

40. *Нарушение когнитивных функций при сосудистых поражениях головного мозга в практике военного невролога* / М. М. Одинак, А. Ю. Емелин, П. А. Коваленко [и др.] // Военно-медицинский журнал. – 2009. – Т. 33, № 4. – С. 32–40.

41. *Захаров В. В.* Когнитивные нарушения при дисциркуляторной энцефалопатии / В. В. Захаров, А. Б. Локшина // Русский медицинский журнал. – 2009. – Т. 17, № 20. – С. 1325–1329.

42. *Умеренные когнитивные нарушения у пациентов с систолической хронической сердечной недостаточностью* / В. С. Краснов, В. А. Сорокоумов, А. А. Тимофеева, М. Ю.

Ситникова // Сборник статей и тезисов II Национального конгресса «Кардионеврология». – СПб., 2012. – С. 401.

43. *The FAB: a frontal assesement battery at bedside* / B. Dubois, A. Slachevsky, I. Litvan, B. Pillon // Neurology. – 2000. – Vol. 55. – P. 1621–1626.

44. *Nasreddine Z. S.* The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment / Z. S. Nasreddine, N. A. Phillips, V. Bedirian // J. Amer. Geriatrics Soc. – 2005. – Vol. 53, N 4. – P. 695–699.

Поступила 20.08.2015

Рецензент д-р мед. наук, доц. А. Н. Стоянов

**УДК 615.015:615.21/.26:616-005.4:617.735:617.731**

**І. Л. Черешнюк**, канд. мед. наук,

**О. А. Ходаківський**, д-р мед. наук, доц.,

**Г. В. Загорій<sup>1</sup>**, д-р фарм. наук, проф.

## **ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙРОРЕТИНОПРОТЕКТОРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ АДЕМОЛУ ЗА МОРФОЛОГІЧНИМИ ЗМІНАМИ СІТКІВКИ ТА ЗОРОВОГО НЕРВА ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ШЕМІЇ-РЕПЕРФУЗІЇ ОКА НА ТЛІ АЛОКСАНОВОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ**

*Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова,  
Вінниця, Україна,*

*<sup>1</sup> Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика,  
Київ, Україна*

**УДК 615.015:615.21/.26:616-005.4:617.735:617.731**

**І. Л. Черешнюк, О. А. Ходаківський, Г. В. Загорій<sup>1</sup>**

## **ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙРОРЕТИНОПРОТЕКТОРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ АДЕМОЛУ ЗА МОРФОЛОГІЧНИМИ ЗМІНАМИ СІТКІВКИ ТА ЗОРОВОГО НЕРВА ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ШЕМІЇ-РЕПЕРФУЗІЇ ОКА НА ТЛІ АЛОКСАНОВОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ**

*Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Вінниця, Україна,*

*<sup>1</sup> Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, Київ, Україна*

Дана робота присвячена характеристиці патоморфологічних змін у сітківці та зоровому нерві, що наявні після ішемії-реперфузії ока кроля (створення підвищеного до 125 мм рт. ст. внутрішньоочного тиску за допомогою стовпчика рідини заввишки 170 см, що розміщений у системі для інфузій, яка з'єднує передню камеру ока з флаконом 0,9 % розчину NaCl) на тлі алоксанового цукрового діабету (одноразове введення алоксану моногідрату в крайову вену вуха дозою 200 мг/кг у вигляді 5,0 % розчину в ацетатному буфері з рН 4,5). Доведено спроможність модулятора поліамінового сайту NMDA-рецепторів, 1-1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду — адемолу зберігати цитоархітектоніку досліджуваних структур зорового аналізатора, що свідчить про наявність у нього нейроретинопротекторних властивостей.

**Ключові слова:** адемом, нейроретинопротекція, сітківка, зоровий нерв, ішемія-реперфузія ока, кролі.

**UDC 615.015:615.21/.26:616-005.4:617.735:617.731**

**I. L. Chereshnyuk, O. A. Khodakivskyu, G. V. Zagoriy<sup>1</sup>**

## **ADEMOL NEURORETINOPROTECTIVE PROPERTIES CHARACTERISTICS USING RETINA AND OPTIC NERVE MORPHOLOGICAL CHANGES UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL EYE ISCHEMIA-REPERFUSION ON THE BACKGROUND OF ALLOXANE-INDUCED DIABETES**

*Vinnitsya National Pirogov Memorial Medical University, Vinnitsya, Ukraine,*

*<sup>1</sup> Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine*

This work is devoted to the characterization of pathological changes in the retina and optic nerve, occurring after ischemia-reperfusion rabbit eye (creating of increased up to 125 mm Hg of the intraocular pressure with column liquid height 170 cm, which is a system for infusion, which connects the anterior chamber of the eye with a bottle of 0.9% NaCl solution) on the background of alloxan induced diabetes (a single alloxan monohydrate dose into the marginal ear vein dose of 200 mg/kg as a 5.0% solution in acetate buffer, pH 4.5). It was analyzed an ability of the modulator polyamine site NMDA-receptor 1-adamantylethoxy-3-morpholino-2-propanol hydrochloride — ademol to keep cytoarchitectonics of structures studied visual analyzer, indicating the presence of neuroretinoprtective properties.

**Key words:** ademol, neuroretinoprotection, retina, optic nerve, ischemia-reperfusion of eye, rabbits.

## Вступ

Відомо, що зміни метаболізму нейронів головного мозку та сітківки в умовах гострої редукції кровообігу схожі та відбуваються стадійно, що дозволяє розробити інтегровані підходи до терапії як цереброваскулярної патології, так і ретинопатій різного генезу. Зокрема, глутаматна ексайтотоксичність, яка опосередкована надмірною активацією NMDA-рецепторів і є ключовою ланкою на початку деструктивно-дегенеративних явищ при ішемічних ураженнях мозку та сітківки, — потенційна мішень щодо можливих розроблень напрямів патогенетичної терапії цих станів [2]. До таких перспективних ретинопротекторів теоретично можна зарахувати модулятор поліамінового сайту NMDA-рецепторів, 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлорид — адемомол.

Зоровий аналізатор є однією з мішеней цукрового діабету (ЦД), а діабетична ретинопатія — провідна причина втрати зору. У патогенезі ретинопатії при ЦД пусковим механізмом, перш за все, вважається постійна або досить тривала неконтрольована гіперглікемія. Враховуючи наявні нейрцитопротекторні властивості адемомолу в умовах нормоглікемії [1], було доцільним охарактеризувати його ефективність як нейроретинопротектора і при ЦД. Нині розроблено кілька моделей експериментального ЦД. Нашу увагу привернуло моделювання ішемії-реперфузії (ІР) ока на тлі алоксанового ЦД (ЦД 1 типу — інсулінозалежний), який вирізняється швидким розвитком і значною тяжкістю.

**Мета** дослідження — дослідити вплив адемомолу на гістоструктуру сітківки і зорового нерва при ішемії-реперфузії ока у кролів з цукровим діабетом.

### Матеріали та методи дослідження

При оцінці ретинопротекторних властивостей адемомолу в умовах ЦД кролів, що досліджували, розподілили на 3 групи (по 8 тварин у кожній). До І групи увійшли псевдооперовані кролі (тварини, яким не моделювали ЦД і здійснювали відповідні офтальмологічні процедури без ІР ока), ІІ — кролі, яким моделювали ІР на тлі алоксанового ЦД (група контрольної патології), ІІІ — кролі з ІР на тлі ЦД, яким вводили адемомол. Попередньо за 10 днів до ІР ока у тварин ІІ та ІІІ груп моделювали алоксановий ЦД за методикою, наведеною нижче. Після 24-годинної депривації їжі кролям вводили алоксану моногідрат ("Sigma", США) одноразово в крайову вену вуха дозою 200 мг/кг у вигляді 5,0 % розчину в ацетатному буфері з рН 4,5 [3]. Через 14 діб, коли вміст глюкози у крові тварин перевищував 11 ммоль/л (глікемію контролювали в пробах капілярної крові за допомогою глюкометра Assi-Checkperforma ("Roche", Швейцарія)), їм моде-

лювали ІР ока. Під загальним знеболюванням за допомогою парацетезу здійснювали катетеризацію передньої камери ока з подальшим під'єднанням через систему для внутрішньовенних (в/в) інфузій канюлі з флаконом 0,9 % розчину NaCl об'ємом 400,0 мл, який розташовували на штативі заввишки 170 см. Стовпчик рідини заданої висоти, що заповнює систему, забезпечує підвищення внутрішньоочного тиску 125 мм рт. ст. (період ішемії). Реперфузія судин сітківки настає під час зниження внутрішньоочного тиску при від'єднанні системи від катетера на 75 хв експерименту. Обрана модель ІР у кролів є загальнови-знаною для оцінки ретинопротекторної та офтальмогіпотензивної активності препаратів і біологічно-активних речовин [4–6].

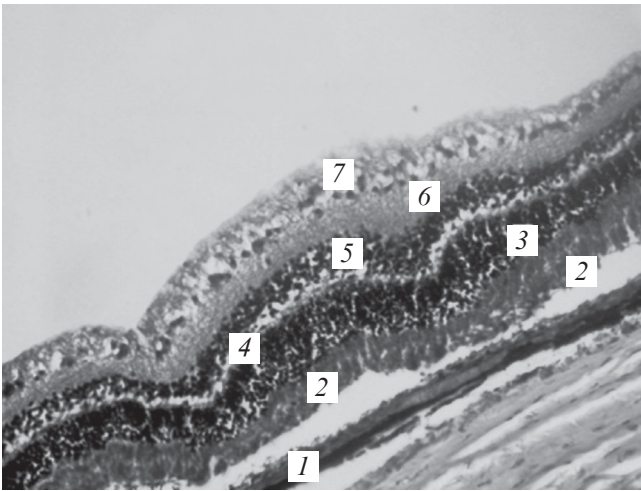
Адемомол (1,0 % розчин «Адемомол», Дарниця, Україна) вводили у профілактично-лікувальному режимі дозою 2 мг/кг повільно в/в протягом 10 хв у попередньо катетеризовану (катетер, ERG 22 G, Польща) крайову вену вуха. Першу інфузію здійснювали за 30 хв до моделювання ішемії, з подальшою аналогічною кратністю застосування протягом 7 діб експерименту. Група контрольної патології одержувала 0,9 % розчин NaCl із розрахунку 2 мл/кг. Будь-які травматичні маніпуляції та евтаназію тварин виконували в умовах пропофолового наркозу — 60 мг/кг в/в ("Frese-niusKabi", Австрія) [1].

Для проведення морфологічних досліджень (7-ма доба експерименту) після енуклеації очні яблука тварин поміщали на 24 год у фіксатор Девідсона, заливаючи після стандартної гістологічної проводки у парафін. На ротаційному мікротомі виготовляли 5-мікронні зрізи сітківки і зорового нерва, які депарафінували за стандартною методикою та забарвлювали гематоксиліном й еозинном [6].

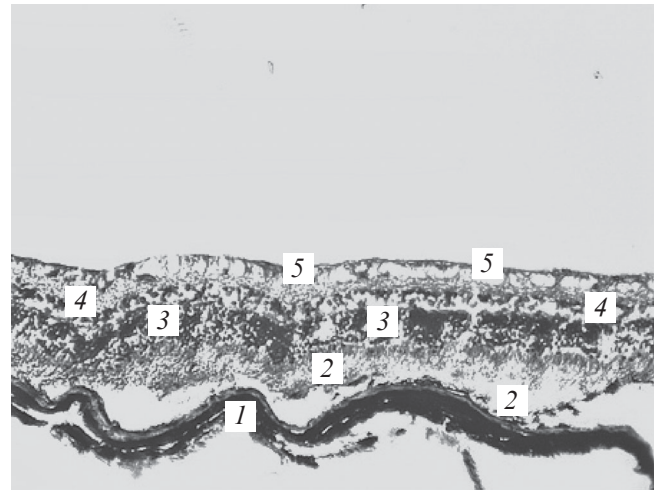
### Результати дослідження та їх обговорення

При мікроскопічному дослідженні сітківки тварин І групи (псевдооперовані кролі) візуалізувалася характерна для цієї структури ока в нормі чітка диференційована шаруватість і цілісність цитоархітектоніки (рис. 1). Між хоріокапілярним шаром і шаром фоторецепторів розташований пігментний епітелій сітківки, який має вигляд безперервної коричневої пластинки. Клітини цього шару, інтенсивно пігментовані, щільно прилягають одна до одної.

Фотосенсорний шар утворювали щільно розташовані зовнішні та внутрішні сегменти цитоплазматичних виростів фоторецепторних клітин. Помітною, без ознак морфологічних змін, була зовнішня погранична мембрана, яка візуально відокремлює фотосенсорний шар від прилеглого до нього зовнішнього ядерного шару. Досередини, від зовнішньої пограничної мембрани, розташований зовнішній ядерний шар, який містить



*Рис. 1.* Сітківка псевдооперованого кроля без цукрового діабету. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Об'єктив  $\times 20$ . Окуляр  $\times 10$ : 1 — пігментний епітелій сітківки; 2 — фотосенсорний шар; 3 — зовнішній ядерний шар; 4 — зовнішній сітчастий шар; 5 — внутрішній ядерний шар; 6 — внутрішній сітчастий шар; 7 — гангліозний шар і шар нервових волокон



*Рис. 2.* Сітківка кроля групи контрольної патології (ішемія-реперфузія ока на тлі цукрового діабету). Забарвлення гематоксиліном та еозином. Об'єктив  $\times 20$ . Окуляр  $\times 10$ . Деструктивні зміни в усіх шарах сітківки: 1 — пігментний епітелій сітківки; 2 — набряк фотосенсорного шару; 3 — розрідження зовнішнього ядерного та зовнішнього сітчастого шару; 4 — стоншення внутрішнього ядерного та внутрішнього сітчастого шару; 5 — депопуляція гангліозного шару та стоншення шару нервових волокон

тіла й ядра фоторецепторних клітин. Ядра фоторецепторних клітин овальної форми, а самі клітини збіднені на цитоплазму.

Зовнішній сітчастий шар утворений внутрішніми волокнами (аксонами) фоторецепторів, відростками клітин Мюллера, дендритами біполярних і горизонтальних клітин. Внутрішній ядерний шар сітківки значно тонший порівняно із зовнішнім ядерним шаром, однак має більш широкий популяційний склад клітин. Указаний шар становлять ядра біполярних, горизонтальних, амакринових, міжплексиформних клітин і клітин Мюллера.

Внутрішній сітчастий шар набагато товщий за зовнішній. Він сформований відростками біполярних і гангліозних нейронів, які утворюють тут синаптичні зв'язки, відростками клітин Мюллера та поодинокими ядрами амакринових і гангліозних клітин. Гангліонарний шар сітківки побудований, в основному, з тіл і ядер гангліозних клітин (найбільших клітин сітківки), у їх цитоплазмі наявна базофільна зернистість, а їх безмілінові аксони великі у діаметрі. Також гангліонарний шар містить деяку частину клітин нейроглії та відростки клітин Мюллера. Шар нервових волокон — це безмілінові аксони гангліозних клітин, які й формують зоровий нерв.

Зоровий нерв псевдооперованих кролів (рис. 2) має однорідну гістологічну структуру без патоморфологічних змін і утворений нервовими волокнами, гліальною тканиною та капілярами. У його центрі проходить судинний пучок центральних судин сітківки (центральна артерія та вена сітківки). По осі нерва помітний сполучнотка-

нинний тяж, що обплітає центральну артерію й вену. Фіброзні перегородки, які йдуть від м'якої мозкової оболонки, ділять волокна зорового нерва на рівномірні пучки. Наявні олігодендроцити, що забезпечують мієлінізацію нервових волокон, а також астроцити, які вистилають міжаксональний простір, також без ознак патології.

Порівняно з гістологічною будовою ретинального апарата псевдооперованих кролів, у сітківках тварин групи контрольної патології на 7-му добу після ІР спостерігалися виражені порушення цитоархітектоніки практично в усіх шарах цієї структури: шарі пігментного епітелію, фотосенсорному, внутрішньому та зовнішньому ядерних, внутрішньому та зовнішньому сітчастих, гангліозному, у шарі нервових волокон (рис. 3). Також привертає увагу значне зменшення як загальної товщини сітківки, так і окремих її шарів. Клітини шару пігментного епітелію сплюснені, деякі з них малопігментовані, спостерігається їх дефіцит і поодинокі міграція в зовнішню сітківку. У тварин ІІ групи виявлені патологічні зміни і в судинній оболонці, які проявлялися, в основному, атрофією хоріокапілярів.

У фотосенсорному шарі сітківки кролів групи контрольної патології спостерігаються виражений набряк із наявністю великої кількості вакуолей і просторів, виражена дезорганізація та деградація як зовнішніх, так і внутрішніх сегментів фоторецепторів, а на досить протяжних ділянках — їх майже повна відсутність, особливо зовнішніх сегментів. Також у цьому шарі є фокуси гомогенізації та проникнення в нього поодиноких лімфоцитів. Зовнішня погранична мембрана не

визначається, а місцями залишки фотосенсорного шару немов би зливаються із зовнішнім ядерним шаром, через що втрачається можливість їх чіткої диференціації.

Зовнішній ядерний шар у тварин групи контрольної патології цитологічно нерівномірний за товщиною, розріджений, особливо в зонах, які суміжні з фотосенсорним шаром. Спостерігається порушення упорядкування, стовпчатого розташування та вертикальної орієнтації клітин. У цьому шарі сітківки також є ознаки значного набряку, більше виражені у зонах, які межують із фотосенсорним шаром. Це свідчить про суттєві структурні ушкодження тіл самих нейронів, їх загибель, що і призвело до зменшення кількості клітин і зниження цитогенності цього шару.

Зовнішній сітчастий шар стоншений. Разом із тим на всьому його протязі також спостерігались ознаки набряку з вираженим порушенням структури нейронних відростків, які відділені один від одного, а у багатьох місцях розірвані та фрагментовані.

Внутрішній ядерний шар сітківки тварин групи контрольної патології порівняно з псевдооперованими тваринами перебуває в стані атрофії: у багато разів стоншений, розріджений і з дуже низькою цитогенністю. Значно стоншений і внутрішній сітчастий шар. Спостерігається порушення упорядкування напрямку аксонів клітин попереднього нейронного шару і дендритів клітин наступного, гангліозного шару.

На гістологічних препаратах сітківки кролів групи контрольної патології гангліозний шар практично не містить збережених нейронів. Так, серед переплетень відростків у цьому шарі скрізь візуалізуються величезні вакуолі, утворення поліморфних порожнеч: овальної або неправильної форми. Деінде виявляються поодинокі гангліозні клітини з надзвичайно набряклим, ектопованим або пікнотизованим ядром, частіше без ядра, з явищами важкого хроматолізу. У їх цитоплазмі зникає характерна зернистість. У шарі нервових волокон спостерігається деформація, фрагментація і розволокнення аксонів гангліозних клітин.

Деструктивно-дегенеративні зміни у постреперфузійному періоді відбувалися не тільки в сітківці, а й у структурах зорового нерва (рис. 4). Порівняно з псевдооперованими кролями, у тварин контрольної патології мікроскопічно виявляється сильний набряк, набухання клітин периневрія й ендоневрія, значне розволокнення нервових пучків, атрофія нервових волокон, а також суттєве зменшення кількості олігодендроцитів і астроцитів.

При дослідженні сітківки кролів з ІР ока на тлі ЦД, яких лікували адемолом, відзначається не тільки суттєве збереження всіх шарів, а і їх товщини. Хоча і в цій групі тварин спостерігаються деякі патологічні зміни як наслідок важкого гострого порушення ретинального кровообігу (рис. 5).

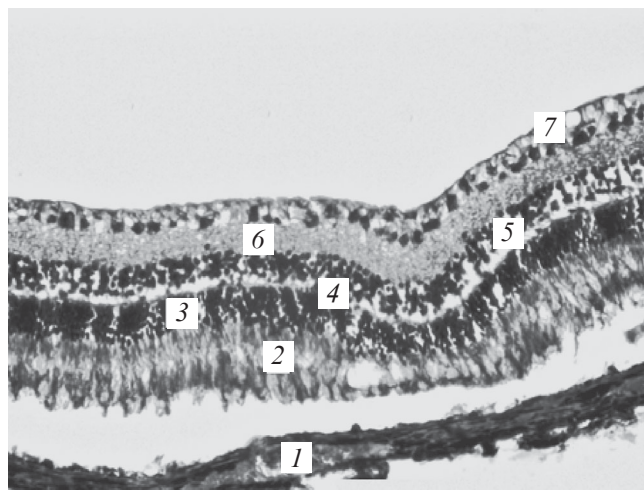


Рис. 3. Сітківка кроля з ішемією-реперфузією ока на тлі цукрового діабету (7-ма доба терапії адемолом). Забарвлення гематоксиліном та еозином. Об'єктив  $\times 20$ . Окуляр  $\times 10$ . Збереження цитоархітектоніки сітківки: 1 — пігментний епітелій сітківки; 2 — фотосенсорний шар; 3 — зовнішній ядерний шар; 4 — зовнішній сітчастий шар; 5 — внутрішній ядерний шар; 6 — внутрішній сітчастий шар; 7 — гангліозний шар і шар нервових волокон

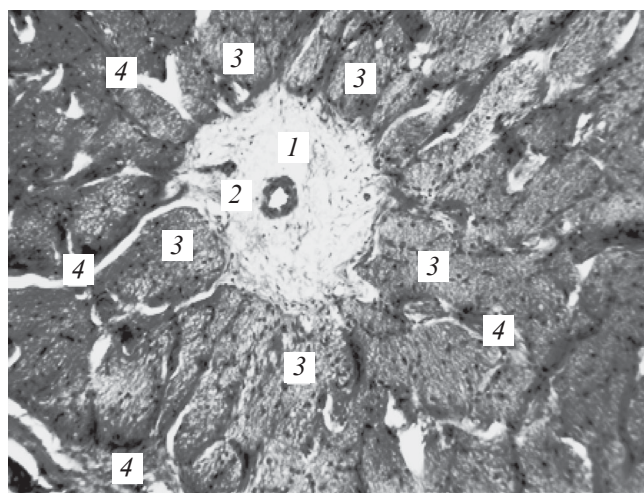


Рис. 4. Фрагмент зорового нерва псевдооперованого кроля без цукрового діабету (поперечний зріз). Забарвлення гематоксиліном та еозином. Об'єктив  $\times 20$ . Окуляр  $\times 10$ : 1 — центральна артерія сітківки; 2 — центральна вена сітківки; 3 — пучки нервових волокон, які розмежовані один від одного перетинками, що відходять від м'якої мозкової оболонки нерва (4)

Зокрема, траплявся помірний набряк фотосенсорного шару сітківки. Однак переважна більшість зовнішніх і внутрішніх сегментів фоторецепторів виглядають неушкодженими. У структурах зовнішнього та внутрішнього ядерних шарів зміни майже не помітні. Зовнішній ядерний шар сітківки, за мікроскопічною характеристикою, залишався потенційно функціонуючим. У ньому лише де-не-де спостерігався частковий дефіцит ядерних елементів. На тлі терапії адемолом доб-

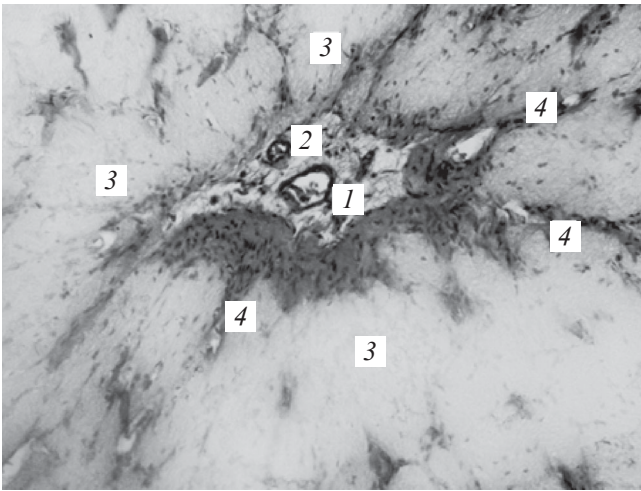


Рис. 5. Фрагмент зорового нерва кроля групи контрольної патології (ішемія-реперфузія на тлі цукрового діабету, поперечний зріз). Забарвлення гематоксилином та еозином. Об'єктив  $\times 20$ . Окуляр  $\times 10$ . Атрофія нервових волокон та їх набряк; 1 — центральна артерія сітківки; 2 — центральна вена сітківки; 3 — пучки нервових волокон, які розмежовані один від одного перетинками, що відходять від м'якої мозкової оболонки нерва (4)

ре збережена структура і внутрішнього сітчастого шару сітківки, без ознак його набряку та стоншення. Також при дослідженні сітківки цієї групи тварин привертає увагу цілком задовільний стан гангліозного шару, який за кількістю клітин майже не відрізняється від аналогічного шару сітківки псевдооперованих кролів. На тлі лікування адемолом тварин із ЦД та ІР ока пігментний епітелій майже неушкоджений, а в судинній облонці подекуди лише м'яка атрофія хоріокапілярів.

У постреперфузійному періоді у зоровому нерві кролів із ЦД на тлі застосування адемолу спостерігається сіткоподібна гідратація структурних компонентів, проте явища набряку порівняно із зоровими нервами тварин групи контрольної патології менш виражені. При цьому відзначається достатньо велика кількість олігодендроцитів і астроцитів, що за своєю картиною наближається до морфоструктури зорового нерва псевдооперованих кролів. Помітних явищ атрофії волокон під час терапії постреперфузійної ішемії ока адемолом порівняно з тваринами групи контрольної патології не виявлено.

Можна припустити, що подібно до реалізації комплексу притаманних адемолу церебропротекторних механізмів при гострій церебральній ішемії [1], в умовах ІР ока в сітківці також наявний його модулювальний вплив на активність NMDA-рецепторів, обмін монооксиду азоту, антиапоптотичну активність, стимуляцію кровопостачання, усунення енергодефіциту й оксидантного ушкодження клітин сітківки, що сприяє істотному збереженню нейронів

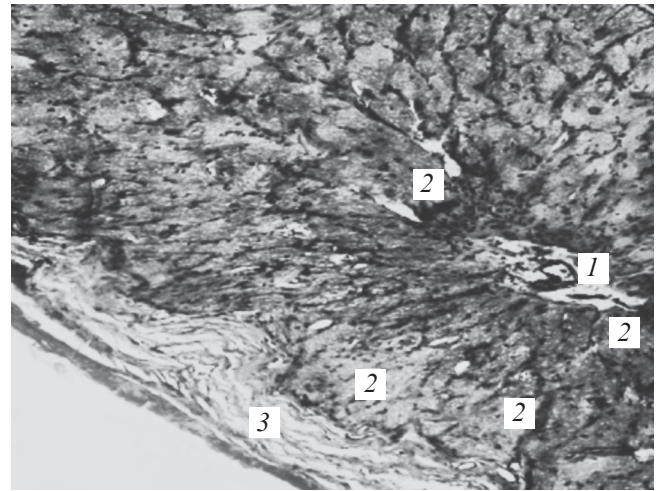


Рис. 6. Фрагмент зорового нерва кроля з ішемією-реперфузією ока на тлі цукрового діабету та 7-му добу терапії адемолом (поперечний зріз). Забарвлення гематоксилином та еозином. Об'єктив  $\times 20$ . Окуляр  $\times 10$ ; 1 — центральні артерія та вена сітківки; 2 — пучки нервових волокон, які розмежовані один від одного перетинками, що відходять від м'якої мозкової оболонки нерва (3)

усіх клітинних шарів сітківки та волокон зорового нерва.

## Висновки

Застосування 1,0 % розчину адемолу (2 мг/кг, в/в) кролям з ішемією-реперфузією сітківки на тлі цукрового діабету ефективно сприяє збереженню цитоархітектоніки досліджуваних структур зорового аналізатора, що свідчить про наявність у нього нейроретинопротекторних властивостей.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Ходаківський О. А. Патогенетичне обґрунтування доцільності використання нових похідних адамантану при експериментальній терапії гострої ішемії головного мозку та міокарда (експериментальне дослідження) : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : спец. 14.03.05 «Фармакологія» / О. А. Ходаківський. — Одеса, 2014. — 24 с.
2. Optic nerve and neuroprotection strategies / N. N. Osborne, G. Chidlow, C. J. Layton [et al.] // Eye. — 2004. — Vol. 18, N 11. — P. 1075–1084.
3. Можейко Л. А. Экспериментальные модели для изучения сахарного диабета. Ч. I. Аллоксановый диабет / Л. А. Можейко // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. — 2013. — № 3. — С. 26–29.
4. Comparison of the protective effects of prostaglandin analogues in the ischemia and reperfusion model of rabbit eyes / S. Emre, M. Gul, B. Ates [et al.] // Exp. Anim. — 2009. — Vol. 58 (5). — P. 505–513.
5. Ischemia-reperfusion causes exudative detachment of the rabbit retina / O. Uckermann, S. Uhlmann, T. Pannicke [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 2005. — Vol. 46 (7). — P. 2592–2600.
6. Kaskel D. Enzymologic and histologic investigations in normal and pressure-ischemic retina of rabbits / D. Kaskel, H. Valenzuela, O. Hockwin [et al.] // Scheldtler Graefes Archiv und experimentell ophthalmologie. — 1976. — Vol. 200. — P. 71–78.

Надійшла 21.09.2015

Рецензент д-р мед. наук, доц. П. Б. Антоненко