sironi M. Defective inflammatory response and cytokine synthesis in IL-1 $\beta$  deficient mice. *Cytokine*. 1995. Vol. 7. P. 608–615.

545. Dinarello C. A. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood*. 1996. Vol. 6. P. 2095–2147.

546. Dinarello C. A. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annu. Rev. Immunol.* 2009. Vol. 27. P. 519–550.

547. Blankenberg S., Yusuf S. The inflammatory hypothesis: any progress in risk stratification and therapeutic targets? *Circulation*. 2006. Vol. 114. P. 1557–1560.

548. Титов В. Н. Роль макрофагов в становлении воспаления, действие интерлейкина-1, интерлейкина-6 и активность гипоталамо-гипофизарной системы (обзор литературы). *Клинич. лабор. диагностика*. 2003. № 2. С. 3–10.

549. Чуклин С. Н., Переяслов А. А. Интерлейкины. Львов : Лига-Пресс, 2005. 481 с.

550. Андреева Л. С. Хамнуева Л. Ю., Шагун О. В. Роль цитокинов в патогенезе сахарного диабета. *Сибирский медицинский журнал*. 2003. С. 5–8.

551. Кетлинский С. А., Калинина Н. М. Цитокины моно-нуклеарных фагоцитов в регуляции воспаления и иммунитета. *Иммунология*. 1995. № 3. С. 30–44.

552. Кашкин К. П. Цитокины иммунной системы: основные свойства и иммунобиологическая активность (лекция). *Клин. лаб. диагностика*. 1998. № 11. С. 21–32.

553. Ярлин А. А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и при патологии. *Иммунология*. 1977. № 5. С. 7–14.

554. Гусев Е. Ю., Черешнев В. А. Иммунология воспаления: роль цитокинов. *Медицинская иммунология*. 2001. № 3. С. 361–368.

555. Возианов А. Ф., Бутенко А. К., Зак К. П. Цитокины. Биологические и противоопухолевые свойства. Киев, 1998. 316 с.

556. Симбирцев А. С. Интерлейкин-2 и рецепторный комплекс интерлейкина-2 в регуляции иммунитета. *Иммунология*. 1998. № 6. С. 3–9.

557. Симбирцев А. С. Биология семейства интерлейкина-Б человека. *Иммунология*. 1998. № 3. С. 9–17.

558. Симбирцев А. С. Интерлейкин-8 и другие хемокины. *Иммунология*. 1999. № 4. С. 9–15.

559. Насыртдинова А. Д., Моругова Т. В., Алибаева Г. Ф. Коррекция иммунофаном цитокинового дисбаланса у больных сахарным диабетом 2 типа с инфекцией мочевых путей. *Современные проблемы науки и образования*. 2018. № 3. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=27634> (дата обращения: 10.01.2021).

560. Кологривова И. В. Влияние глюкозы и инсулина на секрецию цитокинов мононуклеарами периферической крови *in vitro* / И. В. Кологривова, Т. Е. Сулова, О. А. Кошельская, И. В. Винницкая. *Иммунология*. 2013. № 5. С. 267–270.

561. Аметов С. А. Как снизить риск развития осложнений у пациентов с СД 2 типа? Выбор терапевтической тактики. *Эффективная фармакотерапия*. 2017. № 9. С. 46–48.

562. Goldberg R. B. Cytokine and cytokine-like inflammation markers, endothelial dysfunction, and imbalanced coagulation in development of diabetes and its complications. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2009. Vol. 94, № 9. P. 3171–3182.

563. Уровень эндотоксемии и цитокиновый статус у пациентов с сахарным диабетом 2 типа и неалкогольной жировой болезнью печени / Е. А. Литвиненко, П. Н. Боднар, Н. И. Лисяний, Л. Н. Бельська. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. 2014. № 4. С. 86–89.

564. Маммаев С. Н., Багомедова Н. В., Богомолов П. О. Цитокиновая система при неалкогольном стеатогепатите. *РЖГГН*. 2007. № 4. С. 35–39.

565. Супрун Э. В., Терещенко С. В. Роль эндотелиальной дисфункции в формировании осложнений сахарного диабета и перспективы ее коррекции рецепторным антагонистом Интерлейкина-1. *Вісник наукових досліджень*. 2017. № 2. С. 5–12.

566. Macrophages prevent hemorrhagic infarct transformation in murine stroke models / M. Gliem, A. K. Mausberg, J. I. Lee et al. *Ann. Neurol.* 2012. Vol. 71, № 6. P. 743–752.

567. Blum A., Miller H. Role of cytokines in heart failure. *Am. Heart. J.* 1998. Vol. 135. P. 181–186.

568. Симбирцев А. С. Цитокины: классификация и биологические функции. *Цитокины и воспаление*. 2004. Т. 3, № 2. С. 16–22.

569. Симбирцев А. С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма. *Цитокины и воспаление*. 2002. Т. 1, № 1. С. 9–17.

570. Dinarello C. A. IL-18: a Th1-inducing, proinflammatory cytokine and new member of the IL-1 family. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1999. Vol. 103. P. 11–15.

571. Braddock M., Quinn A. Targeting IL-1 in inflammatory disease: new opportunities for therapeutic intervention. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2004. Vol. 3. P. 330–339.

572. Eltzschig H. K., Carmeliet P. Hypoxia and inflammation. *N. Engl. J. Med.* 2011. Vol. 364. P. 656–665.

573. Эндотелий. Физиология и патология: монография / А. С. Кузнецова, А. И. Гоженко, Е. С. Кузнецова и др. Одесса : «Фенікс», 2018. 284 с.

574. Clinical update: Cardiovascular disease in diabetes mellitus. Atherosclerotic cardiovascular disease and heart failure in type 2 diabetes mellitus. Mechanisms, management, and clinical considerations / C. C. Low Wang, C. N. Hess, W. R. Hiatt, A. B. Goldfine. *Circulation.* 2016. Vol. 133. P. 2459–2502.

575. Heart disease and stroke statistic – 2016 update. A report from the American Heart Association / D. Mozaffarian, E. J. Benjamin, A. S. Go et al. *Circulation.* 2016. Vol. 133, № 4. P. 38–360.

576. Jia G., Durante W., Sowers J. R. Endotelium-Derived Hyperpolarizing Factors: A Potential Therapeutic Target for Vascular Dysfunction in Obesity and Insulin Resistance. *Diabetes.* 2016. Vol. 65, № 8. P. 2118–2120.

577. Дедов И. И., Шестакова М. В. Диабетическая нефропатия. М. : Универсум Паблишинг, 2000. 239 с.

578. Сусла О. Б., Мисула І. Р., Гоженко А. І. Структурно-функціональні зміни ендотелію і кальциноз серцевих клапанів у пацієнтів із хронічною хворобою нирок до проведення діалізу. *Кровообіг та гемостаз.* 2011. № 3–4 (33–34). С. 64–68.

579. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе осложнений сахарного диабета / А. И. Гоженко, А. С. Кузнецова, Е. С. Кузнецова, Т. Н. Быць. *Эндокринология*. 2017. № 22 (4). С. 381–389.

580. Пашковська Н. В., Пашковський В. М. Цукровий діабет і мозковий інсульт: сучасний погляд на проблему. *Міжнародний ендокринологічний журнал*. 2018. № 14 (4). С. 11–22.

581. The effect of multi-factorial intervention on plasma von Willebrand factor, soluble E-selectin and tissue factor in diabetes mellitus: implications for atherosclerotic vascular disease / H. S. Lim, A. Y. Chong, B. Freestone et al. *Diabet. Med.* 2005. Vol. 22, № 3. P. 249–255.

582. Гликозилирование белков при сахарном диабете: феномен образования и патогенические последствия / Т. М. Бойчук, О. К. Толстанов, М. И. Грицюк, А. И. Гоженко. *Актуальные проблемы транспортной медицины*. 2013. № 3. С. 52–59.

583. Shadman Z., Khoshniat M., Poorsoltan M. Association of high carbohydrate versus high fat diet with glycated hemoglobin in high calorie consuming type 2 diabetics. *J. Diabetes Metab. Disord.* 2013. Vol. 12, № 1. P. 27.

584. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе осложнений сахарного диабета. Сообщение 1. Эндотелиальная дисфункция: этиология, патогенез и методы диагностики / А. И. Гоженко, А. С. Кузнецова, Е. С. Кузнецова и др. *Эндокринология*. 2017. № 22 (2). С. 171–181.

585. Кравченко Н. А., Ярымыш Н. В. Регуляция экспрессии эндотелиальной по-синтазы и дисфункция сосудистого эндотелия при сердечно-сосудистой патологии. *Цитология и генетика*. 2008. № 4. С. 69–79.

586. Luscher T. F., Barton M. Biology of the endothelium. *Clin. Cardiol.* 1997. Vol. 11, № 2. P. 3–10.

587. Адашева Т. В. NO и сердечно-сосудистая патология. *Электронный журнал ANGIOLOGIA.ru*. 2010. № 1.

588. Эндотелий: функция и дисфункция / З. А. Лупинская, А. Г. Зарифьян, Т. Ц. Гурович, С. Г. Шлейфер. 2008. 373 с.

589. Влияние донора оксида азота, модулятора лекарственной устойчивости опухолей на гибель клеток и экспрессию белка p53 / Т. А. Раевская, С. А. Гончарова, Н. П. Коновалова и др. *Бюл. экс. биол. и мед.* 2009. № 4. С. 401–403.

590. Targeting cardiovascular disease with Novel SIRT-1 pathways / Z. Z. Chong, S. Wang, Y. C. Shang, K. Maiese. *Future Cardiol.* 2012. Vol. 8, № 1. P. 89–100.

591. Vasamsetti S. B., Kotamraju S. Oxidative stress-induced vascular dysfunction: mechanistic perspectives and preventive strategies. *IIOABJ.* 2011. Vol. 2, № 6. P. 9–28.

592. Martens C. R., Edwards D G. Peripheral vascular dysfunction in chronic kidney disease. *Card. Res. Pract.* 2011. Vol. 2011. P. 267257.

593. Застосування L- аргініну в лікуванні системної склеродермії / І. А. Палієнко, О. М. Кармазіна, О. М. Шепетько та ін. *Медицина неотложных состояний.* 2013. № 4. С. 80–84.

594. L-Arginine improves endothelium-dependent vasodilation in hypocholesterolemic humans / M. A. Creager, S. J. Gallagher, X. J. Girerd et al. *J. Clin. Invest.* 1992. Vol. 90. P. 1248–1253.

595. Boger R. H. Asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, explains the “L-arginine paradox” and acts as novel cardiovascular risk factor. *J. Nutr.* 2004. Vol. 134. P. 2842–2847.

596. Cooke J. P. ADME: its role in vascular disease. *Vasc. Med.* 2005. Vol. 10, № 1. P. 11–17.

597. Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthase in vitro and in vivo / D. D. Rees, R. M. Palmer, R. Schulz et al. *Br. J. Pharmacol.* 1990. Vol. 101. P. 746–752.

598. Faraci F. M., Brian J. E. J., Heistad D. D. Response of cerebral blood vessels to an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase. *Am. J. Physiol.* 1995. Vol. 269. P. 1522–1527.

599. Distribution of free methylarginines in rat tissues and in the bovine brain / S. Ueno, A. Sano, K. Kotani et al. *J. Neurochem.* 1992. Vol. 59. P. 2012–2016.

600. Ogawa T., Kimoto M., Sasaoka K. Dimethylarginine: pyruvate aminotransferase in rats. Purification, properties, and identity with alanine: glyoxylate aminotransferase 2. *J. Biol. Chem.* 1990. Vol. 265. P. 20938–20945.

601. Teerlink T. ADMA metabolism and clearance. *Vasc. Med.* 2005. Vol. 10, № 1. P. 73–81.

602. Short-term calorie restriction reverses vascular endothelial dysfunction in old mice by increasing nitric oxide and reducing oxidative stress / C. Rippe, L. Lesniewski, M. Connel et al. *Aging. Cell.* 2010. Vol. 9. P. 304–312.

603. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and cardiovascular disease: a HuGE review / J. P. Casas, J. L. Cavalleri, L. E. Bautista et al. *Am. J. Human Genome Epidemiology.* 2006. Vol. 17. P. 1–15.

604. Oak J. H., Cai H. Attenuation of angiotensin II signaling recouples eNOS and inhibits non endothelial NOS activity in diabetic mice. *Diabetes.* 2007. Vol. 56. P. 118–126.

605. Кравченко Н. А., Ярмыш Н. В. Регуляция экспрессии эндотелиальной по-синтазы и дисфункция сосудистого эндотелия при сердечно-сосудистой патологии. *Цитология и генетика.* 2008. № 4. С. 69–79.

606. Бебякова Н. А., Хромова А. В., Феликсова О. М. Взаимосвязь периферической вазоконстрикции с полиморфизмом Т-786с гена эндотелиальной синтазы оксида азота. *Фундаментальные исследования.* 2013. Т. 12, № 2. С. 176–179.



607. Niu W., Qi Y. An updated meta-analysis of endothelial nitric oxide synthase gene: three well-characterized polymorphisms with hypertension. *Plos One*. 2011. Vol. 6, № 9. P. e24266.

608. Эндокринология / Г. М. Кроненберг, Ш. Мелмед, К. С. Полонски, П. Р. Ларсен ; перевод с англ. ; под ред. Дедова ИИ. 2010. 427 с.

609. Alyea R. A., Watson C S. Non genetic mechanism of physiological estrogen mediated dopamine efflux. *Eur. J. Neurosci*. 2009. Vol. 10. P. 59–65.

610. Влияние шаперона HSP27 на апоптоз опухолевых клеток типа ТНР-Т / Е. В. Кайгородова, Н. В. Рязанцева, В. В. Новицкий и др. *Бюл. эксп. биол. и мед.* 2012. № 154 (7). С. 87–90.

611. Халимова З. Ю., Холова Д. Ш. Влияние активности функции NO-системы на развитие дисфункции эндотелия у больных с риском развития НАГ. *Журнал теоретической и клинической медицины*. 2012. № 2. С. 210–7.

612. Холова Д. Ш. Хамедова Ф. С. Влияние каберголина на активность NO-системы эритроцитов в динамике терапии больных с семейно-наследственным анамнезом неактивной аденомы гипофиза. *Сборник тезисов Всероссийского конгресса эндокринологов*. М., 2012. 460 с.

613. Полиморфизм генов eNOS и iNOS при хронической сердечной недостаточности у больных ишемической болезнью сердца / А. Т. Тепляков, С. Н. Шилов, Е. Н. Березикова и др. *Кардиология*. 2010. № 4. С. 23–30.

614. Васькина Е. А., Цырендоржиев Д. Д., Демина Л. М. Роль нейтрофилов и прооксидантного потенциала крови в развитии эндотелиальной дисфункции при артериальной гипертензии. *Бюллетень СО РАМН*. 2003. № 2. С. 107–112.

615. Mathewkutty S., McGuire D. K. Platelet perturbations in diabetes: implications for cardiovascular disease risk and treatment. *Expert. Rev. Cardiovasc. Ther.* 2009. Vol. 7, № 5. P. 541–549.

616. Van Sloten T. T. Vascular dysfunction: At the heart of cardiovascular disease, cognitive impairment and depressive symptoms. *J. Vascular surgery*. 2017. Vol. 19. P. 18–23.

617. Эндотелиопротекторные свойства нового агониста рецептора *gpr119* (дипиарон) у животных с хроническим нарушением мозгового кровообращения и экспериментальным сахарным диабетом / Д. В. Куркин, Е. О. Логвинова, Д. А. Бакулин и др. *Современные проблемы науки и образования*. 2018. № 4.; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=27935> (дата обращения: 06.09.2020).

618. Содержание оксида азота в плазме крови у больных сахарным диабетом типа 2 на фоне применения диквертина и танакана / М. И. Балаболкин, М. С. Никишова, Л. В. Недосугова и др. *Сахарный диабет*. 2004. № 1. С.16–17.

619. Реутов В. П., Сорокина Е. Г. NO-Синтазная и нитритредуктазная компоненты цикла оксида азота. *Биохимия*. 1998. Т. 63, № 7. С. 1029–1040.

620. Nitric oxide and its role in lipid peroxidation / F. Violi, R. Marino, M.T. Milite, L. Loffredo. *Diabetes metabolism research and reviews*. 1999. Vol. 15. P. 283–288.

621. Ярмыш Н. В., Грозная Л. Н. Эндотелиальная дисфункция и её регуляторные факторы. *Вісник проблем біології і медицини*. 2014. № 3 (2). С. 37–43.

622. Endotelial nitric oxide syntase gene polymorphisms and cardiovascular disease: a HuGE review / J. P. Casas, G. L. Cavalleri, L. E. Bautista et al. *American J. Human genome epidemiology*. 2006. Vol. 17. P. 1–15.

623. Oak J. H., Cai H. Attenuation of angiotensin II signaling recouples eNOS and inhibits non endothelial NOS activity in diabetic mice. *Diabetes*. 2007. Vol. 56. P. 118–126.

624. Кузьминова Н. В., Серкова В. К. Функциональное состояние сосудистого эндотелия у больных гипертонической болезнью. *Український терапевтичний журнал*. 2008. № 2. С. 21–27.

625. Corretti M. C. Guidelines for the ultrasound assesment of endothelin-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery reactivity / M. C. Corretti, T. J. Anderson, F. J. Benjamin et al. *J. Amer. Coll. Cardiol.* 2002. Vol. 39. P. 257–265.

626. Garaliene V. Endothelium and nitric oxide. *Medicina (Kaunas)*. 2008. Vol. 44. P. 564–569.

627. Rippe C. Short-term calorie restriction reverses vascular endothelial dysfunction in old mice by increasing nitric oxide and reducing oxidative stress / C. Rippe, L. Lesniewski, M. Connell et al. *Aging. Cell*. 2010. Vol. 9. P. 304–312.

628. Курилина Е. И., Чурюмов Д. С. Роль метаболического звена оксида азота в механизмах развития глаукомной оптической нейропатии и перспективы нейропротекции при глаукоме: современные аспекты. *Международный медицинский журнал*. 2013. № 1. С. 53–59.

629. Flammer J. Glaucoma. Bern : Verlag Hans Huber, 2001. 416 p.

630. Метаболическая концепция патогенеза глаукоматозной оптической нейропатии / Н. И. Курышева, Н. А. Маркичева, А. М. Деев, Г. А. Шилкин. *Современные технологии лечения глаукомы* : материалы науч.-практ. конф. Федоровские чтения-2003. М., 2003. С. 87–96.

631. Оксид азота в патогенезе катаракты и глаукомы / Н. И. Курышева, И. К. томилова, А. А. Деев, С. Б. Назаров. *Вестн. офтальмологии*. 2001. № 5. С. 5–7.

632. Stuehr D. J. Enzymes of the L-arginine to nitric oxide pathway. *J. Nutr.* 2004. Vol. 134. P. 2748–2751.

633. McSorley S. J., Liew F. Y. Nitric oxide pathway. *Encyclopedia of Immunology* ; ed. P. J. Delves, J. M. Roitt. N. Y. : Academic Press. 2004. P. 1859–1851.

634. Кондашевская М. В. Современные представления о роли гепарина в гемостазе и регуляции ферментативной и гормональной активности. *Вестник РАМН*. 2010. № 7. С. 35–43.

635. Saboor M., Ilyas M. S. Platelets structural, functional and metabolic alterations in diabetes mellitus. *Pak. J. Physiol.* 2012. Vol. 8, № 2. P. 40–43.

636. Лупинская З. А. Эндотелий сосудов – основной регулятор местного кровотока. *Вестник КРСУ*. 2003. № 7. С. 11–21.

637. Perneby C. Studies of platelet function, and effects of aspirin and clopidogrel treatment. Stockholm : Karolinska Institutet. 2011. 62 p.

638. Маркери ендотеліальної дисфункції, функціонально-структурні зміни міокарда і тромбоцитів при кардіо-васкулярній автономній нейропатії у хворих на цукровий діабет 2 типу / В. О. Сергієнко, В. Б. Сегін, Ажмі Самір, О. О. Сергієнко. *Ендокринологія*. 2014. № 19 (2). С. 99–105.

639. Шишкин А. Н., Лындина М. Л. Эндотелиальная дисфункция и артериальная гипертензия. *Артериальная гипертензия*. 2008. № 14 (4). С. 315–319.

640. Endothelin-A receptor antagonism modifies cardiovascular risk factors in CKD / N. Dhaun, V. Melville, S. Blackwell et al. *J. Amer.Soc.Nephrol.* 2013. Vol. 24, № 1. P. 31–36.

641. Эндотелиальная дисфункция в развитии диабетической кардиомиопатии у больных сахарным диабетом 1 типа / Ю. Б. Бельчина, Л. К. Соколова, Н. Д. Тронько та ін. *Ендокринологія*. 2013. Т. 18, № 1. С. 44–49.

642. Dominant negative actions of human prostacyclin receptor variant through dimerization: implications for cardiovascular disease / I. Salam, M. Tetruashvily, A. J. Frey et al. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2010. Vol. 30, № 9. P. 1802–1809.

643. Biomarkers of diabetes-associated oxidative stress and antioxidant status in young diabetic patients with or without subclinical complications /

P. Martin-Gallan, A. Carrascosa, M. Gussinye, C. Dominguez. *Free Rad. Biol. Med.* 2003. Vol. 34, № 12. P. 1563–1574.

644. Heude B. Cognitive decline and fatty acid composition of erythrocyte membranes. *Amer. J. Clin. Nutrition.* 2003. Vol. 77, № 4. P. 803–808.

645. Витковский Ю. А., Кузник Б. И., Солпов А. В. Патогенетическое значение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии. *Медицинская иммунология.* 2006. № 5. С. 745–752.

646. Пашковська Н. В. Когнітивні порушення при цукровому діабеті 2 типу: роль гіпоглікемізуючої терапії. *Международный эндокринологический журнал.* 2018. № 14 (1). С. 76–85.

647. Урясьев О. М., Шаханов А. В. Роль полиморфизма синтаз оксида азота в формировании коморбидной патологии – бронхиальной астмы и ипертонической болезни. *Казанский медицинский журнал.* 2017. Т. 98, № 2. С. 226–232.

648. Лев Н. С. Патогенетическая роль оксида азота при бронхиальной астме. *Рос. вестн. перинатол. и педиатрии.* 2000. № 4. С. 48–51.

649. Цитокины и оксид азота при бронхиальной астме / Ф. И. Петровский, Ю. А. Петровская, Л. М. Огородова, В. Ю. Серебров. *Бюлл. сибир. мед.* 2002. № 1. С. 70–74.

650. Диагностически значимые маркёры эндотелиальной дисфункции у больных молодого возраста с артериальной гипертонией / С. В. Лямина, А. П. Ребров, Н. П. Лямина, В. Н. Сенчихин . *Регионарн. кровообращение и микроциркуляция.* 2007. № 6 (3). С. 59–65.

651. Сомова Л. М., Плехова Н. Г. Оксид азота как медиатор воспаления. *Вестн. ДВО РАМН.* 2006. № 2. С. 77–80.

652. Зарипова Р. И., Гайнутдинов Х. Л., Зефиоров Т. Л. Влияние блокады NO-синтаз на продукцию NO в сердце крыс при гипокинезии. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2014. № 5. С. 554–556.

653. Оксид азота и цикл в миокарде: молекулярные, биохимические и физиологические аспекты / В. П. Реутов, В. Е. Охотин, А. В. Шуклин и др. *Успехи физиол. наук*. 2007. Т. 38, № 4. С. 39–58.

654. Forstermann U., Sessa W. C. Nitric oxide synthases: regulation and function. *European Heart Journal*. 2012. Vol. 33. P. 829–837.

655. Alderton W. K., Cooper C. E., Knowles R. G. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem. J*. 2001. Vol. 357 (Pt 3). P. 593–615.

656. Inducible Nitric Oxide Synthase in the Carcinogenesis of Gastrointestinal Cancers/ G.A. de Oliveira, R.Y.S. Cheng, L.A. Ridnour, et al. *Antioxid Redox Signal* . 2017. Vol. 26, № 18. P. 1059-1077.

657. Nitric oxide in cell survival: a janus molecule / V. Calabrese, C. Cornelius, E. Rizzarelli et al. *Antioxidants and RedoxSignaling*. 2009. Vol. 11, № 11. P. 2717–2739.

658. Daff S. NO synthase: structures and mechanisms. *Nitric Oxide*. 2010. Vol. 23, № 1. P. 1–11.

659. Осипов А. Н., Борисенко Г. Г., Владимиров Ю. А. Биологическая роль нитрозильных комплексов гемопротеинов. *Успехи биол. хим.* 2007. Т. 47. С. 259–292.

660. Ассоциация генетического полиморфизма гена эндотелиальной синтазы оксида азота с сердечно-сосудистой патологией / А. А. Куба, Ю. М. Никонова, О. М. Феликсоваи др. *Современные проблемы науки и образования*. 2015. № 3. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=17352> (дата обращения: 08.12.2020).

661. Недоспасов А. А., Беда Н. В. Биогенные оксиды азота. *Природа*. 2005. № 7. С. 35–42.

662. Современные представления о дисфункции эндотелия и методах ее коррекции при атеросклерозе / Е. В. Шляхто, О. А. Беркович, О. Д. Беляева и др. *Кардиология*. 2002. № 3. С. 9–13.

663. Pattern of NOS2 and NOS3 mRNA expression in human A549 cells and primary cultured AEC II / D. V. Pechkovsky, G. Zissel et al. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2002. Vol. 282, № 4. P. 684–692.

664. Жлоба А. А. Ассиметричный диметиларгинин в качестве медиатора и маркера развития эндотелиальной дисфункции. *Артериальная гипертензия.* 2007. Т.13, № 2. С. 119–127.

665. Гаврилова Н. А., Тищенко О. Е. Влияние сулодексида на функциональное состояние эндотелия у больных сахарным диабетом и диабетической ретинопатией. *Сахарный диабет.* 2011. № 2. С. 66–68.

666. Endothelial dysfunction and the kidney: emerging risk factors for renal insufficiency and cardiovascular outcomes in essential hypertension / F. Perticone, A. Sciacqua, R. Maio et al. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2005. Vol. 46. P 518–523.

667. Endothelial Dysfunction in Hypertension Is Independent From the Etiology and From Vascular Structure / D. Rizzoni, E. Porteri, M. Castellano et al. *Hypertension.* 1998. Vol. 31. P. 335–341.

668. High plasma level of asymmetric dimethylarginine in patients with acutely exacerbated congestive heart failure: role in reduction of plasma nitric oxide level / S. M. Osanai, T. K. T. Matsunaga, T. Ishizaka et al. *Heart Vessels.* 2003. Vol. 18. P 177–182.

669. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure / P. Vallance, A. Leone, A. Calver et al. *Lancet.* 1992. Vol. 339. P 572–575.

670. Endogenous dimethylarginine as an inhibitor of nitric oxide synthesis / P. Vallance, A. Leone, A. Calver et al. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1992. Vol. 20 (suppl. 12). P S60–S62.

671. Teerlink T. Measurement of asymmetric dimethylarginine in plasma: methodological considerations and clinical relevance. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2005. Vol. 43. P. 1130–1138.

672. Asymmetric dimethylarginine causes hypertension and cardiac dysfunction in humans and is actively metabolized by dimethylarginine dimethylaminohydrolase / V. Achan, M. Broadhead, M. Malaki et al. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2003. Vol. 23. P 1455–145

673. Буряк В. В. Роль асиметричного диметіларгініну у формуванні патофізіологічних механізмів порушення контролю рівня артеріального тиску. *Молодий вчений*. 2014. № 6 (09). С. 142–144.

674. Сорокина Ю. А., Ловцова Л. В. Коэффициенты окислительного стресса как способ персонифицирования фармакотерапии в дебюте СД 2 типа. *Universum: медицина и фармакология*. 2014. № 1 (14). URL: <https://universum.com/ru/med/archive/item/1868> (дата обращения: 20.11.2020).

675. Аметов А. С. Сахарный диабет 2 типа. Проблемы и решения. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. 1119 с.

676. Демин Ю. А., Демина М. Ю. Эффективность использования криоконсервированных мезенхимальных стволовых клеток плаценты в коррекции оксидативного статуса при сахарном диабете 2-го типа. *Международный медицинский журнал*. 2015. № 3. С. 55–58.

677. Classification of diabetic retinopathy and diabetic macular edema / W. Lihteh et al. *World J. Diabetes*. 2013. Vol. 4, № 6. P. 290–294.

678. Expression modification of uncoupling proteins and MnSOD in retinal endothelial cells and pericytes induced by high glucose: the role of reactive oxygen species in diabetic retinopathy / Y. Cui et al.. *Exp. Eye Res.* 2006. Vol. 83, № 4. P. 807–816.

679. Oxidative stress in diabetes: implications for vascular and other complications / D. Pitocco, M. Tesauro, R. Alessandro et al. *Int. J. Mol. Sci.* 2013. Vol. 14. P. 21525–21550.

680. Kowluru R. A. Effect of reinstatement of good glycemic control on retinal oxidative stress and nitrate stress in diabetic rats. *Diabetes*. 2003. Vol. 52, № 3. P. 818–823.



681. Zhong Q., Kowluru R. A. Epigenetic changes in mitochondrial superoxide dismutase in the retina and the development of diabetic retinopathy. *Diabetes*. 2011. Vol. 60, № 4. P. 1304–1313.

682. Oxidative stress in type 1 diabetes / K. Haskins et al.. *Ann. of the New York Academy of Sciences*. 2003. Vol. 1005. P. 43–54.

683. Применение антиоксидантов в рациональной терапии сахарного диабета типа 2 / О. В. Занозина, Н. Н. Боровков, М. И. Балаболкин и др. *Фарматека*. 2006. № 11. С. 14.

684. Пасечникова Н. В., Мороз О. А. Исследование влияния кверцетина и липоата на процессы перекисного окисления липидов в сетчатке при экспериментальном диабете. *Офтальмологический журнал*. 2016. № 4 (470). С. 38–42.

685. Мороз О. А. Мембрано-протекторное воздействие кверцетина и липоата на лизосомы сетчатки при стрептозотоциновом диабете. *Офтальмологічний журнал*. 2014. № 3. С. 76–80.

686. Stitt A. W., Curtis T. M. Advanced glycation and retinal pathology during diabetes. *Farmac. Rep.* 2006. Vol. 57. P. 156–168.

687. Павлюченко К. П., Олейник Т. В. Исследование продуктов перекисного окисления липидов при развитии стрептозотоцинового диабета. *Вестник неотложной и восстановительной медицины*. 2005. № 3(6). С. 510–513.

688. Маслов А. К. Роль пероксидазы в патогенезе заболеваний и реализация ее фармакологической активности на примере экспериментальной лепры. *Вестник новых медицинских технологий*. 2007. Т. XIV, № 4. С. 161–164

689. Пероксидазосомы / В. В. Роговин и др. М. : Наука, 1977. 205 с.

690. Шевченко Ю. Л. Гипоксия. Адаптация, патогенез, клиника. СПб. : ООО «ЭЛБИ-СПб», 2000. 12 с.

691. Характеристика эритроцитов при хронической обструктивной болезни легких / Л. Е. Муравлёва, В. Б. Молотов-Лучанский, Р. Е. Бакирова и др. *Современные проблемы науки и образования*. 2014. № 5. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=14879> (дата обращения: 10.12.2020).

692. Hypoxia-Induced Post-Translational Changes in Red Blood Cell Protein Map of Newborns / B. Marzocchi, L. Ciccoli, C. Tani et al. *Pediatric Research*. 2005. Vol. 58. P. 660–665.

693. Defective adaption of erythrocytes during acute hypoxia injury in an elderly population / D. de Gonzalo-Calvo., K. Neitzert, M. Fernández, I. Vega-Naredo et al. *Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 2011. Vol. 66, № 4. P. 376–384

694. Hypoxia limits antioxidant capacity in red blood cells by altering glycolytic pathway dominance / S. C. Rogers, A. Said, D. Corcuera et. al. *The FASEB Journal*. 2009. Vol. 23, № 9. P. 3159–3170.

695. Torres-Ramos Y. D., Montoya-Estrada A., Hicks G. J. J. Erythrocyte dysfunction in tissue hypoxia in patients with COPD and its relationship with oxidative stress. *Rev. Inst. Nal. Enf. Resp. Mex.* 2009. Vol. 22, № 4. P. 356–365.

696. Морган-мл. Дж. Эдвард, Мэгид С. Михаил. Клиническая анестезиология. Книга вторая. Издательство : Бином, 2014. 358 с.

697. Features of the Functional State of Red Blood Cells During Hypoxia in Patients with Polytrauma / M. Matvieienko, N. Baranova, O. Voiko, S. Arora. *World Science*. 2020. Vol. 6, № 58. P. 2.

698. Рябов Г. А. Гипоксия критических состояний. М. : Медицина, 1988. 287 с.

699. Effect of hypoxia and hyperoxia on cerebral blood flow, blood oxygenation, and oxidative metabolism / F, Xu et al. *J. Cereb. Blood Flow. Metab.* 2012. Vol. 32, № 10. P. 1909–1918.

700. Cerebral blood flow, oxygen metabolism, and lactate during hypoxia in patients with obstructive sleep apnea / M. L. F. Jensen, M. B. Vestergaard, P. Tønnesen et al. *Sleep*. 2018. Vol. 41, № 3. P. 1–10.

701. Морфологические и метаболические показатели эритроцитов при обработке озоном эритроцитной массы / А. В. Дерюгина, Г. А. Бояринов, И. С. Симутис и др. *General reanimatology*. 2018. Т. 14, № 1. P. 40–49.

702. Содержание АТФ и 2,3ДФГ в эритроцитах при консервации и воздействии озона / В. Н. Крылов, А. В. Дерюгина, И. С. Симутис и др. *Биомедицина*. 2014. № 2. С. 37–42.

703. Жегунов Г. Ф., Денисова О. Н., Землянских Н. Г. Криоконсервирование и сохранность эритроцитов животных. *Проблемы криобиологии*. 2005. № 15(3). С. 566–569.

704. Nitric oxide in gastrointestinal health and disease / V. Shah, G. Lyford, G. Gores et al. *Gastroenterology*. 2004. Vol. 126. P. 903–913.

705. Ткач С. М., Пучков К. С., Кузенко Ю. Г. Биологические эффекты оксидов азота в желудочно-кишечном тракте. *Сучасна гастроентерологія*. 2013. № 4 (72). С. 118–128.

706. Способ повышения напряжения кислорода в крови пациентов с хронической сердечной недостаточностью / В. Кулес, А. Прокофьев, А. Жестовская, В. Смирнов и др. *Врач*. 2015. № 11. С. 83–86

707. Байшукурова А. К. Образование 2,3-ДФГ в эритроцитах при экспериментальных воздействиях, изменяющих условия транспорта кислорода : дис. ... канд. биол. наук. Ленинград, 1983. 135 с.

708. Рядовой Г. В. Содержание 2,3-ДФГ и его влияние на сродство к гемоглобину кислорода у больных после операции на открытом сердце. *Анестезиол. и реаниматол.* 1990. № 5. С. 31–34.

709. Лановенко И. И., Коцюруба А. В., Гащук А. П. Взаимодействие оксида азота и кислородтранспортной функции крови при гемической

гипоксии гемолитического генеза. *Доповіді Національної академії наук України*. 2009. № 8. С.189–193.

710. Furchgott R. F., Zawadzki J. V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980. Vol. 288, № 5789. P. 373–376.

711. Лановенко І. І. Оксид нітрогену – універсальний регулятор клітинних функцій. *Гематологія і переливання крові*. 2008. Т. 2, вип. 34. С. 227–234.

712. Уразаев А. Х., Зефирова А. Л. Физиологическая роль оксида азота. *Успехи физиол. наук*. 1999. Т. 30, № 1. С. 54–72.

713. Меньщикова Е. Б., Зенков Н. К., Реутов В. П. Оксид азота и NO-синтазы в организме млекопитающих при различных функциональных состояниях. *Биохимия*. 2000. Т. 65, № 4. С. 485–503.

714. Механізми дії оксиду нітрогену на серцево-судинну систему та патогенетичне лікування захворювань серцево-судинної системи / В. В. Фролькіс, В. В. Безруков, Л. Т. Мала та ін. *Кровообіг та гемостаз*. 2003. № 2. С. 42–53.

715. Голиков П. П. Оксид азота в клинике неотложных состояний. Москва : Медпрактика-М, 2004. 180 с.

716. Механизмы развития и компенсации гемической гипоксии / М. М. Середенко, В. П. Дударев, И. И. Лановенко и др. Киев : Наук. думка, 1987. 200 с.

717. LeCras T. D., McMurtry I. F. Nitric oxide production in the hypoxic lung. *Amer. J. Physiol.* 2001. Vol. 280, № 4. P. 1575–1582.

718. Збільшений вміст стабільних метаболітів оксиду нітрогену в крові мешканців високогір'я / В. Ф. Сагач, Л. Б. Долман, А. В. Коцюрuba та ін. *Фізіол. журн*. 2002. Т. 48, № 5. С. 3–8.

719. Зміни і взаємодія оксиду нітрогену і кисневотранспортної функції крові при гемічній гіпоксії, спричиненій залізодефіцитом / І. І. Лановенко,

Г. П. Гашук, А. В. Коцюруба, М. Ю. Яцульчак. *Гематологія і переливання крові*. 2008. Т. 2, вип. 34. С. 234–242.

720. Зинчук В. В., Степура Т. Л. Внутриэритроцитарная система регуляции сродства гемоглобина к кислороду. *Новости медико-биологических наук*. 2013. Т. 7, № I. С. 45–56

721. Зинчук В. В. Участие оксида азота в формировании кислородсвязывающих свойств гемоглобина. *Успехи физиологических наук*. 2003. № 4 (2). С. 33–45.

722. Зинчук В. В. Дисфункция эндотелия и кислородсвязывающие свойства гемоглобина. *Кардиология*. 2009. Т. 49 (7–S). С. 81–89.

723. Терещенко А. В., Белый Ю. А., Ковалевская М. А. К вопросу оценки эффективности анти-VEGF-терапии макулярного отека при ВМД. *Офтальмохирургия*. 2014. № 4. С. 95–100

724. Анти-VEGF препараты для лечения диабетической ретинопатии / А. Г. Кузьмин, Д. В. Липатов, О. М. Смирнова, М. В. Шестакова. *Офтальмохирургия*. 2009. № 3. С. 34–37.

725. Iriyama A., Chen Y. X., Tamaki Y. Effect of anti-VEGF antibody on the retinal ganglion cell of rat. *Br. J. Ophthalmol.* 2007. Vol. 91. P. 1230–1233.

726. Ахмад Абед Аль Рахим Абдаллах Акрабави. Клинико-экспериментальное обоснование коррекции метаболических нарушений при непролиферативной диабетической ретинопатии : дисс. ... канд. мед. н. Днепр, 2017. 147 с.

727. Simó R., Sundstrom J. M., Antonetti D. A. Ocular anti-VEGF therapy for diabetic retinopathy: the role of VEGF in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Diabetes care*. 2014. Vol. 37, № 4. P. 893–899.

728. Hawa M. I., Bonfanti R., Valeri C. No evidence for genetically determined alteration in insulin secretion or sensitivity predisposing to type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2005. Vol. 28. P. 1415–1418.

729. Ozturk B. T., Bozkurt B., Kerimoglu H. Effect of serum cytokines and VEGF levels on diabetic retinopathy and macular thickness. *Mol. Vis.* 2009. Vol. 15. P. 1906–1914.

730. Ангиогенез при пролиферативной диабетической ретинопатии: перспективы анти-VEGF-терапии (обзор литературы) / В. И. Коненков, В. В. Климонтов, В. В. Черных, Н. В. Тянь. *Офтальмохирургия.* 2013. № 4. С. 111–115.

731. Повещенко А. Ф., Коненков В. И. Механизмы и факторы ангиогенеза. *Успехи физиол. наук.* 2010. Т. 41, № 2. P. 68–89.

732. Tongers J., Roncalli J.G., Losordo D. W. Role of endothelial progenitor cells during ischemia-induced vasculogenesis and collateral formation. *Microvasc. Res.* 2010. Vol. 79, № 3. P. 200–206.

733. Willard A. L., Herman I. M. Vascular complications and diabetes: current therapies and future challenges. *J. Ophthalmol.* 2012. Vol. 2012. P. 209538.

734. Vascular endothelial growth factor-C secretion is increased by advanced glycation end-products: possible implication in ocular neovascularization / A. Puddu, R. Sanguineti, A. Durante et al. *Mol. Vis.* 2012. Vol. 18. P. 2509–2517.

735. Activation of endoplasmic reticulum stress by hyperglycemia is essential for Muller cell-derived inflammatory cytokine production in diabetes / Y. Zhong, J. Li, Y. Chen et al. *Diabetes.* 2012. Vol. 61, № 2. P. 492–504.

736. Intermittent high glucose enhances cell proliferation and VEGF expression in retinal endothelial cells: the role of mitochondrial reactive oxygen species / J. Sun, Y. Xu, S. Sun et al. *Mol. Cell. Biochem.* 2010. Vol. 343, № 1–2. P. 27–35.

737. Nicholson B. P., Schachat A. P. A review of clinical trials of anti-VEGF agents for diabetic retinopathy. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 2010. Vol. 248. P. 915–930.

## ДОДАТОК А

**Список публікацій здобувача:**

1. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Analysis of peroxidase activity in diabetic retinopathy and in applying various corrective means. *Journal of Education, Health and Sport*. 2019. Vol. 9, № 11. P. 442–454.
2. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Study of endothelial dysfunction and asymmetric dimethylarginine levels. *Journal of Education, Health and Sport*. 2019. Vol. 9, № 10. P. 395–412.
3. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Study of vasodilation processes. *Journal of Education, Health and Sport*. 2019. Vol. 9, № 12. P. 325–337
4. Сірман Я. В., Савицький І. В. Патогенез ендотеліальної дисфункції при діабетичній ретинопатії експериментального стрептозотоцинового цукрового діабету. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2019. Т. 19, вип. 3 (67). С. 161–165.
5. Сірман Я. В., Савицький І. В., Прейс Н. І. Динаміка рівню малонового діальдегіду при експериментальній діабетичній ретинопатії та способах її корекції. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2020. Т. 20 № 4. С. 95–100.
6. Сірман Я. В., Савицький І. В. Динаміка активності ендотеліальної синтази оксиду азоту при експериментальній діабетичній ретинопатії. *Офтальмологічний журнал*. 2020. № 6. С. 44–54. (SCOPUS)
7. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Analysis of the relationship between the activity of inducible nitric oxide synthase and interleukin-1 in the pathogenesis of experimental diabetic retinopathy. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020. Vol. 10, № 1. P. 320–329.

8. Von Willebrand factor level dynamic during the endothelial dysfunction development in experimental diabetic retinopathy / Ya. V. Sirman, I. V. Savytskyi, A. I. Gozhenko, N. S. Badiuk, N. I. Preys, O. F. Dzygal. *PharmacologyOnLine*. 2020. Vol. 3. P. 247–260. (SCOPUS)

9. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Analysis interconnection level index marker by endothelial NOS, hypoxia and dysfunction in the pathogenesis of experimental diabetic retinopathy. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020. Vol. 10, № 3. P. 302–311.

10. Sirman Ya.V., Preys N. I., Savytskyi I. V. Study of reduction of antioxidant protection in the pathogenesis of experimental diabetic retinopathy. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020. Vol. 10, № 11. P. 306–311.

11. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V., Preys N. I. Changes in the asymmetric dimethylarginine and endothelial nitric oxide synthase levels in pathogenesis of investigational diabetic retinopathy. *Вісник морфології*. 2020. Т. 26, № 3. P. 69–74.

12. Features of the system of antioxidant protection and lipid peroxidation in microangiopathies against type 2 diabetes mellitus / I. V. Savitsky, I. I. Gritsan, V. M. Sarakhan, Ya. V. Sirman, N. I. Preys. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020. Vol. 10, № 10. P. 410-417.

13. Results of histological examination of experimental diabetic retinopathy and its correction with metformin, aflibercept, L-arginine solution and cyticolin / Y. V. Sirman, I. V. Savytskyi, N. I. Preys, O. M. Blavatska. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020. Vol. 10, № 12. P. 426–435.

14. Показники коагуляційного гемостазу та системи фібринолізу при цукровому діабеті 2 типу із різною вираженістю ангіопатій / І. І. Грицан, Н. І. Прейс, Я. В. Сірман, І. В. Савицький, В. М. Сарахан. *Вісник морської медицини*. 2020. № 4 (89). С. 23–29.



15. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V., Preys N. I. Prediction model for severity of diabetic retinopathy derived from review of endothelial dysfunction and hypoxia markers. *Міжнародний ендокринологічний журнал*. 2021. № 1 (17). С. 76–80.

16. Sirman Y. V., Savytskyi I. V. The role of lipid peroxidation in the pathogenesis of experimental diabetic retinopathy. *Journal of Education, Health and Sport*. 2021. Vol. 11, № 2. P. 347–356.

17. Dynamics of vasoconstrictor-vasodilation potential on the background of the development of experimental diabetic retinopathy / Ya. V. Sirman, N. I. Preys, I. V. Savitsky, N. S. Badiuk, O. M. Blavatska, I. I. Hrytsan, S. V. Tsypoviaz. *PharmacologyOnLine*. 2021. Vol. 1. P. 90–95. (SCOPUS)

18. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Research of changes in the level of vascular endothelial growth factor in experimental diabetic retinopathy. comparison of methods of correction. *Journal of Education, Health and Sport*. 2021. Vol. 11, № 4. P. 247–257.

19. Сірман Я. В., Савицький І. В. Зміни активності індукційної синтази оксиду азоту при експериментальній діабетичній ретинопатії та способах її корекції. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2021. Т. 21, вип. 3 (75). С. 208–214.

20. Sirman Y. V., Preis N. I., Savytskyi I. V. Results of construction of correlation fields with trend lines and determination of direction of relationships between studied indicators. *Journal of Education, Health and Sport*. 2021. Vol. 11, № 6. P. 348–361.

21. Сірман Я. В., Прейс Н. І., Савицький І. В. Роль 2,3 діфосфогліцерату еритроциту у патогенезі експериментальної діабетичної ретинопатії. Аналіз способів корекції. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2021. № 1 (63). С. 92–106.

22. Sirman Y. V., Savytskyi I. V., Blavatska O. M. Dynamic of blood glucose levels in the model of experimental diabetic retinopathy and different ways to correct it. *Journal of Education, Health and Sport*. 2021. Vol. 11, № 07. P. 366–373.

23. Sirman Y. V., Preis N. I., Savytskyi I. V. Research of changes in the level of endothelin-1 in experimental diabetic retinopathy. Comparison of methods of correction. *Journal of Education, Health and Sport*. 2021. Vol. 11, № 10. P. 411–422.

24. Dynamic of changes in the level of Interleukin 1B against the background of the development of experimental diabetic retinopathy and under the influence of various methods of correction / Y. V. Sirman, I. V. Savytskyi, N. I. Preys, O. M. Blavatska. *Journal of Education, Health and Sport*. 2022. Vol. 12, № 1. P. 493–502.

25. Bioflavonoids complex using in the prevention and treatment of diabetes complications / I. I. Hrytsan, I. V. Savytskyi, V. M. Sarakhan, Ya. V. Sirman, N. I. Preys, N. S. Badiuk. *PharmacologyOnLine; Archives*. 2020. Vol. 3. P. 279–283. (SCOPUS)

26. Savytskyi I. V., Sirman Ya. V. Role of endothelial dysfunction in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Актуальні проблеми експериментальної та клінічної біохімії* : матеріали міжнародної наук.-практ. конф., 11–12 квітня 2019 р. Харків : ХНМУ, 2019. С. 15.

27. Савицький І. В., Сірман Я. В. Роль дисфункції ендотелію у патогенезі діабетичних ретинопатій. *Шевальовські читання 19* : зб. праць наук.-практ. конф., 20–21 червня 2019 р. Запоріжжя, 2019. С. 51–52.

28. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Pathogenesis of the changes in structure and functions of vessels due to diabetic retinopathy. *XVIII-і читання В. В. Підвисоцького* : Бюлетень матеріалів наук.-практ. конф., 21-22 травня 2019 р. Одеса : УкрНДІ медицини транспорту, 2019. С. 13–14

29. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Modern views on pathogenesis of diabetic retinopathy. *Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми* : зб. матеріалів наук.-практ. конф. з міжнар. участю Галицькі читання, 19 вересня 2019 р. Івано-Франківськ, 2019. С. 80–81.

30. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Markers of function status of vessels endothelium in experimental diabetic retinopathy. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція* : тези доп. II наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, 21 листопада 2019 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2019. С. 44–45.

31. Sirman J. V., Savytskyi I. V. Investigation of pro-antioxidant and antioxidant systems changes in experimental diabetic retinopathy. *Філатовські читання – 2019* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 23–24 травня 2019 р. Одеса : Чорномор'я, 2019. С. 148.

32. Savytskyi I. V., Sirman Ya. V. Role of endothelial dysfunction in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Філатовські читання – 2019* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 23–24 травня 2019 р. Одеса : Чорномор'я, 2019. С. 149–150.

33. Сірман Я. В., Савицький І. В. Функціональні зміни ендотелію при діабетичній ретинопатії експериментального цукрового діабету. *Фізіологічні та клінічні аспекти ендокринної патології* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 17-18 жовтня 2019 р. Яремче, 2019. С. 58–59.

34. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Function status markers of vessels endothelium in experimental diabetic retinopathy. *Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України* : тези доп. VIII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю, 13–15 травня 2020 р. Одеса : УкрНДІ медицини транспорту, 2020. Т. 1. С. 25.

35. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Some aspects of pathogenesis diabetic retinopathy. *Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України* : тези доп.

VIII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю, 13–15 травня 2020 р. Одеса : УкрНДІ медицини транспорту, 2020. Т. 1. С. 300–301.

36. Розвиток ендотеліальної дисфункції при ускладненнях експериментального цукрового діабету / Я. В. Сірман, І. В. Савицький, І. І. Грицан, В. М. Сарахан. *Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм* : матеріали наук.-практ. конф., 29–30 жовтня 2020 р. Тернопіль, 2020. С. 94.

## ДОДАТОК Б

### Відомості про апробацію результатів дисертації:

- науково-практична конференція «Шевальовські читання 19» (м. Запоріжжя, 20–21 червня 2019 р.) – *публікація тез*;
- науково-практична конференція XVIII–і читання В.В. Підвисоцького (м. Одеса, 21-22 травня 2019 р.) – *усна доповідь та публікація тез*;
- науково-практична конференція з міжнародною участю Галицькі читання «Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми» (м. Івано-Франківськ, 19 вересня 2019 р.) – *усна доповідь та публікація тез*);
- II науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (м. Харків, 21 листопада 2019 р.) – *публікація тез*;
- науково-практична конференція з міжнародною участю «Філатовські читання – 2019» (м. Одеса, 23–24 травня 2019 р.) – *усна доповідь та публікація тез*);
- науково-практична конференція з міжнародною участю «Фізіологічні та клінічні аспекти ендокринної патології» (м. Яремче, 17-18 жовтня 2019 р.) – *публікація тез*;
- VIII Національний конгрес патофізіологів України з міжнародною участю (м. Одеса, 13–15 травня 2020 р.) – *усна доповідь та публікація тез*;
- науково-практична конференція «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (м. Тернопіль, 29-30 жовтня 2020) – *публікація тез*.

- науково-практична конференція «Актуальні проблеми експериментальної та клінічної біохімії» (м.Харків, 11–12 квітня 2019) - *усна доповідь та публікація тез*).

## ДОДАТОК В.1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перша проректорка

Івано-Франківського національного

медичного університету

з медичної біології, проф. Ганна ЄРСТЕНІУК

«16» 2022 р.

АКТ ВІПРОВАДЖЕННЯ  
результатів наукових досліджень

1. **Назва пропозицій:** Патогенез ускладнень експериментального стрептозотоцинового цукрового діабету, зокрема діабетичної ретинопатії і дисфункції ендотелію судин та їх корекції
2. **Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса:** ДП «Український науково-дослідний інститут медицини транспорту» МОЗ України, Одеська обл., м. Одеса, вул. Каватна, 92.
3. **Джерело інформації:**
  1. Сірман Я.В., Савицький І.В., Преїс Н.І. Динаміка рівню малонового діальдегіду при експериментальній діабетичній ретинопатії та способах її корекції. / Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2020. – Том 20 № 4. – С.95-100.
  2. Sirman Y.V., Savytskyi I.V., The role of lipid peroxidation in the pathogenesis of experimental diabetic retinopathy / Journal of Education, Health and Sport. – 2021. - № 11(2). – P. 347 - 356.
  3. Sirman, Ya. V., Preys, N. I., Savitsky, I. V., Badiuk, N. S., Blavatska, O. M., Hrytsan, I. I., Tsyroviaz, S. V. Dynamics of vasoconstrictor-vasodilation potential on the background of the development of experimental diabetic retinopathy. / PharmacologyOnline; Archives. – 2021. - vol. 1. – P. 90-95.  
[https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2021/vol1/PhOL\\_2021\\_1\\_A012\\_Sirman.pdf](https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2021/vol1/PhOL_2021_1_A012_Sirman.pdf)
  4. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V., Preys N. I. Prediction model for severity of diabetic retinopathy derived from review of endothelial dysfunction and hypoxia markers. / Міжнародний ендокринологічний журнал. – 2021. – №1 (17). – С.76-80.
  5. Sirman Ya.V., Savytskyi I.V., Preys N.I. Changes in the asymmetric dimethylarginine and endothelial nitric oxide synthase levels in pathogenesis of investigational diabetic retinopathy. / Вісник морфології. – 2020. – Т.26. – №3. – С.69-74.
  6. Сірман Я.В., Савицький І.В. Динаміка активності ендотеліальної синтази оксиду нітрогену при експериментальній діабетичній ретинопатії. / Офтальмологічний журнал. – 2020. – №6. – С. 44-54
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра патофізіології Івано-Франківського національного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** використовується під час проведення лекцій та практичних занять кафедри при вивченні розділу «Патофізіологія ендокринної системи. Цукровий діабет».
6. **Ефективність впровадження:** підвищення якості знань студентів з питань патогенезу ускладнень цукрового діабету.
7. **Зауваження та пропозиції.** Не виносилися.

**Відповідальний за впровадження:**

завідувач кафедри патофізіології  
Івано-Франківського національного  
медичного університету,  
заслужений діяч науки і техніки України,  
доктор медичних наук, професор



Любомир ЗАЙЦЬ

## ДОДАТОК В.2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи  
Харківського національного медичного  
університетуд.мед.н., професор В. Д. Марковський  
" 19 " листопада 2022 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів наукових досліджень

1. Назва пропозиції: Патогенез діабетичної ретинопатії та обґрунтування шляхів її корекції
2. Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса: Державне підприємство Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України, м. Одеса, вул.Канатна 92
3. Джерело інформації:
  1. Сірман Я. В., Савицький І. В. Патогенез ендотеліальної дисфункції при діабетичній ретинопатії експериментального стрептозотацинового цукрового діабету. / Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2019. - Т.19, випуск 3(67). – С. 161-165.
  2. Sirman Ya. V., Savitskiy I. V., Gozhenko A. I., Badiuk N. S., Preys N. I., Dzygal O. F. Von Willebrand factor level dynamic during the endothelial dysfunction development in experimental diabetic retinopathy. / PharmacologyOnLine; Archives. – 2020. - vol. 3. – P. 247-260 - Scopus Q4 [https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2020/vol3/PhOL\\_2020\\_3\\_A026\\_Sirman.pdf](https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2020/vol3/PhOL_2020_3_A026_Sirman.pdf)
  3. Sirman, Ya. V., Preys, N. I., Savitskiy, I. V., Badiuk, N. S., Blavatska, O. M., Hrytsan, I. I., Tsyroviaz, S. V. Dynamics of vasoconstrictor-vasodilation potential on the background of the development of experimental diabetic retinopathy./Pharmacology OnLine; Archives. – 2021. - vol. 1. – P. 90-95. [https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2021/vol1/PhOL\\_2021\\_1\\_A012\\_Sirman.pdf](https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2021/vol1/PhOL_2021_1_A012_Sirman.pdf)
  4. Sirman Ya. V., Savitskiy I. V., Preys N. I. Prediction model for severity of diabetic retinopathy derived from review of endothelial dysfunction and hypoxia markers. / Міжнародний ендокринологічний журнал. – 2021. – №1 (17). – С.76-80.
  5. Sirman Ya.V., Savitskiy I.V., Preys N.I. Changes in the asymmetric dimethylarginine and endothelial nitric oxide synthase levels in pathogenesis of investigational diabetic retinopathy. / Вісник морфології. – 2020. – Т.26. – №3. – С.69-74.
4. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра загальної та клінічної патофізіології імені Д.О. Альперна, Харківського національного медичного університету.
5. Форма впровадження: використовується під час проведення лекцій та практичних занять у кафедри при вивченні розділу «Патофізіологія ендокринної системи. Цукровий діабет».
6. Ефективність впровадження: підвищення якості знань студентів з питань патогенезу ускладнень цукрового діабету.
7. Зауваження та пропозиції. Не виносилися.

Відповідальний за впровадження:

д.мед.н., професор  
кафедри загальної  
та клінічної  
патофізіології  
імені Д.О. Альперна,

Павлова О.О.



## ДОДАТОК В.3



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи  
Національного фармацевтичного університету

д. фарм. н., професор Владимирова І. М.

« 11 » 04 2022 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

## результатів наукових досліджень

- 1. Назва пропозицій:** Патогенез діабетичної ретинопатії та обґрунтування шляхів її корекції
- 2. Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса:** Державне підприємство Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України, м. Одеса, вул. Канатна 92
- 3. Джерело інформації:** 1. Сірман Я. В., Савицький І. В. Патогенез ендотеліальної дисфункції при діабетичній ретинопатії експериментального стрептозотоцинового цукрового діабету. / Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2019. - Т.19, випуск 3(67). – С. 161-165.  
2. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V., Gozhenko A. I., Badiuk N. S., Preys N. I., Dzygal O. F. Von Willebrand factor level dynamic during the endothelial dysfunction development in experimental diabetic retinopathy. / PharmacologyOnLine; Archives. – 2020. - vol. 3. – P. 247-260 - Scopus Q4 [https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2020/vol3/PhOL\\_2020\\_3\\_A026\\_Sirman.pdf](https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2020/vol3/PhOL_2020_3_A026_Sirman.pdf)  
3. Sirman, Ya. V., Preys, N. I., Savitsky, I. V., Badiuk, N. S., Blavatska, O. M., Hrytsan, I. I., Tsyroviaz, S. V. Dynamics of vasoconstrictor-vasodilation potential on the background of the development of experimental diabetic retinopathy. / PharmacologyOnLine; Archives. – 2021. - vol. 1. – P. 90-95. [https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2021/vol1/PhOL\\_2021\\_1\\_A012\\_Sirman.pdf](https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2021/vol1/PhOL_2021_1_A012_Sirman.pdf)  
4. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V., Preys N. I. Prediction model for severity of diabetic retinopathy derived from review of endothelial dysfunction and hypoxia markers. / Міжнародний ендокринологічний журнал. – 2021. – №1 (17). – С.76-80.  
5. Sirman Ya.V., Savytskyi I.V., Preys N.I. Changes in the asymmetric dimethylarginine and endothelial nitric oxide synthase levels in pathogenesis of investigational diabetic retinopathy. / Вісник морфології. – 2020. – Т.26. – №3. – С.69-74.  
6. Сірман Я.В., Савицький І.В. Динаміка активності ендотеліальної синтази оксиду нітрогену при експериментальній діабетичній ретинопатії. / Офтальмологічний журнал. – 2020. – №6. – С. 44-54
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра нормальної та патологічної фізіології Національного фармацевтичного університету.
- 5. Форма впровадження:** використовується під час проведення лекцій та практичних занять у кафедри при вивченні розділу «Патофізіологія ендокринної системи. Цукровий діабет».
- 6. Ефективність впровадження:** підвищення якості знань студентів з питань патогенезу ускладнень цукрового діабету.
- 7. Зауваження та пропозиції.** Не виносилися.

Відповідальний за впровадження:

Завідувачка кафедри  
нормальної та патологічної фізіології  
Національного фармацевтичного  
університету,  
д.мед.н., професор

Н.М. Кононенко

## ДОДАТОК В.4



**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**  
результатів наукових досліджень

1. **Назва пропозиції:** Патогенез діабетичної ретинопатії та обґрунтування шляхів її корекції
2. **Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса:** Державне підприємство Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України, м. Одеса, вул.Канатна 92
3. **Джерело інформації:**
  1. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Study of vasodilation processes. / Journal of Education, Health and Sport. – 2019. – Т9(12). – С.325-337
  2. Сірман Я.В., Савицький І.В. Динаміка активності ендотеліальної синтази оксиду нітрогену при експериментальній діабетичній ретинопатії. / Офтальмологічний журнал. – 2020. – №6. – С. 44-54
  3. Sirman Y.V., Savytskyi I.V. The role of lipid peroxidation in the pathogenesis of experimental diabetic retinopathy / Journal of Education, Health and Sport. – 2021. - № 11(2). – P. 347 - 356.
  4. Сірман Я.В., Савицький І.В., Преїс Н.І. Динаміка рівню малонового діальдегіду при експериментальній діабетичній ретинопатії та способах її корекції. / Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2020. – Том 20 № 4. - С.95-100.
  5. Sirman Ya. V., Preys N. I., Savytskyi I. V. Study of reduction of antioxidant protection in the pathogenesis of experimental diabetic retinopathy. / Journal of Education, Health and Sport. – 2020. – №10(11). – С.306-311.
  6. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V. Analysis interconnection level index marker by endothelial NOS, hypoxia and dysfunction in the pathogenesis of experimental diabetic retinopathy. / Journal of Education, Health and Sport. – 2020. – №10(3). – 302-311.
  7. Сірман Я.В., Савицький І.В. Зміни активності індуцибельної синтази оксиду нітрогену при експериментальній діабетичній ретинопатії та способах її корекції. / Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2021. – Том 21. Випуск 3 (75). – С.208-214.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра патологічної фізіології Буковинського державного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** використовується під час проведення лекцій та практичних занять кафедри при вивченні розділу «Патофізіологія ендокринної системи. Цукровий діабет».
6. **Ефективність впровадження:** підвищення якості знань студентів з питань патогенезу ускладнень цукрового діабету.
7. **Зауваження та пропозиції.** Не виносилися.

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувач кафедри  
патологічної фізіології закладу вищої освіти  
Буковинського державного  
медичного університету,  
д.мед.н., проф.

Юрій Роговий

## ДОДАТОК В.5



**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**  
результатів наукових досліджень

- 1. Назва пропозиції:** Патогенез діабетичної ретинопатії та обґрунтування шляхів її корекції
- 2. Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ДП Український науково-дослідний інститут медицини транспорту Міністерства охорони здоров'я України, здобувач Сірман Яна Вадимівна
- 3. Джерело інформації:**
1. Сірман Я. В., Савицький І. В. Патогенез ендотеліальної дисфункції при діабетичній ретинопатії експериментального стрептозотозинного цукрового діабету. / Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2019. - Т.19, випуск 3(67). – С. 161-165.
  2. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V., Gozhenko A. I., Badiuk N. S., Preys N. I., Dzygal O. F. Von Willebrand factor level dynamic during the endothelial dysfunction development in experimental diabetic retinopathy. / PharmacologyOnLine; Archives. – 2020. - vol. 3. – P. 247-260 - Scopus Q4 [https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2020/vol3/PhOL\\_2020\\_3\\_A026\\_Sirman.pdf](https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2020/vol3/PhOL_2020_3_A026_Sirman.pdf)
  3. Sirman, Ya. V., Preys, N. I., Savitsky, I. V., Badiuk, N. S., Blavatska, O. M., Hrytsan, I. I., Tsyroviaz, S. V. Dynamics of vasoconstrictor-vasodilation potential on the background of the development of experimental diabetic retinopathy. / Pharmacology OnLine; Archives. – 2021. - vol. 1. – P. 90-95. [https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2021/vol1/PhOL\\_2021\\_1\\_A012\\_Sirman.pdf](https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2021/vol1/PhOL_2021_1_A012_Sirman.pdf)
  4. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V., Preys N. I. Prediction model for severity of diabetic retinopathy derived from review of endothelial dysfunction and hypoxia markers. / Міжнародний ендокринологічний журнал. – 2021. – №1 (17). – С.76-80.
  5. Sirman Ya.V., Savytskyi I.V., Preys N.I. Changes in the asymmetric dimethylarginine and endothelial nitric oxide synthase levels in pathogenesis of investigational diabetic retinopathy. / Вісник морфології. – 2020. – Т.26. – №3. – С.69-74.
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** ДП Український науково-дослідний інститут медицини транспорту Міністерства охорони здоров'я України
- 5. Термін впровадження:** 2020 – 2021 роки.
- 6. Форма впровадження:** матеріали використовуються при проведенні науково-практичних робіт.
- 7. Зауваження та пропозиції** не вносилися

Відповідальний за впровадження:  
Начальник медичного клінічного центру  
професійного здоров'я, к.мед.н., ст.н.сп.

Б. В. Панов

## ДОДАТОК В.6



**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**  
**результатів наукових досліджень.**

1. **Назва пропозицій:** Патогенетичні ланки ускладнень експериментального стрептозотозинного цукрового діабету, зокрема діабетичної ретинопатії і дисфункції ендотелію судин та їх корекції
2. **Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса:** ДП «Український науково-дослідний інститут медицини транспорту» МОЗ України, Одеська обл., м. Одеса, вул. Канатна, 92.
3. **Джерело інформації:**
  1. Sirman Ya. V., Savitskyi I. V., Preys N. I. Динаміка рівню маломовного діальдегіду при експериментальній діабетичній ретинопатії та способах її корекції. / Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2020. – Том 20 № 4. - С. 95-100.
  2. Sirman Ya. V., Savitskyi I. V. The role of lipid peroxidation in the pathogenesis of experimental diabetic retinopathy / Journal of Education, Health and Sport. – 2021. - № 11(2). – P. 347 - 356.
  3. Sirman, Ya. V., Preys, N. I., Savitsky, I. V., Badiuk, N. S., Blavatska, O. M., Hrytsan, I. I., Tsyroviaz, S. V. Dynamics of vasoconstrictor-vasodilation potential on the background of the development of experimental diabetic retinopathy. / PharmacologyOnLine; Archives. – 2021. - vol. 1. – P. 90-95.  
[https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2021/vol1/PhOL\\_2021\\_1\\_A012\\_Sirman.pdf](https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2021/vol1/PhOL_2021_1_A012_Sirman.pdf)
  4. Sirman Ya. V., Savitskyi I. V., Preys N. I. Prediction model for severity of diabetic retinopathy derived from review of endothelial dysfunction and hypoxia markers. / Міжнародний ендокринологічний журнал. – 2021. – №1 (17). – С.76-80.
  5. Sirman Ya. V., Savitskyi I. V., Preys N. I. Changes in the asymmetric dimethylarginine and endothelial nitric oxide synthase levels in pathogenesis of investigational diabetic retinopathy. / Вісник морфології. – 2020. – Т.26. – №3. – С.69-74.
  6. Сірман Я.В., Савицький І.В. Динаміка активності ендотеліальної синтази оксиду нітрогену при експериментальній діабетичній ретинопатії. / Офтальмологічний журнал. – 2020. – №6. – С. 44-54
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра анатомії, фізіології та патології Львівського медичного університету.
5. **Форма впровадження:** використовується під час проведення лекцій та практичних занять у кафедрі при вивченні розділу розділу «Патофізіологія ендокринної системи. Цукровий діабет».
6. **Ефективність впровадження:** підвищення якості знань студентів з питань патогенезу ускладнень цукрового діабету.
7. **Зауваження та пропозиції.** Не вносилися.

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувач кафедри анатомії,  
 фізіології та патології  
 Львівського медичного університету,  
 к.мед.н., доцент



Рябуха О.І.

## ДОДАТОК В.7

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи

Одеського національного медичного

університету

д.мед.н., професор



Світлана КОТЮЖИНСЬКА

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

## результатів наукових досліджень

1. **Назва пропозицій:** Патогенез діабетичної ретинопатії та обґрунтування шляхів її корекції
2. **Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса:** Державне підприємство Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України, м. Одеса, вул.Канатна 92
3. **Джерело інформації:**
  1. Сірман Я. В., Савицький І. В. Патогенез ендотеліальної дисфункції при діабетичній ретинопатії експериментального стрептозотозинного цукрового діабету. / Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2019. - Т.19, випуск 3(67). – С. 161-165.
  2. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V., Gozhenko A. I., Badiuk N. S., Preys N. I., Dzygal O. F. Von Willebrand factor level dynamic during the endothelial dysfunction development in experimental diabetic retinopathy. / PharmacologyOnLine; Archives. – 2020. - vol. 3. – P. 247-260 - Scopus Q4 [https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2020/vol3/PhOL\\_2020\\_3\\_A026\\_Sirman.pdf](https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2020/vol3/PhOL_2020_3_A026_Sirman.pdf)
  3. Sirman, Ya. V., Preys, N. I., Savitsky, I. V., Badiuk, N. S., Blavatska, O. M., Hrytsan, I. I., Tsyroviaz, S. V. Dynamics of vasoconstrictor-vasodilation potential on the background of the development of experimental diabetic retinopathy. / Pharmacology OnLine; Archives. – 2021. - vol. 1. – P. 90-95. [https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2021/vol1/PhOL\\_2021\\_1\\_A012\\_Sirman.pdf](https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2021/vol1/PhOL_2021_1_A012_Sirman.pdf)
  4. Sirman Ya. V., Savytskyi I. V., Preys N. I. Prediction model for severity of diabetic retinopathy derived from review of endothelial dysfunction and hypoxia markers. / Міжнародний ендокринологічний журнал. – 2021. – №1 (17). – С.76-80.
  5. Sirman Ya.V., Savytskyi I.V., Preys N.I. Changes in the asymmetric dimethylarginine and endothelial nitric oxide synthase levels in pathogenesis of investigational diabetic retinopathy. / Вісник морфології. – 2020. – Т.26. – №3. – С.69-74.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра загальної та клінічної патологічної фізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету
5. **Форма впровадження:** використовується під час проведення лекцій та практичних занять у кафедри при вивченні розділу «Патофізіологія ендокринної системи. Цукровий діабет».
6. **Ефективність впровадження:** підвищення якості знань студентів з питань патогенезу ускладнень цукрового діабету.
7. **Зауваження та пропозиції.** Не вносилися.
8. **Обговорено** на засіданні кафедри «03» ЖОВТНЯ 2022 р., протокол № 3.

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувач кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології ім. В.В. Підвисоцького, Заслужений діяч науки та техніки України д.мед.н., професор

Вастьянов Р.С.