

А. А. ПЕРЕСЫПКИНА, М. В. ПОКРОВСКИЙ, В. О. ГУБАРЕВА, Е. А. ЛЕВКОВА

КОРРЕКЦИЯ ГИПЕРТЕНЗИВНОЙ НЕЙРОРЕТИНОПАТИИ ПРОИЗВОДНЫМ ДИМЕТИЛАМИНОЭТАНОЛА 7-16 В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», ул. Победы, д. 85, Белгород, Россия, 308015.

АННОТАЦИЯ

Цель. Повышение эффективности фармакологической коррекции гипертензивной нейроретинопатии с использованием нового производного диметиламиноэтанола (ДМАЭ) 7-16.

Материалы и методы. Моделирование гипертензивной нейроретинопатии проводили путем введения неселективного ингибитора NO-синтазы N-нитро-L-аргинин-метилового эфира в дозе 12,5 мг/кг в течение 28 суток и повышения внутриглазного давления до 110 мм рт. ст. при оказании механического давления на переднюю камеру глаза. Для исследования глазного дна у экспериментальных животных применена прямая офтальмоскопия (офтальмоскоп Вх а Neitz, Япония). Для увеличения применяли линзу Osher MaxField 78D модель OI-78M. Электроретинографию (ЭРГ) проводили сразу после офтальмоскопии. Регистрацию ЭРГ проводили в ответ на одиночную стимуляцию. Вызванные биопотенциалы усиливались, усреднялись и представлялись графически на экране при помощи Biopac-systems MP-150 с программой AcqKnowledge 4.2 (США). Для оценки степени развития функциональных повреждений сетчатки оценивали соотношение амплитуд b- и a- волн ЭРГ – коэффициент b/a.

Результаты. Обнаружены выраженные протективные свойства производного ДМАЭ 7-16 в дозе 25 мг/кг/сут, превосходящие его действие в дозе 12,5 мг/кг/сут, заключающиеся в уменьшении развития нейрональных повреждений и сосудистых изменений сетчатки на фоне артериальной гипертензии, которые отмечались в контрольной группе; увеличении коэффициента b/a в группах с коррекцией патологии, что обусловлено восстановлением позитивной волны b на ЭРГ и говорит о сохранении электрофизиологической функции биполярных и мюллеровских клеток.

Заключение. Поиск новых путей снижения повреждающего действия ишемии в эксперименте, формирующейся при гипертензивной нейроретинопатии, является актуальной задачей фармакологии, которую можно решить применением нового производного ДМАЭ 7-16.

Ключевые слова: диметиламиноэтанол, гипертензивная нейроретинопатия, электроретинография

Для цитирования: Пересыпкина А.А., Покровский М.В., Губарева В.О. и др. Коррекция гипертензивной нейроретинопатии производным диметиламиноэтанола 7-16 в эксперименте. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2018; 25(1): 103-107. DOI: 10.25207 / 1608-6228-2018-25-1-103-107

For citation: Peresyapkina A. A., Pokrovskii M. V., Gubareva V. O., Levkova E. A. Correction of hypertensive neuroretinopathy by dimethylaminoethanol derivative 7-16 in experiment. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik*. 2018; 25(1): 103-107. (In Russ., English abstract). DOI: 10.25207 / 1608-6228-2018-25-1-103-107

А. А. ПЕРЕСЫПКИНА, М. В. ПОКРОВСКИЙ, В. О. ГУБАРЕВА, Е. А. ЛЕВКОВА

CORRECTION OF HYPERTENSIVE NEURORETINOPATHY BY DIMETHYLAMINOETHANOL DERIVATIVE 7-16 IN EXPERIMENT

Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education Belgorod State National Research University, Pobedy str., 85, Belgorod, Russia, 308015.

ABSTRACT

Aim. Increase of efficiency of pharmacological correction of hypertensive neuroretinopathy using a new dimethylaminoethanol (DMAE) derivative 7-16.

Materials and methods. Modeling of hypertensive neuroretinopathy was carried out by introducing a nonselective inhibitor of NO-synthase N-nitro-L-arginine-methyl ester in a dose 12.5 mg/kg within 28 days and increasing intraocular pressure to 110 mm Hg by exerting mechanical pressure on the anterior chamber of the eye. To study the fundus of experimental animals, direct ophthalmoscopy (ophthalmoscope Bx a Neitz, Japan) was used. To zoom a lens Osher MaxField 78D model OI-78M has been used. Electroretinography was performed immediately after ophthalmoscopy. The ERG was recorded in response to a single stimulation. The induced biopotentials were amplified, averaged and presented graphically on

the screen with the help of Biopac-systems MP-150 with the program AcqKnowledge 4.2 (USA). To assess the degree of development of functional damage to the retina, the ratio of the amplitudes of the b- and a-waves of the ERG, the coefficient b/a, was estimated.

Results. The expressed protective properties of the DMAE derivative 7-16 in a dose 25 mg/kg/day, exceeding its effect in a dose 12.5 mg/kg/day, were found, which resulted in a decrease of development of neuronal damage and vascular changes in the retina on the background of hypertension, which were noted in control group; an increase in the coefficient b/a in groups with the correction of pathology, which is caused by the restoration of the positive wave b on the ERG and indicates the preservation of the electrophysiological function of the bipolar and Müllerian cells.

Conclusion. The search of new ways to reduce the damaging effect of ischemia formed in hypertensive neuroretinopathy in the experiment is a vital task of pharmacology, which can be solved by using a new DMAE derivative 7-16.

Keywords: dimethylaminoethanol, hypertensive neuroretinopathy, electroretinography

Введение

В связи с ростом распространенности сердечно-сосудистых заболеваний, коморбидности и осложнений острее встает вопрос о патогенезе и подходах фармакологической коррекции ишемически-реперфузионных повреждений сетчатки [1]. Состояние сосудов сетчатки может быть непосредственно оценено, предоставляя важную информацию о риске возникновения гипертонии [2].

Изменения органа зрения при повышенном артериальном давлении (АД) занимают особое место [3]. Гипертензивная нейроретинопатия представляет собой сочетание признаков гипертензивной ретинопатии и изменений диска зрительного нерва (ДЗН) (отек диска, увеличение размера, нечеткий край). Гипертензивная нейроретинопатия наблюдается при III-А и III-Б стадиях гипертонической болезни. На глазном дне, кроме изменений сосудов, появляются геморрагии, очаги экссудации и отек. Геморрагии наиболее часто появляются в слое нервных волокон около ДЗН, в этом случае они имеют вид радиально расположенных штрихов, полосок или языков пламени, реже – в наружном и внутреннем плексиформных слоях и имеют вид пятен неправильной формы. Экссудативные очаги могут быть твердые и мягкие.

При злокачественной гипертонии склеротические процессы в сетчатке развиваются крайне быстро. На глазном дне возникают изменения, характерные для гипертензивной ретинопатии, хориопатии и нейропатии зрительного нерва [4].

В настоящее время за рубежом активно проводятся исследования гипертензивной ретинопатии как детерминанты повреждения органов-мишеней при артериальной гипертонии [5, 6, 7].

Производные диметиламиноэтанола (предшественники ацетилхолина) относят к ноотропным средствам. В офтальмологии в составе комплексной терапии сосудистых заболеваниях сетчатки применяют ноотропные препараты, например, никотиноил-ГАМК, гинкго билоба, винпоцетин. В терапии гипертензивной нейроретинопатии применяют антигипертензивные средства, симптоматическое лечение, что не всегда позволяет достичь желаемого результата. Поэтому повышение эффективности фармакологической коррекции ги-

пертензивной нейроретинопатии является важной задачей фармакологии и офтальмологии.

В связи с вышесказанным следует отметить актуальность изучения протективных свойств нового производного ДМАЭ 7-16 на модели гипертензивной нейроретинопатии в эксперименте.

Цель исследования: повышение эффективности фармакологической коррекции гипертензивной нейроретинопатии с использованием нового производного ДМАЭ 7-16.

Материалы и методы

Эксперименты проведены на крысах-самцах линии Wistar массой 225-275 г. Этические принципы обращения с лабораторными животными соблюдаются в соответствии с «European Convention for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. CETS No. 123». Операции и другие манипуляции на крысах проводились в условиях общего обезболивания при внутривенном (в/в) введении водного раствора хлоралгидрата в дозе 300 мг/кг массы крысы.

Для изучения протективного действия производного ДМАЭ 7-16 на модели гипертензивной нейроретинопатии в эксперимент вошли следующие группы: первая группа (n=10) – группа интактных животных; вторая (n=10) – группа с моделированием гипертензивной нейроретинопатии (контроль); третья (n=10) – с коррекцией патологии производным ДМАЭ 7-16 в дозе 12,5 мг/кг/сут; четвертая (n=10) – с коррекцией патологии производным ДМАЭ 7-16 в дозе 25 мг/кг/сут. После однократного повышения ВГД через 72 ч реперфузии [8], на 29-е сутки эксперимента, проводили офтальмоскопию, определяли функциональное состояние сетчатки методом ЭРГ.

Моделирование гипертензивной нейроретинопатии проводили путем ежедневного в/в введения неселективного ингибитора NO-синтаз L-NAME в дозе 12,5 мг/кг в течение 28 суток [9] и повышения ВГД до 110 мм рт. ст. [10] в течение 5 мин на 26-е сутки эксперимента при оказании механического давления на переднюю камеру глаза.

Производное ДМАЭ 7-16 вводили крысам в виде раствора в дозах 12,5 мг/кг/сут, 25 мг/кг/сут

внутрижелудочно (в/ж) за 60 мин до введения L-NAME ежедневно в течение 28 сут.

После наркотизации в/б введением раствора хлоралгидрата на 26-е сутки эксперимента животных фиксировали в положении на боку, после чего осуществляли повышение ВГД.

Для измерения кровяного давления у крыс (на хвосте) на 29-е сутки эксперимента применена система неинвазивного измерения кровяного давления у небольших животных NIBP200 в составе комплекса Biopac-systems MP-150.

Для исследования глазного дна у экспериментальных животных применена прямая офтальмоскопия на 29-е сутки эксперимента (офтальмоскоп Vx a Neitz, Япония). Для расширения зрачка использовали глазные капли Ирифрин 2,5%. Офтальмоскоп приближали к глазу крысы и направляли в него пучок света с расстояния 0,5-2 см для получения чёткого изображения картины глазного дна. Для увеличения применяли линзу Osher MaxField 78D модель OI-78M.

ЭРГ проводили сразу после офтальмоскопии. Для этого животных выдерживали в темноте 30 мин [11], далее наркотизировали и фиксировали на столике. Роговичный серебряный электрод помещали на роговицу, референтный игольчатый электрод EL452 помещали подкожно (п/к) в области черепа, заземляющий игольчатый электрод EL450 помещали п/к в области основания хвоста. Стробоскоп со вспышкой белого света, подключенный к стимулятору STM200 фирмы Biopac System, Inc. (США) размещали за спиной животного, регистрацию ЭРГ проводили в ответ на одиночную стимуляцию. Вызванные биопотенциалы усиливались, усреднялись и представлялись графически на экране при помощи Biopac-systems MP-150 с программой AcqKnowledge 4.2 (США). Для оценки степени развития функциональных повреждений сетчатки оценивали соотношение амплитуд b- и a- волн ЭРГ – коэффициент b/a [8]. Из полученных десяти значений в каждой группе выводили среднее, которое вносили в протокол.

Для всех данных была применена описательная статистика: данные проверены на нормальность распределения. Тип распределения определялся критерием Шапиро-Уилка. В случае нормального распределения были подсчитаны среднее значение (M) и стандартная ошибка среднего (m). В случаях ненормального распределения были рассчитаны медиана (Me) и квартильный размах (QR). Межгрупповые различия анализировались параметрическими (t-критерий Стьюдента) или непараметрическими (критерий Манна-Уитни) методами, в зависимости от типа распределения. Различия были определены при 0,05 уровне значимости. Статистический анализ выполнен с помощью программного обеспечения Statistica 10.0.

Результаты и обсуждение

В основе патогенеза гипертензивной нейроретинопатии лежит развитие артериальной гипертензии у крыс на 29-е сутки эксперимента (САД 204,8 мм рт.ст., ДАД 164,2 мм рт.ст. в группе с патологией; САД 139,2 мм рт.ст., ДАД 104,2 мм рт.ст. в группе интактных, $p < 0,05$).

В соответствии с протоколом исследования после повышения ВГД через 72 ч реперфузии, на 29-е сутки эксперимента, проводили наркотизацию животных. Далее проводили офтальмоскопию, оценку электрофизиологического состояния сетчатки.

Пример офтальмоскопии у интактной крысы представлен на рис. 1.

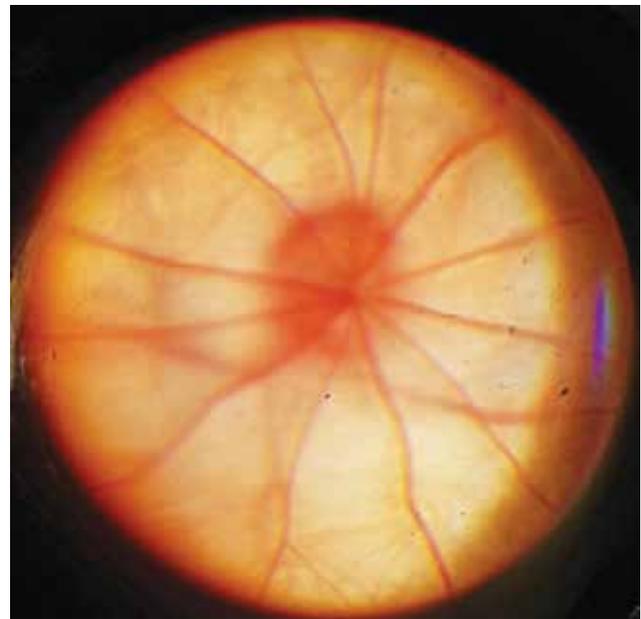


Рис. 1. Пример офтальмоскопии у интактной крысы Wistar. ДЗН круглой или овальной формы и выделяется на фоне глазного дна бледно – розовым цветом. Границы ДЗН четкие. Он лежит в плоскости сетчатой оболочки. Из середины ДЗН выходят центральные сосуды сетчатой оболочки. Анастомозов сосудов сетчатой оболочки не имеют. Вены и артерии прямолинейны, калибр равномерный, извитости нет. Общий фон розовый.

Fig. 1. An example of ophthalmoscopy on intact Wistar rat. The disc of the optic nerve is round or oval and stands out against the background of the eye bottom with a pale pink color. The boundaries of the disc are clear. It lies in the plane of the retina. The central vessels of the retina emerge from the middle of the optic nerve disk. There are no anastomoses of retinal vessels. The veins and arteries are straight, the caliber is uniform, and there is no crimp. Common background is pink.

Примеры офтальмоскопии у крыс Wistar с моделированием гипертензивной нейроретинопатии представлены на рис. 2.

В группе с коррекцией производным ДМАЭ 7-16 в дозе 12,5 мг/кг/сут при офтальмоскопии обнаружено: ДЗН отечный, немного увеличен в размерах, границы четкие. Вены и артерии прямолинейны, калибр равномерный, извитости нет. В единичных случаях наблюдались артерио-венозные перекресты. Общий фон розовый.

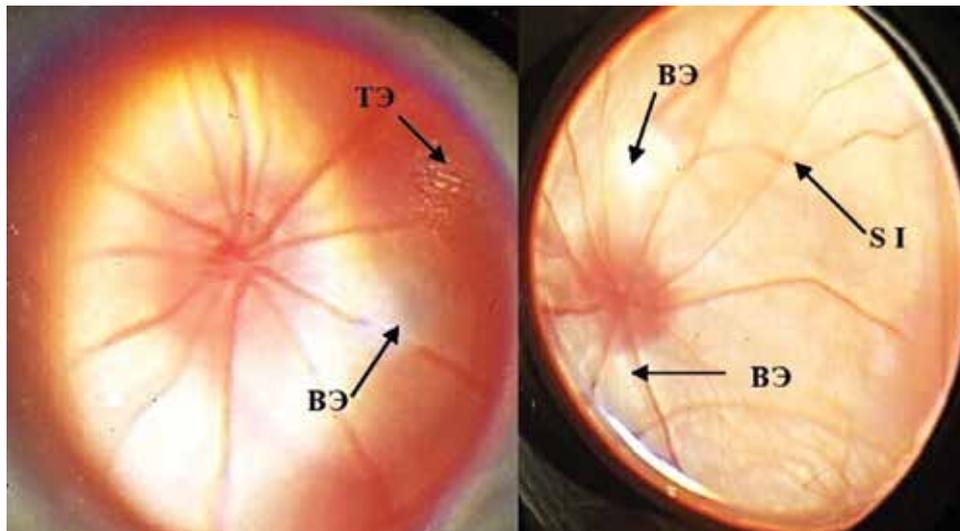


Рис. 2. Примеры офтальмоскопии у крыс Wistar с моделированием гипертензивной нейроретинопатии. ДЗН отечный, увеличен в размерах, отек распространяется на сетчатку. Незначительная ступенчатость границ ДЗН. Наблюдаются очаги «ватного» экссудата (показаны стрелкой ВЭ), свидетельствующие о нарастании ишемии. Вены полнокровны, извиты на периферии. Артерии сужены. Сосуды неравномерного калибра. Сетчатка бледновата (ишемизирована). Симптом Салюса-Гунна I (показан стрелкой S I). В единичных случаях наблюдались очаги твердого экссудата (показан стрелкой ТЭ).

Fig. 2. Examples of ophthalmoscopy on Wistar rats with modeling of hypertensive neuroretinopathy. Optic disc is edematous, increased in size, edema extends to the retina. Slight blurring boundaries of disc. There are pockets of "cotton" exudate (arrow ВЭ), indicating the growing ischemia. Veins are congested, crimped at the periphery. Arteries are narrowed. Vessel caliber is uneven. Retina is palely (ischemic). Symptom Salus-Hun I (arrow S I). In rare cases, the solid exudate deposits were observed (arrow ТЭ).

В группе с коррекцией производным ДМАЭ 7-16 в дозе 25 мг/кг/сут наблюдалась следующая картина: ДЗН круглой формы, бледно – розовый, лежит в плоскости сетчатой оболочки, границы четкие. Вены и артерии прямолинейны, калибр равномерный, извитости нет. Общий фон розовый.

Результаты оценки электрофизиологической активности сетчатки крыс на 29-е сутки эксперимента представлены в таблице.

Заключение

Исходя из того, что данные электрофизиологических исследований часто имеют определяющее значение в ранней и дифференциальной диагностике ретинальных нарушений, для изучения коррекции функциональных изменений в сетчатке, необходимо проведение комплексного анализа, включающего офтальмоскопические, электроретинографические, микроциркуляторные исследования. Анализ динамики ретинального электрогенеза позволяет оценить характер и топографию

ретиальных нарушений, а также выявить наиболее лабильные к гипоксии структуры сетчатки, их реакцию на коррекцию исследуемыми препаратами.

Результаты исследований глазного дна и ЭРГ в экспериментальных группах обнаружили выраженные протективные свойства производного ДМАЭ 7-16 в дозе 25 мг/кг/сут, превосходящее его действие в дозе 12,5 мг/кг/сут, заключающееся в уменьшении развития нейрональных повреждений и сосудистых изменений сетчатки на фоне артериальной гипертензии, которые отмечались в контрольной группе; увеличении коэффициента b/a в группах с коррекцией патологии, что обусловлено восстановлением позитивной волны b на ЭРГ и говорит о сохранении электрофизиологической функции биполярных и мюллеровских клеток.

Таким образом, очевидными становятся перспективы оптимизации фармакотерапии состояний, сопровождающихся ишемией сетчатки, которые тесно связаны с задачей формирования ме-

Таблица / Table

Результаты электроретинографии на 29 сутки эксперимента ($M \pm m$), усл.ед.

Results of electroretinography on day 29 of the experiment ($M \pm m$; $n=10$), cu.

№ п/п	Экспериментальные группы	b/a
1	Интактные (n=10)	2,6±0,07y
2	Контроль (n=10)	1,9±0,08*
3	Коррекция производным ДМАЭ 7-16, 12,5 мг/кг/сут (n=10)	2,2±0,11*y
4	Коррекция производным ДМАЭ 7-16, 25 мг/кг/сут (n=10)	2,4±0,06 y

Примечание: * – $p < 0,05$ в сравнении с группой интактных животных;

y – $p < 0,05$ в сравнении с группой контроля

тодологии изучения противоишемической активности фармакологических агентов, основанной на адекватной оценке функционального состояния сетчатки инструментальными методами исследования.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ragulina V.A., Kostina D.A., Dovgan A.P., Burda Y.E., Nadezhdin S.V. Nuclear factor kappa B as a potential target for pharmacological correction endothelium-associated pathology. *Research result: pharmacology and clinical pharmacology*. 2017; 3(1): 114-124. DOI: 10.18413/2500-235X-2017-3-1-114-124
2. Konstantinidis L., Guex-Crosier Y. Hypertension and the eye. *Curr Opin Ophthalmol*. 2016; 27(6): 514-521. DOI: 10.1097/ICU.0000000000000307
3. Wong T.Y., Mitchell P. Hypertensive retinopathy. *N Engl J Med*. 2004; 351: 2310–2317. DOI: 10.1056/NEJMra032865
4. Khurana A.R., Khurana B., Chauhan S., et al. Hypertensive retinopathy an overview. *Haryana J. Ophthalmol*. 2014; 7: 64-66.
5. Cuspidi C., Macca G., Salerno M., et al. Evaluation of target organ damage in arterial hypertension: which role for qualitative funduscopic examination? *Ital Heart J*. 2001; 2(9): 702-706.
6. Cuspidi C., Meani S., Valerio C., et al. Prevalence and correlates of advanced retinopathy in a large selected hypertensive population. The Evaluation of Target Organ Damage in Hypertension (ETODH) study. *Blood Press*. 2005; 14(1): 25-31. DOI: 10.1080/08037050510008805
7. Kolman S.A., van Sijl A.M., van der Sluijs F.A., van de Ree M.A. Consideration of hypertensive retinopathy as an important end-organ damage in patients with hypertension. *J Hum Hypertens*. 2017; 31(2): 121-125. DOI: 10.1038/jhh.2016.49
8. Shabelnikova A.S. Correction of ischemic damage to the retina on application of pharmacological preconditioning of recombinant erythropoietin. *Research result: pharmacology and clinical pharmacology*. 2016; 2(2): 67-90. DOI: 10.18413/2313-8971-2016-2-2-67-90
9. Peresyapkina A.A., Gubareva V.O., Levkova E.A., Shabelnikova A.S. Correction of retinal angiopathy of hypertensive type by minoxidil, sildenafil in experiment. *Research result: pharmacology and clinical pharmacology*. 2016; 2(4): 34-44. DOI: 10.18413/2500-235X-2016-2-4-34-44
10. Shabelnikova A.S., Lutsenko V.D., Pokrovskii M.V., Peresipkina A.A., Korokin M.V., Gudyrev O.S., Pokrovskaja T.G., Beskhemelnitsyna E.A., Hoshenko Y.A. Protective effects of recombinant erythropoietin in ischemia of the retina: the role of mechanisms of preconditioning. *Research Journal of Medical Sciences*. 2015; 9(4): 200-203. DOI: 10.3923/rjmsci.2015.200.203
11. Zahng, L., Gu, Y.-h., An, J., et al. Effects of the duration of dark adaptation on the retinal function of normal SD rats. *Chinese journal of optometry ophthalmology and visual science*. 2013; 15(6): 323-326.

Поступила / Received 27.11.2017
Принята в печать / Accepted 09.01.2018

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interest

Контактная информация: Пересыпкина Анна Александровна; тел.: +7 903 885 86 19; e-mail: peresyapkina_a@bsu.edu.ru; anny_87_@mail.ru; Россия, 308036, г. Белгород, ул. Конеева, 7, кв.37.

Corresponding author: Anna A. Peresyapkina; tel.: +7 903 885 86 19; e-mail: peresyapkina_a@bsu.edu.ru; anny_87_@mail.ru; Apt. 37, 7, Konev str., Belgorod, Russia, 308036.