

Метаболічна корекція експериментальної діабетичної ретинопатії

І. В. Савицький¹, д-р мед. наук, проф; В. В. Семенко², лікар; В. М. Сердюк^{2,3}, д-р мед. наук

¹ Одеський національний медичний університет; Одеса (Україна)

² КЗ «Дніпропетровська обласна клінічна офтальмологічна лікарня»; Дніпро (Україна)

³ Дніпропетровська медична академія МОЗ України; Дніпро (Україна)

E-mail: farmakod@ukr.net

Ключові слова:

цукровий діабет, діабетична ретинопатія, аргінін, гістологічне дослідження, очне яблуко, NO-S

Вступ. Діабетична ретинопатія (ДР) діагностується у 50% хворих на цукровий діабет (ЦД) I типу при тривалості захворювання 10-15 років і у 75-90% хворих при тривалості діабету більше 15 років [1]. Корекція судинної патології є одним із важливих напрямків лікування ДР. Однією із ключових ланок порушення судинної системи при ЦД є дисфункція ендотелію [2]. У літературних джерелах існує низка клінічних та експериментальних досліджень, які пов'язують порушення ендотелію та еластичних властивостей артерій з розвитком судинних ускладнень діабету [3, 4, 5, 6]. До ендотеліальної дисфункції (ЕД) призводить порушення синтезу оксиду азоту (NO), який відіграє важливу фізіологічну роль, володіючи широким спектром біорегуляторних ефектів [7, 8]. NO в підтримці судинного гомеостазу характеризується регуляцією тону судин, проліферацією і апоптозом, регуляцією оксидантних процесів, ангіопротекторними властивостями. Він є також є сильним периферичним вазодилатором [8]. Головним субстратом для синтезу NO є аргінін [9]. Він виконує доволі велику кількість важливих функцій в організмі, але основна його роль полягає в тому, що він є субстратом для синтезу оксиду азоту [10-14]. Тому для корекції ЕД, зокрема за ЦД, необхідна саме ця амінокислота, з якої ендотелій зможе синтезувати необхідні речовини [15].

Мета – обґрунтування можливості корекції аргініном змін у судинах очного яблука на ранніх стадіях розвитку ДР.

Вступ. Діабетична ретинопатія діагностується у 50% хворих на цукровий діабет I типу при тривалості захворювання 10 років і у 75-90% хворих при тривалості діабету більше 15 років.

Мета. Обґрунтування можливості корекції аргініном змін у судинах очного яблука на ранніх стадіях розвитку діабетичної ретинопатії.

Матеріал та методи. У досліді приймали участь білі щури лінії Вістар. 1-а група – 20 інтактних тварин; 2-а група – 30 тварин, у яких моделювали цукровий діабет; 3-я група – 30 тварин, які на тлі змодельованого цукрового діабету отримували 7% розчин аргініну.

Результати. При аналізі рівню глюкози спостерігається відсутність відмінностей між 1 і 3 групами ($p=0,14$), і виявлена високо значуща відмінність між 2 і 3 ($p=0,0019$). При гістологічному дослідженні тканин очного яблука виявлено, що фіброзні волокна не об'єднані в однорідний масив, можна виділити окремі пучки. В шарі паличок і колбочок структурні елементи мають бліде забарвлення, але щільність їх розташування висока. Зовнішній гранулярний шар сітківки представлений досить щільно розташованими ядрами, які є відносно великими, округлими, яскраво забарвлені. Внутрішній гранулярний шар відповідає опису зовнішнього. У гангліонарному шарі ядра нейронів розподілені досить рівномірно, округлі, добре профарбовані.

Висновок. Вживання аргініну сприяє збереженню структури і функції судин і зниженню важкості патологічного процесу.

Матеріали та методи

У дослідженні були використані білі щури лінії Вістар аутобредного розведення, масою 180-200 г. Відповідно до задач роботи тварини були розділені на 3 групи:

1-а група – 20 тварин, які не піддавалися ніякому впливу, слугували контролем;

2-а група – 30 тварин, у яких моделювали цукровий діабет;

3-я група – 30 тварин, які на фоні змодельованого цукрового діабету отримували 7% розчин аргініну.

ЦД моделювали триразовим внутрішньоочеревинним, з інтервалом 5 днів, введенням алоксану в дозі 7,5 мл. Введення алоксану здійснювали на фоні вільного пиття тваринами 5% розчину фруктози. Тривалість експерименту 30 діб. Використання цієї моделі супроводжувалось 100% виживанням піддослідних щурів. Тварин виводили з досліду шляхом декапітації під легким ефірним наркозом згідно з «Правилами виконання робіт з використанням експериментальних тварин», затверджених Наказом МОЗ України № 249 від 01.03.2012 та Законом України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (зі змінами від 15.12.2009р та від 16.10.2012р). У тварин забирали 5 мл крові, в сироватці якої визначали рівень цукру з використанням біохімічного напівавтоматичного ана-

лізатора Мікролаб-300 (Нідерланди) ферментативним (глюкозооксидазним) методом. Проводили енуклеацію. Одне очне яблуко фіксували впродовж 24 годин в 4% розчині параформальдегіду, потім одержані матеріали проводили через спирти зростаючої концентрації і заливали у целоїдин за загальноприйнятою методикою. З отриманих блоків виготовляли гістологічні зрізи 7-9 мкм, які фарбували гематоксиліном-еозинном. Отримані препарати досліджували під світловим мікроскопом і визначали структурні зміни в утвореннях очного яблука. Друге очне яблуко заморожували рідким азотом (-196 ° С), з отриманих блоків виготовляли кріостатні зрізи товщиною 11 мкм, на яких гістологічним методом визначали активність NO-синтази за методикою Ллойда, в основі якої лежить використання уніфікованого розчину, до якого додаються розчини відповідного субстрату та коферменту [16].

Активність NO-синтази (NO-S) оцінювали за кольором гранул і фону, а також на підставі порівняльної щільності розподілу гранул:

– сіре, сірувато-жовте фарбування дрібних гранул формазану свідчить про слідову активність NO-S у тілі клітини; фонове забарвлення сірувате або сірувато-фіолетове забарвлення, що свідчить про слідові активність NO-S.

– сіро-жовтувате фарбування дрібних і середніх гранул в клітці і сірувато-жовтувате забарвлення фону – слабка активність NO-S.

– жовте, жовто-коричневе забарвлення дрібних і середніх гранул в клітинах на жовтуватій або пісочній фоновій забарвленості, розглядається як помірна активність NO-S.

– жовто-коричневе або коричневе фарбування великих або середніх гранул при жовтуватій фоновій забарвленості свідчить про високу активність NO-S.

Оскільки ряди вимірюваного показника в усіх вибірках не відрізнялися від нормального статистичного розподілу, що було перевірено за допомогою критерію Шапіро-Уїлка, який є найбільш чутливим для відносно невеликих за розміром вибірок, то подальшу математично-статистичну обробку результатів дослідження проводили за допомогою описової статистики (середнє \pm стандартна похибка), міжгрупові порівняння показників проводили за допомогою критерію Стьюдента.

Дослідження щурів, які отримували аргінін на фоні експериментального ЦД порівнювали з результатами групи із алоксановою моделлю ЦД, які були виконані та опубліковані нами у 2017 році [17].

Результати

Результати біохімічних досліджень, їх описова статистика та статистична значущість міжгрупових порівнянь представлені у таблиці 1. Отримані результати свідчать про те, що найбільші відмінності спостерігаються між групами контролю та групою з моделюванням ЦД. Також високозначущі відмінності виявлені між групами «експериментальний діабет» та групою з корекцією змодельованого діабету за допомогою аргініну. Під час експерименту виявлено відсутність статистично значущих відмінностей між групою, в якій на фоні експериментального діабету призначали аргінін та контрольною групою, що підтверджує коригуючу дію цієї амінокислоти при ДР.

При гістологічному дослідженні тканин очного яблука (рис. 1) звертав на себе увагу набряк тканин білкової оболонки, але фіброзні волокна не об'єднані в однорідний розпушений масив, можна виділити окремі пучки, що є характерним для групи контролю. В пігментному шарі компактно упаковані середні та великі гранули, розташовані одним масивом, рівномірно. В шарі паличок і колбочок структурні елементи мають бліде забарвлення, але щільність їх розташування висока. Зовнішній гранулярний шар сітківки представлений досить щільно розташованими по відношенню один до одного ядрами. Самі ядра відносно великі, округлі, яскраво забарвлені. Внутрішній гранулярний шар відповідає опису зовнішнього, що є характерним для норми. У гангліонарному шарі ядра нейронів розподілені досить рівномірно, округлі, добре профарбовані, набряклість і розрідженість розташування не спостерігається. Що стосується стромального шару судинної оболонки, то у ньому визначаються поодинокі лакуни, та судини з соковито пофарбованими ендотеліоцитами. Капсула кришталика вистелена одним шаром клітин, розподілених рівномірно щільно, ядра їх ретельно пофарбовані, невеликі. Особливість в тілі кришталика в наявності на невеликій відстані від периферії розташування середніх розмірів смуги з

Таблиця 1. Середні значення (M \pm SD) рівню глюкози (г/л) крові у групах досліджуваних щурів

	Групи тварин		
	1 контроль	2 експериментальний цукровий діабет	3 експериментальний цукровий діабет з корекцією аргініном
Рівень глюкози в крові	5,11 \pm 0,22	8,07 \pm 0,33	6,09 \pm 0,51
p – статистична значущість міжгрупових відмінностей за критерієм Стьюдента		p _{1,2} <0,0001 p _{1,3} =0,14 p _{2,3} =0,0019	

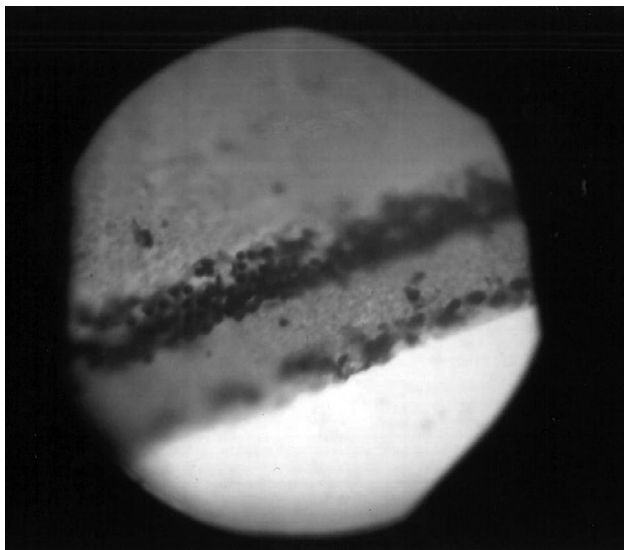


Рис. 1. Сітківка ока щура з моделлю цукрового діабету та корекцією аргініном. Збільшення щільності розміщення клітин гангліонарного шару. Лакуни в судинному шарі. Фарб.: Гематоксилін-еозин. Зб.:x100.



Рис 2. Очне яблуко щура з моделлю цукрового діабету та корекцією аргініном. Помірна активність NO-S в гранулярному шарі. Фарб.: за Ллойдом. Зб.:x100

фрагментами ядер, еозинофільними короткими, бліднозафарбованими волокнами.

Гістохімічне визначення активності NO-синтази в тканинах очного яблука піддослідних щурів в 3-й групі показало наступне (рис. 2). Стромальний шар судинної оболонки стінки очного яблука характеризувався сіро-жовтим забарвленням фону і жовтими гранулами середніх розмірів по краях одиничних лакун. В гранулярних шарах визначається сіро-жовте фонове забарвлення. У гангліонарному шарі розсіяні дрібні сіро-жовті середніх розмірів гранули.

При цьому в групі з моделюванням ЦД без корекції при дослідженні NO-S в очному яблуці виявлено, що стромальний шар судинної оболонки має сіро-жовтувате забарвлення і по контуру судинних лакун розміщені окремі сіро-чорні гранули. В гранулярних шарах забарвлення блідно-сіре та сіро-фіолетове, одиничні сіро-жовтуваті і сіро-чорні гранули. В гангліонарному шарі окремі клітини з сірими і сіро-чорними гранулами в цитоплазмі.

В контрольній групі еритроцити в лакунах судинного шару жовто-коричневі. Дрібні жовті і сіро-чорні гранули по краях лакун розподілені нещільно. В гранулярному та гангліонарному шарі фон сіро-жовтуватий, зустрічаються клітини, що містять сірі і сіро-жовті гранули в помірній кількості. Фон сітчастої оболонки сірувато-жовтувато-коричневий.

Обговорення

На основі отриманих результатів гістохімічного дослідження можна говорити про близьку до рівня норми помірну активність NO-S в шарах сітківки ока щурів, у яких ЦД коригували введенням аргініну, в той час коли у групі експериментальних тварин, що не отримували аргінін на фоні моделювання ЦД, активність NO-синтази була слабкою [17].

В попередніх наших роботах було показано, що змодельований цукровий діабет призводить до підвищення рівню глюкози в крові та зниження активності NO-синтази. Також гістологічно в тканинах очного яблука було виявлено наступні зміни: набряк тканин білкової оболонки, об'єднаність фіброзних волокон в однорідний розпушений масив, окремі пучки виділити неможливо; в пігментному шарі гранули великі і розсіяні по всій площі; в шарі паличок і колбочок структурні елементи мають бліде забарвлення та незначну щільність розташування; у зовнішньому гранулярному шарі сітківки візуалізуються окремі ядра, що може свідчити про їх розріджене розміщення. Ядра патологічно збільшені, неясного забарвлення. У внутрішньому гранулярному шарі спостерігається збільшення ядер та відсутність ідентичності з зовнішнім шаром. У гангліонарному шарі ядра нейронів розподілені нерівномірно, набряклі. В стромальному шарі судинної оболонки виявлено відсутність лакун, набрякання і безладне розташування ендотеліоцитів. Також у групі з моделлю цукрового діабету без корекції у епітелії передньої капсули кристалика звертали на себе увагу наявність фрагментів ядер в товщі його тіла і збільшення числа ядер, розсіяних по периферії. Крім того, ядра клітин розташовані на капсулі середніх розмірів помірної забарвленості [17].

В даній роботі вищезазначені результати свідчать про те, що гістологічна картина структур очного яблука відрізняється від результатів групи змодельованого ЦД без корекції та наближається до гістологічної картини в групі контролю. Це вказує на ефективність

В даній роботі вищезазначені результати свідчать про те, що гістологічна картина структур очного яблука відрізняється від результатів групи змодельованого ЦД без корекції та наближається до гістологічної картини в групі контролю. Це вказує на ефективність

коригуючої терапії ДР за допомогою аргініну та має клінічне значення.

В основі розробленої нами моделі лежить введення алоксану експериментальним тваринам. Найбільш близькою до розробленої нами є модель, в якій ЦД моделюють наступним чином:

1) для моделювання субкомпенсованої форми ЦД – алоксан вводять дрібно внутрішньоочеревинно натщесерце по чергово в дозі 5 мг/100 г; 7 мг/100 г, 5 мг/100 г маси тварин з інтервалом в 7 днів.

2) для розвитку некомпенсованої форми ЦД розчин алоксану вводять три рази по 10мг/100г маси тіла через день [18].

Розповсюдженню алоксанової моделі ЦД заважає її висока токсичність, що встановлено для раніше вживаних алоксанових моделей [19, 20]. Що стосується нефротоксичності, то в раніше відомих дозах введення алоксану призводило до некрозу окремих ділянок звивистих каналців нирок, і, як наслідок, – ниркова недостатність, що виникає в частини тварин раніше ніж розвився ЦД і може стати причиною смерті щурів в перші п'ять днів після введення алоксану [19, 21].

Але саме алоксанова модель ЦД в зв'язку з механізмом дії алоксану на β-клітини (генерацією в циклічній реакції з гіалуроновою кислотою активних форм кисню, котрі ініціюють руйнування β-клітин, які мають низький рівень антиоксидантного захисту [22, 23]), є найбільш сприйнятною для дослідження ефективності запропонованої нами коригуючої терапії.

Нами була вирахована оптимальна доза введення алоксану, яка не призводить до загибелі щурів (в нашому експерименті летальність щурів була відсутньою) і при цьому є ефективною моделлю не лише ЦД в цілому, а також і діабетичної ретинопатії, про що свідчать результати нашого експерименту. Обрана доза алоксану дозволяє отримати менш грубі та більш фізіологічні зміни, характерні для початкових стадій розвитку ЦД.

Інша відмінність нашої моделі – введення піддослідним тваринам розчину фруктози, що є додатковим навантаженням на вуглеводний обмін та дезінтегрує нормальний метаболічний процес.

Механізм протекторної дії аргініну на судини при ЦД можна пояснити наступним чином. L-аргінін (α-аміно-δ-гуанідино-валеріанова кислота) – попередник L-орнітину, L-цитруліну, L-глутатіону, гамма-аміномасляної кислоти, спермітину та інших сполук – одна з найбільш поляризованих, позитивно заряджених амінокислот [24, 25]. Вперше виділена в 1886 р. E. Schulze та E. Steiger, а структура її визначена E. Schulze та E. Winterstein в 1897 р. В своєму складі вона має позитивно заряджену Rh-групу та є складовою частиною основних білків організму [26]. В організмі L-аргінін метаболізується двома альтернативними шляхами, які можуть реалізовуватися одночасно: 1) окисним (за участю NO-синтази) з утворенням L-цитруліну та NO; 2) неокисним (за участю аргінази I) з утворенням L-орнітину та сечовини [27].

У біосистемах L-аргінін відіграє важливу роль у синтезі низки анаболічних гормонів, поліамінів та оксиду азоту [25]. L-аргінін, потрапивши в організм з їжею, всмоктується в тонкій кишці та транспортується в печінку, де основна його кількість утилізується в орнітиновому циклі, а інша частина, що не метаболізувалася в печінці, стає субстратом для продукції NO [28]. При низьких концентраціях в плазмі L-аргінін вибірково покращує ендотеліальну функцію, при середньому рівні – може викликати пряму вазодилатацію внаслідок стимуляції секреції гормону росту та інсуліну, високі рівні L-аргініну викликають неспецифічну вазодилатацію [8, 13, 28, 29].

Також з літературних джерел відомо, що L-аргінін може потенціювати синтез NO і зменшувати прояви ЕД за рахунок відновлення активності ендотеліальної синтази оксиду азоту (eNO-S) [13]. L-аргінін перешкоджає окисленню ВН 4 (тетрагідробіоптерина) – головного кофактора NO-S. Гальмуючи окислення ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ), які, в свою чергу, знижують рівень NO, він розриває потенційований окисленими ЛПНЩ комплекс eNO-S з кавеоліном, що пригнічує активність NO-S [29, 30].

Також дана амінокислота сприяє дії NO, підвищуючи його біоактивність за допомогою прямої антиоксидантної активності, зниження активності норадреналіну та стимуляції виділення гістаміну з основних клітин, що доповнює судинорозширювальний ефект [30]. Застосування L-аргініну *in vivo* знижує рівень NO-S-опосередкованого супероксиду [31]. L-аргінін допомагає подолати блокаду експресії eNO-S, що спричиняється L-NG-монометил-аргініном та асиметричним диметиларгініном (ендогенними інгібіторами eNOS), а також підвищену активність аргінази при атеросклеротичному процесі [32, 33, 34, 35]. Зменшує концентрацію ендотеліну-1, який є вазоконстриктором та важливим модулятором дисфункції ендотелію [34, 35, 36].

Шлях L-аргінін–NO, що має прямий вплив на стан ендотелію, забезпечує оптимальне функціонування серцево-судинної системи [37, 38, 39], покращує ендотеліальну функцію на фоні гіперхолестеринемії [40, 41]. Має важливе значення при збалансуванні запальної відповіді організму [42], апоптозі [43] та захисті від оксидативного пошкодження [36]. L-аргінін підвищує рівень передсердного цГМФ і в зв'язку з цим збільшує вагусний вплив та інгібує симпатичний компонент [36]. Вплив L-аргініну на системний кровообіг та мікроциркуляцію при інфузійній терапії експериментального геморагічного шоку покращує роботу серцевого м'язу та сприяє виживанню тварин [44]. Ефективність медикаментозної корекції стану ендотелію за допомогою L-аргініну у пацієнтів з облітеруючим атеросклерозом характеризується також пролонгованою дією даної амінокислоти. Позитивний клінічний ефект також проявляється в збільшенні дистанції, яку пацієнт може пройти без больових відчуттів [45].

Висновки

1. Використана нами експериментальна алоксанова модель ЦД з розчином фруктози виявилась ефективною в сенсі відтворення захворювання та характеризувалась 100% виживанням піддослідних щурів.

2. Корекція змодельованого ЦД за допомогою аргініну сприяє збереженню структури судин та, як наслідок, структури шарів очного яблука і сприяє зниженню важкості патологічного процесу.

3. На фоні вживання аргініну збільшується активність NO-S в порівнянні групою моделювання ЦД без вживання аргініну, та наближається до рівню норми, що свідчить про покращення функціонування ендотелію.

Література

- Зелінська Н. Б.** Частота діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет дітей та підлітків за даними скринінгу в регіонах України / Н. Б. Зелінська, О. О. Хорошая, Н. А. Старинець // *Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія*. – 2005. – № 4 (13). – С. 27-31.
- Вазомоторная функция эндотелия и эластичность артериальной стенки у пациентов с сахарным диабетом 1-го типа на разных стадиях диабетической ретинопатии / Е. П. Кособян, И. Я. Ярек-мартынова, А. С. Парфёнов, М. В. Шестакова // *Проблемы эндокринологии* – 2012. – №4. – С.22-26.
- Балаболкин М. И.** Роль гликирования белков, окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений при сахарном диабете / М. И. Балаболкин // *Сахарный диабет*. – 2002. – № 4. – С. 8–16.
- Verma S.** Endothelial Function Testing as a Biomarker of Vascular Disease / S. Verma, M. R. Buchanan, T. J. Anderson // *Circulation*. – 2003. – Vol. 108. –P. 2054–2059.
- Bonetti P. O.** Endothelial Dysfunction: A Marker of Atherosclerotic Risk / P. O. Bonetti, L. O. Lerman, A. Lerman // *Arterioscler Thromb Vascular Bio.* – 2003. –Vol. 23. – P. 168–175.
- The clinical implications of endothelial dysfunction / M. E. Widlansky, N. Gokce, J. F. Jr . Keaney, J. A. Vita // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2003. – Vol. 42. – P. 1149–1160.
- Chatterjee A.** Endothelial nitric oxide (NO) and its pathophysiologic regulation / A. Chatterjee, J. D. Catravas // *Vascul. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 49(4-6). – P. 134-140.
- Остеопротективное действие L-аргинина при экспериментальном остеопорозе / О. С. Гудырев, Д. С. Р. Раджумар, А. В. Файтельсон [и др.] // *Научные ведомости БелГУ. Сер. Медицина. Фармация*. - 2012. – Вып20/3, №22(141) – С. 94-97.
- Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих / [Реутов В. П., Сорокина Е. Г., Охотин В. Е., Косицын Н. С.]. – М. : Наука, 1997. 156 с.
- Малая Л.Т.** Эндотелиальная дисфункция при патологии сердечно-сосудистой системы / Л.Т. Малая, А.Н. Корж, Л.Б. Балковая. – Х: Форсинг, 2000. – 245 с.
- Bryan N. S.** Discovery of the nitric oxide signaling pathway and targets for drug development. / N. S. Bryan, K. Bian, F. Murad // *Frontiers in Bioscience*. – 2009. – N14.- P. 1–18.
- Бабушкина А. В.** L-аргинин с точки зрения доказательной медицины./ А. В. Бабушкина. // *Укр. Мед. Часопис*. – 2009. – № 74 (XI/XII). – С. 43–48
- Boger, R. H.** The pharmacodynamics of L-arginine/ R.H. Boger// *J. Nutr.* – 2007. – № 137. – P.1650–1655.
- Лисицына Н. В.** Медикаментозные средства, влияющие на синтез оксида азота и их место в патогенетической терапии преэклампсии / Н. В. Лисицына // *Научные ведомости БелГУ. Сер. Медицина. Фармация*. – 2010. – Т.10, №10(81) – С. 46-54.
- Лишневская В. Ю.** Эндотелиальная дисфункция: что необходимо знать практическому врачу? / В. Ю. Лишневская // *Здоров'я України* – 2010. – №7. – С.2.
- Ллойда З.** Гистохимия ферментов (лабораторные методы): пер. с англ. / З. Ллойда, Р. Госсрау, Т. Шиблер. – М. : Мир, 1982. – 272 с.
- Семенко В. В.** Розробка експериментальної алоксанової моделі цукрового діабету / В. В. Семенко, В. М. Сердюк, І. В. Савицький // *Международный эндокринологический журнал*. – 2017. – Т.13, №4. – С. 34-39
- Пат. 2534411 Российская Федерация, МПК G09B23/28. Способ моделирования аллоксанового диабета / И. Г. Данилова, И. Ф. Гетте, Т. С. Булавинцева ; заявитель и патентообладатель Данилова И. Г., Гетте И. Ф. Федеральное государственное бюджетное учреждение науки институт иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН. – № 2013125897/14 ; заявл.04.06. 2013; опубл. 27.11.2014, Бюл. № 33.
- Експериментальний цукровий діабет. Роль в клінічній діабетології / В.Г Баранов, І.М. Соколоверова, Е.Г. Гаспарян [та ін.] – Л.: Наука, 1983. – 240 с.
- Importance of the GLUT2 glucose transporter for pancreatic beta cell toxicity of alloxan / M. Elsner, M. Tiedge, B. Guldbakke [et al.] // *Diabetologia*. – 2002. – Vol. 45. (11). – P. 1542–1549.
- The effect of alloxan, and alloxan-induced diabetes on the kidney / A. P. Evan, S. A. Mong, B. A. Connors [et al.] // *Anat. Rec.* – 1984. – Vol. 208(1). – P. 33-47.
- Гормонально-біохімічні особливості аллоксанової та стрептозотоцинової моделей експериментально діабету / Н. О. Пальчикова, Н. В. Кузнецова, О. І. Кузьминова, В. Г. Селятицька // *Бюлетень СО РАМН*. – 2013. – Т.33, №6. – С.18-24.
- Lenzen S.** The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes / S. Lenzen // *Diabetologia*. – 2008. – Vol. 51. – P. 216 – 226.
- Marini J. C.** Arginine and ornithine are the main precursors for citrulline synthesis in Mice / J. C. Marini // *J. Nutr.* – 2012. – Vol. 142(3). –P. 572–580.
- Гайда Г. З.** Методи аналізу L-аргініну / Г. З Гайда, Н. Є. Стасюк, М. В. Гончар // *Biotechnologia acta*. – 2014. – Vol. 7, N 1. – P.31-39.
- Asymmetric dimethylarginine, an endogenous NOS inhibitor, metabolized in rat erythrocytes / M. Yokoro, M. Suzuki M, K. Murota, C. Otsuka, H. Yamashita, Y. Takahashi, H. Tsuji, M. Kimoto // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* – 2012. – 76(7). – P. 1334–1342.
- A pilot study of L-arginine supplementation on functional capacity in peripheral arterial disease / R. K. Oka, A. Szuba, J. C. Giacomini, J. P. Cooke // *Vasc. Med.* – 2005. – Vol. 10(4). – P. 265-274.
- Марков, Х. М.** Оксидантный стресс и дисфункция эндотелия / Х. М. Марков // *Патол. физиология и эксперим. терапия*. – 2005. – № 4. – С.5-9.
- Loscalzo J.** L-arginine and Atherothrombosis / J. Loscalzo // *J. Nutr.* – 2004. – Vol. 134. –P. 2798-2800.

30. Supplementation of hypercholesterolaemic rabbits with L-arginine reduces the vascular release of superoxide anions and restores NO production / R. H. Boger, S. M. Bode-Boger, A. Mugge, S. Kienke, R. Brandes [et al.] // *Atherosclerosis*. – 1995. – Vol. 117. – P. 273-84
31. L-arginine treatment alters the kinetics of nitric oxide and superoxide release and reduces ischemia/reperfusion injury in skeletal muscle / I. Huk, J. Nanobashvili, C. Neumayer, A. Punz, M. Mueller [et al.] // *Circulation*. – 1997. – 96. – 667-75.
32. **Zweier J. L.** Non-enzymatic nitric oxide synthesis in biological systems / J. L. Zweier, A. Samouilov, P. Kuppusamy // *Biochim. Biophys. Acta*. – 1999. – Vol. 1411. – P. 250-262.
33. Reduced urinary excretion of nitric oxide metabolites and increased plasma levels of asymmetrical dimethylarginine in men with essential hypertension / A. Surdacki, M. Nowicki, J. Sandmann, D. Tsikas, R. H. Boger [et al.] // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 1999. – Vol. 33. – P. 652-58
34. Long-term L-arginine supplementation improves small-vessel coronary endothelial function in humans / A. Lerman, J. C. Jr. Burnett, S. T. Higano, L. J. McKinley, D. R. Jr. Holmes // *Circulation*. – 1998. – Vol. 97(21). – P. 2123-2128.
35. **Трещинская М. А.** Антиэйджинговый эффект L-аргинина / М. А. Трещинская // *Медицина неотложных состояний*. – 2012. – Vol. 3 (42). – P. 50-54.
36. **Greager M. A.** L-arginin in endothelial and vascular health / M. A. Greager // *J. Nutr.-Supp.* – 1997. – Vol. 10. – P. 2880-2887
37. L-arginine infusion promotes nitric oxide-dependent vasodilation, increases regional cerebral blood flow, and reduces infarction volume in the rat / E. Morikawa, M. A. Moskowitz, Z. Huang [et al.] // *Stroke*. – 1994. – Vol. 25. – P. 429-435.
38. **Umans J. G.** Nitric oxide in the regulation of blood flow and arterial pressure / J. G. Umans, R. Levi // *Ann. Rev. Physiol.* – 1995. – Vol. 57. – P. 771-790.
39. **Лишневская В. Ю.** Возрастные особенности коррекции эндотелиальной дисфункции у больных гипертонической болезнью / В. Ю. Лишневская, Е. И. Парасюк // *Семейная медицина* – 2011. – №2. – С. 50-52.
40. Oral L-arginine administration attenuates postprandial endothelial dysfunction in young healthy males / S. Marchesi, G. Lupattelli, D. Siepi [et al.] // *J. Clin. Pharm. Ther.* – 2001. – Vol. 26. – P. 343-349.
41. Supplements of L-arginine attenuate the effects of highfat meal on endothelial function and oxidative stress / C. C. Lin, W. C. Tsai, J. Y. Chen, Y. H. Li, L. J. Lin, J. H. Chen // *Int. J. Cardiol.* – 2008. – Vol. 127(3). – P. 337-341.
42. **Lyons C. R.** The role of nitric oxide in inflammation / C. R. Lyons // *Adv. Immunol.* – 1995. – Vol. 60. – P. 323-371.
43. **Brune B.** The role of nitric oxide in cell injury / B. Brune, U. K. Messmer, K. Sandau // *Toxicol. Lett.* – 1995. – Vol. 82–83. – P. 233-237.
44. L-arginine supplementation reduces cardiac noradrenergic neurotransmission in spontaneously hypertensive rats / C. Lee, D. Li, K. Channon, D. J. Paterson // *J. Mol. Cell Cardiol.* – 2009. – Vol. 47(1). – P. 149-155.
45. **Гришина Г. В.** Влияние L-аргинина на систему кровообращения при инфузионной терапии экспериментального геморрагического шока / Г. В. Гришина, К. А. Гербут // *Актуальные вопросы трансфузиологии и клинической медицины*. – 2015. – №1. – С.53-55
46. Медикаментозная коррекция функционального состояния эндотелия у пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей / Р. Е. Калинин, И. А. Сучков, А. С. Пшенников, А. А. Никифоров // *Казанский медицинский журнал*. – 2013. – Т.94, №2. – С.181-185.

Поступила 31.08.2017

Метаболическая коррекция экспериментальной диабетической ретинопатии

Савицкий И. В., Семенко В. В., Сердюк В. Н.

Одесский национальный медицинский университет; Одесса (Украина)
 КУ «Днепропетровская областная клиническая офтальмологическая больница»; Днепр (Украина)
 Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины; Днепр (Украина)

Введение. Диабетическая ретинопатия диагностируется у 50% общего числа больных, страдающих сахарным диабетом I типа более 10 лет и у 75-90% пациентов с длительностью болезни более 15 лет.

Цель. Обоснование возможности коррекции с помощью аргинина изменений в сосудах глазного яблока на ранних стадиях развития диабетической ретинопатии.

Материал и методы. В исследовании были использованы белые крысы линии Вистар. 1-я группа – 20 интактных животных; 2-я группа – 30 животных, у которых моделировали сахарный диабет; 3-я группа – 30 животных, которые на фоне смоделированного сахарного диабета получали 7% раствор аргинина.

Результаты. При анализе уровня глюкозы наблюдается отсутствие различий между 1-й и 3-й группами

($p=0,14$), и выявлены высоко значимые отличия между 2-й и 3-й ($p=0,0019$). При гистологическом исследовании тканей глазного яблока выявлено, что фиброзные волокна не объединены в однородный массив, можно выделить отдельные пучки. В слое палочек и колбочек структурные элементы имеют бледный окрас, но плотность их расположения высокая. Внешний гранулярный слой сетчатки представлен очень плотно расположенными ядрами, умеренно большими, округлыми и ярко окрашенными. Внутренний гранулярный слой соответствует описанию внешнего. В ганглионарном слое ядра нейронов распределены равномерно, округлые, хорошо прокрашенные.

Выводы. Аргинин существенно корригировал изменения в организации стенки слоев глазного яблока

Ключевые слова: диабетическая ретинопатия, аргинин, гистологическое исследование, глазное яблоко, NO-S