

ДЕРЖАВНА УСТАНОВА
«ІНСТИТУТ ОЧНИХ ХВОРОБ І ТКАНИННОЇ ТЕРАПІЇ
ІМ. В.П. ФІЛАТОВА НАМН УКРАЇНИ»

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

АМАІЄДА АХМЕДА

УДК 617.735-02:616.379-008.64-06:617.753.2]-092.9

ДИСЕРТАЦІЯ

**ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНИХ ЗМІН СІТКІВКИ ТА ЇЇ
МЕТАБОЛІЧНОГО СТАНУ ПРИ ДІАБЕТІ, ЯКИЙ РОЗВИНУВСЯ НА
ТЛІ ОСЬОВОЇ МІОПІЇ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)**

галузь знань 22 Охорона здоров'я
спеціальність 222 Медицина

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

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

Науковий керівник: Михейцева Ірина Миколаївна, доктор біологічних
наук, старший науковий співробітник.

Одеса – 2025

АНОТАЦІЯ

Ахмед Амаїєд «Особливості структурних змін сітківки та її метаболічного стану при діабеті, який розвинувся на тлі осьової міопії (експериментальне дослідження)» - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 Медицина – ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМН України», Одеса, 2025.

Метою дослідження було дослідження особливості структури нейрональних елементів та патогенетичних ланок метаболізму сітківки щурів з експериментальним діабетом, який розвинувся на тлі осьової міопії.

Дисертація відповідає Паспорту спеціальності 14.01.18 «Офтальмологія» п. 2.5, 2.11.

Дослідження проведені на 205 лабораторних щурах, яким відтворювали моделі стрептозотоцинового діабету, осьової деприваційної міопії високого ступеню, діабету на тлі міопії. В експериментальному дослідженні вивчали яким чином подовження сагітальної осі очного яблука (міопізіція ока) впливає на стан нервових елементів сітківки, ультраструктуру внутрішнього шару сітківки. Досліджено особливості змін системного метаболізму та метаболізму сітківки щурів зі стрептозотоциновим діабетом у супроводі міопії порівняно з діабетом і еметропією. Вивчено в крові та сітківці щурів стан маркерів енергетичного обміну та гіпоксії, раннього апоптозу та нейтрофіну виживання нейронів BDNF. Проведено співставлення ступеню структурних та метаболічних порушень при моделюванні.

При проведенні експериментального дослідження використані наступні методи:

1. Офтальмологічні (біомікроскопія, офтальмоскопія, апланаційна тонометрія, ультразвукове дослідження ПЗР, пахіметрія).
2. Патофізіологічні (моделювання стрептозотоцинового діабету, деприваційної міопії та їх поєднання у щурів).

3. Гістоморфологічні (вивчення структури внутрішніх шарів сітківки).
4. Електронно-мікроскопічні (вивчення ультраструктури нервових клітин сітківки).
5. Біохімічні (дослідження показників енергетичного обміну, рівня глюкози, рівня маркера апоптозу фДНК, рівня нейротрофічного фактору мозку BDNF).
6. Статистичні методи оцінки результатів досліджень параметричні і непараметричні методи статистичного аналізу з використанням програми (JASP).

Для оцінки кількісних показників використовували середні величини (M) і стандартні похибки середніх (m). Для оцінки відмінностей між двома групами застосовано критерій Ст'юдента (t) для незалежних вибірок з попередньою оцінкою нормальності розподілу за допомогою критерію Колмогорова-Смирнова. При відсутності нормального розподілу застосовували непараметричні методи аналізу, а саме за критерієм Крускала-Уоліса і Мана-Уїтні. Біохімічні показники статистично обробляли з використанням t -критерію Ст'юдента. Вірогідним рівнем значення « p » вважали рівним або меншим за 0,05. Визначення взаємозв'язку між структурними змінами та рівнем метаболічних показників проводили, використовуючи непараметричний метод кореляційного аналізу – рангової кореляція за Спірменом.

Проведене моделювання діабету у щурів кратними субдіабетичними дозами стрептозотоцину (15мг/кг) підтвердили формування у тварин помірної стійкої гіперглікемії. Рівень глюкози у периферійній крові в середньому перевищував контрольні значення на 78%. Клінічна картина очного дна у тварин цієї групи мала типові ознаки діабетичної ретинопатії. У щурів були відзначені зміни судин сітчастої оболонки розширеними венами і звуженими артеріями з наявністю ділянок з крововиливом. В цій групі тварин були відсутні очі без будь-яких змін судин сітчастої оболонки.

При відтворенні моделі осьової міопії у щурів шляхом депривації світлом блефорорафією та утриманням в умовах зниженого освітлення було

підтверджено суттєве подовження сагітальної осі очного яблука. ПЗР у щурів цієї групи за даними ультразвукового сканування було вище, ніж у контролі в середньому на 20%. Також відмічали поглиблення передньої камери та збільшення товщини рогівки.

Моделювання діабету на тлі сформованої осьової міопії характеризувалось близькими до груп порівняння ознаками гіперглікемії, маркерами міопії. При зіставленні клінічного стану сітчастої оболонки щурів цієї групи відзначали різницю у зміні картини очного дна в порівнянні з сітківкою щурів тільки з діабетом. Тяжкість порушень судин сітківки була меншою, у деяких тварин вони були слабо виражені.

Дослідження гістоморфологічного стану нейрональних елементів сітківки тварин виявило певні особливості в різних експериментальних групах. В групі з діабетом спостерігали значну ступень порушень структури нейронів сітківки, зокрема клітин гангліозного шару. Встановлена нерівномірність розташування і невисока щільність гангліозних клітин. У гістограмах сітківки цієї групи місцями спостерігали ділянки повного випадіння ГК. Тоді як в групі з діабетом на тлі осьової міопії на відміну від групи тільки з діабетом, виявлено досить високу щільність нейронів в шарі гангліозних клітин сітчастої оболонки.

Морфометричні дослідження довели, що у щурів з моделлю діабету кількість ГК сітківки зменшується на 64,4% по відношенню до інтактних (контрольних) тварин. В той же час при діабеті на тлі міопії середня кількість ГК сітківки була менше на 28,9% відносно інтактних тварин.

Таким чином, результати гісто-морфологічних досліджень показали, що міопізація очного яблука у щурів, що супроводжується подовженням передньо-задньої осі ока, знижує тяжкість патологічних змін в гангліозних клітинах сітківки при моделюванні діабету.

Дослідження ультраструктури нейрональних елементів сітківки при експериментальному діабеті встановило наявність значних внутрішньоклітинних пошкоджень. Більшість нервових клітин внутрішнього ядерного шару сітківки перебувають в стані гідропічної дистрофії, тіла

мюллерівських клітин мають патологічні елементи з осміофільним ядром та деструкцією органел. Аналогічні ультраструктурні зміни притаманні також гангліозним клітинам (ГК) та відросткам мюллерівських клітин, тобто вони характеризувались вже дистрофією та деструкцією органел цитоплазми. В той же час при діабеті на тлі міопії нервові клітини внутрішнього шару сітківки у щурів в деяких випадках мали значно менш виражені ультраструктурні зміни, ніж у тварин тільки з діабетом, а інколи стан органел цих клітин був близьким до норми.

Це може свідчити про протекторний вплив подовження сагітальної осі очного яблука щодо розвинення деструктивних змін нервових клітин сітківки при діабеті та зменшення можливості розвитку діабетичної ретинопатії, особливо її тяжких форм.

Біохімічними методами було показано, що при стрептозотоциновому діабеті у щурів розвивається порушення як системного так і локального тканинного енергетичного обміну. В сітківці щурів виявлено формування ознак гіпоксії, рівень лактату та пірувату був підвищений на 83,8%, та 45,5 %. Подібні зміни було встановлено для цих показників в крові тварин з діабетом. В той же час при моделювання діабету на тлі міопії ці показники в сітківці перевищували контрольні на 46,6 % та 23%. Тобто формування стану гіпоксії в організмі та нейрональній тканині ока було нижче.

Також було встановлено зміни рівню енергетичних метаболітів АТФ і АДФ при моделюванні діабету в обох групах, але в групі сумісного моделювання міопії та діабету ці зміни були менш виражені. Результати вивчення вмісту АТФ та АДФ в групі щурів тільки з діабетом свідчать про вірогідне зниження цих метаболітів в плазмі крові - АТФ на 27,4 %, АДФ на 19,8 %; та в сітківці - АТФ на 37,3 %, АДФ на 23,7 % відносно контролю.

В той же час в групі з діабетом і осьовою міопією встановлено зростання рівня АТФ у тварин з діабетом і осьовою міопією в плазмі крові на 21,8 %, в сітківці – на 21,2 % при порівнянні з відповідними даними щурів тільки з

діабетом, що може свідчити про певну активацію енергетичних процесів та розвиток адаптації до гіпоксії в клітинах сітківки.

При дослідженні у тварин з діабетом активності мітохондріального ферменту сукцинатдегідрогенези, що дозволяє об'єктивно оцінювати функціональний стан органел, які відповідальні за продукцію енергетичних молекул в нейрональних клітинах сітківки, доведено зниження активності цього ферменту на 27,6%. При моделюванні діабету на тлі міопії активність ретинальної мітохондріальної сукцинатдегідрогенази зростала на 20,8 % відносно щурів тільки з діабетом. Ці дані також свідчать про активацію енергетичного обміну в сітківці при умовах, коли міопія супроводжує діабет.

Доведено зростання в сітківці тварин з діабетом маркеру раннього апоптозу фДНК на 56,8 % по відношенню до контролю. В групі тварин з міопією та діабетом відмічена чітка тенденція до зниження цього показника на 9,1%. Таким чином виявлено більш значну вірогідність процесу раннього апоптозу клітин сітківки при експериментальному діабеті з еметропічними очима, ніж при діабеті, який розвинувся на тлі міопії.

Встановлено, що в групі щурів з діабетом у супроводі міопізації очного яблука зниження рівня нейротрофічного фактору мозку в плазмі крові і особливо в тканині сітчастої оболонки було значно менш виражено, ніж в групі з діабетом без міопії. В групі з міопією і діабетом цей показник відрізнявся від відповідних даних групи тварин тільки з діабетом таким чином: в плазмі крові він мав тенденцію до підвищення на 14,0 % , а в сітківці рівень цього показника був на 36,1 % вище. Враховуючи важливу роль цього фактору у виживанні нейронів, ці дані свідчать, що однією з ланок захисного механізму міопії щодо розвитку діабетичної ретинопатії є нейротрофічний фактор мозку BDNF.

При співставленні структурних та метаболічних змін в сітківці у щурів з експериментальним діабетом і міопією встановлено наявність кореляційних зв'язків між їхніми маркерами. Доведена пряма кореляція між кількістю гангліозних клітин і рівнем нейротрофічного фактору мозку BDNF ($R=0,52$),

рівнем АТФ ($R=0,58$), активністю сукцинатдегідрогенази ($R=0,56$) та негативний кореляційний зв'язок для лактату ($R=-0,54$).

Таким чином результати експериментального дослідження встановили, що подовження осі очного яблука (міопізація) у щурів сприяє протекції діабетичних змін в сітківці, що підтверджено на молекулярному та морфологічному рівні, ланками цього захисного механізму є нейротрофічний фактор мозку BDNF, зменшення гіпоксії та активація енергетичного метаболізму.

Основні положення дисертації опубліковані в 5 журнальних статтях та 7 тезах.

Ключові слова: діабет, діабетична ретинопатія, міопія, сітківка, ультраструктура, гангліозні клітини, енергетичний обмін, гіпоксія, мітохондрії, нейротрофічний фактор мозку BDNF.

ANNOTATION

Amaied Ahmed « Features of structural changes in the retina and its metabolic state in diabetes that developed against the background of axial myopia (experimental study) » - Manuscript of a qualifying scientific work.

The aim of this study was to investigate the structural characteristics of neuronal elements and the pathogenetic mechanisms of retinal metabolism in rats with experimental diabetes induced against a background of axial myopia.

The dissertation complies with the Passport of the specialty 14.01.18 “Ophthalmology”, paragraphs 2.5, 2.11.

The study was conducted on 205 laboratory rats with models of streptozotocin diabetes, high degree axial deprivation myopia, and diabetes with myopia. The experimental study investigated how the lengthening of the sagittal axis of the eyeball (myopization of the eye) affects the state of the retinal nerve elements and the ultrastructure of the inner retinal layer. The peculiarities of changes in systemic and retinal metabolism in rats with streptozotocin diabetes accompanied by myopia in comparison with diabetes and emmetropia were investigated. The state of markers of energy metabolism and hypoxia, early apoptosis and neuronal survival neurotrophin BDNF in the blood and retina of rats was studied. The degree of structural and metabolic disorders in the modeling was compared.

The following methods were used in the experimental study:

1. Ophthalmological (biomicroscopy, ophthalmoscopy, aplanation tonometry, ultrasound examination of the RPE, pachymetry).
2. Pathophysiological (modeling of streptozotocin diabetes, deprivation myopia and their combination in rats).
3. Histomorphological (study of the structure of the inner layers of the retina).
4. Electron microscopic (study of the ultrastructure of retinal nerve cells).
5. Biochemical (study of energy metabolism, glucose level, level of apoptosis marker fDNA, level of brain-derived neurotrophic factor BDNF).
6. Statistical methods for evaluating research results (parametric and non-parametric methods of statistical analysis using the JASP program). To

evaluate quantitative indicators, mean values (M) and standard errors of means (m) were used.

To assess the differences between the two groups, the Student's t test was used for independent samples with a preliminary assessment of the normality of the distribution using the Kolmogorov-Smirnov test. In the absence of a normal distribution, nonparametric methods of analysis were used, namely, the Kruskal-Wallis and Mann-Whitney criteria. Biochemical parameters were statistically processed using Student's t-test. The “p” value was considered to be equal to or less than 0.05. The relationship between structural changes and the level of metabolic parameters was determined using a nonparametric method of correlation analysis - Spearman's rank correlation.

The modeling of diabetes in rats with multiple subdiabetic doses of streptozotocin (15 mg/kg) confirmed the formation of moderate persistent hyperglycemia in animals. Peripheral blood glucose levels were on average 78% higher than control values. The clinical picture of the fundus in animals of this group had typical signs of diabetic retinopathy. In the rats, changes in the retinal vessels were noted with dilated veins and narrowed arteries with the presence of areas with hemorrhage. This group of animals had no eyes without any changes in the retinal vessels.

When the model of axial myopia was reproduced in rats by light deprivation by blepharorrhoea and keeping them in low light conditions, a significant elongation of the sagittal axis of the eyeball was confirmed. According to the ultrasound scan, the RPE in rats of this group was higher than in the control group by an average of 20%. Anterior chamber deepening and increased corneal thickness were also noted. The modeling of diabetes against the background of formed axial myopia was characterized by signs of hyperglycemia and myopia markers similar to those in the comparison groups. When comparing the clinical condition of the retina of rats in this group, a difference in the change in the fundus pattern was noted compared with the retina of rats with diabetes alone. The severity of retinal vascular disorders was less, in some animals they were mildly expressed.

The study of the histomorphologic state of the neuronal elements of the retina revealed certain features in different experimental groups. In the group with diabetes, a significant degree of disruption of the structure of retinal neurons, in particular cells of the ganglion cell layer, was observed. Uneven distribution and low density of ganglion cells were found. In the histograms of the retina of this group, areas of complete loss of GCs were observed in some places. Whereas in the group with diabetes against the background of axial myopia, in contrast to the group with diabetes alone, a fairly high density of neurons in the layer of ganglion cells in the retina was found.

Morphometric studies have shown that in rats with a diabetes model, the number of retinal ganglion cells decreases by 64.4% compared to intact (control) animals. At the same time, in diabetes with myopia, the average number of retinal HAs was 28.9% less than in intact animals. Thus, the results of histomorphological studies showed that myopization of the eyeball in rats, accompanied by elongation of the anterior-posterior axis of the eye, reduces the severity of pathological changes in retinal ganglion cells in diabetes modeling.

The study of the ultrastructure of the retinal neuronal elements in experimental diabetes revealed the presence of significant intracellular damage. Most of the nerve cells of the inner nuclear layer of the retina are in a state of hydropic dystrophy, the bodies of the Müller cells have pathological elements with osmophilic nuclei and destruction of organelles. Similar ultrastructural changes are also inherent in ganglion cells (GCs) and Müller cell processes, i.e., they were already characterized by dystrophy and destruction of cytoplasmic organelles. At the same time, in diabetes with myopia, the nerve cells of the inner retinal layer in rats in some cases had much less pronounced ultrastructural changes than in animals with diabetes alone, and sometimes the state of the organelles of these cells was close to normal.

This may indicate a protective effect of the lengthening of the sagittal axis of the eyeball against the development of destructive changes in retinal nerve cells in diabetes and a reduction in the possibility of developing diabetic retinopathy, especially its severe forms. Biochemical methods have shown that streptozotocin

diabetes in rats develops a disturbance of both systemic and local tissue energy metabolism. In the retina of rats, signs of hypoxia were detected, the level of lactate and pyruvate was increased by 83.8% and 45.5%, respectively. Similar changes were found in the blood of diabetic animals. At the same time, in the modeling of diabetes with myopia, these values in the retina exceeded the control values by 46.6% and 23%. That is, the formation of hypoxia in the body and neural tissue of the eye was lower.

Also, changes in the level of energy metabolites ATP and ADP in the modeling of diabetes in both groups were found, but in the group of combined modeling of myopia and diabetes, these changes were less pronounced. The results of studying the content of ATP and ADP in the group of rats with diabetes alone indicate a significant decrease in these metabolites in the blood plasma - ATP by 27.4%, ADP by 19.8%; and in the retina - ATP by 37.3%, ADP by 23.7% compared to control.

At the same time, in the group with diabetes and axial myopia, an increase in the level of ATP in blood plasma by 21.8% and in the retina by 21.2% was found in comparison with the corresponding data of rats with diabetes alone, which may indicate a certain activation of energy processes and the development of adaptation to hypoxia in retinal cells. In a study of the activity of the mitochondrial enzyme succinate dehydrogenase in diabetic animals, which allows for an objective assessment of the functional state of organelles responsible for the production of energy molecules in retinal neuronal cells, a 27.6% decrease in the activity of this enzyme was shown. In the modeling of diabetes in the setting of myopia, the activity of retinal mitochondrial succinate dehydrogenase increased by 20.8% compared to rats with diabetes alone. These data also indicate the activation of energy metabolism in the retina under conditions when myopia accompanies diabetes.

An increase of the early apoptosis marker fDNA by 56.8% in the retina of diabetic animals was proved compared to the control. In the group of animals with myopia and diabetes, a clear tendency to decrease this indicator by 9.1% was noted. Thus, a more significant probability of early retinal cell apoptosis was found in

experimental diabetes with emmetropic eyes than in diabetes developed on the background of myopia.

It was found that in the group of rats with diabetes accompanied by myopization of the eyeball, the decrease in the level of brain-derived neurotrophic factor in the blood plasma and especially in the retinal tissue was significantly less pronounced than in the group with diabetes without myopia.

In the group with myopia and diabetes, this indicator differed from the corresponding data of the group of animals with diabetes alone as follows: in blood plasma it tended to increase by 14.0%, and in the retina the level of this indicator was 36.1% higher. Given the important role of this factor in neuronal survival, these data indicate that one of the links in the protective mechanism of myopia against the development of diabetic retinopathy is the brain-derived neurotrophic factor BDNF.

Comparison of structural and metabolic changes in the retina in rats with experimental diabetes and myopia revealed the presence of correlations between their markers. A direct correlation between the number of ganglion cells and the level of brain-derived neurotrophic factor BDNF ($R=0.52$), ATP level ($R=0.58$), succinate dehydrogenase activity ($R=0.56$) and a negative correlation for lactate ($R=-0.54$) was proved.

Thus, the results of the experimental study showed that the lengthening of the eyeball axis (myopization) in rats helps to protect diabetic changes in the retina, which was confirmed at the molecular and morphological levels, and the links of this protective mechanism are the neurotrophic brain factor BDNF, reduction of hypoxia and activation of energy metabolism.

The main provisions of the dissertation are published in 5 journal articles and 7 abstracts.

Key words: diabetes, diabetic retinopathy, myopia, retina, ultrastructure, ganglion cells, energy metabolism, hypoxia, mitochondria, brain-derived neurotrophic factor BDNF.

Перелік наукових праць, опублікованих за темою дисертації

1. Михейцева, І. М., Молчанюк, Н. І., Амайєд, А., Коломійчук, С. Г., & Сіроштаненко, Т. І. (2024). Особливості ультраструктурних змін у нейросенсорних елементах сітківки щурів при моделюванні діабетичної ретинопатії на тлі осьової міопії. *Фізіологічний журнал*, 1, 31–36. <https://doi.org/10.15407/fz70.01.031>
2. Михейцева, І., Амайєд, А., & Коломійчук, С. (2023). Енергетичний стан сітківки щурів з експериментальним діабетом і осьовою міопією. *Офтальмологічний журнал*, 4, 61–66. <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh202346166>
3. Михейцева, І. М., Амайєд, А., Артьомов, О. В., Коломійчук, С. Г., & Кузнецов, М. К. (2024). Вміст нейротрофічного фактору мозку BDNF в сітківці щурів з індукованим діабетом і осьовою міопією, взаємозв'язок зі структурою нейрональних елементів сітківки. *Офтальмологічний журнал*, 3, 40–44. <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh202434044>
4. Михейцева, І. М., Амайєд, А., Коломійчук, С. Г., & Артьомов, О. В. (2024). Взаємозв'язок між структурними змінами, маркером апоптозу та метаболічними показниками в сітківці щурів з діабетом та міопією. *Офтальмологічний журнал*, 6, 48–53. <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh202464853>
5. Борисов, С. О., Костєв, Ф. І., Борисов, О. В., Дехтяр, Ю. М., Віт, В. В., Молчанюк, Н. І., Михейцева, І. М., Коломійчук, С. Г., & Амайєд, А. (2022). Вплив цукрового діабету II типу, ускладненого пієлонефритом, на ультраструктурні зміни хоріоїдеї, сітківки та нефронів в експерименті. *Офтальмологічний журнал*, 3, 32–38. <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh202233238>
6. Михейцева, І. М., Коломійчук, С. Г., Сіроштаненко, Т. І., & Амайєд, А. (2024). Метаболічні показники гіпоксичного стану сітківки при експериментальній діабетичній ретинопатії та осьової міопії. *Збірник*

- праць міжнародної науково-практичної міждисциплінарної конференції, 64–66. <https://reposit.institut-filatova.com.ua/handle/123456789/742>*
7. Михейцева, І. М., Амайєд, А., Артёмов, О. В., Коломійчук, С. Г., & Сіроштаненко, Т. І. (2024). Взаємозв'язок між гістоморфологічним станом та маркером апоптозу у сітківці щурів з гіперглікемією та міопією високого ступеня. *Теорія та практика сучасної морфології: матеріали Восьмої Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю*, 97–98. <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh202464853>
 8. Михейцева, І. М., Коломійчук, С. Г., Сіроштаненко, Т. І., & Амайєд, А. (2023). Дослідження показників вуглеводного обміну в організмі у щурів з деприваційною міопією високого ступеню та діабетом II типу. *Лютневі зустрічі з офтальмології-2023: Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю*, 40–41. <https://reposit.institut-filatova.com.ua/handle/123456789/793>
 9. Михейцева, І. М., Коломійчук, С. Г., Сіроштаненко, Т. І., & Амайєд, А. (2022). Вивчення показників енергетичного обміну в сітківці щурів при діабеті II типу та міопії. *Сучасні проблеми медицини: Практична офтальмологія. Сучасні проблеми екологічної медицини: Збірник праць науково-практичної конференції*, 52–54. <https://reposit.institut-filatova.com.ua/handle/123456789/1251>
 10. Михейцева, І. М., Коломійчук, С. Г., Сіроштаненко, Т. І., & Амайєд, А. (2022). Активність мітохондріальної сукцинатдегідрогенази в сітківці щурів при моделюванні діабету II типу на тлі деприваційної міопії. *Актуальні проблеми сучасної біохімії, клітинної біології та фізіології: Матеріали VI міжнародної наукової конференції*, 157–158. <https://reposit.institut-filatova.com.ua/handle/123456789/1250>
 11. Михейцева, І. М., Молчанюк, Н. І., Коломійчук, С. Г., Сіроштаненко, Т. І., & Амайєд, А. (2022). Вплив міопії високого ступеню на ультраструктурні зміни в судинах хоріоїдеї та сітківці щурів з діабетом II типу. *Теорія та практика сучасної морфології: Матеріали шостої*

всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, 102–103. <https://reposit.institut-filatova.com.ua/handle/123456789/725>

12. Михейцева, І. М., Молчанюк, Н. І., Артьомов, О. В., Коломійчук, С. Г., Сіроштаненко, Т. І., & Амайєд, А. (2021). Особливості морфологічного та ультраструктурного стану клітин сітківки щурів з діабетом II типу на тлі міопії високого ступеню. *Теорія та практика сучасної морфології: Матеріали п'ятої всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю*, 91–93. https://fz.kiev.ua/journals/2024_V.70/1/FZh-1-2024-31-36.pdf

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ГК – гангліозні клітини

ГКС – гангліозні клітини сітківки

ДР – діабетична ретинопатія

НПДР – непроліферативна діабетична ретинопатія

ПЗР – передньо–задній розмір ока

ПДР – проліферативна діабетична ретинопатія

РПЕ – ретинальний пігментний епітелій

фДНК – фракційна дезоксирибонуклеїнова кислота

ЦД – цукровий діабет

ALAT – Alanine aminotransferase/ Аланінамінотрансфераза

BDNF – Brain derived neurotrophic factor/ Мозковий нейротрофічний фактор

BCL-2 – Антиапоптичні білки

BHB – Beta-hydroxybutyrate / Бета-гідроксибутират

IGF-1 – Insulin-like growth factor 1/ Інсуліноподібний фактор росту 1

VEGF – Vascular endothelial growth factor/ Судинний ендотеліальний фактор росту

NT-3 – Neurotrophin-3/ Нейротрофін-3

NGF – Nerve growth factor/ Фактор росту нервів

STZ – Streptozotocin/ Стрептозоцин

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ	2
ВСТУП.....	19
РОЗДІЛ 1.(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	29
1.1 Діабетична ретинопатія – тяжке ускладнення цукрового діабету	29
1.2. Зв'язок між міопією та діабетичною ретинопатією	34
1.3. Особливості структурних змін сітківки при цукровому діабеті та у супроводі міопії	36
1.4. Енергетичний обмін в нервових клітинах сітківки та нейротрофічні фактори як адаптогени при її гіпоксії	39
1.5. Діабетична ретинопатія та нейротрофічний фактор мозку, молекулярні основи та потенціал клінічного застосування	43
1.6. BDNF в сітківці при міопії, діабетичній ретинопатії	49
РОЗДІЛ 2.МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	52
2.1. Моделювання осьової деприваційної міопії у щурів.	52
2.2. Моделювання осьової деприваційної міопії та стрептозотоцинового діабету у щурів.	54
2.3. Гістоморфологічні та електронно-мікроскопічні дослідження сітківки експериментальних тварин.....	56
2.4. Методи біохімічних досліджень	57
2.5. Методи статистичного аналізу.....	62
РОЗДІЛ 3.ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ, СТРУКТУРНИХ ПАРАМЕТРІВ ОКА ПРИ МОДЕЛЮВАННІ У ЩУРІВ ДІАБЕТУ НА ТЛІ ОСЬОВОЇ МІОПІЇ	64
3.1. Формування у щурів моделей осьової деприваційної міопії, стрептозотоцинового діабету та їх поєднання	64
3.2. Дослідження гістоморфологічних змін в тканинах органа зору щурів при деприваційній міопії та стрептозотоциновому діабеті.....	66
3.3. Ультраструктурні зміни нейросенсорних елементів сітківки щурів при деприваційній міопії та стрептозотоциновому діабеті.	72

Узагальнення до розділу 3.....	76
РОЗДІЛ 4.МЕТАБОЛІЧНІ ЗМІНИ В СІТКІВЦІ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ У ЩУРІВ ДІАБЕТУ НА ТЛІ ОСЬОВОЇ МІОПІЇ, ВЗАЄМОЗВ’ЯЗОК ЗІ СТРУКТУРНИМИ ПОРУШЕННЯМИ.	80
4.1. Вивчення особливостей змін показників енергетичного обміну у щурів при моделюванні діабету з міопією.....	80
4.2. Вивчення рівня BDNF та фрагментованої ДНК у щурів при моделюванні діабету з міопією	93
4.3. Взаємозв’язок між змінами метаболічних та структурних показників у щурів при моделюванні діабету з міопією	97
Узагальнення до розділу 4.....	100
РОЗДІЛ 5. АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ..	104
ВИСНОВКИ.....	119
ВИКОРИСТАНІ ДЖЕРЕЛА	122
ДОДАТОК А.....	142
ДОДАТОК Б	146
ДОДАТОК В.....	150

ВСТУП

Актуальність теми.

Захворювання діабетичною ретинопатією, яка є тяжким ускладненням цукрового діабету (ЦД), останнє десятиріччя значно поширюється по всьому світу. Це основна причина сліпоти серед населення працездатного віку в промислово розвинених країнах [1]. Довгий час вважалось, що діабетична ретинопатія (ДР) є суттєво судинна патологія, при якій первинно страждають невеликі судини ока. Але в останні роки розповсюджується думка, що первинними є порушення в нервових елементах сітківки [2, 3]. Нейродегенерація сітківки вважається вже багатьма дослідниками в якості попереджального явища прогресування ДР, таким чином при ЦД порушується не тільки судинна система сітківки, але й страждають нервові елементи сітківки, що призводить до втрати нервово-судинних сполучень, нейрогенерациї та нейрозапалення, які можуть бути виявлені ще до появи судинних ушкоджень [4].

Діабетична ретинопатія яка розвинулась на тлі міопії має особливості розвитку. З клінічної практики відомо, що діабетичні ускладнення на сітківці при наявності міопії значно менші ніж при еметропії [5]. Нещодавнє корейське дослідження [6] показало, що аксіальна міопія та низький рівень HbA1c можуть запобігти діабетичній ретинопатії. У дослідженні Shehab et al. 2021 [7], після поправки на інші фактори ризику, було виявлено негативний зв'язок між міопією та ДР. Стверджується, що міопія знижує частоту розвитку розвинутої форми непроліферативної ДР та майже усуває вірогідність формування проліферативної ДР [8, 9]. У дослідженні Kong et al. 2022 [10] стверджується, що висока міопія є захисним фактором при формуванні ДР.

Незважаючи на повідомлення, які поширюються в літературі, механізми захисного впливу міопізації очного яблука на ступінь пошкодження сітківки при діабеті залишається незрозумілою. В той же час глибоке розуміння зв'язку між міопією та ДР, вивчення механізмів цього парадоксального впливу мало би

вирішальне значення для успішної профілактики розвитку тяжких ускладнень цукрового діабету в очах та формування стратегії громадського здоров'я.

Наша робота спрямована на вирішення цієї проблеми шляхом вивчення деяких ланок патогенезу ДР у супроводі міопії.

Вирішення таких проблем можливо на моделях захворювань. В якості об'єкту дослідження було обрано щурів як найбільш відповідних лабораторних тварин, на яких можливо відтворювати модель як осьової міопії так і діабету з розвитком діабетичної ретинопатії.

Викликана діабетом дисфункція сітківки розглядається як порушення структури, метаболізму, і навіть виживання нервово-судинної системи сітківки, так званої нейро-васкулярної одиниці. До неї входить нервовий апарат з гангліозними та гліальними клітинами та судинний блок, який включає ендотеліальні клітини та перицити. Нейро-васкулярна одиниця сітківки та пігментний епітелій сітківки складають гемато-ретинальний бар'єр [11]. Стосовно структурних змін у нервовому апараті сітківки при ЦД вважається, що саме порушення гангліозних клітин сітківки (ГКС) є основною патологічною ознакою нейродегенерації сітківки, яка спричинена діабетом [12, 13]. Але особливості структури нейронального апарату сітківки при діабеті у супроводі міопії майже не вивчені.

Одним з можливих залучених механізмів протекторного впливу міопії на сітківку при діабетичних ускладненнях можуть бути особливості енергетичного метаболізму. Для судинних патологій, включаючи ДР, характерна гіпоксія тканин, що викликає розвиток дефіциту енергетичного стану. Лактат це показник біоенергетичної гіпоксії та один з основних маркерів мітохондріальної дисфункції [14]. Його розглядають у якості раннього прогностичного маркеру, тому що зазвичай його вміст підвищується раніше інших проявів кисневого голодування. Це має місце при зниженні вмісту кисню в клітині, при дисфункції мітохондрій. Дисфункція мітохондрій серйозно впливає на гомеостаз тканин. Однією з основних функцій мітохондрій є

виробництво аденозинтрифосфату (АТФ) – молекули, яка виконує роль акумулятора енергії для клітин та всього організму.

Споживання кисню відображає активність електронно-транспортного ланцюга і виробництво АТФ мітохондріями. Суттєві зміни мітохондріальної біоенергетики можуть сприяти порушенню функціонування електронно-транспортного ланцюга мітохондрій [15]. Вивчення особливостей енергетичних функцій мітохондрій сітківки при діабеті з міопізацією очного яблука для встановлення механізмів протекторної дії міопії - актуальна наукова задача, яка має також практичне значення для клініки. Зниження доступності кисню викликає компенсаторну, хоча і помилкову патологічну неоваскуляризацію при проліферативних ретинопатіях [16]. Сітківка одна з найбільш окислювальних тканин в організмі, яка споживає більше кисню, ніж мозок [17].

При багатьох захворюваннях сітківки вивільнення факторів росту, а саме нейротрофінів, знижується. Це підтверджує гіпотезу про те, що відновлення цих факторів до нормального рівня підвищить виживання нейронів [18, 19]. Оскільки ДР сьогодні вважається патологічним станом, при якому судинні зміни тісно пов'язані з нейрональною дегенерацією та мітохондріальним пошкодженням клітин сітківки [20], нейропротекторний нейротрофічний фактор мозку BDNF нещодавно став потенційною мішенню в патогенезі захворювань сітківки завдяки його сприятливому впливу на нейронні шари сітківки [21]. Дисрегуляція цього нейротрофіну була виявлена в доклінічних і клінічних дослідженнях. Про це свідчить зниження рівня BDNF на моделі ранньої нейропатії сітківки у щурів, індукованої діабетом [22], а також у сироватці крові та водянистій волозі пацієнтів з діабетом до появи клінічних ознак ДР [23]. Вивчення рівня BDNF при діабеті у супроводі міопії ймовірно спроможне частково розкрити механізм протекторної дії міопії в міопічних очах.

Таким чином, питання впливу міопізації ока на розвиток діабетичних ускладнень на сітківці залишається невирішеною проблемою у світовій

офтальмології. Вивчення особливостей структурних змін сітківки, її нервових клітин при діабеті, який розвинувся в умовах осьової міопії, дослідження метаболічних змін сітківки при цих патологічних умовах можливі на моделях захворювань у тварин, що максимально наближені до тих, що спостерігаються у людей з цукровим діабетом і міопією. Такі дослідження допоможуть встановити механізми протекторної дії міопії щодо діабетичної ретинопатії, що відкриватиме шляхи до розробки лікувального та профілактичного впливу з метою зниження тяжких наслідків діабетичних ускладнень на очах.

Мета роботи: дослідити особливості структури нейрональних елементів та патогенетичних ланок метаболізму сітківки щурів з експериментальним діабетом, який розвинувся на тлі осьової міопії.

Задачі:

1. Відтворити у щурів моделі деприваційної осьової міопії, стрептозотоцинового діабету та їх поєднання.
2. Дослідити особливості гістоморфологічного стану сітківки щурів з моделлю стрептозотоцинового діабету, який розвинувся на тлі осьової міопії, в порівнянні з окремо модельованими діабетом та міопією
3. Вивчити ультраструктуру нейросенсорних елементів сітківки щурів з моделлю стрептозотоцинового діабету, який розвинувся на тлі осьової міопії, в порівнянні з окремо модельованими діабетом та міопією.
4. Встановити особливості енергетичного обміну в сітківці та крові щурів з моделлю стрептозотоцинового діабету, який розвинувся на тлі осьової міопії, в порівнянні з окремо модельованими діабетом та міопією по метаболічним маркерам (лактат, піруват, АТФ, АДФ, сукцинатдегідрогеназа)
5. Вивчити рівень маркеру раннього апоптозу (фракційної ДНК) в сітківці щурів з моделлю стрептозотоцинового діабету, який розвинувся на тлі осьової міопії, в порівнянні з окремо модельованими діабетом та міопією.

6. Вивчити рівень нейротрофіну BDNF в сітківці та крові щурів з моделлю стрептозотоцинового діабету, який розвинувся на тлі осьової міопії, в порівнянні з окремо модельованими діабетом.
7. Дослідити взаємозв'язок метаболічних та структурних змін в сітківці щурів з діабетом та міопією.

Об'єкт дослідження. Діабетична ретинопатія, міопія.

Предмет дослідження. Структура та ультраструктура нейрональних елементів сітківки, біохімічні маркери метаболічного стану сітківки та крові щурів з експериментальним діабетом та міопією.

Методи дослідження:

1. Офтальмологічні (біомікроскопія, офтальмоскопія, апланаційна тонометрія, ультразвукове дослідження передньо–заднього розміру ока (ПЗР), пахіметрія).
2. Патофізіологічні (модельовання стрептозотоцинового діабету, деприваційної міопії та їх поєднання у щурів).
3. Гістоморфологічні (вивчення структури внутрішніх шарів сітківки).
4. Електронно-мікроскопічні (вивчення ультраструктури нервових клітин сітківки).
5. Біохімічні (дослідження показників енергетичного обміну, рівня глюкози, рівня маркеру апоптозу фДНК, рівня нейротрофічного фактору мозку BDNF).
6. Статистичні методи оцінки результатів досліджень (параметричні і непараметричні методи аналізу з використанням статистичного програмного забезпечення (JASP). Для оцінки кількісних показників використовували середні величини (M) і стандартні похибки середніх (m). Для оцінки відмінностей між двома групами застосовано критерій Ст'юдента (t) для незалежних вибірок з попередньою оцінкою нормальності розподілу за допомогою критерію Колмогорова-Смирнова. При відсутності нормального розподілу застосовували непараметричні методи аналізу, а саме за критерієм Крускала-Уоліса і Мана-Уїтні. Біохімічні показники статистично обробляли с

використанням t-критерію Ст'юдента. Вірогідним рівнем значення «р» вважали рівним або меншим за 0,05. Визначення взаємозв'язку між структурними змінами та рівнем метаболічних показників проводили, використовуючи непараметричний метод кореляційного аналізу – рангової кореляція за Спірменом.

Наукова новизна отриманих результатів

1. Вперше виявлені особливості змін структури внутрішніх шарів сітківки щурів з моделлю стрептозотоцинового діабету, який розвинувся на тлі осьової міопії, в порівнянні з окремо модельованими діабетом. На відміну від групи тільки з діабетом, встановлено високу щільність нейронів в шарі гангліозних клітин сітчастої оболонки, їх кількість була вдвічі вищою.
2. Вперше доведені ультраструктурні особливості нейро-сенсорних елементів сітківки щурів з моделлю стрептозотоцинового діабету, який розвинувся на тлі осьової міопії, в порівнянні з окремо модельованими діабетом. Нервові клітини внутрішнього шару сітківки у цих щурів мали менш виражені ультраструктурні зміни, а деякі їх ділянки мали структуру без ознак патології і стан органел цих клітин був близьким до норми.
3. Вперше встановлено активацію енергетичного обміну в сітківці та крові щурів з моделлю стрептозотоцинового діабету, який розвинувся на тлі осьової міопії, в порівнянні з окремо модельованими діабетом. У тварин з діабетом і міопією рівень лактату в сітківці був на 20,2% нижче ніж у тварин тільки з діабетом, вміст АТФ - на 21,2% вище, що свідчить про зменшення стану гіпоксії. У щурів цієї групи встановлено зростання активності ретинальної мітохондріальної сукцинатдегідрогенази на 20,8% при порівнянні з даними у щурів тільки з діабетом.
4. Вперше виявлено більшу спрямованість нервових клітин сітківки до раннього апоптозу (по зростанню маркеру фДНК на 9,1%.) при експериментальному діабеті, ніж при діабеті на тлі міопії.

5. Вперше доведено, що міопізація ока при діабеті у щурів сприяла нейропротекторному впливу на сітківку нейротрофіну BDNF. Вміст цього регулятора виживання нейронів в сітківці при експериментальному діабеті було знижено на 37,6%, в групі діабет з міопією вміст BDNF зростав на 36,1% відносно даних у щурів тільки з діабетом.
6. Вперше встановлено кореляційний взаємозв'язок метаболічних та структурних змін в сітківці у щурів з діабетом і міопією. Показана пряма кореляція між кількістю гангліозних клітин (ГК) і рівнем нейротрофічного фактору мозку BDNF ($R=0,52$), рівнем АТФ ($R=0,58$), активністю сукцинатдегідрогенази ($R=0,56$) та негативний кореляційний зв'язок для лактату та пірувату ($R=-0,54$ та $R=-0,51$, відповідно).

Відмінності одержаних результатів від відомих раніше.

Експериментальні дослідження на тваринах, яким моделювали цукровий діабет на тлі міопії, проводились в попередніх роботах лабораторії біохімії ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України» [24, 25, 26]. В цих роботах вивчали клінічну картину розвитку патології на очному дні, мікро-структуру хоріоретинального комплексу, ліпідний обмін у експериментальних тварин. Але на відміну від тих робіт, нами вперше було вивчено структуру внутрішнього шару сітківки та ультраструктуру ретинальних нервових клітин у щурів з діабетом і міопією [27, 28] та особливості метаболізму сітківки, що розкривають механізми протекції розвитку ДР [29].

Зниження енергетичного забезпечення при ЦД зі зменшенням рівня макроерга АТФ в клітинах панкреатичної залози встановлено для хворих діабетом, також в серці тварин з моделлю діабета [30, 31]. В нашому дослідженні доведено зниження енергетичного метаболізму в сітківці діабетичних щурів, в той же час показники ретинальної енергетики – рівень АТФ, відношення АТФ/АДФ, вміст лактату, активність сукцинатдгідрогенази – у щурів з діабетом і міопією були покращені [28, 29].

Дисрегуляція нейротрофіну BDNF при цукровому діабеті була виявлена в доклінічних і клінічних дослідженнях. В роботі [22] на моделі ранньої нейропатії сітківки у щурів з індукованим діабетом встановлено зниження рівня BDNF, а також у сироватці крові та водянистій волозі пацієнтів з діабетом до появи клінічних ознак ДР [23]. В той же час робіт зі змінами цього нейротрофіну в сітківці та крові тварин з діабетом і міопією не проводилось. Нами було показано, що при діабеті у супроводі з міопією у експериментальних щурів в сітківці та плазмі крові вміст BDNF був вище, ніж при діабеті з еметропією [28].

Особистий внесок здобувача

Здобувач самостійно провів патентно-інформаційне дослідження, аналіз літературних джерел з проблеми, яка досліджується. Автором були самостійно підготовлені та сформовані групи щурів для моделювання, проведено моделювання, виконані офтальмологічні дослідження у експериментальних тварин. Здобувач особисто виконував забір матеріалу щодо морфологічних та біохімічних досліджень, самостійно проводив статистичну обробку даних. Ним було підготовлено матеріали до публікації отриманих результатів. Здобувач особисто написав розділи дисертаційної роботи та оформив її. Спільно з науковим керівником д.б.н. І. М. Михейцевою було проаналізовано результати проведеного експерименту. Формування мети, основних положень та висновків дисертації також проведені спільно з науковим керівником. Здобувач приймав участь у виконанні біохімічних досліджень, які виконувались в лабораторії біохімії ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України». (зав. лабораторії доктор біол. наук, ст. наук. співроб. Михейцева І.М.). Морфологічні дослідження виконані в лабораторії патоморфології та електронної мікроскопії ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України» к.м.н. Артьомовим О.В. та к.б.н. Молчанюк Н.І.

Практичне значення отриманих результатів

1. На базі розробленого поєднаного моделювання осьової міопії та стрептозотоцинового діабету на щурах відтворено клінічну ситуацію цукрового діабету на тлі міопії у людей, що дозволить її досконально вивчати.

2. Данні експериментального дослідження структурних змін та ланок патогенезу формування діабетичних порушень на сітківці та їх особливостей в умовах міопізації очей у тварин дозволять розкрити механізми протекторного впливу міопії щодо тяжкості діабетичної ретинопатії у людей.

3. Виявлений взаємозв'язок структурного стану та метаболічних змін в сітківці щурів при діабеті в умовах міопії доводить участь енергетичних процесів, нейротрофічного фактору мозку у протекторному впливі міопізації очей щодо розвитку тяжких форм діабетичної ретинопатії, що дозволить розробляти в майбутньому шляхи впливу на клініку цього патологічного стану.

Зв'язок роботи з науковими програмами і темами

Виконана робота є складовою частиною НДР «Клініко-експериментальне дослідження у визначенні патогенетичної ролі порушень метаболізму переднього і заднього відділу ока при діабеті 2 типу з міопією» (№ Держ.реєстрації 0119U101071), що проводилась в ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України» в 2019-2021 рр.

Апробація результатів дисертації

Основні положення дисертації повідомлені, розглянуті і обговорені на науково-практичних конференціях з міжнародною участю: Восьма Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, 6-8 листопада 2024; Дніпро; Науково-практична конференція з міжнародною участю «Лютневі зустрічі з офтальмології-2023»: 1-2 лютого 2023 р.; Одеса; Шоста всеукраїнська науково – практичної конференція з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології»: 9 -11 листопада 2022 р.; Дніпро; науково-практична конференція «Сучасні проблеми медицини (Практична

офтальмологія. Сучасні проблеми екологічної медицини)»: 24-26 лютого 2022 р.; Київ.

Структура та обсяг дисертації

Робота складається зі вступу, 5 розділів, висновків, списку використаних джерел, який містить 192 найменувань (з них 10 кирилицею та 182 латиницею). Дисертацію викладено на 137 сторінках комп'ютерного тексту, із них 120 сторінок основного. Основний текст містить 10 таблиць, 22 рисунка.

РОЗДІЛ 1.

(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Діабетична ретинопатія – тяжке ускладнення цукрового діабету

Діабетична ретинопатія (ДР) є найпоширенішим мікросудинним ускладненням цукрового діабету (ЦД) і вражає 3-4% людей в Європі. Діабетична ретинопатія останнє десятиріччя значно поширюється по всьому світу. Відповідно даних мета-аналізу Міжнародної діабетичної федерації численність хворих на ЦД у 2019 році становила 463 млн, тоді як у 2045 очікується їх збільшення до 700 млн. Поширеність ДР серед пацієнтів з діабетом за даними цього дослідження становить 22,27%. У 2020 році пацієнтів з ДР у світі, як вважають дослідники, було 103,12 млн, тоді як у 2045 році їх буде вже 160,50 млн [32]. Це основна причина сліпоти серед населення працездатного віку в промислово розвинених країнах [1].

Діабетична ретинопатія як форма прогресуючого ураження дрібних кровоносних судин (мікроангіопатія) спричиняє незначні пошкодження сітківки на ранніх стадіях, які з часом можуть прогресувати і призвести до повної втрати зору. Мікроангіопатія, пов'язана з оклюзією та витоком з капілярів сітківки. Патогенез включає хронічну гіперглікемію, потовщення базальної мембрани, перицитому та гемодинамічні зміни. Ключовими тригерами є оксидативний стрес, підвищена експресія судинного ендотеліального фактора росту (VEGF) та інсуліноподібного фактора росту-1 (IGF-1).

Відносний ризик розвитку діабетичної ретинопатії вищий при діабеті 1 типу порівняно з 2 типом [1, 33]. Діабетичну ретинопатію можна розділити на дві основні категорії: проліферативна діабетична ретинопатія (ПДР) і непроліферативна діабетична ретинопатія (НПДР). Існує багато факторів ризику виникнення та прогресування діабетичної ретинопатії, таких як гіпертонія, ожиріння, куріння, тривалість діабету та генетичні фактори.

Численні дослідження оцінювали рівні широкого спектру запальних хемокинів у сироватці крові, склоподібному тілі та водянистій рідині пацієнтів з ДР. При діабетичній ретинопатії у склоподібному тілі спостерігається підвищення рівня ангіогенних факторів, таких як тромбоцитарний фактор росту (PDGF) або судинний ендотеліальний фактор росту (VEGF), або зниження рівня антиангіогенних факторів, таких як пігментний епітеліальний фактор (PEDF). Більша фізична активність і рухливість пов'язані зі зниженням ймовірності розвитку ДР. Прийом нутрицевтиків, що містять вітаміни (B1, B2, B6, B12, C, D, E і l-метилфолат) і мінерали (цинк), може допомогти зменшити ймовірність або уникнути спалаху ДР [34].

Причинами втрати зору є діабетична макулопатія та ускладнення ПДР, такі як крововилив у склоподібне тіло, тракційне відшарування сітківки та неоваскулярна глаукома. До 2030 року країни, що розвиваються, зіткнуться зі збільшенням кількості пацієнтів з діабетом на 69%, а промислово розвинені країни - на 20% порівняно з 2010 роком [35]. Вірогідність ретинальних ускладнень зростає зі збільшенням тривалості захворювання. До 50% пацієнтів з діабетом 1 типу і 30% пацієнтів з діабетом 2 типу з часом розвиваються небезпечні для зору зміни сітківки, в той час як ранні зміни сітківки не помічаються пацієнтами [36].

Нещодавні дослідження показали, що при цукровому діабеті порушується не тільки судинна система сітківки, але й страждають нервові елементи сітківки, що призводить до втрати нервово-судинних сполучень, нейрогенерациї та нейрозапалення, які можуть бути виявлені ще до появи судинних ушкоджень [4]. Клінічно знижена темнова адаптація, порушення кольорового та/або контрастного зору та дефекти поля зору виявляються під час функціональних обстежень пацієнтів з діабетом [37]. Діабетична ретинопатія має тенденцію до погіршення під час гормональних змін, наприклад, у підлітковому віці та під час вагітності [38]. У патогенезі діабетичної ретинопатії ключову роль відіграють два основні механізми: підвищення проникності судинної стінки, що призводить до розвитку набряку, утворення солідного ексудату і крововиливів

у сітківку, а також утворення мікротромбів і оклюзії капілярів, що викликає ішемію та гіпоксію. Згодом у цих ділянках активується синтез факторів росту ендотелію судин, що стимулює неоваскуляризацію.

Рання діагностика захворювання та призначення відповідного лікування дозволило б полегшити симптоми хвороби більш ніж у половини пацієнтів, тому пацієнтам з діабетом слід частіше проходити профілактичні огляди у офтальмолога, щоб уникнути виявлення захворювання на пізніх стадіях. Хоча лазерна фотокоагуляція ефективна, якщо її виконати вчасно, запущені стадії діабетичної ретинопатії потребують лікування за допомогою вітреоретинальної хірургії і мають обмежений прогноз щодо збереження зору. Незважаючи на те, що нові терапевтичні можливості, такі як інтравітреальна медикаментозна терапія та безшовна вітректомія pars-plana, покращили офтальмологічну допомогу пацієнтам з діабетом, міждисциплінарна допомога залишається вкрай важливою. Належний контроль метаболізму та артеріального тиску є незамінним для зниження ризику офтальмологічних ускладнень [39].

Отримані Rogasova et al. 2023 результати підтвердили, що розвиток діабетичної ретинопатії у пацієнтів з ЦД зростає зі збільшенням тривалості захворюваності [40]. Також частіше спостерігалися патологічні зміни, характерні для цього типу пізніх ускладнень ЦД, такі як погіршення гостроти зору, поява аневризм, набряк макули з твердими ексудатами та поступова втрата зору, що може призвести до практичної сліпоти.

Патології сітківки та склистого тіла є найпоширенішими захворюваннями очей у пацієнтів з цукровим діабетом; вони можуть спричинити тяжкі ускладнення.

У дослідженні Yousef et al. 2021 [41] було виявлено, що захворювання склоподібного тіла та сітківки були більш поширеними серед учасників з діабетичною гіпертензією - 55% (n = 112). Висока частота порушень спостерігалася у вікових групах: 60-69 та 50-59 років. Найпоширенішим порушенням було відшарування сітківки, яке було виявлено у 30,5% (n = 62), за яким слідували зміни склоподібного тіла у 16,3% (n = 33). Відшарування

сітківки спостерігалось у 15,8% (n = 32), крововилив у сітківку - у 15,3% (n = 31), відшарування сітківки та крововилив у сітківку - у 11,3% (n = 23), відшарування сітківки з катарактою - у 3,4% (n = 7), відшарування сітківки зі змінами сітківки - у 3% (n = 6), інші зміни спостерігалися у 4,4% (n = 9) учасників. Не виявлено достовірного статистичного зв'язку між статтю/тривалістю діабету та віком і цими порушеннями (P = 0,2, 0,43 та 0,5) відповідно. Порушення з боку склистого тіла та сітківки були більш поширеними у пацієнтів з діабетичною гіпертензією. Висока частота порушень спостерігалася у віковій групі (50-70 років). Ультразвукове дослідження є корисним методом діагностики порушень сітківки та сітківки у хворих на цукровий діабет [42].

Пацієнти з проліферативною діабетичною ретинопатією також мають підвищений ризик втрати зору через відшарування сітківки. Коли неоваскуляризація сітківки поширюється на склоподібне тіло і проліферує у фіброваскулярні тканини, тракція, що виникає, може спричинити відшарування сітківки. Якщо це ускладнення виникає за межами макули, пацієнт може прожити безсимптомно багато років. Якщо відшарування сітківки зачіпає макулу або загрожує їй, пацієнти втрачають зір і можуть скаржитися на фотопсію через тракцію сітківки. У такому випадку показане негайне хірургічне втручання з вітректомією та видаленням проліферативних тканин. Скорочення фіброваскулярних тканин може спричинити розрив сітківки, що призводить до комбінованого тракційного та регматогенного відшарування сітківки. Таким пацієнтам рекомендується термінове або екстрене хірургічне втручання. Пацієнти часто потребують введення в око розширювального газу або силіконової олії як частини операції. Після операції пацієнтам рекомендують дотримуватися певного положення, щоб оптимізувати шанси на приживлення сітківки [43].

При діабетичній ретинопатії венозне насичення сітківки киснем підвищене, а артеріовенозна різниця прогресивно зменшується на пізніх стадіях ретинопатії порівняно зі здоровими людьми. Це корелює з патофізіологією

діабетичної ретинопатії, де гіпоксія стимулює вироблення VEGF. Лазерне лікування та вітректомія покращують показники оксиметрії сітківки, які корелюють з клінічним результатом [44, 45].

Діабетичну ретинопатію можна поділити на три стадії: фонову, препроліферативну та ПДР, що характеризується неоваскуляризацією. Фонова ДР характеризує ранню стадію, коли хронічна гіперглікемія спричиняє пошкодження судин сітківки, послаблюючи стінки і призводячи до утворення мікроаневризм [45]. При прогресуванні захворювання до препроліферативної стадії мікроаневризми можуть розриватися, прогресуючи до крововиливів у сітківку. Порушення гематоретинального бар'єру та витік рідини і білків з ослаблених мікросудин у сітківку може спричинити відкладення рідини під макулою, що впливає на центральний зір. Це призводить до макулопатії та набряку макули, що є найпоширенішою причиною зниження зору на всіх стадіях ДР [46]. Поступова гіпоперфузія сітківки, що призводить до ішемії та втрати цілісності судин, спричиняє оклюзію та дегенерацію капілярів. Це створює гіпоксію, яка стимулює експресію проангіогенних факторів росту, таких як VEGF. Це призводить до аномального росту нових судин у сітківці, що в кінцевому підсумку призводить до прогресування проліферативної ДР. Ці нові судини є крихкими та дезорганізованими, а отже, можуть спричинити крововилив у склоподібне тіло або тракцію сітківки. Це може з часом призвести до відшарування сітківки. Обидві ці патології призводять до потенційно різкої втрати зору. Гемодинамічні зміни, спричинені гіперглікемією, призводять до вазодилатації та порушення кровотоку [47].

Крім того, просторова невідповідність між локальним випадінням капілярів і дифузною втратою нейронів у внутрішньому ядерному шарі (INL) свідчить про те, що на цій ранній стадії ДР втрата мікросудин може не мати прямого причинного зв'язку з нейродегенерацією і що діабет може впливати на ці два показники незалежно один від одного [48].

Перфузія глибокого судинного сплетення (DVP) і поверхневого судинного сплетення (SVP) в останні роки широко вивчалася у діабетиків за

допомогою оптичної когерентної томографії з ангіографією (ОСТА). Більшість з цих досліджень показали, що дефіцит перфузії був більш вираженим у DVP, а деякі з них виявили такі зміни у людей з діабетом і без ознак ДР, що узгоджується з іншими гістологічними даними. Інші гістопатологічні дослідження також описали вищу частоту більш розвиненої судинної патології, такої як мікроаневризми в INL [48, 49].

Іншою широко розповсюдженою ознакою ДР є збільшений діаметр судин. Це збігається з виявленням ширших, перфузованих капілярів у групі ранньої ДР та у випадку ДР. Вимірювання ОСТА у пацієнтів також показали збільшення діаметру судин при ДР [50, 51]. Спостерігали збільшення діаметру, яке можна пояснити потовщенням базальної мембрани судин, як і в моделях тварин з діабетом [52, 53]. Крім того, втрата перицитів в очах людини з діабетом, може призвести до розширення судин [49, 54].

1.2. Зв'язок між міопією та діабетичною ретинопатією

Багато популяційних досліджень показали протилежні та суперечливі результати щодо взаємозв'язку діабетичної ретинопатії та міопії. За даними Сінгапурського дослідження, очі з вищим ступенем міопії мали нижчий ризик розвитку діабетичної ретинопатії [55]. З іншого боку, дослідження Bei-jing Eye Research не виявило зв'язку між міопією та ДР. Man et al. повідомили, що протективний зв'язок між міопією та ДР може бути пов'язаний з осьовим подовженням, а не з міопією [56]. Однак Таууаб et al. повідомили, що більша осьова довжина очного яблука має протективний ефект на ступінь і тяжкість діабетичної ретинопатії [8]. Нещодавнє корейське дослідження [6] показало, що аксіальна міопія та низький рівень HbA1c можуть запобігти діабетичній ретинопатії. Глибоке розуміння зв'язку між міопією та ДР має вирішальне значення для формування стратегії громадського здоров'я та забезпечення прозорості патофізіології ДР.

У дослідженні Shehab et al. 2021 [7] , після поправки на інші фактори ризику, було виявлено негативний зв'язок між міопією та ДР ($OR=0,39$; 95% ДІ= $0,17-0,91$, $P=0,028$). Цей зв'язок був виявлений і в попередніх дослідженнях інших етнічних груп [51, 52, 53]. На противагу цьому, Ganesan et al. [54] не виявили зв'язку між міопією та діабетичною ретинопатією. Неузгодженість результатів може бути пов'язана з різними визначеннями або класифікаціями міопії, технікою фотографування очного дна та визначеннями діабетичної ретинопатії, або обмеженим розміром вибірки, що зменшує статистичну потужність для виявлення значущого взаємозв'язку [53].

У дослідженні Kong et al. 2022 [10] було виявлено, що міопія високого ступеню є захисним фактором при формуванні ДР ($OR = 0,274$ ($0,170-0,442$), $p<0,001$). Хоча низка досліджень показала, що міопія негативно корелює з ДР [53, 55-57], неможливо не помітити, що вплив міопії стає більш значущим під час діагностики ДР. Механізм може включати два аспекти. По-перше, тонкий діаметр венул сітківки і знижена функція сітківки, яка споживає відносно менше кисню і стає гіпоксичною за наявності діабету при міопії високого ступеню, відіграють значну роль у захисному ефекті проти ДР [55, 56]. Lin et al. повідомили, що очі з міопією високого ступеню мають значно меншу вираженість мікроаневризм, менше точкових крововиливів, менше твердих ексудатів і внутрішньосудинних мікросудинних аномалій сітківки [58]. Akiba et al. також довели, що ДР рідше зустрічається у пацієнтів з відшаруванням заднього скловидного тіла, яке завжди трапляється у когортах з міопією [57].

З іншого боку, очі з міопією мають нижчі рівні концентрації VEGF, ніж очі без міопії, що прискорює розвиток ДР. Виходячи з цього, градація ДР може бути повільнішою у пацієнтів з високою міопією, але навіть у цьому випадку все ж таки було виявлено ДР у пацієнтів з міопією. Отже, регулярні обстеження очного дна все ще необхідні. По-друге, на основі бінарної логістичної регресії та множинного регресійного аналізу, у пацієнта після операції з видалення катаракти, ймовірно, розвинеться ДР ($OR = 2,818$, 95% ДІ: $1,507-5,273$; $p = 0,001$) [10].

Наскільки відомо, в західних країнах не проводилося масштабних популяційних досліджень, які б вивчали зв'язок між високою міопією та діабетичною ретинопатією. Тому дослідивши NHANES, базу даних зі складним дизайном вибірки населення США, було виявлено, що висока міопія розглядається як фактор, що впливає на діабетичну ретинопатію в цій загальнодоступній базі даних. Крім того, кореляція між різними расами та діабетичною ретинопатією може бути фактором впливу. Nwanyanwu et al. описали взаємозв'язок між расою та поширеністю ДР. У наведеному дослідженні висока міопія є захисним фактором для діабетичної ретинопатії у чорношкірої популяції [59].

Нарешті, у дослідженні Ten W et al. 2023 не було проаналізовано зв'язок між високою міопією та проліферативною діабетичною ретинопатією, яка є останньою стадією цього надзвичайно складного захворювання сітківки. Це пов'язано з тим, що в аналізі дуже мало учасників одночасно страждали на високу міопію і проліферативну діабетичну ретинопатію [60]. У роботі Dong J et al. 2023 виявили, що експресія остеопонтину сітківки (OPN) та рецепторів інтегрину $\alpha v \beta 3$ у сітківці діабетичних морських свинок з високою міопією була нижчою, ніж у діабетичних моделях, що може бути пов'язано з впливом високої міопії на неоваскуляризацію при ДР [61].

1.3. Особливості структурних змін сітківки при цукровому діабеті та у супроводі міопії

Показано, що в міопічних очах збільшується осьова довжина, а також спостерігаються судинні зміни, такі як зменшення васкуляризації сітківки та її звуження [62]. Дослідження Shih показало, що разом зі збільшенням міопічної рефракції зменшується амплітуда очного пульсу, який генерується хоріоїдальним кровотоком. Порушення кровообігу спостерігалось при формуванні міопії [63]. Окислювальний стрес (ОС) не тільки бере участь у розвитку міопії, але й супроводжує ускладнення міопії високого ступеню

(висока міопія). Підвищений рівень малонового діальдегіду (МДА) у склистому тілі міопіків переконливо свідчить про участь перекисного окислення ліпідів сітківки в генезі міопічної катаракти людини [64]. Рівні ОС та метаболічна активність у водянистій волозі були нижчими у пацієнтів з високою міопією, ніж у контролі [64, 65].

Висока міопія, яка визначається як осьова довжина $\geq 26,0$ мм, характеризується осьовим подовженням, і, як наслідок, розтягненням задньої стінки ока, що може спричинити відшарування сітківки, макулярні отвори, неоваскуляризацію судинної оболонки та ретиноепітеліоз [66]. Крім того, висока міопія асоціюється з потоншенням сітківки, можливо, через її розтягнення [67]. У багатьох дослідженнях повідомляється, що при міопії внутрішня частина сітківки тонша, ніж у здорових людей [68-70]. Mwanza et al. повідомили про середнє зменшення середньої товщини внутрішнього сплетіння гангліозних клітин (GCIPL) на 1,06% на кожен міліметр збільшення осьової довжини [71]. Wang et al. також показали негативну кореляцію між товщиною GCC і осьовою довжиною [72].

Як ЦД 2 типу, так і міопія високого ступеня, які є відносно поширеними і поширеність яких зростає, значно прискорюють витончення внутрішнього шару сітківки [73, 74]. Lim et al. виявили, що одночасна наявність діабету та міопії асоціюється з більшим пошкодженням перипапільного шару нервових волокон сітківки (ПНВ), ніж кожна з патологій окремо [75]. Однак лише в небагатьох дослідженнях оцінювали товщину внутрішнього шару сітківки в макулярній ділянці в осіб з ЦД та міопією високого ступеня [76].

За наявності міопії діабетичні ускладнення на сітківці менш виражені, ніж при еметропії. Однак механізми такого парадоксального впливу міопізації ока на тяжкість цих ускладнень досі невідомі. Макула є найбільш чутливою частиною органу зору. Зміни мікроциркуляції вже існували в макулі при цукровому діабеті без/або з легкою діабетичною ретинопатією, незворотні пошкодження макули та судинної тканини, що її оточує, спричинені порушенням метаболізму глюкози [77, 78]. Було виявлено, що пацієнти з

діабетом з високою міопією мають вищу частоту ДР, ніж здорові люди. Хоча тема можливого зв'язку між міопією та ДР не є новою в літературі, але причини цього явища все ще залишаються суперечливими.

Після встановлення діагнозу діабету ускладнення можуть не виникати протягом 10-15 років. При діабетичній ретинопатії стеноз артерії сітківки пошкоджує мікросудини та нейрони сітківки, що згодом спричиняє мікросудинну дегенерацію мембрани сітківки. Таким чином, кров притікає до стінки капіляра, створюючи ішемію, і кулькоподібні мікроструктури, які називаються аневризмами, а запальні клітини тепер вивільняються тими ж дегенерованими нейронами [79]. Залежно від відповідного рівня глюкози, уражені кровоносні судини і нерви починають загоюватися; цей стан не впливає на зір і відомий як непроліферативна діабетична ретинопатія (НПДР) [80]. Діабетична ретинопатія не прогресує до проліферативної стадії. Гіпоксія може спричинити появу нових кровоносних судин у сітківці, що призводить до подальшої кровотечі, посилення проліферації фіброзних судин, відшарування сітківки та неоваскулярної глаукоми, якщо нові судини з'являються в передній камері.

Отже, як зазначено у дослідженні Su et al. 2021 [81] щільність судин парафовеолярної ямки та глибоких судин сітківки у хворих на цукровий діабет 2 типу з високою міопією була нижчою, ніж у діабетиків та здорових осіб. Однак не було виявлено різниці в щільності судин макулярної ямки та глибоких судин сітківки між пацієнтами з діабетом з високою міопією та здоровими особами. Крім того, міопія не мала захисного ефекту на зниження щільності судин сітківки у пацієнтів з діабетом. Висловлено припущення, що захисний ефект великої осьової довжини проти ДР пов'язаний зі зниженням метаболізму, а не зі зміною щільності судин.

Натомість, у роботі Orenburkina, et al. 2022 [82] представлено результати дослідження пацієнтів з ДР, які страждають на міопію. Показано, що у пацієнтів з різними варіантами довжини передньо-задньої частини ока скорочення, розвиток і прогресування ДР відбувається по-різному. Так, ряд авторів

відзначають, що у пацієнтів з високою міопією ДР, як правило, не розвивається. Одні пов'язують це з порушенням кровообігу в розтягнутій сітківці міопічного ока, інші - з концентрацією фактора росту ендотелію судин (VEGF), яка значно нижча в очах з довшою віссю або більшою міопічною рефракцією, треті - з вогнищевим порушенням безперервності шару пігментного епітелію, при якому продукти метаболізму видаляються через судинну оболонку і склеру, внаслідок чого не розвивається локальний ацидоз, венозний застій, не порушується бар'єрна функція ендотелію судин. Моделі ординарної логістичної регресії також не виявили значущого зв'язку між капілярним кровотоком сітківки та тяжкістю ДР. Гістограма багатфакторного скоригованого середнього капілярного кровотоку сітківки, побудована в залежності від ступеня тяжкості ДР, не виявила значущої тенденції до збільшення капілярного кровотоку сітківки по мірі прогресування тяжкості ДР ($P = 0,92$) [83].

У дослідженні Man et al. 2014 [83] прийшли висновку що більша осьова довжина асоціювалася зі зниженням шансів розвитку ДР в моделях, скоригованих за віком і статтю. Після поправки на вік, стать, тривалість діабету і HbA1c, очі з більшою осьовою довжиною мали меншу ймовірність розвитку ДР. Моделі ординарної логістичної регресії також продемонстрували, що більша осьова довжина асоціюється зі зниженими шансами мати більш важку категорію ДР.

1.4. Енергетичний обмін в нервових клітинах сітківки та нейротрофічні фактори як адаптогени при її гіпоксії

Клітини сітківки особливо активні в обміні речовин і вразливі до дефіциту енергії. Розуміння енергетичного метаболізму внутрішньої частини сітківки, особливо гангліозні клітини (ГК), є ключовим для розуміння патофізіології захворювання. Кровотік, постачання кисню, утилізація глюкози та функція мітохондрій є важливими факторами енергетичного метаболізму і тісно пов'язані з функцією нейронів та процесами життєзабезпечення сітківки.

Суттєве значення в процесах нейродегенерації мають порушення функції мітохондрій [84, 85]. ГК виявляються дуже чутливими до первинної або вторинної мітохондріальної дисфункції. Багато нейродегенеративних захворювань з доведеними мітохондріальними дефектами демонструють специфічну втрату цієї популяції нейронів, як, наприклад, при спадковій оптичній нейропатії Лебера (СОН), класичному мітохондріальному захворюванні, що характеризується селективною втратою ГК [86, 87]. Тут ми розглянемо ключові фактори, що зумовлюють високі енергетичні потреби сітківки, а також особливості енергетичного метаболізму нейронів сітківки.

Сітківка не є ні структурно, ні функціонально єдиним органом і є найскладнішою з тканин ока. Нейронний компонент сітківки складається з шести типів нейронів: фоторецептори (палички і колбочки), біполярні клітини, горизонтальні клітини, амакринові клітини і гангліозні клітини сітківки (RGC-ГКС) [88]. Нейрони сітківки отримують зоровий стимул і перетворюють світлову енергію в електричні сигнали, які проходять величезну кількість обробки в шарах сітківки, перш ніж передаються зоровим нервом до зорового аналізатора в головному мозку. Різні нейрони сітківки мають специфічні завдання з різним енергетичним навантаженням; енергетичний метаболізм у сітківці є складним. Активність нейронів тісно пов'язана з енергетичним обміном як на клітинному, так і на молекулярному рівнях. Коли метаболіти та постачання кисню не відповідають їхнім високим потребам, їхня діяльність може бути порушена [15].

Енергозабезпечення у внутрішній частині сітківки підтримується як аеробними, так і анаеробними шляхами, але анаеробні шляхи значно менш виражені, ніж у зовнішній частині [89]. Показники анаеробного гліколізу, такі як утворення лактату, рівень H^+ та активність лактатдегідрогенази (ЛДГ), є низькими у внутрішній частині сітківки [90, 91]. Крім того, значна частина енергії, що виробляється шляхом окислення сітківкою (близько 65%), не була отримана з глюкози [92]. Фоторецептори можуть окислювати ліпіди з

утворенням АТФ, що пояснює енергетичний дефіцит, на який вказували Коен та ін. [93, 94].

Енергетична перевага окисного фосфорилування (ОФ) в мітохондріях значно переважає енергетичну перевагу аеробного гліколізу, оскільки з однієї молекули глюкози утворюється лише 2 молекули чистого АТФ гліколітичним шляхом, а в мітохондріях - 36 молекул АТФ. Сітківка - одна з найбільш окислювальних тканин в організмі. Споживання кисню відображає активність мітохондрій і вироблення ними АТФ. Внутрішні сегменти фоторецепторів мають дуже високий окислювальний метаболізм, але оскільки решта фоторецепторів не має мітохондрій, зовнішня половина сітківки не має надзвичайно високої швидкості метаболізму [95]. Напруга кисню є найвищою біля судинної оболонки, швидко зменшується в напрямку до фоторецепторів і знову зростає після проходження мітохондріального шару фоторецепторів у напрямку до внутрішньої частини сітківки [96].

Деякі з енергоємних функцій нейронів включають синтез протеїнів, завантаження, вивільнення, переробку та обіг молекул нейромедіаторів, активний транспорт макромолекул та органел по мікротрубочках між тілом клітини та її дендритами і, особливо, аксонами. Однак на ці процеси припадає лише незначна частина енерговитрат. Найбільш енерговитратною функцією нейронів є активний транспорт іонів проти їхньої концентрації та електричних градієнтів [97]. Активний транспорт іонів підтримується головним чином $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ [98], яка використовує 1 АТФ на кожні 3 Na^+ , що викачуються в обмін на 2 K^+ , що надходять у клітину [99]. Вона слугує головним чином для реполяризації плазматичної мембрани після деполяризації, щоб відновити трансмембранний іонний градієнт для реактивації [100].

Попередні дослідження повідомляли про підвищену насиченість венозної крові сітківки киснем і зниження ретинального кровотоку та метаболізму кисню при НПДР.

Нейротрофіни – регуляторні молекули: фактор росту нервів (NGF), ростовий фактор, який виробляється мозком (BDGF) і нейротрофін-3 (NT-3).

Вони являють собою відносно невеликі білки, що складаються з двох субодиниць і мають певну спеціалізацію: NGF - впливає на нейрони периферичних симпатичних гангліїв, а також холінергічні нейрони переднього мозку, BDNF - частину моторних і сенсорних нейронів, а NT-3 - нейрони гіпокампу. Трофічна функція і стимуляція зростання аксонів нейротрофінами мають особливе значення в онтогенезі, при пошкодженнях ЦНС, епілепсії.

Нейротрофіни - структурно споріднені нейротрофічні поліпептидні фактори, необхідні для диференціації, виживання, росту нейритів і пластичності нейронів. Крім контролю балансу між виживанням і загибеллю нейронів, нейротрофіни регулюють диференціацію, зв'язок і функції нейронів, що робить їх важливими для правильного розвитку нервової системи. Порушення регуляції нейротрофінів або їх рецепторів на критичних етапах розвитку призводить до порушень нейророзвитку, які виникають через порушення здатності нейронів до виживання, проліферації, диференціації, синаптичної функції, зв'язності та пластичності [101].

Для повноцінного функціонування нейронів необхідна дія низки нейротрофічних факторів, зокрема: гліального нейротрофічного фактора, трансформуючого фактора росту, фактора росту фібробластів, фактора росту нервів, а також нейротрофінів-3 і -4. Антиоксидантна та судинна терапія, а також заходи, спрямовані на подолання ішемії та гіпоксії, відіграють важливу роль у профілактиці та лікуванні глаукоматозної оптичної нейропатії при первинній відкритокутовій глаукомі [16, 19].

Wang et al. 2006 дослідили вплив гіпоксії на експресію ендогенного нейротрофіну-3 (NT-3) в нейронах гіпокампа, культивованих *in vitro*, та захисну дію екзогенного NT-3 проти апоптозу нейронів, спричиненого простою гіпоксією. Результати: 1) Після гіпоксії індекс апоптичного мічення нейронів гіпокампа зростає з 15,2% до 56,4% від контрольного рівня, а експресія ендогенного NT-3 знижується до 71% від контрольного рівня. 2) Трансдукція рекомбінантного аденовірусу до гіпоксії може підвищувати рівень експресії NT-3 після гіпоксії до 1,88 разів порівняно з контролем, а трансдукція

рекомбінантного аденовірусу після гіпоксії може підвищувати рівень експресії NT-3 до 1,42 разів порівняно з контролем, при цьому рівень експресії антиапоптичних білків (Bcl-2) підвищувався до 1,69 разів та 1,32 разів порівняно з контролем, а індекс апоптотичного мічення клітин знижувався до 32,8% та 45,4% відповідно.

Існує достовірний позитивний зв'язок між рівнями експресії NT-3 і Bcl-2 в нейронах гіпокампа, але виявлено достовірний негативний зв'язок між експресією цих двох білків та індексом апоптотичного мічення клітин. Проста гіпоксія може пригнічувати експресію NT-3 в нейронах гіпокампа, культивованих *in vitro*, екзогенний NT-3, трансформований аденовірусом, може захищати пошкоджені гіпоксією нейрони гіпокампа від апоптозу, тоді як захисний ефект може частково доповнюватися індукцією експресії Bcl-2 [101].

В дослідженні Zhang et al. 2014 показано, що p75 (NTR) високо експресується в мембранах ретинальних пігментних епітеліальних (РПЕ) клітин людини. Для дослідження *in vitro* піддавали гіпоксії, а нокдаун p75 (NTR) досягався за допомогою РНК-інтерференції, опосередкованої лентивірусом. Результати показали, що гіпоксія індукує експресію p75 (NTR) в РПЕ, а нокдаун p75 (NTR) рятує проліферативну активність РПЕ та інгібує апоптоз, індукований гіпоксією. Ці результати свідчать про те, що нокдаун p75 (NTR) пригнічує проангіогенні фактори, індуковані гіпоксією, і водночас стимулює антиангіогенні фактори в РПЕ. Вказано, що p75 (NTR) може бути потенційною терапевтичною мішенню для лікування гіпоксії та оксидативного стресу при захворюваннях, пов'язаних з гіпоксією та оксидативним стресом в РПЕ [102].

1.5. Діабетична ретинопатія та нейротрофічний фактор мозку, молекулярні основи та потенціал клінічного застосування

Нейротрофічний фактор головного мозку (BDNF) - це нейротрофін, який визначає проліферацію і виживання холінергічних, серотонінергічних і

дофамінергічних нейронів. Його дефіцит знижує пластичність нейронів і погіршує когнітивні функції. BDNF виявляється у великих кількостях у гіпокампі, корі головного мозку, базальних відділах переднього мозку, а також на фібробластах, астроцитах, нейронах різних типів і локалізації, шваннівських клітинах і гладком'язових клітинах. Показано, що BDNF і його рецептори також експресуються в ненейронних тканинах і різних типах клітин (серце, атеросклеротичні судини, макрофаги, лімфоцити, тромбоцити, ендотеліальні клітини, клітини гладких м'язів судин), що визначає роль BDNF в серцево-судинній системі [103].

Нейрони мають високі енергетичні потреби, що вимагає безперервного надходження глюкози з крові. Суворі регуляція метаболізму глюкози у відповідь на подразники має важливе значення для фізіології мозку. Метаболізм глюкози та мозковий кровотік тісно скоординовані під час активності нейронів для підтримання належної роботи мозку. Представлені дані та механізми демонструють здатність BDNF-TrkB стимулювати поглинання глюкози у відповідь на підвищену потребу в енергії шляхом збільшення експресії нейронних транспортерів глюкози (GLUTs) та NO-опосередкованої вазодилатації через сигнальний шлях IGF-1/естрадіол/PI3K/Akt. Коротше кажучи, високочастотна активність нейронів індукує секрецію BDNF, присутність якого підсилює цей важливий шлях. DHA через гетеро-димери PPAR α -RXR α і PPAR γ -RXR α бере участь у критичній регуляції активації BDNF. Як переважний ліганд PPARs і RXR, DHA відіграє важливу роль в експресії генів CREB і CPE, бере участь у регуляції та експресії tPA, а також в інгібуванні PAI-1. BDNF посилює сигнальний шлях IGF-1/естрадіол/PI3K/Akt, а DHA посилює дію BDNF [104].

На додаток до ефективності мозкового нейротрофічного фактора при неврологічних розладах, було виявлено, що BDNF демонструє ендокринологічні функції і знижує споживання їжі та концентрацію глюкози в крові у моделях гризунів з ожирінням, таких як миші C57BL/KsJ-db/db, що страждають на діабет [105]. Гіпоглікемічний ефект BDNF виявився сильнішим

у молодих мишей db/db з гіперінсулінемією, ніж у старих мишей. Хоча сам по собі BDNF не змінював рівень глюкози в крові у нормальних мишей і мишей, оброблених стрептозотоцином (STZ), BDNF посилював гіпоглікемічну дію інсуліну у мишей, оброблених STZ. Ці дані вказують на те, що BDNF потребує ендогенного або екзогенного інсуліну для прояву гіпоглікемічної дії. Крім того, лікування BDNF підвищувало енерговитрати у мишей лінії db/db. Ефективність BDNF у регулюванні метаболізму глюкози та енергії була відтворена при внутрішньомозковому введенні, що дозволяє припустити, що BDNF діє безпосередньо на гіпоталамус, вегетативний центр головного мозку. Детальні дослідження показали, що BDNF посилює дію інсуліну на інсулінодефіцитних мишей, які отримували лікування STZ при одночасному введенні. Крім того, було продемонстровано, що BDNF нормалізує змінені витрати енергії у мишей db/db. Цікаво, що такі ефекти BDNF, введеного периферично, були відтворені при інтрацеребровентрикулярному введенні, що дозволяє припустити, що гіпоталамус є мішенню, через яку BDNF регулює метаболізм глюкози. Отже, існуючі дані свідчать про те, що може існувати тісний зв'язок між віссю BDNF/Trk-B і продуктами метаболізму в печінці та фізичною активністю [106].

Щоб проаналізувати вплив BDNF на витрати енергії, вимірювали споживання кисню у мишей db/db за допомогою системи вимірювання метаболізму O_2/CO_2 . У мишей db/db, які отримували препарат, споживання кисню було нижчим, ніж у мишей db/db, яких годували *ad libitum*. На противагу цьому, миші лінії db/db, яким вводили BDNF, демонстрували значно вищий рівень споживання кисню, ніж тварини, яких годували в парі. Відповідно до цих результатів, швидкість виділення CO_2 у мишей db/db, які отримували BDNF, була вищою, ніж у тварин, яких годували в парі [107]. Крім того, не було ніякої різниці між локомоторною активністю мишей db/db, які отримували BDNF, і тварин, яких годували в парі. Ці результати переконливо свідчать про те, що BDNF посилює витрату надлишкової енергії та нормалізує діабетичний метаболізм у db/db мишей.

Дослідження Grzelak N, et al. 2023 показали, що у щурів, позбавлених гена BDNF, спостерігалось значне зниження вмісту BDNF/Trk-B в печінці. Це зниження супроводжувалося зниженням рівня ліпідів, таких як холестерин (CHOL) і ліпопротеїни низької щільності (LDL), і одночасним підвищенням рівня ТГ. Крім того, спостерігалось зниження активності двох печінкових ферментів - аланінамінотрансфераза (ALAT), і гамма-глутамілтрансфераза (GGT). Ці зміни в ліпідному обміні та активності ферментів сприяли збільшенню ожиріння, про що свідчить збільшення маси печінки та маси тіла щурів. Ці результати свідчать про те, що зниження сигналізації BDNF/Trk-B сприяє змінам у ліпідному обміні, які призводять до стеатозу печінки та ожиріння, що є симптомами метаболічного синдрому. Помірні тренування на витривалість викликали підвищення активності печінкових ALAT і аспартатамінотрансферази (ASAT) у нокаутних щурів, що свідчить про покращення ефективності метаболічних шляхів у печінці. Крім того, у тренуваних тварин з нокаутним генотипом BDNF було продемонстровано значне підвищення рівня печінкового IL-6, що свідчить про те, що ініціація регенерації печінки опосередкована IL-6, який продукується при скороченні скелетних м'язів. Не можна виключити, що він відповідає за підвищення ефективності метаболічних шляхів шляхом підвищення активності ALAT і ASAT. З іншого боку, вплив вправ на витривалість на концентрацію лептину (LEPT) та інсуліну (INS), а також активність LDH не залежала від конкретного генотипу BDNF [106].

Порушення інсулінової сигналізації впливає на енергетичний метаболізм [108]. Порушення енергетичного обміну в скелетних м'язах та печінковій тканині впливає на вивільнення міокінів та гепатокінів відповідно, які мають вирішальне значення для підтримки енергетичного гомеостазу всього організму [109]. З іншого боку, посилений енергетичний метаболізм при лікуванні *Annona muricata* (AM, гравіола) сприяє збільшенню печінкового FGF21 та м'язового FGF21, CTSB, BDNF та іризину. Відомо, що ці гепатокіни/міокіни посилюють нейрогенез гіпокампа шляхом проходження через гематоенцефалічний бар'єр

(ГЕБ) [110-112]. У плазмі крові додавання АМ у високих дозах регулювало рівні ендокринних факторів, включаючи FGF21, CTSB, іризин та BDNF у мишей з ЦД2. Це свідчить про те, що підвищення рівня гепатокінів/міокінів за допомогою добавок АМЕ може потенційно сприяти функціонуванню нейронів. Крім того, активована PGC1 α в скелетних м'язах призводить до біосинтезу KYN-аміотрансферази (КАТ), ферменту, який перетворює нейротоксичну KYN в нейропротекторну кінуренову кислоту (KYNA), тим самим пригнічуючи накопичення токсинів в мозку [113, 114].

У мишей з цукровим діабетом 2 типу рівень білків гіпокампа BDNF та CTSB був знижений. BDNF є одним з модуляторів нейротрансмітерів, який захищає нейрони та покращує функцію ЦНС [115]. Зниження рівня BDNF у гіпокампі тісно корелює з когнітивними порушеннями при цукровому діабеті [116]. Введення BDNF покращувало витрати енергії в гіпоталамусі мишей лінії db/db [117, 118].

Фактори росту вивільняються гліальними клітинами, включаючи мікроглію та макроглію, такими як астроцити сітківки та клітини Мюллера. Клітини Мюллера вивільняють VEGF, PEDF, трансформуючий фактор росту β (TGF β), BDNF та NGF [19]. При багатьох захворюваннях сітківки вивільнення цих факторів росту знижується, що підтверджує гіпотезу про те, що відновлення цих факторів до нормального рівня підвищить виживання нейронів. Деякі трофічні фактори, такі як BDNF, є критично важливими для синаптичної пластичності, тобто посилення синаптичної передачі після активації нейронів (довготривале потенціювання) [119]. Таким чином, BDNF може посилювати синаптичну міцність, що може бути корисним для функціонування нейронів. Відомо, що в оці присутні різні нейротрофічні фактори, які мають захисний або відновлювальний ефект при механічних пошкодженнях, токсичних факторах навколишнього середовища або спадкових захворюваннях. Простий надріз очного яблука викликає підвищення рівня основного фактора росту фібробластів (FGF 2), BDNF і циліарного нейротрофічного фактора (CNTF) в локалізованій області, що захищає сітківку

від дегенерації внаслідок пошкодження світлом або спадкових захворювань сітківки. Крім того, нейротрофічні фактори, такі як CNTF, BDNF, FGF 2 та інтерлейкін 1 α , були введені в око безпосередньо або через вірусний вектор, або інкапсульовані в системи біозмінених клітин в якості лікування дегенеративних захворювань сітківки [120, 121]. У дорослому організмі BDNF відіграє нейропротективну роль. Пік його концентрації в головному мозку припадає на молоді роки, а відносно постійний рівень відмічають у зрілому віці. Цікавий той факт, що збільшення рівня BDNF співпадає з періодом, коли лобні частки дозрівають структурно і функціонально. У зрілому віці нейротрофічні фактори захищають нейрональні структури від травматичного, гіпоксичного та інших пошкоджень [103].

Дані вказують на те, що рання клітинна загибель є важливим процесом у нейрогенезі ГКС і регулюється локально виробленим BDNF [122]. BDNF широко розповсюджений у мозку, локалізований, зокрема, в гіпокампі, префронтальній корі, мигдалині та вентральній тегментальній області [123]. Дійсно, було виявлено підвищену експресію BDNF у багатьох ділянках мозку, що супроводжується покращенням когнітивних функцій, завдяки впливу добровільних аеробних вправ та інтервального голодування [124-126]. BDNF, що належить до класичного сімейства нейротрофінів, синтезується у формі препро-нейротрофіну, який перетворюється на про-BDNF, а потім трансформується у зрілий BDNF за допомогою активатора плазміногену [124].

Основним джерелом молекул BDNF у сироватці крові є тромбоцити, що зв'язують, депонують та вивільняють BDNF у відповідь на зовнішні стимули. Було підтверджено [127] можливість проникнення нейротрофічних факторів через гематоенцефалічний бар'єр. ГЕБ є проникним для BDNF, що спричиняє периферичні та центральні ефекти, часто через активацію генів, що кодують регуляторні білки енергетичного метаболізму клітин, мітохондріального біогенезу, синаптичної пластичності та виживання клітин [125]. Таким чином, BDNF бере активну участь у розвитку, підтримці та пластичності нервової системи. BDNF проявляє значну синаптичну активність. Змінюючи кінетику

активації рецепторів N-метил-D-аспарагінової кислоти (NMDA) та збільшуючи стикування і злиття везикул, BDNF може сприяти синаптичній передачі, запускаючи LTP та адаптивну трансформацію нейронних ланцюгів [126]. Також було показано, що BDNF сприяє дендритному спіногенезу в нейронах CA1 гіпокампу, посилюючи структурну пластичність дендритів у зубчастій звивині [128].

1.6. BDNF в сітківці при міопії, діабетичній ретинопатії

Ендогенні нейропротектори та нейротрофіни, такі як мозковий нейротрофічний фактор (BDNF) та фактор росту нервів (NGF), є потенційними нейропротекторними факторами при ДР [129]. Внесок нейротрофічних факторів і VEGF у діабетичну дегенерацію РГК є суперечливим [130], оскільки нейропротекція BDNF у сітківці є концентраційно залежною. Неадекватна кількість BDNF сприяє нейроретинальному апоптозу та дегенерації [20].

Зокрема, дослідження показали, що BDNF запобігає апоптозу в нейронних клітинах, пригнічуючи вироблення проапоптичних білків, таких як BAX і BAD, і активуючи вироблення антиапоптичних білків (BCL-2) та інгібіторів каспаз; крім того, BDNF підвищує рівень антиоксидантних ферментів і захищає нейрони від окислювального пошкодження ДНК за допомогою механізмів, що включають посилену репарацію ДНК [131]. Також повідомлялося, що BDNF відповідає за ріст нейронів і синаптогенез, сприяючи як збудливій, так і гальмівній нейротрансмісії через активацію p21 Ras, і відіграє важливу роль у створенні архітектури нейронних ланцюгів, включаючи ланцюги, що регулюють енергетичний гомеостаз [132]. Крім того, було виявлено, що BDNF бере участь у регуляції циркадних поведінкових та нейроендокринних патернів. Також, було показано, що BDNF підвищує регуляцію PGC-1 α , стимулятора мітохондріального біогенезу; і навпаки, PGC-1 α збільшує експресію BDNF, таким чином забезпечуючи двонаправлений механізм позитивного зворотнього зв'язку [133, 128].

Як відомо, BDNF є ключовим медіатором гомеостазу сітківки, що бере участь у послабленні загибелі клітин сітківки, індукованої гіпоксією [134], у захисті внутрішнього шару сітківки в процесі старіння [135, 136], у виживанні ГКС в експериментальних моделях глаукоми [137, 138, 139, 140, 141], а також у збереженні функції мітохондрій під час дегенерації фоторецепторів сітківки [136]. Зокрема, в цих клітинах дефіцит BDNF асоціюється зі збільшенням кількості LC3-опосередкованих автофагосомних утворень [136], що сприяє посиленню автофагії сітківки [142].

BDNF в сітківці при міопії

Міопія - одна з найпоширеніших форм порушення рефракції. Найчастіше короткозорість проявляється як відносне подовження осі ока, що призводить до стану, коли світло проектується перед сітківкою після заломлення заломлюючою системою очного яблука. На сьогоднішній день специфічний патогенез короткозорості все ще недостатньо добре пояснений, за результатами експериментів на тваринах дослідники запропонували різні можливі сценарії, але всі вони базуються на тваринних моделях, і все ще може існувати певний розрив з механізмом виникнення міопії у людини. Найбільш доступною для клінічної роботи є водяниста волога, отримана під час операції з видалення катаракти у пацієнтів з міопією [143, 144].

У дослідженні Wang X et al. 2021 було виявлено, що рівень BDNF у зразках камерної вологи пацієнтів з міопією був достовірно нижчим, ніж у контрольній групі ($p = 0,043$). Середні значення BDNF у зразках становили $1,42 \pm 0,80$ пг/мл у групі з аксіальною довжиною (AL) > 26 мм порівняно з $1,88 \pm 1,02$ пг/мл у групі з AL < 25 мм. Крім того, було виявлено негативну кореляцію між рівнем BDNF та AL ($p = 0,040$, $r = -0,246$) [143].

Зниження рівня BDNF було виявлено в сироватці крові, а також у зразках гіпокампу та кори головного мозку пацієнтів з хворобою Паркінсона (PD) та хворобою Альцгеймера (AD) [145, 146]. Також було виявлено зниження BDNF в оці пацієнтів з високою міопією, що продемонструвало зв'язок між міопією та

нейродегенеративними захворюваннями. Механізми впливу цих факторів на прогресування міопії ще потребують з'ясування [143].

BDNF є нейропротекторним агентом, який бере участь в організації та розвитку нейронів під час активно-залежної конкуренції, його присутність у сітківці змінюється під час депривації [147, 148]. Оскільки депривація є основною парадигмою для створення експериментальної короткозорості, нейротрофічний фактор головного мозку представляє інтерес як потенційний генетичний маркер короткозорості [149].

BDNF в сітківці при ДР

Вперше описана як виключно мікросудинне захворювання, діабетична ретинопатія (ДР) сьогодні є добре відомим патологічним станом, при якому судинні зміни тісно пов'язані з нейрональною дегенерацією та мітохондріальним пошкодженням клітин сітківки, індукованим хронічним запаленням [120]. У зв'язку з цим нейропротекторний нейротрофічний фактор головного мозку нещодавно став потенційною мішенню в патогенезі захворювань сітківки завдяки його сприятливому впливу на нейронні шари сітківки [21]. Дійсно, його дисрегуляція була виявлена в доклінічних і клінічних дослідженнях, що свідчить про зниження рівня BDNF у щурячій моделі ранньої нейропатії сітківки, індукованої діабетом [22], а також у сироватці крові та водянистій волозі пацієнтів з діабетом до появи клінічних ознак ДР [23]. Таким чином, підвищення рівня BDNF може бути терапевтичним варіантом лікування ДР шляхом відновлення правильної аутофагічної відповіді в сітківці, що призводить до безпеки клітин сітківки через відновлення Snx43. Бета-гідроксибутират (ВНБ), про який раніше повідомлялося як про захисний агент при ДР, був пов'язаний зі стимуляцією BDNF.

Цікаво, що у дослідженні Trotta MC, et al. 2022 системне введення ВНБ діабетичним мишам майже відновило рівень BDNF до рівня недіабетичних мишей [142]. Це відповідає підвищеному рівню BDNF у плазмі крові пацієнтів з гіперглікемією, які приймали ВНБ [150]. Окрім підвищення рівня BDNF, ми також виявили індуковану ВНБ активність BDNF у діабетичній сітківці.

Зокрема, згідно з попередніми дослідженнями [151, 152], BDNF здатний підвищувати рівень P13K, ферменту, який індукується після активації BDNF і бере участь у регуляції нейронної пластичності, стресостійкості та виживанні клітин [153].

РОЗДІЛ 2.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експериментальні дослідження проводилися на лабораторних щурах віком від 2 до 10 тижнів загальною кількістю 205 тварин. Тварини містилися в умовах віварію, отримували їжу та питну воду *ad libitum*. Експеримент був здійснено згідно з "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах", які схвалені 3-м Національним конгресом (Київ, 2007) та положеннями "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших цілей" (Страсбург, 1986).

Щурам було проведено моделювання осьової міопії, стрептозотоцинового діабету та послідовного моделювання міопії з діабетом. В цій групі у щурів спочатку моделювали міопію, а на її тлі – діабет. Всім тваринам до моделювання і в динаміці формування моделей проводили ультразвукове сканування переднього відділу ока (з визначенням передньо–заднього розміру ока (ПЗР), глибини передньої камери), пахіметрії, апланаційного вимірювання внутрішньоочного тиску, визначення глюкози крові, гістологічні дослідження сітківки, електронно-мікроскопічні дослідження ультраструктури сітківки, біохімічні дослідження метаболітів в сітківці та крові.

2.1. Моделювання осьової деприваційної міопії у щурів.

В першій серії експерименту досліджували деякі параметри органа зору при моделюванні деприваційної міопії у щурів в різних умовах освітлення. Перша група – інтактні тварини (10 тварин). У тварин другої групи

деприваційну міопію викликали по Beuerman R.W. et al. (2010) шляхом блефарорафії обох очей – процедура, під час якої хірург з'єднує верхню і нижню повіки разом, щоб частково або повністю прикрити око (15 тварин) [154]. У третій групі (15 тварин) щури також піддавалися блефарорафії, але на відміну від 2-ї групи, вони містилися протягом 14 днів в умовах зниженого освітлення [25]. Тварини 1-ї і 2-ї груп містилися цей же період в умовах природного освітлення. Після закінчення цього терміну знімали шви з повік.

У всіх тварин після зняття швів з повік були проведені ультразвукові дослідження, вимірювання внутрішньоочного тиску (ВОТ) за допомогою тонометру Маклакова та товщини рогівки (пахіметрія). У щурів ВОТ вимірювали апланатичним тонометром Маклакова з використанням плунжера вагою 2 грами з діаметром майданчика 4 мм під місцевою анестезією.

Дослідження товщини рогівки експериментальних тварин проводили за допомогою пахіметра «Handy Pachymetr SP-100» (Японія). Дані виражали в мкм.

Ультразвукове дослідження очей щурів здійснювалося на приладі «Cinescan» фірми Quantel Medical із застосуванням секторного механічного короткофокусного (фокусна відстань 11–13 мм) В – зонда для переднього відділу ока. Ультразвукове сканування переднього відділу ока проводили високочастотним короткофокусним датчиком частотою 20 МГц. На рогівку очей щурят інстилювали місцевий анестетик. На відкрите око накладався стовпчик ультразвукового гелю висотою до 10 мм. За рахунок застосування гелю фокус зонда вдавалося помістити в центр ока щура всередині великого кришталика. На аксиальній В – сканограмі була контурована рогівка (передній і задній контур), передня камера, передня і задня капсули кришталика і вітреоретинальна межа. Позиціонування каліпер – міток на «замороженому» зображенні проводилося з кроком 0,1 мм зі швидкістю 1550 м/с. Довжина очного яблука вимірювалася уздовж передньо–задньої осі між переднім контуром рогівки і вітреоретинальною межею.

Через два тижні після зняття швів з повік всіх тварин виводили з експерименту під наркозом і енуклеювали очі.

Об'єктивним критерієм розвитку міопії служило подовження ПЗР, який вимірювали за допомогою ультразвуку (*in vivo*) та цифрового (Торех) штангенциркуля з точністю 0,02 мм (*post mortem*).

2.2. Моделювання осьової деприваційної міопії та стрептозотоцинового діабету у щурів.

На другому етапі дослідження моделювали міопію, після чого у тих же щурів індукували діабет. У 30 щурів двотижневого віку викликали осьову міопію підвищеного ступеню шляхом блефарорафії обох очей і утримування щурят на протязі 14 днів в умовах зниженого освітлення, що викликало у них розвиток більш інтенсивної міопізації очного яблука [25, 154]. Після закінчення цього терміну знімали шви з повік. Ще через 2 тижні у 15 щурів з викликаною осьовою міопією і у 15 інтактних щурів моделювали діабет 2 типу. Його викликали кратним внутрішньоочеревинним введенням субдіабетичних доз стрептозотоцину (STZ) (15,0 мг/кг маси) протягом 5 днів. Методом 5–кратного введення невеликих доз індуктора діабету стрептозотоцину у щурів була отримана картина помірної гіперглікемії. Крім того, тварини отримували підвищений вміст жирів в харчовому раціоні. Це дозволяє нам вважати, що був індукований діабет 2 типу [155, 156].

Контрольну групу складали 10 інтактних тварин, які утримувалися в цей же період в умовах природного освітлення. Таким чином, в другій серії експерименту було сформовано 4 експериментальні групи: 1-а з осьової міопією (n=15); 2-а з діабетом 2 типу (n=15); 3-я з міопією і діабетом 2 типу (n=15); 4-а - контрольна (інтактні тварини, n=10).

У всіх тварин (при моделюванні міопії – після зняття швів з повік) були проведені ультразвукові дослідження переднього відділу очного яблука з визначенням довжини ПЗР і глибини передньої камери. Для діагностики

розвитку діабету вимірювався рівень глюкози в крові. Вміст глюкози вимірювали за допомогою приладу ІМЕ–DC (Німеччина).

Стан сітківки оцінювали офтальмоскопічно і виражали за 4–х бальною системою: 0 – норма, судини сітчастої оболонки ока і їх наповнення в нормі; 1 бал (перша ступінь порушень) – помірно виражені зміни сітчастої оболонки ока, вени злегка розширені, артерії звужені; 2 бали (друга ступінь порушень) – виражені зміни сітчастої оболонки ока, вени розширені, артерії звужені в більшій мірі; 3 бали (третя ступінь порушень) – сильно виражені зміни сітчастої оболонки ока з розширеними венами і звуженням артерій, є ділянки з крововиливом.

Ультразвукове дослідження очей щурів здійснювалося на приладі «Cinescan» фірми Quantel Medical як описано вище.

В наступній серії експерименту з метою виявлення особливостей патогенетичних механізмів розвитку діабету 2 типу при супутній міопії досліджували метаболічні показники в крові і сітківці щурів зі стрептозотоциновим діабетом 2 типу і осьовою міопією. Було сформовано чотири групи: 1-а з осьовою міопією (n=15); 2-а з діабетом (n=15); 3-я з міопією і діабетом (n=15); 4-а – контрольна (інтактні тварини, n=10).

Протягом експерименту вимірювався рівень глюкози в крові за допомогою приладу ІМЕ–DC (Німеччина). Біосенсорний глюкометр ІМЕ–DC виробництва компанії ІМЕ–DC GmbH (Німеччина) призначений для визначення рівня глюкози в капілярній крові (діагностика *in vitro*). Критерієм розвитку діабету служило підвищення рівня глюкози вище 4,5 ммоль / л при виведеній груповій віковій (від 6 до 8 тижнів) нормі ($2,80 \pm 0,13$) ммоль/л.

Через 2 місяці всіх тварин виводили з експерименту під наркозом і енуклеювали очі. Для оцінки ступеня розвитку міопії після виведення тварин з експерименту і вилучення очного яблука *post mortem* вимірювали довжину ПЗР ока за допомогою цифрового штангенциркуля (Торех, точність вимірювання становить 0,02 мм).

2.3. Гістоморфологічні та електронно-мікроскопічні дослідження сітківки експериментальних тварин

Були проведені *гістоморфологічні* дослідження в тканинах очей щурів з дериваційною міопією, стрептозотоциновим діабетом та міопією при діабеті. Очі фіксувалися в нейтральному 10 % розчині формаліну і надалі оброблялися за стандартною гістологічною методикою з отриманням парафінових блоків. Формалін фіксується перехресними зв'язками, що утворюються в білках. Ці зшивки не впливають на структуру білків надмірно, тому антигенні ділянки залишаються доступними для імуногістохімії. Формалін добре проникає, але фіксується повільно – приблизно один мм на годину. Він майже не викликає усадки тканини, і після фіксації формаліном можна використовувати будь-який звичайний метод забарвлення [157]. Серійні зрізи забарвлювались гематоксилін–еозином і вивчалися на світловому мікроскопі з фото–реєстрацією. Всього вивчено 140 зрізів – по 20 зрізів від кожного ока (включаючи контроль). Оцінка морфологічних змін проводилася при малому і великих збільшеннях: 100х, 200х і 400х.

Для *електронно–мікроскопічного дослідження* тканини оброблялись по загальноприйнятій методиці. Шматочки тканин фіксувались в 2,5% розчині глютаральдегіду на фосфатному буфері при значенні рН – 7,4 з додатковою дофіксацією 1% розчином осмієвої кислоти при тому ж рН буферного розчину. Буферизація запобігає утворенню мурашиної кислоти, яка через тривалий час утворює в тканинах пігмент формол–гемін [157]. Потім зразки обезводнювались в спиртах висхідної концентрації. Просочення тканин та їх полімералізація проводились в суміші епоксидних смол епон–аралдит. Контрастування ультратонких зрізів відбувалось за методикою Reynolds [158]. Модифікація традиційного методу забарвлення ультратонких зрізів призвела до збільшення контрастності ультраструктурних деталей у тканинах [159]. Зразки тканин фотографували в електронному мікроскопі ПЕМ–100–01 та вивчали ультраструктуру нейросенсорних елементів сітківки.

2.4. Методи біохімічних досліджень

Біохімічні дослідження проводили в сітківці та в плазмі крові щурів. В плазмі крові та сітківці щурів визначали вміст лактату, пірувату, АТФ, АДФ, BDNF та загального білка, рівень фрагментованої ДНК визначали в сітківці, активність сукцинатдегідрогенази в мітохондріях сітківки.

Виділення мітохондрій проводили на холоді ($0 \pm 4^\circ\text{C}$). Тканину нарізали на дрібні шматочки та гомогенізували у скляному гомогенізаторі із тефлоновим поршнем в середовищі виділення, що містило 0,25 М сахарози, 10 мМ Трис HCl і 1 мМ етилендіамінтетраоцтової кислоти (ЕДТА) з рН 7,3. Цитозольні та мітохондріальні фракції розділяли диференціальним центрифугуванням (5 хв при 750 g і 10 хв при 10,000 g, двічі), отриманий осад мітохондрій суспендували в середовищі виділення. Перед аналізом до осаду мітохондрій, виділених з 1 г тканини добавляли 1 мл 0,1% розчину детергенту тритон X-100. Суспендували в скляному гомогенізаторі, залишаючи на 30 хв на льоду.

Принцип методу визначення *активності сукцинатдегідрогенази* полягає у відновленні фериціаніду калію, розчин якого має жовте забарвлення, до безбарвного фероціаніду калію сукцинатом під дією сукцинатдегідрогенази. Активність ферменту пропорційна кількості відновленого фериціаніду, яка визначалася при довжині хвилі 420 нм [160].

Хід визначення. У центрифужні пробірки вносили по 1 мл 0,1 М фосфатного буфера (рН 7,8) та по 0,1 мл розчинів бурштинової кислоти (0,1 М), ЕДТА (25 мМ), азиду натрію (150 мМ) та дистильованої води. До проб добавали 0,5 мл біологічного матеріалу та інкубували при кімнатній температурі протягом 5 хв для інгібування цитохромоксидази азидом натрію. Реакцію розпочинали додаванням 0,1 мл 25 мМ розчину фериціаніду калію. Проби інкубували протягом 15 хв при $+30^\circ\text{C}$.

Після інкубації реакцію зупиняли зануренням пробірок у крижану воду і додаванням по 2 мл 20% трихлороцтової кислоти. У контрольні пробірки, що

містять усі компоненти інкубаційної суміші, трихлороцтова кислота додавалася перед додаванням біологічного матеріалу.

Після зупинки реакції та охолодження пробірки центрифугували при 2000 об за хв протягом 15 хв для осадження денатурованого білка. Надосадову рідину фотометрували в 1-см на спектрофотометрі Спекол-210 (Німеччина) при 420 нм. Активність мітохондріальної сукцинатдегідрогенази виражали в нкат/г тканини.

Вміст ретинальних АТФ, АДФ, лактату та пірувату визначали в надосадовій рідині після отримання мітохондрій.

Принцип методу визначення *лактату*. При окисленні одного моля лактату речовини під дією ферменту лактатдегідрогенази відновлюється 1 моль НАД з максимумом поглинання при довжині хвилі 340 нм. За збільшенням оптичної щільності розчину, пов'язаного з утворенням НАДН, визначали вміст лактату [161].

Хід виконання. В кювету послідовно вносили 0,45 мл гліцин-гідразинового буферу (0,4 М гідразину, 1 М гліцину, рН 9,5), потім додавали 0,1 мл нейтралізованої надосадової рідини і 0,02 мл 50 мМ розчину НАД. Перемішували вміст кювети і через 5 хв вимірювали оптичну щільність (Е1). Потім вносили 0,01 мл суспензію лактатдегідрогенази (50,0 мкг/мл), перемішували і вимірювали оптичну щільність реакційного розчину після закінчення її зміни (Е2). В контрольній кюветі надосадову рідину змінювали на відповідний об'єм дистильованої води.

Вимірювання оптичної щільності досліджуваних розчинів проводили на спектрофотометрі “Spekol – 210” (Німеччина) в 1см кюветі при температурі +37,0°C і довжині хвилі 340 нм. Вміст лактату виражали в ммоль/г тканини та в ммоль/л плазми крові.

Принцип методу визначення пірувату наступний. При окисленні одного моля пірувата під дією ферменту лактатдегідрогенази окислюється 1 моль НАДН з максимумом поглинання при довжині хвилі 340 нм. За зменшення оптичної щільності розчину, пов'язаного з утворенням НАД, визначали вміст

пірува Хід виконання. В кювету послідовно вносили 0,6 мл 0,5 М триетаноламінового буферу (рН 7,6), що містить 5 мМ ЕДТА, потім додавали 0,2 мл нейтралізованої надосадової рідини і 0,02 мл 6 мМ розчину НАДН.

Перемішували вміст кювети і через 5 хв вимірювали оптичну щільність (Е1). Потім вносили 0,01 мл суспензію лактатдегідрогенази (5,0 мкг/мл), перемішували і вимірювали оптичну щільність реакційного розчину після закінчення її зміни (Е2). В контрольній кюветі надосадову рідину змінювали на відповідний об'єм дистильованої води.

Вимірювання оптичної щільності досліджуваних розчинів проводили на спектрофотометрі “Spekol – 210” (Німеччина) в 1см кюветі при температурі 37,0°С і довжині хвилі 340 нм. Вміст пірувату виражали в ммоль/г тканини та в ммоль/л плазми крові.ту [162].

Принцип методу визначення вмісту АТФ полягає в тому, що при взаємодії гліцерат-3-фосфату з АТФ за участю ферменту фосфогліцераткінази утворюється гліцерат-1,3-фосфат, який відновлюється НАДН у гліцеральдегідфосфатдегідрогеназній реакції. Зміна оптичної густини розчину при довжині хвилі 340 нм пропорційна вмісту АТФ.

Хід виконання. Для визначення вмісту АТФ в кювету послідовно вносили 0,2 мл 0,5 М триетаноламінового буферу (рН 7,6), що містить сульфат магнію (4 ммоль/л) і гліцерат-3-фосфат (6 ммоль/л), 0,2 мл 2,5 мМ розчину НАДН та 0,2 мл депротейнізованої і нейтралізованої надосадової рідини. Перемішували вміст кювети і вимірювали оптичну щільність (Е1). Потім додавали 0,02 мл суспензії ферментів гліцеральдегідфосфатдегідрогенази (350 Од/мл), фосфогліцераткінази (450 Од/мл). Перемішували, після закінчення зміни оптичної щільності в розчині (Е2) отримані результати використовували для подальших обчислень. В контрольній кюветі депротейнізовану надосадову рідину замінювали на відповідний об'єм дистильованої води.

Вимірювання оптичної щільності досліджуваного розчину проводили на спектрофотометрі “Spekol-210” (Німеччина) в 1 см кюветі при температурі

+37,0°C і довжині хвилі 340 нм. Вміст АТФ виражали в мкмоль/г тканини та в нмоль/л плазми крові.

Принцип методу визначення вмісту АДФ ґрунтується на вимірюванні зменшення оптичної щільності розчину при довжині хвилі 340 нм при ферментативному відновленні пірувату, який утворюється при взаємодії АДФ з фосфоенолпіруватом за участю піруваткінази [163].

Хід виконання. В кювету послідовно вносили 0,2 мл депротейнізованої і нейтралізованої надосадової рідини, 0,2 мл розчину, що містить фосфоенолпіруват (0,94 мМ), хлорид калію (0,12 мМ) і сульфат магнію (33,8 мМ), 0,2 мл розчину НАДН (0,32 мМ) і суспензію лактатдегідрогенази (44,6 мкг/мл) об'ємом 0,02мл. Перемішували вміст кювети і після 5 хвилин вимірювали оптичну щільність реакційного розчину (E1).

Вносили 0,02 мл суспензії піруваткінази (8,85 мкг/мл), перемішували і вимірювали оптичну щільність реакційного розчину після закінчення її зміни (E2). В контрольній кюветі супернатант замінювали на відповідний об'єм дистильованої води.

Вимірювання оптичної щільності досліджуваних розчинів проводили на спектрофотометрі "Spekol – 210" (Німеччина) в 1см кюветі при температурі +37,0°C і довжині хвилі 340 нм. Вміст АДФ виражали в мкмоль/г тканини та в нмоль/л плазми крові.

Принцип методу визначення загального білка базується на здатності мідних похідних білка відновлювати реактив Фоліна з утворенням забарвлених продуктів реакції. Інтенсивність забарвлення пропорційна вмісту білка в розчині та визначалась при довжині хвилі 740 нм [164].

Хід визначення. У кювету доливають 0,1 мл дослідної проби та 0,75 мл робочого розчину, який приготували з 50 мл 2% розчину карбонату натрію, розчиненого в 1% розчині гідроксиду натрію та 1 мл 0,5% розчині сульфату міді у 1% розчині цитрату натрію. Ретельно перемішували, через 10 хв додавали 0,15 мл реактиву Фоліна (попередньо розведеного в 4 рази) з наступним

струшуванням. Через 3 хв додавали 0,1 мл 20 мМ розчину DL-дитіотреїтолу та знову струшували. Розчин інкубували протягом 30 хв.

Оптичну щільність вимірювали на спектроколориметрі "Спекал - 210" при довжині хвилі 750 нм. Отримані дані використовували для розрахунку вмісту BDNF в пг на мг білка.

Нами для визначення *ступеню апоптозу* був використаний чутливий дифеніламіновий метод спектрофотометричного визначення рівня низькомолекулярних фрагментів ДНК в сітківці дослідних щурів [165, 166].

Венозну кров відбирали у пробірки з попередньо внесеним антикоагулянтом - 1% розчин гепарину об'ємом 0,05 мл. Гепаризовану венозну кров нашаровували на розчин фікол-верографіну (щільність 1,077 г/см³) у співвідношенні 1: 3 (фікол : кров). Центрифугували протягом 45 хв при 400 g та збирали інтерфаз не кільце в пробірку, промивали тричі середовищем 199 при центрифугуванні 10 хв при 200 g. Суспензію лейкоцитів використовували для визначення рівня фрагментованої ДНК.

Тканину гомогенізували в сахарозному середовищі виділення (0,25 М сахарози, 1 мМ ЕДТА, рН = 7,4) при температурі 0- +4° С. Після центрифугування гомогенату надосадову рідину з ДНК некротичних клітин відкидали. До осаду ядер додавали лізис-буфер (5 мМ Tris-HCl, 20 мМ ЕДТА, рН = 8, 0,5% Triton X-100) у співвідношенні 1: 9 (об'єм:об'єм).

Далі отримані проби центрифугували протягом 15 хв при 13000 g для відокремлення інтактного хроматину (осад) від фрагментованої ДНК (надосадова рідина). Після цього проби ресуспензували в 0,5мл буфері (10 мМ Tris-HCl, 1 мМ ЕДТА, рН = 8) і вносили 0,6 мл 12% розчину трихлороцтової кислоти при понижений температурі.

Далі проби центрифугували при 4000 g протягом 10 хв і надосадову рідину відкидали. До пробірок з осадом додавали по 0,3 мл 5% розчину трихлороцтової кислоти і проводили гідроліз на водяній бані при 90°С протягом 10 хв. Після чого проби центрифугували і відбирали депротейнізовану надосадову рідину. Після охолодження в пробірки з надосадовою рідиною

додавали дифеніламіновий реагент (100 мг дифеніламіна, 10 мл крижаної оцтової кислоти, 0,28 мл сірчаної кислоти) в об'ємному співвідношенні 1: 2 і проводили інкубацію протягом 17 год при температурі +30° С.

Інтенсивність забарвлення розчину прямо пропорційна вмісту ДНК в пробі. Оптичну щільність розчину вимірювали при довжині хвилі 570 нм проти контролю (дифеніламіновий реагент з додаванням 5% розчину трихлороцтової кислоти). Кількість фрагментованої ДНК розраховували у відсотках як відношення кількості екстрагованої ДНК до загальної кількості ДНК в пробі.

Вміст *BDNF* виначали імуноферментним методом, застосовуючи набір «BDNF, ELISA Kit» згідно з протоколом виробника. Технологія «BDNF, ELISA Kit» використовує антитіла, кон'юговані з афінною міткою, яка розпізнається моноклональним антитілом, що використовується для покриття наших планшетів SimpleStep ELISA. Цей підхід до ІФА дозволяє формувати сендвіч-комплекс антитіло–аналіт за один крок, що значно скорочує час аналізу.

2.5. Методи статистичного аналізу

Статистичні методи оцінки результатів досліджень (параметричні і непараметричні методи аналізу) з використанням статистичного програмного забезпечення JASP [167]. Для оцінки кількісних показників використовували середні величини (M) і стандартні похибки середніх (m). Для оцінки відмінностей між двома групами застосовано критерій Ст'юдента (t) для незалежних вибірок з попередньою оцінкою нормальності розподілу за допомогою критерію Колмогорова-Смирнова. При відсутності нормального розподілу застосовували непараметричні методи аналізу, а саме за критерієм Крускала-Уоліса і Мана-Уїтні. Дані ряду параметрів стану очного яблука статистично обробляли непараметричних методів аналізу. Біохімічні показники статистично обробляли з використанням t -критерію Ст'юдента. Вірогідним рівнем значення « p » вважали рівним або меншим за 0,05. Визначення взаємозв'язку між структурними змінами та рівнем метаболічних показників

проводили, використовуючи непараметричний метод кореляційного аналізу – рангової кореляція за Спірменом.

РОЗДІЛ 3.

ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ, СТРУКТУРНИХ ПАРАМЕТРІВ ОКА ПРИ МОДЕЛЮВАННІ У ЩУРІВ ДІАБЕТУ НА ТЛІ ОСЬОВОЇ МІОПІЇ

3.1. Формування у щурів моделей осьової деприваційної міопії, стрептозотоцинового діабету та їх поєднання

На початку експерименту було відтворено у експериментальних тварин раніше розроблені моделі хвороб людини, а саме осьової міопії високого ступеню та цукрового діабету, а також їх поєднання [24-28].

У щурів індукували діабет 5-ти кратним введенням субдіабетичних доз стрептозотоцину (15 мг/кг ваги). Формування діабету у тварин було підтверджено розвитком стійкої помірної гіперглікемії, що відповідало критеріям цукрового діабету другого типу (табл.3.1.). Підвищення рівню глюкози у периферичній крові спостерігали через 1 тиждень після завершення ін'єкцій стрептозотоцину.

Таблиця 3.1.

Зміна рівня глюкози в крові щурів в різних експериментальних групах

(в ммоль/л)

Статистичні показники	Контроль (n = 10)	Міопія (n = 15)	Діабет (n = 15)	Міопія+ діабет (n = 15)
M±m	2,78±0,14 100,0	2,93±0,15	4,95±0,32	5,05±0,20
%	-	105,4	178,1	181,6
p	-	>0,05	<0,001	<0,001
% ₁	-	100,0	168,9	172,4
p ₁	-	-	<0,001	<0,001
% ₂	-	-	100,0	102,0
p ₂	-	-	-	>0,05

Примітки: n - кількість очей; p - рівень вірогідності відмінностей даних по відношенню до контрольної групи; p₁ - рівень вірогідності відмінностей

даних по відношенню до групи тварин з міопією; p_2 - рівень вірогідності відмінностей даних по відношенню до групи тварин з діабетом

При моделюванні стрептозотоцинового діабету субдіабетичними дозами (відтворюючи по суті діабет другого типу) у щурів рівень глюкози підвищився на 78,1% ($p < 0,01$), складаючи $(4,95 \pm 0,32)$ ммоль/л при вихідному рівні $(2,78 \pm 0,14)$ ммоль/л [29].

Проведені офтальмоскопічні дослідження свідчать про формування на очному дні експериментальних тварин з моделлю діабету ознак діабетичної ретинопатії. У щурів були відзначені зміни судин сітчастої оболонки розширеними венами і звуженими артеріями з наявністю ділянок з крововиливом. В цій групі тварин були відсутні очі без будь-яких змін судин сітчастої оболонки.

Аксіальна міопія характеризується збільшенням подовження ПЗР. Починаючи з народження, очне яблуко активно збільшується в усіх напрямках, в результаті чого око набуває сферичної форми [95].

Міопію у щурів викликали шляхом депривації світла блефарорафією повік та утриманням тварин в умовах зниженого освітлення, формуючи у них осьову міопію високого ступеню [25].

Критеріями розвитку міопії у тварин слугували такі показники ока як передньо-задній розмір ока (ПЗР), глибина передньої камери, товщина рогівки. Ці критерії вивчали за допомогою методів ультразвукового дослідження та пахометрії. При відтворенні моделі міопії було підтверджено суттєве подовження сагітальної осі очного яблука. ПЗР у щурів цієї групи за даними ультразвуку було вище, ніж у контролі в середньому на 19,5%.

Наступним параметром ультразвукового дослідження, за яким також судили про міопізацію очного яблука, була глибина передньої камери. При міопії цей показник зазвичай відрізняється від норми, камера більш глибока. В нашому дослідженні цей показник у щурів з осьової міопії був збільшений на 14,9% ($p < 0,05$) відносно контрольних значень.

У тварин також спостерігали зміни товщини рогівки з $165,30 \pm 2,1$ мкм у контролі до $158,7 \pm 1,87$ мкм при формуванні міопії високого ступеню. Ця різниця показника між групами була статистично достовірною ($p < 0,05$).

В основній експериментальній групі щурів, яким діабет відтворювали на тлі міопії, вивчені клінічні показники ока відрізнялись від показників груп тільки з діабетом або тільки з міопією. При цьому рівень глюкози у щурів цієї групи (табл.3.1) був підвищений на 81,6% ($p < 0,001$) в порівнянні з даними контролю. В той же час різниця рівня гіперглікемії між групами «діабет» та «міопія з діабетом» була незначною.

У групі щурів, яким відтворювали діабет на тлі міопії, ПЗР очного яблука був збільшений на 22,1% ($p < 0,05$) відносно контрольної групи, різниця між групами «міопія + діабет» і «міопія» існувала, але в кількісному вираженні не була статистично вірогідною.

При зіставленні клінічного стану сітчастої оболонки щурів з моделлю «міопії і діабет» з відповідними показниками в групі тварин тільки з діабетом відзначали тенденцію до зміни клінічної картини очного дна тварин. Тяжкість порушень судин сітківки була меншою, у деяких тварин вони були слабо виражені.

3.2. Дослідження гістоморфологічних змін в тканинах органа зору щурів при деприваційній міопії та стрептозотоциновому діабеті

Отримані дані при моделюванні діабету, міопії та їх поєднанні поставили задачу необхідності досліджень особливостей структурних змін (на мікро- та ультраструктурному рівні) в очах експериментальних тварин та молекулярних механізмів впливу процесу міопізації на структурний і метаболічний стан сітківки при моделюванні діабету. Результати означених досліджень представлено в наступних підрозділах.

В даному підрозділі наведено дані щодо проведених досліджень структури нервових елементів сітківки у трьох експериментальних та

контрольній групі методом світлової мікроскопії [28]. Було вивчено гістологічні зразки сітківки у щурів з моделлю міопії, моделлю діабету та поєднаного моделювання міопії та діабету, а також в якості контрольного порівняння у здорових тварин. Вивчали щільність гангліозних, біполярних та фоторецепторних клітин сітківки в цих групах (рис.3.1-3.4).

Дані гістологічного дослідження сітківки у *контрольних щурів* відображають велику щільність нервових клітин (гангліозних, біполярних, фоторецепторних) в гісто-препаратах цієї групи (рис.3.1). У щурів цієї групи відзначається висока щільність (більше 20 - 25 у полі зору) гангліозних клітин. Шар біполярних нейронів і шар фоторецепторів також характеризуються великою щільністю клітин.

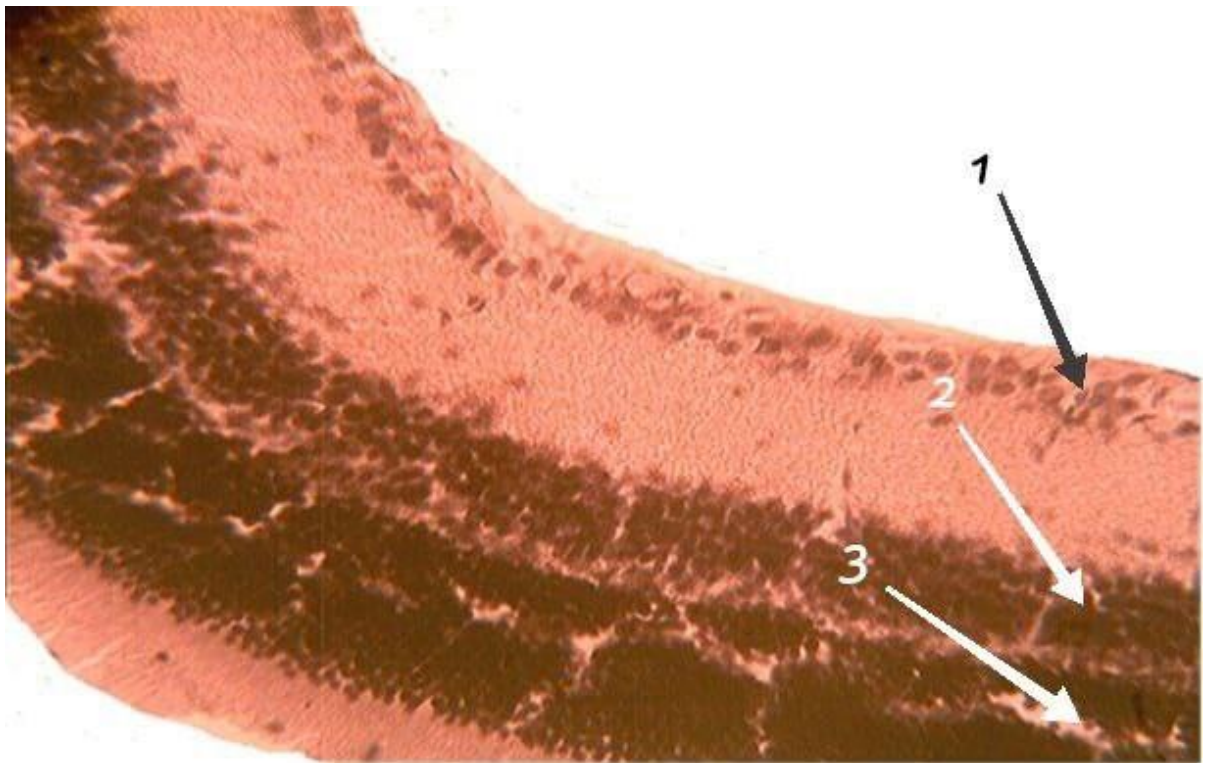


Рисунок 3.1 Фото гістограми сітківки *контрольного* щура. Збільшення 200х. 1 – шар гангліозних клітин; 2 – внутрішній ядерний шар; 3 – шар фоторецепторних клітин

Оцінюючи морфологічний стан нейронального апарату сітківки за даними гістограм встановлена різна ступень порушень в трьох експериментальних групах. При оцінюванні гісто-препаратів групи, в якій моделювали *осьову*

міопію (рис.3.2) встановлено, що в сітківці щурів з деприваційною міопією щільність нейронів гангліозного шару місцями наближалась до контрольної групи, але в цілому була декілька нижче (в межах від 15 до 20). У шарах біполярних і фоторецепторних клітин змін щільності нейронів не було відзначено.

В групі зі *стрептозотоциновим діабетом* спостерігали значну ступень порушень структури нейронів сітківки (рис.3.3). Особливо пошкодженими були клітини гангліозного шару. Відзначається нерівномірність розташування і невисока щільність (близько 10) гангліозних клітин у щура. Гістограма сітчастої оболонки характеризувалась не тільки низкою кількістю гангліозних клітин, але й нерівномірною щільністю нейронів гангліозного шару, місцями з наявністю ділянок випадіння ГК. При цьому щільність ГК в окремих ділянках становила менше 10 (оцінка проводилась при великому збільшенні).

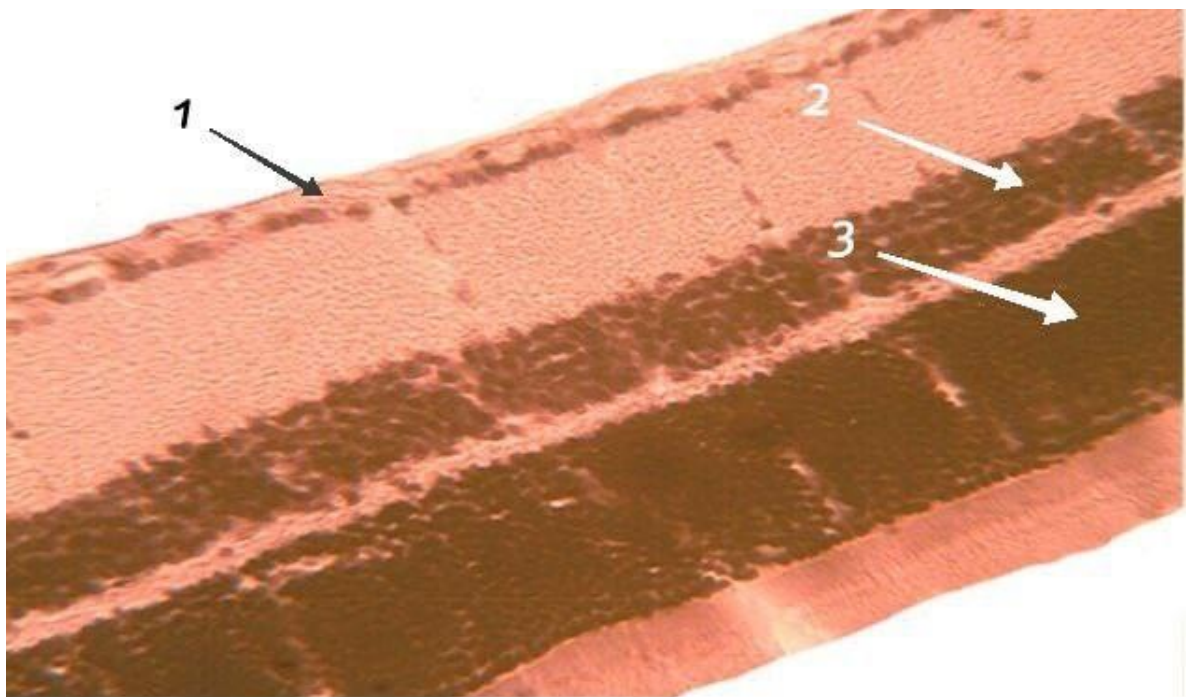


Рисунок 3.2. Фото гістограми сітківки з *деприваційною міопією*. Збільшення 200х. 1 – шар гангліозних клітин; 2 – внутрішній ядерний шар; 3 – шар фоторецепторних клітин.

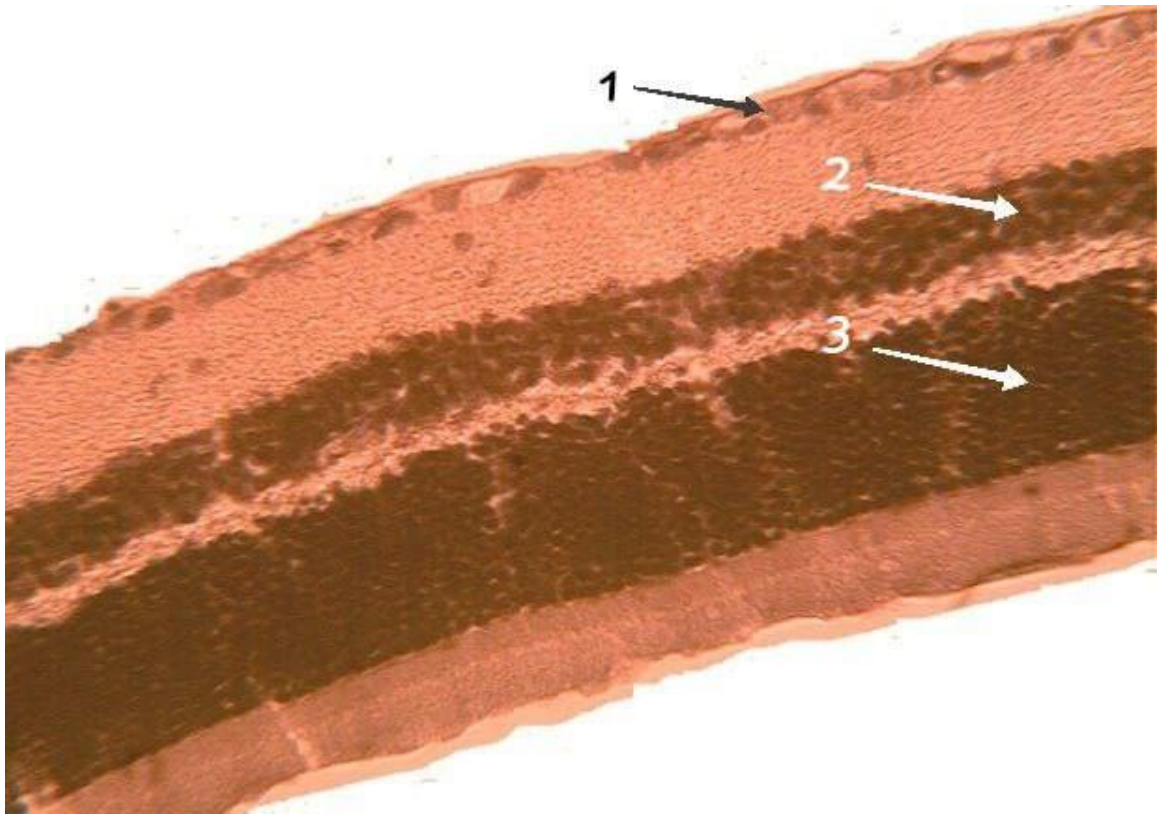


Рисунок 3.3 Фото гістограми сітківки *щура з діабетом*. Збільшення 200х.
1 – шар гангліозних клітин; 2 – внутрішній ядерний шар; 3 – шар фоторецепторних клітин.

У групі з моделюванням у щурів *стрептозотоцинового діабету на тлі осьової міопії* (рис. 3.4) виявлено, на відміну від групи тільки з діабетом, досить високу щільність нейронів в шарі гангліозних клітин сітчастої оболонки, яка місцями досягала 20 клітин у полі зору. Шар біполярних нейронів і шар фоторецепторів характеризуються також великою щільністю клітин.

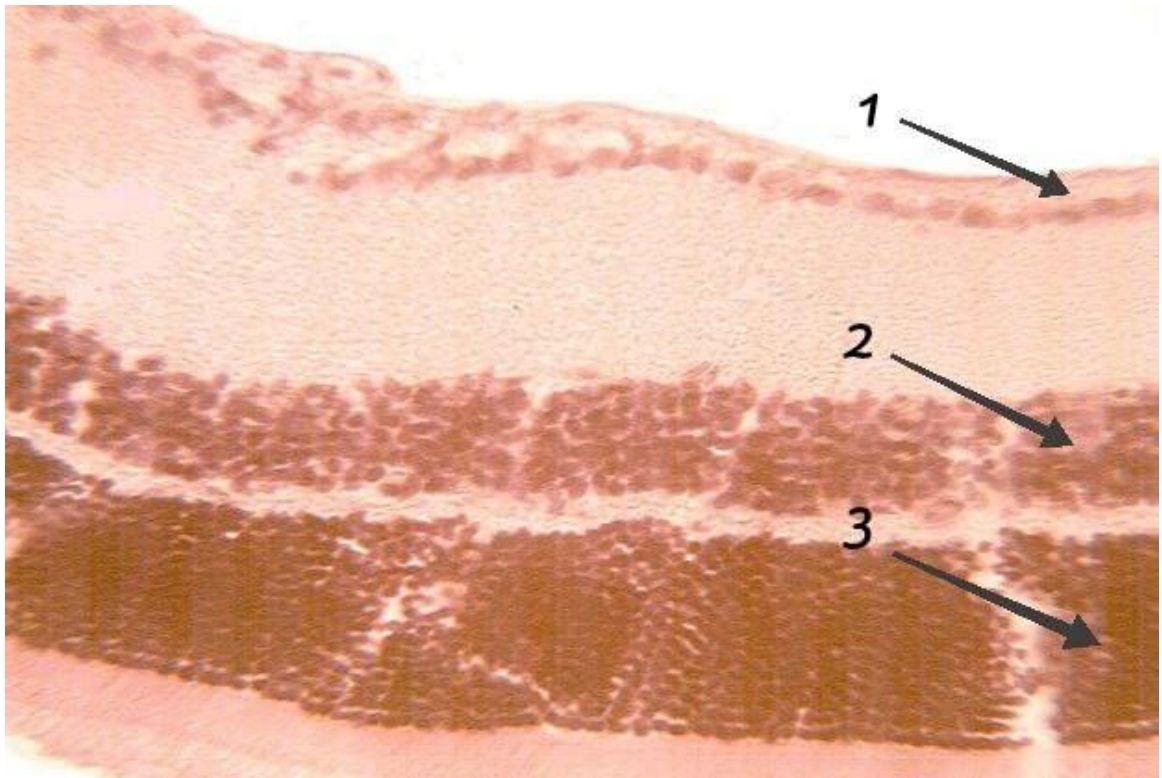


Рисунок 3.4. Фото гістограми сітківки щура з діабетом на тлі міопії. Збільшення 200х. 1 – шар гангліозних клітин; 2 – внутрішній ядерний шар; 3 – шар фоторецепторних клітин.

Як свідчать результати гісто-морфологічних досліджень, міопізація очного яблука у щурів, що супроводжується подовженням передньо-задньої осі ока, в певній мірі знижує тяжкість патологічних змін в гангліозних клітинах сітківки при моделюванні діабету.

Нами також були проведені морфометричні дослідження зразків сітківки щурів різних експериментальних груп з метою визначення статистичної оцінки кількості ГК сітківки через 2 місяці після моделювання діабету та міопії (табл. 3.2.) [29]. Отримані дані свідчать, що при міопії кількість ГК у полі зору сітківки зменшується на 20,0% при порівнянні з контрольною групою. У щурів з моделлю діабету кількість ГК сітківки суттєво зменшується на 64,4% по відношенню до інтактних (контрольних) тварин. В той же час при діабеті на тлі міопії у щурів середня кількість ГК сітківки була менше на 28,9% відносно інтактних тварин. Порівнюючи дані кількості ГК групи діабеті на тлі міопії з групою діабет, вони були вище на 100,0%.

Таблиця 3.2.

Кількість гангліозних клітин в сітківці щурів при деприваційній міопії і стрептозотоциновому діабеті

Статистичні показники	Контроль (n = 10)	Міопія (n = 15)	Діабет (n = 15)	Міопія+діабет (n = 15)
Медіана	22,5	18	8	16
$Q_{low} - Q_{up}$	19,0-26,0	15,0-22,0	6,0-12,0	13,0-20,0
%	100,0	80,0	35,6	71,1
p	-	>0,05	<0,001	<0,001
% ₁	-	100,0	44,4	88,9
p ₁	-	-	<0,001	>0,05
% ₂	-	-	100,0	200,0
p ₂	-	-	-	<0,01

Примітки: n - кількість тварин; $Q_{low} - Q_{up}$ - нижній і верхній квантилі; p - рівень вірогідності відмінностей даних по відношенню до контрольної групи; p₁ - рівень вірогідності відмінностей даних по відношенню до групи тварин з деприваційною міопією; p₂ - рівень вірогідності відмінностей даних по відношенню до групи тварин с діабетом.

Таким чином, за результатами гісто-морфологічних досліджень відносно вивчення особливостей стану нервових клітин сітківки у щурів при експериментальному діабеті на тлі міопії високого ступеню встановлено позитивний вплив міопізації ока щодо протекції розвитку тяжких ознак розвитку діабетичної ретинопатії у тварин цієї групи.

Є припущення, що позитивний вплив на стан нервових клітинах сітківки відбувається в результаті стимуляції компенсаторних процесів на клітинному рівні. Для вивчення цього припущення було проведено ультраструктурне дослідження цих клітин сітківки.

3.3. Ультраструктурні зміни нейросенсорних елементів сітківки щурів при деприваційній міопії та стрептозотоциновому діабеті.

Встановлені особливості структурних змін внутрішнього шару сітківки у щурів з діабетом, який було модельовано на тлі осьової деприваційної міопії високого ступеню у щурів, спонукали нас вивчити ультраструктуру нейрональних елементів сітківки у цих тварин, порівнюючи їх зі змінами в аналогічних елементах інших експериментальних груп. Таким чином, в цьому підрозділі наведені результати порівнювального вивчення ультраструктури нейросенсорних елементів сітківки у щурів при моделюванні стрептозотоцинового діабету, деприваційної осьової міопії та при їх поєднанні

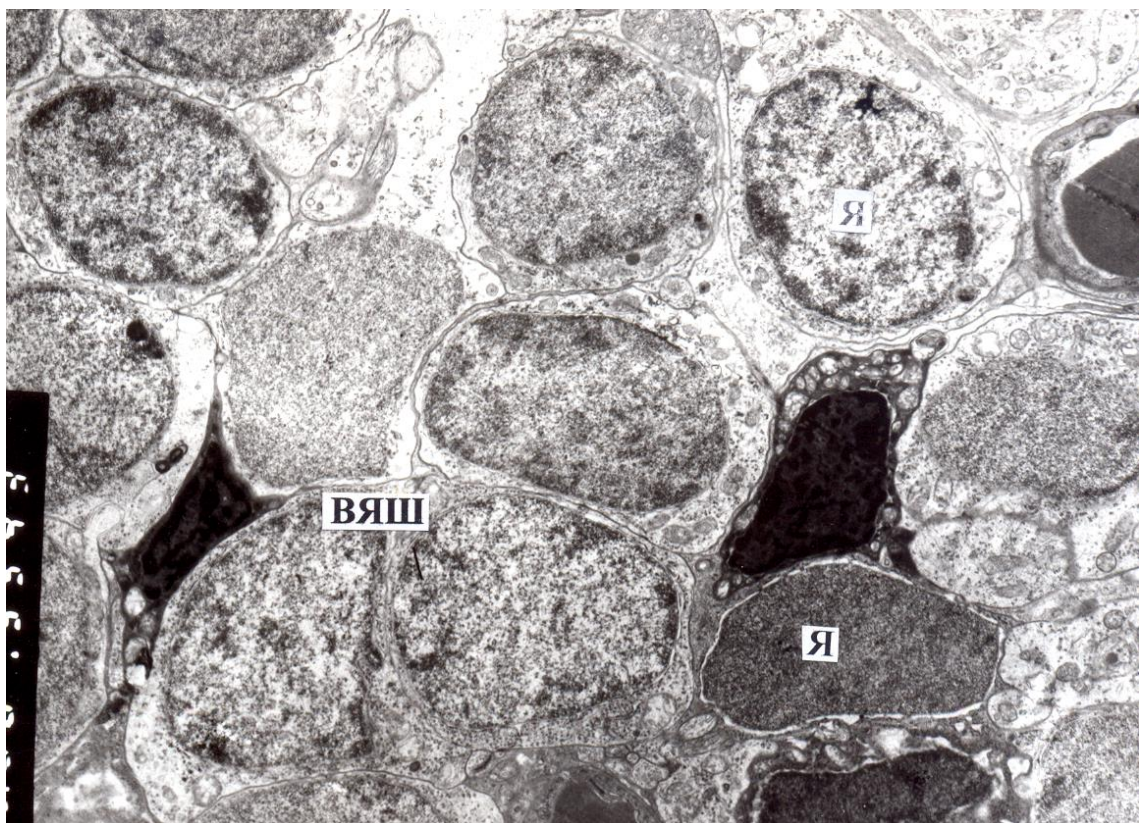


Рисунок 3.5. Ультраструктура сітківки інтактного щура. Клітини біполярного шару в нормальному стані. Електронна мікрофотографія: 3000х. Умовні позначення: КБШ – клітини біполярного шару, Я – ядро, ВЯШ – внутрішній ядерний шар.

Внутрішні шари сітківки (нейросенсорні елементи) поєднують біполярні нейрони та дендріти з гангліозними клітинами, аксони яких формують зоровий нерв. Наші ультраструктурні дослідження зразків очей щурів у групі, в якій моделювали *осьову міопію* показали, що у внутрішніх шарах сітківки (ВШС) як в нервових клітинах, так і в їх аксонах, ультраструктура практично не відрізняється від таких у інтактних тварин (рис.3.5).

Лише на окремих ділянках в них визначаються ознаки набряку гіалоплазми. В шарі гангліозних клітин (рис.3.6) відмічаються клітини в різному функціональному стані, від клітин з підвищеним вмістом органел до клітин з незначним їх вмістом та електронно-прозорою цитоплазмою і каріоплазмою.

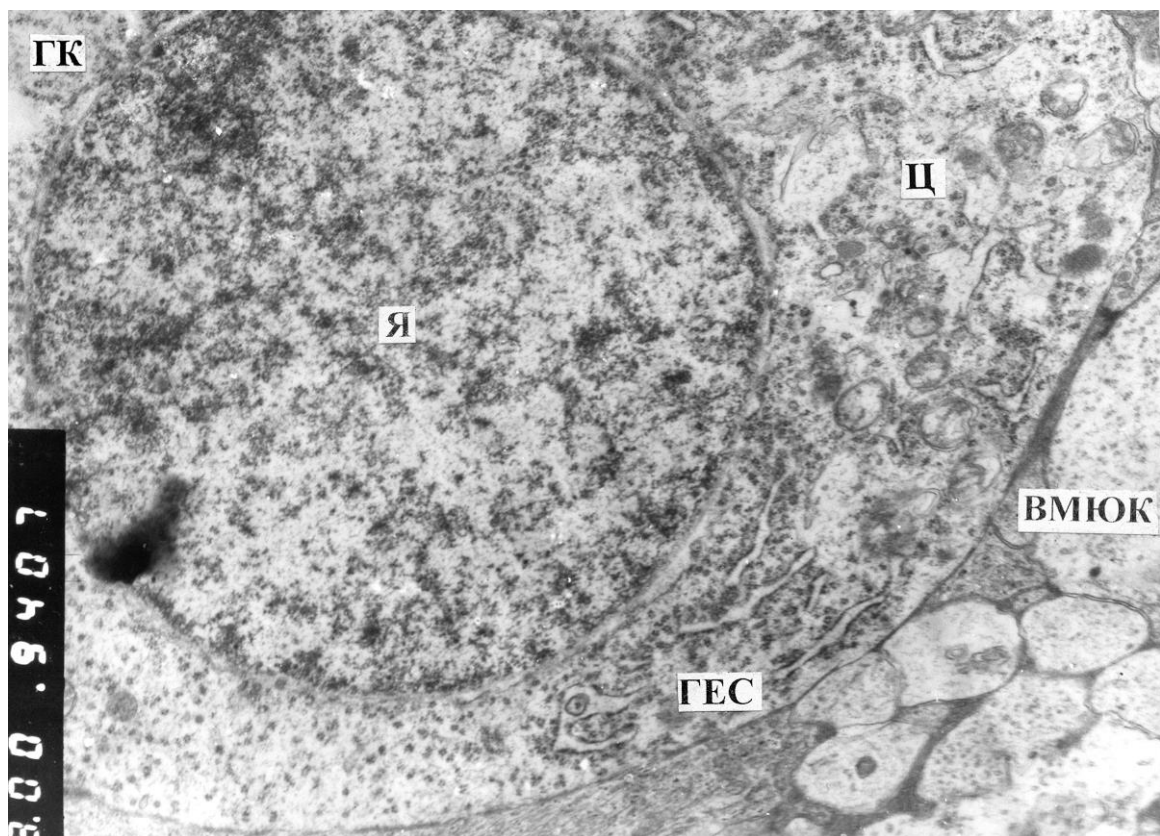


Рисунок 3.6. Ультраструктура сітківки інтактного щура. Гангліозна клітина з підвищеним вмістом полісом. Електронна мікрофотографія: 4000х. Умовні позначення: ВМЮК - відростки мюллерівських клітин, ГК – гангліозні клітини, ГЕС - гранулярна ендоплазматична сітка, Ц – цитоплазма, Я – ядро.

Дослідження зразків нервового апарату сітківки щурів наступної експериментальної групи *після моделювання діабету* навпаки свідчать, що більшість нервових клітин внутрішнього ядерного шару (ВЯШ) сітківки перебувають в стані гідропічної дистрофії (рис.3.7). Тіла мюллерівських клітин (МЮК) характеризуються наявністю патологічних елементів, з осміофільним ядром та деструкцією органел [28]. Аналогічні ультраструктурні зміни притаманні також гангліозним клітинам (ГК) та відросткам мюллерівських клітин (ВМЮК). В той же час ультраструктура капілярів сітківки в очах цих тварин була без видимих змін, однак їх просвіт мав підвищену електронну щільність.

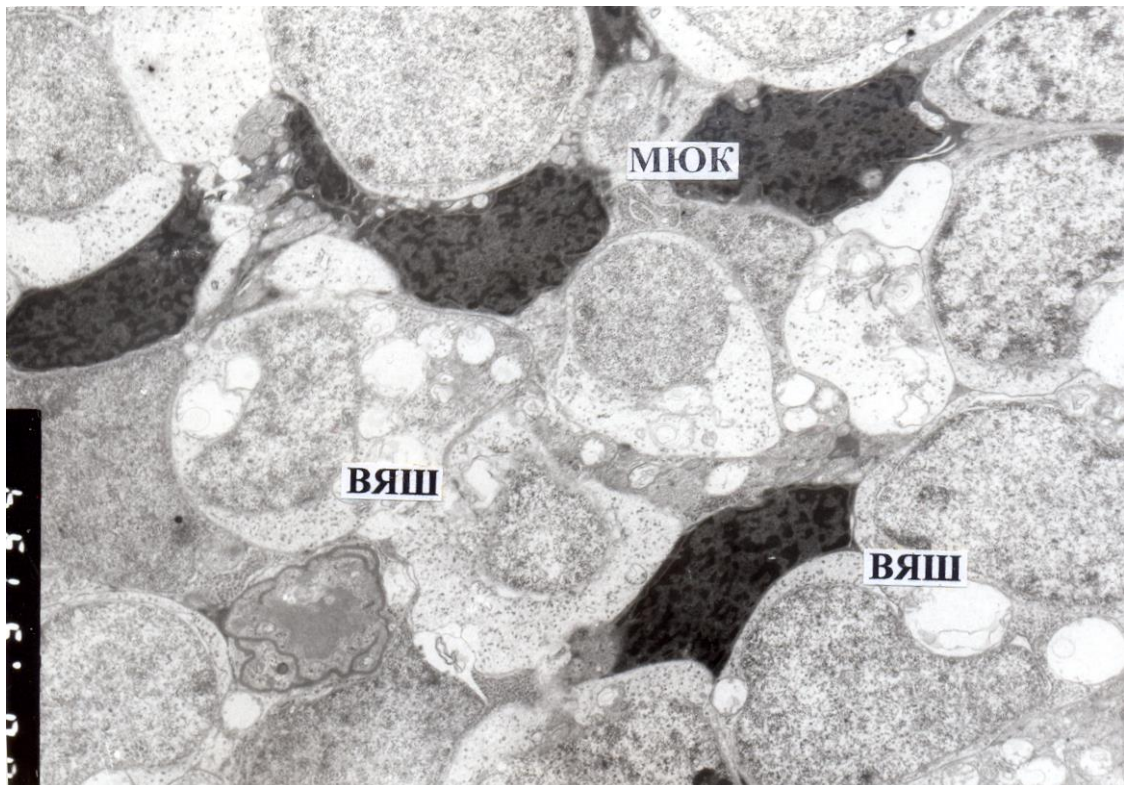


Рисунок 3.7. Ультраструктура сітківки щура після моделювання діабету. Біполярні клітини з набряком цитоплазми і деструкцією органел, мюллерівські клітини з осміофільним ядром і цитоплазмою та деструкцією органел. Електронна мікрофотографія: 3000х. Умовні позначення: КБШ – клітини біполярного шару, ВМЮК – відростки мюллерівських клітин, ВЯШ - внутрішній ядерний шар.

В сітківці щурів основної експериментальної групи після моделювання *діабету на тлі міопії* ми спостерігали неоднорідну картину змін ультраструктури нейросенсорних елементів сітківки. Так деякі ділянки внутрішніх шарів сітківки мали структуру близьку до такої, що спостерігалась у контрольних інтактних тварин, тобто без ознак патології. В той же час було зазначено місця з явищами гідропічної дистрофії в нервових та гліальних клітинах, які притаманні для структур внутрішнього ядерного шару, з вираженими явищами деструкції органел мюллерівських клітин, що спостерігались після моделювання діабетичної ретинопатії. Спостерігались у нейросенсорних елементах сітківки цієї групи тварин подібні зміни в шарі гангліозних клітин (рис.3.8).

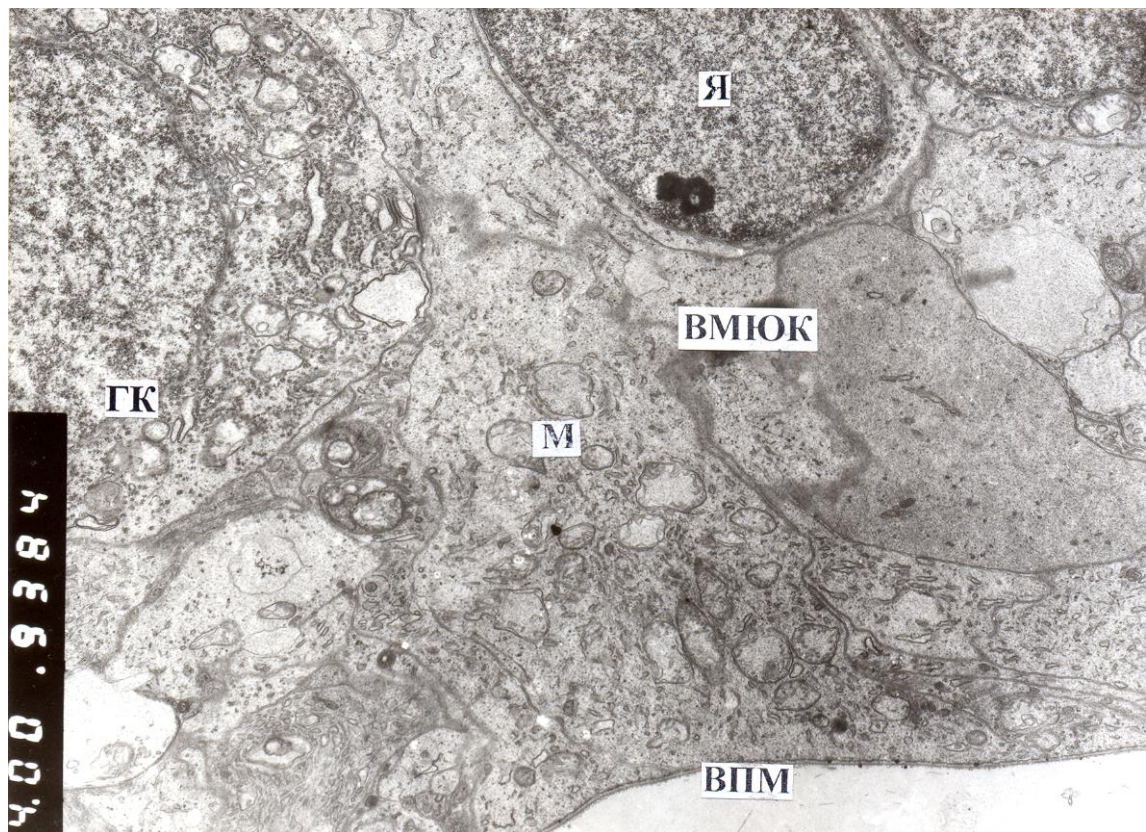


Рисунок 3.8. Ультраструктура сітківки щура після моделювання діабету та деприваційної міопії. В шарі гангліозних клітин розширення цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки і деструкція крист мітохондрій. Відростки мюллерівських клітин з великою кількістю мітохондрій з деструкцією їх крист. Електронна мікрофотографія: 4000х. Умовні позначення: Я – ядро, ВМЮК –

відростки мюллерівських клітин, ГК – гангліозна клітина, М – мітохондрії, ВПМ – внутрішня погранична мембрана.

Резюмуючи отримані дані ультраструктурного вивчення нейронального апарату сітківки у експериментальних тварин трьох експериментальних груп встановлено суттєву різницю змін між цими групами. Якщо при міопії у нервових клітинах внутрішнього шару сітківки були незначні зміни ультраструктури органел, головним чином у вигляді невеликого набряку, то у щурів групи з діабетом зміни були значно більшими. Вони характеризувались вже дистрофією та деструкцією органел цитоплазми. В той же час нервові клітини внутрішнього шару сітківки у щурів, яким моделювали діабет на тлі міопії, в деяких випадках мали значно менш виражені ультраструктурні зміни, ніж у тварин тільки з діабетом, а інколи стан органел цих клітин був близьким до норми. Це може свідчити про протекторний вплив подовження сагітальної осі очного яблука щодо розвинення деструктивних змін нервових клітин сітківки при діабеті та зменшення можливості розвитку діабетичної ретинопатії, особливо її тяжких форм.

Узагальнення до розділу 3.

Проведене моделювання діабету у щурів кратними субдіабетичними дозами стрептозотоцину (15мг/кг) підтвердили формування у тварин помірної стійкої гіперглікемії

Рівень глюкози у периферійній крові в середньому перевищував контрольні значення на 78%. Клінічна картина очного дна у тварин цієї групи мала типові ознаки діабетичної ретинопатії. У щурів були відзначені зміни судин сітчастої оболонки розширеними венами і звуженими артеріями з наявністю ділянок з крововиливом. В цій групі тварин були відсутні очі без будь-яких змін судин сітчастої оболонки.

При відтворенні моделі осьової міопії у щурів шляхом депривації світлом блефорорафією та утриманням в умовах зниженого освітлення було підтверджено суттєве подовження сагітальної осі очного яблука. ПЗР у щурів цієї групи за даними ультразвукового сканування було вище, ніж у контролі в середньому на 20%. Також відмічали поглиблення передньої камери та збільшення товщини рогівки.

Моделювання діабету на тлі сформованої осьової міопії характеризувалось близькими до груп порівняння ознаками гіперглікемії, маркерами міопії. При зіставленні клінічного стану сітчастої оболонки щурів цієї групи відзначали різницю у зміні картини очного дна в порівнянні з сітківкою щурів тільки з діабетом. Тяжкість порушень судин сітківки була меншою, у деяких тварин вони були слабо виражені.

Дослідження гістоморфологічного стану нейрональних елементів сітківки тварин виявило певні особливості в різних експериментальних групах. В групі з *діабетом* спостерігали значну ступень порушень структури нейронів сітківки, зокрема клітин гангліозного шару. Встановлена нерівномірність розташування і невисока щільність гангліозних клітин. У гістограмах сітківки цієї групи місцями спостерігали ділянки повного випадіння ГК. Тоді як в групі з *діабетом на тлі осьової міопії* на відміну від групи тільки з діабетом, виявлено досить високу щільність нейронів в шарі гангліозних клітин сітчастої оболонки.

Морфометричні дослідження довели, що у щурів з моделлю діабету кількість ГК сітківки зменшується на 64,4% по відношенню до інтактних (контрольних) тварин. В той же час при діабеті на тлі міопії середня кількість ГК сітківки була менше на 28,9% відносно інтактних тварин.

Таким чином, результати гісто-морфологічних досліджень показали, що міопізація очного яблука у щурів, що супроводжується подовженням передньо-задньої осі ока, знижує тяжкість патологічних змін в гангліозних клітинах сітківки при моделюванні діабету.

Дослідження ультраструктури нейрональних елементів сітківки при експериментальному діабеті встановило наявність значних

внутрішньоклітинних пошкоджень. Більшість нервових клітин внутрішнього ядерного шару сітківки перебувають в стані гідропічної дистрофії, тіла мюллерівських клітин мають патологічні елементи з осміофільним ядром та деструкцією органел. Аналогічні ультраструктурні зміни притаманні також гангліозним клітинам та відросткам мюллерівських клітин, тобто вони характеризувались вже дистрофією та деструкцією органел цитоплазми. В той же час при діабеті на тлі міопії нервові клітини внутрішнього шару сітківки у щурів в деяких випадках мали значно менш виражені ультраструктурні зміни, ніж у тварин тільки з діабетом, а інколи стан органел цих клітин був близьким до норми.

Це може свідчити про протекторний вплив подовження сагітальної осі очного яблука щодо розвинення деструктивних змін нервових клітин сітківки при діабеті та зменшення можливості розвитку діабетичної ретинопатії, особливо її тяжких форм.

Публікації за матеріалами 3 розділу:

1. Михейцева, І. М., Молчанюк, Н. І., Артемов, О. В., Коломійчук, С. Г., Сіроштаненко, Т. І., & Амаїєд, А. (2021). Особливості морфологічного та ультраструктурного стану клітин сітківки щурів з діабетом II типу на тлі міопії високого ступеню. *Теорія та практика сучасної морфології: Матеріали п'ятої всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю*, 91–93. https://fz.kiev.ua/journals/2024_V.70/1/FZh-1-2024-31-36.pdf
2. Борисов, С. О., Костєв, Ф. І., Борисов, О. В., Дехтяр, Ю. М., Віт, В. В., Молчанюк, Н. І., Михейцева, І. М., Коломійчук, С. Г., & Амаїєд, А. (2022). Вплив цукрового діабету II типу, ускладненого пієлонефритом, на ультраструктурні зміни хоріоїдеї, сітківки та нефронів в експерименті. *Офтальмологічний журнал*, 3, 32–38. <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh202233238>

3. Михейцева, І. М., Молчанюк, Н. І., Коломійчук, С. Г., Сіроштаненко, Т. І., & Амаїєд, А. (2022). Вплив міопії високого ступеню на ультраструктурні зміни в судинах хоріоїдеї та сітківці шурів з діабетом II типу. *Теорія та практика сучасної морфології: Матеріали шостої всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю*, 102–103. <https://reposit.institut-filatova.com.ua/handle/123456789/725>
4. Михейцева, І. М., Амаїєд, А., Артьомов, О. В., Коломійчук, С. Г., & Кузнецов, М. К. (2024). Вміст нейротрофічного фактору мозку BDNF в сітківці шурів з індукованим діабетом і осьовою міопією, взаємозв'язок зі структурою нейрональних елементів сітківки. *Офтальмологічний журнал*, 3, 40–44. <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh202434044>
5. Михейцева, І. М., Амаїєд, А., Артемов, О. В., Коломійчук, С. Г., & Сіроштаненко, Т. І. (2024). Взаємозв'язок між гістоморфологічним станом та маркером апоптозу у сітківці шурів з гіперглікемією та міопією високого ступеня. *Теорія та практика сучасної морфології: Матеріали Восьмої Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю*, 97–98. <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh202464853>
6. Михейцева, І. М., Молчанюк, Н. І., Амаїєд, А., Коломійчук, С. Г., & Сіроштаненко, Т. І. (2024). Особливості ультраструктурних змін у нейросенсорних елементах сітківки шурів при моделюванні діабетичної ретинопатії на тлі осьової міопії. *Фізіологічний журнал*, 1, 31–36. <https://doi.org/10.15407/fz70.01.031>

РОЗДІЛ 4.

МЕТАБОЛІЧНІ ЗМІНИ В СІТКІВЦІ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ У ЩУРІВ ДІАБЕТУ НА ТЛІ ОСЬОВОЇ МІОПІЇ, ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ЗІ СТРУКТУРНИМИ ПОРУШЕННЯМИ.

4.1. Вивчення особливостей змін показників енергетичного обміну у щурів при моделюванні діабету з міопією

В даному підрозділі представлені результати вивчення стану енергетичного обміну сітківки по біохімічним маркерам (рівень лактату, пірувату, АТФ, АДФ, активність сукцинатдегідрогенази) у щурів з моделлю стрептозотоцинового діабету, який розвинувся на тлі осьової міопії, в порівнянні з окремо модельованими діабетом та міопією [29, 30].

В плазмі крові та сітківці експериментальних тварин спостерігали зміни вмісту молочної (лактат) та піровиноградної (піруват) кислот. Дані цих показників в експериментальних групах представлені в таблицях 4.1 - 4.4 та рисунках 4.1 - 4.4.

Результати дослідження вмісту метаболітів лактату та пірувату представлені на таблиці 4.1.

В групі з діабетом рівень лактату та пірувату був підвищений на 86,5% та 43,3% відповідно відносно контролю. Слід зазначити зростання рівня співвідношення лактат/піруват у плазмі крові тварин з діабетом в 1,03 рази. В групі тварин з діабетом на тлі міопії рівень лактату достовірно значуще знижувався порівняно з відповідним значенням тварин тільки з діабетом на 18,5%, тоді як для пірувату була характерна лише тенденція до зниження. Слід зазначити, що при цьому рівні молочної та піровиноградної кислот в цій групі тварин все ж таки були достовірно значуще підвищені відносно контролю.

На рисунку 4.1. графічно представлені відносні зміни метаболітів лактату і пірувату в крові експериментальних тварин з діабетом та діабетом і міопією.

Таблиця 4.1.

В

М

Статистичні показники	Контроль (n = 10)	Діабет (n = 15)	Міопія+ діабет (n = 15)
Лактат			
$M \pm m$ лактату і пірувату в плазмі крові щурів при стрептозотоциновому діабеті і % осьовій міопії (в ммоль/л)	$2,52 \pm 0,17$ 100,0	$4,70 \pm 0,32$ 186,5	$3,83 \pm 0,23$ 151,2
p	-	$<0,001$	$<0,001$
% ₁	-	100	81,5
p ₁	-	-	$<0,05$
Піруват			
$M \pm m$	$0,238 \pm 0,015$	$0,341 \pm 0,023$	$0,289 \pm 0,018$
%	100,0	143,3	121,4
p	-	$<0,01$	$<0,05$
% ₁	-	100	84,8
p ₁	-	-	$>0,05$
Лактат/піруват	10,6	13,8	13,3

Примітки: n - кількість тварин; p - рівень вірогідності відмінностей даних по відношенню до контрольної групи; p₁ - рівень вірогідності відмінностей даних по відношенню до групи тварин з діабетом.

Лактат та піруват в плазмі

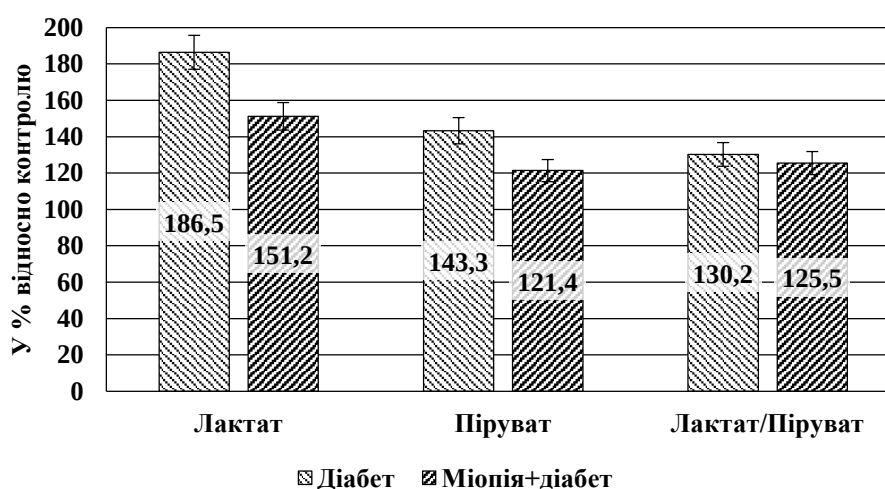


Рис.4.1. Відносні зміни вмісту лактату та пірувату в крові щурів експериментальних груп з діабетом та міопією.

В таблиці 4.2. наведені дані вмісту лактату і пірувату в сітківці щурів експериментальних груп.

Таблиця 4.2.

Вміст лактату і пірувату в сітківці щурів при стрептозотоциновому діабеті 2 типу з деприваційною міопією (в ммоль/г)

Статистичні показники	Контроль (n = 10)	Діабет 2 типу (n = 15)	Міопія+ діабет 2 типу (n = 15)
Лактат			
M±m	5,85±0,42	10,75±0,80	8,58±0,68
%	100,0	183,8	146,6
p	-	<0,001	<0,001
% ₁	-	100	79,8
p ₁	-	-	<0,05
Піруват			
M±m	0,191±0,012 100,0	0,278±0,017	0,235±0,016
%	-	145,5	123,0
p	-	<0,001	<0,05
% ₁	-	100	84,5
p ₁	-	-	<0,05
Лактат/піруват	30,6	38,7	36,5

Примітки: n - кількість тварин; p - рівень вірогідності відмінностей даних по відношенню до контрольної групи; p₁ - рівень вірогідності відмінностей даних по відношенню до групи тварин з діабетом

Дані таблиці свідчать, що підвищення рівню лактату в сітківці групи з діабетом становило 83,8%, а пірувату – 45,5% від контрольних значень. Їх співвідношення збільшилось на 26,5%. В групі з діабетом на тлі міопії ці показники перевищували контрольні на 46,6%, 23% та 19,3 % відповідно. При порівнянні груп з діабетом без міопії та з міопією різниця показників становила

20,2 % для лактату, 15,5 % для пірувату. Їх співвідношення відрізнялись незначно.

На рисунку 4.2. наведено графічні дані відносних змін вмісту метаболітів лактату та пірувату у сітківці щурів експериментальних груп з діабетом і міопією.

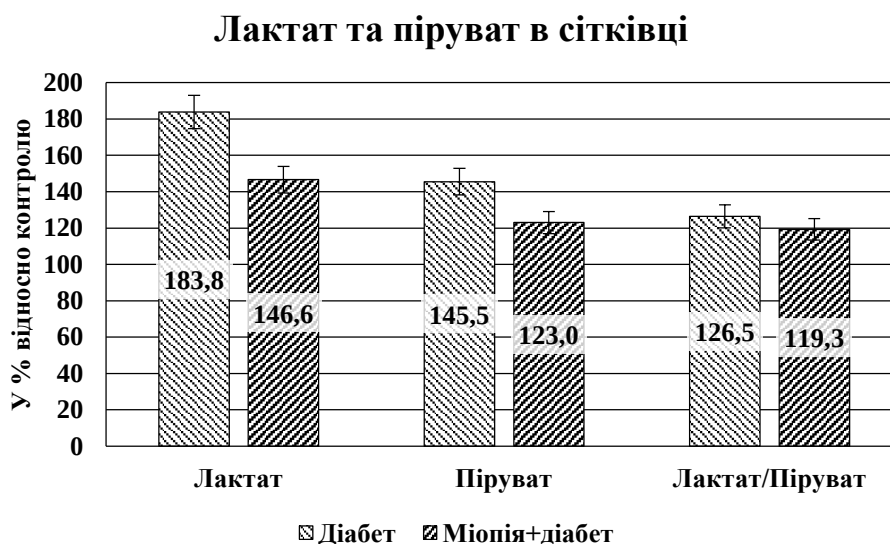


Рис.4.2. Відносні зміни вмісту лактату та пірувату в сітківці щурів експериментальних груп з діабетом та міопією.

Таким чином, дані експерименту по біохімічним маркерам енергетичного стану і маркерам гіпоксії, а саме вмісту в крові та сітківці лактату і пірувату, показали формування стану гіпоксії в організмі та нейрональній тканині ока при моделюванні діабету у щурів. При цьому в групі з діабетом і міопією ці показники були дещо нижчими. В групі з міопією зрушень лактат-піруватного вмісту в крові та тканині сітківки не виявлено.

Наступним етапом було дослідження вмісту аденінових нуклеотидних енергетичних метаболітів АТФ та АДФ як в крові, так і в сітківці щурів різних експериментальних груп (табл. 4.3-4.4, рис.4.3-4.4).

Таблиця 4.3.

В

М

Статистичні показники	Контроль (n = 10)	Міопія (n _c = 15) Т	Діабет 2 типу (n = 15)	Міопія+ діабет 2 типу (n = 15)
АТФ і АДФ в плазмі крові щурів при стрептозотоциновому діабеті з деприваційною міопією (в нмоль/л)				
М±m	804,23±62,14	945,77±78,62	583,48±37,04	710,94±46,80
%	100,0	117,6	72,6	88,4
p	-	>0,05	<0,01	>0,05
% ₁	-	100,0	61,7	75,2
p ₁	-	-	<0,001	<0,05
% ₂	-	-	100,0	121,8
p ₂	-	-	-	<0,05
АДФ				
М±m	352,05±18,45	404,18±26,45	282,34±15,08	324,63±22,07
%	100,0	114,8	80,2	92,2
p	-	>0,05	<0,01	>0,05
% ₁	-	100,0	69,9	80,3
p ₁	-	-	<0,001	<0,05
% ₂	-	-	100,0	115,0
p ₂	-	-	-	>0,05
АТФ/АДФ	2,28	2,34	2,07	2,19

Примітки: n - кількість тварин; p - рівень вірогідності відмінностей даних по відношенню до контрольної групи; p₁ - рівень вірогідності відмінностей даних по відношенню до групи тварин з деприваційною міопією; p₂ - рівень вірогідності відмінностей даних по відношенню до групи тварин с діабетом 2 типу.

На рисунку 4.3. графічно представлені відносні зміни метаболітів АТФ та АДФ в крові щурів різних експериментальних груп.

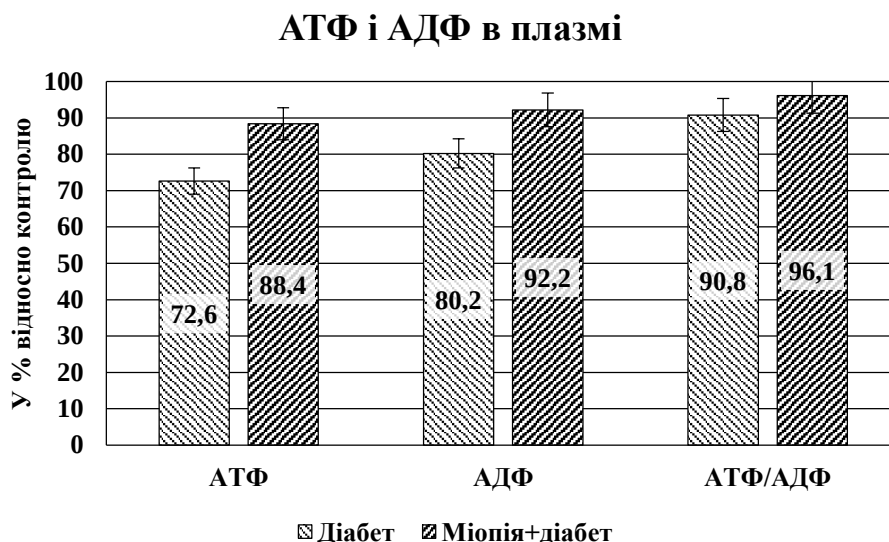


Рис.4.3. Відносні зміни вмісту АТФ та АДФ в плазмі крові щурів експериментальних груп з діабетом та міопією.

При оцінці рівню цих показників групі з міопією рівень АТФ та АДФ в плазмі крові достовірно значуще не змінювався (табл.4.3), а в сітківці вміст АТФ був підвищений на 23,6% ($p < 0,05$) порівняно з контролем (табл.4.4).

При цьому було встановлено зміни рівню цих енергетичних метаболітів при моделюванні діабету в обох групах, але в групі сумісного моделювання міопії та діабету ці зміни були менш виражені. Результати вивчення вмісту АТФ та АДФ в групі щурів тільки з діабетом свідчать про вірогідне зниження цих метаболітів в плазмі крові - АТФ на 27,4%, АДФ на 19,8% (табл.4.3) та в сітківці - АТФ на 37,3%, АДФ на 23,7% (табл.4.4) відносно контролю ($p < 0,01$).

В той же час в групі з діабетом і осьовою міопією встановлено зростання рівня АТФ у тварин з діабетом і осьовою міопією в плазмі крові на 21,8%, в сітківці – на 21,2% при порівнянні з відповідними даними щурів тільки з діабетом, що може свідчити про певну активацію енергетичних процесів та розвиток адаптації до гіпоксії в клітинах сітківки.

Таблиця 4.4.

Вміст АТФ і АДФ в сітківці щурів при стрептозотоциновому діабеті з деприваційною міопією (в мкмоль/г)

Статистичні показники	Контроль (n = 10)	Міопія (n = 15)	Діабет 2 типу (n = 15)	Міопія+ діабет 2 типу (n = 15)
АТФ				
M±m	3,24±0,18	3,86±0,23	2,03±0,14	2,46±0,15
%	100,0	123,6	62,7	75,9
p	-	<0,05	<0,001	<0,01
% ₁	-	100,0	52,6	63,7
p ₁	-	-	<0,001	<0,001
% ₂	-	-	100,0	121,2
p ₂	-	-	-	<0,05
АДФ				
M±m	0,856±0,062	0,961±0,076	0,653±0,050	0,704±0,057
%	100,0	112,3	76,3	82,2
p	-	>0,05	<0,05	>0,05
% ₁	-	100,0	68,0	73,3
p ₁	-	-	<0,01	<0,05
% ₂	-	-	100,0	115,6
p ₂	-	-	-	>0,05
АТФ/АДФ	3,79	4,02	3,11	3,49

Примітки: аналогічно табл. 4.1.3.

На рисунку 4.4. графічно представлені відносні зміни метаболітів АТФ та АДФ в сітківці щурів різних експериментальних груп.

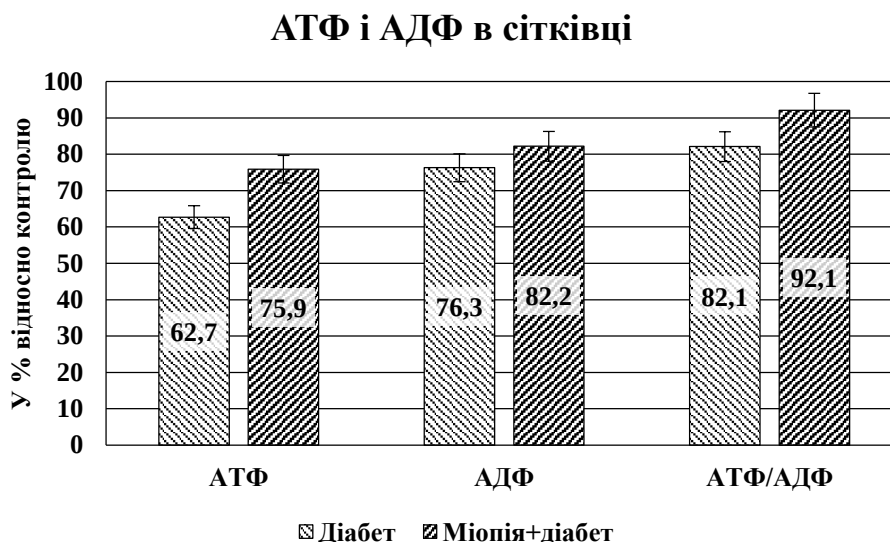


Рис.4.4. Відносні зміни вмісту АТФ та АДФ в сітківці щурів експериментальних груп з діабетом та міопією.

Слід зазначити, що відносно групи тварин з міопією вміст аденінових нуклеотидних метаболітів АТФ та АДФ у тварин з діабетом був суттєво знижений як в плазмі крові, так і в сітківці. Встановлено, що співвідношення АТФ/АДФ в плазмі крові та сітківці тварин з діабетом було знижене порівняно з контролем та відповідними даними тварин з міопією.

В сітківці щурів усіх експериментальних груп також було досліджено активність мітохонріального ферменту сукцинатдегідрогенези. Вивчення активності ферменту сукцинатдегідрогенази в мітохондріях сітківки експериментальних тварин дозволяє об'єктивно оцінювати функціональний стан органел, які відповідальні за продукцію енергетичних молекул АТФ в нейрональних клітинах сітківки. Дані цих досліджень представлені в таблиці 4.5.

При аналізі даних таблиці встановлено, що в групі з міопією активність сукцинатдегідрогенази в сітківці достовірно значуще була підвищена на 20,4% відносно контролю. В той же час у тварин з діабетом активність сукцинатдегідрогенази була знижена як порівняно з контролем на 27,6% ($p < 0,01$), так і відносно тварин з міопією – на 39,9% ($p < 0,001$).

Таблиця 4.5.

Активність мітохондріальної сукцинатдегідрогенази в сітківці щурів при стрептозотоциновому діабеті з деприваційною міопією (в нкат/г тканини)

Статистичні показники	Контроль (n = 10)	Міопія (n = 15)	Діабет 2 типу (n = 15)	Міопія+ діабет 2 типу (n = 15)
M±m	87,64±5,23	105,52±6,48	63,45±4,37	76,65±4,53
%	100,0	120,4	72,4	87,5
p	-	<0,05	<0,01	>0,05
% ₁	-	100,0	60,1	72,6
p ₁	-	-	<0,001	<0,01
% ₂	-	-	100,0	120,8
p ₂	-	-	-	<0,05

Примітки: n - кількість тварин; p - рівень вірогідності відмінностей даних по відношенню до контрольної групи; p₁ - рівень вірогідності відмінностей даних по відношенню до групи тварин з деприваційною міопією; p₂ - рівень вірогідності відмінностей даних по відношенню до групи тварин с діабетом.

У щурів з моделюванням діабету на тлі міопії встановлено зростання активності ретинальної мітохондріальної сукцинатдегідрогенази на 20,8% при порівнянні з відповідними даними у щурів тільки з діабетом. Ці дані також свідчать про активацію енергетичного обміну в сітківці при умовах, коли міопія супроводжує діабет.

На рисунку 4.5. графічно представлені відносні зміни активності мітохондріального ферменту сукцинатдегідрогенези в сітківці щурів різних експериментальних груп.

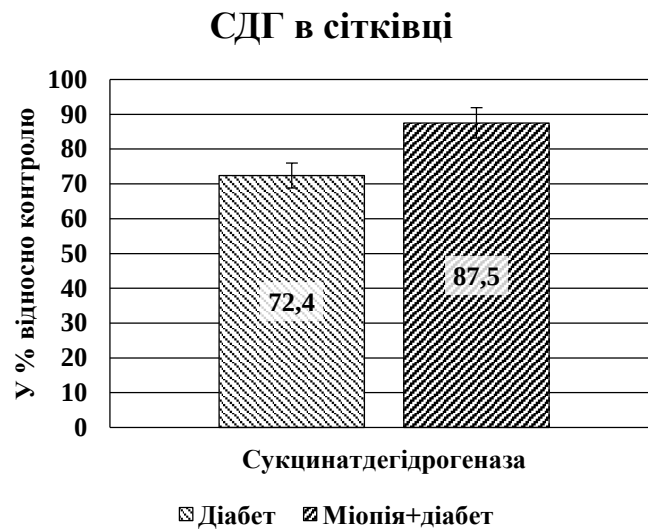


Рис.4.5. Відносні зміни активності сукцинатдегідрогенези в сітківці щурів експериментальних груп з діабетом та міопією.

Для оцінки загального стану системного та локального енергетичного забезпечення щурів різних експериментальних груп по вивчаємих показникам в крові та сітківці було розроблено інтегральний індекс. Його розраховували по площі представлених фігур, які побудовані по змінам (у %) вивчаємих біохімічних показників енергетичного метаболізму та гіпоксії. Ці дані для системного забезпечення по крові графічно представлені на рисунках 4.6 – 4.9.

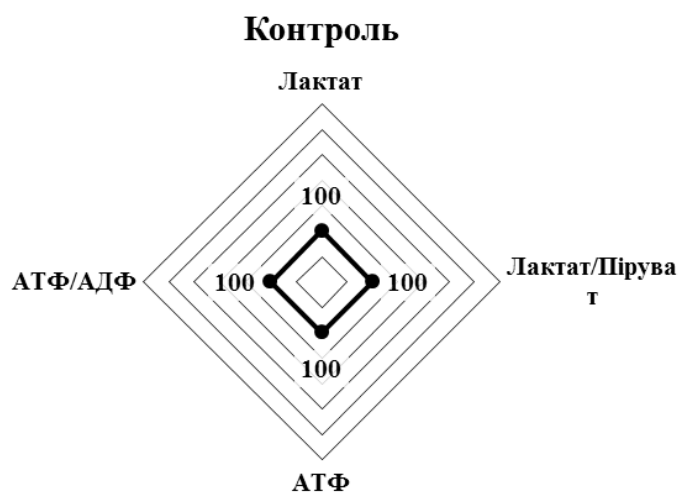


Рис.4.6. Інтегральний індекс енергетичного забезпечення в крові щурів контрольної групи.

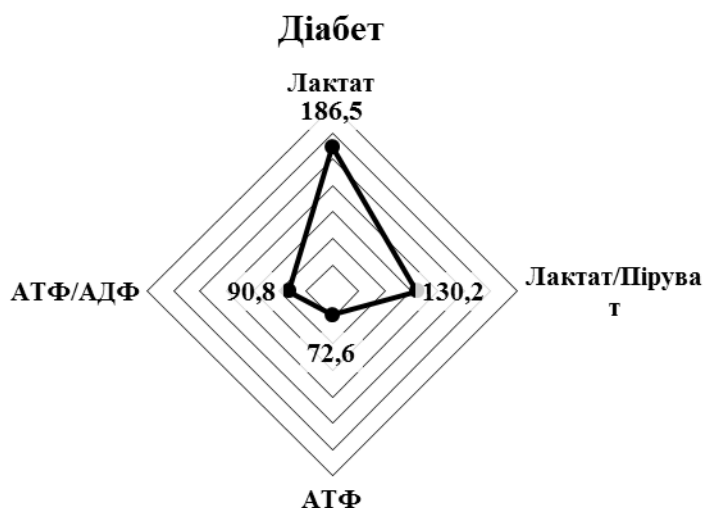


Рис.4.7. Інтегральний індекс енергетичного забезпечення в крові щурів групи діабет

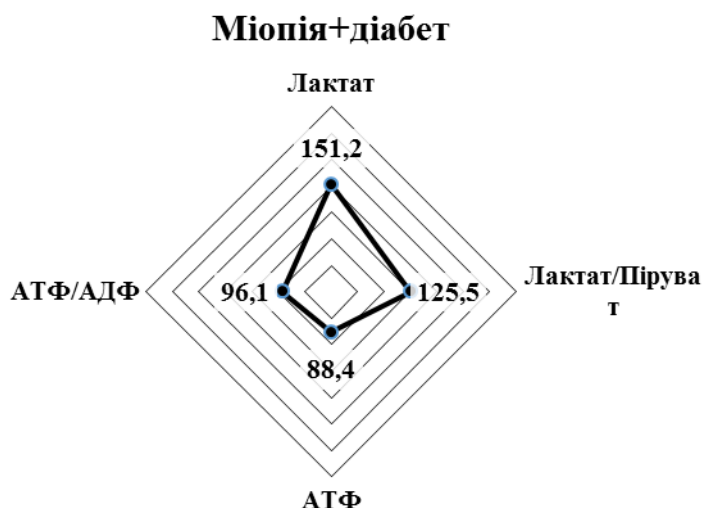


Рис.4.8. Інтегральний індекс енергетичного забезпечення в крові щурів групи міопія+діабет

Інтегральний індекс енергетичного забезпечення, розрахований по площі представлених фігур, які побудовані по змінам вивчаємих біохімічних показників енергетичного метаболізму та гіпоксії, в крові експериментальних щурів становив для контрольної групи 1000 відн.од², для групи тільки з діабетом 2863,1 відн.од², для групи з діабетом на тлі міопії 2654,8 відн.од². Цей показник наглядно демонструє інтегральні зміни системного енергозабезпечення експериментальних тварин в різних умовах моделювання. Враховуючи усі показники енергетичного балансу в крові, можна бачити, що в

групі міопія+діабет інтегральний індекс був ближче до контрольного, ніж в групі з діабетом без міопії. Таким чином, загальний рівень системної гіпоксії був нижче.

На рисунках 4.9 - 4.11 представлено цей інтегральний показник щодо сітківки щурів різних експериментальних груп.

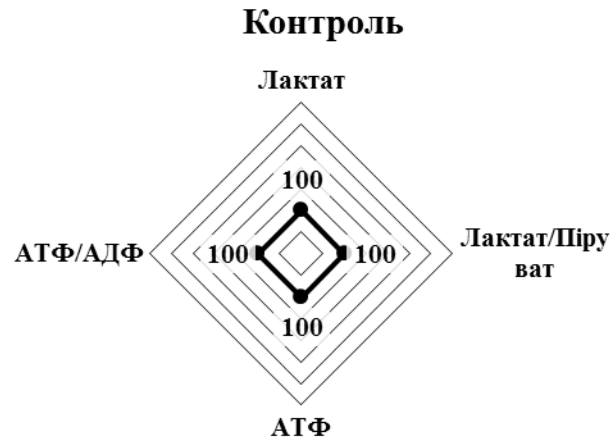


Рис.4.9. Інтегральний індекс енергетичного забезпечення сітківки щурів контрольної групи.

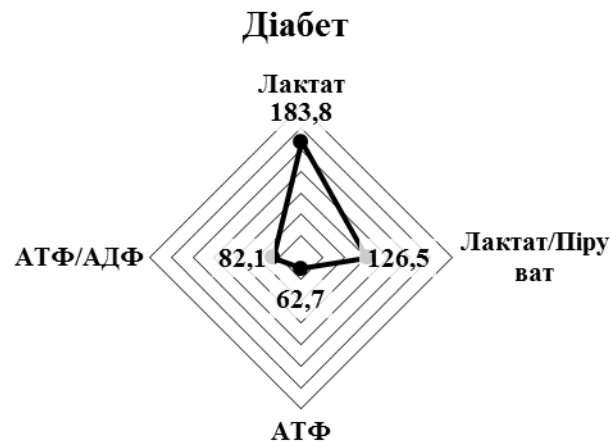


Рис.4.10. Інтегральний індекс енергетичного забезпечення сітківки щурів групи діабет

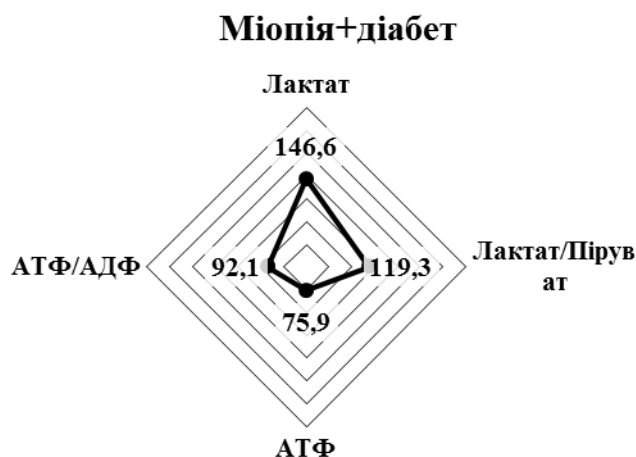


Рис.4.11. Інтегральний індекс енергетичного забезпечення сітківки щурів групи міопія+діабет.

Інтегральний індекс енергетичного забезпечення, розрахований по площі представлених фігур, які побудовані по змінам вивчаємих біохімічних показників енергетичного метаболізму та гіпоксії, в сітківці експериментальних щурів становив для контрольної групи 1000 відн.од², для групи тільки з діабетом 2571,0 відн. од², для групи з діабетом на тлі міопії 2351,8 відн.од².

Цей показник наглядно демонструє інтегральні зміни локального ретинального енергозабезпечення експериментальних тварин в різних умовах моделювання, а саме в групі міопія+діабет інтегральний індекс був ближче до контрольного, ніж в групі з діабетом без міопії. Таким чином, загальний рівень ретинальної гіпоксії був нижче.

Таким чином, при проведенні експериментального дослідження нами доведено зростання маркерів гіпоксії лактату і пірувату в сітківці та крові щурів в групах з діабетом. Тоді як при формуванні діабету на тлі раніше розвинутої міопії встановлено зниження цих показників.

Крім того, показано підвищення енергетичного стану сітківки, а саме вмісту АТФ та активності мітохондріального ферменту сукцинатдегідрогенази, в групі з діабетом і міопією в порівнянні з низьким рівнем цих маркерів у щурів з діабетом та еметропією.

4.2. Вивчення рівня BDNF та фрагментованої ДНК у щурів при моделюванні діабету з міопією

В попередніх розділах було показано структурні та ультраструктурні зміни стану нейрональних елементів сітківки при моделюванні стрептозотоцинового діабету у щурів і особливості цих змін при діабеті на тлі міопії. Наступним етапом дослідження було визначення рівня маркера ранньої стадії апоптозу – фракційної ДНК (фДНК) в сітківці тварин [29]. Дані цих досліджень представлені в таблиці 4.6.

Таблиця 4.6.

Вміст фДНК в сітківці (в %) щурів при деприваційній міопії і стрептозотоциновому діабеті

Статистичні показники	Контроль (n = 10)	Міопія (n = 15)	Діабет (n = 15)	Міопія+ діабет (n = 15)
M±m	9,14±0,82	9,76±0,92	14,33±1,45	13,02±1,34
%	100,0	106,8	156,8	142,5
p	-	>0,05	<0,01	<0,05
% ₁	-	100,0	146,8	133,4
p ₁	-	-	<0,05	>0,05
% ₂	-	-	100,0	90,9
p ₂	-	-	-	>0,05

Примітки: n - кількість тварин; p - рівень вірогідності відмінностей даних по відношенню до контрольної групи; p₁ - рівень вірогідності відмінностей даних по відношенню до групи тварин з деприваційною міопією; p₂ - рівень вірогідності відмінностей даних по відношенню до групи тварин с діабетом.

Результати вивчення рівня фДНК в сітківці тварин з діабетом на тлі міопії виявили вірогідне підвищення цього показника як в порівнянні з контролем на 42,5%, так і з групою міопія на 33,4%. В цій групі тварин з міопією та діабетом не виявлено статистично вірогідної різниці рівня фДНК по відношенню до

відповідних даних у щурів тільки з діабетом, але була відмічена чітка тенденція до зниження, що може бути обумовлено суттєвим коливанням значень цього показника в групах. В групі тварин з діабетом рівень фДНК зростав в сітківці на 56,8% по відношенню до контролю ($p < 0,01$).

При порівнянні даних маркеру раннього апоптозу в сітківці щурів з діабетом з відповідними даним групи тварин з міопією, слід зазначити наявність вірогідних змін рівня цього показника в сітківці на 46,8% ($p < 0,05$).

На рисунку 4.12. графічно представлені відносні зміни вмісту фрагментованої ДНК в сітківці щурів різних експериментальних груп.

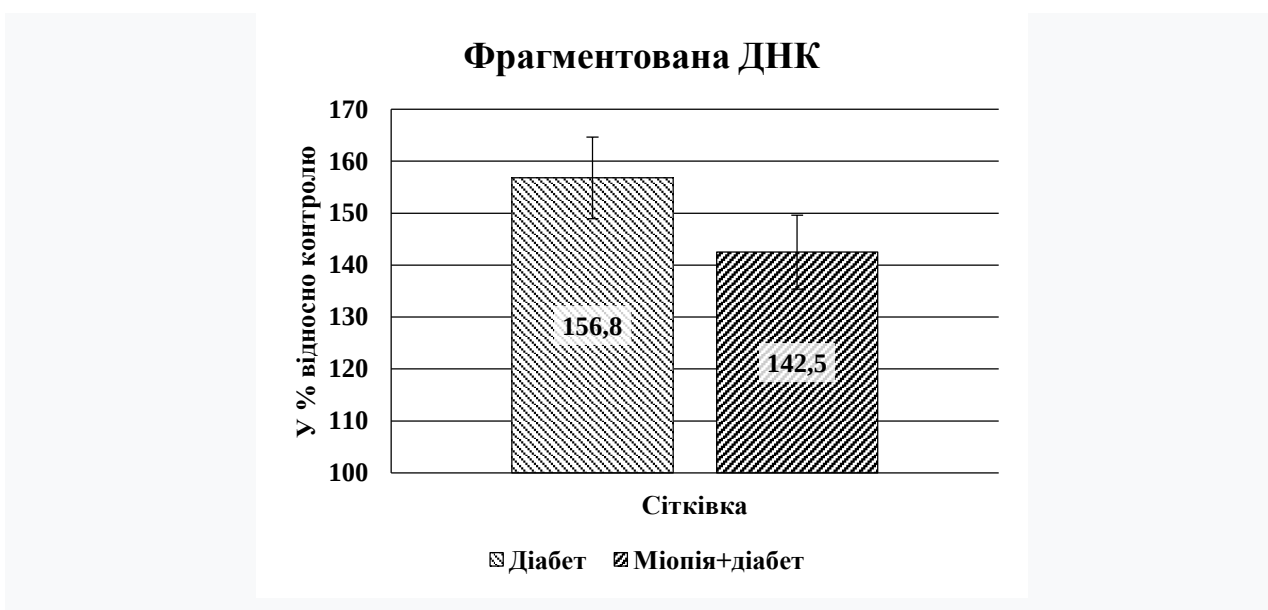


Рис.4.12. Відносні зміни вмісту фДНК в сітківці щурів експериментальних груп з діабетом та міопією.

Таким чином встановлено більш значну вірогідність процесу раннього апоптозу клітин сітківки при експериментальному діабеті з еметропічними очима, ніж при діабеті, який розвинувся на тлі міопії.

Наступною задачею дослідження було вивчення рівню нейротрофічного фактору мозку BDNF в організмі щурів з діабетом та у супроводі міопії. Цей фактор є важливим регулятором виживання нейронів. Вивчали його рівень в сітківці та плазмі крові експериментальних тварин [28]. Дані цього дослідження представлені в таблиці 4.7.

Оцінюючи дані змін BDNF у експериментальних тварин, можна констатувати наявність таких змін в обох експериментальних групах, але ступінь змін в них була різною. Так в тканині сітківки щурів з діабетом відмічене суттєве зниження вмісту BDNF на 37,6% відносно контролю, в крові вміст цього мозкового фактору був знижений на 28,2% ($p < 0,05$).

Тоді як в групі тварин з діабетом та міопією рівень BDNF в крові та сітківці знижався менш виражено. Так в порівнянні з контрольною групою вміст цього показника був знижений в плазмі крові на 18,1%, в сітківці – на 15,1% ($p > 0,05$).

Таблиця 4.7.

Вміст BDNF в сітківці і плазмі крові (в пг/мг білка) щурів при деприваційній міопії і стрептозотоциновому діабеті

Статистичні показники	Контроль (n = 10)	Діабет (n = 15)	Міопія + діабет (n = 15)
Плазма крові			
M±m	5,24±0,35	3,76±0,24	4,29±0,32
%	100,0	71,8	81,9
p	-	<0,05	<0,05
%1	-	100	114,0
p1	-	-	>0,05
Сітківка			
M±m	23,78±1,96	14,83±1,24	20,19±1,73
%	100,0	62,4	84,9
p	-	<0,01	>0,05
%1	-	100,0	136,1
p1	-	-	<0,01

Примітки: n - кількість тварин; p - рівень вірогідності відмінностей даних по відношенню до контрольної групи; p₁ - рівень вірогідності відмінностей даних по відношенню до групи тварин с діабетом.

Порівнюючи дані вмісту BDNF цих двох експериментальних груп отримали наступні результати. В групі з міопією і діабетом цей показник відрізнявся від відповідних даних групи тварин тільки з діабетом таким чином: в плазмі крові він мав тенденцію до підвищення на 14,0% ($p>0,05$), а в сітківці рівень цього показника був на 36,1% вище ($p<0,01$).

На рисунку 4.13. графічно представлені відносні зміни вмісту нейротрофіну BDNF в плазмі крові та сітківці щурів різних експериментальних груп.

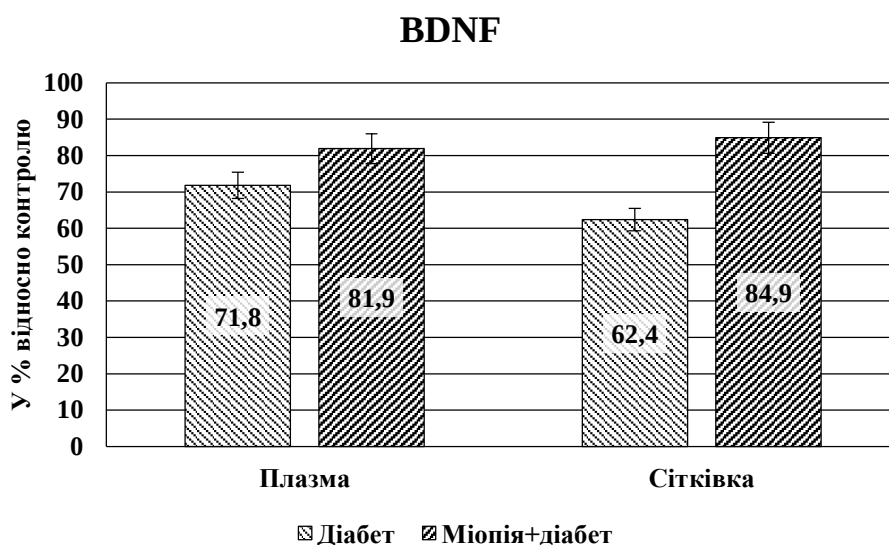


Рис.4.13. Відносні зміни вмісту BDNF в сітківці та плазмі крові щурів експериментальних груп з діабетом та міопією.

Таким чином, з даних таблиці та рисунку видно, що в групі щурів з діабетом у супроводі міопізації очного яблука, зниження рівня нейротрофічного фактору мозка в плазмі крові і особливо в тканині сітчастої оболонки було значно менш виражено, ніж в групі з діабетом без міопії.

Виходячи з цього факту можна констатувати, що при формуванні діабету на тлі осьової міопії BDNF міг діяти більшою мірою в якості нейропротекторного фактору та чинити захисний вплив на сітківку.

4.3. Взаємозв'язок між змінами метаболічних та структурних показників у щурів при моделюванні діабету з міопією

У попередніх розділах нами було отримано дані щодо змін в структурі та кількості нервових клітин сітківки, змінами по різних маркерах метаболічного стану у експериментальних щурів в групах з міопією високого ступеню, діабетом з розвитком ознак діабетичної ретинопатії, діабетом на тлі міопії. Встала необхідність оцінити взаємозв'язок цих змін між собою. Тому наступним етапом дослідження було проведення оцінки взаємозв'язків між структурними та метаболічними показниками в сітківці щурів різних експериментальних груп [29]. З цією метою було проведено аналіз кореляційних зв'язків між кількістю гангліозних клітин в сітківці і рівнем фДНК, BDNF та показниками енергетичного обміну. Так, перш за все була встановлена пряма кореляційна залежність між кількістю ГК і клінічним станом сітківки, оціненим офтальмоскопічно. Коефіцієнт цієї кореляції становив $R=0,74$, ($p<0,05$).

При оцінці залежності між рівнем глюкози в крові та ступенем порушень клінічного стану сітківки щурів з діабетом та при діабеті на тлі міопії відзначався позитивний кореляційний взаємозв'язок - ранговий коефіцієнт кореляції Спірмена становив $R=0,70$ та $R=0,67$ відповідно для цих груп тварин ($p<0,05$). Також була виявлена вірогідна позитивна кореляційна залежність між ступенем порушень стану сітківки щурів та рівнем в цій структурі фДНК при діабеті ($R=0,67$, $p<0,05$) та при діабеті на тлі міопії ($R=0,72$, $p<0,05$). Це свідчить про інформативність такого маркера раннього апоптозу щодо можливості прогнозування діабетичних змін на сітківці.

В таблиці 4.8. представлені результати кореляційного аналізу різних метаболічних показників з морфометричним маркером сітківки – кількістю гангліозних клітин в експериментальних групах. При визначенні залежності між кількістю ГК і метаболічними показниками в сітківці щурів при гіперглікемії встановлено наявність прямої кореляції між кількістю ГК і рівнем

нейротрофічного фактору мозку BDNF ($R=0,52$, $p<0,05$), рівнем АТФ ($R=0,58$, $p<0,05$), рівнем АДФ ($R=0,53$, $p<0,05$), активністю сукцинатдегідрогенази ($R=0,56$, $p<0,05$) та негативний кореляційний зв'язок для лактату та пірувату ($R=-0,54$ та $R=-0,51$, відповідно, $p<0,05$).

Таблиця 4.8

Пари кореляційних зв'язків між дослідженими показниками щурів при деприваційній міопії і стрептозотоциновому діабеті

Пари кореляційних зв'язків		Досліджені групи тварин			
		Діабет		Міопія+діабет	
		Коефі- цієнт кореляції	Досто- вірність, р	Коефі- цієнт кореляції	Досто- вірність, р
Кількість ГК	фДНК	-0,74	<0,05	-0,72	<0,05
Кількість ГК	СДГ	0,56	<0,05	0,62	<0,05
Кількість ГК	АТФ	0,58	<0,05	0,67	<0,05
Кількість ГК	АДФ	0,53	<0,05	0,64	<0,05
Кількість ГК	BDNF	0,52	<0,05	0,58	<0,05
Кількість ГК	Лактат	-0,54	<0,05	-0,56	<0,05
Кількість ГК	Піруват	-0,51	<0,05	-0,54	<0,05

Встановлено наявність прямої кореляції між кількістю ГК і рівнем нейротрофічного фактору мозку BDNF ($R=0,58$, $p<0,05$), рівнем АТФ ($R=0,67$, $p<0,05$), рівнем АДФ ($R=0,64$, $p<0,05$), активністю сукцинатдегідрогенази

($R=0,62$, $p<0,05$) та негативний кореляційний зв'язок для лактату та пірувату ($R=-0,56$ та $R=-0,54$, відповідно, $p<0,05$) в сітківці щурів при гіперглікемії на тлі деприваційної міопії.

В наших дослідженнях встановлено наявність прямої кореляції між кількістю ГК в гістологічних зразках та клінічним станом сітківки ($R=0,74$, $p<0,05$), а також з показниками енергетичного обміну в сітківці – рівнем АТФ та активністю сукцинатдегідрогенази, а також вмістом лактату та пірувату у щурів з діабетом на тлі міопії.

На рисунку 4.14. графічно представлено кореляційний зв'язок між нейрональним станом сітківки та метаболічними показниками при експериментальному діабеті та діабеті у супроводі міопії у щурів.

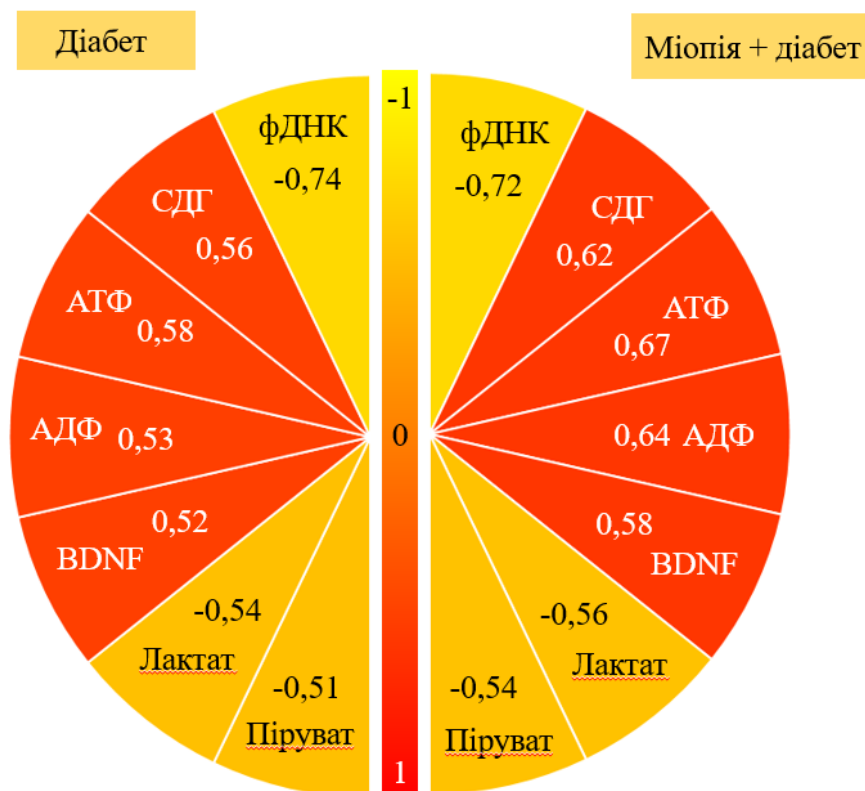


Рис.4.14. Кореляційний зв'язок між кількістю гангліозних клітин та метаболічними показниками в сітківці щурів з експериментальним діабетом та діабетом з міопією.

Показано наявність прямої кореляції між кількістю ГК та вмістом нейротрофічного фактору мозку BDNF в сітківці щурів з діабетом і міопією. Зниження рівня цього фактору відіграє важливу патогенетичну роль при розвитку нейродегенерації та розвитку ретинопатії. Встановлена залежність може мати позитивний вплив на якість діагностики та прогнозування динаміки розвитку очної патології.

Виявлений нами в експерименті у щурів взаємозв'язок між станом сітківки, гістоморфологічними показниками та маркерами енергетичного обміну, рівнем BDNF та маркеру раннього апоптозу фДНК у тварин з діабетом, індукованому на тлі осьової міопії, можуть мати значення для встановлення механізму взаємовпливу між міопією і діабетичними ускладненнями в сітківці.

Узагальнення до розділу 4.

Експериментальними дослідженнями на моделях захворювання було встановлено, що при стрептозотоциновому діабеті у щурів розвивається порушення як системного так і локального тканинного енергетичного обміну. При біохімічному дослідженні в сітківці щурів виявлено формування ознак гіпоксії, рівень лактату та пірувату був підвищений на 83,8%, та 45,5%. Подібні зміни було встановлено для цих показників в крові тварин з діабетом. В той же час при моделювання діабету на тлі міопії ці показники в сітківці перевищували контрольні на 46,6% та 23%. Тобто формування стану гіпоксії в організмі та нейрональній тканині ока було нижче.

Також було встановлено зміни рівню енергетичних метаболітів АТФ і АДФ при моделюванні діабету в обох групах, але в групі сумісного моделювання міопії та діабету ці зміни були менш виражені. Результати вивчення вмісту АТФ та АДФ в групі щурів тільки з діабетом свідчать про вірогідне зниження цих метаболітів в плазмі крові - АТФ на 27,4%, АДФ на 19,8%; та в сітківці - АТФ на 37,3%, АДФ на 23,7% відносно контролю.

В той же час в групі з діабетом і осьовою міопією встановлено зростання рівня АТФ у тварин з діабетом і осьовою міопією в плазмі крові на 21,8%, в сітківці – на 21,2% при порівнянні з відповідними даними щурів тільки з діабетом, що може свідчити про певну активацію енергетичних процесів та розвиток адаптації до гіпоксії в клітинах сітківки.

При дослідженні активності мітохондріального ферменту сукцинатдегідрогенази, що дозволяє об'єктивно оцінювати функціональний стан органел, які відповідальні за продукцію енергетичних молекул в нейрональних клітинах сітківки, доведено у тварин з діабетом активність цього ферменту була знижена на 27,6%. При моделюванні діабету на тлі міопії активність ретинальної мітохондріальної сукцинатдегідрогенази зростала на 20,8% при порівнянні з відповідними даними у щурів тільки з діабетом. Ці дані також свідчать про активацію енергетичного обміну в сітківці при умовах, коли міопія супроводжує діабет.

Дані цих біохімічних досліджень свідчать про вірогідне підвищення енергостворення та зниження гіпоксії в сітківці щурів з діабетом на тлі міопії по відношенню до групи з діабетом без міопії.

Отримані нами в експерименті на моделях захворювання дані стосовно вірогідних метаболічних механізмів протекторної дії міопізації ока на формування діабетичних ускладнень на сітківці будуть мати значення для подальшого розуміння патогенезу діабетичної ретинопатії у пацієнтів з цукровим діабетом у супроводі з міопією.

Встановлено в сітківці тварин з діабетом зростання маркера раннього апоптозу фДНК на 56,8% по відношенню до контролю. В групі тварин з міопією та діабетом була відмічена чітка тенденція до зниження цього показника. Таким чином встановлено більш значну вірогідність процесу раннього апоптозу клітин сітківки при експериментальному діабеті з еметропічними очима, ніж при діабеті, який розвинувся на тлі міопії.

Встановлено, що в групі щурів з діабетом у супроводі міопізації очного яблука, зниження рівня нейротрофічного фактору мозка в плазмі крові і

особливо в тканині сітчастої оболонки було значно менш виражено, ніж в групі з діабетом без міопії. В групі з міопією і діабетом цей показник відрізнявся від відповідних даних групи тварин тільки з діабетом таким чином: в плазмі крові він мав тенденцію до підвищення на 14,0% , а в сітківці рівень цього показника був на 36,1% вище.

Виходячи з цього факту можна констатувати, що при формуванні діабету на тлі осьової міопії BDNF міг діяти більшою мірою в якості нейропротекторного фактору та чинити захисний вплив на сітківку.

При проведенні оцінки взаємозв'язків між структурними та метаболічними показниками в сітківці щурів різних експериментальних груп встановлено існування прямої кореляції між кількістю ГК і рівнем нейротрофічного фактору мозку BDNF ($R=0,52$, $p<0,05$), рівнем АТФ ($R=0,58$, $p<0,05$), рівнем АДФ ($R=0,53$, $p<0,05$), активністю сукцинатдегідрогенази ($R=0,56$, $p<0,05$) та негативний кореляційний зв'язок для лактату та пірувату ($R=-0,54$ та $R=-0,51$, відповідно, $p<0,05$).

Публікації за матеріалами 4 розділу:

1. Михейцева, І., Амаїєд, А., & Коломійчук, С. (2023). Енергетичний стан сітківки щурів з експериментальним діабетом і осьовою міопією. *Офтальмологічний журнал*, 4, 61–66. <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh202346166>
2. Михейцева, І. М., Амаїєд, А., Артьомов, О. В., Коломійчук, С. Г., & Кузнецов, М. К. (2024). Вміст нейротрофічного фактору мозку BDNF в сітківці щурів з індукованим діабетом і осьовою міопією, взаємозв'язок зі структурою нейрональних елементів сітківки. *Офтальмологічний журнал*, 3, 40–44. <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh202434044>
3. Михейцева, І. М., Амаїєд, А., Коломійчук, С. Г., & Артьомов, О. В. (2024). Взаємозв'язок між структурними змінами, маркером апоптозу та метаболічними показниками в сітківці щурів з діабетом та міопією.

Офтальмологічний журнал, 6, 48–53.
<https://doi.org/10.31288/oftalmolzh202464853>

4. Михейцева, І. М., Коломійчук, С. Г., Сіроштаненко, Т. І., & Амаїєд, А. (2024). Метаболічні показники гіпоксичного стану сітківки при експериментальній діабетичній ретинопатії та осьовій міопії. *Збірник праць міжнародної науково-практичної міждисциплінарної конференції*, 64–66. <https://reposit.institut-filatova.com.ua/handle/123456789/742>
5. Михейцева, І. М., Коломійчук, С. Г., Сіроштаненко, Т. І., & Амаїєд, А. (2022). Вивчення показників енергетичного обміну в сітківці щурів при діабеті II типу та міопії. *Сучасні проблеми медицини: Практична офтальмологія. Сучасні проблеми екологічної медицини: Збірник праць науково-практичної конференції*, 52–54. <https://reposit.institut-filatova.com.ua/handle/123456789/1251>
6. Михейцева, І. М., Коломійчук, С. Г., Сіроштаненко, Т. І., & Амаїєд, А. (2022). Активність мітохондріальної сукцинатдегідрогенази в сітківці щурів при моделюванні діабету II типу на тлі деприваційної міопії. *Актуальні проблеми сучасної біохімії, клітинної біології та фізіології: Матеріали VI міжнародної наукової конференції*, 157–158. <https://reposit.institut-filatova.com.ua/handle/123456789/1250>
7. Михейцева, І. М., Амаїєд, А., Артьомов, О. В., Коломійчук, С. Г., & Сіроштаненко, Т. І. (2024). Взаємозв'язок між гістоморфологічним станом та маркером апоптозу у сітківці щурів з гіперглікемією та міопією високого ступеня. *Теорія та практика сучасної морфології: Матеріали Восьмої Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю*, 97–98. <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh202464853>

РОЗДІЛ 5.

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експериментальне дослідження, що склало суть цієї роботи, обумовлено необхідністю вивчення можливих особливостей структурних та метаболічних змін в сітківці при цукровому діабеті в умовах міопізації очей.

Діабетична ретинопатія, яка є тяжким ускладненням ЦД, останнє десятиріччя значно поширюється по всьому світу. Відповідно даних мета-аналізу Міжнародної діабетичної федерації численність хворих на ЦД у 2019 році становила 463 млн, тоді як у 2045 очікується їх збільшення до 700 млн. Поширеність ДР серед пацієнтів з діабетом за даними цього дослідження становить 22,27%. У 2020 році пацієнтів з ДР у світі, як вважають дослідники, було 103,12 млн, тоді як у 2045 році їх буде вже 160,50 млн [32].

У світовій літературі є невелика кількість робіт про можливу вірогідність зниження прогресування діабетичних змін в сітківці при міопії високого ступеню. В даний час механізм захисної дії міопії при діабетичній ретинопатії не зрозумілий, ще не вивчений зв'язок із структурними змінами ока і його компонентів. Мета-аналіз популяційних перехресних досліджень показав, що процес міопізації знижує ризик розвитку діабетичних ускладнень в сітківці в порівнянні з еметропічними очима. Автори показали, що збільшення аксальної довжини очного яблука на 1 мм у пацієнтів на цукровий діабет знижує частоту розвитку початкової діабетичної ретинопатії в 0,86 рази, розвиненої - в 0,8 рази. Збільшення рефракції на 1 діоптрію знижує ризик розвитку діабетичної ретинопатії в 0,9 рази, збільшення глибини передньої камери на 1,1 мм - в 0,32 рази [5]. В той же час механізми протекторної дії міопізації ока до сього часу невідомі. Висловлювалась думка, що подовження аксальної осі може бути пов'язано зі зниженням функції сітківки та зменшенням споживання кисню зовні [168].

Wang X. з співавторами розмислювали над тим, що зниження метаболізму та дегенерація в сітківці можуть знижувати гіпоксичні наслідки діабету [5]. Це в

свою чергу потенційно знижує продукцію запальних та ангіогенних цитокінів. Викликаний подовженням вісі очного яблука збільшений об'єм ока може викликати зниження вмісту фактору росту ендотелія судин, тоді як менша концентрація VEGF потенційно веде до затримки розвитку діабетичної ретинопатії.

Але глибоке вивчення зв'язку між міопією та ДР мало б вирішальне значення як для розуміння патофізіологічних механізмів формування діабетичних вад на сітківці, так і для формування стратегії підтримки здоров'я людини. Наша робота спрямована на вирішення цієї проблеми шляхом вивчення деяких ланок патогенезу ДР у супроводі міопії.

Вирішення таких проблем можливо на моделях захворювань. В якості об'єкту дослідження було обрано щурів як найбільш відповідних лабораторних тварин, на яких можливо відтворювати модель як осьової міопії та і діабету з розвитком діабетичної ретинопатії.

Моделювання осьової міопії ми здійснювали деприваційним методом, коли маленьким щурят 2-х тижнів віку зашивали повіки на 2 тижні. Саме у цей період є найбільш чутливим для щурів щодо формування короткозорості, в цьому віці у них розкриваються повіки [169]. Крім того було використано обтяжуючи умови витримування тварин при обмеженому освітленні. Було раніше показано, що зменшення освітлення подовжує вісь очного яблука [5, 25]. За таким принципом було розроблено модель міопії підвищеного ступеня.

Аксіальна міопія характеризується збільшенням подовженням ПЗР. Починаючи з народження, очне яблуко активно збільшується в усіх напрямках, в результаті чого око набуває сферичної форми [95].

Результати Qi J et al., 2021 показали, що довжина заднього сегмента позитивно корелює з аксіальною довжиною у досліджуваній популяції. ASL/PSL не були постійним в очах з різною осьовою довжиною, але мали відносно різку тенденцію до зниження зі збільшенням осьової довжини в очах з короткозорістю, а потім плавно знижувався в очах з нормальною, помірною та сильною міопією [94, 170].

Після закінчення 2-х тижневого терміну знаходження в умовах зниженого освітлення шви з повік знімали. Через 2 тижні у 15 щурів в групі з осьовою міопією і у 15 інтактних щурів моделювали стрептозотоциновий діабет 2 типу кратним внутрішньоочеревинним введенням субдіабетичних доз стрептозотоцину (15,0 мг/кг маси) протягом 5 днів. Крім того, тварини отримували підвищений вміст жирів в харчовому раціоні. Дослідження показують, що поєднання дієти з високим вмістом жирів з багаторазовим введенням низьких доз СТЗ та одноразовим введенням високих доз СТЗ тваринам ефективно індукує діабет 2 типу та діабет 1 типу у щурів, відповідно. Дієта з високим вмістом жирів призводить до ожиріння, гіперінсулінемії та порушення гомеостазу глюкози через недостатню компенсацію бета-клітинами острівців підшлункової залози [105, 155]. Це дозволяє нам вважати, що був індукований діабет 2 типу. Так, за даними М. А. Ковальова та ін., враховуючи, що з віком проліферативні властивості підшлункової залози знижуються, моделювання стрептозотоцинового діабету у щурів у віці 4 – 5 тижнів може викликати розвиток діабету 2 типу [171]. Згідно з результатами досліджень М. В. Колбіна з співавторами, при моделюванні стрептозотоцинового діабету у новонароджених щурів при їх утриманні на багатому ліпідами раціоні розвивався цукровий діабет 2 типу [172]. Розвиток діабету у щурів нагадував перебіг цукрового діабету 2 типу у людей. Це підтверджується підвищенням рівня глюкози в глікозильованому гемоглобіні при збереженій секреції С-пептиду [172]. Як інсулін, так і С-пептид зберігаються в секреторних везикулах і вивільняються в еквімолярних концентраціях при стимуляції бета-клітин глюкозою та іншими стимуляторами секреції [93]. Найважливіші показання для вимірювання рівня С-пептиду включають диференціальну діагностику гіпоглікемії натще з гіперінсулінізмом і як показник секреторного резерву інсуліну. Нормальна фізіологічна концентрація С-пептиду в плазмі крові натщесерце становить від 0,9 до 1,8 нг/мл. Високий рівень може свідчити про інсулінорезистентність або захворювання нирок. Низький рівень С-пептиду зазвичай спостерігається у пацієнтів з діабетом 1-го або 2-го типу [95].

В роботі нами було встановлено, що при експериментальному діабеті у щурів, який було індуковано на тлі сформованої моделі осьової міопії, гістоморфологічні зміни на сітківці, а саме в нервових елементах сітківки, мали відмінності від тих змін, які ми спостерігали у щурів з діабетом і еметропією [28].

В експерименті було вивчено стан шару гангліозних клітин, шару біполярних нейронів та шару фоторецепторів в 3-х дослідних групах і контролі. Якщо при гістологічному дослідженні в сітківці контрольного щура відзначали високу щільність усіх нейрональних шарів сітківки. Тоді як, в трьох експериментальних групах встановлена різна ступень порушень морфологічного стану нейронального апарату сітківки за даними гістопрепаратів. Так в сітківці щурів групи з осьовою міопією щільність нейронів гангліозного шару місцями наближалась до контрольної групи, але в цілому була декілька нижче. У шарах біполярних і фоторецепторних клітин змін щільності нейронів не відзначено.

У групі з експериментальним діабетом гістологічна картина сітчастої оболонки була уражена значно більше. Вона характеризувалась нерівномірною щільністю нейронів гангліозного шару, місцями з наявністю ділянок випадіння ГК. При цьому щільність ГК в окремих ділянках була суттєво знижена у співвідношенні з контролем. В інших нейрональних шарах сітківки значних змін не спостерігалось. Таким чином, в групі з експериментальним діабетом розвилися характерні для ДР зміни в гангліозному шарі сітківки.

Модель цукрового діабету, яку індукують введенням стрептозотоцину було запропоновано Rakieta та співавт. у 1963 році. З того часу вона широко використовується в наукових дослідженнях. Стійка гіперглікемія, поліурія, полідипсія характерні для ЦД, відтворюються в цій моделі у тварин (щури, собаки, рідше кролики). Стрептозотин викликає порушення в островках Лангергансу і втрату β -клітин [173]. Механізмом дії СТ є клітинна загибель шляхом фрагментації молекули ДНК. Початок ураження сітківки у щурів при СТ моделі діабету спостерігається біля 2 тижнів після індукування діабету

розпадом гемато- ретинального бар'єру. Зовнішній ядерний шар витончується за 4 тижні після індукції діабету, що формує вже ознаки діабетичної ретинопатії [174]. В нашому експерименті ми вивчали структурні зміни в сітківці саме на таких строках моделювання діабету (через 4 – 5 тижнів) [28, 29].

З даних літератури стосовно розвитку структурних змін на очному дні в експериментальних дослідженнях на стрептозотоциновій моделі у щурів відомо, головним чином, про морфологічні зміни судин та хоріоретинального комплексу сітківки [25, 26]. Були встановлені у тварин в динаміці розвитку експериментального діабету порушення інtrarетинальних та хоріоїдальних судин. Поступово деформуються ендотеліоцити, спостерігається вакуолізація цитоплазми та порушення структури мітохондрій. Автори відзначали міграцію білих клітин крові до навколосудинного простору хоріоїдеї та субретинальний простір. Робиться висновок, що дані свідчать про порушення геморетинального бар'єру та локальне запалення.

У роботі, виконаній в Інституті Філатова [25], при електро-мікроскопічному дослідженні вивченні хоріоретинального комплексу у щурів зі стрептозотоциновим діабетом та міопією було встановлено зменшення набряку хоріоїдеї, посилення в ендотелії судин і хоріокапілярів, в клітинах пігментного епітелію компенсаторних процесів та синтезу білків.

Довгий час вважалось, що ДР є суттєво судинна патологія, при якій первинно страждають невеликі судини ока. Але в останні роки погляд на механізми розвитку ДР суттєво змінюється. Все більше розповсюджується думка, що первинними є порушення в нервових елементах сітківки [2, 3]. Нейродегенерація сітківки вважається вже багатьма дослідниками в якості попереджального явища прогресування ДР. Апоптотичні зміни нервових клітин сітківки автори експериментального дослідження спостерігали після одного місяця індукції діабету [175]. Саме втрата ГК та зменшення товщини сітківки були характерні при моделюванні діабету в мишей [176]. Ми спостерігали в нашому дослідженні у щурів зі стрептозотоциновою моделлю діабету такі ж зміни гангліозного шару сітківки.

При зіставленні структурних змін сітківки у щурів з діабетом проти тих, що розвинулись на сітківці щурів з діабетом і міопією, було встановлено таку вірогідну різницю, яка може бути свідченням того, що подовження осі очного яблука внаслідок міопії у експериментальних тварин сприяє протекції діабетичних змін в сітківці, і це було підтверджено на гісто-морфологічному рівні. Морфометричні дослідження довели, що у щурів з моделлю діабету кількість ГК сітківки зменшується на 64,4%, тоді як при діабеті на тлі міопії середня кількість ГК сітківки була менше на 28,9% відносно інтактних тварин.

В групі зі стрептозотоциновим діабетом на тлі осьової міопії, на відміну від групи тільки з діабетом, виявлено досить високу щільність нейронів в шарі гангліозних клітин сітчастої оболонки, яка місцями досягала 20 клітин, що наближало стан нервових елементів сітківки у деяких випадках до контрольних значень. Вважаємо, це є свідченням того, що подовження осі очного яблука внаслідок міопії у експериментальних тварин сприяє протекції діабетичних змін в сітківці, що підтверджено на морфологічному рівні.

Таким чином, результати гісто-морфологічних досліджень показали, що міопізація очного яблука у щурів, що супроводжується подовженням передньо-задньої осі ока, знижує тяжкість патологічних змін в гангліозних клітинах сітківки при моделюванні діабету [28, 29].

Встановлені особливості структурних змін внутрішнього шару сітківки у щурів з діабетом на тлі осьової деприваційної міопії високого ступеню у щурів, спонукали нас вивчити ультраструктуру нейрональних елементів сітківки у цих тварин, порівнюючи їх зі змінами в аналогічних елементах інших експериментальних груп.

Проведене дослідження ультраструктури нейрональних елементів сітківки при експериментальному діабеті встановило наявність значних внутрішньоклітинних пошкоджень [23]. Більшість нервових клітин внутрішнього ядерного шару сітківки перебувають в стані гідропічної дистрофії, тіла мюллерівських клітин мають патологічні елементи з осміофільним ядром та деструкцією органел. Аналогічні ультраструктурні

зміни притаманні також гангліозним клітинам (ГК) та відросткам мюллерівських клітин, тобто вони характеризувались вже дистрофією та деструкцією органел цитоплазми. В той же час при діабеті на тлі міопії нервові клітини внутрішнього шару сітківки у щурів в деяких випадках мали значно менш виражені ультраструктурні зміни, ніж у тварин тільки з діабетом, а інколи стан органел цих клітин був близьким до норми.

Це може свідчити про протекторний вплив подовження сагітальної осі очного яблука щодо розвинення деструктивних змін нервових клітин сітківки при діабеті та зменшення можливості розвитку діабетичної ретинопатії, особливо її тяжких форм.

При порівнянні отриманих у нашому дослідженні даних щодо ультраструктурних змін нервових клітин сітківки при моделюванні діабетичної ретинопатії з даними інших дослідників, головною думкою є факт, що ДР - це патологічний процес, який вражає не тільки судини сітківки, але й нейрональні та гліальні тканини сітківки [177].

Як було підкреслено вище, стає все більш розповсюдженим трендом, що нейродегенерація сітківки - це найбільш рання подія при прогресуванні ДР [3, 178], на відміну від донедавна існуючої думки про первинність судинних змін при діабетичній ретинопатії. При цьому порушення гангліозних клітин є основною патологічною ознакою нейродегенерації сітківки, яка спричинена діабетом [12].

Таким чином, наші експериментальні дані на моделях захворювань деякою мірою розкривають таємницю «протекторної» дії міопії при розвитку діабетичних ускладнень на сітківці. Отримані свідчення особливостей ультраструктурних змін нейросенсорного апарату сітківки при діабеті у щурів, розвиненому на тлі подовження передньо-задньої осі очного яблука (осьової міопії), говорять про спроможність сітківки в цих умовах зберігати структуру, близьку до нормальної [27].

Різні метаболічні чинники патогенезу діабетичної ретинопатії вивчаються протягом останнього часу, але особливості патогенетичних

механізмів діабетичних змін в сітківці при міопії високого ступеню залишались не дослідженими. Для патологій з судинним генезом, до яких належить і діабетична ретинопатія, характерна гіпоксія тканин, що викликає розвиток дефіцитного енергетичного стану. Головний фактор цукрового діабету – гіперглікемія – спонукає мітохондрії до продукування реактивних форм кисню, накопиченню цих метаболітів в нервових клітинах сітківки, що призводить до суттєвої дисфункції цих клітин та органічним порушенням їх мембран та органел [179]. Перш за все страждають мітохондрії нервових клітин, які є «кузнями» енергії. Порушення енергетичного обміну має патогенетичне значення щодо процесів діабетичних ускладнень на сітківці.

Таким чином, серед метаболічних чинників ДР важливу роль відіграють процеси енергетичного забезпечення клітин сітківки. Клітини сітківки особливо активні в обміні речовин і вразливі до дефіциту енергії. Розуміння енергетичного метаболізму внутрішньої частини сітківки, особливо ГК, є ключовим для розуміння патогенезу захворювання.

Тому на наступному етапі дослідження було вивчено стан енергетичного забезпечення сітківки при експериментальному діабеті та міопії у щурів [29]. Отримані дані експерименту по біохімічним маркерам енергетичного стану, а саме вмісту в крові та сітківці лактату і пірувату, показали формування стану гіпоксії в організмі та нейрональній тканині ока при моделюванні діабету у щурів. Так було встановлено підвищення рівню лактату в сітківці групи з діабетом на 83,8%, а пірувату – на 45,5% від контрольних значень. При цьому в групі з діабетом і міопією ці показники були нижче. При порівнянні груп з діабетом без міопії та з міопією різниця показників становила 20,2% для лактату, 15,5% для пірувату. В групі з міопією зрушень лактат-піруватного вмісту в крові та тканині сітківки не виявлено.

Лактат це показник біоенергетичної гіпоксії та один з основних маркерів мітохондріальної дисфункції [180]. Його розглядають у якості раннього прогностичного маркеру, тому що зазвичай його вміст підвищується раніше інших проявів кисневого голодування. Накопичення молочної кислоти

спостерігається у випадках, коли гліколітичне розщеплення глюкози переважає над окисненням пірувату в мітохондріях. Це має місце при зниженні вмісту кисню в клітині, при дисфункції мітохондрій. В цьому разі організм перемикається на менш ефективне виробництво енергії (анаеробне) шляхом розщеплення глюкози з утворенням АТФ. Лактат є основним побічним продуктом цього анаеробного процесу. Значне підвищення лактату в плазмі крові (>3 ммоль/л) свідчить про наявність мітохондріальної дисфункції [181]. Піруват це проміжний метаболіт, відіграє важливу роль у зв'язку метаболізму амінокислот та вуглеводів у циклі трикарбонових кислот, бета-окисненні жирних кислот та комплексі дихального ланцюга мітохондрій. Щодо прогностичного значення цього метаболіту, то без визначення вмісту лактату він має обмежену клінічну значущість. Співвідношення лактат/піруват характеризує співвідношення гліколітичного та окисного перетворення вуглеводів.

Мітохондрії - це кузня енергії в клітині, вони беруть участь в обмінних процесах та диханні [182]. Дисфункція мітохондрій серйозно впливає на гомеостаз тканин. Однією з основних функцій мітохондрій є виробництво аденозинтрифосфату (АТФ) – молекули, яка виконує роль акумулятора енергії для клітин та всього організму.

В нашому експерименті також було встановлено зміни рівню енергетичних метаболітів АТФ і АДФ при моделюванні діабету в обох групах, але в групі сумісного моделювання міопії та діабету ці зміни були менш виражені. Результати вивчення вмісту АТФ та АДФ в групі щурів тільки з діабетом свідчать про вірогідне зниження цих метаболітів в плазмі крові - АТФ на 27,4%, АДФ на 19,8% та в сітківці - АТФ на 37,3%, АДФ на 23,7% відносно контролю. Встановлено зростання рівня АТФ у тварин з діабетом і осьовою міопією в плазмі крові на 21,8%, в сітківці – на 21,2% при порівнянні з відповідними даними щурів тільки з діабетом, що може свідчити про певну активацію енергетичних процесів та розвитку адаптації до гіпоксії в клітинах сітківки.

Оскільки нами було отримано докази розвитку гіпоксії при експериментальному діабеті, що спонукає формуванню мітохондріальної дисфункції, ми вивчили активність сукцинатдегідрогенази.

Сукцинатдегідрогеназа це фермент дихального ланцюга мітохондрій. Завдяки функціонуванню пов'язаних між собою трансмембранних білків та переносників електронів в цій структурі формується енергетичний запас у вигляді молекул АТФ. Сукцинатдегідрогеназа це тетрамерний мембрано білковий комплекс, який розташований на внутрішньому боці мітохондрій.

Цей ферментний комплекс приймає участь у циклі трикарбонових кислот, окислюючи сукцинат до фумарату, та у перенесення електронів, відновлюючи убихинон. Це один з ключових факторів забезпечення клітин енергією [183].

Вивчення активності ферменту сукцинатдегідрогенази в мітохондріях сітківки дозволяє об'єктивно оцінювати функціональний стан органел, які відповідальні за продукцію енергетичних молекул АТФ в нейрональних клітинах сітківки і свідчить про ступінь гіпоксії в них. Дані експерименту показали, що в групі тварин з діабетом активність сукцинатдегідрогенази в сітківці була знижена в порівнянні з контролем на 27,6%. В той же час у щурів з моделюванням діабету на тлі міопії встановлено зростання активності ретинальної мітохондріальної сукцинатдегідрогенази на 20,8% при порівнянні з відповідними даними у щурів тільки з діабетом, що свідчить про активацію енергетичного обміну в сітківці у тварин з діабетом в умовах міопізації очного яблука.

Таким чином в нашій експериментальній роботі на моделях захворювання було встановлено, що у всіх тварин з моделюванням діабету 2 типу підтверджено формування гіпоксичного стану в сітківці з підвищенням вмісту біохімічних маркерів цього процесу - лактату, пірувату та їх співвідношення відносно контрольних даних. При цьому у тварин групи з послідовним моделюванням осьової міопії та діабету виявлено статистично вірогідне зниження цих показників в сітківці в порівнянні з групою тільки з діабетом, що

свідчить про зменшення гіпоксичного стану при збільшенні аксиальної довжини очного яблука (міопізації ока).

Окрім виявлення стану гіпоксії сітківки у щурів з модельованим діабетом в нашому дослідженні встановлено зниження в сітківці та крові цих тварин вмісту аденинових нуклеотидних метаболітів АТФ і АДФ та активності ферменту сукцинатдегідрогенези, які є маркерами енергетичного потенціалу клітин. Міопізація ока щурів при моделюванні діабету супроводжувалась деяким покращенням енергетичного стану та підвищенням цих показників. В групі з послідовним моделюванням осьової міопії та діабету виявлено статистично вірогідне підвищення рівня енергетичних біохімічних маркерів та активності мітохондріального ферменту в сітківці в порівнянні з групою тільки з діабетом.

Як відомо, рівень АТФ і АДФ являються важливими регуляторами секреції інсуліну, яка стимулюється рівнем глюкози. В аеробних клітинах потенціал фосфорилування контролюється за допомогою механізмів, які характерні для мітохондріального метаболізму, та викликають компенсаторні зміни в транспорті електронів. Зміни енергетичної функції мітохондрій можуть викликати пошкодження всього електроно-транспортного ланцюга мітохондрій [184]. У хворих цукровим діабетом 1 та 2 типів виявлено зниження рівня АТФ та порушення структурно-функціональних властивостей в мембрано-рецепторному апараті клітин [30]. Встановлено також, що співвідношення АТФ / АДФ в еритроцитах крові хворих цукровим діабетом знижується [185].

Сукцинатдегідрогеназа це один з основних ферментів енергетичного обміну клітини. Зрушення її активності свідчить про наявність мітохондріальної дисфункції. Цей фермент являється компонентом мітохондріального дихального ланцюга та циклу Кребса [186]. Отримані в нашому експерименті дані біохімічних досліджень свідчать про вірогідне підвищення енергостворення та зниження гіпоксії в сітківці щурів з діабетом на тлі міопії по відношенню до групи з діабетом без міопії.

Враховуючи отримані дані гісто-морфологічного дослідження та вивчення ультраструктури нейрональних елементів сітківки щурів при експериментальному діабеті та міопії щодо особливостей цих змін в різних дослідницьких групах, надалі було вжито дослідження по визначенню рівня маркера ранньої стадії апоптозу – фракційної ДНК (фДНК) в сітківці тварин.

Апоптоз є доведеною формою загибелі як судинних так і нервових клітин в сітківці при діабетичній ретинопатії у людей і при моделюванні діабету у тварин. Вперше Engerman RL, Kern TS. у 1995 році було опубліковано кількісне дослідження, яке довело поширення апоптозу клітин судинної системи сітківки у тварин з моделями діабетичної ретинопатії [187].

Стосовно апоптозу нервових клітин сітківки то дослідженнями останніх років з використанням методу TUNEL у гістологічних препаратах було доведено для сітківки щурів із стрептозотоциновим діабетом, а також і для посмертних сітківки людей з діабетом, що ця форма загибелі клітин (апоптоз) поширюється, особливо у шарі гангліозних клітин сітківки [188]. Таким чином на даний момент вважається встановленим, що цукровий діабет прискорює апоптоз як судинних так і нервових клітин сітківки. Цей факт доведено гістологічними дослідженнями на різних видах ссавців, включаючи мавп та людей.

Виявити ранні прояви апоптозу дуже не просте завдання. Тому застосування біохімічних маркерів для виявлення цього явища, які дозволяють встановити наявність загибелі клітин шляхом апоптозу, є надзвичайно корисним. Нами було застосовано метод виявлення в тканині сітківки щурів вмісту фракційних молекул ДНК.

В групі тварин з діабетом рівень фДНК зростав в сітківці на 56,8% по відношенню до контролю. Виявлене суттєве зростання рівня маркера ранньої стадії апоптозу (фДНК) в сітківці при експериментальному діабеті, що свідчить про пошкодження біологічних структур тканин ока. Це підтверджує результати досліджень структурних змін сітківки морфологічними методами та розкриває механізми їх здійснення шляхом апоптозу по біохімічному маркеру. При цьому

в основній експериментальній групі відмічена стійка тенденція до зниження рівня цього маркеру ранньої стадії апоптозу в сітківці у тварин з діабетом і міопією [29].

З метою вивчення механізмів протекторного впливу на сітківку при діабеті в умовах подовження осі очного яблука (міопізації ока) було вивчено рівень нейротрофічного фактору мозку BDNF в сітківці та плазмі крові експериментальних тварин різних груп [28]. Цей фактор є важливим регулятором виживання нейронів. Оцінюючи дані змін BDNF у експериментальних тварин, можна констатувати наявність таких змін в обох експериментальних групах з діабетом, але ступінь змін в них була різною. Так в тканині сітківки щурів групи «діабет» відмічене суттєве зниження вмісту BDNF на 37,6% відносно контролю, в крові вміст цього мозкового фактору був знижений на 28,2%. Тоді як в групі «діабет та міопія» рівень BDNF в крові та сітківці знижався менш виражено: в плазмі крові на 18,1%, в сітківці – на 15,1% в порівнянні з контрольною групою.

Нейротрофічний фактор мозку BDNF), який є одним з факторів росту нейротрофінів, у фізіологічних умовах виконує різні функції: він опосередковано викликає нейрогенез та диференціацію нейронів, сприяє зростанню та виживаності нейронів та підтримує синаптичну пластичність та взаємозв'язки нейронів. Цей нейротрофін в змозі забезпечити підтримку нейронів та їх диференціацію. Він захищає клітини від токсичних подразників, таким чином запобігаючи пошкодженню нейронів при різних патологічних станах [189].

Нейротрофічний фактор мозку (BDNF), який взаємодіє з тропоміозін-зв'язаною кіназою В (TrkB), сприяючи росту, диференціюванню нейронів, вивільненню нейротрансмітерів та синаптичній пластичності. BDNF відіграє життєво важливу роль у зростанні нейронів, регуляції їхнього виживання. На сьогоднішній день доведена важлива нейропротекторна роль BDNF в захисті нейронів від ішемічного пошкодження [190]. Цей нейротрофін також утворюється в гангліозних клітинах сітківки. При ДР шар цих клітин сітківки

ушкоджується, що було підтверджено у нашому дослідженні. Тому цілком ймовірна істотна роль цього пептиду у патогенезі ДР [191].

По даним Guo M. та співавт. зниження вмісту BDNF у сироватці крові пацієнтів з ЦД 2 було пов'язане з ДР, а при більш загрозливих для зору формах ретинопатії відмічене найбільш суттєве зниження BDNF. Багатомірний аналіз логістичної регресії, скоригований з урахуванням загальних факторів ризику, показав, що рівні BDNF в системі є незалежними факторами ризику для ДР. Автори вважають, що цей фактор відіграє суттєву роль у патогенезі ускладнень ДР [192].

За нашими даними моделювання діабету у щурів з первинно індукованою осьовою міопією характеризувалось значно меншими змінами рівня BDNF (місцевого і системного), а також супроводжувалось суттєво покращеною морфологічною картиною нейронального апарату сітківки. У тварин з діабетом на тлі міопії нами встановлено зростання кількості ГК у полі зору сітківки порівняно з даними тварин з діабетом та наявність достовірно значущої негативної кореляційної залежності між кількістю ГК та рівнем фДНК, тобто у частини тварин при посиленні міопії ступінь ураження нейроретинальних клітин була менш виражена.

В наших дослідженнях встановлено наявність прямої кореляції між кількістю ГК в гістологічних зразках з показниками енергетичного обміну в сітківці – рівнем АТФ та активністю сукцинатдегідрогенази, а також зворотної кореляції з лактатом та піруватом. Показано наявність прямої кореляції між кількістю ГК та вмістом нейротрофічного фактору мозку BDNF в сітківці щурів з діабетом і міопією. Зниження рівня цього фактору відіграє важливу патогенетичну роль при розвитку нейродегенерації та розвитку ретинопатії. Встановлена залежність може мати позитивний вплив на якість діагностики та прогнозування динаміки розвитку очної патології.

Виявлений нами в експерименті у щурів взаємозв'язок між станом сітківки, гістоморфологічними показниками та маркерами енергетичного обміну, рівнем BDNF та маркеру раннього апоптозу фДНК у тварин з діабетом,

індукованому на тлі осьової міопії, є інструментом для встановлення механізму взаємовпливу між міопією і діабетичними ускладненнями в сітківці.

Таким чином, проведені експериментальні дослідження по вивченню морфологічних та метаболічних змін в сітківці та на організмовому рівні у щурів, яким моделювали цукровий діабет, осьову міопію та поєднання цих патологічних станів, було показано, що формування діабету на тлі міопії мало певні особливості. В цій групі експериментальних тварин спостерігали відмінності в змінах в структури нервових елементів сітківки, особливо у внутрішньому шарі гангліозних клітин у порівнянні з щурами, яким моделювали діабет. У цих тварин структурні порушення були більш значними. Ці зміни спостерігали також на ультраструктурному рівні. Одночасно з структурними відмінностями було виявлено різницю енергетичного стану сітківки в очах з діабетом у супроводі міопії та з еметропією, що було підтверджено кількома маркерами енергетичного стану клітин та рівню гіпоксії. Встановлення стану забезпечення сітківки різних експериментальних груп нейротрофічним фактором мозку BDNF, виявлення кореляційного зв'язку метаболічних маркерів зі структурними змінами в сітківці дозволило говорити про механізми підтвердженого в експерименті протекторного ефекту міопії на формування ретинопатії при дабеті.

Вважаємо, що подовження осі очного яблука (міопізація) у експериментальних тварин сприяє протекції діабетичних змін в сітківці, що підтверджено на молекулярному та морфологічному рівні, ланками цього захисного механізму є нейротрофічний фактор мозку BDNF, активація енергетичного метаболізму.

ВИСНОВКИ

1. Діабетична ретинопатія є тяжким ускладненням цукрового діабету, яка значною мірою поширюється по всьому світу. Вона залишається основною причиною сліпоти серед населення працездатного віку в розвинених країнах. Очікується зростання кількості пацієнтів з діабетичною ретинопатією у світі з 103,12 млн у 2020 році до 160,50 млн у 2045 році. При цьому з клінічної практики відомо, що діабетичні ускладнення на сітківці при наявності міопії значно менші ніж при еметропії. Однак механізми захисного впливу міопізації очного яблука на ступень пошкодження сітківки при діабеті залишаються незрозумілими.
2. Гістоморфологічними дослідженнями встановлено, що зміни внутрішніх шарів сітківки щурів з експериментальним діабетом у супроводі осьової міопії мали певні особливості відносно щурів з діабетом без міопії. У щурів з діабетом і міопією була більш значна щільність гангліозних клітин та їх кількість вдвічі більша. Морфометрично доведено, що у щурів з моделлю діабету кількість ГК сітківки зменшується на 64,4%, тоді як при діабеті на тлі міопії середня кількість ГК сітківки була менше на 28,9%. Це свідчить про те, що на структурному рівні ознаки діабетичної ретинопатії, які характерні для нервових елементів сітківки, при діабеті на тлі міопії були менш виразними. Подовження осі очного яблука внаслідок міопії у експериментальних тварин сприяє протекції діабетичних змін нервових елементів сітківки, що доведено на мікро-структурному рівні.
3. Електронно-мікроскопічними дослідженнями підтверджено наявність значних внутрішньоклітинних пошкоджень нейрональних елементів сітківки при експериментальному діабеті у щурів, які характеризувались дистрофією та деструкцією органел цитоплазми. Встановлено, що при діабеті на тлі міопії нервові клітини внутрішнього шару сітківки у щурів мали значно менш виражені ультраструктурні зміни, ніж у тварин тільки з діабетом. Показано, що у частини нейронів гангліозного шару сітківки

щурів з діабетом у супроводі міопії стан органел був близьким до норми. Таким чином, на ультраструктурному рівні також доведено, що міопізація очного яблука у експериментальних тварин сприяє протекції діабетичних змін нервових елементів сітківки та зменшує вірогідність розвитку діабетичної ретинопатії.

4. У щурів з експериментальним діабетом і міопією встановлено менший системний та локальний ретинальний дефіцит енергетичного стану ніж у щурів тільки з діабетом. Вміст універсального макроергу АТФ в сітківці у них був вище на 21,2%, в плазмі крові на 21,8%, що свідчить про активацію енергетичних процесів та розвиток адаптації до гіпоксії. Показано зниження формування стану гіпоксії в організмі та нейрональній тканині ока у щурів цієї групи по зменшенню вмісту лактату - на 20,2% в сітківці та на 18,5% в плазмі крові відносно даних групи тільки з діабетом. У щурів групи діабет і міопія встановлено зростання в сітківці активності мітохондріального ферменту сукцинатдегідрогенази на 20,8%. Міопізація ока щурів при моделюванні діабету супроводжувалась покращенням енергетичного стану та підвищенням вмісту маркерів енергетичного потенціалу клітин, що може вважатися одним з клітинних механізмів протекції міопії щодо розвитку діабетичної ретинопатії.
5. При експериментальному діабеті на тлі міопії виявлено менший вміст в сітківці фрагментовної ДНК на 9,1% ніж в групі тільки з діабетом, що свідчить про меншу спрямованість нервових клітин сітківки до раннього апоптозу в цій групі.
6. Доведено вищий на 36,1% вміст нейротрофіну BDNF в сітківці щурів з діабетом і міопією відносно даних у щурів тільки з діабетом. Враховуючи важливу роль цього фактору у виживанні нейронів, виявлені дані свідчать, що однією з ланок захисного механізму міопії щодо розвитку діабетичної ретинопатії є нейротрофічний фактор мозку BDNF.

7. У щурів з експериментальним діабетом і міопією статистично встановлено наявність взаємозв'язку між структурними та метаболічними змінами в сітківці. Показана пряма кореляція між кількістю ГК і рівнем нейротрофічного фактору мозку BDNF ($R=0,52$), рівнем АТФ ($R=0,58$), активністю сукцинатдегідрогенази ($R=0,56$) та негативний кореляційний зв'язок для лактату ($R=-0,54$). Встановлення такої залежності сприятиме покращенню якості діагностики та прогнозування динаміки розвитку патології сітківки при діабеті.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Prokofyeva, E., & Zrenner, E. (2012). Epidemiology of major eye diseases leading to blindness in Europe: A literature review. *Ophthalmology Research*, 47, 171–188. <https://doi.org/10.1159/000329603>
2. Duh, E. J., Sun, J. K., & Stitt, A. W. (2017). Diabetic retinopathy: Current understanding, mechanisms, and treatment strategies. *JCI Insight*, 2(1), 1–13. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.93751>
3. Shen, N., Lo, A. C. Y., Mi, Y., et al. (2021). Neurovascular unit in diabetic retinopathy: Pathophysiological roles and potential therapeutical targets. *Eye and Vision (London)*, 8(1), 15. <https://doi.org/10.1186/s40662-021-00239-1>
4. Abcouwer, S. F., & Gardner, T. W. (2014). Diabetic retinopathy: Loss of neuroretinal adaptation to the diabetic metabolic environment. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1311(1), 174–190. <https://doi.org/10.1111/nyas.12412>
5. Wang, X., Tang, L., Gao, L., et al. (2016). Myopia and diabetic retinopathy: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 111, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2015.10.020>
6. Kim, H. K., Rim, T. H., Yang, J. Y., Kim, S. H., & Kim, S. S. (2018). Axial myopia and low HbA1c level are correlated and have a suppressive effect on diabetes and diabetic retinopathy. *Journal of Retina*, 3(1), 26–33. <https://doi.org/10.21561/jor.2018.3.1.26>
7. Shehab, S., & Al-Asadi, J. (2021). Myopia-diabetic retinopathy relationship. *Relación miopía-retinopatía diabética. Revista Latinoamericana de Hipertension*, 15. <https://doi.org/10.5281/zenodo.5109812>
8. Tayyab, H., Haider, M. A., & Haider Bukhari Shaheed, S. A. (2014). Axial myopia and its influence on diabetic retinopathy. *Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan*, 24(10), 728–731. <https://doi.org/10.2014/JCPSP.728731>
9. Wang, X., Bazzazi, N., Akbarzadeh, S., Yavarikia, M., Poorolajal, J., & Fouladi, D. F. (2017). High myopia and diabetic retinopathy: A contralateral

- eye study in diabetic patients with high myopic anisometropia. *Retina*, 37(7), 1270–1276. <https://doi.org/10.1097/IAE.0000000000001335>
10. Kong, H., Zang, S., Hu, Y., Lin, Z., Liu, B., Zeng, X., ... Yu, H. (2022). Effect of high myopia and cataract surgery on the correlation between diabetic retinopathy and chronic kidney disease. *Frontiers in Medicine*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.78857>
 11. Gardner, T. W., & Davila, J. R. (2017). The neurovascular unit and the pathophysiologic basis of diabetic retinopathy. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 255, 1–6. <https://doi.org/10.1007/s00417-016-3548-y>
 12. Liu, X. F., Zhou, D. D., & Xie, T. et al. (2018). The Nrf2 signaling in retinal ganglion cells under oxidative stress in ocular neurodegenerative diseases. *International Journal of Biological Sciences*, 14(9), 1090–1098. PMID: 29989056
 13. Yang, S., Zhang, J., & Chen, L. (2020). The cells involved in the pathological process of diabetic retinopathy. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 132, 110818. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110818>
 14. Glancy, B., Kane, D. A., Kavazis, A. N., Goodwin, M. L., Willis, W. T., & Gladden, L. B. (2021). Mitochondrial lactate metabolism: History and implications for exercise and disease. *Journal of Physiology*, 599(3), 863–888. <https://doi.org/10.1113/JP278930>
 15. Ito, Y. A., & Di Polo, A. (2017). Mitochondrial dynamics, transport, and quality control: A bottleneck for retinal ganglion cell viability in optic neuropathies. *Mitochondrion*, 36, 186–192. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2017.08.014>
 16. Sapieha, P., Joyal, J. S., Rivera, J. C., et al. (2010). Retinopathy of prematurity: Understanding ischemic retinal vasculopathies at an extreme of life. *Journal of Clinical Investigation*, 120(9), 3022–3032. doi: 10.1172/JCI42142
 17. Wong-Riley, M. (2010). Energy metabolism of the visual system. *Eye and Brain*, 2, 99–116. <https://doi.org/10.2147/EB.S9078>

18. Autry, A. E., & Bambah-Mukku, D. (2020). The role of brain-derived neurotrophic factor in neural circuit development and function. *Synapse Development and Maturation: Comprehensive Developmental Neuroscience*, 443–466. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823672-7.00020-X>
19. Whitmire, W., Al-Gayyar, M. M., Abdelsaid, M., Yousufzai, B. K., & El-Remessy, A. B. (2011). Alteration of growth factors and neuronal death in diabetic retinopathy: What we have learned so far. *Molecular Vision*, 17, 300–308. PMID: 21293735
20. Altmann, C., & Schmidt, M. H. H. (2018). The role of microglia in diabetic retinopathy: Inflammation, microvasculature defects, and neurodegeneration. *International Journal of Molecular Sciences*, 19, 110. <https://doi.org/10.3390/ijms19010110>
21. Costagliola, G., Depietri, G., Michev, A., Riva, A., Foadelli, T., Savasta, S., ... Striano, P. (2022). Targeting inflammatory mediators in epilepsy: A systematic review of its molecular basis and clinical applications. *Frontiers in Neurology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fneur.2022.741244>
22. Seki, M., Tanaka, T., Nawa, H., Usui, T., Fukuchi, T., Ikeda, K., ... Takei, N. (2004). Involvement of brain-derived neurotrophic factor in early retinal neuropathy of streptozotocin-induced diabetes in rats. *Diabetes*, 53, 2412–2419. <https://doi.org/10.2337/diabetes.53.9.2412>
23. Михейцева, І. М., Молчанюк, Н. І., Амайєд, Ахмед, Борисов, С. О., Костєв, Ф. І., Борисов, О. В., Дехтяр, Ю. М., Віт, В. В., Коломійчук, С. Г. (2022). Вплив цукрового діабету II типу, ускладненого пієлонефритом, на ультраструктурні зміни хоріоїдеї, сітківки та нефронів в експерименті. *Офтальмологічний журнал*, 3, 32–38. <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh202233238>
24. Михейцева, І. М., Молчанюк, Н. І., Абдулхаді Мохаммад, Коломійчук, С. Г., & Супрун, О. О. (2021). Ультраструктурні зміни елементів хоріоретинального комплексу щурів після моделювання деприваційної

- осьової міопії, діабетичної ретинопатії та при їх поєднанні. *Офтальмологічний журнал*, 4, 72–78. <http://doi.org/10.31288/oftalmolzh202147278>
25. Михейцева, І. М., Абдулхаді, Мохаммад, Путиєнко, О. О., та ін. (2018). Взаємозв'язок довжини передньо-задньої осі та глибини передньої камери очного яблука щурів з розвитком порушень у сітківці при діабеті II типу з міопією. *Офтальмологічний журнал*, 6, 44–51.
 26. Абдулхаді, Мохаммад, Михейцева, І. М., & Коломійчук, С. Г. (2019). Про роль ліпідного метаболізму та ліпідної пероксидації у розвитку порушень у сітківці щурів при діабеті II типу з міопією. *Офтальмологічний журнал*, 5, 56–63.
 27. Михейцева, І. М., Молчанюк, Н. І., Амаїєд, А., Коломійчук, С. Г., & Сіроштаненко, Т. І. (2024). Особливості ультраструктурних змін у нейросенсорних елементах сітківки щурів при моделюванні діабетичної ретинопатії на тлі осьової міопії. *Фізіологічний журнал*, 1, 31–36. <https://doi.org/10.15407/fz70.01.031>
 28. Михейцева, І. М., Амаїєд, А., Артьомов, О. В., Коломійчук, С. Г., & Кузнецов, М. К. (2024). Вміст нейротрофічного фактору мозку (BDNF) в сітківці щурів з індукованим діабетом і осьовою міопією: взаємозв'язок зі структурою нейрональних елементів сітківки. *Офтальмологічний журнал*, 3, 40–44. <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh202434044>
 29. Михейцева, І. М., Амаїєд, А., Коломійчук, С. Г., & Артьомов, О. В. (2024). Взаємозв'язок між структурними змінами, маркером апоптозу та метаболічними показниками в сітківці щурів з діабетом та міопією. *Офтальмологічний журнал*, 6, 48–53. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Mezh_2016_3_20
 30. Михейцева, І., Амаїєд, А., & Коломійчук, С. (2023). Енергетичний стан сітківки щурів з експериментальним діабетом і осьовою міопією. *Офтальмологічний журнал*, 4, 61–66. <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh202346166>

31. Fürstenau, C. R., Rücker, B., Pochmann, D., Vieira, G., Bischoff, L. B., Sarkis, J. J., ... Wink, M. R. (2010). Streptozotocin-induced diabetes alters ATP and ADP hydrolysis in rat heart left ventricle. *Purinergic Signalling*, 6(S114).
32. Teo, Z. L., Tham, Y. C., Yu, M., et al. (2021). Global prevalence of diabetic retinopathy and projection of burden through 2045: Systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology*, 128(11), 1580–1591. <https://doi.org/10.1016/j.ophttha.2021.04.027>
33. Bundesärztekammer, K. B., Arbeitsgemeinschaft Der W-C., & Medizinischen F. (2010). Nationale VersorgungsLeitlinie: Typ-2-Diabetes – Prävention und Therapie von Netzhautkomplikationen (Langfassung). *ÄZQ, Redaktion Nationale Versorgungs Leitlinien*. <http://www.diabetes.versorgungsleitlinien.de>
34. Kaur, A., & Sharma, A. (2024). Diabetic retinopathy leading to blindness: A review. *Current Diabetes Reviews*, 20. <https://doi.org/10.2174/0115733998274599231109034741>
35. Shaw, J. E., Sicree, R. A., & Zimmet, P. Z. (2010). Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 87, 4–14. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2009.10.007>
36. Stefánsson, E., Bek, T., Porta, M., Larsen, N., Kristinsson, J. K., & Agardh, E. (2000). Screening and prevention of diabetic blindness. *Acta Ophthalmologica Scandinavica Foundation*, 78, 374–385. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0420.2000.078004374.x>
37. Verbraak, F. D. (2014). Neuroretinal degeneration in relation to vasculopathy in diabetes. *Diabetes*, 63, 3590–3592. <https://doi.org/10.2337/db14-0888>
38. Hammes, H. P., Lemmen, K. D., & Bertram, B. (2021). Diabetic retinopathy and maculopathy. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 129, 64–69. <https://doi.org/10.1055/a-1284-6223>
39. Nentwich, M., & Ulbig, M. (2015). Diabetic retinopathy—Ocular complications of diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes*, 6, 489–499. <https://doi.org/10.4239/wjd.v6.i3.489>

40. Poracova, J., Nagy, M., Blaščáková, M., Konečná, M., Sedlák, V., Zahatňanská, M., Kimáková, T., ... Uher, I. (2023). Diabetes mellitus and its influence on the incidence and process of diabetic retinopathy. *Central European Journal of Public Health*, 31, 4–9. <https://doi.org/10.21101/cejph.a7838>
41. Yousef, M. O., Bashir, S., Wagealla, A., Zidan, M., Babiker, M., & Mohamed, M. (2021). Prevalence of vitreous and retinal disorders among Sudanese diabetic patients: A B-scan ultrasonography study. *Pertanika Journal of Science and Technology*, 29. <https://doi.org/10.47836/pjst.29.2.33>
42. Le, H. G., & Shakoor, A. (2021). Diabetic and retinal vascular eye disease. *Medical Clinics of North America*, 105. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2021.02.004>
43. Šín, M. (2024). Retinal oximetry in vascular diseases. *Acta Ophthalmologica*, 102. <https://doi.org/10.1111/aos.16312>
44. Shpak, A.A., Guekht, A.B., Druzhkova, T.A., Kozlova, K.I., & Gulyaeva, N.V. (2017). Ciliary neurotrophic factor in patients with primary open-angle glaucoma and agerelated cataract. *Molecular Vision*, 23, 799-809.
45. Kanski, J. J. (2009). Clinical ophthalmology: A synopsis. *Elsevier Health Sciences*. Amsterdam, The Netherlands.
46. Zhang, X., Zeng, H., Bao, S., Wang, N., & Gillies, M. C. (2014). Diabetic macular edema: New concepts in pathophysiology and treatment. *Cell & Bioscience*, 4, 27. doi: 10.1186/2045-3701-4-27
47. Szymanska, M., Mahmood, D., Yap, T., & Cordeiro, M. F. (2021). Recent advancements in the medical treatment of diabetic retinal disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 22. <https://doi.org/10.3390/ijms22179441>
48. Yang, Q., Yasvoina, M., & Olvera-Barrios, A. (2024). Disconnection between microvascular damage and neurodegeneration in early diabetic retinopathy. *bioRxiv*, 2024. <https://doi.org/10.1101/2024.01.31.577770>
49. Moore, J., Bagley, S., Ireland, G., McLeod, D., & Boulton, M. E. (1999). Three-dimensional analysis of microaneurysms in the human diabetic retina. *Journal of Anatomy*, 194(1). <https://doi.org/10.1046/j.14697580.1999.19410089>

50. Burns, S. A., Elsner, A. E., & Chui, T. Y. (2014). In vivo adaptive optics microvascular imaging in diabetic patients without clinically severe diabetic retinopathy. *Biomedical Optics Express*, 5(3), 961–974. <https://doi.org/10.1364/BOE.5.000961>
51. Kim, A. Y., Chu, Z., Shahidzadeh, A., Wang, R. K., Puliafito, C. A., & Kashani, A. H. (2016). Quantifying microvascular density and morphology in diabetic retinopathy using spectral-domain optical coherence tomography angiography. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 57(9). <https://doi.org/10.1167/iovs.15-18904>
52. Lee, S. E., Ma, W., & Rattigan, E. M. (2010). Ultrastructural features of retinal capillary basement membrane thickening in diabetic swine. *Ultrastructural Pathology*, 34(1), 35–41. <https://doi.org/10.3109/01913120903308583>
53. Hainsworth, D. P., Katz, M. L., Sanders, D. A., Sanders, D. N., Wright, E. J., & Sturek, M. (2002). Retinal capillary basement membrane thickening in a porcine model of diabetes mellitus. *Clinical and Preventive Medicine*, 52(6), 523–529. PMID: 12540165
54. Ganesan, S., Raman, R., Reddy, S., Krishnan, T., Kulothungan, V., & Sharma, T. (2012). Prevalence of myopia and its association with diabetic retinopathy in subjects with type II diabetes mellitus: A population-based study. *Oman Journal of Ophthalmology*, 5, 91–96. <https://doi.org/10.4103/0974-620X.99371>
55. Xie, X. W., Xu, L., Wang, Y. X., & Jonas, J. B. (2006). Prevalence and associated factors of diabetic retinopathy: The Beijing Eye Study. *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 246, 1519–1526. <https://doi.org/10.1007/s00417-008-0884-6>
56. Man, R. E. K., Gan, A. T. L., Gupta, P., Fenwick, E. K., Sabanayagam, C., Tan, N. Y. Q., Mitchell, P., ... Lamoureux, E. L. (2019). Is myopia associated with the incidence and progression of diabetic retinopathy? *American Journal of Ophthalmology*, 208, 226–233. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2019.05.012>

57. Akiba, J., Arzabe, C. W., & Trempe, C. L. (1990). Posterior vitreous detachment and neovascularization in diabetic retinopathy. *Ophthalmology*, 97(7), 889–891. [https://doi.org/10.1016/s0161-6420\(90\)32486-7](https://doi.org/10.1016/s0161-6420(90)32486-7)
58. Lin, Z., Li, D., Zhai, G., Wang, Y., Wen, L., Ding, X., Wang, F., ... Liang, Y. (2020). High myopia is protective against diabetic retinopathy via thinning retinal vein: A report from Fushun Diabetic Retinopathy Cohort Study (FS-DIRECT). *Diabetes and Vascular Disease Research*, 17. <https://doi.org/10.1177/1479164120940988>
59. Nwanyanwu, K., Nunez-Smith, M., Gardner, T. W., & Desai, M. M. (2021). Awareness of diabetic retinopathy: Insight from the national health and nutrition examination survey. *American Journal of Preventive Medicine*, 61(6), 900–909. <https://doi.org/10.1016/j.amepre.2021.05.018>
60. Ten, W., Yuan, Y., Zhang, W., Wu, Y., & Ke, B. (2023). High myopia is protective against diabetic retinopathy in the participants of the National Health and Nutrition Examination Survey. *BMC Ophthalmology*, 23. <https://doi.org/10.1186/s12886-023-03191-x>
61. Dong, J., Hu, L., & Li, C. (2023). Expression of osteopontin and integrin $\alpha v \beta 3$ receptor in retina of diabetic guinea pigs with high myopia. *Ophthalmic Research*, 66(1), 144–150. <https://doi.org/10.1159/000526586>
62. Avetisov, E. S., & Savitskaya, N. F. (1977). Some features of ocular microcirculation in myopia. *Annals of Ophthalmology*, 9, 1261–1264.
63. Shih, Y. F., Horng, I. H., Yang, C. H., Lin, L. L., Peng, Y., & Hung, P. T. (1991). Ocular pulse amplitude in myopia. *Journal of Ocular Pharmacology*, 7, 83–87. <https://doi.org/10.1089/jop.1991.7.83>
64. Kim, E. B., Kim, H. K., Hyon, J. Y., Wee, W. R., & Shin, Y. J. (2016). Oxidative stress levels in aqueous humor from high myopic patients. *Korean Journal of Ophthalmology*, 30, 172–179. <https://doi.org/10.3341/kjo.2016.30.3.172>
65. Zi, Y., Deng, Y., & Zhao, J. (2020). Morphologic and biochemical changes in the retina and sclera induced by form deprivation high myopia in guinea pigs. *BMC Ophthalmology*, 20(1), 105. <https://doi.org/10.1186/s12886-020-01377-1>

66. Ikuno, Y. (2017). Overview of the complications of high myopia. *Retina*, 37(12), 2347–2351. <https://doi.org/10.1097/IAE.0000000000001489>
67. Wu, P. C., Chen, Y. J., Chen, C. H., Chen, Y. H., Shin, S. J., Yang, H. J., & Kuo, H. K. (2008). Assessment of macular retinal thickness and volume in normal eyes and highly myopic eyes with third-generation optical coherence tomography. *Eye (London)*, 22(4), 551–555. <https://doi.org/10.1038/sj.eye.6702789>
68. Zhao, Z., & Jiang, C. (2013). Effect of myopia on ganglion cell complex and peripapillary retinal nerve fibre layer measurements: A Fourier-domain optical coherence tomography study of young Chinese persons. *Clinical & Experimental Ophthalmology*, 41(6), 561–566. <https://doi.org/10.1111/ceo.12045>
69. Tai, E. L. M., Ling, J. L., Gan, E. H., Adil, H., & Wan-Hazabbah, W. H. (2018). Comparison of peripapillary retinal nerve fiber layer thickness between myopia severity groups and controls. *International Ophthalmology*, 11(2), 274–278. <https://doi.org/10.18240/ijo.2018.02.16>
70. Seo, S., Lee, C. E., Jeong, J. H., Park, K. H., Kim, D. M., & Jeoung, J. W. (2017). Ganglion cell-inner plexiform layer and retinal nerve fiber layer thickness according to myopia and optic disc area: A quantitative and three-dimensional analysis. *BMC Ophthalmology*, 17(1), 22. <https://doi.org/10.1186/s12886-017-0419-1>
71. Mwanza, J. C., Durbin, M. K., Budenz, D. L., Girkin, C. A., Leung, C. K., Liebmann, J. M., ... Wollstein, G. (2011). Profile and predictors of normal ganglion cell-inner plexiform layer thickness measured with frequency-domain optical coherence tomography. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 52(11), 7872–7879. <https://doi.org/10.1167/iovs.11-7896>
72. Wang, W. W., Wang, H. Z., Liu, J. R., Zhang, X. F., Li, M., Huo, Y. J., & Yang, X. G. (2018). Diagnostic ability of ganglion cell complex thickness to detect glaucoma in high myopia eyes by Fourier domain optical coherence

- tomography. *International Ophthalmology*, 11(5), 791–796.
<https://doi.org/10.18240/ijo.2018.05.12>
73. Holden, B. A., Fricke, T. R., Wilson, D. A., Jong, M., Naidoo, K. S., Sankaridurg, P., ... Resnikoff, S. (2016). Global prevalence of myopia and high myopia and temporal trends from 2000 through 2050. *Ophthalmology*, 123(5), 1036–1042. <https://doi.org/10.1016/j.opthta.2016.01.006>
 74. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). (2016). Worldwide trends in diabetes since 1980: A pooled analysis of 751 population-based studies with 4.4 million participants. *Lancet*, 387(10027), 1513–1530. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00618-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00618-8)
 75. Lim, H. B., Shin, Y. I., Lee, M. W., Lee, J. U., Lee, W. H., & Kim, J. Y. (2020). Association of myopia with peripapillary retinal nerve fiber layer thickness in diabetic patients without diabetic retinopathy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 61(10), 30. <https://doi.org/10.1167/iovs.61.10.30>
 76. Kim, J. T., Na, Y. J., Lee, S. C., & Lee, M. W. (2023). Impact of high myopia on inner retinal layer thickness in type 2 diabetes patients. *Scientific Reports*, 13(1), 268. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-27529-z>
 77. Scarinci, F., Nesper, P., & Fawzi, A. (2016). Deep retinal capillary nonperfusion is associated with photoreceptor disruption in diabetic macular ischemia. *American Journal of Ophthalmology*, 168. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2016.05.002>
 78. Yasukura, S., Murakami, T., & Suzuma, K. (2018). Diabetic nonperfused areas in macular and extramacular regions on wide-field optical coherence tomography angiography. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 59, 5893–5903. <https://doi.org/10.1167/iovs.18-25108>
 79. Xu, H., Curtis, T., & Stitt, A. (2014). Pathophysiology and pathogenesis of diabetic retinopathy. *Diapedia, The Living Textbook of Diabetes*. <https://doi.org/10.14496/dia.7104343513.14>
 80. Srivastava, N., Chandra, M., & Nitesh. (2024). Diabetes and the retinal changes in the eye: A threat to the sight. *International Journal of Community Medicine*

- and Public Health*, 11, 1030–1037. <https://doi.org/10.18203/2394-6040.ijcmph20240301>
81. Su, R., & Jia, Z. (2021). Clinical observation of retinal vessel density in type 2 diabetic patients with high myopia, Research Square, 2021. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1162983/v1>
 82. Orenburkina, O. I., Babushkin, A. E., & Fakhretdinova, A. A. (2022). Characteristics of the clinical course of diabetic retinopathy in myopia. 67–71. <https://doi.org/10.25276/2410-1257-2022-2-67-71>
 83. Man, R., Sasongko, M., Xie, J., Best, W., Noonan, J., Lo, T., ... Lamoureux, E. (2014). Decreased retinal capillary flow is not a mediator of the protective myopia-diabetic retinopathy relationship. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 55. <https://doi.org/10.1167/iovs.14-15137>
 84. Ju, W. K., Liu, Q., Kim, K. Y., Crowston, J., Lindsey, J., Agarwal, N., ... Weinreb, R. (2007). Elevated hydrostatic pressure triggers mitochondrial fission and decreases cellular ATP in differentiated RGC-5 cells. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 48. <https://doi.org/10.1167/iovs.06-0573>
 85. Ju, W. K., Kim, K. Y., Lindsey, J. D., Angert, M., Patel, A., Scott, R. T., ... Perkins, G. A. (2009). Elevated hydrostatic pressure triggers release of OPA1 and cytochrome C, and induces apoptotic cell death in differentiated RGC-5 cells. *Molecular Vision*, 15, 120–134.
 86. Brown, M. D., Starikovskaya, E., Derbeneva, O., Hosseini, S., Allen, J. C., Mikhailovskaya, I. E., Sukernik, R. I., & Wallace, D. C. (2002). The role of mtDNA background in disease expression: A new primary LHON mutation associated with Western Eurasian haplogroup. *Journal of Human Genetics*, 110, 130–138. <https://doi.org/10.1007/s00439-001-0660-8>
 87. Carelli, V., Ross-Cisneros, F. N., & Sadun, A. A. (2003). Mitochondrial dysfunction as a cause of optic neuropathies. *Progress in Retinal and Eye Research*, 23, 53–89. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2003.10.003>
 88. Masland, R. H. (2012). The neuronal organization of the retina. *Neuron*, 76, 266–280. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.10.002>

89. Winkler, B. S. (1981). Glycolytic and oxidative metabolism in relation to retinal function. *Journal of General Physiology*, 77, 667–692. <https://doi.org/10.1085/jgp.77.6.667>
90. Padnick-Silver, L., & Linsenmeier, R. A. (2002). Quantification of in vivo anaerobic metabolism in the normal cat retina through intraretinal pH measurements. *Visual Neuroscience*, 19, 793–806. <https://doi.org/10.1017/s095252380219609x>
91. Lowry, O. H., Roberts, N. R., & Lewis, C. (1956). The quantitative histochemistry of the retina. *Journal of Biological Chemistry*, 220, 879–892.
92. Cohen, L. H., & Noell, W. K. (1960). Glucose catabolism of rabbit retina before and after development of visual function. *Journal of Neurochemistry*, 5, 253–276. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1960.tb13363.x>
93. Joyal, J. S., Sun, Y., Gantner, M. L., Shao, Z., Evans, L. P., Saba, N., ... Patel, G. (2016). Retinal lipid and glucose metabolism dictates angiogenesis through the lipid sensor Ffar1. *Nature Medicine*, 22, 439–445. <https://doi.org/10.1038/nm.4059>
94. Cohen, A. I. (1961). Electron microscopic observations of the internal limiting membrane and optic fiber layer of the retina of the Rhesus monkey (*M. mulatta*). *American Journal of Anatomy*, 108, 179–197. <https://doi.org/10.1002/aja.1001080205>
95. Narayan, D. S., Chidlow, G., Wood, J. P., & Casson, R. J. (2017). Glucose metabolism in mammalian photoreceptor inner and outer segments. *Clinical and Experimental Ophthalmology*, 45, 730–741. <https://doi.org/10.1111/ceo.12952>
96. Joyal, J. S., Gantner, M. L., & Smith, L. E. H. (2017). Retinal energy demands control vascular supply of the retina in development and disease: The role of neuronal lipid and glucose metabolism. *Progress in Retinal and Eye Research*, 64, 131–156. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres>

97. Wong-Riley, M. T. (1989). Cytochrome oxidase: An endogenous metabolic marker for neuronal activity. *Trends in Neurosciences*, 12, 94–101. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(89\)90165-3](https://doi.org/10.1016/0166-2236(89)90165-3)
98. Skou, J. C. (1957). The influence of some cations on an adenosine triphosphatase from peripheral nerves. *Biochimica et Biophysica Acta*, 23, 394–401. [https://doi.org/10.1016/0006-3002\(57\)90343-8](https://doi.org/10.1016/0006-3002(57)90343-8)
99. Stahl, W. L. (1986). The Na, K-ATPase of nervous tissue. *Neurochemistry International*, 8, 449–476. [https://doi.org/10.1016/0197-0186\(86\)90179-8](https://doi.org/10.1016/0197-0186(86)90179-8)
100. Muzio, M. R., & Cascella, M. (2020). Histology, Axon. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554388/>
101. Wang, Q., Cheng, Y., Wu, W., Liang, H., & Zhang, R.-Z. (2006). Study on protective effects of neurotrophin-3 on hippocampal neurons against hypoxia. *Chinese Journal of Contemporary Neurology and Neurosurgery*, 6, 57–61.
102. Zhang, J., Zhao, J., Bai, Y., Huang, L., Yu, W., & Li, X. (2014). Effects of p75 neurotrophin receptor on regulating hypoxia-induced angiogenic factors in retinal pigment epithelial cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 398. <https://doi.org/10.1007/s11010-014-2212-2>
103. Petyunina, O. V., & Kopytsya, M. P. (2020). Мозковий нейротрофічний фактор та його поліморфізм Val66Met (rs6265). Значення для серцево-судинної системи. *Український терапевтичний журнал*, 2. doi: <https://doi.org/10.30978/utj2020-2-52>
104. Majou, D., & Dermenghem, A. L. (2024). DHA (omega-3 fatty acid) increases the action of brain-derived neurotrophic factor (BDNF). *Oilseeds and Fats, Crops and Lipids*, 31. <https://doi.org/10.1051/ocl/2023030>
105. Nakagawa, T., Ono-Kishino, M., Sugaru, E., Yamanaka, M., Taiji, M., & Noguchi, H. (2002). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) regulates glucose and energy metabolism in diabetic mice. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 18, 185–191. <https://doi.org/10.1002/dmrr.290>

106. Grzelak, N., Kaczmarek, D., & Mrówczyński, W. (2023). Comparison of the effects of BDNF/TRKB signalling on metabolic biomarkers in the liver of sedentary and trained rats with normal and knockout BDNF genotypes. *Frontiers in Physiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1268648>
107. Nakagawa, T., Tsuchida, A., & Itakura, Y. (2000). Brain-derived neurotrophic factor regulates glucose metabolism by modulating energy balance in diabetic mice. *Diabetes*, 49, 436–444. doi: 10.1002/dmrr.290
108. Bhatti, J. S., Bhatti, G. K., & Reddy, P. H. (2017). Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders—A step towards mitochondria-based therapeutic strategies. *Biochimica et Biophysica Acta: Molecular Basis of Disease*, 1863, 1066–1077. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2016.11.010>
109. Lee, H., & Lim, Y. (2022). The potential role of myokines/hepatokines in the progression of neuronal damage in streptozotocin and high-fat diet-induced type 2 diabetes mellitus mice. *Biomedicine*, 10, 1521. doi: 10.3390/biomedicines10071521
110. Chen, W., Wang, L., You, W., & Shan, T. (2021). Myokines mediate the cross talk between skeletal muscle and other organs. *Journal of Cellular Physiology*, 236, 2393–2412. <https://doi.org/10.1002/jcp.30033>
111. Moon, H. Y., Becke, A., Berron, D., Becker, B., Sah, N., Benoni, G., ... Mattison, J. A. (2016). Running-induced systemic cathepsin B secretion is associated with memory function. *Cell Metabolism*, 24, 332–340. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.05.025>
112. Wrann, C. D., White, J. P., Salogiannis, J., Laznik-Bogoslavski, D., Wu, J., Ma, D., ... Spiegelman, B. M. (2013). Exercise induces hippocampal BDNF through a PGC-1 α /FNDC5 pathway. *Cell Metabolism*, 18, 649–659. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.09.008>
113. Agudelo, L. Z., Femenía, T., Orhan, F., Porsmyr-Palmertz, M., Goiny, M., Martinez-Redondo, V., ... Schuppe-Koistinen, I. (2014). Skeletal muscle PGC-1 α 1 modulates kynurenine metabolism and mediates resilience to stress-

- induced depression. *Cell Metabolism*, 159, 33–45.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.07.051>
114. Cervenka, I., Agudelo, L. Z., & Ruas, J. L. (2017). Kynurenines: Tryptophan's metabolites in exercise, inflammation, and mental health. *Science*, 357, 369.
<https://doi.org/10.1126/science.aaf9794>
 115. Bathina, S., & Das, U. N. (2015). Brain-derived neurotrophic factor and its clinical implications. *Archives of Medical Science*, 11, 1164–1178.
<https://doi.org/10.5114/aoms.2015.56342>
 116. Zhen, Y. F., Zhang, J., Liu, X. Y., Fang, H., Tian, L. B., Zhou, D. H., Kosten, T. R., & Zhang, X. Y. (2013). Low BDNF is associated with cognitive deficits in patients with type 2 diabetes. *Psychopharmacology*, 227, 93–100.
<https://doi.org/10.1007/s00213-012-2942-3>
 117. Nakagawa, T., Ono-Kishino, M., Sugaru, E., Yamanaka, M., Taiji, M., & Noguchi, H. (2002). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) regulates glucose and energy metabolism in diabetic mice. *Diabetes/Metabolism Research*, 18, 185–191. <https://doi.org/10.1002/dmrr.290>
 118. Lee, H., Kim, S., & Lim, Y. (2023). *Annona muricata* extract supplementation contributes to improve aberrant multi-organ energy metabolism via muscle–brain connectivity in diabetic mice. *Nutrients*, 15, 2559.
<https://doi.org/10.3390/nu15112559>
 119. Sasi, M., Vignoli, B., Canossa, M., & Blum, R. (2017). Neurobiology of local and intercellular BDNF signaling. *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology*, 469, 593–610. doi: 10.1007/s00424-017-1971-5
 120. Tao, W., Wen, R., Goddard, M. B., Sherman, S. D., O'Rourke, P. J., Stabila, P. F., ... Aguirre, G. D. (2002). Encapsulated cell-based delivery of CNTF reduces photoreceptor degeneration in animal models of retinitis pigmentosa. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 43, 3292–3298.
 121. Pardue, M. T., & Allen, R. S. (2018). Neuroprotective strategies for retinal disease. *Progress in Retinal and Eye Research*, 65, 50–76.
<https://doi.org/10.1016/j.preteyeres>

122. Frade, J., Bovolenta, P., Martinez-Morales, J.-R., Arribas, A., Barbas, J., & Rodriguez-Tebar, A. (1997). Control of early cell death by BDNF in the retina. *Development (Cambridge, England)*, 124. <https://doi.org/10.1242/dev.124.17.3313>
123. Ishikawa, C., Li, H., & Ogura, R. (2017). Effects of gravity changes on gene expression of BDNF and serotonin receptors in the mouse brain. *PLOS One*, 12(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177833>
124. Marosi, K., & Mattson, M. P. (2014). BDNF mediates adaptive brain and body responses to energetic challenges. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 25(2), 89–98. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2013.10.006>
125. Chao, M. V., Rajagopal, R., & Lee, F. S. (2006). Neurotrophin signalling in health and disease. *Clinical Science (London, England)*, 110(2), 167–173. <https://doi.org/10.1042/CS20050163>
126. Huang, T. L., Lee, C. T., & Liu, Y. L. (2007). Serum brain-derived neurotrophic factor levels in patients with major depression: Effects of antidepressants. *Journal of Psychiatric Research*, 42(7), 521–525. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires>
127. Karege, F., Perret, G., Bondolfi, G., Schwald, M., Bertschy, G., & Aubry, J. M. (2002). Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in major depressed patients. *Psychiatry Research*, 109(2), 143–148. [https://doi.org/10.1016/s0165-1781\(02\)00005-7](https://doi.org/10.1016/s0165-1781(02)00005-7)
128. Inyushkin, A. N., Poletaev, V. S., Inyushkina, E. M., Kalberdin, I. S., & Inyushkin, A. A. (2023). Irisin/BDNF signaling in the muscle-brain axis and circadian system: A review. *Journal of Biomedical Research*, 38(1), 1–16. <https://doi.org/10.7555/jbr.37.20230133>
129. Hernández, C., Monte, M. D., Simó, R., & Casini, G. (2016). Neuroprotection as a therapeutic target for diabetic retinopathy. *Journal of Diabetes Research*, 1–18. <https://doi.org/10.1155/2016/9508541>

130. Afarid, M., Namvar, E., & Sanie-Jahromi, F. (2020). Diabetic retinopathy and BDNF: A review on its molecular basis and clinical applications. *Journal of Ophthalmology*, 2020, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2020/1602739>
131. Ateaque, S., Merkouris, S., & Barde, Y.-A. (2023). Neurotrophin signalling in the human nervous system. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 16. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2023.1225373>
132. Fargali, S., Sadahiro, M., & Jiang, C. (2012). Role of neurotrophins in the development and function of neural circuits that regulate energy homeostasis. *Journal of Molecular Neuroscience*, 48(3), 654–659. <https://doi.org/10.1007/s12031-012-9790-9>
133. Wrann, C. D., White, J. P., & Salogiannis, J. (2013). Exercise induces hippocampal BDNF through a PGC-1 α /FNDC5 pathway. *Cell Metabolism*, 18(5), 649–659. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.09.008>
134. Ikeda, K., Tanihara, H., Honda, Y., Tatsuno, T., Noguchi, H., & Nakayama, C. (1999). BDNF attenuates retinal cell death caused by chemically induced hypoxia in rats. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 40, 2130–2140. PMID: 10440270
135. Gupta, V., You, Y., Li, J., Gupta, V., Golzan, M., Klistorner, A., van den Buuse, M., & Graham, S. (2014). BDNF impairment is associated with age-related changes in the inner retina and exacerbates experimental glaucoma. *Biochimica et Biophysica Acta: Molecular Basis of Disease*, 1842, 1567–1578. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2014.05.026>
136. Shim, M. S., Kim, K.-Y., Noh, M., Ko, J. Y., Ahn, S., An, M. A., ... Ju, W.-K. (2018). Optineurin E50K triggers BDNF deficiency-mediated mitochondrial dysfunction in retinal photoreceptor cell line. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 503, 2690–2697. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.08.025>
137. Chen, H., & Weber, A. J. (2001). BDNF enhances retinal ganglion cell survival in cats with optic nerve damage. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 42, 966–974. PMID: 11274073

138. Domenici, L., Origlia, N., Falsini, B., Cerri, E., Barloscio, D., Fabiani, C., Sansò, M., & Giovannini, L. (2014). Rescue of retinal function by BDNF in a mouse model of glaucoma. *PLOS ONE*, 9, e115579. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115579>
139. Martin, K. R. G., Quigley, H. A., Zack, D. J., Levkovitch-Verbin, H., Kielczewski, J., Valenta, D., ... Hauswirth, W. W. (2003). Gene therapy with brain-derived neurotrophic factor as a protection: Retinal ganglion cells in a rat glaucoma model. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 44, 4357. <https://doi.org/10.1167/iovs.02-1332>
140. Ren, R., Li, Y., Liu, Z., Liu, K., & He, S. (2012). Long-term rescue of rat retinal ganglion cells and visual function by AAV-mediated BDNF expression after acute elevation of intraocular pressure. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 53, 1003. <https://doi.org/10.1167/iovs.11-8484>
141. Igarashi, T., Miyake, K., Kobayashi, M., Kameya, S., Fujimoto, C., Nakamoto, K., ... Iijima, O. (2016). Tyrosine triple mutated AAV2-BDNF gene therapy in a rat model of transient IOP elevation. *Molecular Vision*, 22, 816–826. PMID: 27440998
142. Trotta, M. C., Gesualdo, C., & Herman, H. (2022). Systemic beta-hydroxybutyrate affects BDNF and autophagy into the retina of diabetic mice. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(17), 10184. <https://doi.org/10.3390/ijms231710184>
143. Wang, X., Li, M., Zheng, R., Cui, T., Qin, J., Su, Z., Shang, M., & Bao, Y. (2021). High irisin and low BDNF levels in aqueous humor of high myopia. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 30, 893–904. <https://doi.org/10.17219/acem/125428>
144. Shao, J., Zhang, Z., Cai, X., Shen, Y., & Tong, J. (2024). Aqueous humor protein markers in myopia: A review. *International Ophthalmology*, 44. <https://doi.org/10.1007/s10792-024-02942-z>
145. Giampa, C., Montagna, E., Dato, C., Melone, M. A., Bernardi, G., & Fusco, F. R. (2013). Systemic delivery of recombinant brain-derived neurotrophic factor

- (BDNF) in the R6/2 mouse model of Huntington's disease. *PLOS ONE*, 8(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064037>
146. Diniz, B. S., & Teixeira, A. L. (2011). Brain-derived neurotrophic factor and Alzheimer's disease: Physiopathology and beyond. *NeuroMolecular Medicine*, 13(4), 217–222. <https://doi.org/10.1007/s12017-011-8154-x>
 147. Hata, Y., Ohshima, M., Ichisaka, S., Wakita, M., Fukuda, M., & Tsumoto, T. (2000). Brain-derived neurotrophic factor expands ocular dominance columns in visual cortex in monocularly deprived and nondeprived kittens but does not in adult cats. *Journal of Neuroscience*, 20, 57. doi: 10.1523/JNEUROSCI.20-03-j0002.2000
 148. Seki, M., Nawa, H., Fukuchi, T., Abe, H., & Takei, N. (2003). BDNF is upregulated by postnatal development and visual experience: Quantitative and immunohistochemical analyses of BDNF in the rat retina. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 44, 3211–3218. doi: 10.1167/iovs.02-1089
 149. Mutti, D. O., Cooper, M. E., & O'Brien, S. (2007). Candidate gene and locus analysis of myopia. *Molecular Vision*, 13, 1012–1019. PMID: 17653045
 150. Walsh, J. J., Myette-Côté, É., & Little, J. P. (2020). The effect of exogenous ketone monoester ingestion on plasma BDNF during an oral glucose tolerance test. *Frontiers in Physiology*, 11, 1094. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.01094>
 151. Huang, C., Wang, P., Xu, X., Zhang, Y., Gong, Y., Hu, W., ... Zhao, X. (2018). The ketone body metabolite β -hydroxybutyrate induces an antidepressant-associated ramification of microglia via HDACs inhibition-triggered Akt-small RhoGTPase activation. *Glia*, 66, 256–278. <https://doi.org/10.1002/glia.23241>
 152. Carretta, M. D., Barriá, Y., Borquez, K., Urra, B., Rivera, A., Alarcón, P., Hidalgo, M. A., & Burgos, R. A. (2020). β -Hydroxybutyrate and hydroxycarboxylic acid receptor 2 agonists activate the AKT, ERK, and AMPK pathways, which are involved in bovine neutrophil chemotaxis. *Scientific Reports*, 10, 12491. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69500-2>

153. Bathina, S., & Das, U. N. (2015). Brain-derived neurotrophic factor and its clinical implications. *Archives of Medical Science*, 11, 1164–1178. <https://doi.org/10.5114/aoms.2015.56342>
154. Beuerman, R. W., Maw, S. S., Tan, D. T., et al. (2010). Myopia: Animal models to clinical trials. *Singapore: World Scientific*. doi:10.1142/6943
155. Ghasemi, A., & Jeddi, S. (2023). Streptozotocin as a tool for induction of rat models of diabetes: A practical guide. *EXCLI Journal*, 22, 274–294. <https://doi.org/10.17179/excli2022-5720>
156. Rossini, A., Like, A., Chick, W., Appel, M., & Cahill, G. Jr. (1977). Studies of streptozotocin-induced insulinitis and diabetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(6), 2485–2489. doi: 10.1073/pnas.74.6.2485
157. Michel, B., Milner, Y., & David, K. (1973). Preservation of tissue-fixed immunofluorescence in skin biopsies of patients with LE and bullous disease. *Journal of Investigative Dermatology*, 59, 449. doi: 10.1111/1523-1747.ep12627611
158. Reynolds, E. S. (1963). The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *Journal of Cell Biology*, 17, 208–212. doi: 10.1083/jcb.17.1.208
159. Daddow, L. Y. (1983). A double lead stain method for enhancing contrast of ultrathin sections in electron microscopy: A modified multiple staining technique. *Journal of Microscopy*, 129(2), 147–153. doi: 10.1111/j.1365-2818.1983.tb04169.x
160. Ahmad, F., Alamoudi, W., Haque, S., Salahuddin, M., & Alsamman, K. (2018). Simple, reliable, and time-efficient colorimetric method for the assessment of mitochondrial function and toxicity. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, 18(4), 367–374. <https://doi.org/10.17305/bjbms.2018.3323>
161. Hohorst, H. J. (1970). L-(+)-Lactate: Bestimmung mit Lactat-Dehydrogenase und NAD. In H. U. Bergmeyer (Ed). *Methoden der enzymatischen Analyse*. Berlin: Akademie-Verlag, 2, 1425–1429.

162. Czok, R., & Lamprecht, W. (1970). *Pyruvat, Phosphoenolpyruvat und D-Glycerat-2-phosphat*. In H. U. Bergmeyer (Ed.), *Methoden der enzymatischen Analyse*. Berlin: Akademie-Verlag, 2, 1407–1416.
163. Javorek, D., Gruber, W., & Bergmeyer, H. U. (1970). *Adenosin-5'-diphosphat und Adenosin-5'-monophosphat*. In H. U. Bergmeyer (Ed.), *Methoden der enzymatischen Analyse*. Berlin: Akademie-Verlag, 3, 2051–2055.
164. Larson, E., Howlett, B., & Jagendorf, A. (1986). Artificial reductant enhancement of the Lowry method for protein determination. *Analytical Biochemistry*, 155, 243–248.
165. Комаревцева, І. А., & Холина, Е. А. (2008). Вміст фрагментованої ДНК у лімфоцитах хворих на лімфоми. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*, 3(1), 67–69.
166. Messmer, U. K., Briner, V. A., & Pfeilschifter, J. (2000). Basic fibroblast growth factor selectively enhances TNF- α -induced apoptotic cell death in glomerular endothelial cells: Effects on apoptotic signaling pathways. *Journal of the American Society of Nephrology*, 11, 2199–2211.
167. Wagenmakers, E., Kucharský, Š., van Doorn, J., & van den Bergh, D. (2023, November 13). Accessible and Sustainable Statistics with JASP. <https://doi.org/10.31234/osf.io/ud2vj>
168. Man, R. E. K., Lamoureux, E. L., Taouk, Y., Xie, J., Sasongko, M. B., Best, W. J., Noonan, J. E., Kawasaki, R., Wang, J. J., Luu, C. D. (2013). Axial length, retinal function, and oxygen consumption: A potential mechanism for a lower risk of diabetic retinopathy in longer eyes. *Investigate Ophthalmology & Visual Science*, 54(12), 7691-7698. <https://doi.org/10.1167/iovs.13-12412>
169. Napper-Owen, G., & Phillips, A. (1995). A qualitative analysis of the impact of induction assistance on first-year physical educators. *Journal of Teaching in Physical Education*, 14, 305-327.
170. Qi, J., He, W., Meng, J., Wei, L., Qian, D., Lu, Y., & Zhu, X. (2021). Distribution of ocular anterior and posterior segment lengths among a cataract

- surgical population in Shanghai. *Frontiers in Medicine*, 8, 688805. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.688805>
171. Ковальова, М. О., Кришень, К. Л., Макарова, М. М., & Макаров, В. Г. (2014). Вікові особливості формування стрептозотоцин-індукованого діабету у щурів. *Міжнародний вісник ветеринарії*, 4, 90-96.
 172. Колбіна, М. В., Чеснокова, В. І., & Долгих, В. Т. (2013). Особливості моделювання цукрового діабету 2 типу у щурів. *Вісник КазНМУ*, 5(1), 145-147.
 173. Rakieten, N. R. M. L. N. M. R. (1963). Studies on the diabetogenic action of streptozotocin (NSC-37917). *Cancer Chemother Res*, 29, 91-98.
 174. Olivares, A. M., Althoff, K., Chen, G. F., Wu, S., Morrisson, M. A., DeAngelis, M. M., & Haider, N. (2017). Animal models of diabetic retinopathy. *Current diabetes reports*, 17, 1-17. <https://doi.org/10.1007/s11892-017-0913-0>
 175. Barber, A. J., Lieth, E., Khin, S. A., Antonetti, D. A., Buchanan, A. G., & Gardner, T. W. (1998). Neural apoptosis in the retina during experimental and human diabetes. Early onset and effect of insulin. *The Journal of clinical investigation*, 102(4), 783-791. <https://doi.org/10.1172/JCI2425>
 176. Sohn, E. H., van Dijk, H. W., Jiao, C., Kok, P. H., Jeong, W., Demirkaya, N., ... & Abramoff, M. D. (2016). Retinal neurodegeneration may precede microvascular changes characteristic of diabetic retinopathy in diabetes mellitus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(19), E2655-E2664. <https://doi.org/10.1073/pnas.1522014113>
 177. Lynch, S. K., & Abramoff, M. D. (2017). Diabetic retinopathy is a neurodegenerative disorder. *Vision research*, 139, 101-107. <https://doi.org/10.1016/j.visres.2017.03.003>
 178. Михейцева, І. М. (2023). Сучасний погляд на патогенетичні механізми діабетичної ретинопатії. *Фізіологічний Журнал*, 69(3), 106-114. <https://doi.org/10.15407/fz69.03.106>
 179. Hudikova, N. V., Ivanov, N. V., & Pchelin, I. Yu. (2019). Diabetic neuropathy: Molecular mechanisms of development and possibilities for

- pathogenetic therapy. *Juvenis Scientia*, 4, 8-12.
<https://doi.org/10.32415/jscientia.2019.04.02>
180. Glancy, B., Kane, D. A., Kavazis, A. N., Goodwin, M. L., Willis, W. T., & Gladden, L. B. (2021). Mitochondrial lactate metabolism: History and implications for exercise and disease. *Journal of Physiology*, 599(3), 863-888.
<https://doi.org/10.1113/JP278930>
 181. Parikh, S., Goldstein, A., Koenig, M. K., Scaglia, F., Enns, G. M., Saneto, R., ... & DiMauro, S. (2015). Diagnosis and management of mitochondrial disease: a consensus statement from the Mitochondrial Medicine Society. *Genetics in Medicine*, 17(9), 689-701. <https://doi.org/10.1038/gim.2014.177>
 182. Лукьянова Л. Д. (2013). Сигнальная роль митохондрий при адаптации к гипоксии. *Фізіол. Журн.*, 59(6), 141-153.
<https://doi.org/10.15407/fz59.06.141>
 183. Al Rasheed, M. R. H., & Tarjan, G. (2018). Succinate dehydrogenase complex: An updated review. *Archives of Pathology Laboratory Medicine*, 142(12), 1564-1570. <https://doi.org/10.5858/arpa.2017-0285-RS>
 184. Nolfi-Donagan, D., Braganza, A., & Shiva, S. (2020). Mitochondrial electron transport chain: Oxidative phosphorylation, oxidant production, and methods of measurement. *Redox biology*, 37, 101674.
<https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101674>
 185. Bakhtiari, N., Hosseinkhani, S., Larijani, B., Mohajeri-Tehrani, M. R., & Fallah, A. (2012). Red blood cell ATP/ADP & nitric oxide: The best vasodilators in diabetic patients. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, 11, 1-7. <https://doi.org/10.1186/2251-6581-11-9>
 186. Huang, S., & Millar, A. H. (2013). Succinate dehydrogenase: The complex roles of a simple enzyme. *Current Opinion in Plant Biology*, 16(3), 344-349.
<https://doi.org/10.1016/j.pbi.2013.02.007>
 187. Engerman, R. L., & Kern, T. S. (1995). Retinopathy in animal models of diabetes. *Diabetes/metabolism reviews*, 11(2), 109-120.
<https://doi.org/10.1002/dmr.5610110203>

188. Barber, A. J., Gardner, T. W., & Abcouwer, S. F. (2011). The significance of vascular and neural apoptosis to the pathology of diabetic retinopathy. *Investigative ophthalmology & visual science*, 52(2), 1156-1163. <https://doi.org/10.1167/iovs.10-6293>
189. Behl, T., Kotwani, A. (2017). Downregulated brain-derived neurotrophic factor-induced oxidative stress in the pathophysiology of diabetic retinopathy. *Canadian Journal of Diabetes*, 41(2), 241-246. <https://doi.org/10.1016/j.jcjd.2016.08.228>
190. Tuwar, M. N., Chen, W. H., Chiwaya, A. M., Yeh, H. L., Nguyen, M. H., & Bai, C. H. (2023). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and translocator protein (TSPO) as diagnostic biomarkers for acute ischemic stroke. *Diagnostics*, 13(13), 2298. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13132298>
191. Le, Y. Z., Xu, B., Chucair-Elliott, A. J., Zhang, H., & Zhu, M. (2021). VEGF mediates retinal Müller cell viability and neuroprotection through BDNF in diabetes. *Biomolecules*, 11(5), 712. <https://doi.org/10.3390/biom11050712>
192. Guo, M., Liu, H., Li, S. S., Jiang, F. L., Xu, J. M., & Tang, Y. Y. (2017). Low serum brain-derived neurotrophic factor but not brain-derived neurotrophic factor gene val66met polymorphism is associated with diabetic retinopathy in Chinese type 2 diabetic patients. *Retina*, 37(2), 350-358. <https://doi.org/10.1097/IAE.0000000000001132>

ДОДАТОК А

Список публікацій здобувача

ДОДАТОК Б

1. Михейцева, І. М., Молчанюк, Н. І., Амайєд, А., Коломійчук, С. Г., & Сіроштаненко, Т. І. (2024). Особливості ультраструктурних змін у нейросенсорних елементах сітківки щурів при моделюванні діабетичної ретинопатії на тлі осьової міопії. *Фізіологічний журнал*, 1, 31–36. <https://doi.org/10.15407/fz70.01.031>
2. Михейцева, І., Амайєд, А., & Коломійчук, С. (2023). Енергетичний стан сітківки щурів з експериментальним діабетом і осьовою міопією. *Офтальмологічний журнал*, 4, 61–66. <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh202346166>
3. Михейцева, І. М., Амайєд, А., Артьомов, О. В., Коломійчук, С. Г., & Кузнецов, М. К. (2024). Вміст нейротрофічного фактору мозку BDNF в сітківці щурів з індукованим діабетом і осьовою міопією, взаємозв'язок зі структурою нейрональних елементів сітківки. *Офтальмологічний журнал*, 3, 40–44. <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh202434044>
4. Михейцева, І. М., Амайєд, А., Коломійчук, С. Г., & Артьомов, О. В. (2024). Взаємозв'язок між структурними змінами, маркером апоптозу та метаболічними показниками в сітківці щурів з діабетом та міопією. *Офтальмологічний журнал*, 6, 48–53. <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh202464853>
5. Борисов, С. О., Костєв, Ф. І., Борисов, О. В., Дехтяр, Ю. М., Віт, В. В., Молчанюк, Н. І., Михейцева, І. М., Коломійчук, С. Г., & Амайєд, А. (2022). Вплив цукрового діабету II типу, ускладненого пієлонефритом, на ультраструктурні зміни хоріоїдеї, сітківки та нефронів в експерименті. *Офтальмологічний журнал*, 3, 32–38. <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh202233238>

6. Михейцева, І. М., Коломійчук, С. Г., Сіроштаненко, Т. І., & Амайєд, А. (2024). Метаболічні показники гіпоксичного стану сітківки при експериментальній діабетичній ретинопатії та осьової міопії. *Збірник праць міжнародної науково-практичної міждисциплінарної конференції*, 64–66. <https://reposit.institut-filatova.com.ua/handle/123456789/742>
7. Михейцева, І. М., Амайєд, А., Артёмов, О. В., Коломійчук, С. Г., & Сіроштаненко, Т. І. (2024). Взаємозв'язок між гістоморфологічним станом та маркером апоптозу у сітківці щурів з гіперглікемією та міопією високого ступеня. *Теорія та практика сучасної морфології: матеріали Восьмої Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю*, 97–98. <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh202464853>
8. Михейцева, І. М., Коломійчук, С. Г., Сіроштаненко, Т. І., & Амайєд, А. (2023). Дослідження показників вуглеводного обміну в організмі у щурів з деприваційною міопією високого ступеню та діабетом II типу. *Лютневі зустрічі з офтальмології-2023: Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю*, 40–41. <https://reposit.institut-filatova.com.ua/handle/123456789/793>
9. Михейцева, І. М., Коломійчук, С. Г., Сіроштаненко, Т. І., & Амайєд, А. (2022). Вивчення показників енергетичного обміну в сітківці щурів при діабеті II типу та міопії. *Сучасні проблеми медицини: Практична офтальмологія. Сучасні проблеми екологічної медицини: Збірник праць науково-практичної конференції*, 52–54. <https://reposit.institut-filatova.com.ua/handle/123456789/1251>
10. Михейцева, І. М., Коломійчук, С. Г., Сіроштаненко, Т. І., & Амайєд, А. (2022). Активність мітохондріальної сукцинатдегідрогенази в сітківці щурів при моделюванні діабету II типу на тлі деприваційної міопії. *Актуальні проблеми сучасної біохімії, клітинної біології та фізіології: Матеріали VI міжнародної наукової конференції*, 157–158. <https://reposit.institut-filatova.com.ua/handle/123456789/1250>

11. Михейцева, І. М., Молчанюк, Н. І., Коломійчук, С. Г., Сіроштаненко, Т. І., & Амайєд, А. (2022). Вплив міопії високого ступеню на ультраструктурні зміни в судинах хоріоїдеї та сітківці щурів з діабетом II типу. *Теорія та практика сучасної морфології: Матеріали шостої всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю*, 102–103. <https://reposit.institut-filatova.com.ua/handle/123456789/725>
12. Михейцева, І. М., Молчанюк, Н. І., Артьомов, О. В., Коломійчук, С. Г., Сіроштаненко, Т. І., & Амайєд, А. (2021). Особливості морфологічного та ультраструктурного стану клітин сітківки щурів з діабетом II типу на тлі міопії високого ступеню. *Теорія та практика сучасної морфології: Матеріали п'ятої всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю*, 91–93. https://fz.kiev.ua/journals/2024_V.70/1/FZh-1-2024-31-36.pdf

Апробація результатів дисертації

Основні положення дисертації повідомлені, розглянуті і обговорені на науково-практичних конференціях з міжнародною участю:

- Восьма Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, 6-8 листопада 2024; Дніпро;
- Науково-практична конференція з міжнародною участю «Лютневі зустрічі з офтальмології-2023»: 1-2 лютого 2023 р.; Одеса;
- Шоста всеукраїнська науково – практичної конференція з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології»: 9 -11 листопада 2022 р.; Дніпро;
- Науково-практична конференція «Сучасні проблеми медицини (Практична офтальмологія. Сучасні проблеми екологічної медицини)»: 24-26 лютого 2022 р.; Київ.

ДОДАТОК В



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В.О. Коломієць, заст. директора з наукової роботи
ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної
терапії ім. В.П. Філатова НАМН України»

В.О. Коломієць

«27» вересня 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: «Визначення вмісту нейротрофічного фактору мозку BDNF в сітківці шурів при діабетичній ретинопатії».

2. Установа, що пропонує впровадження, поштова адреса, автори: ДУ «ІНСТИТУТ ОЧНИХ ХВОРОБ І ТКАНИННОЇ ТЕРАПІЇ ІМ. В.П. ФІЛАТОВА НАМН УКРАЇНИ»; 65061, Французький бульвар, 49/51, м. Одеса; Михейцева І.М., Амаїєд А.

3. Джерело інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, вихідні дані статті, з'їздів, конференцій, № АС і т. п.): Михейцева І, Амаїєд А, Артёмов О, Коломійчук С, Кузнецов М. Вміст нейротрофічного фактору мозку BDNF в сітківці шурів з індукованим діабетом і осьовою міопією, взаємозв'язок зі структурою нейрональних елементів сітківки. Офтальмол. журн. 2024; 3: 40-44.

4. Впроваджено в (найменування лікувально-профілактичного закладу): Лабораторія біохімії ДУ «ІНСТИТУТ ОЧНИХ ХВОРОБ І ТКАНИННОЇ ТЕРАПІЇ ІМ. В.П. ФІЛАТОВА НАМН УКРАЇНИ»; 65061, Французький бульвар, 49/51, м. Одеса.

5. Область застосування методу:

А) лікувально-профілактична робота: -

Б) педагогічний процес: -

В) наукова діяльність: Виконана робота є складовою частиною затверджених НАМН України науково-дослідних робіт ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України» – «Клініко-експериментальне дослідження у визначенні патогенетичної ролі порушень метаболізму переднього і заднього відділу ока при діабеті II типу з міопією (№ 200-А/2019-2, № Держ. реєстрації 0119U101071), де дисертант є співвиконавцем. Інформація про визначення вмісту нейротрофічного фактору мозку BDNF в сітківці шурів при діабетичній ретинопатії, яка доведена в доклінічних дослідженнях, використовується в лабораторії біохімії.

6. Строки впровадження з травня 2024 р. до вересня 2024 р.

7. Ефективність впровадження (скорочення тривалості перебування в стаціонарі, термінів амбулаторного лікування, тимчасової непрацездатності, планування диспансерних заходів, прогнозування здоров'я, економічний ефект і інші показники): в доклінічних дослідженнях використовується спосіб визначення вмісту нейротрофічного фактору мозку BDNF в сітківці шурів при діабетичній ретинопатії, зміна рівня якого має важливу патогенетичну роль при розвитку нейродегенерації та розвитку ретинопатії, що буде мати позитивний вплив на якість діагностики та прогнозування очної патології.

8. Зауваження, пропозиції: немає

«27» вересня 2024 р.

Д.біол.н., ст. наук. спів роб., зав. лабораторії біохімії
ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної
терапії ім. В. П. Філатова НАМН України»

Михейцева І.М.



ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи

Одеського національного

університету ім. І.І. Мечникова

канд. біол. н.

О.В. Запорожченко

«28» грудня 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: «Енергетичний стан сітківки щурів при моделюванні діабету та супутніх патологічних станах».

2. Установа, що пропонує впровадження, поштова адреса, автори: ДУ «ІНСТИТУТ ОЧНИХ ХВОРОБ І ТКАНИННОЇ ТЕРАПІЇ ІМ. В.П. ФІЛАТОВА НАМН УКРАЇНИ»; 65061, Французький бульвар, 49/51, м. Одеса; Михейцева І.М., Амаїєд А.

3. Джерело інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, вихідні дані статті, з'їздів, конференцій, № АС і т. п.): Михейцева І, Амаїєд А, Коломійчук С. Енергетичний стан сітківки щурів з експериментальним діабетом і осьовою міопією. Офтальмол. журн. 2023; 4: 61-66.

4. Впроваджено в (найменування науково-педагогічного закладу): кафедра фізіології, здоров'я і безпеки людини та природничої освіти Одеського національного університету ім. І.І. Мечникова; 65058, Шампанський пров, 2, м. Одеса.

5. Область застосування методу:

А) лікувально-профілактична робота: -

Б) педагогічний процес: інформація про особливості енергетичного стану сітківки щурів, які розвинулись при експериментальному діабеті у супроводі осьової міопії, яка отримана в доклінічних дослідженнях, використовується на лекціях та семінарах.

В) наукова діяльність: Виконана робота є складовою частиною затверджених НАМН України науково-дослідних робіт ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України» – «Клініко-експериментальне дослідження у визначенні патогенетичної ролі порушень метаболізму переднього і заднього відділу ока при діабеті II типу з міопією (№ 200-А/2019-2, № Держ. реєстрації 0119U101071), де дисертант є співвиконавцем.

6. Строки впровадження з червня 2023 р. до грудня 2023 р.

7. Ефективність впровадження (скорочення тривалості перебування в стаціонарі, термінів амбулаторного лікування, тимчасової непрацездатності, планування диспансерних заходів, прогнозування здоров'я, економічний ефект і інші показники): На лекціях та семінарах по патофізіології показано, що порушення енергетичного стану сітківки щурів є важливою патогенетичною ланкою при розвитку експериментального діабету при супутніх патологічних станах.

8. Зауваження, пропозиції: немає

«28» грудня 2023 р.

Д.біол.н., зав. кафедри фізіології, здоров'я і безпеки людини
та природничої освіти Одеського національного
університету ім. І.І. Мечникова

Макаренко О.А.