

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ім. М.І. ПИРОГОВА**

ХАРКОВЕНКО Руслана Володимирівна

УДК 615.03-02:616.15:617.7.001.5

**СТРУКТУРА СІТКІВКИ ТА ЗОРОВОГО НЕРВА ЩУРІВ
У НОРМІ, ПРИ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ
ТА ЗА УМОВ КОРЕКЦІЇ
(експериментальне дослідження)**

14.03.01 – нормальна анатомія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Вінниця – 2010

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Вінницькому національному медичному університеті ім. М.І. Пирогова МОЗ України.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор
Пушкар Михайло Степанович,
Вінницький національний медичний університет
ім. М.І. Пирогова МОЗ України,
завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології.

Офіційні опоненти:

- доктор медичних наук, професор **Матешук-Вацеба Леся Ростиславівна,** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького МОЗ України, професор кафедри нормальної анатомії;
- доктор медичних наук, професор **Грабовий Олександр Миколайович,** Національний інститут раку МОЗ України, завідувач відділу патологічної анатомії.

Захист відбудеться “12” травня 2010 р. о 13⁰⁰ на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 05.600.02 при Вінницькому національному медичному університеті ім. М.І. Пирогова МОЗ України (21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України (21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56).

Автореферат розісланий “9” квітня 2010 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
кандидат медичних наук, доцент

О.В. Власенко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність проблеми. За даними ВООЗ, сьогодні у світі 180 млн. осіб мають зорові розлади, серед яких 45 млн – сліпих. За останні 20 років чисельність незрячих збільшилася на 12 млн чоловік. Кожні 5 секунд у світі стає сліпою 1 людина, тоді, як майже двом третинам випадків сліпоти можна запобігти [Т. В. Крижанівська, 2003]. Водночас, однією з головних причин невиліковної сліпоти у світі залишається ангіогенна патологія сітківки та зорового нерва (ЗН) [Риков С. О. 2003; Нагорна А. М. та ін., 2003].

Серед метаболічних чинників ураження судин, в останні роки велике значення надають гіпергомоцистеїнемії (ГГЦ), яка розглядається як незалежний фактор ризику чисельної групи офтальмологічних захворювань: оклюзивних процесів в сітківці – тромбозів центральної артерії та вени сітківки [Chua B., 2005; Kesler et al, 2008], глаукоматозної оптиконейропатії [Puustjarvi T., 2004; Tongabay Cumurcu, 2006; Roedl J. B., 2007], передньої ішемічної нейропатії [Pianka P., 2000; Stanger et al., 2005; Martin et al., 2007], вікових макулодистрофій [Seddon et al., 2006; Martin et al., 2007] та ретинопатій при цукровому діабеті [Brazionis L., 2008; Kenneth S., 2009] і при серцево–судинних захворюваннях [Hu R., 2005; Cheung N., 2008].

Доведено [Furie K. L., 2006], що підвищення рівня гомоцистеїну (ГЦ) на 5 мкмоль/л призводить до зростання ризику венозних тромбозів на 27% [Hoțoleanu C., 2007], а ризик тромбозу центральної вени сітківки підвищується на 7% при збільшенні рівня ГЦ на кожний 1 мкмоль/л, незалежно від інших факторів ризику [Chua B., 2005].

Експериментальні моделі ГГЦ для вивчення механізмів патогенетичної дії дають можливість не лише проаналізувати значення різних етіологічних чинників, тривалості та наслідків їх впливу на сітківку та ЗН, але й виявити можливі механізми нормалізації їх структури [Салдан Й. Р. та співавт., 2003; Пентюк О.О. та співт., 2004; Ossani G. et al., 2004; Sipahioglu M.H., et al., 2005]. В останні роки активно вивчається можливість застосування вітамінів групи В при судинних і нейродегенеративних захворюваннях через зниження рівня ГЦ [Андрушко І. І., 2003; Wald N. J., Law M. R., 2003; Постовітенко К.П. та ін., 2006; Пентюк О.О. та ін., 2007; Артемчук М.А., 2008]. За даними Yagisawa M. [2004], гіпогомоцистеїнемічний вплив при експериментальній метіонін–індукованій ГГЦ здійснює бетаїн.

Повідомляються чисельні клінічні випадки ГГЦ серед офтальмологічних пацієнтів, але роботи, присвячені дослідженню морфологічних змін в сітківці та ЗН, – поодинокі [Салдан Й. Р. та співавт., 2003]. Відсутність чіткого розуміння морфологічного підґрунтя впливу високого рівня ГЦ на орган зору ускладнює розробку дієвих заходів з профілактики та лікування офтальмологічних захворювань, асоційованих з порушеннями обміну ГЦ. Вивченням структури та

функції органа зору в нормі та при різних патологічних станах займається фундаментальна дисципліна – морфологія [Автандилов Г. Г., 2002; Віт В. В., 2003; Головацький А. С. та ін., 2009], яка складає анатомічну основу офтальмології. Тому, актуальність даного дослідження визначають саме вивчення впливу ГГЦ на морфофункціональний стан сітківки та ЗН і пошук раціонального підходу до його корекції.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Тема дисертації затверджена вченою радою лікувального факультету Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України (протокол № 4 від 9 лютого 2006 р.) та проблемною комісією МОЗ і АМН України «Морфологія людини» (протокол № 80 від 9 жовтня 2007 р.). Робота є фрагментом планової наукової тематики кафедри очних хвороб ВНМУ ім. М. І. Пирогова під назвою “Стан місцевого імунітету та мікроциркуляції при патології органа зору та їх корекція” (№ державної реєстрації: 0104U002881) та наукової роботи кафедри біохімії (тема: „Використання модуляторів активності метаболізуючих ферментів та сорбентів в якості засобів корекції фармакологічної активності та токсичності лікарських засобів” (УДК: 615.22:262 № державної реєстрації: 0101 U 002832), а також договорів про наукову співпрацю з Інститутом Хімії Поверхні НАН України, з Інститутом фармакології та токсикології АМН України „Створення нового лікарського засобу антиатеросклеротичної дії на основі комплексу вітамінів В₆, В₉, В₁₂ та мікроелементів” від 01.11.2001 року. Автор при виконанні роботи вивчив структуру сітківки та зорового нерва щурів в нормі, при модельованій гіпергомоцистеїнемії, а також при її корекції вітамінно–мікроелементним комплексом та бетаїном.

Мета дослідження: дослідити в експерименті морфофункціональний стан сітківки та зорового нерва в нормі, його зміни при гіпергомоцистеїнемії різної етіології, ступеня важкості й тривалості – для визначення елементів загальних закономірностей в їх пошкодженнях і патогенетичного підходу до корекції.

Задачі дослідження:

1. Визначити ключові морфофункціональні характеристики сітківки та зорового нерва щура в нормі.
2. Дослідити морфометричні, гістологічні, ультраструктурні та гістохімічні маркери реактивних змін структур сітківки та зорового нерва щурів при гострій метіоніновій ГГЦ.
3. За результатами морфометричних, гістологічних, електронно–мікроскопічних та лектин–гістохімічних досліджень визначити залежність характеру морфологічних змін в сітківці та ЗН від рівня ГЦ в крові, тривалості та моделі ГГЦ.
4. Виявити можливі кореляції між гісто–фізіологічними маркерами

загальних закономірностей пошкоджень і репарації компонентів сітківки і ЗН, обумовленими ГГЦ, та біохімічними маркерами ГГЦ в крові й мозку шурів.

5. На гіповітамінозно–метіоніновій моделі в умовах високої ГГЦ дослідити морфофункціональні ознаки адаптаційних процесів в сітківці та ЗН і вивчити морфо–функціональні наслідки лікувальної (протекторної та антиоксидантної) дії бетаїну та вітамінно–мікроелементного комплексу.

Об'єкт дослідження – морфофункціональні зміни сітківки та зорового нерва шурів за умов розвитку модельованої гіпергомоцистеїнемії та її корекції.

Предмет дослідження – компенсаторно-приспосувальні прояви в структурах сітківки й зорового нерва при ГГЦ та її корекції.

Методи дослідження: експериментальний – для відтворення моделей ГГЦ, гістологічні та електронно–мікроскопічні – для характеристики морфофункціонального стану сітківки та зорового нерва, лектин–гістохімічні – для оцінки представництва глікокон'югатів в сітківці та зоровому нерві, морфометричні – для визначення кількості клітин в ядерних та гангліонарному шарах сітківки, товщини і відносного об'єму шарів сітківки, а також загальної товщини центральної та периферичної її ділянок, біохімічні – для підтвердження адекватності моделей та оцінки маркерів ГГЦ в крові й мозку шурів, статистичні – для оцінки достовірності отриманих результатів.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше досліджено морфофункціональний стан сітківки та ЗН на експериментальних моделях ГГЦ у шурів. Вперше доведено, що ГГЦ викликає ряд морфологічних змін, які є індикаторами важкості та тривалості ГГЦ. Вперше продемонстровано, що ГГЦ обумовлює зменшення кількості гангліонарних нейронів, гіперхромію амакринових нейронів з їх відростками та активацію гліальних клітин сітківки (клітин Мюллера та астроцитів) і олігодендроцитів ЗН та порушення мієлінізації його нервових волокон. Вперше в експерименті виявлено тромбогенні ефекти ГГЦ в судинах ЗН та сітківки. Вперше вивчено гістотопографію лектин–позитивних рецепторів у сітківці та ЗН в умовах норми та особливості їх експресії при ГГЦ. Дані про неоднакові морфологічні зміни в різних ділянках сітківки підтверджують значення відмінності умов кровопостачання зовнішніх та внутрішніх її шарів, центральних і периферійних ділянок. Вперше досліджено відновлювальні властивості сітківки та ЗН після впливу ГГЦ та при застосуванні бетаїну та ВМК в порівняльному аспекті.

Практичне значення отриманих результатів. Виконане дослідження дає відомості про морфологічні зміни в сітківці та зоровому нерві при ГГЦ та можливості її профілактики та лікування. Дослідження дії, запропонованого інститутом фармакології та токсикології АМН України та Вінницьким національним медичним університетом ім. М. І. Пирогова, нового препарату ВМК, є частиною доклінічного дослідження його специфічної активності.

На основі отриманих результатів, стосовно гіпогіомоцистеїнемічної та лікувальної дії нового препарату ВМК та бетаїну науково обґрунтована необхідність їх використання в офтальмології для профілактики та лікування патології органа зору, асоційованої з ГГЦ.

Результати проведеного експериментального дослідження впроваджено в начальний процес та наукову роботу кафедр нормальної анатомії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова та Львівського медичного університету ім. Данила Галицького; кафедр гістології, цитології і ембріології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я. Горбачовського та Львівського медичного університету ім. Данила Галицького; кафедри очних хвороб Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.

Особистий внесок здобувача. Дисертантом самостійно проаналізована наукова література та патентна інформація по темі дослідження, виконані заплановані експериментальні дослідження та оцінені їх результати. Дисертант брав участь в розробці та створенні експериментальної моделі метіонінової ГГЦ, що підтверджується патентом на корисну модель. Спільно із співробітниками кафедри загальної та біологічної хімії дисертантом проведені біохімічні дослідження та самостійно оцінено їх результати. Спільно з науковим керівником проведено гістологічні та електронно–мікроскопічні дослідження. Дисертантом самостійно проведено морфометричний аналіз гістологічних зрізів сітківки на світлооптичному рівні з подальшою комп'ютерною цифровою обробкою, аналізом і узагальненням отриманих результатів. Дисертантом написані всі розділи дисертації, сформульовані висновки, оформлені публікації за матеріалами дисертації.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи викладені та обговорені на науково–практичних конференціях “Біопсихосоціальні аспекти здоров’я: здоров’я здорових” (Вінниця, 2004); “Сучасний стан і проблеми експериментальної та клінічної медицини” (Міжнародна науково–практична конференція. Тернопіль, 11–12 листоп. 2004р.), ”Біопсихосоціальні аспекти здоров’я: здоров’я здорових” (21–22 жовтня 2004 р. Вінниця.), "Актуальні питання експериментальної, клінічної та профілактичної медицини" (Вінниця, 20 травня 2009 р.); "Здобутки клінічної та експериментальної медицини" (Тернопіль, 4 червня 2009р), "Морфологічний стан тканин і органів в нормі та патології" (Тернопіль, 10–11 червн. 2009 р), а також на науково–практичній конференції, присвяченій 105 річниці з дня народження Є. Д. Бромберг "Актуальні проблеми функціональної морфології" (Полтава, 10–12 вересня 2009р).

Апробація дисертаційної роботи проведена на спільному засіданні кафедр

нормальної анатомії, оперативної хірургії та топографічної анатомії, нормальної фізіології, очних хвороб, гістології, цитології та ембріології, загальної та біологічної хімії, загальної гігієни та науково–дослідного центру і апробаційної ради Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (Вінниця, 2009).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 10 наукових праць, які повністю відображають зміст проведеного дослідження. 5 статей опубліковано в рекомендованих ВАК України наукових фахових журналах (з них 2 самостійно), 5 праць надруковано в матеріалах з'їздів і конференцій. Отримано 1 деклараційний патент України на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 259 сторінках машинописного тексту і складається із вступу, огляду літератури, методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних літературних джерел, з яких 77 – кирилицею та 218 – латиницею. Робота ілюстрована 160 рисунками і містить 30 таблиць.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріал і методи дослідження. Експерименти проведені на білих нелінійних щурах–самцях на базі науково–експериментальної клініки Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова. Утримання, догляд за тваринами, маркування та всі маніпуляції проводили із дотриманням положень „Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” [Страсбург, 1985], „Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики [Київ, 2001], а також у відповідності до положень ARVO (The Association for research in vision and ophthalmology) щодо використання тварин в офтальмологічних дослідженнях. Комісією з біоетики ім. М.І. Пирогова встановлено, що проведені наукові дослідження відповідають етичним вимогам згідно наказу МОЗ України №231 від 01.11.2000 року (протокол № 12 від 24 червня 2009 року).

Для контролю за харчуванням тварин щурів утримували на напівсинтетичному раціоні, що був розроблений на основі крохмально–казеїнової дієти з додаванням оптимальних кількостей всіх макро– і мікронутрієнтів [Пентюк О. О. та співавт., 2007].

Стан ГГЦ в експерименті моделювали з використанням підходів, викладених в офіційних рекомендаціях Фармцентру України «Доклінічні дослідження гіпогемістостатичної дії фармакологічних засобів» [2007]. Були відтворені гостра метіонінова та гіповітамінозно–метіонінова моделі ГГЦ.

З метою корекції морфологічних зрушень, індукованих гіповітамінозно–

метіоніновою ГГЦ, нами застосовані 2 засоби: ВМК та бетаїн. Лікування мало наступні особливості: відрізнялися препарати (ВМК та бетаїн), шляхи ведення (інтрагастрально чи в складі харчового раціону) і різною була тривалість спостереження (4, 10 та 20 діб). Бетаїн вносили в дієту з розрахунку 300 мг бетаїну на 1 кг маси щурів, а ВМК – в кількості, що забезпечувала надходження в організм тварин компонентів: піридоксину (В₆) – 714 мкг, фолієвої кислоти (В₉) – 143 мкг, кобаламіну (В₁₂) – 14,3 мкг, іонів цинку, хрому та ванадію – 1 мг, 7,5 і 0,93 мкг відповідно.

Морфологічні методи дослідження. Щурів декапітували під глибоким ефірним наркозом. Очні яблука та ЗН занурювали в 10 % розчин буферизованого формаліну з рН 7,4. Через тиждень очні яблука та ЗН за стандартною методикою зневоднювали у етанолі зростаючих концентрацій та ущільнювали в парафіні. Гістологічні зрізи товщиною 5–7 мкм забарвлювали гематоксиліном та еозином, азур II–еозином, фосфорно–вольфрамовим гематоксиліном, толуїдиновим синім. Отримані препарати переглядали та фотографували за допомогою світлового мікроскопа МБІ–6 під оптичними збільшеннями (окуляр x7, x10; об'єктив x100, x200, x400, x1000). Для виявлення в судинах фібрину та встановлення його “віку” застосовано гістохімічну методику [Слінченко Н. З., 1964].

Морфометричні методи дослідження. Кількісний аналіз кожного гістологічного препарату проводили в 10 полях зору за допомогою сітки Автандилова (2002). Морфометричні дослідження здійснено в ділянках сітківки, за Glenna Currier, (1983), умовно названих центральною та периферичною ділянками сітківки. Морфометричний аналіз на світлооптичному рівні включав підрахунок кількості клітин в ЗЯШ, ВЯШ та ГШ сітківки, товщини та відносного об'єму ФСШ, ЗЯШ, ЗСШ, ВЯШ, ВСШ, ГШ разом із ШНВ, загальної товщини центральної та периферичної ділянок сітківки.

Ультрамiкроскопічні методи дослідження. Фрагменти сітківки і ЗН фіксували 2,5 % глютаровим альдегідом на фосфатному буфері. Дофіксували в 1 % розчині OsO₄, заливали у епон, згідно загальноприйнятих електронно–мікроскопічних методик [Карупу В. Я., 1984]. Ультратонкі зрізи контрастували уранілацетатом та цитратом свинцю, вивчали та фотографували за допомогою електронного мікроскопа EM–125. Електронно–мікроскопічне дослідження здійснено на базі Київського національного медичного університету ім. О.О. Богомольця.

Лектин–гістохімічні методи дослідження. Для визначення вуглеводної специфічності клітинних мембран структурних елементів сітківки та ЗН проводили гістохімічні дослідження методом лектин–пероксидазної техніки [Луцик О. Д. та співавт., 1989] за допомогою панелі із 8 лектинів різної вуглеводневої специфічності, кон'югованих з пероксидазою хрому, одержаних

у лабораторії “Лектинотест” Львівського медичного університету ім. Данила Галицького д. фарм. н. Антонюком В. О. Матеріал, після фіксації нейтральним формаліном, заливали в парафін. На адгезивних скельцях, вкритих полілізином (“Mezel–Glaser”, Німеччина) готували парафінові зрізи сітківки та ЗН товщиною 5–7 мкм, депарафінізували і обробляли у спиртах. Контроль специфічності реакції здійснювали шляхом виключення діамінобензидину зі схеми обробки препаратів. Інтенсивність забарвлення зрізів різними лектинами оцінювали в балах порядкової шкали інтенсивності реакції.

Методи біохімічних досліджень. Біохімічні дослідження виконані в акредитованій науково–дослідній клініко–діагностичній лабораторії ВНМУ ім. М.І. Пирогова (під керівництвом професора Пентюка О.О.). Рівень загального ГЦ визначали методом ІФА з використанням набору „Homocysteine” Axis Shield, Англія. Вміст малонового діальдегіду визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [Владимиров Ю. А., Арчаков А. И., 1972], дієнових кон’югатів – за їх поглинанням в ультрафіолетовій ділянці спектра при 233 нм [Гаврилов В. Б., Мишкорудная М. И., 1983]. Вміст білкових карбонільних груп визначали за реакцією з 2,4–динітрофенілгідразином [Levine R. L. et al., 1994; Дубинина Е. Е. та ін., 2000]. Нітрити та нітрати в сироватці крові тварин визначали за реакцією з реактивом Грісса [Коренман И. М., 1975]. Активність глутатіонпероксидази (КФ 1.15.1.1) в постядерній фракції мозку визначали за падінням вмісту відновленого глутатіону (реакція Елмана) [Roy D. et al., 1989]. Вміст відновленого глутатіону визначали в глутатіонтрансферазній реакції у трихлороцтовому фільтраті мозку [Asaoka K., Takahashi K., 1981].

Статистичні методи дослідження. Статистичний аналіз даних проводили в програмному пакеті Statistica 5.5 (належить ЦНІТ ВНМУ ім. М.І. Пирогова, ліцензійний номер AXXR910A374605FA) з використанням параметричних та непараметричних методів оцінки отриманих результатів. Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали за допомогою t– критерію Стьюдента, в інших випадках – оцінювали за допомогою критеріїв Манна–Уїтні та Вілкоксона. Критерієм достовірності вважалася величина $P < 0,05$ (95 %). Для визначення зв’язків між показниками використовували кореляційний аналіз (з вираховуванням r) по Пірсону.

Результати дослідження та їх аналіз. Встановлено, що одноразове введення тваринам великої дози метіоніну (50 мг/кг) забезпечує розвиток ГЦ середньої важкості (за класифікацією Jacobsen D. W. (1998)). Так, у щурів контрольної групи середній рівень ГЦ складав $10,8 \pm 0,35$ мкмоль/л, а у щурів, котрі отримали 50 мг/кг метіоніну вміст ГЦ виявився в 4,6 рази більшим – $49,6 \pm 3,92$ мкмоль/л.

Дослідженнями структурної організації сітківки при гострій метіоніновій ГЦ виявлено дезорганізацію шарів сітківки, помірний набряк обох ядерних

шарів та виражений набряк з переважною локалізацією в ФСШ, ГШ та ШНВ. Останній зазнає дегенеративних змін через плазматичне просякання стінок судин і периваскулярного простору, їх гомогенізації та пролябації в напрямку до склистого тіла.

Дані лектин–гістохімічного дослідження свідчать про найбільш виражені зміни представництва глікокон'югатів в шарах сітківки з більш вираженим набряком. При гострій метіоніновій ГГЦ наявна повна редукція рецепторів до лектинів виноградного слимака (HPA) та насіння сої (SBA) в набряклих ядерних шарах та в ГШ, а також втрата експресії рецепторів лектину WGA в ФСШ. Ареактивними по відношенню до модельованого стану виявилися рецептори сітківки та ЗН до лектинів SNA та кори бузини чорної, що може свідчити про втрату сіалогліканів або їх маскування глікополімерами у вигляді NAcDGlс. Зростання афінності при метіоніновій ГГЦ зафіксована в окремих шарах до лектинів LABA, WGA і PNA. Зміни цитотопографії глікополімерів, що проявлялися підвищенням інтенсивності гістохімічної реакції найбільш характерні були для альфа–L–фукозних кон'югатів. Посилення експресії рецепторів лектину LABA у ФСШ, ядерних, ЗСШ та ГШ сітківки може вказувати на участь глікополімерів L–фукози у синтезі збуджуючих нейротрансмітерів при передачі нервового імпульсу.

Найбільш виражені зміни експресії глікокон'югатів при метіоніновій ГГЦ були в пограничних мембранах, ФСШ, ГШ і ШНВ, сітчасті шари демонстрували відносно незначну перебудову глікому структурних компонентів. ЗН при метіоніновій ГГЦ демонстрував зміни гістотопографії вуглеводних рецепторів з тенденцією до їх зменшення в пери– та ендоневрії (LABA– і WGA–позитивні рецептори).

Товщина сітківки дослідних груп щурів достовірно збільшувалася, статистично достовірно зростала питома вага ГШ та ШНВ. Спостерігалася втрата однорідності шарів, та їх диспропорція за рахунок набряку зовнішньої та внутрішньої ділянок сітківки, які знаходяться в безпосередній близькості до гемато–ретинального бар'єру. В середній частині сітківки (сітчасті шари та ВЯШ) були відносно незначні ознаки набряку, змін лектин–гістохімічної активності, товщини шарів та сталості клітинної популяції в них.

Виявлено, що найчастіше при метіоніновій ГГЦ вражаються фотосенсорні та мультиполярні гангліонарні нейрони. Зміни паличок та колбочок сітківки під впливом ГГЦ характеризуються деструкцією зовнішніх їх відділів. Стосовно гангліонарних нейронів, дія ГГЦ реалізується явищами вакуолізації їхньої цитоплазми, ущільнення ядер, тенденцією до гіпохромії, нейроцитолізу, достовірного зменшення їх кількості. Результати наших досліджень узгоджуються із результатами Ganapathy P., [2009] стосовно втрати чисельності гангліонарних клітин та набряку в сітчастих та ядерних шарах при ГГЦ.

Реакція ЗН на різке підвищення рівня ГЦ проявляється метаболічною перебудовою, зростанням інтенсивності забарвлення невриленими, збільшенням кількості нейролемоцитів, макрофагів та фібробластів. Спостерігається їх нерівномірне накопичення та порушення звичайної орієнтації між пучками нервових волокон (під кутом до осі нерва). На фоні відносної втрати структурованості нерва вибірково маркуються гліальні клітини при кон'югації з лектином LАВА.

Встановлено, що в сітківці на різке зростання ГЦ в крові обов'язково реагує МЦР. Стінки ретинальних судин ГШ гомогенізуються та потовщуються внаслідок плазморагії, просвіт судин деформується, зменшується, а місцями взагалі облітерується. Вазотоксичність ГЦ, виявлену в гострому досліді, можна пояснити гіпоксією, яку спричиняє оксидативний стрес при ГГЦ та дією оксиду азоту.

Свідченням підвищеної проникності судин при метіоніновій ГГЦ можна вважати виявлені зміни активності вуглеводних рецепторів ендотеліоцитів судин сітківки, що проявлялися в достовірному підвищенні інтенсивності гістохімічної реакції з лектинами LАВА та PNA.

Наявні гістологічні та біохімічні дані дозволяють зробити припущення, що в основі токсичної дії надлишку в крові ГЦ лежить ініціювання ним оксидативного стресу та порушення вазорегуляції. Підтвердженням ймовірності „оксидативної” гіпотези несприятливого впливу надлишку ГЦ на сітківку та ЗН можуть бути результати проведеного нами вимірювання вмісту продуктів пероксидації ліпідів та білків в сироватці крові та мозку тварин, глутатіону та активності антиоксидантного фермента глутатіонпероксидази в мозку. Наші дані свідчать, що у тварин з гострою ГГЦ рівень в сироватці крові карбонільних груп білків зростає в 2,3 рази, вміст малонового діальдегіду – в 2,14 рази, дієнових кон'югатів – в 2,56 рази. В мозку тварин з ГГЦ вміст карбонільних груп зростає в 2,25 рази, малонового діальдегіду – в 2,56 рази. Натомість рівень відновленого глутатіону зменшується на 42%, а активність глутатіонпероксидази – на 36%. Тобто, при ГГЦ має місце значна активація процесів пероксидації ліпідів та білків, і зрив антиоксидантних можливостей, і ці зміни тісно корелюють з рівнем ГЦ в крові.

Важливим в патогенетичному відношенні є ще один виявлений факт – значне зменшення (на 43,6% при гострій ГГЦ) концентрації нітратів та нітритів в сироватці крові тварин з ГГЦ. Відомо, що нітрати та нітрити є стабільними метаболітами оксиду азоту – основної вазодилітаторної молекули. Тобто, цілком можливо, що одним з ранніх проявів токсичної дії надлишку ГЦ на судини є гальмування продукції вазодилітаторів. Такий хід подій логічно вивільняє механізм вазоконстрикції. Зафіксований нами факт зростання інтенсивності процесів пероксидації ліпідів та білків свідчить про посилення утворення активних форм кисню, які, як відомо, теж володіють потужною

вазоконстрикторною дією.

Очевидно, що знайдені нами зміни як судинного апарату, так і нервових елементів в сітківці та ЗН є наслідком ішемічно–реперфузійних уражень даних морфологічних структур, а механізмом ініціювання таких пошкоджень є викликані надлишком ГЦ явища оксидативного стресу.

При поєднанні двох факторів – навантаження організму щурів метіоніном та дефіциту основних вітамінів, які беруть участь в обміні ГЦ,— рівень ГЦ в сироватці крові зростає до $119 \pm 8,5$ мкмоль/л, що відповідає важкій ГЦ [Jacobsen D. W., 1998].

На 15 добу експерименту в сітківці та ЗН при мікроскопічному дослідженні, в судинах МЦР сітківки діагностовано зменшення просвіту судин, потовщені стінки судин, пошкодження ендотеліальних клітин, підвищення проникності капілярів, діapedез формених елементів крові, стази та тромби в артеріях та венах. Просвіт судин сітківки як правило, розширений, заповнений кров'ю, в окремих судинах (переважно венах) відмічено явища стазу та тромбозу різної давнини (за даними гістохімічного дослідження). Стаз та повнокрів'я частіше мають місце в ретинальних капілярах ГШ та ШНВ. На межі ЗСШ та ВЯШ також збільшується питома вага повнокровних ділятованих судин.

В ЗН вразливими до ГЦ виявились судини м'якої оболонки, під якою на тлі набряку наявні вогнища діapedезу еритроцитів у оточуючу тканину, а також судини нерва. За анатомічною будовою і локалізацією вищезгадані судини відповідали центральній артерії сітківки та супроводжуючим її венам та венулам. В нашому дослідженні тромби мають місце, в основному, в венах, частіше – в дрібних судинах ГШ сітківки, водночас, в ЗН діагностовано тромби в крупних судинах диску зорового нерва та в центральній вені сітківки, до входження в товщу нерва.

Кожна гілка ЦАС, розпадаючись на капіляри, кровопостачає окремий квадрант, тому при припиненні кровоплину в ретинальних судинах при ГЦ розвивався інфаркт відповідної обмеженої ділянки. В подальшому, в таких місцях відбувалося розростання сполучної тканини та глії з утворенням конгломератів або «залишкових вузликів», часто периваскулярної локалізації. Звертало на себе увагу, що при виявленні фактів тромбозу в судинах внутрішньої третини сітківки, її зовнішні відділи часто зберігали відносну інтактність, що може свідчити про різні механізми і неоднакові ступені порушення гісто–гематичного бар'єру внутрішніх та зовнішніх шарів сітківки. Виявлені набряк та втрата щільності ФСШ у одних тварин, та масивна вакуолізація та атрофія зовнішніх сегментів нейросенсорних клітин у інших тварин однієї групи може свідчити про індивідуальну чутливість паличок та колбочок до ГЦ. За результатами морфометричного дослідження шарів сітківки, найбільш резистентним до впливу ГЦ є ЗЯШ. Відносна збереженість

перикаріонів фотосенсорних нейронів здатна забезпечити регенерацію ФСШ, що й спостерігається при застосуванні ВМК.

Лектин–гістохімічним дослідженням сітківки тварин з гіповітамінозно–метіоніновою ГГЦ в її ФСШ виявляється мозаїчна перебудова рецепторів LAVA, PNA та WGA, що свідчить про втрату його функціональної здатності та розвиток дистрофічних процесів.

Встановлено, що вразливими до ГЦ, крім фотосенсорних, є асоціативні та гангліонарні клітини. В популяції клітин ВЯШ відносно ареактивними залишаються горизонтальні нейрони, тоді як найбільш чутливими до ГГЦ є амакринові клітини, які розташовуються на межі ВЯШ та ВСШ. Аксони амакринових нейронів при гіповітамінозно–метіоніновій ГГЦ набувають гіперхромності. В нашому дослідженні кількість гіперхромних амакринових клітин достовірно зростає. Ми схильні вважати, що ГГЦ викликає збудження, а можливо і перезбудження нейронів, зважаючи на вже відомі ексайтотоксичні ефекти ГГЦ в мозку [Sachdev P. S., 2005; Blaise S. A., 2007] та сітківці [Вікторов 2006; Ying Dun, 2007; Ganapathy P., 2009].

У клітинах ГШ при ГГЦ спостерігались альтеративні поліморфні зміни окремих нейронів у вигляді як вакуолізації нейроплазми, наявності клітин–тіней, так і гіперхромії та пікнозу нейронів, що, напевно, обумовлено гіпоксією нейронів. Звертала на себе увагу однотипність деструктивних змін гангліонарних нейронів та астроцитів, що контактують один з одним в ГШ біля ретинальних судин. Статистично достовірно кількість гангліонарних нейронів була нижчою у тварин з ГГЦ. Проведений статистичний аналіз виявив тенденцію до збільшення кількості гіперхромних амакринових клітин при одночасному розрідженні гангліонарних нейронів.

В нашому дослідженні по мірі наростання чутливості до токсичного впливу ГЦ нейрони розміщуються в такій послідовності: гангліозні < амакринові < фотосенсорні.

Виявлена при ГГЦ відсутність груп гангліонарних клітин супроводжується примноженням гліальних сателітів. Збільшення щільності загальної та сателітної глії може свідчити про появу репаративних процесів, що також проявлялося активацією нейроглії в умовах високих рівнів ГЦ. Статистично достовірно зростала кількість гіперхромних гліальних клітин, відростки яких прямували від внутрішньої пограничної гліальної мембрани до ВЯШ.

За допомогою лектин–гістохімічного дослідження виявлено факт підвищеної експресії рецепторів до PNA в окремих гіпертрофованих гліальних клітинах, на противагу загальній гіпореактивності гліальних клітин в ЗН з іншими лектинами, що дозволяє зробити припущення, що лектин арахісу є маркером активованих ГЦ гліальних клітин в ЗН. На поперечних зрізах ЗН чітко прослідковуються гліально–фібробластичні реакції на фоні набряку епі–

та ендоневрію.

На відміну від нейронів глія володіє проліферативною здатністю, що яскраво демонструється на наступних етапах досліджу. При використанні ВМК більшість збережених нейронів на 4 та 10 добу лікування характеризувалися морфологічними ознаками компенсаторно–приспосувальних реакцій, що проявлялося в гіпертрофії гангліонарних нейронів та оточенні їх гліальними клітинами.

Дослідження препаратів ВМК та бетаїну продемонстрували, що обидва препарати забезпечують гіпогемістемічний ефект. При лікуванні вже розвинутої ГГЦ (на гіповітамінно–метіоніновій моделі), виявлено, що за силою лікувальної дії застосовані фактори по мірі наростання позитивного ефекту розміщуються в такій послідовності: повноцінна дієта < бетаїн < ВМК.

Лікування препаратами ВМК та бетаїном за 4 доби знижувало плазмові рівні ГЦ в 5,92 рази (на 83,11 %) та у 3,29 рази (на 69,58%) відповідно, – такі показники характерні для слабкої ГГЦ. На противагу, у нелікованих тварин, яких переводили на стандартну дієту із фізіологічним вмістом вітамінів, зниження концентрації ГЦ становило 54,97 % (в 2,21 рази), а синдром ГГЦ набував середньої ступені важкості. На 10 добу лікування у тварин, які отримували ВМК, вміст ГЦ знижувався до нормальних рівнів (статистично достовірно). Отож, 10–ти добового періоду лікування ВМК достатньо для ліквідації ГГЦ в крові. Встановлено, що застосування бетаїну забезпечує зниження рівня ГЦ до нормальних значень в період від 10 до 20 діб лікування. Результати дослідження свідчать, що показники оксидативного стресу минають повільніше, ніж знижується концентрація ГЦ, а біохімічні зрушення в мозку тварин минають повільніше, ніж в сироватці крові. Слід зауважити, що при застосуванні дієти із фізіологічними дозами вітамінів також спостерігалася, хоч і повільна, але позитивна динаміка зниження концентрації ГЦ в крові до 35 доби експерименту.

Позитивна динаміка біохімічних показників в сироватці крові та мозку щурів знаходила своє відображення і в морфологічній перебудові сітківки та ЗН. Однак, якщо вищезгадані біохімічні зрушення піддавалися повній корекції, то структурні зміни сітківки та ЗН – не в повній мірі. Аналіз морфологічних результатів застосування ВМК та бетаїну показав, що відновлювальні ефекти на мікроскопічному рівні проявлялися у зменшенні набряку нейронів, інтрацелюлярного матриксу сітківки, нервових волокон, що забезпечувало відновлення структурованості сітківки та впорядкованості волокон ЗН і зменшенні явищ демієлінізації. Поступово зменшувався набряк стінок судин, що живлять сітківку та ЗН, нормалізувалася будова та функціональна здатність ендотелію судин, які втрачали стовпчасте розташування. Покращення мікроциркуляції, ймовірно, призводило до покращення кровопостачання і усунення гіпоксії і наслідків оксидативного стресу. При застосуванні ВМК,

набряк зменшувався у напрямку до ФСШ, тобто ретинальні судини внутрішньої третини сітківки були більш чутливими до гіпогемостатичних ефектів ВМК та бетаїну, ніж хоріоретинальні судини.

На моделі гіповітамінозно–метіонінової ГГЦ було виявлено стази та тромби в ретинальних артеріях та венах, які в подальшому діагностували в сітківці тварин нелікованої групи. У щурів, які отримували ВМК та бетаїн, навколо тромбованих судин утворювалися гліально–фібробластичні конгломерати або «залишкові вузлики», які виявлялися на усіх термінах лікування. На 4 добу застосування ВМК залишалося повнокрів'я, а при лікуванні бетаїном розширеними та повнокровними судини залишалися і по закінченню 10–денного періоду.

Результати наших досліджень, свідчать, що розростання гліальних елементів в період лікування – один із характерних морфологічних проявів замісної регенерації в сітківці та ЗН. Саме гліальні елементи (астроцити, олігодендроцити та мікроглія) забезпечували замісну регенерацію. Розмноженням і подальшою диференціацією та синтезом волокнистого компонента можна пояснити утворення гліальних рубців в сітківці. Гіпертрофія і розмноження гліальних клітин були більш виражені в сітківці тварин, яких лікували ВМК. В ГШ в місцях випадіння гангліонарних клітин відбувалося заміщення патологічно змінених нейронів гліальними клітинами, які розташовувалися в кілька рядів. Результати спостереження за відновлювальним періодом в ЗН також свідчать про розростання в ньому гліальних елементів. При лікуванні ВМК спостерігається помірно осередкове збільшення гліальних клітин в ЗН, при застосуванні бетаїну – угруповання гліальних і сполучно–тканинних клітин деформують малюнок ЗН, а у нелікованих тварин – гліоз завершувався частковим фіброзом ЗН.

Пристосувально–компенсаторні процеси в сітківці також проявлялися гіпертрофією уцілілих гангліонарних нейронів. Водночас, навіть після лікування, збільшення чисельності клітин в ГШ відбувається не за рахунок гангліонарних клітин, а за рахунок гліальних клітин.

Лікування бетаїном демонструвало дещо повільнішу ліквідацію набряку, який не минав в ФСШ та ГШ та ЗН. В останньому навіть на 10 добу лікування у частини тварин помітні були явища відшарування епіневію. В сітківці – виражений дефіцит нейронів, особливо гангліонарних. При цьому, проліферація гліальних елементів була практично відсутньою як в сітківці, так і в ЗН. Незначна активація проліферативної глії в ЗН спостерігалася лише на 20–ту добу застосування бетаїну.

Таким чином, хоч і лише частково, морфологічна картина в сітківці та ЗН під впливом лікування зазнавала позитивних змін, які були краще вираженими при застосуванні ВМК.

У нелікованих тварин, не зважаючи на те, що на 35 добу експерименту, після 20–ти добового утримання на основній дієті, рівень ГЦ знизився до $14,9 \pm 1,85$ мкмоль/л, морфологічна картина характеризувалася ознаками набряку, особливо в ГШ, ЗСШ та ФСШ, достовірним зменшенням чисельності нейронів, питомої ваги ФСШ та ЗЯШ. У частини тварин ФСШ зазнавав повної атрофії разом із тотальним зменшенням ЗЯШ. Звертав на себе той факт, що ретинальні судини або мали значно розширені просвіти та гомогенізовані товсті стінки, або у них взагалі були відсутні просвіти за рахунок потовщення стінок в дрібних судинах. Навколо окремих судин з потовщеними стінками виявляли клітинну інфільтрацію, схожу на периваскуліт. В судинах сітківки були наявні тромби. Результати морфометричних досліджень свідчать, що у нелікованих тварин наявне достовірне зменшення загальної товщини сітківки. В ЗН тварин, які не отримували гіпогемостатичних препаратів, розвивалося відшарування периневрію, втрата лінійності та контрастності нервових волокон, що свідчить про атрофічні процеси. Встановлено, що масовим явищем при нелікованій ГГЦ були дегенерація мієлінових оболонок та дистрофія осьових циліндрів нервових волокон ЗН. Таким чином, встановлено, що якщо ГГЦ не лікувати, відбувається тромбування судин сітківки, атрофія фотосенсорних та гангліонарних нейронів і порушення мієлінізації ЗН, що свідчить про незворотню втрату зору.

ВИСНОВКИ

В дисертаційному дослідженні розглянуто і вирішено актуальне завдання – в експерименті досліджено морфофункціональний стан сітківки та зорового нерва при гіпергемостатичній різної етіології, ступеня важкості і тривалості та встановлено закономірності в розвитку їх пошкоджень і обґрунтовано необхідність патогенетичного підходу до корекції гіпергемостатичної її наслідків.

1. Сітківка щура в нормі представлена десятьма шарами, які мають різну товщину в центральній та периферичній її ділянках ($205,82 \pm 8,13$ мкм та $154,44 \pm 7,69$ мкм відповідно) та різну кількість нейронів на одиницю площі ($301,72 \pm 11,69$ та $228,82 \pm 17,09$ – в зовнішньому ядерному шарі; $165,74 \pm 14,81$ та $150,02 \pm 16,52$ – в внутрішньому ядерному шарі; $4,98 \pm 1,24$ та $2,74 \pm 1,08$ – в гангліонарному шарі центральної та периферичної ділянок сітківки відповідно). В нормі судини гемомікроциркуляторного русла виявлені лише в внутрішніх шарах сітківки щура. Структура зорового нерва внутрішньо-черепної локалізації щура представлена мієліновими нервовими волокнами.

2. Морфологічними проявами ГГЦ в сітківці є набряк та дезорганізація шарів, патологічні зміни гангліонарних нейронів і втрати в їх популяції, з ознаками подразнення гангліонарних, амакринових клітин та радіальних гліоцитів. В зоровому нерві структурні зміни проявляються набряком ендо– та

периневрію, дегенерацією осьових циліндрів та демієлінізацією нервових волокон, а також активацією астроцитів та олігодендроцитів. ГГЦ призводить до реактивних змін в ендотеліоцитах судин, плазморагічної гомогенізації і потовщення стінок судин в сітківці та зоровому нерві, порушення мікроциркуляції у формі повнокрів'я, стазу, діapedезу еритроцитів та тромбозу дрібних гілок центральної артерії та вени сітківки.

3. В біохімічному аспекті гостра метіонінова модель ГГЦ забезпечила зростання концентрації ГЦ в сироватці крові в 4,6 рази, в порівнянні із контролем; зростання вмісту продуктів пероксидації ліпідів та білків: білкових карбонільних груп, малонового діальдегіду та дієнових кон'югатів становить 2,3, 2,14 та 2,56 рази, відповідно, натомість, рівень стабільних метаболітів оксиду азоту – нітратів і нітритів – знизився на 43,6%. Сильний корелятивний зв'язок був характерним для рівня ГЦ та продуктів пероксидації ліпідів як в сироватці крові, так і в мозку шурів.

У тварин, які зазнали гіповітамінозно–метіонінової ГГЦ рівень ГЦ був в 10,82 рази вище, ніж у інтактних шурів, достовірно зросли рівні карбонільних груп, малонового діальдегіду (в 2,74 та 2,93 рази відповідно), а також зросла активність глутатіону та глутатіонпероксидази, про що свідчить статистично достовірне зниження їх концентрації в мозку до $0,49 \pm 0,06$ мкмоль/г (в 2,18 рази) і $15,2 \pm 1,26$ нмоль/хв. на 1 мг білка (в 1,72 рази) відповідно.

4. Гостра метіонінова ГГЦ викликає структурні зміни в сітківці та зоровому нерві, які проявляються їх набряком та дезорганізацією, міжклітинним набряком в обох ядерних та гангліонарному шарах, ущільненням внутрішньої пограничної гліальної мембрани. Стінки судин сітківки потовщуються та гомогенізуються, звужується їх просвіт. Під епіневрієм зорового нерва розвивається макрофагальна інфільтрація, реактивно змінюється ендотелій судин. Набряк та дезорганізація сітківки обумовлюють потовщення центральної та периферичної ділянок, порівняно із контролем на 17 та 32 % відповідно. Зростає кількість патологічно змінених і загиблих гангліонарних клітин в ГШ. На молекулярному рівні спостерігається зміна рецепторного представництва вуглеводних детермінант клітин сітківки та елементів зорового нерва, виявлена гіперреактивність рецепторів до лектинів LАВА, WGA і PNA може свідчити про значні функціональні деформації в нейросенсорних клітинах та нейроглії під впливом ГГЦ.

5. За умов гіповітамінозно–метіонінової ГГЦ відбувалося потовщення стінок судин, пошкодження ендотеліальних клітин, підвищення проникності капілярів, діapedез клітин крові, стази та тромби в артеріях і венах. При наявності тромбозу в судинах внутрішньої третини сітківки, її зовнішні шари часто зберігають відносну інтактність, що може свідчити про різні механізми і неоднакові ступені порушення гісто–гематичного бар'єру в внутрішніх та

зовнішніх шарах сітківки під впливом ГГЦ. Виявлена в фотосенсорному шарі мозаїчна перебудова рецепторів LАВА, РNA та WGA свідчить про розвиток дистрофічних процесів і втрату його функціональної здатності. Вразливими при ГГЦ є фотосенсорні, амакринові та гангліонарні нейрони сітківки. Встановлено достовірне зростання кількості гіперхромних амакринових клітин при одночасному розрідженні чисельності гангліонарних нейронів. В зоровому нерві виявлено гліально–фібробластичні реакції на фоні набряку пери– та ендоневрію, вогнищеву деструкцію осьових циліндрів та дегенеративні зміни мієлінових оболонок нервових волокон.

6. На 35 добу експерименту у щурів, які не отримували будь–яких гіпогомоцистеїнемічних засобів з метою корекції гіповітамінозно–метіонінової ГГЦ, виявили тромби в судинах сітківки та зорового нерва, атрофію фотосенсорного шару та пікноз гангліонарних нейронів, гліоз зорового нерва з дегенерацією осьових циліндрів та мієлінових оболонок нервових волокон, що постає визначеною причиною незворотньої втрати зору. Даний факт, доводить необхідність ранньої діагностики та профілактики ГГЦ.

7. Корегуючі ефекти ВМК та бетаїну на мікроскопічному рівні полягають у зменшенні набряку в ядерних шарах, міжцелюлярного матриксу сітківки, нервових волокон, кращій збереженості структурованості сітківки та впорядкованості волокон зорового нерва. В сітківці та зоровому нерві відбуваються компенсаторно–приспосувальні явища: гіпертрофія і гіперхроматоз уцілілих гангліонарних нейронів, примноження гліальних елементів, потовщення мієлінових оболонок нервових волокон, утворення навколо тромбованих судин гліально–фібробластичних конгломератів – «залишкових вузликів». Дослідження лікувальної дії препаратів ВМК та бетаїну продемонстрували, що обидва препарати забезпечують гіпогомоцистеїнемічний ефект. За ефективністю та ретинопротекторними властивостями застосовані гіпогомоцистеїнемічні фактори розміщуються в наступній послідовності: повноцінна дієта < бетаїн < ВМК.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Морфологічні зміни в органах тварин з експериментальною гіпергомоцистеїнемією та можливість їх корекції дієтами, збагаченими вітамінами / К. П. Постовітенко, О. О. Пентюк, М. Б. Луцюк, О. В. Сергієнко, М. А. Артемчук, І. І. Андрушко, Р. В. Харковенко, В. Ф. Чехун, Т. В. Призимирська // Вісник морфології. –2005. – № 11. – С. 287–292. (Здобувач приймала участь в описанні та узагальненні отриманих результатів, підготовлено матеріал до друку).

2. Харковенко Р. В. Структурні зміни сітчастої оболонки та зорового нерва при гострій метіоніновій гіпергомоцистеїнемії у щурів / Р. В. Харковенко

// Вісник морфології. – 2008. – № 14 (2). – С. 346–351.

3. Харковенко Р. В. Лектинова гістохімія сітківки та зорового нерва щурів в нормі та при гіпергомоцистеїнемії / Р. В. Харковенко, М. С. Пушкар, А. М. Ященко // Світ біології та медицини. – 2009. – № 3 (1). – С. 173–179. (Здобувач приймала участь в описанні та узагальненні отриманих результатів, підготувала матеріал до друку).

4. Синдром гіпергомоцистеїнемії: етіопатогенез та фармакологічні аспекти / К. П. Постовітенко, М. А. Артемчук, Р. В. Харковенко, Н. В. Заїчко, О. О. Пентюк, М. Б. Луцюк, О. В. Тертишина, Г. З. Личик, Д. О. Некрут // Ультразвукова перинатальна діагностика. – 2009. – № 27–28. – С. 282–296. (Здобувач приймала участь в аналізі літературних даних, підготувала матеріал до друку).

5. Морфологія та морфометрія сітківки щурів в нормі, за умов гіпергомоцистеїнемії та її корекції / Р. В. Харковенко, М. С. Пушкар, А. П. Король, М. А. Артемчук, Н. М. Артемчук, В. М. Оніщук // Науковий вісник Ужгородського університету. – 2009. – № 37. – С. 51–56. (Здобувач особисто збрала матеріал, провела морфометрію та статистичну обробку і узагальнила отримані результати, підготувала матеріал до друку)

6. Деклараційний патент на корисну модель № 12727/1 Україна. МПК G09B 23/28. Спосіб моделювання дегенеративних змін сітківки та зорового нерва / Р. В. Харковенко, М. С. Пушкар, О. О. Пентюк ; заявник та патентовласник Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова. - № u 200907750. Заявл. 23.07.2009. Опубл. 10.02.2010. Бюл. № 3. (Здобувач особисто запропонувала метод, описала та узагальнила отримані результати).

7. Постовітенко К. П. Гіпергомоцистеїнемія як фактор ураження судин / К. П. Постовітенко, В. М. Истошин, Р. В. Харковенко // Матеріали науково–практичної конференції "Біопсихосоціальні аспекти здоров'я: здоров'я здорових" 21–22 жовтня 2004 р. Вінниця. – С. 94–95. (Здобувач приймала участь в описанні та узагальненні отриманих результатів).

8. Вплив вітамінно–мікроелементного препарату на рівень гомоцистеїну в плазмі крові та патоморфологічні зміни в оці, викликані експериментальною гіпергомоцистеїнемією / Р. В. Харковенко, М. А. Артемчук, К. П. Постовітенко, М. Б. Луцюк, Й. Р. Салдан, О. В. Сергієнко // Сучасний стан і проблеми експериментальної та клінічної медицини : міжнар. наук. – практ. конференція. Тернопіль, 11–12 листоп. 2004 р. // Медична хімія. – 2004. – Т. 6, № 3. – С. 175. (Здобувач особисто збрала матеріал, описала і узагальнила отримані результати, підготувала матеріал до друку).

9. Харковенко Р. В. Морфологічні наслідки впливу гіпергомоцистеїнемії на сітчасту оболонку ока, зоровий нерв та мозок щурів / Р. В. Харковенко, М. А. Артемчук, М. С. Пушкар // Актуальні питання експеримент-

тальної, клінічної та профілактичної медицини : 45 університетська науково–практична конф. молодих вчених, Вінниця, 20 травня 2009 р. // Вісник морфології. – 2009. – № 13 (1/2). – С. 314–315. (Здобувач приймала участь в описанні та узагальненні отриманих результатів, підготувала матеріал до друку).

10. Харковенко Р. В. Токсичні ефекти метіонінової гіпергомоцистеїнемії в сітківці ока, зоровому нерві та мозкові щурів / Харковенко Р. В. // Здобутки клінічної та експериментальної медицини : підсумкова наук.-практ. конф. Тернопіль, 4 червня 2009 р. : тези доп. – 2009. – С. 148–149.

11. Харковенко Р. В. Лектинова гістохімія сітківки та зорового нерва щурів в нормі та при гіпергомоцистеїнемії / Р. В. Харковенко // Актуальні проблеми функціональної морфології : науково–практична конференція, присвячена 105 річниці з дня народження Є. Д. Бромберг : тези доп. – П., 2009. – С. 173.

АНОТАЦІЯ

Харковенко Р.В. Структура сітківки та зорового нерва щурів у нормі, при гіпергомоцистеїнемії та за умов корекції (експериментальне дослідження). – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.01 – нормальна анатомія. – Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України. – Вінниця, 2010.

Дослідження присвячене вивченню структури сітківки та зорового нерва в нормі та при гіпергомоцистеїнемії різної етіології, ступеня важкості і тривалості для визначення елементів загальних закономірностей в їх пошкодженнях і патогенетичного підходу до корекції. Автором вперше досліджено структуру сітківки та зорового нерва на метіоніновій та гіповітаміннозно–метіоніновій моделях гіпергомоцистеїнемії у щурів. Встановлено, що гіпергомоцистеїнемія обумовлює дегенерацію фотосенсорних нейронів, зменшення кількості гангліонарних нейронів, гіперхромію амакринових нейронів з їх відростками, активацію гліальних елементів сітківки і зорового нерва та порушення мієлінізації його нервових волокон. Вперше в експерименті досліджено тромбогенні ефекти гіпергомоцистеїнемії в судинах зорового нерва та сітківки. Встановлено, що пристосувально–компенсаторним явищем в сітківці при гіпергомоцистеїнемії є гіпертрофія уцілілих гангліонарних нейронів. Морфологічним проявом замісної регенерації при корекції гіпергомоцистеїнемії є розростання гліальних елементів в сітківці та зоровому нерві. Доведено, що гіпогомоцистеїнемічна активність та здатність нормалізувати порушення, індуковані гіпергомоцистеїнемією в сітківці та зоровому нерві, вищі у вітамінно–мікроелементного комплексу, ніж у бетаїну.

Ключові слова: гіпергомоцистеїнемія, сітківка, зоровий нерв.

АННОТАЦИЯ

Харковенко Р. В. Структура сетчатки и зрительного нерва крыс в норме, при гипергомоцистеинемии и в условиях коррекции (экспериментальное исследование). – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.01 – нормальная анатомия. – Винницкий национальный медицинский университет им. М.И. Пирогова Министерства здравоохранения Украины. – Винница, 2010.

Целью исследования было изучение изменений морфофункционального состояния сетчатки и зрительного нерва при гипергомоцистеинемии различной этиологии, степени тяжести и продолжительности для определения общих закономерностей их повреждений и патогенетического подхода к коррекции. Мы воспроизвели на крысах модели гипергомоцистеинемии: острую метиониновую и хроническую комбинированную гиповитаминозно–метиониновую; на первой модели исследовали гистологические, морфометрические, ультраструктурные и гистохимические маркеры реактивных изменений в структурах сетчатки и зрительного нерва, на второй – морфофункциональные признаки адаптационных процессов в сетчатке и зрительном нерве при высокой ГГЦ, а также морфофункциональные последствия лечебного действия бетаина и витаминно–микроэлементного комплекса.

Установлено, что гипергомоцистеинемия обуславливает дегенерацию фотосенсорных клеток, уменьшение количества ганглионарных нейронов, гиперхромия амакриновых нейронов, активацию глиальных клеток сетчатки и олигодендроцитов зрительного нерва, а также нарушение миелинизации его нервных волокон. Впервые в эксперименте исследованы тромбогенные эффекты гипергомоцистеинемии в сосудах зрительного нерва и сетчатки. Установлена тесная коррелятивная связь между уровнем гомоцистеина в крови и биохимическими показателями оксидативного стресса. Приспособительно–компенсаторные процессы в сетчатке при гипергомоцистеинемии проявлялись гипертрофией уцелевших ганглионарных нейронов. Морфологическим проявлением заместительной регенерации в сетчатке и зрительном нерве при коррекции гипергомоцистеинемии было разрастание глиальных элементов. Доказано, что гипогомоцистеинемическая активность и способность нормализовать изменения в сетчатке и зрительном нерве, индуцированные гипергомоцистеинемией, выше у витаминно–микроэлементного комплекса, чем у бетаина. Установлено, что нелеченная гипергомоцистеинемия приводит к дегенерации сетчатки и зрительного нерва и, как следствие, к необратимой потере зрения, что указывает на необходимость своевременного лечения гипергомоцистеинемии, её ранней диагностики и профилактики.

Ключевые слова: гипергомоцистеинемия, сетчатка, зрительный нерв.

SUMMARY

Kharkovenko R.V. The structure of the retina and optic nerve of rats in the norm, with hyperhomocysteinemia and in a correction (experimental study).
– Manuscript.

Thesis for the degree of medical sciences on a specialty 14.03.01 – normal anatomy. – Vinnitsa National Medical University. n.a. N.I. Pirogov of the Ministry of Health of Ukraine. – Vinnitsa, 2010.

The aim of our study was to examine changes in the morphofunctional state of the retina and optic nerve with hyperhomocysteinemia of different etiology, severity and duration to determine the elements of consistent patterns in their injuries and pathogenetic approach to its correction. By the author of the first time studied of the structure of the retina and optic nerve on the methionine and gipovitamin–methionine models of hyperhomocysteinemia in rats. Estimated that hyperhomocysteinemia causes degeneration of photoreceptor neurons, reducing the number of ganglion neurons, hyperchromicity of amacrine neurons with their processes, activation of glial elements of the retina and optic nerve and violation of myelination of its nerve fibers. For the first time in the experiment investigated thrombogenic effects of hyperhomocysteinemia in the vessels of the optic nerve and retina. Estimated that the adaptive–compensatory phenomenon in the retina with hyperhomocysteinemia is hypertrophy surviving ganglionic neurons. Morphological manifestation of substitution of regeneration for during correction of hyperhomocysteinemia is the increasing the number of glial elements in the retina and optic nerve. Proved that hypohomocystinemic activity and the ability to normalize the violations in the retina and optic nerve induced by hyperhomocysteinemia, higher in vitamin–mineral complex than betaine.

Key words: hyperhomocysteinemia, retina, optic nerve.

СПИСОК СКОРОЧЕНЬ

ВМК – вітамінно–мікроелементний комплекс
 ВСШ – внутрішній сітчастий шар
 ВЯШ – внутрішній ядерний шар
 ГГЦ – гіпергомоцистеїнемія
 ГЦ –гомоцистеїн
 ГШ – гангліонарний шар
 ЗН – зоровий нерв
 ЗСШ – зовнішній сітчастий шар
 ЗЯШ – зовнішній ядерний шар
 МЦР – мікроциркуляторне русло
 ФСШ – фотосенсорний шар
 ШНВ – шар нервових волокон

Підписано до друку 8.04.2010 р. Замовл. № 286
Формат 60x90 1/16 Ум. друк. арк. 0,8. Друк офсетний.
Наклад 100 примірників.

Вінниця. Друкарня ВНМУ ім. М.І.Пирогова, Пирогова, 56.

