

*Conclusions.* In the pathogenesis of joint damage in patients with types 1 and 2 diabetes, hormonal dysregulation takes place. The most significant changes were identified for leptin and insulin in both types of diabetes. Thus, an increase in insulin and leptin levels can serve as a marker for the presence and progression of arthropathy in patients with diabetes mellitus. An increase in osteocalcin indicates a violation of remodeling of subchondral bone tissue in patients with type 1 diabetes.

**Key words:** diabetes mellitus, diabetic arthropathy, joints, chondrocytes, insulin, leptin, osteocalcin.

Рецензент – проф. Бобирьова Л. Є.  
Стаття надійшла 04.05.2020 року

DOI 10.29254/2077-4214-2020-2-156-143-148

УДК 617.75-036:617.7-007.681-089.844:611.08

Петренко О. В., Яковець А. І.

### ОЦІНКА ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ЗОРОВОГО АНАЛІЗАТОРА ПІСЛЯ КЛІТИННОЇ ТЕРАПІЇ ГЛАУКОМИ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика (м. Київ)

dr.antonina.yakovets@gmail.com

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Робота виконана в рамках НДР кафедри офтальмології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика «Клінічне та експериментальне обґрунтування діагностики, лікування та профілактики рефракційних, дистрофічних, травматичних і запальних захворювань органу зору» (№ державної реєстрації 0116U002821).

**Вступ.** Глаукома – одна з головних причин незворотної сліпоти, слабкозорості та інвалідності по зору в усіх країнах світу [1]. Незважаючи на успіхи сучасних методів діагностики та лікування поширеність захворювання глаукомою не зменшується. За результатами епідеміологічних досліджень кількість людей у віці 40-80 років з діагнозом глаукома в усьому світі становить 64,3 млн. По прогнозам в 2020 році очікується збільшення пацієнтів з глаукомою до 76,0 млн., та до 111,8 млн. в 2040 р. [2].

В Україні статистика захворюваності також невтішна, оскільки щорічно виявляється понад 25 тисяч нових випадків захворювання на глаукому. За останнє десятиліття (2000-2010 рр.) поширеність глаукоми серед дорослого населення України зросла більше ніж на 40% [3] та в 2017 році склала 612,7 на 100 000 населення серед осіб віком 18 років і старше [4].

Сьогодні глаукому трактують як хронічне, мультифакторне нейродегенеративне захворювання, в процесі якого виникає загибель гангліонарних клітин сітківки та розвивається прогресуюча оптична нейропатія [5,6]. Дотепер питання патогенезу глаукомної оптичної нейропатії (ГОН) залишаються не до кінця з'ясованими. А збільшення відсотку населення з високим ступенем інвалідності по зору від глаукоми свідчить про актуальність діагностики та лікування цієї категорії хворих [7].

Одним з важливих напрямків в розробці нових ефективних методів лікування глаукоми є клітинна терапія з використанням стовбурових клітин. Відомо, що сучасною наукою активно проводяться дослідження застосування клітинної терапії в лікуванні експериментальної глаукоми, які показують позитивний ефект, проте результати суперечливі і не систематизовані [8-11]. У нашому дослідженні ми зупинилися на застосуванні мультипотентних стовбурових клітинах-похідних нервового гребня (мСК-ПНГ) в лі-

куванні ГОН, які здатні до самовідновлення і мультилінійної диференціації [12].

Важливим аспектом в діагностиці ГОН є використання нейрофізіологічних методів дослідження, що допомагають виявляти зміни функціонального стану зорового аналізатора та проводити моніторинг динаміки даного захворювання [13-15].

Одним із таких методів, за допомогою якого можна відстежувати порушення передачі імпульсів в сітківці, демієлінізації нервових волокон на різних рівнях зорового шляху, що характерно для ГОН, є визначення зорових викликаних потенціалів [16-18].

**Мета дослідження** – оцінити зміни функціонального стану зорового аналізатора після клітинної терапії адреналінової моделі глаукоми за допомогою зорових викликаних потенціалів.

**Об'єкт і методи дослідження.** Дослідження проведено на 50 дорослих щурах лінії Wistar, самці. У експерименті було використано п'ять груп тварин (n=10 у кожній групі), а саме: група 0 – інтактні тварини, група 1 – тварини з моделлю глаукоми без введення мСК-ПНГ; група 2 – тварини з моделлю глаукоми та внутрішньовенним введенням мСК-ПНГ; група 3 – тварини з моделлю глаукоми та парабальбарним введенням мСК-ПНГ; група 4 – тварини з моделлю глаукоми та ретробальбарним введенням мСК-ПНГ.

Моделювання глаукоми проводили шляхом внутрішньочеревного введення 0,18% розчину адреналіну гідротартрату в дозі, починаючи з 10 мкг, доводячи до 15 мкг на 100 г маси. Було проведено 20 ін'єкцій за 6 тижнів, через кожні 5 ін'єкцій доза введенного адреналіну збільшувалась [19].

При проведенні експерименту дотримувались загальних етичних вимог до використання лабораторних тварин у медичних і біологічних експериментах в Україні, а саме Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006), загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Перший Національний конгрес з біоетики, 2001), а також Етичного кодексу вченого України (Національна академія наук України, 2009).

мСК-ПНГ отримували з волосяного фолікула вібріс і культивували за оригінальною методикою [20]. Щурячі мСК-ПНГ були охарактеризовані за допомогою імунофлуоресцентного аналізу. Трансплантацію мСК-ПНГ здійснювали наступними способами: вну-

трішньовенно – 5 млн клітин в 0,5 мл фізіологічного розчину; ретро- і парабулбарно – по 0,5 млн клітин в 0,05 мл фізіологічного розчину.

Функціональний стан зорового аналізатора оцінювали за допомогою зорових викликаних потенціалів. Як відомо, в клінічній та науковій практиці використовують дві основні методики фізіологічної стимуляції сітківки – це стимуляція світловим спалахом та шаховим паттерном. Хоча стимуляція шаховим паттерном має більш стабільні і чутливі показники, вона має і деякі недоліки, які унеможливають її використання у лабораторних тварин. Головний з них це необхідність фіксації зору та обов'язкова зосередженість на стимулюючому моніторі тривалий час, на якому демонструється зміна білих квадратів на чорні. В нашому експерименті проводилась фізіологічна стимуляція сітківки світловим спалахом, перевагами якої є незалежність результатів від фіксації зору та рівня свідомості лабораторної тварини.

Реєстрація зорових викликаних потенціалів здійснювалася на комп'ютерному багатофункціональному комплексі «Нейро-ЕМГ-Мікро», виробник ТОВ «Укрмедспектр», Україна, м. Харків.

Перед обстеженням проводилась медикаментозна седация щура 0,1% розчином «Медитин», який вводився внутрішньом'язово. Після обстеження вводився антидот 0,5% розчин «Антимедин». Доза розраховувалась згідно ваги тварини. Для реєстрації коркової активності головного мозку використовувались одноразові монополярні голкові електроди, які вводились підшкірно над поверхнею черепа. Для проведення фізіологічної стимуляції сітківки був індивідуально виготовлений фотостимулятор з двох світлодіодів червоного кольору внутрішнім діаметром 12 мм. Проводилась монокулярна стимуляція відкритого ока тварини у стані седативації.

Скелетотопічно референтний реєструючий електрод знаходився на середині лінії, яка з'єднує верхні краї зіниць щура; активний електрод – на відстані 15 мм від референтного; заземлюючий електрод – між активним і референтним. Відстань у 15 мм використовувалась через те, що такий сагітальних розмір в середньому мають тім'яні кістки дорослих щурів. Таким чином активний електрод мав знаходитись на межі між потиличною і тім'яною кісткою, що максимально співпадає з локалізацією зорової кори у щурів. Після перевірки імпедансу, який мав бути

менше 5 кОм, проводилась почергова монокулярна стимуляція обох очей з частотою 1 Гц, тривалість стимула 5 мс. Кількість серій стимуляцій 3-4, по 60 стимулів в серії на кожне око. Потім проводилась суเปอร์позиція кривих, визначення амплітуди і латенції для кожного ока. Для статистичної обробки використовувалась латенція N1, P2, амплітуда P1-N1, N1-P2.

Латентність N1 – це початковий компонент ЗВП на реверсивний паттерн або подразник, результат збудження нейронів первинної зорової кори (17-е поле Бродмана). Латентність P2 – найбільший за амплітудою і найбільш відтворений компонент ЗВП, який є результатом генерації в корі стріатума (17-18-е поле Бродмана). Латентність (латентний період) потенціалу дії зорового аналізатора оцінюється в мілісекундах (мс). Амплітуда піків P1-N1, N1-P2 – відображає обсяг зорової аферентації до кори головного мозку і оцінюється в мкВ [21].

Аналіз результатів дослідження був проведений у пакеті EZR v.1.35 (R statistical software version 3.4.3, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) [22].

Закон розподілу показників відрізнявся від нормального (за критерієм Шапіро-Уїлка), тому для представлення даних розраховувалась медіана (Me) та міжквартильний інтервал ( $Q_1-Q_{III}$ ). Для порівняння показників в 5-и групах використано критерій Крускала-Уолліса, постеріорне порівняння проводилося за критерієм Данна [23]. Аналіз зміни показників з часом проводився за критерієм Фрідмана [23]. Величини зміни показників з часом представлені середнім значенням зміни, розраховано 95% вірогідний інтервал (95% VI) [23]. При проведенні аналізу у всіх випадках критичний рівень значимості прийнятий рівнем 0,05.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Протягом дослідження проводили вивчення впливу мСК-ПНГ на показники зорових викликаних потенціалів при адреналіновій моделі глаукоми для п'яти груп лабораторних тварин в I, II, III та IV періоди вимірювання, а саме: I період – інтактні тварини, II період – після моделі глаукоми, III період – через 1 місяць після введення мСК-ПНГ та IV період – через 3 місяці після введення мСК-ПНГ. Отримані результати значення показників ЗВП на спалах для п'яти груп вимірювання в різні періоди представлені в **таблицях 1-4**.

Визначено статистично значиме зниження показника ЛПН1 ( $p=0,02$ ) від I до III періоду вимірювання у групі інтактних тварин (Гр0), в середньому, на 0,4 мс (95% VI 0,2 мс – 0,6 мс), та незначне підвищення показника ЛПН1 в IV період вимірювання у порівнянні з II та III вимірюваннями (**табл. 1**).

Для груп тварин з моделлю глаукоми до введення мСК-ПНГ виявлено статистично значиму зміну показника ЛПН1 ( $p<0,001$ ). При цьому від I до II періоду вимірювання для 2-ї групи тварин відбувалось

**Таблиця 1 – Електрофізіологічні показники латентного періоду ЗВП на спалах за параметром N1 в групах експериментальних тварин, ЛПН1, мс, Me ( $Q_1 - Q_{III}$ )**

Період	Гр0 (n=20)	Гр1 (n=20)	Гр2 (n=20)	Гр3 (n=20)	Гр4 (n=20)	Рівень значимості відмінності між групами, p
I	59,7 <sup>3,4</sup> (56,2–60,2)	59,55 <sup>3,4</sup> (58,4–60,35)	57,4 <sup>4</sup> (56,5–58,1)	56,1 <sup>0,1</sup> (55,3–56,85)	55,35 <sup>0,1,2</sup> (54,3–56,4)	<0,001
II	59,15 <sup>1</sup> (56,0–60,15)	60,75 <sup>0,3,4</sup> (59,3–62,25)	59,35 <sup>4</sup> (58,4–60,2)	58,3 <sup>1</sup> (57,85–58,9)	57,8 <sup>1,2</sup> (56,2–58,35)	<0,001
III	59,2 <sup>1,2</sup> (56,0–59,7)	61,25 <sup>0,3,4</sup> (59,75–62,4)	59 <sup>0,4</sup> (57,85–59,7)	57,3 <sup>1</sup> (56,5–57,9)	56,45 <sup>1,2</sup> (54,95–57,2)	<0,001
IV	59,4 (56,9–59,8)	61,7 <sup>2,3,4</sup> (59,5–62,8)	58,55 <sup>1</sup> (56,0–59,4)	57,15 <sup>1</sup> (56,7–58,0)	56,55 <sup>1</sup> (56,2–56,9)	0,001

**Примітки.** При проведенні порівняння використано критерій Крускала-Уолліса, для проведення постеріорних порівнянь використано критерій Данна. <sup>0</sup> – відмінність від Гр0 статистично значима,  $p<0,05$ ; <sup>1</sup> – відмінність від Гр1 статистично значима,  $p<0,05$ ; <sup>2</sup> – відмінність від Гр2 статистично значима,  $p<0,05$ ; <sup>3</sup> – відмінність від Гр3 статистично значима,  $p<0,05$ ; <sup>4</sup> – відмінність від Гр4 статистично значима,  $p<0,05$ .

зростання показника ЛПН1 ( $p < 0,05$ ), в середньому, на 1,8 мс (95% ВІ 1,3 мс – 2,2 мс), для 3-ї групи – зростання показника ЛПН1 ( $p < 0,05$ ), в середньому, на 2,2 мс (95% ВІ 1,85 мс – 2,6 мс) та для 4-ї групи – зростання показника ЛПН1 ( $p < 0,05$ ), в середньому, на 1,95 мс (95% ВІ 1,65 мс – 2,4 мс). Крім того, для 1-ї групи тварин з моделлю глаукоми без введення мСК-ПНГ виявлено статистично значиме зростання показника ЛПН1 ( $p < 0,001$ ) від I до IV періоду вимірювання, в середньому, на 2,0 мс.

Через 1 та 3 місяці після введення мСК-ПНГ виявлено позитивну динаміку до зниження ЛПН1 (табл. 1), а саме: при внутрішньовенному введенні мСК-ПНГ (Гр2) відбувалось зниження показника ( $p < 0,05$ ), в середньому, на 0,85 мс (95% ВІ 0,6 мс – 1,1 мс), при парабульбарному введенні мСК-ПНГ (Гр3) – зниження показника ( $p < 0,05$ ), в середньому, на 1,5 мс (95% ВІ 1,3 мс – 1,7 мс) та при ретробульбарному введенні мСК-ПНГ (Гр4) – зниження показника ( $p < 0,05$ ), в середньому, на 1,75 мс (95% ВІ 1,5 мс – 1,95 мс).

При проведенні аналізу ЛПР2 (табл. 2) для групи інтактних тварин (Гр0) не виявлено зміни показника на протязі чотирьох періодів вимірювання ( $p = 0,31$ ). Тоді як, для групи тварин з моделлю глаукоми без введення клітин (Гр1) виявлено статистично значиме збільшення показника ЛПР2 ( $p < 0,001$ ) в II періоді вимірювання та спостерігали поступове зростання в III, IV періодах вимірювання, в середньому, на 1,7 мс (95% ВІ 1,1 мс – 2,7 мс).

Для 2-ї, 3-ї та 4-ї груп тварин після модулювання глаукоми виявлено статистично значиму зміну ЛПР2 ( $p < 0,001$ ). При цьому у Гр2 відбувається зростання показника ( $p < 0,05$ ), в середньому, на 2,0 мс (95% ВІ 1,3 мс – 2,5 мс), у Гр3 – зростання показника ( $p < 0,05$ ), в середньому, на 2,3 мс (95% ВІ 1,95 мс – 2,75 мс) та у Гр4 – зростання показника ( $p < 0,05$ ), в середньому, на 2,4 мс (95% ВІ 1,9 мс – 2,95 мс).

Через 1 та 3 місяці після введення мСК-ПНГ різними способами виявлено позитивну динаміку до зниження ЛПР2, а саме при внутрішньовенному введенні мСК-ПНГ (Гр2) відбувається зниження показника ЛПР2 ( $p < 0,05$ ), в середньому, на 1,3 мс (95% ВІ 0,8 мс – 2,0 мс), при парабульбарному введенні мСК-ПНГ (Гр3) відбувається зниження показника ЛПР2 ( $p < 0,05$ ), в середньому, на 1,4 мс (95% ВІ 0,95 мс – 2,0 мс) та при ретробульбарному введенні мСК-ПНГ (Гр4) від-

Таблиця 2 – Електрофізіологічні показники латентного періоду ЗВП на спалах за параметром P2 в групах експериментальних тварин, ЛПР2, мс, Ме ( $Q_1 - Q_{III}$ )

Період	Гр0 (n=20)	Гр1 (n=20)	Гр2 (n=20)	Гр3 (n=20)	Гр4 (n=20)	Рівень значимості відмінності між групами, p
I	79,8 <sup>1</sup> (78,75–80,25)	80,8 <sup>0,3,4</sup> (80,35–81,95)	80,5 <sup>3,4</sup> (80,15–81,2)	78,75 <sup>1,2</sup> (77,0–80,0)	78,5 <sup>1,2</sup> (76,15–79,8)	<0,001
II	79,6 <sup>1,2</sup> (78,4–80,1)	82,1 <sup>0</sup> (81,85–84,05)	82,6 <sup>0</sup> (82,0–83,0)	81,05 (79,25–82,5)	81,1 (78,75–81,85)	<0,001
III	79,55 <sup>1,2</sup> (78,65–79,8)	82,4 <sup>0,3,4</sup> (81,9–84,25)	82,05 <sup>0,4</sup> (81,45–82,35)	80,15 <sup>1</sup> (78,2–81,5)	79,55 <sup>1,2</sup> (77,3–80,45)	<0,001
IV	79,45 <sup>1</sup> (78,8–79,9)	82,9 <sup>0,4</sup> (82,4–83,1)	81,2 (81,0–81,8)	80,75 (80,3–82,2)	79,45 <sup>1</sup> (78,9–81,4)	<0,001

Примітки. При проведенні порівняння використано критерій Крускала-Уолліса, для проведення постеріорних порівнянь використано критерій Данна. <sup>0</sup> – відмінність від Гр0 статистично значима,  $p < 0,05$ ; <sup>1</sup> – відмінність від Гр1 статистично значима,  $p < 0,05$ ; <sup>2</sup> – відмінність від Гр2 статистично значима,  $p < 0,05$ ; <sup>3</sup> – відмінність від Гр3 статистично значима,  $p < 0,05$ ; <sup>4</sup> – відмінність від Гр4 статистично значима,  $p < 0,05$ .

бувається зниження показника ЛПР2 ( $p < 0,05$ ), в середньому, на 2,15 мс (95% ВІ 1,8 мс – 2,5 мс).

Таким чином, аналіз латентції за параметром N1 та P2 показав їх збільшення у групі тварин з моделлю глаукоми без введення мСК-ПНГ в II період вимірювання та подальше збільшення в III та IV періоди вимірювання у порівнянні з групою інтактних тварин в усі періоди вимірювання, що свідчить про зміни функціонального стану зорового аналізатора при адреналіновій моделі глаукоми. Тоді як, у групах тварин через 1 та 3 місяці після введення мСК-ПНГ була помітна позитивна динаміка зменшення латентного періоду за параметром N1 та P2 при всіх способах доставки, проте більш виражена динаміка спостерігалась при парабульбарному та ретробульбарному введенні мСК-ПНГ.

При проведенні аналізу у групі інтактних тварин (Гр0) не виявлено зміни показника амплітуди P1-N1 (табл. 3) на протязі чотирьох періодів вимірювання ( $p = 0,42$ ).

У групі тварин з моделлю глаукоми без введення мСК-ПНГ (Гр1) від I до II періоду вимірювання відбувається зниження показника амплітуди P1-N1 ( $p < 0,05$ ), в середньому, на 2,3 мкВ (95% ВІ 1,8 мкВ –

Таблиця 3 – Електрофізіологічні показники амплітуди ЗВП на спалах за параметром P1-N1 в групах експериментальних тварин, мкВ, Ме ( $Q_1 - Q_{III}$ )

Період	Гр0 (n=20)	Гр1 (n=20)	Гр2 (n=20)	Гр3 (n=20)	Гр4 (n=20)	Рівень значимості відмінності між групами, p
I	14,45 (12,8–15,05)	12,9 (10,01–14,5)	12,5 (12,15–14,4)	14,25 (13,2–15,2)	13,25 (12,05–14,65)	0,07
II	14,65 <sup>1,2,3,4</sup> (13,2–15,4)	10,35 <sup>0</sup> (8,555–11,4)	10,1 <sup>0</sup> (9,34–10,55)	11,35 <sup>0</sup> (10,65–12,05)	10,3 <sup>0</sup> (9,26–11,55)	<0,001
III	14,5 <sup>1,2,3,4</sup> (13,2–15,25)	10,1 <sup>0,3,4</sup> (8,15–10,85)	10,6 <sup>0,3</sup> (9,705–10,85)	12,25 <sup>0,1,2</sup> (11,6–13,05)	11,5 <sup>0,1</sup> (10,4–12,65)	<0,001
IV	14,25 <sup>1,2</sup> (12,8–14,8)	9,925 <sup>0,3,4</sup> (9,38–10,4)	11,3 <sup>0</sup> (10,5–12,1)	12,25 <sup>1</sup> (11,4–13,3)	12,45 <sup>1</sup> (10,4–13,3)	<0,001

Примітки. При проведенні порівняння між групами використано ANOVA та для проведення постеріорних порівнянь використано критерій Шеффе (у випадку нормального закону розподілу); критерій Крускала-Уолліса та для проведення постеріорних порівнянь використано критерій Данна (у випадку закону розподілу відмінного від нормального). <sup>0</sup> – відмінність від Гр0 статистично значима,  $p < 0,05$ ; <sup>1</sup> – відмінність від Гр1 статистично значима,  $p < 0,05$ ; <sup>2</sup> – відмінність від Гр2 статистично значима,  $p < 0,05$ ; <sup>3</sup> – відмінність від Гр3 статистично значима,  $p < 0,05$ ; <sup>4</sup> – відмінність від Гр4 статистично значима,  $p < 0,05$ .



**Таблиця 4 – Електрофізіологічні показники амплітуди ЗВП на спалах за параметром N1-P2 в групах експериментальних тварин, мкВ, Me (Q<sub>1</sub> – Q<sub>3</sub>)**

Період	Гр0 (n=20)	Гр1 (n=20)	Гр2 (n=20)	Гр3 (n=20)	Гр4 (n=20)	Рівень значимості відмінності між групами, p
I	15 (14,1–15,65)	14,65 (13,85–16,15)	14,8 (14,15–15,3)	15,8 (14,4–16,35)	15,1 (13,95–16,0)	0,32
II	14,95 <sup>1,2,3,4</sup> (14,25–15,9)	12,3 <sup>0</sup> (11,65–13,45)	11,7 <sup>0</sup> (10,65–12,4)	12,35 <sup>0</sup> (11,6–13,3)	12,2 <sup>0</sup> (11,2–12,7)	<0,001
III	15,15 <sup>1,2,3,4</sup> (14,1–15,95)	11,95 <sup>0</sup> (11,3–12,7)	12 <sup>0,3,4</sup> (11,2–12,9)	13,3 <sup>0,2</sup> (12,7–14,3)	13,55 <sup>0,2</sup> (12,6–14,15)	<0,001
IV	15,5 <sup>1</sup> (13,2–15,9)	10,85 <sup>0,3,4</sup> (10,1–11,2)	12,9 (12,4–13,5)	13,95 <sup>1</sup> (13,5–15,0)	14,35 <sup>1</sup> (13,8–14,9)	<0,001

**Примітки.** При проведенні порівняння використано критерій Крускала-Уолліса, для проведення постеріорних порівнянь використано критерій Данна. <sup>0</sup> – відмінність від Гр0 статистично значима, p<0,05; <sup>1</sup> – відмінність від Гр1 статистично значима, p<0,05; <sup>2</sup> – відмінність від Гр2 статистично значима, p<0,05; <sup>3</sup> – відмінність від Гр3 статистично значима, p<0,05; <sup>4</sup> – відмінність від Гр4 статистично значима, p<0,05.

2,9 мкВ) та подальше зниження показника (p<0,05), в середньому, на 0,6 мкВ (95% ВІ 0,2 мкВ – 0,8 мкВ) від II до IV періоду вимірювання.

При проведенні аналізу виявлено статистично значиму зміну показника амплітуди P1-N1 (p<0,001), при цьому спостерігали позитивну динаміку збільшення амплітуди P1-N1 (p<0,05), в середньому, на 0,9 мкВ (95% ВІ 0,6 мкВ – 1,3 мкВ) при внутрішньовенному (Гр2) введенні мСК-ПНГ, при парабульбарному (Гр3) введенні мСК-ПНГ – збільшення показника (p<0,05), в середньому, на 1,5 мкВ (95% ВІ 1,2 мкВ – 1,6 мкВ) та при ретробульбарному (Гр4) введенні мСК-ПНГ – зростання показника (p<0,05), в середньому, на 1,5 мкВ (95% ВІ 1,2 мкВ – 1,6 мкВ) через 1 та 3 місяці після введення мСК-ПНГ. Проте найбільш виражена позитивна динаміка була помітна через 1 місяць після введення мСК-ПНГ папабульбарно та через 3 місяці – ретробульбарно, ніж у групах тварин з внутрішньовенним введенням та без введення мСК-ПНГ.

Аналіз показника амплітуди N1-P2 (табл. 4) показав, що у групі інтактних тварин (Гр0) не виявлено зміни показника на протязі чотирьох періодів вимірювання (p=0,23).

При проведенні аналізу динаміки показника амплітуди N1-P2 виявлено статистично значиму зміну показника (p<0,001), так у групі тварин з моделлю глаукоми без введення мСК-ПНГ від I до II періоду вимірювання відбувається зниження показника амплітуди N1-P2 (p<0,05), в середньому, на 2,4 мкВ (95% ВІ 2,1 мкВ – 2,7 мкВ) та відмічено подальше зниження показника (p<0,05), в середньому, на 1,4 мкВ (95% ВІ 0,8 мкВ – 2,1 мкВ), від II до IV періоду вимірювання. Потрібно відзначити, що після моделювання глаукоми в Гр2 відбувається зниження показника (p<0,05), в середньому, на 2,9 мкВ (95% ВІ 2,4 мкВ – 3,45 мкВ), в Гр3 – зниження показника (p<0,05), в середньому, на 3,05 мкВ (95% ВІ 2,8 мкВ – 3,35 мкВ) та в Гр4 – зниження показника (p<0,05), в середньому, на 2,9 мкВ (95% ВІ 2,5 мкВ – 3,2 мкВ), що свідчить про зміни функціонального стану зорового аналізатора при адреналіновій моделі глаукоми.

Після введення мСК-ПНГ відмічалось збільшення амплітуди N1-P2 ЗВП на спалах через 1 та 3 місяці, а саме: при внутрішньовенному введенні мСК-ПНГ відбувається невелике зростання показника (p<0,05), в середньому, на 0,8 мкВ (95% ВІ 0,55 мкВ – 1,0

мкВ), при парабульбарному введенні мСК-ПНГ – зростання показника (p<0,05), в середньому, на 1,75 мкВ (95% ВІ 1,6 мкВ – 1,85 мкВ), та при ретробульбарному введенні мСК-ПНГ – відбувається зростання показника (p<0,05), в середньому, на 2,1 мкВ (95% ВІ 1,8 мкВ – 2,2 мкВ), в порівнянні з II періодом вимірювання.

Виявлене збільшення амплітуди ЗВП на спалах є свідченням покращення функціональної стану зорового аналізатора. Показники амплітуди P1-N1 та N1-P2 збільшились на тлі введення

мСК-ПНГ, особливо при парабульбарному і ретробульбарному введенні.

#### Висновки

1. При проведенні експериментального дослідження визначено, що адреналінова модель глаукоми у щурів призводить до порушень параметрів зорових викликаних потенціалів на спалах. У групі тварин з моделлю глаукоми відмічено збільшення латентного періоду (зростання ЛПН1 в середньому на 2,0 мс (95% ВІ 1,5 мс – 2,5 мс) (p<0,001); ЛПР2 в середньому, на 1,7 мс (95% ВІ 1,1 мс – 2,7 мс) (p<0,001)), та зменшення амплітуди (зниження P1-N1 в середньому на 0,6 мкВ (95% ВІ 0,2 мкВ – 0,8 мкВ) (p<0,05); N1-P2 в середньому, на 1,4 мкВ (95% ВІ 0,8 мкВ – 2,1 мкВ) (p<0,05)).

2. Після введення мСК-ПНГ щурам виявлено позитивну динаміку показників ЗВП при різних способах доставки. Через 1 та 3 місяці після введення мСК-ПНГ відмічено зниження латентного періоду за параметром N1 (при внутрішньовенному введенні показник ЛПН1 знизився в середньому, на 0,85 мс (95% ВІ 0,6 мс – 1,1 мс) (p<0,05); парабульбарному – в середньому, на 1,5 мс (95% ВІ 1,3 мс – 1,7 мс) (p<0,05); ретробульбарному – в середньому, на 1,75 мс (95% ВІ 1,5 мс – 1,95 мс) (p<0,05)) та за параметром P2 (при внутрішньовенному введенні показник ЛПР2 знизився в середньому на 1,3 мс (95% ВІ 0,8 мс – 2,0 мс) (p<0,05); парабульбарному в середньому, на 1,4 мс (95% ВІ 0,95 мс – 2,0 мс) (p<0,05); ретробульбарному в середньому, на 2,15 мс (95% ВІ 1,8 мс – 2,5 мс) (p<0,05)).

3. Показник амплітуди P1-N1 збільшився (при внутрішньовенному введенні відмічено зростання P1-N1 в середньому, на 0,9 мкВ (95% ВІ 0,6 мкВ – 1,3 мкВ) (p<0,05); парабульбарному – в середньому, на 1,5 мкВ (95% ВІ 1,2 мкВ – 1,6 мкВ) (p<0,05); ретробульбарному – в середньому, на 1,5 мкВ (95% ВІ 1,2 мкВ – 1,6 мкВ) (p<0,05)). Показник амплітуди N1-P2 при внутрішньовенному введенні виріс в середньому, на 0,8 мкВ (95% ВІ 0,55 мкВ – 1,0 мкВ) (p<0,05); парабульбарному – в середньому на 1,75 мкВ (95% ВІ 1,6 мкВ – 1,85 мкВ) (p<0,05); ретробульбарному – в середньому, на 2,1 мкВ (95% ВІ 1,8 мкВ – 2,2 мкВ) (p<0,05).

4. Таким чином, за результатами дослідження, позитивний ефект трансплантації мСК-ПНГ при адреналіновій моделі глаукоми був найбільш виражений

при парабубльбарному та ретробубльбарному введенні клітин.

**Перспективи подальших досліджень.** Перспективним напрямом подальших досліджень, на наш погляд, є вивчення механізмів впливу терапевтичної дії стовбурових клітин при адреналіновій моде-

лі глаукоми на структуру сітківки та зорового нерва. Дослідження відкриває перспективи проведення клітинної терапії при лікуванні глаукомної оптичної нейропатії у пацієнтів з глаукомою, що являється однією з провідних причин сліпоти та інвалідності в усьому світі.

### Література

1. Quigley HA, Broman AT. Number of people with glaucoma worldwide in 2010 and in 2020. *Br J Ophthalmol*. 2006;90:262-7.
2. Tham YC, Li X, Wong TY, Quigley HA, Aung T, Cheng CY. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology*. 2014;121:2081-90. DOI: 10.1016/j.ophtha.2014.05.013
3. Rykov SO, Medvedovska NV, Troyanov DP. Suchasnyi stan ta dynamika poshyrenosti glaukomy sered doroslogo naselennia Ukrainy. *Zdorovia natsii*. 2012;2(22):119-21. [in Ukrainian].
4. *Oftalmolohichna dopomoha v Ukraini za roky nezalezhnosti. Analitychno-statystychnyi dovidnyk. Kropyvnytskyi: Polium; 2019. 328 s. [in Ukrainian].*
5. Erichev VP, Tumanov VP, Paniyshkina LA. Glaukoma i neurodegenerativnye zabolevaniia. *Natsyonalnyi zhurnal glaucoma*. 2012;1:62-8. [in Russian].
6. Weinreb RN, Aung T, Medeiros FA. The Pathophysiology and Treatment of Glaucoma. *JAMA*. 2014;311(18):1901-11. DOI: 10.1001/jama.2014.3192
7. Petrov SY, Fokina ND, Sherstneva LV, Vostruhin SV, Safonova DM. Etiolohiia pervichnoi glaukomy: sovremennye teorii i issledovaniia. *Oftalmolohicheskie vedomosti*. 2015;7(2):47-56. DOI: 10.17816/OV2015247-56 [in Russian].
8. Johnson TV, Bull ND, Hunt DP, Marina N, Tomarev SI, Martin KR. Neuroprotective effects of intravitreal mesenchymal stem cell transplantation in experimental glaucoma. *Investigative ophthalmology and visual science*. 2010;51:2051-9.
9. Manuguerra-Gagne R, Boulou PR, Ammar A, Leblond FA, Krosi G, Pichette V, et al. Transplantation of Mesenchymal Stem Cells Promotes Tissue Regeneration in a Glaucoma Model Through Laser-Induced Paracrine Factor Secretion and Progenitor Cell Recruitment. *Stem Cells. Regenerative Medicine*. 2013;31:1136-48.
10. Roubeix Ch, Godefroy D, Mias C, Sapienza A, Riancho L, Degardin J, et al. Intraocular pressure reduction and neuroprotection conferred by bone marrow derived mesenchymal stem cells in an animal model of glaucoma. *Stem Cell Research & Therapy*. 2015;6:177. DOI: 10.1186/s13287-015-0168-0
11. Elisseeff J, Madrid MG, Lu Q, Chae JJ, Guo Q. Future Perspectives for Regenerative Medicine in Ophthalmology. *Middle East African J. Ophthalmology*. 2013;20:38-45. DOI: 10.4103/0974-9233.106385
12. Liu JA, Cheung M. Neural crest stem cells and their potential therapeutic applications. *Dev Biol*. 2016;419(2):199-216. DOI: 10.1016/j.ydbio.2016.09.006
13. Huber C, Wagner T. Electrophysiological evidence for glaucomatous lesions in the optic nerve. *Ophthalmol*. 1978;10:22-9.
14. Parisi V, Miglior S, Manni G, Centofanti M, Bucci MG. Clinical ability of pattern electroretinograms and visual evoked potentials in detecting visual dysfunction in ocular hypertension and glaucoma. *Ophthalmology*. 2006;113:216-28. DOI: 10.1016/j.ophtha.2005.10.044
15. Stotska LM, Chokova IB, Romodanova KS. Doslidzhennya zorovyh vyklykanyh potsentsialiv u klinichnykh patsientiv z pervynnoyu vidkrytokutovoyu glaukomoyu. *Oftalmolohichnyy zhurnal*. 2016;1(468):19-23. [in Ukrainian].
16. Mitchell KW, Wood CM, Howe JW, Church WH, Smith GTH, Spencer SR. The visual evoked potential in acute primary angle closure glaucoma. *Br J Ophthalmol*. 1989;73:448-56.
17. Jha MK, Thakur D, Limbu N, Badhu BP, Paudel BH. Visual Evoked Potentials in Primary Open Angle Glaucoma. *J Neurodegenerative Dis*. [Internet]. 2017;1-4. DOI: 10.1155/2017/9540609
18. Stotska LM. Otsinka harakterystyk zorovyh vyklykanyh potsentsialiv u klinichnomu konteksti z funktsionalnykh pokaznykamy na riznykh stadiyah pervynnoi vidkrytokutovoi glaukomy. *Oftalmolohichnyy zhurnal*. 2016;3(470):22-7. [in Ukrainian].
19. Mikheyseva IN. Glaucoma modeling and adrenal stress. *J. Clin. Exp. Med. Res*. 2014;2(4):427-37. Available from: <http://essuir.sumdu.edu.ua/handle/123456789/38944>
20. Vasyliov RG, Rodnichenko AE, Zubov DA, Labunets IF, Novikova SN, Butenko GM. In vitro Properties of neural crest-derived multipotent stem cells from a bulge region of whisker follicle. *Biotechnologia Acta*. 2014;7(4):73-9. DOI: 10.15407/biotech7.04.071
21. Gnezdiitskiy VV. Vyzvannye potsentsialy mozga v klinicheskoy praktike. Taganrog: TRTU; 1997. 252 s. [in Russian].
22. Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZ R' for medical statistics. *Bone Marrow Transplant*. 2013;48:452-8.
23. Hurianov VH, Liakh YuYe, Pariy VD, Korotkiy OV, Chalyi OV, Chalyi KO, et al. Posibnyk z biostatystyky. Analiz rezul'tatitv medychnykh doslidzhen u paketi EZ R (R-statistics). Kyiv: Vistka; 2018. 208 s. [in Ukrainian].

### ОЦІНКА ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ЗОРОВОГО АНАЛІЗАТОРА ПІСЛЯ КЛІТИННОЇ ТЕРАПІЇ ГЛАУКОМИ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

**Петренко О. В., Яковець А. І.**

**Резюме.** Глаукома є провідною причиною незворотної сліпоти в усьому світі. Проблема розробки нових ефективних методів лікування глаукоми являється однією з найбільш актуальних в сучасній офтальмології. На сьогодні перспективним напрямком в лікуванні глаукоми є клітинна терапія з використанням стовбурових клітин. В статті представлений аналіз змін функціонального стану зорового аналізатора при використанні мультипотентних стовбурових клітин-похідних нервового гребня (мСК-ПНГ) в лікуванні індукованої адреналіновим стресом глаукоми за допомогою зорових викликаних потенціалів (ЗВП) на спалах. Дослідження проведені на 50 дорослих щурах лінії Wistar, самці. Моделювання глаукоми проводили шляхом внутрішньочеревного введення 0,18% розчину адреналіну гідротартрату в дозі, починаючи з 10 мкг, доводячи до 15 мкг на 100 г маси, через кожні 5 ін'єкцій доза збільшувалась. Реєстрація ЗВП на спалах здійснювалася в чотири періоди вимірювання, а саме: до та після моделювання глаукоми, через 1 та 3 місяці після введення мСК-ПНГ різними способами. Виявлено позитивний ефект трансплантації мСК-ПНГ при адреналіновій моделі глаукоми, який був найбільш виражений при парабубльбарному та ретробубльбарному введенні. Проте необхідні подальші дослідження механізмів впливу трансплантованих мСК-ПНГ на відновлення структури сітківки та зорового нерва.

**Ключові слова:** глаукома, мультипотентні стовбурові клітини, зорові викликані потенціали.

### ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЗРИТЕЛЬНОГО АНАЛИЗАТОРА ПОСЛЕ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ ГЛАУКОМЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Петренко О. В., Яковец А. И.

**Резюме.** Глаукома является ведущей причиной необратимой слепоты во всем мире. Проблема разработки новых эффективных методов лечения глаукомы является одной из наиболее актуальных в современной офтальмологии. На сегодня перспективным направлением в лечении глаукомы является клеточная терапия с использованием стволовых клеток. В статье представлен анализ изменений функционального состояния зрительного анализатора при использовании мультипотентных стволовых клеток производных нервного гребня (мСК-ПНГ) в лечении индуцированной адреналиновым стрессом глаукомы с помощью зрительных вызванных потенциалов (ЗВП) на вспышку. Исследования проведены на 50 взрослых крысах линии Wistar, самцы. Моделирование глаукомы проводили путем внутрибрюшинного введения 0,18% раствора адреналина гидротартрата в дозе, начиная с 10 мкг, доводя до 15 мкг на 100 г массы, через каждые 5 инъекций доза увеличивалась. Регистрация ЗВП на вспышку осуществлялась в четыре периода измерения, а именно: до и после моделирования глаукомы, через 1 и 3 месяца после введения мСК-ПНГ различными способами. Выявлено положительный эффект трансплантации мСК-ПНГ при адреналиновой модели глаукомы, который был наиболее выражен при парабулбарном и ретробулбарном введении. Однако необходимы дальнейшие исследования механизмов воздействия трансплантированных мСК-ПНГ на восстановление структуры сетчатки и зрительного нерва.

**Ключевые слова:** глаукома, мультипотентные стволовые клетки, зрительные вызванные потенциалы.

### ASSESSMENT OF THE FUNCTIONAL STATE OF THE VISUAL ANALYZER AFTER CELLULAR GLAUCOMA THERAPY IN THE EXPERIMENT

Petrenko O. V., Yakovets A. I.

**Abstract.** Glaucoma is the leading cause of irreversible blindness worldwide. The problem of developing new effective treatments for glaucoma is one of the most pressing in modern ophthalmology. Today, a promising area in the treatment of glaucoma is cell therapy using stem cells.

*The aim of the study* was to investigate changes in the functional status of the visual analyzer using postnatal multipotent neural crest stem cells (NCSCs) in the treatment of adrenaline-induced glaucoma by visual evoked potentials on flashes.

*Object and methods.* Studies were performed on 50 adult Wistar rats, males, comprising five groups of animals (n = 10 in each group). Glaucoma was induced in Wistar rats by intraperitoneal injections of 10 µg to 15 µg/100 g body weight of 0.18% adrenaline hydrochloride. NCSCs were delivered intravenously (5 million cells), retrobulbarly (0.5 million cells) or parabolbarly (0.5 million cells). Visual evoked potentials on flashes were performed in four measurement periods, namely, before glaucoma modeling, after glaucoma modeling, 1 month, and 3 months after NCSCs administration in different ways.

*Results.* NCSCs had the nestin<sup>+</sup>p75<sup>+</sup> Sox10<sup>+</sup>cytokeratin<sup>+</sup>. In the study in the group of animals with the model of glaucoma without the introduction of NCSCs revealed a statistically significant increase in LPN1 (p<0.001), on average, 2.0 ms (95% CI 1.5 ms – 2.5 ms) and a statistically significant increase in LPP2 (p<0.001), on average, 1.7 ms (95% CI 1.1 ms – 2.7 ms) from I to III measurement period. There was also a decrease in the amplitude of P1-N1 – from I to II period of measurement of the decrease of the index (p<0.05), on average, by 2.3 µV (95% CI 1.8 µV – 2.9 µV) and the decrease of the amplitude index N1-P2 (p<0.05), on average, 2.4 µV (95% CI 2.1 µV – 2.7 µV); from II to IV measurement period decrease in P1-N1 amplitude (p<0.05), on average, 0.6 µV (95% CI 0.2 µV – 0.8 µV) and decrease in N1-P2 amplitude (p<0.05), on average, by 1.4 µV (95% CI 0.8 µV – 2.1 µV), compared with the group of intact animals, indicating changes in the functional status of the visual analyzer in the adrenaline model of glaucoma.

After the introduction of NCSCs, an increase in the amplitude of P1-N1 and N1-P2 was observed after 1 and 3 months, which was most pronounced with parabolbar and retrobulbar administration: an increase in P1-N1 (p<0.05), on average, by 1.5 µV (95% CI 1.2 µV – 1.6 µV) and an increase of N1-P2 (p<0.05), on average, 1.75 µV (95% CI 1.6 µV – 1.85 µV) – parabolbar; an increase of P1-N1 (p<0.05), on average, 1.5 µV (95% CI 1.2 µV – 1.6 µV) and an increase of N1-P2 (p<0.05), in on average, 2.1 µV (95% CI 1.8 µV – 2.2 µV) – retrobulbar.

*Conclusions.* In the experimental study observed the positive effect of transplantation of NCSCs in the adrenaline model of glaucoma, which was most pronounced with parabolbar and retrobulbar administration. However, further studies on the mechanisms of the effect of transplanted NCSCs on the restoration of retinal and optic nerve structure are needed.

**Key words:** glaucoma, multipotent stem cells, visual evoked potentials.

Рецензент – проф. Безкоровайна І. М.  
Стаття надійшла 03.05.2020 року