

**THE ROLE OF NEUROPEPTIDES IN THE DEVELOPMENT
OF RETINA NEURODEGENERATION IN RATS UNDER CONDITIONS
OF EXPERIMENTAL DIABETIC RETINOPATHY**

International Academy of Ecology and Medicine (Kyiv, Ukraine)

prof_S.I.V@ukr.net

Long-term hyperglycemia leads to disorders of most metabolic processes, which subsequently leads to an increase in the risk of damage to body tissues, and in the future can cause serious diabetic secondary complications. The purpose of the work is to study the level of neurotrophic factors under the conditions of control pathology and to identify a possible relationship with neurodegenerative changes. The experimental study was carried out on non-linear rats. Were studied the level of protein S100b, brain neurotrophic factor and nerve growth factor, as well as clusterin and fractalin. The study found imbalanced levels of S100b, neurotrophic factor, and nerve growth factor in the serum of rats with diabetic retinopathy, suggesting early signs of retinal neurodegeneration. In particular, the level of serum protein S100b increased by 1.5 times on the 60th day, and by 1.9 times on the 120th day compared to intact animals. The concentration of the neurotrophic factor, both on the 60th and 120th day, exceeded the data of intact animals by 1.2 times, respectively. The level of nerve growth factor significantly increased on the 60th day by 1.2 times, on the 120th day – by 1.5 times relative to intact rats. An increase in the levels of clusterin and fractalin was established, which can be considered prognostic markers in the development of microangiopathic diabetes for early diagnosis of the inflammatory process.

Key words: diabetic retinopathy, neurodegenerative changes, retina, pathogenesis.

Connection of the publication with planned research works.

The work is a fragment of complex clinical and laboratory research carried out by the SE «Ukrainian Research Institute of Transport Medicine of the Ministry of Health of Ukraine» (Odesa) as part of the research work «Improving the prevention and treatment of the main eco-dependent and occupationally caused diseases on the basis of studying the features of etiology and pathogenesis», state registration number 0116U008822.

Introduction.

Under conditions of long-term hyperglycemia (diabetes mellitus – DM), most metabolic processes are disrupted, which leads to an increased risk of damage to body tissues, and in the long run can cause serious diabetic secondary complications [1]. Due to the lack of timely referral of patients and late diagnosis of type 2 diabetes, at the time of diagnosis, 50% of patients already have complications associated with the development of micro- and macroangiopathies, among which diabetic retinopathy (DR) is quite common [1, 2, 3].

The main cells that ensure the normal functioning and vital activity of retinal neurons are Müller cells and microglia, which under physiological conditions secrete various cytokines, growth factors and neuroproteins. Chronic hyperglycemia causes an imbalance of these molecules, which further induces retinal neurodegeneration processes. Neurospecific proteins are a group of substances that are secreted mainly in nervous tissue and regulate the vital processes of neurons. Numerous studies show that neurotrophic factors (NTFs) play an important role in the protection of nervous tissue in various injuries. The mechanism of neuronal death depends not only on the production of neurotoxic substances, but also on the deficiency of neurotrophic support. Deficiency of NTF synthesis contributes to the death of nerve cells as a result of necrosis and triggers the processes of apoptosis. This fact determines the relevance of study-

ing the role of these proteins in neurodegenerative processes in the retina [2, 3].

The aim of the study.

Study of the level of neurotrophic factors under the conditions of DR in order to identify a possible relationship with neurodegenerative changes of the retina.

Object and research methods.

The experimental study was carried out on non-linear rats with a body weight of 180.0–200.0 g. Controls were intact rats that received distilled water intragastrically. A streptozotocin model was used to reproduce type 2 diabetes. This model makes it possible to reproduce the main pathogenetic links of type 2 diabetes in humans – impaired secretion and action of insulin and is characterized by the development of intolerance to carbohydrates, relative insufficiency of insulin secretion in response to elevated glucose levels, and preservation of the secretory response to non-glucose secretogens. For this purpose, streptozotocin (SigmaAldrich Chemie GmbH, Germany) was administered to rats once intravenously at a dose of 65 mg/kg. Streptozotocin solution was prepared in 0.1 M citrate buffer (pH 4.5). In order to reduce the diabetogenic effect of streptozotocin, 15 minutes before its administration, nicotinamide (Afton Pharma, India) was administered intraperitoneally at a dose of 230 mg/kg, which allows preserving up to 40% of pancreatic insulin reserves in experimental rats, due to which the animals develop a stable basal hyperglycemia [4].

The level of protein S100b, brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and nerve growth factor (NER) in blood serum was determined using specific reagents from R&D Diagnostics Inc. (USA) by the sandwich variant of solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay according to the attached instructions. The results were calculated using the Multiscan immunoenzyme analyzer (Finland). The obtained parameters were expressed in units of pg/ml [5].

The level of clusterin was determined by the immunoenzymatic method using the commercial Clusterin ELISA test system manufactured by BioVendor (Czech Republic). Fractalkine concentration in blood serum was determined by the enzyme-linked immunosorbent assay using the Fractalkine ELISA Kit manufactured by RayBio® (Georgia) [5].

Work with animals was carried out in accordance with the «General Ethical Principles of Animal Experiments» (Ukraine, 2001), which is consistent with the provisions of the «European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes» (Strasbourg, 1986), Law of Ukraine No. 3447-IV dated 21.02.2006 «On the protection of animals from cruel treatment», Order of the Ministry of Education and Science, Youth and Sports of Ukraine No. 249 dated 01.03.2012 «Procedure for conducting experiments and experiments on animals by scientific institutions», Law of Ukraine «On the Protection of Animals from Cruelty Treatment» No. 440-IX dated January 14, 2020 [6].

Statistical processing of the obtained results was carried out with the help of the «Statistica 10.0» program. The probability of differences between the indicators of the control and experimental groups was determined by Student's and Fisher's tests. The level of reliability was accepted at $p < 0.05$.

Research results and their discussion.

We established an increase in the level of serum protein S100b on the 60th day by 1.5 times ($p < 0.05$), on the 120th day by 1.9 times ($p < 0.05$) compared to intact animals (table 1). At low protein concentrations, it acts as a neuroprotector and increases the «resistance» of neurons and glia, however, under conditions of chronic hyperglycemia, there is an increased expression of receptors for glycosylation end products on the cell surface, which leads to excessive activation of microglia, provokes hyperproduction of pro-inflammatory cytokines and activation of neuronal apoptosis [3, 7].

Table 1 – Study of the content of neuropeptides in the retina of rats under conditions of experimental diabetic retinopathy (X±Sx)

Indicator	Intact group (n=10)	Control group (n=20)	
		on the 60th day	on the 120th day
S100b, pg/ml	30,7±2,4	45,7±4,2*	57,9±4,7***
BDNF, pg/ml	32,6±2,1	28,4±1,9*	26,5±1,7***
FRN, pg/ml	5,4±1,2	6,7±1,4*	8,1±1,5***

Notes: 1. * – $p < 0.05$ compared to the intact group of animals; 2. ** – $p < 0.05$ relative to the indicators obtained on the 60th day; 3. n is the number of animals in the group.

The BDNF concentration was 32.6±2.1 pg/ml, which was 1.2 times ($p < 0.05$) higher than the data obtained on the 60th day of the study. On the 120th day of observation, this indicator also decreased by 1.2 times ($p < 0.05$) and amounted to 26.5±1.7 pg/ml. An increase in the level of BDNF can be considered as an adaptive and compensatory mechanism of «stability» of ganglion cells under conditions of long-term hyperglycemia [7].

The level of FNR significantly increased on the 60th day by 1.2 times ($p < 0.05$), on the 120th day by 1.5 times ($p < 0.05$) compared to intact animals. An increased level of FNR prevents the early death of ganglion neurons, activation of Müllerian cells and the development of cap-

illary hypoperfusion. In our study, the increased level of FNR can be considered as a compensatory reaction to the hyperproduction of the S100b protein [3, 8].

In the scientific literature, there are only isolated studies of the role and place of clusterin and fractalin in the pathogenesis of DR, and there are no data on determining its diagnostic significance [8]. Since clusterin and fractalin play a significant role in restoring tight junctions and limiting the reactive response to metabolic damage, it seems relevant to study these markers themselves and their involvement in the pathogenesis of DR.

Therefore, we studied the content of clusterin and fractalin in the blood serum of rats under conditions of simulated pathology. The obtained results are shown in table 2.

Table 2 – Study of the content of clusterin and fractalin in the blood serum of rats under the conditions of experimental diabetic retinopathy (X±Sx)

Indicator	Intact group (n=10)	Control group (n=20)	
		on the 60th day	on the 120th day
Clusterin, µg/ml	74,5±2,8	78,8±3,1	84,8±3,2*
Fractalin, ng/ml	1,75±0,6	1,97±0,7	2,38±0,8*

Notes: 1. * – $p < 0.05$ compared to the intact group of animals; 2. n is the number of animals in the group.

It was established that already on the 60th day of the experiment, the level of clusterin increased by 1.1 times compared to the intact group (78.8±3.1 µg/ml vs. 74.5±2.8 µg/ml), fractalin also by 1.1 times (1.97±0.7 ng/ml vs. 1.75±0.6 ng/ml). On the 120th day of observation, the level of clusterin significantly increased by 1.2 times ($p < 0.05$) compared to intact animals (84.8±3.2 µg/ml vs. 74.5±2.8 µg/ml), and fractalin concentration – 1.4 times ($p < 0.05$), respectively (2.38±0.8 ng/ml vs. 1.75±0.6 ng/ml). At the same time, there were no significant differences between the indicators of these markers on the 60th and 120th day. An increase in the clusterin content in the blood plasma above the reference values (over 77 µg/ml) can be an indicator of an active inflammatory process, retinal edema and damage to the retinal pigment epithelium. We assume that the cytoprotective role of clusterin does not extend in the long course of DR, when the damage to the GRB is significant and the local source of clusterin does not compensate for the degree of retinal damage.

In turn, fractalkine is an important modern chemokine involved in the functioning of the neurovascular unit of the eye. It is expressed and secreted by retinal ganglion cells. Today, there are data on the role of fractalkine in the pathogenesis of various diseases, which allow considering fractalkine and its receptor as a certain regulator of proliferation, including neurons and glial cells, and a factor of anti-apoptosis.

Conclusions.

1. The study found an imbalance in the levels of S100b, BDNF and FNR in the blood serum of rats with DR, which indicates early signs of retinal neurodegeneration. In particular, the level of serum protein S100b increased by 1.5 times ($p < 0.05$) on the 60th day, and by 1.9 times ($p < 0.05$) on the 120th day compared to intact animals. The concentration of BDNF both on the 60th and 120th day exceeded the data of intact animals by 1.2 times ($p < 0.05$), respectively. The level of FNR signifi-

cantly increased on the 60th day by 1.2 times ($p < 0.05$), on the 120th day – by 1.5 times ($p < 0.05$) relative to intact rats.

2. Studying the functioning of the chemokines fractalin and clusterin is quite appropriate for the early diagnosis of the progression of the inflammatory process. It was established that already on the 60th day of the experiment, the level of clusterin increased by 1.1 times compared to the intact group, fractalin also by 1.1 times. On the 120th day of observation, the level of clusterin significantly increased by 1.2 times ($p < 0.05$) compared to intact animals, and the concentration of fractalin – by

1.4 times ($p < 0.05$), respectively. The study of changes in the levels of clusterin and fractalin can be considered prognostic markers in the development of microangiopathic diabetes for early diagnosis of the inflammatory process.

Prospects for further research.

They should include the study of all possible links of the pathogenesis of DR against the background of type 2 diabetes in order to develop and implement new pathogenetically based treatment schemes for these microangiopathic complications.

DOI 10.29254/2077-4214-2024-3-174-167-172

УДК 617.735-002-02:616.379-008.64-085-092.9

Прейс Н. І., Савицький І. В.

РОЛЬ НЕЙРОПЕПТИДІВ В РОЗВИТКУ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦІЇ СІТКІВКИ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ДІАБЕТИЧНОЇ РЕТИНОПАТІЇ ПЗВО «Міжнародна академія екології та медицини» (м. Київ, Україна)

prof_S.I.V@ukr.net

Тривала гіперглікемія призводить до розладів більшості метаболічних процесів, що в подальшому веде до зростання ризику уражень тканин організму, а в перспективі може викликати серйозні діабетичні вторинні ускладнення. Мета роботи полягає у вивченні рівня нейротрофічних факторів за умов контрольної патології та виявлення можливого взаємозв'язку з нейродегенеративними змінами. Експериментальне дослідження проведено на нелінійних щурах. Задля поставленої мети було проведено вивчення рівня білка S100b, мозкового нейротрофічного фактора та фактору росту нервів, а також кластерину та фракталіну. У дослідженні встановлено дисбаланс рівнів S100b, нейротрофічного фактора та фактору росту нервів у сироватці крові щурів з діабетичною ретинопатією, що свідчить про ранні ознаки нейродегенерації сітківки. Зокрема, рівень сироваткового білка S100b підвищувався на 60-у добу в 1,5 разів, на 120-у добу – в 1,9 разів порівняно із інтактними тваринами. Концентрація нейротрофічного фактору, як на 60-у, так і на 120-у добу перевищувала дані інтактних тварин в 1,2 рази відповідно. Рівень фактору росту нервів достовірно підвищувався на 60-у добу в 1,2 рази, на 120-у добу – в 1,5 разів відносно інтактних щурів. Встановлено підвищення рівнів кластерину та фракталіну, що можна вважати прогностичними маркерами в розвитку мікроангіопатичних діабетичних задля ранньої діагностики запального процесу.

Ключові слова: діабетична ретинопатія, нейродегенеративні зміни, сітківка, патогенез.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Робота є фрагментом комплексних клініко-лабораторних досліджень, здійснених ДП «Український науково-дослідний інститут медицини транспорту Міністерства охорони здоров'я України» (м. Одеса) в рамках виконання науково-дослідної роботи «Удосконалення профілактики та лікування основних екозалежних та професійно обумовлених захворювань на основі вивчення особливостей етіології та патогенезу», номер державної реєстрації 0116U008822.

Вступ.

За умов тривалої гіперглікемії (цукрового діабету – ЦД) порушується більшість метаболічних процесів, що призводить до зростання ризику уражень тканин організму, а в перспективі може викликати серйозні діабетичні вторинні ускладнення [1]. У зв'язку з відсутністю своєчасного звернення пацієнтів та пізньою діагностикою ЦД 2-го типу, на час встановлення діагнозу 50% хворих вже мають ускладнення, пов'язані з розвитком мікро-та макроангіопатій, серед яких досить часто зустрічається діабетична ретинопатія (ДР) [1, 2, 3].

Основними клітинами, які забезпечують нормальне функціонування та життєдіяльність нейронів сітківки, є клітини Мюллера і мікроглія, які за фізіологічних умов виділяють різні цитокіни, фактори росту та нейробілки. Хронічна гіперглікемія викликає дисбаланс цих молекул, що в подальшому індукує процеси нейродегенерації сітківки. Нейроспецифічні білки – це група речовин, які виділяються переважно у нервовій тканині та регулюють процеси життєдіяльності нейронів. Численні дослідження показують, що нейротрофічні фактори (НТФ) відіграють важливу роль у захисті нервової тканини при різних ушкодженнях. Механізм загибелі нейронів залежить не тільки від вироблення нейротоксичних речовин, а й від дефіциту нейротрофічної підтримки. Дефіцит синтезу НТФ сприяє загибелі нервових клітин в результаті некрозу і запускає процеси апоптозу. Цей факт визначає актуальність вивчення ролі даних білків у нейродегенеративних процесах у сітківці [2, 3].

Мета дослідження.

Визначення рівня нейротрофічних факторів за умов ДР задля виявлення можливого взаємозв'язку з нейродегенеративними змінами сітківки.

Об'єкт і методи дослідження.

Експериментальне дослідження проведено на нелінійних щурах масою тіла 180,0–200,0 г. Контролем слугували інтактні щури, які внутрішньошлунково отримували дистильовану воду. Для відтворення ЦД 2-го типу використовували стрептозотоцинову модель. Дана модель дозволяє відтворити головні патогенетичні ланки ЦД 2-го типу у людини – порушення секреції та дії інсуліну і характеризується розвитком інтолерантності до вуглеводів, відносною недостатністю секреції інсуліну у відповідь на підвищений рівень глюкози та збереженням секреторної реакції на неглюкозні секретогени. З цією метою щурам одноразово внутрішньовенно вводили стрептозотин («SigmaAldrich Chemie GmbH», Німеччина) дозою 65 мг/кг. Розчин стрептозотини готували в 0,1 М цитратному буфері (рН 4,5). З метою зниження діабетогенної дії стрептозотини за 15 хвилин до його введення, внутрішньоочеревинно вводили нікотинамід («Afton Pharma», Індія) дозою 230 мг/кг, який дозволяє зберегти до 40% запасів панкреатичного інсуліну у дослідних щурів, за рахунок чого у тварин розвивається стабільна базальна гіперглікемія [4].

Рівень білка S100b, мозкового нейротрофічного фактора (BDNF) та фактора росту нервів (ФРН) у сироватці крові визначали за допомогою специфічних реактивів фірми R&D Diagnostics Inc. (США) методом сендвіч-варіант твердофазного імуноферментного аналізу згідно з інструкціями, що додавалися. Облік результатів проводили за допомогою імуноферментного аналізатора Multiscan (Фінляндія) Отримані параметри виражали в одиницях пг/мл [5].

Визначення рівня кластерину проводили імуноферментним методом з використанням комерційної тест-системи Clusterin ELISA виробництва фірми BioVendor (Чеська Республіка). Визначення концентрації фракталіну в сироватці крові здійснювали імуноферментним методом за допомогою набору реагентів Fractalkin ELISA Kit виробництва фірми RayBio® (Грузія) [5].

Робота з тваринами проводилася відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), що узгоджується з положенням «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальними та іншими науковими цілями» (Страсбург, 1986 р.), Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження», Наказу Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України № 249 від 01.03.2012 р. «Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах», Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 440-IX від 14.01.2020 р. [6].

Статистичну обробку одержаних результатів проводили за допомогою програми «Statistica 10.0». Вірогідність відмінностей між показниками контрольної та дослідних груп визначали за критеріями Стьюдента та Фішера. Рівень достовірності приймали при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення.

Нами встановлено підвищення рівня сироваткового білка S100b на 60-у добу в 1,5 разів ($p < 0,05$), на 120-у добу – в 1,9 разів ($p < 0,05$) порівняно із інтактними тваринами (табл. 1). В низьких концентраціях

білок діє як нейропротектор та підвищує «стійкість» нейронів та глії, однак за умов хронічної гіперглікемії відмічається підвищена експресія рецепторів до кінцевих продуктів глікозилювання на клітинній поверхні, що призводить до надлишкової активації мікроглії, провокує гіперпродукцію прозапальних цитокінів та активацію апоптозу нейронів [3, 7].

Таблиця 1 – Дослідження вмісту нейропептидів у сітківці щурів за умов експериментальної діабетичної ретинопатії (X±Sx)

Показник	Інтактна група (n=10)	Контрольна група (n=20)	
		на 60-у добу	на 120-у добу
S100b, пг/мл	30,7±2,4	45,7±4,2*	57,9±4,7***
BDNF, пг/мл	32,6±2,1	28,4±1,9*	26,5±1,7***
ФРН, пг/мл	5,4±1,2	6,7±1,4*	8,1±1,5***

Примітки: 1. * – $p < 0,05$ порівняно із інтактною групою тварин;
2. ** – $p < 0,05$ відносно показників, одержаних на 60-у добу;
3. n – кількість тварин у групі.

Концентрація BDNF становила 32,6±2,1 пг/мл, що в 1,2 рази ($p < 0,05$) перевищувало одержані дані на 60-у добу дослідження. На 120-у добу спостереження даний показник також знижувався в 1,2 рази ($p < 0,05$) та складав 26,5±1,7 пг/мл. Підвищення рівня BDNF можна розглядати як адаптаційно-компенсаторний механізм «стійкості» гангліозних клітин за умов тривалої гіперглікемії [7].

Рівень ФНР достовірно підвищувався на 60-у добу в 1,2 рази ($p < 0,05$), на 120-у добу – в 1,5 разів ($p < 0,05$) порівняно із інтактними тваринами. Підвищений рівень ФНР попереджує ранню загибель гангліозних нейронів, активацію мюллеровських клітин та розвиток капілярної гіперперфузії. В нашому дослідженні підвищений рівень ФНР можна розглядати як компенсаторну реакцію на гіперпродукцію білка S100b [3, 8].

У науковій літературі існують лише поодинокі дослідження ролі й місця кластерину та фракталіну в патогенезі ДР і відсутні дані щодо визначення його діагностичної значущості [8]. Оскільки кластерин та фракталін відіграють істотну роль у відновленні щільних контактів і обмеженні реактивної відповіді на метаболічне пошкодження, видається актуальним дослідження самих даних маркерів та їх участь в патогенезі ДР.

Тому нами було проведено вивчення вмісту кластерину та фракталіну в сироватці крові щурів за умов змодельованої патології. Одержані результати наведені в таблиці 2.

Таблиця 2 – Дослідження вмісту кластерину та фракталіну в сироватці крові щурів за умов експериментальної діабетичної ретинопатії (X±Sx)

Показник	Інтактна група (n=10)	Контрольна група (n=20)	
		на 60-у добу	на 120-у добу
Кластерин, мкг/мл	74,5±2,8	78,8±3,1	84,8±3,2*
Фракталін, нг/мл	1,75±0,6	1,97±0,7	2,38±0,8*

Примітки: 1. * – $p < 0,05$ порівняно із інтактною групою тварин;
2. n – кількість тварин у групі.

Встановлено, що вже на 60-у добу експерименту рівень кластерину підвищувався в 1,1 рази відносно інтактної групи (78,8±3,1 мкг/мл проти 74,5±2,8 мкг/мл), фракталіну також в 1,1 рази (1,97±0,7 нг/мл проти 1,75±0,6 нг/мл). На 120-у добу спостере-

ження рівень кластерину достовірно підвищувався в 1,2 рази ($p < 0,05$) порівняно із інтактними тваринами ($84,8 \pm 3,2$ мкг/мл проти $74,5 \pm 2,8$ мкг/мл), а концентрація фракталіну – в 1,4 рази ($p < 0,05$) відповідно ($2,38 \pm 0,8$ нг/мл проти $1,75 \pm 0,6$ нг/мл). При цьому достовірних відмінностей між показниками даних маркерів на 60-у та 120-у добу не встановлено. Підвищення вмісту кластерину в плазмі крові понад референтні значення (понад 77 мкг/мл) може бути індикатором активного запального процесу, набряку сітківки й ушкодження ГРБ. Припускаємо, що цитопротекторна роль кластерину не поширюється при тривалому перебігу ДР, коли пошкодження ГРБ є значним і місцеве джерело кластерину не компенсує ступінь ураження сітківки.

В свою чергу, важливим сучасним хемокіном, який бере участь у функціонуванні нейросудинної одиниці ока, є фракталкін. Він експресується секретується гангліонарними клітинами ретини. На сьогодні існують дані щодо ролі фракталкіну в патогенезі різних захворювань, які дозволяють розглядати фракталкін і його рецептор як певний регулятор проліферації, у тому числі нейронів і гліальних клітин, і чинник антиапоптозу.

Висновки.

1. У дослідженні встановлено дисбаланс рівнів S100b, BDNF та ФНР у сироватці крові щурів з ДР, що

свідчить про ранні ознаки нейродегенерації сітківки. Зокрема, рівень сироваткового білка S100b підвищувався на 60-у добу в 1,5 разів ($p < 0,05$), на 120-у добу – в 1,9 разів ($p < 0,05$) порівняно із інтактними тваринами. Концентрація BDNF як на 60-у, так і на 120-у добу перевищувала дані інтактних тварин в 1,2 рази ($p < 0,05$) відповідно. Рівень ФНР достовірно підвищувався на 60-у добу в 1,2 рази ($p < 0,05$), на 120-у добу – в 1,5 разів ($p < 0,05$) відносно інтактних щурів.

2. Вивчення функціонування хемокінів фракталіну та кластерину є досить доцільними задля ранньої діагностики прогресування запального процесу. Встановлено, що вже на 60-у добу експерименту рівень кластерину підвищувався в 1,1 рази відносно інтактної групи, фракталіну також в 1,1 рази. На 120-у добу спостереження рівень кластерину достовірно підвищувався в 1,2 рази ($p < 0,05$) порівняно із інтактними тваринами, а концентрація фракталіну – в 1,4 рази ($p < 0,05$) відповідно. Дослідження змін рівнів кластерину та фракталіну можна вважати прогностичними маркерами в розвитку мікроангіопатичних діабетичних задля ранньої діагностики запального процесу.

Перспективи подальших досліджень.

Повинні включати вивчення всіх можливих ланок патогенезу ДР на тлі ЦД 2-го типу задля розробки та провадження нових патогенетично обґрунтованих схем лікування даних мікроангіопатичних ускладнень.

References

1. Mykheitseva IM. Suchasnyi pohliad na patohenetychni mekhanizmy diabetychnoi retynopatii. Fiziolohichni zhurnal. 2023;3(69):106-14. [in Ukrainian].
2. Mohilevskiy SYu, Bushuieva OV, Natrus LV. Osoblyvosti diabetychnoi retynopatii u khvorykh na tsukrovoyi diabet 2 typu. Arkhiv oftalmolohii Ukrainy. 2017;1(5):37-44. [in Ukrainian].
3. Yanitska LV, Haiova LV, Osinska LF, Pradii TP. Patohenez i shliakhy korektsii diabetychnoi retynopatii. Ohliad. Medychna nauka Ukrainy. 2016;1-2(12):94-9. [in Ukrainian].
4. Sakata N, Yoshimatsu G, Tsuchiya H, Egawa S, Unno M. Animal models of diabetes mellitus for islet transplantation. Experimental diabetes research. 2012;2012:256707.
5. Sun Y, Cai YT, Chen J, Gao Y, Xi J, Ge L, et al. An evidence map of clinical practice guideline recommendations and quality on diabetic retinopathy. Eye (London, England). 2020;34(11):1989-2000.
6. Reznikov OH, Soloviov AI, Stefanov OV. Biotychna ekspertyza doklinichnykh ta inshykh naukovykh doslidzhen, shcho vykonuiusia na tvarynakh: metod. rekomendatsii. Visnyk farmakolohii i farmatsii. 2006;7:47-61. [in Ukrainian].
7. Tan Y, Fukutomi A, Sun MT, Durkin S, Gilhotra J, Chan WO. Anti-VEGF crunch syndrome in proliferative diabetic retinopathy: A review. Survey of ophthalmology. 2021;66(6):926-932.
8. Torm MEW, Pircher M, Bonnin S, Johannesen J, Klefter ON, Schmidt MF, et al. Frontiers in diabetic retinal disease. Journal of diabetes and its complications. 2023;37(2):108386.

РОЛЬ НЕЙРОПЕПТИДІВ В РОЗВИТКУ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦІЇ СІТКІВКИ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ДІАБЕТИЧНОЇ РЕТИНОПАТІЇ

Прейс Н. І., Савицький І. В.

Резюме. Тривала гіперглікемія призводить до розладів більшості метаболічних процесів, що в подальшому веде до зростання ризику уражень тканин організму, а в перспективі може викликати серйозні діабетичні вторинні ускладнення, пов'язані з розвитком мікро-та макроангіопатій, серед яких досить часто зустрічається діабетична ретинопатія. Однак, на сьогодні дані щодо дегенеративних змін сітківки за умов даного ускладнення, досить обмежені, що спонукає до більш глибокого та детального вивчення його патогенетичних механізмів. Мета роботи полягає у вивченні рівня нейротрофічних факторів за умов контрольної патології та виявлення можливого взаємозв'язку з нейродегенеративними змінами. Експериментальне дослідження проведено на нелінійних щурах, робота з якими проводилася відповідно до «Загальних етичних принципів експерименту на тваринах» (Україна, 2001), що узгоджується з положенням «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються за експериментальними та іншими науковими цілями». Задля поставленої мети було проведено вивчення рівня білка S100b, мозкового нейротрофічного фактора та фактору росту нервів, а також кластерину та фракталіну. У дослідженні встановлено дисбаланс рівнів S100b, нейротрофічного фактора та фактору росту нервів у сироватці крові щурів з діабетичною ретинопатією, що свідчить про ранні ознаки нейродегенерації сітківки. Зокрема, рівень сироваткового білка S100b підвищувався на 60-у добу в 1,5 разів, на 120-у добу – в 1,9 разів ($p < 0,05$) порівняно із інтактними тваринами. Концентрація нейротрофічного фактору, як на 60-у, так і на 120-у добу перевищувала дані інтактних тварин в 1,2 рази відповідно. Рівень фактору росту нервів достовірно підвищувався на 60-у добу в 1,2 рази, на 120-у добу – в 1,5 разів відносно інтактних щурів. Вивчення функціонування хемокінів фракталіну та кластерину є досить до-

цільними задля ранньої діагностики прогресування запального процесу. Встановлено, що вже на 60-у добу експерименту підвищувався рівень кластерину та фракталіну відносно інтактної групи. Дослідження змін рівнів кластерину та фракталіну можна вважати прогностичними маркерами в розвитку мікроангіопатичних діабетичних задля ранньої діагностики запального процесу.

Ключові слова: діабетична ретинопатія, нейродегенеративні зміни, сітківка, патогенез.

THE ROLE OF NEUROPEPTIDES IN THE DEVELOPMENT OF RETINA NEURODEGENERATION IN RATS UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL DIABETIC RETINOPATHY

Preys N. I., Savytskyi I. V.

Abstract. Prolonged hyperglycemia leads to disorders of most metabolic processes, which subsequently leads to an increase in the risk of damage to body tissues, and in the future can cause serious diabetic secondary complications associated with the development of micro- and macroangiopathies, among which diabetic retinopathy is quite common. However, today the data on degenerative changes of the retina under the conditions of this complication are quite limited, which prompts a deeper and more detailed study of its pathogenetic mechanisms. The purpose of the work is to study the level of neurotrophic factors under the conditions of control pathology and to identify a possible relationship with neurodegenerative changes. The experimental study was conducted on non-linear rats, which were worked with in accordance with the «General Ethical Principles of Animal Experiments» (Ukraine, 2001), which is consistent with the provisions of the «European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes». For this purpose, the level of protein S100b, brain neurotrophic factor and nerve growth factor, as well as clusterin and fractalin were studied. The study found imbalanced levels of S100b, neurotrophic factor, and nerve growth factor in the serum of rats with diabetic retinopathy, suggesting early signs of retinal neurodegeneration. In particular, the level of serum protein S100b increased by 1.5 times on the 60th day, and by 1.9 times on the 120th day ($p < 0.05$) compared to intact animals. The concentration of the neurotrophic factor, both on the 60th and 120th day, exceeded the data of intact animals by 1.2 times, respectively. The level of nerve growth factor significantly increased on the 60th day by 1.2 times, on the 120th day by 1.5 times compared to intact rats. Studying the functioning of the chemokines fractalin and clusterin is quite appropriate for the early diagnosis of the progression of the inflammatory process. It was established that already on the 60th day of the experiment, the level of clusterin and fractalin increased relative to the intact group. The study of changes in the levels of clusterin and fractalin can be considered prognostic markers in the development of microangiopathic diabetes for early diagnosis of the inflammatory process.

Key words: diabetic retinopathy, neurodegenerative changes, retina, pathogenesis.

ORCID and contributionship / ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Preys N. I.: <https://orcid.org/0000-0002-0026-6218>^{ABCD}

Savytskyi I. V.: <https://orcid.org/0000-0002-5841-9993>^{ABCD}

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The authors of the article confirm the absence of a conflict of interest. / Автори статті підтверджують відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Savytskyi Ivan Volodymyrovych / Савицький Іван Володимирович

International Academy of Ecology and Medicine / ПЗВО «Міжнародна академія екології та медицини»

Ukraine, 02000, Kyiv, 121 Kharkivske Avenue / Адреса: Україна, 0200, м. Київ, Харківське шосе 121

Tel.: +380986426907 / Тел.: +380986426907

E-mail: prof_S.I.V@ukr.net

A – Work concept and design, **B** – Data collection and analysis, **C** – Responsibility for statistical analysis, **D** – Writing the article, **E** – Critical review, **F** – Final approval of the article / **A** – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

Received 20.03.2024 / Стаття надійшла 20.03.2024 року
Accepted 23.08.2024 / Стаття прийнята до друку 23.08.2024 року