

Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика
Міністерство охорони здоров'я України
Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Санін Володимир Володимирович

УДК612.842.6+617.7-073.178+577.352.38+612.018.2+577.175.522+576.311.347

ДИСЕРТАЦІЯ
ОПТИМІЗАЦІЯ ДІАГНОСТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ
ГЛАУКОМАТОЗНОЇ ОПТИЧНОЇ НЕЙРОПАТІЇ
ШЛЯХОМ КОРЕКЦІЇ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ
ТА МІТОХОНДРІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ
(експериментально-клінічне дослідження)

222 – «Медицина»

22 – «Охорона здоров'я»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело



_____ В. В. Санін
(підпис, ініціали та прізвище здобувача)

Науковий керівник: Риков Сергій Олександрович, чл.-кор. НАМН України,
доктор медичних наук, професор

Київ – 2023

АНОТАЦІЯ

Санін В. В. Оптимізація діагностики та лікування глаукоматозної оптичної нейропатії шляхом корекції оксидативного стресу та мітохондріальної дисфункції (експериментально-клінічне дослідження). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю «Медицина» (наукова спеціальність «Офтальмологія»). – Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика МОЗ України, Київ, 2023.

Дисертація присвячена вирішенню актуального завдання сучасної офтальмології – оптимізації діагностики розвитку глаукомного ураження (глаукомної оптичної нейропатії) шляхом застосування цифрових методів дослідження та біохімічних маркерів, а також підвищення ефективності лікування глаукоми низького тиску шляхом корекції оксидативного стресу з урахуванням результатів, одержаних в експерименті на тваринах (щурі) з модельованою глаукомою.

На сьогодні глаукома залишається основним інвалідизуючим захворюванням по зору як у всьому світі, так і в Україні, що викликає постійну увагу до цієї актуальної проблеми офтальмології та пошуку маркерів ранньої діагностики з боку вчених, практичних офтальмологів і лікарів інших спеціальностей. Дослідження останніх років свідчать, що захворюваність на глаукому населення віком від 40 років становить 1-2,5% і не має тенденції до зниження. Ця патологія значно порушує зорову функцію та може вплинути на якість життя і продуктивність праці населення планети.

Ні суттєві успіхи в хірургічному лікуванні глаукоми, ні розробка нових мініінвазивних шляхів втручання та значне розширення арсеналу медикаментозних гіпотензивних засобів не мають змоги зупинити її постійний прогрес. На сьогодні докорінно змінилися уявлення про механізми розвитку глаукоми. Однак, у патогенезі цього захворювання, особливо її ускладнених форм, ще й нині залишається багато незрозумілих і

суперечливих положень: чинники, що впливають на функціональний стан зорового аналізатора, рівень гідродинаміки ока, роль судинних факторів у розвитку захворювання, дослідження оксидативного стресу для прогнозування виникнення та прогресування глаукоми.

Поступове накопичення даних світової літератури свідчить про те, що дисбаланс окислювального стресу може грати значну та важливу роль у пошкодженні гангліонарних клітин сітківки. Отримані результати свідчать про значне підвищення рівнів активності супероксиддисмутази (SOD) і глутатіонпероксидази (GPX) в рідині передньої камери у пацієнтів з первинною відкритокутовою глаукомою (ПВКГ). Низка інших авторів також встановили значне порушення рівнів медіаторів кисневого гомеостазу та функції нейронів у водянистій волозі хворих на ПВКГ, що є свідченням залучення реакцій на окислювальний стрес у ПВКГ-асоційованому пошкодженні нервів. Крім того, встановлено, що концентрація малондіальдегіду (MDA) у пацієнтів з ПВКГ була значно вищою, а рівень сечової кислоти в сироватці крові, основної молекули антиоксиданту, був значно нижчим, ніж у пацієнтів без глаукоми.

Таким чином, аналіз наведених результатів є свідченням необхідності комплексної оцінки біомаркерів оксидативного стресу та мітохондріальної дисфункції, що може допомогти зрозуміти перебіг ПВКГ і пошкодження від окисного стресу гангліонарних клітин сітківки та може бути актуальною мішенню для профілактики і лікування глаукоми. Однак на сьогодні в щоденній клінічній практиці маркери оксидативного стресу та рівні антиоксидантних маркерів оцінюються недостатньо.

З кожним роком зростає процент пацієнтів з глаукомою низького тиску (ГНТ), у яких чинник внутрішньоочного тиску на має провідних позицій. В той же час арсенал медикаментозних засобів, який щорічно стрімко збільшується, не запобігає розвитку глаукомної атрофії зорового нерва.

Таким чином, розробка неінвазивних способів лікування глаукоми, більш простих та ефективних, які покращать функціональний стан ока,

кровообіг в судинах сітківки та зорового нерва, гідродинаміку ока та призведуть до стабілізації глаукомного процесу, є найактуальнішою проблемою сучасної практичної офтальмології. Останніми роками стрімко набирає оберти розвиток нейропротекторної терапії (фармакологічна, біо-фізична тощо), яка здатна впливати на судинні та біомеханічні ланки патогенезу розвитку глаукомної оптичної нейропатії та гальмувати прогресуючу дегенерацію гангліонарних клітин сітківки і особливо їх аксонів. Але до кінця не визначені рецептори та зони регуляторного впливу і не обґрунтовані обсяги та тривалість її застосування.

Об'єкт дослідження: глаукома низького тиску (МКХ-10: H40.1).

Предмет дослідження: дослідження в експерименті (щурі) розвитку катехоламініндукованих морфологічних порушень сітківки ока та впливу N-ацетилкарнозину на стан зорового аналізатора; дослідження в крові пацієнтів з глаукомою низького тиску маркерів окислювального та антиоксидативного стресу, ферментів, вітамінів; якісні та кількісні характеристики диска зорового нерва і перипапільярної ділянки у пацієнтів з глаукомою низького тиску; аналіз ефективності нейропротекторної терапії у пацієнтів з глаукомою низького тиску за результатами визначення світлової чутливості, периметричних змін, електрофізіологічних показників.

Методи дослідження: загальноклінічні, офтальмологічні, біохімічні, статистичні.

Завдання дослідження:

1. Визначити перебіг оксидативного стресу та мітохондріальної дисфункції при експериментальній глаукомі у щурів.
2. Дослідити антиоксидантний вплив N-ацетилкарнозину на розвиток катехоламініндукованих морфо-функціональних порушень сітківки ока щурів при моделюванні глаукоми.
3. Вивчити маркери окислювального та антиоксидативного стресу в сироватці крові пацієнтів з глаукомою низького тиску і визначити

можливість їх застосування для діагностики прогресування глаукомного процесу.

4. Визначити вміст маркерів захисту організму в сироватці крові пацієнтів з глаукомою низького тиску і встановити можливість їх застосування для діагностики прогресування глаукомного процесу.
5. Дослідити за допомогою ангіо-ОКТ та проаналізувати якісні та кількісні характеристики диска зорового нерва і перипапільярної ділянки у пацієнтів з глаукомою низького тиску та їх зв'язок з прогресуванням глаукомного процесу.
6. Вивчити вплив на периметричні показники запропонованої нейропротекторної терапії при лікуванні пацієнтів з глаукомою низького тиску.
7. Встановити вплив на електрофізіологічні показники запропонованої нейропротекторної терапії при лікуванні пацієнтів з глаукомою низького тиску.
8. Впровадити розроблену схему лікування глаукоми низького тиску в роботу закладів охорони здоров'я.

У першому розділі дисертації проведено аналіз сучасної літератури з проблем епідеміології, етіології та патогенезу і сучасних методів діагностики та лікування ГНТ. Аналіз наукових робіт за останні роки показав невирішеність проблеми ефективної діагностики та лікування захворювання і виявив необхідність пошуку нових ланок патогенезу. Це надало можливість розкрити потенціал вивчення біомаркерів оксидативного стресу та мітохондріальної дисфункції як основних чинників появи та прогресування ГОН на сучасному рівні розвитку науки.

У другому розділі дисертації представлено дизайн, матеріал і методи дослідження. Розділ дає повне уявлення щодо експериментальної частини роботи, кількості та загального стану включених у дослідження хворих, їх розподіл по групах. Експериментальні дослідження проводили з використанням самців щурів лінії Вістар масою 330-350 г віком 10 місяців.

Тварини були розділені на три групи. Контрольна група не зазнавала жодних впливів. В дослідній групі I проводили моделювання глаукоми. В дослідній групі II моделювали глаукому і вводили препарат N-ацетилкарнозин (NAC). Протягом клінічної частини дослідження оглянуто 64 пацієнта (128 очей). Пацієнти були розподілені на дві групи. Основну групу склали 46 пацієнтів (92 ока) з глаукомою низького тиску I (48 очей – 52,17%) та II (44 ока – 47,83%) стадії захворювання. В групу порівняння увійшло 18 пацієнтів (36 очей) з гіперметропією до 1,0 дптр без глаукоми. Обидві групи порівнянно за віком та статтю. В розділі представлений детальний опис методів дослідження та лікування. Підрозділ «Статистична обробка отриманих результатів» містить обґрунтування використання статистичних показників, методів та засобів обчислення даних, що дозволило перевірити та підтвердити статистичну значущість отриманих результатів.

У третьому розділі наведено результати експериментальної частини роботи щодо вивчення впливу окисного стресу на морфо-функціональні порушення в сітківці ока у щурів. Оцінювали тканинні, клітинні особливості та відмінності ультраструктури окремих органел при моделюванні глаукоми шляхом гіперкатехолемії, що дало змогу отримати маркери запуску процесів нейродегенерації у зоровому аналізаторі та які при клінічній екстраполяції притаманні термінальній стадії глаукоми. Проведено аналіз антиоксидантного впливу препарату на основі N-ацетилкарнозину на розвиток катехоламініндукованих морфо-функціональних порушень сітківки ока щурів при моделюванні глаукоми.

Четвертий розділ дисертації присвячено вивченню маркерів окислювального та антиоксидативного стресу в сироватці крові, а також аналіз якісних та кількісних характеристик диска зорового нерва та перипапілярної ділянки пацієнтів з глаукомою низького тиску. На базі вивчення цих маркерів встановлено нові можливості прогнозування ГОН. Досліджено ефективність місцевої та системної нейропротекторної терапії із застосуванням препаратів антиоксидантного захисту ГКС при лікуванні

пацієнтів з ГНТ.

У п'ятому розділі роботи проведено узагальнюючий аналіз отриманих результатів роботи, їх співставлення з існуючими науковими даними. Доведена наукова та практична цінність отриманих результатів, виявлені шляхи їх подальшого використання у наступних дослідженнях для поліпшення діагностики, профілактики та лікування ГНТ.

Наукова новизна отриманих результатів. * Розширено наукову інформацію про тканинні, клітинні особливості та відмінності ультраструктури нейронів сітківки при моделюванні глаукоми шляхом гіперкатехолемії. Виявлено деструктивні зміни нейронів сітківки, вакуолізацію, «брункування» мітохондрій, утворення мітохондрій з везикулярними кристами, суттєве ($p < 0,05$) зростання середнього діаметру мітохондрій - на 78,4%, товщини (гіпергідратація) гістогематичного бар'єру - у 2,7 рази, ендотеліальної устілки капілярів - у 3 рази та перикапілярного простору - у 2,6 рази, активацію в ендотеліальних клітинах піноцитозу.

Отримані гістологічні зміни є маркером запуску процесів нейродегенерації у зоровому аналізаторі та ремоделювання в голівці зорового нерва та які при клінічній екстраполяції притаманні термінальній стадії глаукоми.

* Розширено наукову інформацію про біохімічні механізми, що супроводжують виявлені морфологічні зміни при моделюванні глаукоми. Адреналін сприяє розвитку окисного стресу в тканинах ока та послаблює антиоксидантні властивості, про що свідчать маркери ПОЛ, які визначено в нашому експерименті (і які не визначалися попередніми дослідниками). Встановлено збільшення швидкості генерації супероксидного радикалу в 2,7 і 8 разів ($p < 0,05$) та гідроксильного радикалу в 2,2 рази ($p < 0,05$). Визначено активацію перекисного окислення ліпідів мембран (ПОЛ), а саме на 88% і 36% збільшення вмісту кінцевого продукту ПОЛ малонового діальдегіду ($p < 0,05$), зростання вмісту дієнових конюгатів на 6,8% і 47,8% ($p < 0,05$) та вмісту лейкотрієну C_4 – на 45% ($p < 0,05$) і 6,4% відповідно ($p < 0,05$).

* Доповнено наукову інформацію в умовах експерименту про можливі механізми антиоксидантного впливу N-ацетилкарнозину, що призводить до зменшення розвитку окисного стресу, продукції АФК та ПОЛ. Визначено позитивну протекторну дію на цілісність мембран мітохондрій: зменшення кількості структурно змінених мітохондрій на 34,6% ($p < 0,05$), зменшення діаметру мітохондрій на 25,5% ($p < 0,05$), кількості незворотно змінених органел, що супроводжувалось поліпшенням енергетичного метаболізму, зменшення генерації вільних радикалів: зменшення швидкості продукції супероксидного радикалу на 33,3 і 62,5% ($p < 0,05$), гідроксильного радикалу на 52,8 і 39,1% відповідно ($p < 0,05$), зниження вмісту малонового діальдегіду на 15,4 і 22% ($p < 0,05$), що є свідченням мембраностабілізуючої та антирадикальної дії N-ацетилкарнозину.

* Розширено інформацію щодо маркерів окислювального та антиоксидативного стресу в сироватці крові пацієнтів з глаукомою низького тиску. Встановлено суттєве збільшення рівня кінцевого продукту ПОЛ малонового діальдегіду в 2,75 рази при ГНТ I стадії та в 2,93 рази при ГНТ II стадії захворювання, що корелював зі стадією глаукомного процесу ($r = 0,811$; $p < 0,05$). Також визначено падіння активності ферментів системи антиоксидантного захисту, а саме: зменшення рівня супероксиддисмутази при ГНТ I стадії в 2,08 разів та при ГНТ II стадії в 2,22 рази ($r = (-)0,621$; $p < 0,02$); зменшення рівня каталази в 1,63 рази та в 1,65 рази при ГНТ I стадії та II стадії захворювання відповідно ($r = (-)0,222$; $p < 0,05$).

* Доповнено наукову інформацію про маркери захисту організму, що забезпечують імунітет та безперебійну роботу життєво важливих біохімічних та фізіологічних процесів у пацієнтів з глаукомою низького тиску. Встановлено зменшення рівня вітамінів: вітаміну С у пацієнтів з ГНТ I стадії в 2,66 рази та при ГНТ II стадії в 2,78 рази ($p < 0,05$), що корелювало зі стадією глаукомного процесу ($r = (-)0,772$; $p < 0,05$), вітаміну А в 1,99 рази та в 2,86 рази при ГНТ I стадії та II стадії відповідно ($r = (-)0,243$; $p < 0,05$), вітаміну Е при ГНТ I та II стадії в 3,58 та 5,19 разів відповідно ($r = (-)0,564$; $p < 0,05$); та

зменшення рівня трансферину в 1,37 рази та в 1,44 рази при ГНТ I стадії та II стадії захворювання відповідно ($r=(-)0,328$; $p<0,05$).

Відповідно до дослідження, найбільші ризики для прогресування змін полів зору пов'язані з малоновим діальдегідом – $>(+)4.7$ (при чутливості 81,0% та специфічності 83%), та СОД – $<(+)19.8$, вітаміну С – $<(+)4.7$ (при чутливості 93,0% і специфічність 75,0% відповідно).

* Отримано нову наукову інформацію за допомогою метода ангіо-ОКТ про походження геморагій в зоні голівки зорового нерва. Встановлено зв'язки між геморагіями та індексом кровотоку перипапільярних судин диска зорового нерва в поверхневій капілярній сітці нижньо-темпорального сегменту ($r=(-)0.3851$; $p<0,05$) в ділянці геморагій; а також вогнещевою втратою шару нервових волокон сітківки в ділянці геморагій, ($r=(-)0.2629$; $p<0,05$) та виїмкою нейроретинального паска в нижньому сегменті ($r=(-)0.1950$; $p<0,05$).

Вперше встановлено залежність появи геморагій від рівня малонового діальдегіду в крові ($r=0.3347$; $p<0.0005$), що також пов'язано з прогресуванням змін полів зору ($r=0.4782$; $p<0.0001$).

Практична значимість отриманих результатів. 1. Розроблено і запроваджено в клінічну практику критерії ранньої діагностики глаукоми низького тиску з урахуванням біохімічних показників в сироватці крові пацієнтів, що характеризують ступінь окислювального та антиоксидативного стресу. Найбільші ризики для прогресування змін поля зору мав рівень малонового діальдегіду - $>(+)4.7$ (при чутливості 81,0% та специфічності 83%) та супероксиддисмутази - $<(+)19.8$, та вітаміну С - $<(+)4.7$, (при чутливості 93,0% і специфічності 75,0%).

Встановлено залежність від рівня малонового діальдегіду в крові швидкості прогресування полів зору ($r=0.4782$; $p<0.0001$) та появи геморагій в зоні ДЗН ($r=0.3347$; $p<0.0005$).

2. Виявлено поліпшення функціональних показників при застосуванні курсів комплексного нейропротекторного лікування (з включенням

цитиколіну, антиоксидантів, антигіпоксантів, ангіопротекторів та амінокислот) із застосуванням N-Ацетилкарнозину. Відзначалося розширення полів зору, зменшення кількості скотом, покращення показника MD на 20,3% через 6 місяців, на 25,8% через 12 місяців і на 22,4% через 24 місяці відповідно ($p < 0,05$); зниження показника PSD на 19,1-28,8% ($p < 0,05$), покращення індексу полів зору на 8,7-18,5% ($p < 0,05$) та зниження швидкості прогресування полів зору з 2,4%/на рік до 1,9%/рік ($p < 0,05$), тобто на 20,8% відповідно ($p < 0,05$). Також покращились електрофізіологічні показники: зниження латентності піків ЗВКП на 12,8-18,5% ($p < 0,05$) через 6 місяців, на 22,8-24,4% ($p < 0,05$) через 12 місяців і на 19,9-22,8% через 24 місяці відповідно ($p < 0,05$); підвищення амплітуди піків ЕРГ на 17,1-18,2% через 6 місяців терапії та 25,0-27,3% і на 23,7-25,0% через 12 та 24 місяці відповідно ($p < 0,05$).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 16 наукових праць, які відповідають вимогам п. 11 Постанови Кабінету міністрів України № 167 від 06.03.2019 р. «Про проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», в тому числі 4 роботи – статті в журналах, які відповідають «Переліку наукових фахових видань України, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора наук, кандидата наук та ступеня доктора філософії», 3 роботи – в наукометричних виданнях, проіндексованих у базі даних Scopus, з яких 1 – у періодичному науковому фаховому виданні інших держав. 9 робіт – тези у матеріалах науково-практичних конференцій, з'їздів, симпозіумів, включаючи 1 іноземні, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації.

Ключові слова: глаукома низького тиску, оптична нейропатія, діагностика, оксидативний стрес, мітохондріальна дисфункція, нейропротекторна терапія.

Список публікацій здобувача за темою дисертації

Наукові праці, в яких опубліковані основні результати дисертації:

1. Санін ВВ. Дослідження впливу нейропротекторної терапії на функціональний стан очей у пацієнтів з глаукомою низького тиску. Вісник проблем біології і медицини. 2022; Випуск 4.,Т.167:210-222.
2. Санін ВВ. Аналіз факторів розвитку та прогресування глаукомної оптичної нейропатії. Архів офтальмології України. 2022; Т.10,№3:32-41.
3. Санін ВВ, Яковець АІ, Розова КВ, Коркач ЮП, Шаргородська ІВ, Риков СО, та іню Антиоксидантний вплив препарату на основі N-ацетилкарнозину на розвиток катехоламініндукованих морфофункціональних порушень сітківки ока щурів. Фізіологічний журнал. 2020; Т.66,№4:64-71.
4. Риков СО, Шаргородська ІВ, Розова КВ, Коркач ЮП, Гошовська ЮВ, Санін ВВ, та ін. Катехоламініндуковані морфофункціональні порушення і окисний стрес у сітківці ока щурів. Фізіологічний журнал. 2020; Т.66,№2-3:27-36.
5. Tutchenko L, Patel S, Horak O, Sanin V, Kosuba S. Effect of cataract surgery on the refractive index of the cornea estimated by optical pachymetry. Cornea. 2018;37:1414-1420.
6. Сковрон МВ, Горак ОБ, Санін ВВ, Тутченко ЛП, Новак ЛП, Новак НВ. Зв'язок між проявами синдрому сухого ока та рівнем вітаміну D в крові (огляд літератури). Збірник наукових праць співробітників КМАПО імені П.Л.Шупика. 2017;Випуск 27.Книга1:151-160.
7. Санін ВВ, Горак ОБ, Сковрон МВ, Новак ЛП, Тутченко ЛП, Новак НВ. Дослідження режиму лікування серед хворих з глаукомою (огляд літератури). Збірник наукових праць співробітників КМАПО імені П.Л.Шупика. 2017;Випуск 27.Книга1:144-150.

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

8. Санін ВВ. Дослідження ролі оксидативного стресу в патогенезі глаукоми. В: Риков СО, редактор. Матеріали X наук.-практ. конф. дит. офт. та оптом. України з міжн. уч. Своє дитинство треба бачити`2022; 2022 Черв 11; Київ; 2022, с. 48-49.

9. Риков СО, Санін ВВ. Вивчення впливу оксидативного стресу на розвиток та прогресування глаукоми і визначення можливостей його корекції. В: Риков СО, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. з міжн. уч. Рефракційний пленер`22; 2022 Жовт. 19-20; Київ: Київ; 2022, с.83-86.
- 10.Риков СО, Санін ВВ, Гудзь АС. Можливості диференційної діагностики глаукоми низького тиску за допомогою ангіо-ОКТ. В: Риков СО, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. з міжн. уч. Рефракційний пленер`19; 2019 Жовт. 17-19; Київ: Київ; 2019, с.91.
- 11.Тутченко ЛП, Санін ВВ, Горак ОБ, Сковрон МВ, Новак ЛП, Новак НВ. Аналіз факторів, що впливають на рівень дотримання призначеного лікування при глаукомі. Матеріали 40-вої юв. наук.-практ. конф. мол. вч. НМАПО імені П.Л.Шупика з міжн. уч., присв. Дню науки. Інновації в медицині: досягнення молодих вчених; 2017 Трав.18;Київ:58.
- 12.Tutchenko L, Patel S, Horak O, Sanin V, Kosuba S. Cataract surgery and refractive index of the cornea. Матеріали наук.-практ. конф. з міжн. уч. European Biomedical Young Scientist Conference НМАПО (до 100 річ. заснування НМАПО імені П.Л.Шупика МОЗ України);2021 Кві 19-21; Київ:2.
- 13.Tutchenko L, Horak O, Sanin V, Kosuba S, Patel S. Estimation of the refractive index of the human cornea in vivo by non-invasive optical pachymetry. [Internet]; 2017 Oct 7-11; Lisbon: ESCRS; 2017. Available from: <https://legacy.es CRS.org/Lisbon2017/programme/Free-papers-overview.asp>
- 14.Tutchenko L, Patel S, Horak O, Sanin V, Kosuba S. Can the refractive index of the human cornea be estimated in vivo by non-invasive optical pachymetry. В: Риков СО, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. офт. та оптом. з міжн. уч. Рефракційний пленер`17; 2017 Жовт 20-21; Київ: Київ; 2017, с.140-141.
- 15.Сковрон МВ, Горак ОБ, Санін ВВ, Новак ЛП, Тутченко ЛП, Новак НВ. Сучасні погляди на зв'язок між рівнем вітаміну D та синдромом сухого ока. Матеріали 40-вої юв. наук.-практ. конф. мол. вч. НМАПО імені

П.Л.Шупика з міжн. уч., присв. Дню науки. Інновації в медицині: досягнення молодих вчених; 2017 Трав.18;Київ:59-60.

- 16.Горак ОБ, Санін ВВ, Сковрон МВ, Новак ЛП, Тутченко ЛП, Новак НВ. Виявлення чинників впливу на якість лікування хворих на глаукому. Матеріали 40-вої юв. наук.-практ. конф. мол. вч. НМАПО імені П.Л.Шупика з міжн. уч., присв. Дню науки. Інновації в медицині: досягнення молодих вчених; 2017 Трав.18;Київ:22-23.

ABSTRACT

Sanin V. V. Optimizing diagnosis and treating glaucoma optic neuropathy by correcting oxidative stress and mitochondrial dysfunction (experimental and clinical research). - Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 22 “Health” by specialty 222 "Medicine" (scientific specialty “Ophthalmology”). – Shupyk National University of Health of Ukraine of the Ministry of Health of Ukraine, Kyiv, 2023.

The dissertation is devoted to the solution of the urgent task of modern ophthalmology – optimizing the diagnosis of the development of glaucomatous damage (glaucomatous optic neuropathy) by using digital research methods and biochemical markers, as well as increasing the effectiveness of low-pressure glaucoma treatment by correcting oxidative stress, taking into account the results obtained in an experiment on animals (rats) with simulated glaucoma.

Today, glaucoma remains the main disabling disease of vision both throughout the world and in Ukraine, which causes constant attention to this urgent problem of ophthalmology and the search for markers of early subclinical diagnosis by scientists, practicing ophthalmologists and doctors of other specialties. Studies of recent years indicate that the incidence of glaucoma in the population over the age of 40 is 1-2.5% and has no tendency to decrease. This pathology significantly disrupts visual function and can affect the quality of life and work productivity of the global population.

Neither significant progress in the surgical treatment of glaucoma, nor the development of new minimally invasive methods of intervention and a significant expansion of the arsenal of medicinal hypotensive agents can stop its constant progression. Today, ideas about the mechanisms of glaucoma development have fundamentally changed. However, in the pathogenesis of this disease, especially complicated forms, there are still many unclear and contradictory provisions: factors affecting the functional state of the visual analyser, the level of hydrodynamics of the eye, the role of vascular factors in the development of the disease, the study of oxidative stress to predict the occurrence and progression of glaucoma.

The gradual accumulation of data in the world literature indicates that the imbalance of oxidative stress can play a significant and important role in the damage of retinal ganglion cells. The obtained results indicate a significant increase in the activity levels of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPX) in the fluid of the anterior chamber in patients with primary open-angle glaucoma (POAG). A number of other authors also found a significant disturbance in the levels of mediators of oxygen homeostasis and neuronal function in the aqueous humour of patients with POAG, which is evidence of the involvement of oxidative stress responses in POAG-associated nerve damage. In addition, it was found that the concentration of malondialdehyde (MDA) in patients with POAG was significantly higher and the level of serum uric acid, the main antioxidant molecule, was significantly lower than in patients without glaucoma.

Thus, the analysis of the results is evidence of the need for a comprehensive assessment of biomarkers of oxidative stress and mitochondrial dysfunction, which can help to understand the course of POAG and damage from oxidative stress to retinal ganglion cells and can be a relevant target for the prevention and treatment of glaucoma. However, markers of oxidative stress and levels of antioxidant markers are insufficiently evaluated in daily clinical practice.

Every year, the percentage of patients with low-pressure glaucoma (LPG) in

which the factor of intraocular pressure does not have leading positions is increasing. At the same time, the arsenal of medicinal products, which increases rapidly every year, does not prevent the development of glaucomatous atrophy of the optic nerve.

Thus, the development of simpler and more effective non-invasive methods of glaucoma treatment, which will improve the functional state of the eye, blood circulation in the vessels of the retina and optic nerve, hydrodynamics of the eye and lead to the stabilization of the glaucomatous process, is the most urgent problem of modern practical ophthalmology. In recent years, neuroprotective therapy (pharmacological, bio-physical, etc.) has been rapidly developing, which is able to influence the vascular and biomechanical links of the pathogenesis of the development of glaucomatous optic neuropathy and inhibit the progressive degeneration of retinal ganglion cells and especially their axons. However, the receptors and zones of regulatory influence have not yet been determined, and the scope and duration of its use have not been substantiated.

Object of research: low-pressure glaucoma (ICD-10: H40.1).

Subject of research: an experimental study (rats) of the development of catecholamine-induced morphological disorders of the retina and the influence of N-acetylcarnosine on the condition of the visual analyser; research of markers of oxidative and antioxidant stress, enzymes, vitamins in the blood of patients with low-pressure glaucoma; qualitative and quantitative characteristics of the optic disc and peripapillary area in patients with low-pressure glaucoma; study of the effectiveness of neuroprotective therapy in patients with low-pressure glaucoma based on the results of determining light sensitivity, perimetric changes, and electrophysiological indicators.

Research methods: general clinical, ophthalmological, biochemical, statistical.

Objectives of the study:

1. To determine the course of oxidative stress and mitochondrial dysfunction in experimental glaucoma in rats.

2. To investigate the antioxidant effect of N-acetylcarnosine on the development of catecholamine-induced morpho-functional disorders of the retina of the eye of rats in glaucoma modelling.
3. To study the markers of oxidative and antioxidant stress in the blood serum of patients with low-pressure glaucoma and to determine the possibility of their use for diagnosing the progression of the glaucomatous process.
4. To determine the content of body defence markers in the blood serum of patients with low-pressure glaucoma and to determine the possibility of their use for diagnosing the progression of the glaucomatous process.
5. Investigate with the help of angio-OCT and analyse the qualitative and quantitative characteristics of the optic disc and peripapillary area in patients with low-pressure glaucoma and their relationship with the progression of the glaucomatous process.
6. To investigate the impact on perimetric indicators of the proposed neuroprotective therapy in the treatment of patients with low-pressure glaucoma.
7. To investigate the effect on electrophysiological indicators of the proposed neuroprotective therapy in the treatment of patients with low-pressure glaucoma.
8. To introduce the developed low-pressure glaucoma treatment scheme into the work of health care institutions.

The first chapter of the dissertation provides an analysis of modern literature on problems of epidemiology, etiology, and pathogenesis, as well as modern methods of diagnosis and treatment of LPG. The analysis of scientific works in recent years showed the unsolved problem of effective diagnosis and treatment of the disease and revealed the need to find new links of pathogenesis. This provided an opportunity to reveal the possibilities of studying biomarkers of oxidative stress and mitochondrial dysfunction as the main factors of the appearance and progression of GON at the current level of scientific development.

The second chapter of the thesis presents the design, material and research

methods. The section provides a complete overview of the experimental part of the work, the number and general condition of the patients included in the study, their distribution by group. Experimental studies were conducted using male Wistar rats weighing 330-350 g, aged 10 months. The animals were divided into three groups. The control group was not exposed to any effects. Glaucoma modelling was performed in experimental group I. In research group II, glaucoma was simulated and the drug N-acetylcarnosine (NAC) was administered. During the clinical part of the study, 64 patients (128 eyes) were examined. Patients were divided into two groups. The main group consisted of 46 patients (92 eyes) with low-pressure glaucoma of the I (48 eyes – 52.17%) and II (44 eyes – 47.83%) stages of the disease. The comparison group included 18 patients (36 eyes) with hypermetropia up to 1.0 dioptre without glaucoma. Both groups were comparable in terms of age and gender. The section presents a detailed description of research and treatment methods. The subdivision of statistical processing of the obtained results contains the rationale for the use of statistical indicators, methods and means of data calculation, which allowed to check and confirm the statistical significance of the obtained results.

The third chapter presents the results of the experimental part of the work on the study of the effect of oxidative stress on morpho-functional disorders in the retina of the eye in rats. Tissue, cellular features and differences in the ultrastructure of individual organelles were evaluated when modelling glaucoma by hypercatecholema, which made it possible to obtain markers of the initiation of neurodegeneration processes in the visual analyser and, by clinical extrapolation, inherent in the terminal stage of glaucoma. The analysis of the antioxidant effect of the drug based on N-acetylcarnosine on the development of catecholamine-induced morpho-functional disorders of the retina of the eye of rats in glaucoma modelling was carried out.

The fourth chapter of the dissertation is devoted to the study of markers of oxidative and antioxidant stress in blood serum, as well as the analysis of qualitative and quantitative characteristics of the optic disc and peripapillary region

of patients with low-pressure glaucoma. Based on the study of these markers, new possibilities for predicting GON have been established. The effectiveness of local and systemic neuroprotective therapy with the use of anti-oxidant protection preparations of retinal ganglion cell (RGC) in the treatment of patients with LPG was studied.

In the fifth section of the work, a general analysis of the obtained work results, their comparison with existing scientific data is carried out. The scientific and practical value of the obtained results has been proven, the ways of their further use in subsequent studies to improve the diagnosis, prevention and treatment of LPG have been revealed.

Scientific novelty of the obtained results. * Expanded scientific information about tissue, cellular features and differences in the ultrastructure of retinal neurons when modelling glaucoma by hypercatecholema. Destructive changes in retinal neurons, vacuolization, "budding" of mitochondria, formation of mitochondria with vesicular cristae, significant ($p<0.05$) increase in the average diameter of mitochondria - by 78.4%, thickness (hyperhydration) of the histohematic barrier - by 2.7 times, endothelial lining of capillaries - 3 times and pericapillary space – 2.6 times, activation of pinocytosis in endothelial cells.

The resulting histological changes are a marker of the initiation of the processes of neurodegeneration in the visual analyser and remodelling in the optic nerve head and, by clinical extrapolation, are characteristic of the terminal stage of glaucoma.

* Scientific information about the biochemical mechanisms accompanying the identified morphological changes during glaucoma modelling has been expanded. Adrenaline contributes to the development of oxidative stress in the tissues of the eye and weakens the antioxidant properties, which is evidenced by the lipid peroxidation (LPO) markers that were determined in our experiment (and which were not determined by previous researchers). An increase in the generation rate of the superoxide radical by 2.7 and 8 times ($p<0.05$) and the hydroxyl radical by 2.2 times ($p<0.05$) was established. The activation of membrane LPO was

determined, namely an 88% and 36% increase in the content of the final product of LPO malondialdehyde ($p < 0.05$), an increase in the content of diene conjugates by 6.8% and 47.8% ($p < 0.05$) and the content of leukotriene C₄ - by 45% ($p < 0.05$) and 6.4%, respectively ($p < 0.05$).

* Added scientific information under experimental conditions about the possible mechanisms of the antioxidant effect of N-acetylcarnosine, which lead to a decrease in the development of oxidative stress, the production of reactive oxygen species and LPO. A positive protective effect on the integrity of mitochondrial membranes was determined: a decrease in the number of structurally changed mitochondria by 34.6% ($p < 0.05$), a decrease in the diameter of mitochondria by 25.5% ($p < 0.05$), the number of irreversibly changed organelles, which was accompanied by improving energy metabolism, reducing the generation of free radicals: reducing the rate of superoxide radical production by 33.3% and 62.5% ($p < 0.05$), hydroxyl radical by 52.8% and 39.1%, respectively ($p < 0.05$), a decrease in the content of malondialdehyde by 15.4% and 22% ($p < 0.05$), which is evidence of the membrane-stabilizing and anti-radical effect of N-acetylcarnosine.

* Expanded information on markers of oxidative and antioxidant stress in the blood serum of patients with low-pressure glaucoma. A significant increase in the level of the end product of malondialdehyde LPO was established by 2.75 times in LPG stage I and 2.93 times in LPG stage II of the disease, which correlated with the stage of the glaucomatous process ($r = 0.811$; $p < 0.05$). A decrease in the activity of the enzymes of the antioxidant defence system was also determined, namely: a decrease in the level of superoxide dismutase in stage I LPG by 2.08 times and in stage II LPG by 2.22 times ($r = (-)0.621$; $p < 0.02$); decrease in the level of catalase by 1.63 times and by 1.65 times in LPG stage I and stage II of the disease, respectively ($r = (-)0.222$; $p < 0.05$).

* Added scientific information about body protection markers that ensure immunity and smooth operation of vital biochemical and physiological processes in patients with low-pressure glaucoma. A decrease in the level of vitamins was established: vitamin C by 2.66 times in patients with stage I LPG and 2.78 times in

stage II LPG ($p < 0.05$), which correlated with the stage of the glaucomatous process ($r = (-)0.772$; $p < 0.05$), vitamin A by 1.99 times and by 2.86 times at LPG stage I and II stage, respectively ($r = (-)0.243$; $p < 0.05$), vitamin E at LPG I and II stage in 3.58 and 5.19 times, respectively ($r = (-)0.564$; $p < 0.05$); and a 1.37-fold and 1.44-fold decrease in the level of transferrin in LPG stage I and stage II of the disease, respectively ($r = (-)0.328$; $p < 0.05$).

According to the study, the greatest risks for vision changes are associated with malondialdehyde – $> (+)4.7$ (with sensitivity 81.0% and specificity 83%), and SOD – $< (+)19.8$, vitamin C – $< (+)4.7$ (with sensitivity 93.0% and specificity 75.0%, respectively).

* New scientific information was obtained using the angio-OCT method about the origin of haemorrhages in the area of the optic nerve head. Relationships were established between haemorrhages and the blood flow index of the peripapillary vessels of the optic disc in the superficial capillary network of the lower temporal segment ($r = (-)0.3851$; $p < 0.05$) in the area of haemorrhages; as well as by the focal loss of the nerve fiber layer in the area of haemorrhages, ($r = (-)0.2629$; $p < 0.05$) and the recess of the neuroretinal rim in the lower segment ($r = (-)0.1950$; $p < 0.05$).

The dependence of the appearance of haemorrhages on the level of malondialdehyde in the blood was noted for the first time ($r = 0.3347$; $p < 0.0005$), which is also associated with the progression of visual field changes ($r = 0.4782$; $p < 0.0001$).

Practical significance of the obtained results. 1. The criteria for the early diagnosis of low-pressure glaucoma were developed and introduced into clinical practice, taking into account biochemical parameters in the blood serum of patients characterizing the degree of oxidative and antioxidant stress. The greatest risks for the progression of changes in the visual field were the level of malondialdehyde – $> (+)4.7$ (at sensitivity 81.0% and specificity 83%) and superoxide dismutase – $< (+)19.8$, and vitamin C – $< (+)4.7$, (at sensitivity 93.0% and specificity 75.0%).

The dependence of the rate of progression of visual fields on the level of

malondialdehyde in the blood ($r=0.4782$; $p<0.0001$) and the appearance of haemorrhages in the area of the visual field ($r=0.3347$; $p<0.0005$) was established.

2. An improvement in functional indicators was revealed when applying courses of complex neuroprotective treatment (with the inclusion of citicoline, antioxidants, antihypoxants, angioprotectors and amino acids) with the use of N-Acetylcarnosine. There was an expansion of the visual fields, a decrease in the number of scotomas, an improvement in the MD index by 20.3% after 6 months, by 25.8% after 12 months, and by 22.4% after 24 months, respectively ($p<0.05$); a decrease in the PSD index by 19.1-28.8% ($p<0.05$), an improvement in the visual field index by 8.7-18.5% ($p<0.05$) and a decrease in the rate of visual field progression from 2.4 %/year to 1.9%/year ($p<0.05$), i.e. by 20.8%, respectively ($p<0.05$). Electrophysiological indicators also improved: a decrease in the latency of VEP peaks by 12.8-18.5% ($p<0.05$) after 6 months, by 22.8-24.4% ($p<0.05$) after 12 months and at 19.9-22.8% after 24 months, respectively ($p<0.05$); an increase in the amplitude of ERG peaks by 17.1-18.2% after 6 months of therapy and by 25.0-27.3% and by 23.7-25.0% after 12 and 24 months, respectively ($p<0.05$).

Publications. On the topic of the dissertation, 16 scientific works were published which meet the requirements of paragraph 11 of the Resolution of the Cabinet of Ministers of Ukraine No. 167 of 06.03.2019 "On conducting an experiment on awarding the degree of Doctor of Philosophy", including 4 works – articles in magazines that meet "The list of scientific specialized publications of Ukraine, in which the results of dissertations for obtaining the scientific degrees of Doctor of Science, Candidate of Science and Doctor of Philosophy can be published", 3 works - in scientometric publications indexed in the Scopus database, of which 1 is a periodical scientific specialized publication of other states, 9 works – theses in the materials of scientific and practical conferences, congresses, symposia, including 1 foreign, certifying the approval of the dissertation materials.

Key words: low-pressure glaucoma, optic neuropathy, diagnosis, oxidative stress, mitochondrial dysfunction, neuroprotective therapy.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	24
ВСТУП	26
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА ДІАГНОСТИКУ ТА ЛІКУВАННЯ ГЛАУКОМАТОЗНОЇ ОПТИЧНОЇ НЕЙРОПАТІЇ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	37
1.1. Глаукома як соціальна та медична проблема	37
1.2. Роль оксидативного стресу та мітохондріальної дисфункції в розвитку глаукомної оптичної нейропатії	40
1.3. Можливості відтворення оксидативного стресу та мітохондріальної дисфункції в експерименті	47
1.4. Методи ранньої діагностики та сучасні засоби корекції окисного стресу	51
Резюме до розділу 1	61
РОЗДІЛ 2. ДИЗАЙН, МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	63
2.1. Дизайн дослідження. Загальна характеристика роботи	63
2.2. Матеріал та методи експериментальних досліджень	64
2.3. Матеріал клінічних досліджень	67
2.4. Клінічна характеристика досліджуваних груп пацієнтів	69
2.5. Методи клінічних досліджень	71
2.6. Методи лікування пацієнтів	78
2.7. Методи статистичного аналізу та математичної обробки результатів дослідження	83
2.8. Дотримання етичних норм дослідження	84
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ЧИННИКІВ, ЩО ПРИЗВОДЯТЬ ДО ОКИСНОГО СТРЕСУ ТА МІТОХОНДРІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ В СІТКІВЦІ ОКА У ЩУРІВ ТА ВИЗНАЧЕННЯ ШЛЯХІВ КОРЕКЦІЇ В ЕКСПЕРИМЕНТІ	86
3.1. Дослідження впливу окисного стресу на морфологічні та функціональні порушення в сітківці ока у щурів	87
3.2. Вивчення антиоксидантного впливу препарату на основі N-	98

ацетилкарнозину на розвиток катехоламініндукованих морфо-функціональних порушень сітківки ока щурів	
Резюме до розділу 3	103
РОЗДІЛ 4. ДОСЛІДЖЕННЯ ДІАГНОСТИЧНИХ ОЗНАК РОЗВИТКУ ТА ПРОГРЕСУВАННЯ ГЛАУКОМНОЇ ОПТИЧНОЇ НЕЙРОПАТІЇ. АНАЛІЗ ВПЛИВУ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОГО ЛІКУВАННЯ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЗОРОВО-НЕРВОВОГО АПАРАТА У ПАЦІЄНТІВ З ГЛАУКОМОЮ НИЗЬКОГО ТИСКУ	108
4.1. Аналіз маркерів окислювального стресу і антиоксидативного стресу в сироватці крові пацієнтів з глаукомою низького тиску	109
4.2. Аналіз якісних та кількісних характеристик диска зорового нерва та перипапілярної зони у пацієнтів з глаукомою низького тиску	114
4.3. Результати нейропротекторного лікування пацієнтів з глаукомою низького тиску. Зміни показників зорових викликаних потенціалів та паттерн-електроретинограми протягом лікування	116
4.4. Результати нейропротекторного лікування пацієнтів з глаукомою низького тиску. Аналіз змін периметричних показників протягом лікування	120
Резюме до розділу 4	122
РОЗДІЛ 5. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	128
ВИСНОВКИ	151
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	155
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	156
ДОДАТКИ	193
Додаток № 1. Акти впровадження результатів роботи у науковій та практичній діяльності	193
Додаток № 2. Список публікацій здобувача	202
Додаток № 3. Апробації дисертації	205

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АТФ	- аденозинтрифосфат
АФА	- активні форми азоту
АФК	- активні форми кисню
АФКА	- активні форми кисню та азоту
БАП	- біологічний антиоксидантний потенціал
БКК	- блокатори кальцієвих каналів
ВОТ	- внутрішньоочний тиск
ВЧТ	- внутрішньочерепний тиск
ГАМК	- гамма-аміномасляна кислота
ГГБ	- гістогематичний бар'єр
ГКС	- гангліозні клітини сітківки
ГНТ	- глаукома низького тиску
ГОН	- глаукоматозна оптична нейропатія
ДЗН	- диск зорового нерва
ДК	- дієновий кон'югат
ДНК	- дезоксирибонуклеїнова кислота
ЗАС	- загальний антиоксидантний статус
ЗАП	- загальна антиоксидантна потужність
ЗВП	- зорові викликані потенціали
ЕРГ	- електроретинографія
ЕТ-1	- ендотелін-1
ІКА	- інгібітор карбоангідрази
ЛПНЩ	- ліпопротеїди низької щільності
МДА	- малоновий діальдегід
Мх	- мітохондрії
НАДН	- нікотинамідаденіндинуклеотид
НЕС	- нейроепітелій сітківки
НРП	- нейроретинальний поясок
НТФ	- нейротрофічний фактор
ОКТ	- оптична когерентна томографія
ПВКГ	- первинна відкритокутова глаукома
ПЕС	- пігментний епітелій сітківки
ПКП	- перикапілярний простір
ПОЛ	- перекисне окиснення ліпідів

СПЗ	- сумарне поле зору
СТНВ	- середня товщина нервових волокон сітківки
ЦНС	- центральна нервова система
ЦТС	- центральна товщина сітківки
ШНВС	- шар нервових волокон сітківки
AAV	- вектор аденоасоційованого вірусу
ВІ	- 5% вірогідний інтервал (Confidence Interval)
BDNF	- brain derived nerve factor, нейротрофічний фактор головного мозку
CaMKII	- blockade of calmodulin-dependent protein kinase II, блокатор кальмодулінзалежної протеїнкінази II
CNTF	- циліарний нейтрофічний фактор
CRISPR	- Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats, кластеризовані регулярно розташовані між собою короткі паліндромні повтори
iNOS	- індубельна синтаза оксиду азоту
FADH2	- флавінаденіндинуклеотид
GSH	- глутатіон
GSSG	- дисульфід глутатіону
LogMarr	- таблиці визначення гостроти зору
MYOC	- міоцилін ген
MD	- mean deviation, середнє відхилення (не більше 5.8)
NAC	- N-ацетилкарнозин
NADH	- нікотинамідаденіндинуклеотид
NMDA	- N-метіл-D-аспартат
NO	- оксид азоту, неорганічна сполука складу моноксид азоту
NTF	- нейротрофічний фактор
OPTN	- оптиневрин ген
OR	- відношення шансів (Odds Ratio)
P _o	- істинний внутрішньоочний тиск
PSD	- pattern standard deviation, паттерн стандартного відхилення (не більше 1.78)
RGC	- гангліозні клітини сітківки
RNFL	- середня товщина нервових волокон сітківки
χ^2	- критерій ксі-квадрат

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Глаукома – це багатофакторна нейропатія зорового нерва, що є головною причиною необоротної сліпоти в усьому світі. За оцінками експертів, близько 76 млн. людей у 2030 році буде хворіти на глаукому [1,2]. Причини глаукоми остаточно незрозумілі, але існують два основні напрямки, які постійно досліджуються. Це чинники, що пов'язані з біомеханічним впливом і ішемічні фактори, які викликають поступову деградацію сітківки, що спричинена прогресуючим пошкодження гангліозних клітин сітківки (ГКС) і згодом призводить до їх загибелі [1].

Численні ризики або етіологічні фактори розглядаються як залучені до патофізіологічних механізмів розвитку глаукоми: підвищення внутрішньоочного тиску (ВОТ), старіння, високий рівень глутамату, певна генетична схильність, що викликана змінами міоціліну або оптиневрину, зміни метаболізму оксиду азоту (ОА), судинні зміни, пов'язані з ішемією сітківки, та окислювальний стрес [3-7]. Однак, механізми загибелі ГКС при глаукомі не повністю зрозумілі.

Відомо, що ГКС особливо вразливі до підвищеного рівня окислювального стресу через величезне споживання ними кисню та підвищений вміст поліненасичених жирних кислот. У цьому сенсі можна виділити три основні теорії, що використовуються для пояснення фізіопатології глаукоми: біомеханічна, біохімічна та судинна теорії, і в усіх загибель ГКС опосередковується окислювальним стресом [8].

Окислювальний стрес зазвичай пов'язаний з утворенням активних форм кисню (АФК) і активних форм азоту (АФА). АФК можуть швидко реагувати з оксидом азоту, утворюючи АФА. Ці речовини розглядаються як метаболіти з високою здатністю до окислення білків, ліпідів і нуклеїнових кислот [9] та посилюють процеси аутофагії і мітофагії [10], клітинну дисфункцію, некроз, апоптоз і загибель клітин [11,12].

АФК, що виробляються в основному мітохондріями, є сигнальними

молекулами, які на високих рівнях здатні активувати шляхи апоптозу: такі, як шляхи каспази 3 (опосередкований мітохондріями апоптоз, пов'язаний з вивільнення цитохрому c) [13] або незалежні від каспази шляхи [14]. Зниження рівня АФК може захистити ГКС від апоптозу [15], які необхідні для підтримки проліферації, сигналів трансдукції та експресії генів [16].

Таким чином, актуальним невирішеним науково-прикладним завданням сучасної офтальмології залишається визначення маркерів окислювального стресу та мітохондріальної дисфункції, які будуть розпізнавати дисбаланс між виробництвом активних форм кисню в основному мітохондріями та їх усуненням захисними механізмами, що призводить до хронічного запалення, яке спостерігається при глаукомі, і на доклінічних стадіях захворювання будуть свідчити про початок шляху до незворотньої сліпоти.

Великий клінічний інтерес також має оцінка та співвідношення різних біомаркерів окислювального стресу, які можливо визначити в крові людини з морфологічними змінами, що свідчать про ступінь ураження ГКС, визначення особливостей впливу цих порушень на процес прогресування захворювання. Дослідження та впровадження визначення біомаркерів окислювального стресу та інших якісних і кількісних клінічних ознак, що з ними пов'язані, в повсякденну практику офтальмолога допоможе своєчасно виявляти початкові зміни, які можуть призвести до втрати ГКС та розвитку і прогресування глаукоми.

Одним із сучасних напрямків у лікуванні глаукоми, який стрімко розвивається останнім часом, є нейропротекція. Однак актуальним питанням на сьогодні залишається розробка оптимальних схем нейропротекторного лікування хворих на глаукому із застосуванням препаратів антиоксидантного захисту ГКС і визначення можливості їх впровадження в клінічну практику після отримання позитивних результатів на тваринних моделях. Питання екстраполяції отриманих результатів і можливість клінічного застосування протягом тривалого часу

зادля пролонгування захворювання та відтермінування настання необоротної сліпоти потребують подальшого вивчення.

Все це зумовило актуальність проведення досліджень і визначило мету і завдання даної дисертаційної роботи.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана на кафедрі офтальмології Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика МОЗ України і є фрагментом комплексних науково-дослідних робіт кафедри офтальмології: «Клінічне та експериментальне обґрунтування діагностики, лікування та профілактики рефракційних, дистрофічних, травматичних і запальних захворювань органа зору» (№ держ. реєстрації 0116U002821, термін виконання 2016-2020 роки) та «Розробка нових методів діагностики, лікування та профілактики рефракційних, запальних, дистрофічних і травматичних захворювань органу зору та їх клініко-експериментальне обґрунтування» (№ держ. реєстрації 0120U105324, термін виконання 2020-2025 рр.), в яких автор був співвиконавцем і виконував фрагменти дослідження.

Мета дослідження – оптимізація діагностики розвитку глаукомного ураження (глаукомної оптичної нейропатії) шляхом застосування цифрових методів дослідження та біохімічних маркерів, а також підвищення ефективності лікування глаукоми низького тиску шляхом корекції оксидативного стресу з урахуванням результатів, одержаних в експерименті на тваринах (щурі) з модельованою глаукомою.

Завдання дослідження:

1. Визначити перебіг оксидативного стресу та мітохондріальної дисфункції при експериментальній глаукомі у щурів.
2. Дослідити антиоксидантний вплив N-ацетилкарнозину на розвиток катехоламініндукованих морфо-функціональних порушень сітківки ока щурів при моделюванні глаукоми.

3. Вивчити маркери окислювального та антиоксидативного стресу в сироватці крові пацієнтів з глаукомою низького тиску і визначити можливість їх застосування для діагностики прогресування глаукомного процесу.
4. Визначити вміст маркерів захисту організму в сироватці крові пацієнтів з глаукомою низького тиску і встановити можливість їх застосування для діагностики прогресування глаукомного процесу.
5. Дослідити за допомогою ангіо-ОКТ та проаналізувати якісні та кількісні характеристики диска зорового нерва і перипапільної ділянки у пацієнтів з глаукомою низького тиску та їх зв'язок з прогресуванням глаукомного процесу.
6. Вивчити вплив на периметричні показники запропонованої нейропротекторної терапії при лікуванні пацієнтів з глаукомою низького тиску.
7. Встановити вплив на електрофізіологічні показники запропонованої нейропротекторної терапії при лікуванні пацієнтів з глаукомою низького тиску.
8. Впровадити розроблену схему лікування глаукоми низького тиску в роботу закладів охорони здоров'я.

Об'єкт дослідження: глаукома низького тиску (МКХ-10: H40.1).

Предмет дослідження: дослідження в експерименті (щури) розвитку катехоламініндукованих морфологічних порушень сітківки ока та впливу N-ацетилкарнозину на стан зорового аналізатора; дослідження в крові пацієнтів з глаукомою низького тиску маркерів окислювального та антиоксидативного стресу, ферментів, вітамінів; якісні та кількісні характеристики диска зорового нерва і перипапільної ділянки у пацієнтів з глаукомою низького тиску; аналіз ефективності нейропротекторної терапії у пацієнтів з глаукомою низького тиску за результатами визначення світлової чутливості, периметричних змін, електрофізіологічних показників.

Методи дослідження: клінічні: візометрія, біомікроскопія, гоніоскопія,

біомікроскопія сітківки з асферичними лінзами (Carl Zeiss, Topcon), пряма офтальмоскопія з оцінкою параметрів диску зорового нерва та макули (SL-3C, Topcon Corporation, Japan; Ocular MaxField® 78D, USA), гоніоскопію (Ocular, USA), тонометрія (Topcon, Japan, Icare IC200), рефрактометрія (Topcon, Japan), пахіметрія (OCT Visante, Ziess), кератометрія, узехобіометрію (Sonomed, USA), кінетична та статична периметрія (Humphrey 750I, Zeiss), оптична когерентна томографія диску зорового нерва та ангіо-ОКТ диску зорового нерва, шару гангліонарних клітин сітківки та макули (REVO NX Version 10.0.0 Device SN: 1560790/16; Cirrus HD-OCT 5000, Zeiss), визначення зорових викликаних потенціалів, електроретинограма (Нейро-МВП мікро, ТОВ «Укрмедспектр»), лабораторні дослідження. Експериментальні методи: електронна мікроскопія (ЕМ «ПЕМ-125К»), біохімічні дослідження, сегментація зображення, підрахунок клітин. Статистичні методи: статистичного нагляду, варіаційної статистики, множинного порівняння, математичного очікування, кореляційного аналізу, метод побудови та аналізу логістичних моделей регресії, метод покрокового виключення.

Наукова новизна дослідження. * Розширено наукову інформацію про тканинні, клітинні особливості та відмінності ультраструктури нейронів сітківки при моделюванні глаукоми шляхом гіперкатехолемії. Виявлено деструктивні зміни нейронів сітківки, вакуолізацію, «брункування» мітохондрій, утворення мітохондрій з везикулярними кристами, суттєве ($p < 0,05$) зростання середнього діаметру мітохондрій - на 78,4%, товщини (гіпергідратація) гістогематичного бар'єру - у 2,7 рази, ендотеліальної устілки капілярів - у 3 рази та перикапілярного простору - у 2,6 рази, активацію в ендотеліальних клітинах піноцитозу.

Отримані гістологічні зміни є маркером запуску процесів нейродегенерації у зоровому аналізаторі та ремоделювання в голівці зорового нерва та які при клінічній екстраполяції притаманні термінальній стадії глаукоми.

* Розширено наукову інформацію про біохімічні механізми, що супроводжують виявлені морфологічні зміни при моделюванні глаукоми. Адреналін сприяє розвитку окисного стресу в тканинах ока та послаблює антиоксидантні властивості, про що свідчать маркери ПОЛ, які визначено в нашому експерименті (і які не визначалися попередніми дослідниками). Встановлено збільшення швидкості генерації супероксидного радикалу в 2,7 і 8 разів ($p < 0,05$) та гідроксильного радикалу в 2,2 рази ($p < 0,05$). Визначено активацію перекисного окислення ліпідів мембран (ПОЛ), а саме на 88% і 36% збільшення вмісту кінцевого продукту ПОЛ малонового діальдегіду ($p < 0,05$), зростання вмісту дієнових конюгатів на 6,8% і 47,8% ($p < 0,05$) та вмісту лейкотрієну C_4 – на 45% ($p < 0,05$) і 6,4% відповідно ($p < 0,05$).

* Доповнено наукову інформацію в умовах експерименту про можливі механізми антиоксидантного впливу N-ацетилкарнозину, що призводять до зменшення розвитку окисного стресу, продукції АФК та ПОЛ. Визначено позитивну протекторну дію на цілісність мембран мітохондрій: зменшення кількості структурно змінених мітохондрій на 34,6% ($p < 0,05$), зменшення діаметру мітохондрій на 25,5% ($p < 0,05$), кількості незворотно змінених органел, що супроводжувалось поліпшення енергетичного метаболізму, зменшення генерації вільних радикалів: зменшення швидкості продукції супероксидного радикалу на 33,3 і 62,5% ($p < 0,05$), гідроксильного радикалу на 52,8 і 39,1%, відповідно ($p < 0,05$), зниження вмісту малонового діальдегіду на 15,4 і 22% ($p < 0,05$), що є свідченням мембраностабілізуючої та антирадикальної дії N-ацетилкарнозину.

* Розширено інформацію щодо маркерів окислювального та антиоксидативного стресу в сироватці крові пацієнтів з глаукомою низького тиску. Встановлено суттєве збільшення рівня кінцевого продукту ПОЛ малонового діальдегіду в 2,75 рази при ГНТ I стадії та в 2,93 рази при ГНТ II стадії захворювання, що корелював зі стадією глаукомного процесу ($r = 0,811$; $p < 0,05$). Також визначено падіння активності ферментів системи антиоксидантного захисту, а саме: зменшення рівня супероксиддисмутази

при ГНТ I стадії в 2,08 разів та при ГНТ II стадії в 2,22 рази ($r=(-)0,621$; $p<0,02$); зменшення рівня каталази в 1,63 рази та в 1,65 рази при ГНТ I стадії та II стадії захворювання відповідно ($r=(-)0,222$; $p<0,05$).

* Доповнено наукову інформацію про маркери захисту організму, що забезпечують імунітет та безперебійну роботу життєво важливих біохімічних та фізіологічних процесів у пацієнтів з глаукомою низького тиску. Встановлено зменшення рівня вітамінів: вітаміну C у пацієнтів з ГНТ I стадії в 2,66 рази та при ГНТ II стадії в 2,78 рази ($p<0,05$), що корелювало зі стадією глаукомного процесу ($r=(-)0,772$; $p<0,05$), вітаміну A в 1,99 рази та в 2,86 рази при ГНТ I стадії та II стадії відповідно ($r=(-)0,243$; $p<0,05$), вітаміну E при ГНТ I та II стадії в 3,58 та 5,19 разів відповідно ($r=(-)0,564$; $p<0,05$); та зменшення рівня трансферину в 1,37 рази та в 1,44 рази при ГНТ I стадії та II стадії захворювання відповідно ($r=(-)0,328$; $p<0,05$).

Відповідно до дослідження, найбільші ризики для прогресування змін полів зору пов'язані з малоновим діальдегідом – $>(+)4.7$ (при чутливості 81,0% та специфічності 83%), та СОД – $<(+)19.8$, вітаміну C – $<(+)4.7$ (при чутливості 93,0% і специфічність 75,0% відповідно).

* Отримано нову наукову інформацію за допомогою метода ангіо-ОКТ про походження геморагій в зоні голівки зорового нерва. Встановлено зв'язки між геморагіями та індексом кровотоку перипапільярних судин диска зорового нерва в поверхневій капілярній сітці нижньо-темпорального сегменту ($r=(-)0.3851$; $p<0,05$) в ділянці геморагій; а також вогнещевою втратою шару нервових волокон сітківки в ділянці геморагій, ($r=(-)0.2629$; $p<0,05$) та виїмкою нейроретинального паска в нижньому сегменті ($r=(-)0.1950$; $p<0,05$).

Вперше встановлено залежність появи геморагій від рівня малонового діальдегіду в крові ($r=0.3347$; $p<0.0005$), що також пов'язано з прогресуванням змін полів зору ($r=0.4782$; $p<0.0001$).

Практичне значення отриманих результатів. 1. Розроблено і запроваджено в клінічну практику критерії ранньої діагностики глаукоми

низького тиску з урахуванням біохімічних показників в сироватці крові пацієнтів, що характеризують ступінь окислювального та антиоксидативного стресу. Найбільші ризики для прогресування змін поля зору мав рівень малонового діальдегіду - $>(+)$ 4.7 (при чутливості 81,0% та специфічності 83%) та супероксиддисмутази - $<(+)$ 19.8, та вітаміну С - $<(+)$ 4.7, (при чутливості 93,0% і специфічності 75,0%).

Встановлено залежність від рівня малонового діальдегіду в крові швидкості прогресування полів зору ($r=0.4782$; $p<0.0001$) та появи геморагій в зоні ДЗН ($r=0.3347$; $p<0.0005$).

2. Виявлено поліпшення функціональних показників при застосуванні курсів комплексного нейропротекторного лікування (з включенням цитиколіну, антиоксидантів, антигіпоксантив, ангіпротекторів та амінокислот) із застосуванням N-Ацетилкарнозину. Відзначалося розширення полів зору, зменшення кількості скотом, покращення показника MD на 20,3% через 6 місяців, на 25,8% через 12 місяців і на 22,4% через 24 місяці відповідно ($p<0,05$); зниження показника PSD на 19,1-28,8% ($p<0,05$), покращення індексу полів зору на 8,7-18,5% ($p<0,05$) та зниження швидкості прогресування полів зору з 2,4%/на рік до 1,9%/рік ($p<0,05$), тобто на 20,8% відповідно ($p<0,05$). Також покращились електрофізіологічні показники: зниження латентності піків ЗВКП на 12,8-18,5% ($p<0,05$) через 6 місяців, на 22,8-24,4% ($p<0,05$) через 12 місяців і на 19,9-22,8% через 24 місяці відповідно ($p<0,05$); підвищення амплітуди піків ЕРГ на 17,1-18,2% через 6 місяців терапії та 25,0-27,3% і на 23,7-25,0% через 12 та 24 місяці відповідно ($p<0,05$).

Впровадження в практику. Критерії ранньої діагностики глаукоми та схема нейропротекторного лікування пацієнтів на глаукому низького тиску впроваджені в практичну роботу клінічних баз кафедри офтальмології Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика; Медичного центру «Ochi Clinic» та офтальмологічного відділення Національної дитячої спеціалізованої лікарні «ОХМАДИТ» МОЗ України.

Результати вивчення маркерів оксидативного стресу та мітохондріальної дисфункції при експериментальній глаукомі у щурів включені в програму лекцій, семінарських та практичних занять на кафедрах офтальмології: Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика, Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, Дніпровського державного медичного університету МОЗ України, Національного медичного університету імені О.О.Богомольця, Вінницького національного медичного університету імені М.І.Пирогова, Української медичної стоматологічної академії та Одеського національного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Ідея проведення дослідження належить науковому керівникові, член-кореспонденту НАМН України, доктору медичних наук, професору С. О. Рикову. Разом з керівником визначені мета і завдання дослідження. Автором самостійно проведено інформаційний пошук, аналіз наукової літератури, визначено методи дослідження.

Здобувачем самостійно проведено експериментальну частину роботи, аналіз результатів біохімічних досліджень (згідно договору, консультант – завідувач відділу фізіології кровообігу, член-кореспондент НАН України, доктор медичних наук, професор В. Ф. Сагач, Інститут фізіології імені О.О.Богомольця НАН України).

Здобувачем самостійно проведено збір, аналіз, обробку та шифрування клінічного матеріалу. Всі клінічні спостереження та обстеження 46 пацієнтів з глаукомою низького тиску та 18 пацієнтів без глаукоми при виконанні дисертаційного дослідження автор проводив самостійно. Разом з науковим керівником були сформовані групи досліджуваних пацієнтів.

Аналіз результатів дослідження, їх узагальнення, статистична обробка клінічних досліджень, їх оформлення проведені здобувачем самостійно.

В наукових роботах, опублікованих за темою дисертаційного дослідження в співавторстві, дисертанту належить провідна роль у зборі та обробці клінічного матеріалу, аналізі отриманих результатів. Разом з

науковим керівником професором С. О. Риковим проведено узагальнення основних положень дисертаційної роботи, оформлено висновки та практичні рекомендації.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації доповідались та обговорені на: X науково-практичній конференції дитячих офтальмологів та оптометристів України з міжнародною участю «Своє дитинство треба бачити`2022» (Київ, 2022); науково-практичні конференції з міжнародною участю Рефракційний пленер`22, Рефракційний пленер`19 та Рефракційний пленер`17 (Київ, 2017, 2019, 2022); науково-практичній конференції з міжнародною участю European Biomedical Young Scientist Conference NMAPO (до 100 річчя заснування Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України) (Київ, 2021); XXXV Congress of European Society of Cataract & Refractive Surgeons (Lisbon, Portugal, 2017); науково-практичній конференції молодих вчених Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика з міжнародною участю присвяченої Дню науки «Інновації в медицині: досягнення молодих вчених» (Київ, 2017); засіданнях Київського наукового товариства офтальмологів (2018, 2019, 2021).

Публікації. Основні результати дисертаційної роботи викладені у 16 наукових працях. Опубліковано 7 статей, серед них 4 – у виданнях згідно «Переліку наукових фахових видань України», 3 – в наукометричних виданнях, проіндексованих у базі даних Scopus, з яких 1 – у періодичному науковому фаховому виданні інших держав. Крім того, опубліковано 9 робіт в матеріалах з'їздів, конгресів, симпозіумів та науково-практичних конференцій, включаючи 1 іноземну.

Структура та обсяг дисертації. Загальний обсяг дисертації складає 155 сторінки. Робота містить анотацію, зміст, перелік умовних позначень, вступ, огляд літератури, виклад матеріалів та методів дослідження, двох розділів самостійних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновки, практичні рекомендації, список використаних джерел літератури,

додатки. Робота має 11 рисунків та 14 таблиць. Список використаної літератури складає 342 роботи, 41 – кирилицею, 301 – латиницею.

РОЗДІЛ 1
СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА ДІАГНОСТИКУ ТА ЛІКУВАННЯ
ГЛАУКОМАТОЗНОЇ ОПТИЧНОЇ НЕЙРОПАТІЇ
(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Глаукома як соціальна та медична проблема

Глаукома – це група нейропатій зорового нерва, що характеризується прогресуючою дегенерацією гангліозних клітин сітківки. Це нейрони центральної нервової системи, які мають свої клітинні тіла у внутрішній частині сітківки та аксонах зорового нерва. Дегенерація цих нервів призводить до утворення екскавації, патогномонійного вигляду диска зорового нерва та втрати зору [17,18].

Незважаючи на велику кількість числених рандомізованих клінічних та експериментальних досліджень у всьому світі, біологічна основа глаукоми все ще залишається недостатньо вивченою, а фактори, що сприяють її прогресуванню, повністю не охарактеризовані [19]. Встановлено, що на сьогодні глаукома вражає понад 70 мільйонів людей у всьому світі, з них приблизно 10% мають двосторонню сліпоту [20], що робить це захворювання основною причиною необоротної сліпоти у світі. Поширеність глаукоми різна в межах кожної етнічної групи в залежності від країни народження. Загальна поширеність глаукоми становить 3,54% для осіб віком від 40 до 80 років [17,18].

Протягом останніх п'яти років глаукома посідає перше місце серед причин інвалідності по зору в Україні. Така негативна ситуація зумовлена безсимптомним перебігом субклінічних та початкових стадій захворювання та цілою низкою медичних та соціальних факторів [21,22]. Відомо, що тривалий час глаукома може залишатися безсимптомною, поки не стануть виразними зміни в полях зору, що призводить до високої ймовірності того, що кількість уражених людей значно перевищує відому кількість хворих [23,24]. Опитування населення, що було проведено в різних країнах світу, свідчить про те, що лише від 10% до 50% людей з глаукомою знають про

своє захворювання. До 2030 року очікується, що приблизно 76 млн. людей страждатимуть від глаукоми, і, за оцінками експертів, до 2040 року це число досягне 111,8 мільйонів [23-27], що стане основним тягарем для здоров'я та економіки суспільства.

Глаукоми розділяють на 2 великі категорії: відкритокутова і закритокутова глаукома. Як у Сполучених Штатах Америки, так і в Україні, більше 80% випадків – це відкритокутова глаукома. Однак закритокутова глаукома є причиною непропорційно великої кількості пацієнтів із серйозною втратою зору [28,29]. Як відкритокутова, так і закритокутова глаукома можуть бути первинними захворюваннями. Вторинна глаукома може бути наслідком травми, застосування певних ліків, таких як кортикостероїди, запалення, пухлини або таких станів, як дисперсія пігменту або псевдоексфоліації. Численні дослідження останніх років пацієнтів з первинним відкритокутовим ураженням встановили, що ризик розвитку і прогресування глаукоми був найвищим при наявності збільшеного співвідношення екскавація-диск, асиметрії цього співвідношення на двох очах, наявності крововиливу в ділянку диску зорового нерва та великих флюктуаціях внутрішньоочного тиску [30]. Крім того, ризику розвитку первинної відкритокутової глаукоми підвищувалися при наявній сімейній історії хвороби, чорній расі, у осіб похилого віку, високій короткозорості, гіпертонії та при центральній товщині рогівки <5 мм [17,18]. Всім лікарям первинної ланки також слід пам'ятати про високі ризики розвитку глаукоми у пацієнтів, які отримують лікування системними або місцевими кортикостероїдами [31]. Пацієнти з таких груп ризику повинні бути направлені до офтальмолога для щорічного проходження комплексного офтальмологічного огляду.

З кожним роком в спектрі пацієнтів з первинною відкритокутовою глаукомою зростає частота глаукоми низького тиску (ГНТ). Численні популяційні дослідження демонструють, що ГНТ становить від 20,0 до 40% пацієнтів з відкритокутовою глаукомою в США та Європі [32-34]. Аналіз

літератури останніх років свідчить про те, що розмежування між нормальним і аномально підвищеним ВОТ є за своєю суттю довільним, оскільки поняття статистично нормального значення ВОТ досить дискутабельне. Патологічні механізми розвитку оптичної нейропатії при різних типах глаукоми, особливо при відсутності фактору ризику у вигляді підвищеного ВОТ, не до кінця вивчені [17, 18, 32-34].

Однією з таких «загадкових» клінічних ознак глаукоматозної нейропатії зорового нерва, яка зазвичай спостерігається при глаукомі низького тиску та рідко зустрічається в нормальних очах, є крововилив в ділянку диска зорового нерва та/або перипапільно [35-40]. Про можливий зв'язок між глаукомою та крововиливом у диск вперше повідомив Bjerrum у 1889 році [41] та після основоположної роботи Drance and Begg в 1970 році [35]. Це стало предметом численних пошуків, досліджень та публікацій [36-40, 42-46].

Як правило, крововилив у диск зорового нерва (ДЗН) характеризується осколкоподібною формою або має вид «полум'я» на зоровому нерві, або знаходиться поруч із головкою диска. Є свідчення, що це важливий фактор ризику дебюту [43] і прогресування [44,45] глаукоматозної оптичної нейропатії, особливо при глаукомі низького тиску [46,47]. Патогенез появи крововиливу у ДЗН ще повністю не з'ясовано. Подальші дослідження можуть сприяти визначенню факторів, особливо ВОТ-незалежних, що пов'язані з крововиливом, а значить – у розвитку та прогресуванні оптичної нейропатії.

Виєвлення цих нез'ясованих закономірностей, що формують глаукомну оптичну нейропатію при нормальному рівні внутрішньоочного тиску, доцільне і актуальне на сучасному етапі офтальмологічних досліджень, оскільки допоможе нам розробити маркери ранньої діагностики глаукомного процесу, початку його прогресування та будуть можливим критерієм контролю ефективності задіяної терапії, оскільки стандартні методи діагностики і лікування глаукоми не є специфічними для різних типів

гангліонарних клітин сітківки, а дефекти зорових функцій, як правило, виявляються лише при абсолютній втраті всього пулу гангліоцитів [17,18,32].

1.2. Роль оксидативного стресу та мітохондріальної дисфункції в розвитку глаукомної оптичної нейропатії

Аналіз результатів досліджень останніх років свідчить, що глаукома є переважно нейропатією зорового нерва, і саме головка зорового нерва є первинним місцем захворювання. У результаті все більше офтальмологів приділяють увагу дослідженню біомолекулярних механізмів розвитку оптичної нейропатії, що дасть розуміння та змогу для розробки подальших нейропротекторних методів лікування. Це стане патогенетично зумовленим доповненням до класичних методів лікування, які спрямовані переважно на зниження ВОТ.

Зростає кількість доказів, отриманих як на тваринних моделях, так і завдяки клінічним дослідженням, що доводять, крім підвищеного ВОТ і старіння, високу значимість інших факторів ризику розвитку глаукомної оптичної нейропатії: судинної дисфункції [48-51], ексайтотоксичності глутамату [52-54], мітохондріальної дисфункції [55-57] та окислювального стресу [58-61].

Багато дослідників намагалися розшифрувати зв'язок між окислювальним стресом і глаукомною оптичною нейропатією. Однак результати отриманих досліджень носять не до кінця визначений та суперечливий характер.

Оксидативний стрес розвивається, коли прооксидативні процеси, які генерують активні форми кисню та азоту (АФКА), долають механізми антиоксидантного захисту [63-65]. Енергетичний обмін і вплив факторів навколишнього середовища є основними ендогенними і екзогенними джерелами АФКА [66]. Зовнішніми факторами, які збільшують вироблення АФКА, є мікробні інфекції, які ініціюють запальні процеси, інтенсивні

фізичні навантаження та вплив токсинів, таких як сигаретний дим, алкоголь, деякі ліки, іонізуючі та УФ-випромінювання та забруднюючі речовини [66].

Основним ендogenous джерелом АФКА є електронно-транспортний ланцюг [67,68], також відомий як шлях окисного фосфорилування, який складається з серії білкових комплексів (CI-V), вбудованих у мітохондріальну мембрану [69]. Через них переносяться електрони, отримані від NADH і FADH₂ білкові комплекси; процес, який пов'язаний із перекачуванням іонів водню через внутрішню мембрану мітохондрій [69]. Це генерує протонний градієнт, який в кінцевому рахунку використовується АТФ-синтазою для генерації АТФ [69]. Кисень діє як кінцевий акцептор електронів.

Приймаючи електрони та зв'язуючись з іонами водню, кисень відновлюється до води, побічного продукту ланцюга транспортування електронів [69]. Однак електрони просочуються з CI і CIII і реагують з киснем з утворенням супероксиду, який генерує перекис водню, гідроксил радикальні та інші АФКА [67,68]. Іншими немітохондріальними джерелами вільних радикалів є синтазна реакція оксиду азоту, реакція Фентона, система цитохрому P450, пероксисомальне бета-окислення та респіраторний вибух фагоцитуючих клітин [66]. АФКА нейтралізуються механізмами антиоксидантного захисту, що представлені антиоксидантними ферментами, такими як супероксид дисмутаза (СОД), глутатіонпероксидаза (GPX), каталаза (КТ) та їх допоміжними ферментами (наприклад, глутатіонредуктаза) [70].

Низькомолекулярні антиоксиданти, або синтезовані організмом або з їжею, такі як глутатіон, аскорбінова кислота (вітамін С), α-токоферол (вітамін Е) і каротиноїди також відіграють важливу роль у буферизації оксидативного стресу [70].

Для визначення антиоксидантного потенціалу організму, як правило, дослідники аналізують загальну антиоксидантну потужність (ЗАП), загальний антиоксидантний статус (ЗАС), біологічний антиоксидантний

потенціал (БАП) і загальний реактивний антиоксидантний потенціал (ЗРАП) [71-76]. Ці параметри і аналізи, які використовуються для їх вимірювання, подібні, а їхні результати значною мірою корелюють, що робить їх можливими для порівняння [77,78].

Ряд досліджень вказували на той факт, що БАП нижчий у зразках периферичної крові пацієнтів з ПВКГ і пацієнтів з ГНТ в японській популяції [79]. Нижчі рівні БАП корелювали зі змінами полів зору [79] і меншою кількістю RGCs у пацієнтів з ПВКГ молодше 65 років [72]. Також було показано [72], що ЗАС знижується у хворих на глаукому в Саудівській Аравії. Було виявлено [80], що низький рівень ЗАС корелює з тяжкістю глаукоми, з більш високим значенням співвідношення екскавації до диска. У пацієнтів з ПВКГ було визначено низький рівень ЗАП [71]. В той же час інші дослідники [81] не виявили змін у ЗАП, але визначали підвищений загальний окислювальний статус (ЗОС) у зразках плазми пацієнтів з ПВКГ. Цікаво, що пацієнти з очною гіпертензією (ОГ), у яких відсутня глаукомна оптична нейропатія, мали вищі показники ЗАС, ніж пацієнти з ГНТ, які, як припускають вчені, захищають їх від втрати RGC і зниження зору [82,83].

Аналіз антиоксидантної здатності в рідині передньої камери свідчив, що ЗАП [71], ЗАС [73] і ЗРАП [74] були нижчими у водянистій волозі пацієнтів з ПВКГ, особливо у суб'єктів, які не отримували лікування для зниження їх підвищеного ВОР [73].

Глутатіон є найбільш поширеним ендогенним антиоксидантом в організмі [84]. Це тіол нейтралізує перекиси ліпідів і активні форми кисню і азоту, що призводить до зміни його окисно-відновного стану з відновленого глутатіону (GSH) на окислений глутатіон (GSSG) [84]. У здорових клітинах і тканинах більше 90% глутатіону знаходиться у відновленій формі, це фермент глутатіонредуктаза, відповідальний за регенерацію GSH від GSSG [84]. Вищі рівні GSSG і нижчий окисно-відновний індекс (логарифмічне значення відношення GSH до GSSG) спостерігалися в мононуклеарних клітинах периферичної крові пацієнтів з ПВКГ порівняно з пацієнтами без

глаукоми, але мали інші захворювання очей, відмінні від глаукоми (такі, як травматична нейропатія зорового нерва) [85].

Крім того, дослідження свідчили, що окисно-відновний індекс корелював з ушкодженнями полів зору у пацієнтів з ПВКГ [85]. В той же час інші дослідження показали, що у пацієнтів з ПВКГ визначалися нижчі рівні GSH, але незмінні рівні GSSG у крові порівняно з пацієнтами без глаукоми [86,87]. Ці відмінності не могли бути пов'язані з типом аналізованого зразка (кров мононуклеарних клітин порівняно зі зразками цільної крові), оскільки концентрація глутатіону в плазмі дуже низька (в діапазоні мікромолів) [88].

Крім того, аналіз проб у пацієнтів з глаукомою високого та з глаукомою низького тиску дозволив ідентифікувати нижчий окисно-відновний індекс лише у пацієнтів з ГНТ [87]. Нарешті, аналіз загального тіолу та його окисленої форми (тобто дисульфідіду) в сироватці крові свідчив про більш високе співвідношення дисульфідіду до нативного тіолу у пацієнтів з ПВКГ [89].

Специфічна активність і експресія важливих ферментів, які залучені до антиоксидантних захисних механізмів, таких як супероксиддисмутаза (СОД), глутатіон пероксидаза і каталаза, також вивчалися у пацієнтів при глаукомі. Відомо, що СОД перетворює супероксид вільного радикала в кисень і перекис водню окисненням і відновленням відповідно [90]. У людей ми можемо знайти три різних типи СОД (СОД1–3) [91]. СОД1 міститься у великій кількості в цитозолі та націлюється на супероксид. СОД2, що виробляється як у цитозолі, так і в мітохондріях, знаходиться виключно всередині мітохондрій, а СОД3 локалізується в позаклітинному матриксі[91].

Дослідження показали низький рівень СОД1 в зразках крові пацієнтів з ПВКГ, тоді як експресія СОД2 у них була підвищена [92]. В той же час інші дослідження ферментативної активності свідчили, що активність СОД2 у сироватці пацієнтів з ПВКГ була нижчою у порівнянні з пацієнтами з катарактою [93], а активність СОД1 не змінювалась [93]. Навпаки, дослідження вмісту внутрішньоочної рідини пацієнтів з ПОУГ показали, що

загальна активність СОД підвищується у водянистій волозі [73,74,94,95], особливо коли пацієнти не отримують гіпотензивних препаратів [73]. Подібні результати також були відмічені і у пацієнтів з ПЗКГ [95].

Глутатіон пероксидаза (GPX) – сімейство з декількох ферментів, які відновлюють перекис водню до води або гідропероксиди ліпідів до відповідних спиртів [96]. У людини було виявлено чотири основні ізоформи GPX (GPX1–4), з яких GPX1 є найпоширенішим підтипом [97]. Дослідження встановили генетичну основу посиленої експресії GPX1 у пацієнтів з ПВКГ [92]. Причому було виявлено, що активність GPX підвищується у водянистій волозі як пацієнтів з ПВКГ [74,94,95], так і пацієнтів з ПЗКГ [95].

Нарешті, каталаза метаболізує перекис водню до води та кисню [98]. Цей фермент в основному локалізований в пероксисомах [99] і, меншою мірою, в цитозолі [100]. Ряд досліджень свідчить, що активність каталази залишається незмінною у водянистій волозі пацієнтів з ПВКГ та ПЗКГ [74,94,95]. Але в доступній нам літературі ми не знайшли свідчень щодо визначення цього показника в крові пацієнтів на глаукому.

Дослідження рівнів АФКА у пацієнтів з глаукомою були зосереджені в основному на оксиді азоту. Оксид азоту є вільним радикалом, який виконує важливі фізіологічні функції, такі як гладка м'язова релаксація, вазодилатація, нейротрансмісія та регуляція запалення [101]. В оці оксид азоту сприяє відтоку водянистої вологи шляхом розслаблення трабекулярної сітки [102] і контролює місцевий кровообіг [103] разом з ендотеліном-1 (ЕТ-1) вазоконстриктором вивільнюється з ендотеліальних клітин [104,105]. Однак неконтрольоване виробництво оксиду азоту може призвести до окислювального стресу та апоптозу [106,107].

Дослідження виявили, що рівні оксиду азоту у водянистій волозі були підвищеними у пацієнтів з ПВКГ та ЗКТГ порівняно з пацієнтами з катарактою [108]. Системне пригнічення синтази оксиду азоту у пацієнтів з глаукомою зменшує кровообіг у диску зорового нерва, але не такою мірою, як у здорових людей [109]. Це свідчить про те, що підвищення регуляції

оксида азоту може бути компенсаторним механізмом для підтримки відповідної доставки кисню і поживних речовин до сітківки [109].

Крім того, аналізи зразків трабекулярної сітки свідчили про підвищення регуляції індукованої NO-синтази (iNOS) та зниження регуляції кальцій/кальмодулін-залежної експресії та активності синтази оксиду азоту, що корелювало зі змінами полів зору у пацієнтів з ПВКГ [110].

У той же час визначено підвищений вміст в плазмі та водянистій волозі у пацієнтів з глаукомою рівня ET-1 [108,111-114]. Зміни оксиду азоту та рівнів ET-1, швидше за все, впливають на очний кровотік через порушення регуляції балансу між вазодилатацією та вазоконстрикцією, що, можливо, впливає на метаболічне забезпечення гліальних клітин сітківки та збільшує окислювальний стрес, що в результаті призводить до нейродегенерації цих клітин [115]. Крім того, утворення очного нейроваскулярного блоку, можливо, внаслідок реактивного гліозу та зниження активності нейронів призводить до зниження функцій зору [116,117].

Окрім оксиду азоту, деякі клінічні дослідження визначали зв'язок між феритином, основним регулятором зберігання заліза [118], і первинною глаукомою. Вільне залізо сприяє утворенню реактивних гідроксильних радикалів, що викликає окислювальний стрес і клітинну токсичність [119]. Тому феритин зазвичай використовується як маркер пов'язаного із залізом окисного стресу [119,120]. Високий рівень феритину в плазмі крові, який пов'язували з глаукомою, було визначено у двох окремих дослідженнях населення Південної Кореї [121,122], особливо серед чоловіків [122]. Відповідно до цього суб'єкти, які приймають препарати заліза, мають більше шансів отримати діагноз з глаукомою [123].

Окислювальний стрес впливає на всі біомолекули, включаючи ліпіди, білки і особливо ДНК, яка може призвести до апоптозу [66,124]. Кілька досліджень виявили підвищені рівні маркер окиснення ДНК 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозин (8-OHdG) у плазмі [125, 126], водянистій волозі [126] та трабекулярній сітці [127,128] у пацієнтів з ПВКГ в порівнянні з пацієнтами

без глаукоми. Крім того, визначене окисне пошкодження ДНК у трабекулярній сітці показало кореляцію з дефектами полів зору цих пацієнтів[128].

Перекисне окислення ліпідів і клітинний окислювальний стрес ідентифікуються за допомогою маркера малонового діальдегід (МДА) [129,130]. Ряд досліджень показали більш високі рівні МДА в крові хворих на ПВКГ [71,75]. Проте вимірювання рівнів МДА у водянистій волозі пацієнтів з ПВКГ виявили суперечливі результати: деякі – підвищення рівня МДА [71], інші – відсутність змін цього маркера окиснення ліпідів [110].

Крім того, плазмові концентрації кількох ізомерів гідроксилінолеату та гідроксіарахідонату, які є продуктами окислення великої кількості поліненасичених жирних кислот, лінолевої кислоти та арахідонової кислоти, збільшувалися як у пацієнтів з глаукомою низького тиску, так і у пацієнтів з глаукомою високого тиску [131].

Нарешті, у пацієнтів з ПВКГ спостерігалось окислювальне пошкодження білків. Відомо, що високий рівень оксиду азоту взаємодіє з супероксид-аніоном, утворюючи пероксинітрит. Пероксинітрит індукує нітрування кількох амінокислот, включаючи тирозин, що призводить до утворення нітротирозину [132]. Результати деяких досліджень свідчили про значно вищу імунореактивність нітротирозину в трабекулярній сітці [110], а також у кровоносних судинах і глії, яка розташована в преламінарній головці зорового нерва [133] пацієнтів з ПВКГ. Цікавим був факт, що підвищена імунореактивність нітротирозину в трабекулярній сітці корелювала із підвищенням VOT у пацієнтів з ПВКГ [110].

Таким чином, окислювально-відновний дисбаланс і окислювальний стрес, безумовно, грукують велику роль у патогенезі механізмів, що призводять до нейродегенерації гліальних клітин сітківки. Зокрема, підвищений рівень маркерів окисного стресу та зміни в механізмах антиоксидантного захисту, які впливають як на антиоксидантні ферменти, так і на глутатіон, основну антиоксиданту молекулу, були визначені у пацієнтів з глаукомою. Однак

деякі обмеження цих досліджень ускладнюють зробити переконливі висновки та встановити безперечний причинно-наслідковий зв'язок подій, що призводять до окислювального стресу у цих пацієнтів.

Перша і найбільш очевидна помилка більшості досліджень – стратифікація пацієнтів при глаукомі. Комплексний характер цього багатofакторного захворювання, яке включає різні підтипи глаукоми, зазвичай ігнорувався при оцінці змін окисного стресу, і лише в одному дослідженні останніх років охарактеризували та розділили пацієнтів з глаукомою на підгрупи для аналізу даних (окремо пацієнтів з ГНТ та пацієнтів з глаукомою високого тиску). Крім того, розмір популяції в деяких дослідженнях був, безумовно, малим, що знижувало статистичну силу аналізу.

Ще один фактор, який був виявлений нами при аналізі доступної літератури та який обмежував обсяг деяких досліджень і, можливо, призводив до суперечливих результатів критеріїв включення – це ігнорування системних захворювань. Наприклад, деякі дослідження виключали пацієнтів із системними захворюваннями, такими як діабет, тоді як інші включали таких пацієнтів за умови, якщо вони контролювалися за допомогою ліків. У той же час на параметри, які пов'язані з окисним стресом, впливають системні розлади та/або нецільові ефекти медикаментозної терапії, що може замаскувати реальну асоціацію або помилково показати очевидний зв'язок між досліджуваними змінними, коли він не є реальним.

Все це потребує подальшого вивчення і проведення досліджень з покращенням дизайну задля отримання надійної інформації про окислювально-відновні дисрегуляції, які пов'язані з розвитком нейропатії зорового нерва.

1.3. Можливості відтворення оксидативного стресу та мітохондріальної дисфункції в експерименті

Використання моделювання для виявлення та вивчення патологічних станів в медицині дозволяє створити можливості для формування критичних знань, які потім будуть застосовані на практиці, використати сучасні можливості цивілізації, програмного забезпечення для інтерпретації отриманих результатів. Це позитивно впливає на формування професійної компетентності лікарів. Моделювання біологічних систем допомагає зрозуміти еволюційні процеси за допомогою комп'ютерного моделювання простих форм життя [134].

Мета будь-якого моделювання – створити актуальні в реальному часі моделі систем відповідно до навколишнього середовища та внутрішніх подразників, таких як, наприклад, модель ракової клітини, щоб знайти слабкі місця в їх сигнальних шляхах, побачити ефекти впливу на клітини, структури і в свою чергу, залежність від функціонування інших систем. Це дозволяє більш якісно вивчати особливості хвороби, а також розробляти методи та засоби лікування. Людство почало використовувати моделювання багато століть назад, з моменту, коли були закладені основи диференціального та інтегрального числення. Починаючи з 40-х років минулого століття, математичні методи увійшли у медицину і біологію через кібернетику та інформатику. Тому у ХХ столітті, крім технічних спеціальностей і природничих наук, моделювання почала широко використовувати медицина і фармація [135]. Сьогодні моделювання в медицині є тим засобом, який дозволяє встановлювати глибокі і складні взаємозв'язки між теорією та експериментом, розробляти нові високоефективні методи діагностики та лікування, створювати медичні прилади [134,135].

Тяжкі та незворотні наслідки глаукоми завжди стимулювали вчених та практиків до пошуку ідеальної моделі, що допомогла б в прогнозуванні перебігу процесу і визначенні результативності застосування тих чи інших засобів лікування і профілактики [136].

На сьогодні внутрішньоочний тиск залишається загально визнаним фактором ризику глаукоми, і вся сучасна терапія глаукоми спрямована на

контроль цього фактора. Оскільки не всі пацієнти з глаукомою адекватно реагують на лікування, що знижує ВОТ, все ще існує потреба в розробці нових методів лікування, призначених для захисту головки зорового нерва і сітківки в умовах підвищеного ВОТ. Розуміння клітинних механізмів, залучених до пошкодження зорового нерва, спричиненого тиском, значно полегшить досягнення цієї мети [137].

До кінця 1980-х років для вивчення цієї проблеми в основному використовувалася модель глаукоми у приматів, відмінної від людини, гостра або хронічна у мавп [138]. Однак висока вартість тварин та їх утримання обмежує їх використання для детальних досліджень клітинної біології, оскільки така робота вимагає великої кількості тварин для врахування індивідуальної біологічної мінливості. Через це все більше уваги приділяють проблемі експериментального підвищення ВОТ у гризунів. Хоча анатомічні відмінності між глаукомною оптичною нейропатією гризунів і приматів існують, загальний план цього підходу полягає у використанні моделей гризунів для розуміння основних концепцій і ймовірно важливих клітинних процесів. Пізніше ці знання можуть бути використані для розробки конкретних гіпотез, які можна перевірити на моделі приматів, використовуючи цілеспрямовані експерименти, які перевіряють теорії механізму, а також потенційні нові методи лікування. Переваги застосування для моделювання щурів ґрунтується на їх схожості з людьми щодо анатомії та розвитку, особливості переднього сегмента ока, циркуляції водянистої вологи та зміни зорового нерва, спричинені збільшенням ВОТ[139].

Більшість експериментальних моделей індукованого підвищення ВОТ базуються на створенні підвищеного опору відтоку водянистої вологи. Одна з перших розроблених моделей глаукоми у гризунів відтворювалася шляхом ін'єкції гіпертонічного фізіологічного розчину в шляхи відтоку водянистої вологи, що викликав склероз, підвищений опір відтоку водянистої вологи і підвищений ВОТ. Інша модель - ін'єкція мікрокульок у передню камеру [140]. Наступна модель – ретроградне введення гіпертонічного

фізіологічного розчину залежить від основної анатомії відтоку водянистої вологи.

У щурів, як і у приматів, звичайний відтік відбувається через трабекулярну сітку, в Шлеммов канал та через лімбальну склеру, через колекторні канали до епісклерального венозного кровообігу [141]. Це епісклеральне сплетення, як і канал Шлемма, є безперервним, і доступ до нього можливий шляхом ретроградної ін'єкції в радіально орієнтовані епісклеральні вени, які дрениують це сплетення. Техніка ін'єкції гіпертонічного фізіологічного розчину використовує переваги цих взаємозв'язків для створення рубців Шлеммового каналу та трабекулярної сітки [137, 140]. Важливо розуміти, що тварини з очима, у яких відсутній безперервний Шлеммів канал і, можливо, лімбальне сплетення, можуть бути непридатними для цієї процедури.

Різні тваринні моделі, що засновані на розвитку очної гіпертензії, викликають різні механізми втрати RGC та пошкодження аксонів [141]. Щоб класифікувати як глаукоматозне пошкодження, спричинене в сітківці і зоровому нерві, вони повинні бути достатньо відмінними, щоб можна було оцінити передбачувану ефективність при застосуванні стратегії лікування, але мінятися досить повільно, щоб нагадувати хронічний характер справжньої глаукоми.

Низка досліджень встановила причетність стресу до активації підвищення внутрішньоочного тиску у пацієнтів з глаукомою та визначила взаємозв'язок психо-емоційного стресу з частотою розвитку захворювання [142,143]. Збудження симпатичної нервової системи, що викликане стресом, призводить до каскаду метаболічних реакцій, підвищення вмісту катехоламінів у крові та різних тканинах організму [144].

Довготривала стимуляція β -адренергічних рецепторів катехоламінами викликає розвиток серцево-судинних уражень, що включають порушення кровопостачання тканин і загибель клітин серця та мозку. Для вивчення механізмів уражень тканин з високим рівнем обміну речовин і пошуку

шляхів попередження цих порушень тривалий час використовується модель введенням тваринам великих доз катехоламінів. Зокрема, широкоживаною є модель інфаркту міокарда, яка передбачає введення 55-100 мг/ кг ізопротеренолу і є класичною для пошуку кардіопротективних засобів [145].

Визначено, що хронічна стимуляція β -адренорецепторів супроводжується перевантаженням клітин кальцієм, розвитком окисного стресу та пригніченням антиоксидантної системи, активацією міокардіального запалення зі збільшенням експресії прозапальних цитокінів, а також апоптотичною і некротичною загибеллю клітин міокарда [146].

Проте, як при природній, так і при експериментальній гіперкатехолемії її небезпечний вплив на життєздатність клітин не обмежується тканинами серця. Одним з факторів, що підтверджує негативний вплив введення великих доз катехоламінів на орган зору, є довготривале підвищення ВОТ, яке також спостерігається при глаукомі [147].

У цій ситуації в тканинах ока основною мішенню пошкоджуючої дії гіперкатехолемії та високого очного тиску стає сітківка, ураження якої саме і призводить до втрати зору [148]. Останніми роками вітчизняними вченими при моделюванні глаукоми застосовується індукована адреналіновим стресом модель [149], яка дозволяє отримати хронічне підвищення ВОТ, в середньому, на 20-27% і патогномонійні для хронічного глаукомного процесу структурні зміни сітківки та зорового нерва.

Водночас механізми таких змін при застосуванні запропонованої моделі, що викликають окисний стрес та запускають складний каскад катехоламініндукованих морфофункціональних порушень, на сьогодні залишаються не до кінця з'ясованими.

1.4. Методи ранньої діагностики та сучасні засоби корекції окисного стресу

Глаукомна оптична нейропатія характеризується хронічною прогресуючою втратою поля зору внаслідок апоптозу гангліонарних клітин

сітківки [150]. Внутрішньоочний тиск є одним із найважливіших факторів ризику розвитку та прогресування глаукоми, і терапія, що знижує ВОТ, широко розглядається як єдина ефективна стратегія лікування для уповільнення або зупинки погіршення глаукоматозної нейропатії зорового нерва. Зниження ВОТ можна досягти за допомогою ліків, лазера або хірургії. Більшість пацієнтів з глаукомою, навіть після лазерного або хірургічного лікування, лікуються місцевими очними гіпотензивними препаратами, які діють шляхом зменшення вироблення водянистої вологи або полегшення трабекулярного або увеосклерального відтоку водянистої рідини [151]. У осіб з глаукомою нормального тиску очні гіпотензивні препарати корисні для затримки або запобігання прогресування захворювання [152].

Хоча існують різні гіпотензивні препарати та хірургічні методики, які можуть ефективно знизити ВОТ, його зниження іноді недостатньо для запобігання прогресуванню глаукоми. Низка досліджень лікування очної гіпертензії свідчать [153], що у 4,4% пацієнтів, які приймали ліки, розвинулася глаукома через 5 років після спостереження, незважаючи на зниження ВОТ на 22,5% від вихідного рівня, в середньому, з 24,9 мм рт. ст. до 17,3 мм рт. ст. Прогресування захворювання також виникло у 45% пацієнтів з ГНТ, які отримували лікування і мали зниження ВОТ на 25% від вихідного рівня [151]. Більше того, навіть нижчий рівень ВОТ ніж цільовий тиск, не виключає можливості прогресування глаукоми. Дослідження показали, що у 12% пацієнтів з ПВКГ, які отримували лікування, захворювання прогресувало незважаючи на зниження ВОТ на 30% до середнього рівня 10,6 мм рт. ст. протягом 5,6 років спостереження [154].

З кожним роком все більше офтальмологів приділяють увагу дослідженням біомолекулярних механізмів виживання нейронів та розробці подальших нейропротекторних методів лікування, які зможуть запобігти або затримати апоптоз ГКС незалежно від ВОТ, що доповнюють стандарти лікування по зниженню ВОТ [155,156]. Саме тому розуміння та визначення основного механізму, який у конкретного пацієнта призвів до розвитку

нейропатії зорового нерва чи то депривація нейротрофічних факторів (NTFs), утворення активних форм кисню (ROS), окислювальний стрес або ексайтотоксичність глутамату, ішемія, гліальна активація та генетичні детермінанти, допоможе прокласти шлях до розробки більш практичних нейропротекторних клінічних методів лікування [157, 158].

Однією з привабливих терапевтичних мішень для досліджень при глаукомі є нейротрофічні фактори (НТФ), які вже продемонстрували багатообіцяючі результати в лікуванні інших нейродегенеративних розладів центральної нервової системи. Нейротрофічні фактори здійснюють різноманітні дії, зв'язуючись зі специфічними рецепторами та впливаючи на розвиток, виживання та відновлення нейронів через передачу сигналів тирозинкінази [159,160]. Нейротрофічні фактори діють нейропротекторно, сприяють регенерації та покращенню аксонів функціонування нейронних клітин [161]. Повідомлялося, що кілька НТФ пов'язані з глаукомою, включаючи нервовий фактор росту (NGF), нейротрофічний фактор мозку (BDNF), циліарний нейротрофічний фактор (CNTF), фактор росту фібробластів 2 (bFGF), гліальний нейротрофічний фактор (GDNF) і нейтурин[162,163].

На кількох моделях глаукоми на гризунах було доведено, що ці НТФ є ефективними у запобіганні загибелі ГКС [164,165]. Інші клінічні дослідження з використанням місцевого лікування НТФ протягом 3 місяців показали покращення функцій зорового нерва, таких як поле зору, гострота зору і контрастна чутливість у невеликій серії випадків пацієнтів із прогресуючою ПВКГ [163] та не виявили серйозних побічних ефектів [166]. Нейротрофічний фактор, отриманий з мозку, покращує виживаність ГКС шляхом активації позаклітинних сигнал-регульованих кіназ (Erk) Erk1/2 і c-jun, а також інгібування каспази-2 [167].

Нещодавно Cha та співавтори виявили [168], що рівні BDNF у сироватці крові та водянистій волозі були значно нижче у пацієнтів з ГНТ та ПВКГ. Низка інших дослідників також підтвердили зниження рівня BDNF в

сироватці крові та рідині передньої камери у пацієнтів з ранніми та помірними стадіями ПВКГ [169]. Ці результати свідчать, що BDNF може служити потенційним біомаркером для виявлення глаукоми та оцінки стадії захворювання. Крім того, кілька попередніх мишачих моделей також продемонстрували здатність BDNF захищати та сприяти виживанню ГКС[170,171].

Дослідження Lazaldin зі співаторами [172] визначили, що інтравітреальна ін'єкція BDNF може перешкоджати загибелі ГКС, спричиненій індукованим амілоїдом β апоптозом у щурів. Однак потрібні подальші дослідження, що змогли б підтвердити причинно-наслідковий зв'язок між BDNF і глаукомою, а також визначили б можливості використання BDNF в якості нейропротекторної терапії глаукоми.

Низка інших досліджень встановили зниження концентрації CNTF в рідині передньої камери у хворих на ПВКГ [173]. Розроблено NT-501, полімерний пристрій, який містить генно-інженерну лінію клітин людини, яка секретує CNTF і може бути імплантована хірургічним шляхом під рана plana. Пристрій вже було випробувано при захворюваннях сітківки та не отримано очевидних переваг лікування [174,175]. Наразі тривають клінічні випробування інкапсульованої клітинної терапії NT-501 та дослідження її терапевтичної ефективності при лікуванні глаукоми. Хоч попередні дослідження НТФ вказують на їх великий потенціал для нейропротекції, основна проблема клінічного впровадження полягає у відсутності можливостей ефективної доставки до сітківки.

Інтравітреальна ін'єкція може стати можливим методом доставки чистих рекомбінантних трофічних факторів до сітківки, але при хронічних захворюваннях, таких як глаукома, яка може тривати кілька десятиліть, цей метод лікування може бути непрагматичним, оскільки знадобиться велика кількість таких втручань. Тому майбутні дослідження будуть спрямовані на розробку пристроїв з уповільненим вивільненням внутрішньоочного імплантату, що містить НТФ, або трансплантації стовбурових клітин, які

зможуть модулювати рівні НТФ в мікросередовищі. Як варіант зовнішнє лікування, наприклад, електростимуляція низького рівня, коли електроди прикріплюються навколо ока та сітківки, можна використовувати для індукції місцевого виробництва НТФ [176,177]. Попередні моделі гризунів продемонстрували активізацію CNTF і BDNF після такої електричної стимуляції [178,179].

Декілька сучасних досліджень нейропротекторного ефекту екстракту гінкго білоба (ГБ) при лікуванні глаукоми запропонували теорії та механізми такого впливу: збільшення кровотоку шляхом зміни в'язкості крові та пригнічення факторів активації тромбоцитів, що можуть індукувати агрегацію тромбоцитів, дегрануляцію нейтрофілів і генерацію АФК [180-182]. Крім того, антиокислювальні властивості ГБ можуть проявлятися через його складові: поліфенольними флавіноїдами завдяки механізмам зниження окисного стресу в мітохондріях і очищення вільних радикалів [183-186]. Однак клінічні результати щодо ефективності ГБ, які описані в низці клінічних досліджень залишаються суперечливими [187-189]. Можливо, подальші клінічні дослідження із застосуванням сучасних методів обстеження таких, як ангіо-ОКТ, статичних периметрів тощо та задіяння великої вибірки пацієнтів при тривалому спостереженні розв'яжуть існуючі суперечки.

Протягом останніх кількох десятиліть дисрегуляція кальцію розглядалася як патофізіологічний компонент у дегенерації ГКС [190]. Теоретично блокатори кальцієвих каналів (БКК) захищають ГКС, запобігаючи загибелі клітин, спричиненій притоком кальцію, і посилюючи місцевий кровотік в ішемізованих тканинах шляхом індукції вазодилатації [190,191]. Дослідження культури клітин Yamada показали, що БКК, включаючи іганідипін, німодипін і ломеризин, можуть сприяти підтриманню життєздатності ГКС шляхом блокування гіпоксичного пошкодження та притоку іонів кальцію в ГКС [192].

У той же час інше дослідження *in vitro* також показало, що нілвадипін може бути здатним пригнічувати індукований глутаматом апоптоз ГКС шляхом перешкодження притоку кальцію [193]. Встановлено, що у системно здорових хворих на ГНТ нілвадипін у дозі 2 мг двічі на день може зберегти структуру зорового нерва, покращує кровообіг головки зорового нерва та сповільнює прогресування поліп зору порівняно з групою плацебо [194]. Інший представник БКК, бровінкамін, також продемонстрував позитивний вплив для покращення результатів поліп зору та уповільнення прогресування захворювання у пацієнтів з ГНТ [195,196].

Однак, незважаючи на описані переваги БКК, що були виявлені в цих невеликих дослідженнях, слід пам'ятати, що вплив вазодилатації, яка викликана БКК, недостатньо пояснює нейропротекторний ефект, оскільки вазодилатація може навпаки спрямувати потік крові від ішемічної тканини та погіршити стан [197]. Крім того, зниження системного тиску крові зменшує кровообіг в головці зорового нерва і може викликати подальше пошкодження зорового нерва у хворих на глаукому [198]. Таким чином, необхідні подальші дослідження, які допоможуть оцінити оптимальне дозування та підвищення селективності БКК для досягнення максимальної нейропротекції, зводячи до мінімуму супутні побічні ефекти.

Існують теорії, які вважають, що причиною розвитку глаукоми є підвищений рівень глутамату [199]. Глутамат є нейромедіатором, який активує проапоптотичні каскади через NMDA та не-NMDA рецептори. Мемантин є антагоністом рецептора NMDA, який пригнічує надмірну активність глутамату і вивчався на експериментальних моделях глаукоми та продемонстрував захисний вплив на виживання ГКС і зниження їх функціональної втрати [199-202]. Незважаючи на такі багатообіцяючі результати на тваринних моделях, велика фаза 3 РКД показала, що щоденне лікування мемантином протягом 4 років мало впливає на затримку прогресування поліп зору у пацієнтів з двосторонньою відкритокутовою глаукомою [203]. Розбіжність між експериментальними та клінічними

дослідженнями, на нашу думку, можна пояснити різною (початковою) стадією глаукомного процесу, з якою включали пацієнтів в дослідження, тривалість дослідження, дозування мемантину та недосконалий дизайн дослідження.

Крім того, оскільки глаукома – це мультифакторіальне захворювання, його неможливо змодельовати лише на основі однієї тваринної моделі. Додаткові фактори, які можуть вплинути на результат лікування, також слід оцінити, включаючи наявність крововиливу в ділянку головки зорового нерва, центральну товщину рогівки тощо. Подальші дослідження повинні бути проведені з урахуванням попередніх помилок: включення пацієнтів із ранньою стадією глаукоми, вибір менш гетерогенної популяції, урахування різних факторів ризику прогресування глаукоми, більша тривалість дослідження, інші дози та способи доставки ліків, використання ОКТ та ангіо-ОКТ для оцінки структурних змінних параметрів виявлення ранньої глаукоми [204,205].

Цитиколін є природною сполукою, яка бере участь у хімічній реакції за участю нейромедіатора ацетилхоліна та інших компонентів нейрональних мембран. Це має вирішальне значення для збереження рівня сфінгомієліну та кардіоліпіну в нейронах [206]. Нейропротекторний ефект цитиколін забезпечується шляхом зниження ексайтотоксичності глутамату, зниження окисного стресу в пошкоджених ГКС та покращення аксонального транспорту [207,208]. Тоді як аксони ГКС знаходяться в ретробульбарному просторі, який багатий мієліном, цитиколін може бути потенційним варіантом лікування шляхом модулювання життєздатності ГКС через метаболізм фосфоліпідів у мієліновій мембрані [209].

На тваринній моделі глаукоми з використанням дорослих щурів з ущемленням зорового нерва спостерігалось зниження ГКС, однак після внутрішньоочеревинного введення цитиколіну щільність була ослаблена, що вказує на захисний ефект проти дегенерації нейронів [210]. Інші клінічні дослідження демонстрували покращення електроретинограми (ЕРГ) і

зорових викликаних потенціалів (ЗВП) у пацієнтів з ПВКГ після внутрішньом'язової ін'єкції цитиколіну 1000 мг/добу протягом 60 днів [211]. Подібні результати також спостерігалися у пацієнтів з глаукомою на тлі лікування місцевими очними краплями з цитиколіном [212,213].

Виходячи з результатів наведених досліджень, виявляється, що цитиколін пропонує великий потенціал як майбутня стратегія лікування глаукоми та інших неврологічних захворювань. Наразі проводяться ще кілька багатоцентрових клінічних випробувань для вивчення ефекту лікування цитиколіну та його подібних продуктів (Clinical Trials ID NCT05315206, NCT04499157, NCT04784234).

Терапія стовбуровими клітинами набуває все більшої популярності через її потенціал для лікування нейродегенеративних захворювань, таких як глаукома. При глаукомі кінцевою метою є відновлення зору шляхом відтворення пошкоджених нейрорегенеративних або мертвих ГКС та їх аксонів.

Лікування стовбуровими клітинами може бути терапевтичною складовою лікування глаукоми за допомогою двох різних механізмів: регенерації ГКС та утворення нових клітин різних видів; забезпечення сприятливого нейротрофічного середовища до пошкоджених ГКС [214,215]. Крім того, ГКС є ідеальною мішенню для терапії стовбуровими клітинами, оскільки вони мають ряд переваг – обмежені внутрішньоочними просторами та мають менше шансів постраждати від імунного відторгнення [216].

Мезенхімальні стовбурові клітини (МСК) є мультипотентними і можуть диференціюватися в нейрони та гліальні клітини, підтримують ріст нейронів і синаптичний зв'язок, індукують ангиогенез, модулюють запальні реакції та зменшують демієлінізацію та апоптоз. Все це сприяє їх нейропротекторній та регенеративній дії [217]. Трансплантовані МСК можуть секретувати різні НТФ для сприяння виживанню клітин, включаючи CNTF (потужний фактор виживання ГКС), bFGF (симулятор росту аксонів), GDNF і BDNF [215,218].

Різні VOT-залежні моделі глаукоми на тваринах продемонстрували ефективність щодо сприяння виживання ГКС та зменшення втрати ГКС за допомогою інтравітреальної ін'єкції МСК [219-223] та захисту тканини трабекулярної сітки за допомогою внутрішньокамерної ін'єкції МСК [224].

Однак нещодавне клінічне випробування Vivala та співаторів не засвідчило суттєве покращення ЗВКП та ЕРГ у пацієнта з розвиненою глаукомою після інтравітреальної ін'єкції аутологічних МСК кісткового мозку. Крім того, розвиток відшарування сітківки з проліферативною вітреоретинопатією було відзначено в іншого учасника дослідження [225].

Тому, незважаючи на успішні результати, які зареєстровані на тваринних моделях, все ще існують перешкоди, які можуть заважати клінічній екстраполяції терапії стовбуровими клітинами на людину. Зокрема, складність моделювання хворобливих станів людини, які не можуть бути точно представлені в контрольованому експериментальному середовищі на тваринних моделях. Для подальшого з'ясування ефективності методу МСК необхідно удосконалити дизайн досліджень: проводити чисельні клінічні випробування із залученням більшої кількості учасників при різних ступенях тяжкості захворювання; дослідження із застосуванням різних шляхів введення: внутрішньокамерного, інтравітреального тощо; збільшити тривалість спостереження, що допоможе визначити клінічні можливості застосування цього методу лікування.

Крім того, перш ніж терапія стовбуровими клітинами буде успішно впроваджуватися, необхідно також вирішити деякі питання безпеки використання її в клінічній практиці. По-перше, необхідно з'ясувати та ретельно оцінити баланс між виживанням трансплантата та пухлиногенезом, оскільки чим довше живе стовбура клітина, тим більша ймовірність появи та розвитку пухлини. Таким чином, для гарантії будуть потрібні ретельні лабораторні та клінічні дослідження, які доведуть, що потенційна користь нейропротекції значно перевищує можливу небезпеку індукції пухлини.

По-друге, слід враховувати, що імплантовані клітини не тільки вивільняють ідеальні та бажані трофічні фактори для підтримки ГКС, але вони також можуть секретувати інших агентів, які потенційно шкідливі для мікрооточення ГКС [226].

По-третє, відмінності в ефективності серед різних тваринних моделей, які застосовували для відтворення глаукоматозної нейропатії зорового нерва, потребують обґрунтування для клінічної інтерполяції. Тому потрібно докласти ще багато зусиль, перш ніж терапія стовбуровими клітинами стане доступною для впровадження в клінічних умовах практикуючими офтальмологами.

Слід також відмітити генну терапію, яка за останні кілька десятиліть досягла значного прогресу та пропонує потенціал, щоб допомогти пацієнтам із пошкодженими ГКС відновити втрачений зір.

Клінічні випробування, які були проведені пацієнтам із вродженими захворюваннями сітківки, такими як спадкова оптична нейропатія Лебера, показали багатообіцяючі результати при прямому медичному застосуванні генів у лікуванні нейропатії зорового нерва [227,228]. Однак генетичне лікування в контексті глаукоми залишається складним питанням через багатофакторні та полігенні властивості цього захворювання.

Деякі дослідження на тваринах продемонстрували ефективність генної терапії в лікуванні глаукоми. Наприклад, експериментальні дослідження, які проведені Jain зі співаторами, показали [229], що опосередкований геном кластеризованих регулярних інтервалів коротких паліндромних повторів (CRISPR)-редагування мутацій міоциліну (MYOC)-домінантного посилення функції, ефективно знижував ВОТ і перешкоджав глаукоматозному пошкодженню шляхом індукування втрати функції мутантного MYOC в моделі на мишах MYOC-асоційованої ПВКГ [229].

Інший багатообіцяючий результат був показаний в нещодавньому дослідженні з використанням кількох моделей глаукоми на гризунах, в якому реактивація СаМКII активності шляхом інтравітреальної ін'єкції векторів

аденоасоційованого вірусу (AAV) хворим мишам захищала ГКС і зберігала зорову функцію та візуально керовану поведінку [217].

Генна терапія також надає свій нейропротекторний ефект через кодування NTF, таких як BDNF і CNTF [230,231]. У щурячій моделі пошкодження зорового нерва Osborne зі співавторами продемонстрував підвищення виживаності ГКС і відсутність істотного несприятливого впливу на структуру сітківки або електрофізіологічні показники після інтравітреальної ін'єкції AAV2 TrkB-2A mBDNF [230].

Різні гени-мішені також вивчалися в експериментальних моделях глаукоми, включаючи BCLXL, NMNAT2, Мус-асоційований білок X та XIAP[232-235].

З удосконаленням секвенування всього генома та технології редагування геному, подальші гени, що пов'язані з патогенезом розвитку глаукоми, зможуть бути виявлені та перевірені як потенційні терапевтичні мішені. Хоча існує ще багато перешкод, які необхідно подолати до того, як генна терапія глаукоми стане клінічно доступною, прогрес у розумінні генетичної етіології глаукоми та прориви в нейропротекції ГКС із застосуванням різних моделей на тваринах все ще зберігають потенціал для створення нових меж генної терапії глаукоми.

Резюме до розділу 1

Аналіз вітчизняної та закордонної літератури є свідченням того, що проблема підвищення ефективності діагностики та лікування хворих на глаукому залишається актуальним завданням сучасної офтальмології в Україні, оскільки глаукома є однією з основних причин первинної інвалідності. Тяжкість перебігу і результати лікування хворих на глаукому в значній мірі залежать від швидкості діагностики, якості і ефективності патогенетично направленої лікування.

Встановлено, що одними з основних механізмів глаукоматозного ураження, що призводить до розвитку глаукоматозної нейропатії зорового нерва, є окислювальний стрес та мітохондріальна дисфункція.

Показано, що нейропротекторна терапія може відігравати вирішальну роль у лікуванні глаукоми. Поліпшення виживаності ГКС і зменшення загибелі клітин може не тільки уповільнити прогресування захворювання, але навіть відновити зорову функцію за рахунок регенерації тканин. На сьогодні лише деякі методи лікування виявляють нейропротекторний ефект в експериментальних або клінічних дослідженнях при глаукомі, та лише деякі з них привели до клінічно схваленої терапії. Шлях до досконалої нейропротекції глаукоми ще довгий.

Прогрес в еволюції нейропротекторної терапії, врахування патогенетичних факторів та визначення чинників, які будуть на субклінічних етапах демонструвати початок захворювання, допоможе прокласти шлях до розробки більш практичних та ефективних методів, що зможуть запобігти або затримати апоптоз ГКС. Це дозволить суттєво підвищити ефективність лікування хворих на глаукому та зменшити число інвалідів по зору.

Актуальність проблеми і невирішені питання визначили ряд завдань, що були сплановані для дослідження в данній дисертаційній роботі: визначення перебігу оксидативного стресу та мітохондріальної дисфункції в експериментальних і клінічних умовах; окреслення можливих клінічних маркерів оксидативного стресу для ранньої діагностики глаукоми; дослідження нових можливостей нейропротекторної терапії при лікуванні пацієнтів з глаукомою низького тиску та обґрунтування необхідності корекції окисного стресу з лікувальною метою.

РОЗДІЛ 2

ДИЗАЙН, МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Дизайн дослідження. Загальна характеристика роботи

Дослідження складались з експериментальної та клінічної частин.

Усі пацієнти дали письмову добровільну інформовану згоду на участь в обстеженні та використанні отриманих даних в дисертаційній роботі. Всі клінічні обстеження були неінвазивними.

Усі клінічні дослідження проведені з дотриманням основних біоетичних норм та вимог Гельсінської декларації, Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1977), відповідного положення ВООЗ, Міжнародної ради медичних наукових товариств, міжнародного кодексу медичної етики (1983) та Наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 року.

Усі експериментальні процедури проводили згідно норм Комітету з біоетики тварин Інституту фізіології імені О. О. Богомольця НАН України та відповідали директивам європейської комісії (86/609/ЕЕС), з дотриманням Закону України №3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (ВВР, № 27, ст. 230, від 2006 р. із змінами внесеними згідно із Законом №1759-VI від 15.12.2009, ВВР, 2010, №9, ст. 76) та загальними етичними принципами експериментів на тваринах (Перший Національний конгрес з біоетики 20.09.2001 р., м. Київ), а також Етичним кодексом вченого України (Національна академія наук України, 2009 р.), які узгоджуються з положеннями "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших цілей" (Страсбург, Франція, 1985).

Лікарські препарати, прилади, що були використанні при плануванні та проведенні досліджень під час виконання дисертаційного дослідження, дозволені до використання у медичній практиці відповідними державними уповноваженими інстанціями (МОЗ України, Державний фармакологічний центр МОЗ України та ін.).

Матеріали дисертаційної роботи були розглянуті на засіданні комісії з питань біоетики, при плануванні роботи (НМАПО імені П. Л. Шупика, Протокол №12 від 03.12.2018 року) та після завершення роботи (НУОЗ України імені П. Л. Шупика, протокол №08 від 07.11.2022 року).

2.2. Матеріал та методи експериментальних досліджень

Експериментальні дослідження проводили на 33 самцях щурів лінії Вістар масою 330-350 г віком 10 місяців, яких утримували на стандартному раціоні віварію Інституту фізіології імені О.О. Богомольця НАН України з вільним доступом до води. Були докладені усі зусилля для зменшення страждання тварин та мінімізації їх кількості. При проведенні усіх маніпуляцій дотримувалися умов антисептики та асептики.

Тварин рандомно розділили на три групи: контрольну (n=11), тварини якої не зазнавала жодних впливів, і дві дослідних (n=22), тваринам яких моделювали глаукому. Для моделювання глаукоми було обрано загальновідому методику І.М. Михейцевої [147]. Гіперкатехолемію тваринам дослідних груп досягали шляхом внутрішньоочеревинного введення препарату адреналіну (діюча речовина епінефрину гідротартрат, «Дарниця», Україна) протягом 40 днів один раз у два дні [147]: перших 5 ін'єкцій з розрахунку 0,1 мг/кг, поступово збільшуючи дозу до 0,15 мг/кг. Тваринам І дослідної групи вводили лише адреналін (n=11), а тваринам II дослідної групи – адреналін і N-ацетилкарнозин (NAC) (n=11) у вигляді препарату кларастил («Bruschettini», Італія), який закапували в кон'юнктивальний мішок по 1-2 краплі в обидва ока щодня протягом місяця.

У правому і лівому очах вимірювали внутрішньоочний тиск (ВОТ) на різних етапах спостереження за допомогою апланаційного тонометра (Icare® TONOVET tonometer, Finland). Застосовували загальновідому методику вимірювання ВОТ у гризунів [236]. ВОТ реєстрували у вихідному стані, через 40 діб після початку введення адреналіну, а також через 42 доби після відміни препарату.

Здійснювали забір тканин ока для дослідження ультраструктури або для біохімічних показників.

Усі морфологічні та морфометричні дослідження виконували на фотографіях сітківки ока, отриманих на електронному мікроскопі «ПЕМ-125К» (Україна). У морфологічних і морфометричних дослідженнях використовували сітківку ока контрольних і дослідних тварин. Препарати для електронномікроскопічних досліджень виготовляли за загальноприйнятою методикою [237]. Фіксували біологічний матеріал миттєво, вносячи зразки в забуферений (рН 7,4) 2,5%-й розчин глутарового альдегіду; дофіксацію здійснювали за допомогою реактиву Колфілда (на основі 2% OsO₄; рН 7,4; «Sigma», США); матеріал зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації, абсолютному спирті та ацетоні з заливкою в епон («Fluka», Швейцарія). Ультратонкі зрізи товщиною 40-60 нм контрастували 1%-ми розчинами уранілацетату та цитрату свинцю відповідно до методики Рейнольдса [238]. За допомогою комп'ютерної програми ImageTool (США) у 130-150 полях зору для кожної серії досліджень визначали такі морфометричні характеристики мітохондрій, як середня загальна кількість, середня кількість структурно змінених та їх середній діаметр.

Відповідно до сучасної номенклатури прийнято вирізняти такі шари сітківки ока: шар клітин пігментного епітелію, шар зовнішніх та внутрішніх сегментів фоторецепторів, зовнішня погранична мембрана, зовнішній ядерний шар, зовнішній сітчастий шар, внутрішній ядерний шар, внутрішній сітчастий шар, гангліонарний шар, шар нервових волокон, внутрішня погранична мембрана [239]. Усі ці шари тією чи іншою мірою задіяні у формуванні патологічних змін при підвищенні ВОТ. Проте в морфологічному та морфометричному дослідженні ми не робили акценту на дослідженні змін, котрі спостерігалися в сітківці, за її шарами, а зосереджували увагу на тканинних, клітинних особливостях та відмінностях ультраструктури окремих органел при підвищенні ВОТ, викликаного дією адреналіну. На електронних мікрофотографіях проводили також

морфометричну оцінку середньої арифметичної товщини (τ) ендотеліальної вистилки капілярів (ЕН) та перикапілярних просторів (ПКП), а також відстані τ від крові капілярів безпосередньо до тканини сітківки – «гістогематичного бар'єра» (ГГБ) – за принципом випадкового відбору зразків (по 80 при кожному впливі) [240].

Для біохімічних досліджень зразки тканин ока подрібнювали та негайно заморожували у рідкому азоті. Інтенсивність оксидативного метаболізму вивчали за зміною швидкості генерації нестабільних вільних радикалів кисню – супероксидного аніон-радикала ($\cdot\text{O}_2^-$), гідроксильного радикала ($\cdot\text{OH}$) і кінцевих продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) – малонового діальдегіду (МДА), дієнових кон'югатів (ДК), а також ейкозаноїда лейкотрієну C_4 (LTC_4).

Швидкість генерації $\cdot\text{O}_2^-$ в гомогенатах тканин визначали за окисненням цитохрому *c* у тріс- HCl -буфері (10 ммоль/л; рН 7,4), фіксуючи зміни екстинції ($\lambda = 550$ нм) після інкубації проби при 37°C протягом 30 хв. Вміст супероксиду, генерованого пробами під час інкубації, визначали за коефіцієнтом молярної екстинції $\lambda = 21000$ моль $^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ [241].

Для визначення швидкості генерації гідроксильного радикала готували інкубаційну суміш у складі (ммоль/л): дезоксирибоза – 20; H_2O_2 – 1; натрій-фосфатний буфер – 20; рН 7,4. Пробу інкубували при 37°C протягом 60 хв, додавали 0,5 мл 1%-го розчину тіобарбітурової кислоти (ТБК) у розчині NaOH (50 ммоль/л) і 0,5 мл 2,8%-го розчину трихлороцтової кислоти (ТХК). Отриману суміш витримували на водяній бані 20 хв, охолоджували та реєстрували величину екстинції при $\lambda = 532$ нм. Вміст $\cdot\text{OH}$ -радикала, що генерувався при цьому, виражали в умовних одиницях $\Delta\text{E} \cdot 10^2$ за 60 хв на 1 мг білка проби [242].

Вміст МДА визначали так: до аліквот проб додавали 0,5 мл 1%-го розчину ТБК у 50 ммоль/л NaOH і 0,5 мл 2,8%-го розчину ТХК. Отриману суміш витримували 20 хв. на водяній бані. В цей час формувався триметиновий комплекс як похідне червоного забарвлення, охолоджували і

вимірювали екстинцію при $\lambda = 532$ нм. Вміст МДА розраховували з використанням коефіцієнта молярної екстинції $15600 \text{ моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ [243].

Вміст LTC_4 визначали в спиртових екстрактах із заморожених у рідкому азоті та розтертих у порошок пробах за допомогою радіоімунного методу, користуючись стандартними добірками реактивів «Amersham» (Велика Британія). Радіоактивність проб вимірювали на лічильнику фірми «Bacman» (Німеччина).

Методика визначення вмісту ДК включала екстракцію ліпідів із зразків за допомогою органічних розчинників (гептан/ ізопропанол 1:1) і вимірювання екстинції при $\lambda = 232$ нм [244]. Для перерахунку використовували коефіцієнт молярної екстинції $21000 \text{ моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$.

Вміст загального білка в пробах визначали за методом Лоурі [245].

Експериментальні результати перевіряли на нормальність розподілу за допомогою критерію Шапіро–Уїлка. Наводити їх у вигляді $M \pm m$, вірогідність відмінностей між показниками дослідних і контрольної груп оцінювали за критерієм t Стьюдента.

2.3. Матеріал клінічних досліджень

У дослідженні взяли участь 64 пацієнти (128 очей). Всі пацієнти були обізнані про характер дослідження та підписали інформовану згоду. Протягом дослідження пацієнти були розподілені на дві групи. Основну групу склали 46 пацієнтів (92 ока) з глаукомою низького тиску I (48 очей – 52,17%) та II (44 ока – 47,83%) стадії захворювання. Гендерна і вікова характеристика пацієнтів основної групи виглядала наступним чином: серед обстежених було 16 чоловіків (34,8%) і 30 жінок (65,2%) у віці від 50 до 72 років, середній вік яких становив 61 ± 8 років.

У групу порівняння увійшли 18 пацієнтів (36 очей) з гіперметропією до 1,0 дптр без глаукоми віком від 51 до 73 років, середній вік 62 ± 9 років, 61,1% жінок та 38,9% чоловіків. Обидві групи були порівнянні за віком та статтю.

Пацієнти основної групи були розділені на 2 підгрупи. Пацієнти I підгрупи основної групи (46 очей) протягом спостереження отримували комплексне нейропротекторне лікування. Середній рівень внутрішньоочного тиску в I підгрупі дорівнював 17.59 ± 1.3 мм рт.ст. (з поправкою на товщину рогівки). У II підгрупу основної групи увійшли 23 пацієнти (46 очей), результати обстеження яких були включені на основні ретроспективного аналізу амбулаторних карток, які не отримували нейропротекторного лікування. Внутрішньоочний тиск у II підгрупі основної групи коливався в середньому в межах 18.61 ± 1.2 мм рт. ст. (з поправкою на товщину рогівки).

Протягом дослідження всім пацієнтам проводилося комплексне офтальмологічне обстеження, яке включало:

– *клінічні обстеження*: вивчення анамнезу, візометрію, біомікроскопію (Carl Zeiss, Topcon), офтальмоскопію (SL-3C, Topcon Corporation, Japan; Ocular MaxField® 78D, USA), гоніоскопію (Ocular, USA), тонометрію (Topcon, Japan, Icare IC 200), рефрактометрію (Topcon, Japan), пахіметрію (OCT Visante, Zeiss), уз-ехобіометрію (Sonomed, USA), статичну та кінетичну периметрію (Humphrey 750I, Zeiss), ОКТ та ангио-ОКТ диску зорового нерва, шару гангліозних клітин і макули (REVO NX Version 10.0.0 Device SN: 1560790/16; Cirrus HD-OCT 5000, Zeiss);

– *електрофізіологічні дослідження*: визначення зорових викликаних потенціалів (на реверсивний шахматний патерн, спалах та рух) і електроретинограму (Нейро-МВП мікро, ТОВ «Укрмедспектр»);

– *лабораторні дослідження*: визначення показників загального аналізу крові (еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів, ШОЕ, гемоглобіну), глюкози крові, глікованого гемоглобіну, заліза сироваткового, феритину, трансферину, фолівої кислоти, сечової кислоти (калориметричним методом), креатинину, холестерину, білка загального, малонового діальдегіду (MDA, спектрофотометричним аналізом, в реак-ї з тіобарбітуратом кислотою), супероксиддисмутази (SOD, спектрофотометричним аналізом), каталази (КТ, спектрофотометричним

аналізом), ціанокобаламіну (вітаміну B12), вітаміну С, вітаміну А, вітаміну Е (спектрофотометричним методом).

Термін динамічного спостереження за пацієнтами складав 2 роки, протягом яких оцінку офтальмологічного статусу пацієнтів проводили: перший візит (первинний скринінг), через 3 місяці (другий візит), через 6 місяців (третій візит), через 12 місяців (четвертий візит), через 18 місяців (п'ятий візит) та через 24 місяці (шостий візит).

Схеми лікування пацієнтів були наступні – пацієнти I підгрупи основної групи отримували курс комплексної нейропротекторної терапії 2 рази на рік протягом 2 років: місцево топічний препарат – очні краплі, які включали N-ацетилкарнозин (очні краплі Кларастіл, Bruschettini S.R.L., Італія) в щоденних трьох-кратних інстиляціях протягом 4 місяців, потім після 2-х місячної перерви ще протягом 4 місяців. Загальна терапія включала: *антагоніст NMDA рецепторів* (цитиколін (Cognizin[™]), 500 мг за добу протягом 60 днів), *BDNF – фактор* (кортексин, 10 мг за добу, через день, 14 ін'єкцій), *антиоксиданти та антигіпоксанти* (емоксипін, 20 мг за добу, 14 ін'єкцій); ретінілацетат (*вітамін А*), 600 мкг за добу 60 днів; L-аскорбінова кислота (*вітамін С*), 60 мг за добу 60 днів; DL-альфа-токоферілацетат (*вітамін Е*), 8,2 мг за добу 60 днів; птероїлмоноглутамінова кислота (*фолієва кислота*), 150 мкг за добу 60 днів; ціанокобаламін (*вітамін B12*), 1,875 мкг за добу 60 днів; цитрат цинку, 6,25 мг за добу 60 днів), *амінокислоти* (церебролізін, 430,4 мг за добу, через день, 14 ін'єкцій).

2.4. Клінічна характеристика досліджуваних груп пацієнтів

Клінічні дослідження проведені на клінічних базах кафедри офтальмології Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика: Київській міській клінічній офтальмологічній лікарні «Центр мікрохірургії ока» (2018-2020), універсальній клініці «Оберіг» (2020-2022), медичному центрі «Очі Клінік» (2020-2022) та медичному центрі «Verum» (2020-2022).

При дослідженні використовувалися наступні критерії відбору:

Критерії включення пацієнтів у дослідження:

- вік від 47 років та більше;
- клінічно встановлений діагноз глаукоми низького тиску (основна група) або її відсутність (група порівняння);
- інформована письмова згода пацієнта (представника пацієнта) на проведення дослідження та участь в динамічному спостереженні;
- дотримання рекомендацій щодо проходження курсів нейропротекторного лікування з приводу глаукоми протягом 2-х років і більше;
- здатність пацієнта до адекватної співпраці в процесі дослідження.

Критерії невключення:

- вік менше 47 років;
- внутрішньоочний тиск вище ніж 20 мм рт.ст;
- неможливість проведення візуалізації заднього відрізка ока (офтальмоскопії, ОКТ, ангіо-ОКТ тощо);
- наявність супутніх офтальмологічних захворювань, які можуть знижувати зорові функції;
- опероване відшарування сітківки;
- вітреоретинальні або інші інтраокулярні операції за останні 3 місяці;
- наявність в анамнезі черепно-мозкової травми;
- наявність ендокринних захворювань в анамнезі (цукровий діабет тощо);
- наявність аутоімунних захворювань в анамнезі;
- наявність психічних захворювань та неврологічних розладів, які заважатимуть пацієнтові розумінню умов участі в дослідженні.

Критерії виключення досліджуваних із дослідження:

- відмова пацієнтів проходити певні етапи діагностичних досліджень або недотримання строків проходження досліджень.

Згідно до завдань дослідження, всі пацієнти, які проходили обстеження в рамках даної дисертаційної роботи, були розділені на групи.

Розподіл досліджуваних пацієнтів в групах в залежності від статі, тривалості хвороби, віку наведено в таблиці 2.1. Основна група включала I та II підгрупи.

Таблиця 2.1

Розподіл пацієнтів по групах, n=64 (128 очей)

Показник		Стать		Середній вік, років	Тривалість хвороби, років
		Чоловіки	Жінки		
Абс. / %	Основна група I підгрупа, n= 23 (46 очей)	8 / 17,4%	15 / 32,6%	62±7	2,1±0,7
	Основна група II підгрупа, n= 23 (46 очей)	8 / 17,4%	15 / 32,6%	60±9	2,2±0,5
	Група порівняння, n= 18 (36 очей)	7 / 38,9%	11 / 61,1%	62±9	-
	Рівень значущості відмінності, p	0,129		0,156	0,214

Згідно даних таблиці 2.1, в дослідженні брали участь переважно жінки, середній вік яких становив 62±9 років. Статистично значущої відмінності розподілу пацієнтів за статтю та віком в основній та групі порівняння не виявлено.

2.5. Методи клінічних досліджень

Під час проведення дисертаційного дослідження всім пацієнтам здійснювали комплексне офтальмологічне обстеження.

Збір анамнезу та аналіз факторів ризику. Опитування пацієнтів та виявлення факторів ризику проводилися згідно рекомендацій Європейського галукомного товариства щодо глаукомних пацієнтів [246]. Особлива увага приділялась патогномонійним скаргам щодо зниження функцій, звуженню полів зору пацієнтів та наявністю плями перед ураженим оком, які вказують

на патологію зорового нерва. Крім того, оцінювали наявність або відсутність цукрового діабету, паління.

Візометрія. За стандартною загальноприйнятою методикою з відстані 5 метрів з використанням таблиць logMAR досліджували гостроту зору без корекції та з максимальною корекцією.

Периметрія. Периферичні межі та центральні поля зору оцінювалися за допомогою набору стандартних програм «Central 30-2», «White White», «Full Screening», «Peripheral 60-4», «FF-120 Screening», «Standard 30 kinetic» комп'ютерного периметру (Humphrey 750I, Zeiss) з використанням стимулів, відтворених світлодіодами [247]. Дослідження проводили в стандартних мезопічних умовах при сидячому положенні хворого. Завдяки програмам автоматичного аналізу отримували карту полів зору, яка допомагала виявити скотоми (проблемні крапки) в центральному зорі. Зміни порівнювали із нормативною базою шкал скотом та кількісно оцінювали в абсолютних величинах [247].

Біомікроскопія ока. Біомікроскопію переднього та заднього відрізків ока проводили в умовах медикаментозного мідріазу за стандартною методикою [248] із застосуванням щілинної лампи (Carl Zeiss, Topcon №10410781). Наявність патології рогівки, кришталика, скловидного тіла, що значно знижувало зір та перешкоджало візіалізації заднього відрізка та проведення оптичної когерентної томографії, ангіо-ОКТ, була критерієм невиключення в дослідження.

При біомікроскопії заднього відрізка ока (за загальноприйнятою методикою) додатково застосовували асферичні лінзи 78дптр. (OCULAR MaxField®) в умовах медикаментозного мідріазу [249]. Після фундускопії всі пацієнти обстежувалися із застосуванням ОКТ, ангіо-ОКТ макулярної ділянки та зони диска зорового нерва. Особливу увагу приділяли наявності геморагій в ділянці диска зорового нерва, їх положенню, яке аналізували по відношенню до кількесних показників, отриманих із застосуванням ОКТ та ангіо-ОКТ.

Гоніоскопія. За допомогою гоніоскопів типу Goldman або Van Boiningen оглядали кут передньої камери. Оцінювали ширину кута, ступінь пігментації трабекули, профіль кута, наявність та/або відсутність гоніосинехій. Зміни оцінювали кількісно за п'ятибальною системою. Ширину кута передньої камери та його пігментацію оцінювали за загальновідомою методикою з невеликими модифікаціями [250].

Тонометрія. Внутрішньоочний тиск вимірювали за стандартною методикою [251] із застосуванням безконтактно-оптичного методу на автоматичному тонометрі (СТ-80 №1572841, «TOPCON Corporation», Японія) та використуючи рикошетну тонометрію (ICare IC 200, Фінляндія) Дослідження проводили тричі, для кожного ока окремо, обчислювали усереднене значення. Отримані результати з використанням обох методів порівнювали. При середньому результаті вимірювання ВОТ більше ніж 20 мм рт.ст. – пацієнти не включались у дослідження.

Пахіметрія. Визначення центральної товщини рогівки проводили за загальновизнаною методикою (OCT Visante, Zeiss). Результати брали до уваги при оцінці внутрішньоочного тиску.

Рефрактометрія. За допомогою авторефрактометра (RM-8800 №4020396, «Topcon Corporation», Японія) визначали об'єктивну рефракцію. Підбір оптичної сили окулярної корекції проводили із застосуванням стандартних методик дослідження згідно рекомендацій і інструкцій до роботи з приладом [252].

УЗ-ехобіометрію проводили на ультразвуковому діагностичному комплексі (Sonomed, USA).

Оптична когерентна томографія (ОКТ, optical coherence tomography). Вивчення морфологічних особливостей диска зорового нерва (ДЗН), перипапільної дямки сітківки виконували у всіх пацієнтів безконтактним неінвазивним методом на апараті REVO NX Version 10.0.0 Device SN: 1560790/16, шар гангліозних клітин і макули із застосуванням Cirrus HD-OCT 5000, Zeiss.

Сучасна діагностична технологія дала змогу отримати зображення зрізів оболонок ока з високою роздільною здатністю та за допомогою світлового сигналу виміряти їх товщину. Методика дозволяла виявляти ранні порушення анатомо-функціонального стану сітківки та оцінювати ступінь цих змін [253]. Аналізуючі результати вимірювань, особливу увагу звертали на параметри: горизонтальне співвідношення екскавація-диск; вертикальне співвідношення екскавація-диск; наявність перипапільярної атрофії β -зони; визначення виїмки нейроретинального паска в нижньому сегменті; вогнищеву втрату шару нервових волокон сітківки (RNFL).

Проводили кількісну оцінку гангліонарного комплексу в перипапільярній і парамакулярній ділянках, дослідження перипапільярного ШНВС в темпоральному секторі, визначення обсягу нейроретинального обідка та їх співвідношення з якісними характеристиками відповідних ділянок (Рис.2.1).

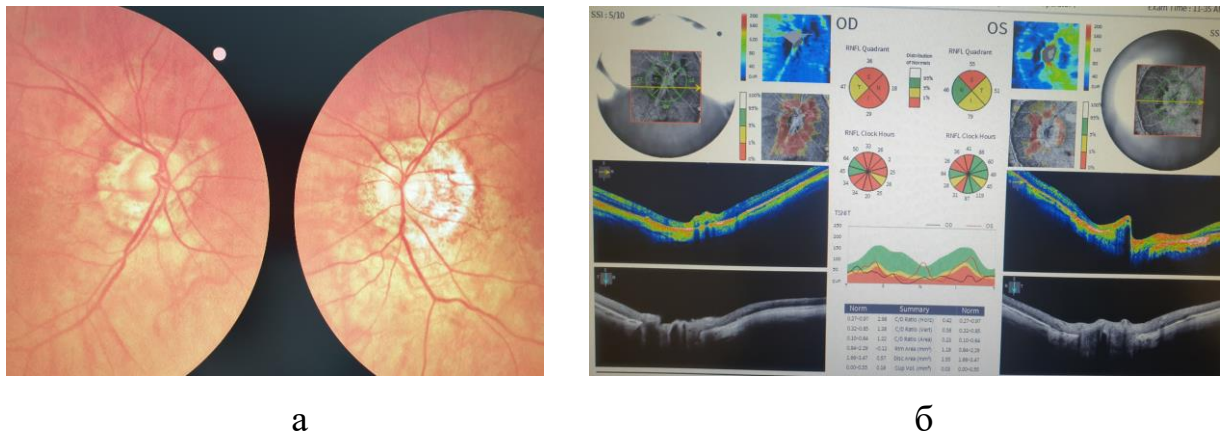


Рис. 2.1. Пацієнт А., 68 років, ГНТ I стадії. Фундус фото ДЗН (а)
та результати ОКТ (б)

При виконанні ангио-ОКТ визначали щільність судин диска зорового нерва та перипапільярної сітківки (на рівні поверхні сітківки, на рівні капілярної сітки шару нервових волокон, на рівні хоріокапілярів), обчислювали індекси кровотоку перипапільярних судин диска зорового нерва на різних рівнях (в поверхневій капілярній сітці, на рівні капілярної сітки шару нервових волокон та на рівні хоріокапілярів). Отримані кількісні

показники ангіо-ОКТ аналізували по відношенню до геморагій в ділянках ДЗН та перипапялярно (рис. 2.2)

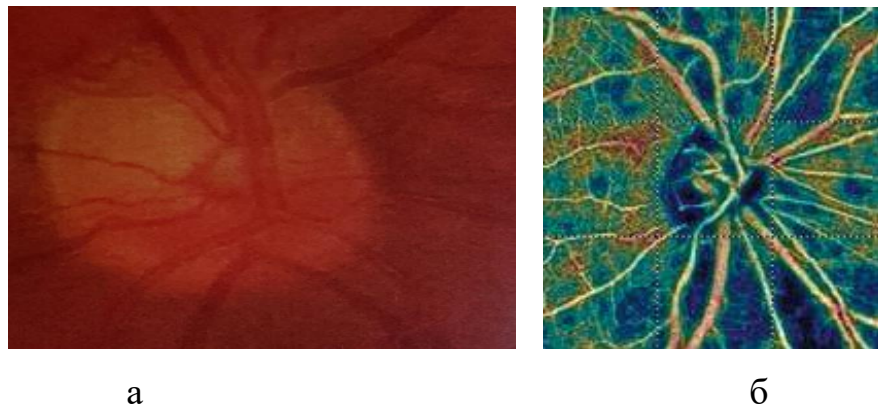


Рис. 2.2. Пацієнт М., 64 років, ГНТ II стадії. Фундус фото ДЗН (а) та результати ангіо-ОКТ (б)

Крім того, визначали щільність судин макулярної зони на різних рівнях та вимірювали відповідно на кожному з рівнів індекси кровотоку перифовеальних судин (поверхневого внутрішнього судинного сплетіння, глибокого внутрішнього судинного сплетіння, зовнішнього шару нейроепітелію та шару хоріокапілярів).

Електрофізіологічні дослідження. За загально визнаною методикою проводили визначення зорових викликаних потенціалів (ЗВП) та паттерн-електроретинограми (ЕРГ) на шаховий патерн, застосовуючи прилад Нейро-МВП мікро (ТОВ «Укрмедспектр») [254]. Використовували техніку реєстрації зорових викликаних потенціалів та паттерн ЕРГ.

На сьогодні метод реєстрації ЗВКП знайшов широке застосування в клінічній практиці з метою дослідження функціонального стану зорового шляху у пацієнтів з порушеннями офтальмоневрологічної сфери. Як стимулятор під час проведення дослідження використовується чи спалах світла (спалахові ЗВКП), чи реверсивні патерни з монітора (патерн-ЗВКП). Дослідження проводять без розширення зіниць.

Аналіз результатів ЗВКП оцінюється по амплітуді потенціалів (розрахунок в мілісекундах), які вимірюються в мікрвольтах, за формою запису і тимчасового латентного періоду від впливу світла до виникнення піків хвиль ЗВКМ. Звертають увагу і на різницю амплітуди потенціалу і величини латентності при світловій стимуляції правого і лівого ока по черзі [255]. За допомогою електрофізіологічних спеціалізованих систем «Нейрокартографа» проводиться обробка та реєстрація біопотенціалів [255].

Таким чином, ЗВКП є відображенням зміни функції у офтальмологічних пацієнтів і, крім того, дозволяють отримати інформацію кількісного характеру в ході проведення дослідження для діагностики патології зорового шляху[20].

Електроретинографія. ЕРГ є найбільш інформативним об'єктивним методом оцінки функціональної активності сітківки, що є по суті, викликаним потенціалом сітківки, графічним відображенням змін біоелектричної активності клітинних елементів сітківки у відповідь на світлове роздратування. ЕРГ залежить від кількості здорових функціонуючих клітин та відображає електричну активність більшості клітинних елементів сітківки. ЕРГ дозволяє визначити локалізацію патологічного процесу в її центральній і периферичній зонах, в зовнішніх і внутрішніх шарах сітківки. Метод дає можливість досліджувати активність окремо палочкову і колбочкову системи. Важливий аспект застосування методу – можливість діагностики початкових доклінічних змін в сітківці [254].

Крім того, повторна реєстрація ЕРГ дає можливість стежити за динамікою патологічного процесу, визначати прогноз перебігу захворювання та ефективність лікування. Як правило, разом з ЗВКП, ЕРГ проводять в якості диференціальної діагностики захворювань сітківки та зорового нерва[254].

Лабораторні дослідження. Протягом проведення дослідження у пацієнтів основної та групи порівняння проводили визначення показників загального аналізу крові (еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів, ШОЕ,

гемоглобіну), глюкози крові, глікованого гемоглобіну, заліза сироваткового, феритину, трансферину, фолівої кислоти, сечової кислоти, креатинину, холестерину, білка загального, малонового діальдегіду (MDA), супероксиддисмутази (SOD), каталази (КТ), ціанокобаламіну (вітаміну В12), вітаміну С, вітаміну А, вітаміну Е.

В основній групі у пацієнтів з ГНТ проводили визначення маркерів окислювального та антиоксидантного стреса та порівнювали отримані результати з даними пацієнтів групи порівняння, без глаукоми.

Визначення малонового діальдегіду (MDA, нмоль/мл) проводили в складі фракції ТБК-активних продуктів в реакції з тіобарбітуратом кислотою, спектрофотометричним аналізом за методикою М.І. Андрєєва [256]. Показник MDA в нормі дорівнював $3,3 \pm 0,2$ мкмоль/л.

Рівень супероксиддисмутази (SOD, МО мг/Нб) в сироватці крові вимірювали спектрофотометрично [257]. Норма SOD складала $29,5 \pm 2,4$ МО мг/Нб.

Каталазу (КТ, МО мг/Нб) в сироватці оцінювали спектрофотометрично, процедура Beers та Sizer (1952) [258], застосовуючи метод, розроблений Beutler [259]. Норма КТ – $392 \pm 11,0$ МО мг/Нб.

Для визначення інтегративного індексу Φ , який віддзеркалює співвідношення прооксидантних та антиоксидантних властивостей крові, – вміст кінцевого продукту пероксидації ліпідів (ПОЛ) – малонового діальдегіду (МДА) [256,260] спектрофотометрично. Індекс Φ обчислювали за формулою ($\Phi.1$):

$$\Phi = \text{СОД} - \text{КТ} / \text{МДА} \quad (1)$$

В нормі індекс Φ дорівнює – 3504 ± 28 .

Рівень Вітаміну С (мг/л) визначали в сироватці із застосуванням динитрофенілгідразиного методу, який впроваджено Roe та Kuether [258]. Рівень Вітаміну С в сироватці дорівнює 4,6-14,9 мг/л.

Проводили визначення рівнів Вітаміну А (Ретинол, мкг/мл) та Вітаміну Е (Токоферол, мг/л) в сироватці за допомогою спектрофотометрії по Бесс в модифікації Л. А. Анісімової. Референтні величини концентрації Ретинолу в сироватці крові дорослих – старше 18 років: 0,325-0,78 мкг / мл; Токоферолу – старше 20 років: 5,0-18,0 мг/л.

Рівень трансферину (г/л) вимірювали в сироватці імунотурбідиметричним методом із використанням набору Beckman [257]. Норма трансферину для пацієнтом віком 18-130 років складає 2,15-3,6 г/л.

Рівень сечової кислоти (мкмоль/л) в сироватці визначали калориметричним методом. Норма сечової кислоти для пацієнтом віком 18-130 років складає 150-350 мкмоль/л.

2.6. Методи лікування пацієнтів

Останні десятиліття стали свідками сплеску інтереса і появи нової інформації про раніше невідомі та менш вивчені аспекти глаукоми. Посмертне дослідження зорових нервів пацієнтів з глаукомою показало дегенерацію аксонального профілю, ознаки дегенерації в RGCs і втрати нейронів у шарі гангліозних клітин (GCL) [261]. Дослідженнями з магнітним резонансом демонструють транссинаптичну дегенерацію, що впливає на центральні ділянки зорової системи у пацієнтів з глаукомою – визначена втрата нейронів у гіпокампі та корі головного мозку, що спричинена накопиченням у бляшках аномально згорнутого бета-амілоїду ($A\beta$) та білка тау в мозку [262]. Все більше вчені та практикуючі лікарі – неврологи та офтальмологи – звертають особливу увагу на пошук нейропротекторних агентів, які направлені на загасання негативного впливу факторів, пов'язаних з розвитком та прогресуванням хронічної оптичної нейропатії, дозволяють захистити нейрони від ушкоджувальної дії ішемічного каскаду, запобігають механізмам розвитку мітохондріальної дисфункції, окислювального стресу, ексайтотоксичного пошкодження, фокальної ішемії, нейрональної «смерті» на клітинному та молекулярному рівнях, корегують системні та місцеві

порушення імунітету [263]. Таким чином, з кожним роком все більше обертів набирає впровадження заходів місцевої та загальної нейропротекції в повсякденну практику офтальмолога.

Для лікування 23 пацієнтів (46 очей), I підгрупа основної групи, була використана розроблена нами нова комплексна схема лікування хронічної оптичної нейропатії у хворих на глаукому низького тиску [264], яка наведена в таблиці 2.2. В схему лікування пацієнтів були включені лише препарати, які зареєстровані в Україні. Протягом дослідження нейропротекторну терапію призначала 2 рази на рік протягом 2 років.

Таблиця 2.2

**Комплексна схема лікування хронічної оптичної нейропатії
у пацієнтів I підгрупи основної групи, n=23 (46 очей)**

Препарат	Доза, кратність уведення	Терміни застосування
1	2	3
I. Прямі нейроцитопротектори		
<i>Антагоністи NMDA рецепторів, цитиколін (Cognizintm, Bausch&Lomb, США), 500 мг</i>	По 1 соше за добу	Мінімальний курс – 60 днів
<i>BDNF – фактор, «Кортексин», 10 мг</i>	Внутрішньом`язево 2,0 мл 1 раз/доб. Вміст флакона розчиняють у 2 мл води для ін'єкцій, або 0,9% розчину натрію хлориду і вводять через день 1 раз на добу.	Мінімальний курс – 14 днів

Продовження таблиці 2.2

1	2	3
II. Непряма нейропротекція		
<i>Антиоксиданти та антигіпоксанти:</i> (Cognizin tm , Bausch&Lomb, США): вітамін А, 600 мкг, вітамін С, 60 мг, вітамін Е, 8,2 мг, фолієва кислота, 150 мкг, вітамін В12, 1,875 мкг, цитрат цинку, 6,25 мг.	По 1 соше за добу	Мінімальний курс – 60 днів
<i>Ангіопротектори:</i> Емоксипін [®] , метилетилпіридинолу г/х, 10мг/мл (ПрАТ «Лекхім-Харків», України)	Внутрішньом`язево 2,0 мл (20 мг) 1 раз/доб через день	Мінімальний курс – 14 днів
<i>Ангіопротектори, амінокислоти:</i> Церебролізін [®] , 430,4 мг, розчин у ампулах по 2 мл (ЕВЕР Нейро Фарма ГмбХ, Австрія)	Внутрішньом`язево 2,0 мл 1 раз/доб через день	Мінімальний курс – 14 днів
III. Топічні препарати		
Н-ацетилкарнозин, очні краплі Кларастіл, Bruschettini S.R.L., Італія	Щоденні трьох-кратні інстиляції	4 місяці, після 2-х місячної перерви ще протягом 4 місяців

Із засобів первинної нейропротекції використовували препарати, які створюють енергокоригувальну і центральну холіноміметичну, тобто нейротрансмітерну, дію, беруть участь у формуванні та репарації мембран нервових клітин, синтезують ацетилхолін-нейротрансмітер для поширення

нервового сигналу. Одним із таких препаратів є сучасний холіноміметик (антагоніст NMDA рецепторів), цитиколін, який має виражену пряму холіноміметичну дію. Цей препарат оберігає нейрони головного мозку від надлишкових катехоламінових впливів шляхом протидії адренергічним подразникам, виконує метаболічну дію, входить до складу клітинних мембран і забезпечує їхні матричні функції.

Другим препаратом прямої вторинної нейропротекції застосовували багатокомпонентний засіб, який містить природні фактори нейрогенезу, нейротрофного фактора головного мозку (brain-derived neurotrophic factor, BDNF), Кортексин. Цей препарат невиснажливого типу з групи нейропептидів, який створює трофотропну дію на нейрони холінергічної групи, підсилює експресію гена ацетилхолінестерази, знижує активність індукцибельної NO-синтази і накопичення в мозку продуктів окисної модифікації білка. Кортексин усуває дисбаланс про- і протизапальних цитокінів і підвищує вміст нейротрофічних факторів (NGF-b 1, BDNF).

Базову нейропротекторну схему доповнювали офтальмологічними препаратами на основі N-ацетилкарнозин. N-ацетилкарнозин є аналогом ендогенного дипептиду з антиоксидантними властивостями карнозину (β -аланіл-L-гістидину). Екзогенний N-ацетилкарнозин також проявляє антиоксидантні властивості, має здатність проникати в передню камеру ока, де потім метаболізується до L-карнозину і реалізує свою антиоксидантну дію. Другою характеристикою N-ацетилкарнозину є його шапероноподібні властивості.

На сьогодні антиоксидантна фармакотерапія стала одним з оптимальних напрямів розвитку стратегії нейропротекції, оскільки дозволяє забезпечити захист нейронів від дії універсальних ушкоджувальних факторів. Загальновідома вільнорадикальна теорія, що доводить основну роль оксидативного стресу в процесах ішемії, які призводять до вікових змін організму, насамперед, у головному мозку, ушкоджують тканини різних органів і систем. Не викликає сумнівів необхідність спрямованого

фармакологічного впливу на процеси утворення вільних радикалів, тобто речовин антиоксидантного типу дії, в офтальмології. Саме з цією метою в схему лікування була включена науково-обґрунтована формула, яка поєднувала декілька категорій речовин: цитиколін, антиоксиданти та антигіпоксанти. Комплекс Cognizin[™] з ретінілацетатом (*вітамін А*), 600 мкг за добу; L-аскорбіною кислотою (*вітамін С*), 60 мг; DL-альфа-токоферілацетатом (*вітамін Е*), 8,2 мг за добу; птероїлмоноглутаміною кислотою (*фолієва кислота*), 150 мкг за добу; ціанокобаламіном (*вітамін В12*), 1,875 мкг за добу та цитратом цинку, 6,25 мг за добу. Кожна із складових комплексу є потужним антиоксидантом та антигіпоксантом, здатна стабілізувати мембрану мітохондрій і заощаджувати споживання клітинами кисню, сприяє зміцненню захисних сил організму, захищає мембрани клітин від окисного ушкодження.

Другим ангіопротекторним препаратом був Емоксипін[®], який знижував вязкість крові, мав фібринолітичну активність, збільшував вміст циклічних нуклеотидів у тканинах, зменшував проникність судинної стінки та покращував мікроциркуляцію, ефективно інгібував вільно-радикальне окислення ліпідів біомембран, підвищував активність антиоксидантних ферментів, стабілізував цитохром Р-450, чинив антитоксичну дію, при екстремальних ситуаціях, що супроводжуються посиленням перекисного окислення ліпідів і гіпоксією – оптимізував біоенергетичні процеси.

Крім того, у схему лікування було додано також ноотропний засіб та ангіопротектор церебролізін[®], пептидний препарат, що виробляється з головного мозку свиней, має нейротрофічну активність, стимулює диференціацію клітин, покращує функцію нервових клітин і активує механізми захисту і відновлення, стабілізує мікроциркуляцію, збільшує кількість молекул, які забезпечують транспортування глюкози через гематоенцефалічний бар'єр, компенсуючи таким чином критичний дефіцит енергії, безпосередньо впливає на нейрональну і синаптичну пластичність, що сприяє поліпшенню когнітивних функцій.

2.7. Методи статистичного аналізу та математичної обробки результатів дослідження

Отримані результати обробляли статистично за допомогою ліцензійного програмного пакету Statistica 10 (StatSoft, Incorporates, США) і Excel 2010 (Microsoft Corporation, США). Обробку результатів клініко-функціональних та морфометричних досліджень проводили із застосуванням методів дисперсійного аналізу та варіаційної статистики. Оцінку різниці між середніми величинами досліджуваних показників у вибірках проводили із використанням t-критерію Стьюдента.

Основні статистичні характеристики оцінювали за допомогою параметричних методів, які наведені в таблицях дисертаційної роботи: M – середнє арифметичне значення, m – похибка середнього арифметичного значення, p – досягнутий рівень статистичної значущості, n – об'єм вибірки аналізованої групи. Завдяки визначенню t-критерія отримана можливість знайти ймовірність того, що середні значення кількісних ознак, які розраховані для різних груп, відносяться до одної і тієї ж сукупності [265].

При ймовірності (p) нижче рівня значущості ($p < 0,05$), вважали, що дані виборки належать до двох різних сукупностей, оскільки їх середні значення мали статистично значущі відмінності або достовірно різняться між собою. При ймовірності вище обраного рівня значущості ($p > 0,05$) – виборки відносились до одної сукупності, тобто між їх середніми значеннями не було статистично значущих відмінностей. Критичне значення рівня значущості приймалося рівним 0,05 [265].

У разі нечислених виборок розраховували адекватніший параметричний критерій (F – Фішера) і непараметричний критерій (Z – знаків) [265].

У випадках відмінності закону розподілу від нормального використовували непараметричні критерії: Mann-Whitney U Test; Wilcoxon Matched Pairs Test. При визначенні кореляційних зв'язків між

досліджуваними клініко-фізіологічними показниками застосовували обчислення коефіцієнту простої кореляції Пірсона, що дозволив визначити кореляційну залежність між ознаками, які мають різні одиниці виміру. При необхідності аналізу кількісної оцінки величини ефекту для якісних ознак обчислення проводили за показником відношення шансів (ВШ; Odds Ratio – OR). Для узагальнення отриманих результатів розраховували 95% вірогідний інтервал ($\pm 95\%$ BI; Confidence limit for means Interval – CI). [265].

2.8. Дотримання етичних норм дослідження

Усі експериментальні процедури проводили згідно норм Комітету з біоетики тварин Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України та відповідали директивам європейської комісії (86/609/ЕЕС), Етичного кодексу вченого України (НАН України, 2009), закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (ВВР, 2006 N27, стр.230, із змінами, внесеними згідно із Законом N1759-VI (1759-17) від 15.12.2009, ВВР, 2010, N9, ст.76). Були докладені усі зусилля для зменшення страждань тварин та мінімізації їх кількості. При проведенні усіх маніпуляцій дотримувалися умов антисептики та асептики.

Участь пацієнтів в дослідженні була цілком добровільною. Обстеження пацієнта проходили під час амбулаторного прийому і/або стаціонарного спостереження на клінічних базах кафедри офтальмології Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика: Київській міській клінічній офтальмологічній лікарні «Центр мікрохірургії ока», універсальній клініці «Оберіг», медичному центрі «Очі Клінік» та медичному центрі «Verum».

Всі пацієнти були у повному обсязі обізнані про характер дослідження і підписали інформовану згоду на проведення діагностичного обстеження та використання персональних даних згідно дизайну клінічного дослідження, затвердженого засіданням комісії з питань етики НМАПО імені П. Л. Шупика (Протокол №12 від 03.12.2018 року).

Дослідження проводили з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину, Хельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964 року, з подальшими доповненнями, включаючи версію 2000 року) та чинними нормативно-правовими актами України: «Основам законодавства України про охорону здоров'я» (1993), «Про лікарські засоби» (1996), «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006), «Про захист персональних даних» (2010), «Про вищу освіту» (2017), Постанова КМУ від 09.11.2004 року №1497, Наказ МОЗ України №616 від 03.08.2012 року «Про затвердження Правил проведення клінічних випробувань медичної техніки та виробів медичного призначення, Наказ МОЗ України № 690 від 23.09.2009 року (зі змінами і доповненнями, внесеними Наказом МОЗ №523 від 12.07.2012 року; №304, 06.05.2014; № 966, 18.12.2014; № 639, 01.10.2015), «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах», № 244 від 01.03.2012.

Заключне засідання комісії з питань етики НУОЗ України імені П. Л. Шупика розглянуло звіт та інші матеріали про завершене дослідження (Протокол №08 від 07.11.2022 року), прийняло рішення схвалити проведене дане експериментально-клінічне дослідження, що відповідає міжнародним нормативним актам та законам України.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ЧИННИКІВ, ЩО ПРИЗВОДЯТЬ ДО ОКИСНОГО СТРЕСУ ТА МІТОХОНДРІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ В СІТКІВЦІ ОКА У ЩУРІВ ТА ВИЗНАЧЕННЯ ШЛЯХІВ КОРЕКЦІЇ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Багато життєвих ситуацій супроводжуються активацією симпатичної нервової системи і підвищенням рівнів катехоламінів у крові та тканинах серцево-судинної системи. Довготривала стимуляція β -адренергічних рецепторів катехоламінами викликає розвиток серцево-судинних уражень, що включають порушення кровопостачання тканин і загибель клітин серця та мозку. З метою вивчення механізмів уражень цих та інших тканин з високим рівнем обміну речовин і пошуку шляхів попередження цих порушень уже довгий час використовується експериментальна модель їх відтворення шляхом введення тваринам великих доз катехоламінів. Зокрема, широкоживаною є модель інфаркту міокарда, яка передбачає введення 55-100 мг/кг ізопротеренолу і є класичною для пошуку кардіопротективних засобів [145]. В багатьох роботах показано, що хронічна стимуляція β -адренорецепторів супроводжується перевантаженням клітин кальцієм, розвитком окисного стресу та пригніченням антиоксидантової системи, активацією міокардіального запалення зі збільшенням експресії прозапальних цитокінів, а також апоптотичною і некротичною загибеллю клітин міокарда [146].

Однак зрозуміло, що як при природній так і при експериментальній гіперкатехолемії її небезпечний вплив на життєздатність клітин не обмежується тканинами серця, а беззаперечно впливає на тканини інших органів. Зокрема, підтвердженням негативного впливу введення високих доз катехоламінів є довготривале підвищення внутрішньоочного тиску, яке спостерігається при глаукомі [147]. Ці основні наслідки було описано та взято за основу при створенні експериментальної моделі глаукоми, яка вже тривалий час застосовується у різних наукових дослідженнях з офтальмології

[147]. В той же час механізми змін тканин ока при таких впливах на сьогодні залишаються до кінця не з'ясовані. Основною мішенню пошкоджуючої дії в даній ситуації стає сітківка ока і зоровий нерв, ураження яких саме і призводить до втрати зору при глаукомі.

Враховуючи вищенаведене, метою еспериментальної частини нашого дисертаційного дослідження було оцінити внутрішньоочний тиск, морфологію і показники окисного метаболізму у тканинах сітківки ока щурів на фоні великих доз катехоламінів, зокрема адреналіну.

3.1. Дослідження впливу окисного стресу на морфологічні та функціональні порушення в сітківці ока у щурів

Експериментальні дослідження були проведені на 22 щурах лінії Вістар масою 330-350 г віком 10 місяців. Тварин рандомно розділили на дві групи: 1) контроль (n=11), 2) дослід (n=11). Моделювання гіперкатехолемії тваринам дослідної групи здійснювали шляхом 20 внутріочеревинних ін'єкцій епінефрину гідротартрата протягом 40 днів згідно описаного способу [147]. Вимірювання внутрішньоочного тиску (ВОТ) в правому і лівому очах здійснювали на різних етапах спостереження, застосовуючи рикошетну тонометрію NonoVet.

При вимірюванні ВОТ з'ясувалось, що у інтактних тварин 10 місячного віку значення ВОТ становили $8,54 \pm 0,28$ і $8,36 \pm 0,38$ мм рт. ст. в правому і лівому оці відповідно. Введення щурам препарату адреналіну протягом 40 діб супроводжувалось вірогідним збільшення ВОТ, значення якого становило $10,1 \pm 0,69$ і $10,3 \pm 0,61$ мм рт. ст. в правому і лівому оці відповідно ($p < 0.03$ порівняно з фоновим для обох значень).

Варто зазначити, що підвищений ВОТ у дослідній групі спостерігався і через 42 дні після останнього введення препарату адреналіну і становив $11,2 \pm 0,9$ і $9,7 \pm 0,36$ мм рт. ст. в правому і лівому оці відповідно, що було достовірно вище порівняно з фоновим ($p < 0.04$ для обох значень).

Таким чином, отримані результати вказують на зростання ВОТ за дії препарату адреналіну в обох очах, в середньому, на 21%, з тривалим стійким ефектом після припинення введення адреналіну, що є співставним з даними літератури [147].

В морфологічному та морфометричному дослідженні ми зосереджували увагу на тканинних, клітинних особливостях та відмінностях ультраструктури окремих органел при підвищенні ВОТ, викликаного дією адреналіну.

Головна і загальна відмінність ультраструктурної організації сітківки ока у тварин 2-ї групи полягала у різноманітних і виражених проявах тотального та локального набряку структур, що входять до її складу. Така особливість частково пояснюється саме підвищенням загального ВОТ, оскільки для розвитку гідростатичних набряків головну роль відіграє підвищення тиску в капілярах (у даному випадку – у капілярах сітківки). Проте, не можна також нехтувати такими механізмами, як зниження колоїдно-осмотичного (онкотичного) тиску плазми крові з виходом рідини з судинного русла в тканини та мембраногенного механізму, зумовленого підвищенням проникності цитоплазматичних мембран та мембран окремих органел, наприклад, внаслідок розвитку тканинної гіпоксії [266]. Останній механізм у досліджуваному випадку може відігравати досить суттєву роль.

Виявлено, що відбуваються деструктивні зміни нейронів сітківки з утворенням великих вакуолей та розривів, тотальним просочуванням тканини плазмою крові (Рис. 3.1).

Через це матрикс було представлено у вигляді слабкої електроннощільної аморфної погано структурованої речовини з вираженими проявами деструкції. Мітохондрії (МХ) також піддавалися деструктивним змінам, були частково або повністю вакуолізованими (Рис. 3.2, а).

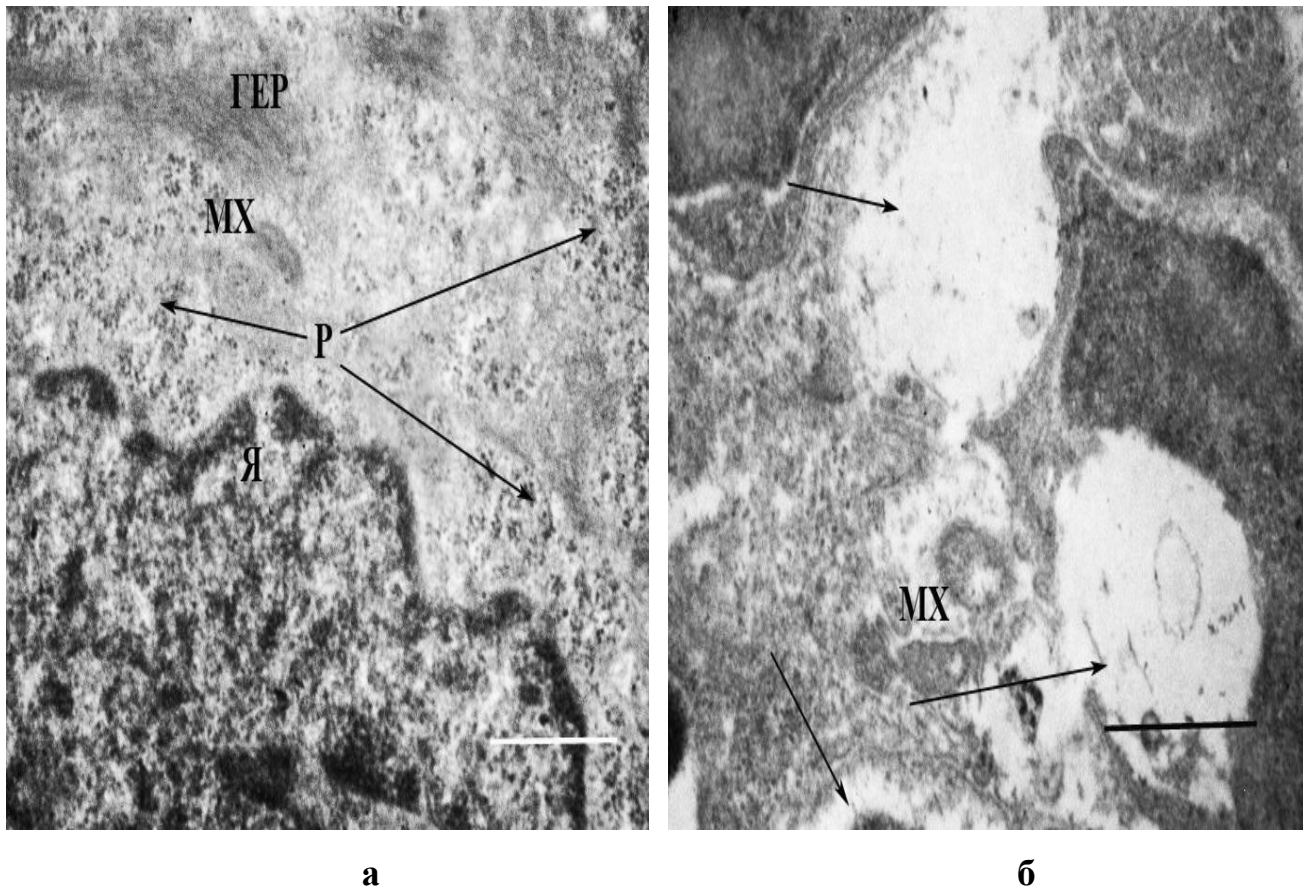


Рис. 3.1. Ультраструктура сітківки ока у контрольних (а) і дослідних (б) тварин після тривалого введення адреналіну

ГЕР – гладкий ендоплазматичний ретикулум, МХ – мітохондрії,
Р – рибосоми, Я – ядро нейрона.

На рис. 3.1 б стрілками позначені вакуолі та розриви цитоплазми.

Масштаб 1 мкм

В мітохондріальному апараті подекуди зберігалися динамічні процеси з їх поділом та так званим «брункуванням». Паралельно спостерігали компенсаторне перенапруження органелл, свідченням чого було утворення МХ з везикулярними кристами (Рис. 3.2, б), котрі є показником високої активності МХ в плані синтезу АТФ в режимі перенавантаження [267].

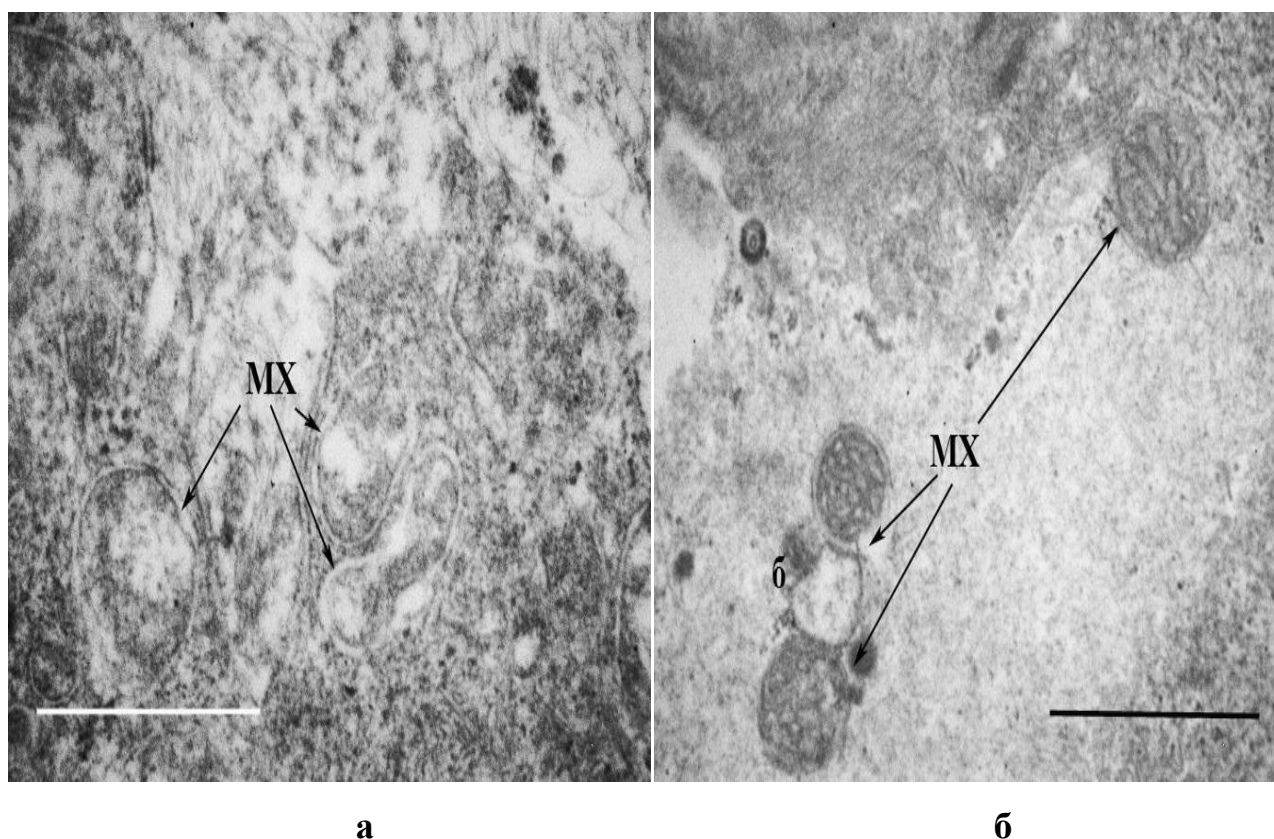


Рис. 3.2. Ультраструктура мітохондрій (МХ) у сітківці ока контрольних (а) і дослідних (б) тварин після тривалого введення адреналіну
б - «брункування» мітохондрій. Масштаб 1 мкм

Для підтвердження отриманих даних щодо змін, які відбуваються в мітохондріальному апараті клітин сітківки, було проведено морфометричне його вивчення, результати якого наведені у таблиці 3.1.

Середня загальна (у різних шарах сітківки) кількість МХ достовірно не змінювалася. Однак, відбувалося різке збільшення середньої кількості структурно пошкоджених органел (в 7,6 разів). За такими умовами нормальний енергетичний метаболізм у сітківці не може бути забезпеченим. Тим більше, що одним з проявів ультраструктурних змін МХ було значне зростання середнього діаметру МХ – на 78,4%. Вважають, що збільшення діаметру МХ більш ніж на 25-30%, свідчить про процеси, пов'язані з порушенням синтезу макроергів. Значне набухання МХ призводить до

утворенні так званих мега-мітохондрій. Такі органели, як правило, є пошкодженими незворотно, і наступним етапом їх структурних перетворень є загибель за некротичним типом [268].

Таблиця 3.1

**Морфометричні характеристики мітохондріального апарату
сітківки ока щурів ($M \pm m$)**

Група	nMX, од./10 мкм ²	sdMX, %	d, мкм
Контрольна	15,8±1,6	6,1±0,6	0,57±0,02
Дослідна	17,3±2,1	46,2±8,4**	1,02±0,12*

Примітки: nMX - середня загальна кількість мітохондрій, sdMX - середня кількість структурно змінених мітохондрій, d – середній діаметр мітохондрій.
* $p < 0,05$ відносно контролю, ** $p < 0,01$ відносно контролю.

Вважають, що подібні зміни можуть призводити до запуску процесів нейродегенерації у зоровому аналізаторі, однак, як зазначають дослідники та клініцисти, подібні пошкодження, принаймні у людей, є ознакою термінальної стадії глаукоми і зрештою супроводжуються апоптотичною загибеллю клітин [269]. Проте виявлені порушення ультраструктури сітківки та клітинних органел більше нагадують некротичні, ніж апоптотичні зміни.

Ще одним свідченням розвитку набрякових процесів в досліджуваній тканині слід вважати виявлену гіпергідратацію гістогематичного бар'єру (ГГБ) (Рис. 3.3). Більшою мірою це стосується ендотеліальної устілки капілярів, однак у потовщення бар'єру свій внесок робить і перикапілярний простір, який, як правило, відіграє роль поглинання та зв'язування зайвої рідини, тим самим до деякої міри локалізуючи набряк тканини в цілому.

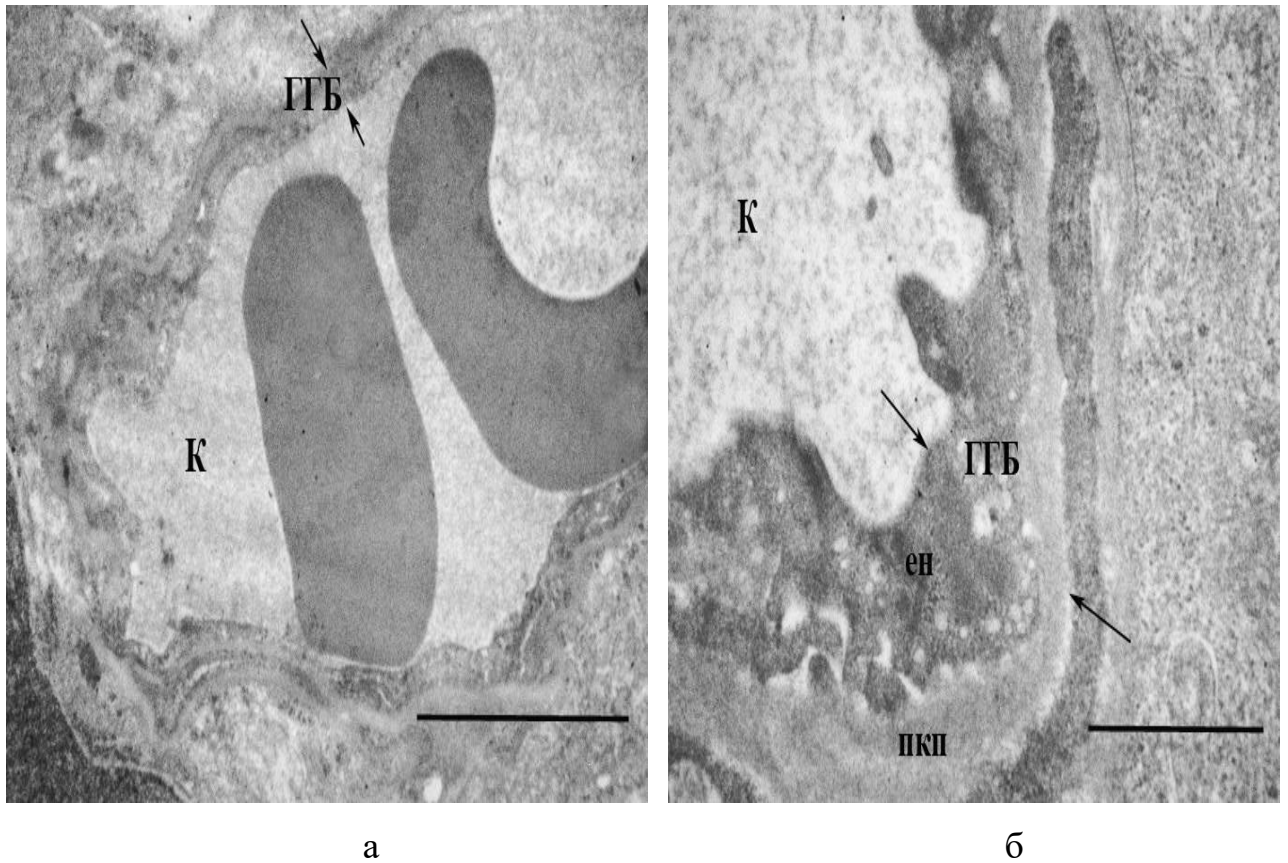


Рис. 3.3. Гістогематичний бар'єр у контрольних (а)
і дослідних (б) тварин після тривалого введення адреналіну

К – капіляр, ГГБ – гістогематичний бар'єр,
ен – ендотелій, пкп – перикапілярний простір. Масштаб 0,5 мкм

Відбувається потовщення ГГБ та окремих його шарів, що як правило (як і для інших біологічних бар'єрів) не обходиться без значного підвищення проникності цитоплазматичних мембран, зокрема мембран ендотелію. До того ж відмічається і активація в ендотеліальних клітинах піноцитозу, що є ознакою досить активних обмінних і транспортних процесів [270]. Така особливість структурних перебудов робить свій внесок у зростання середньої арифметичної (τ) товщини ГГБ (табл. 3.2).

Товщина ГГБ зростала у 2,7 рази, ендотеліальної устілки – у 3 рази, а перикапілярних просторів – у 2,6 рази ($p < 0,05$). Отже, відбувається значне зростання шляху дифузії для кисню від капіляра до споживаючих структур – МХ, що, поряд зі зменшенням їх здатності через руйнування та

ультраструктурні зміни до забезпечення адекватної енергопродукції, має призводити до розвитку вторинної тканинної гіпоксії. Остання, в свою чергу, може посилювати нейродегенерацію та погіршувати функцію сітківки.

Таблиця 3.2

Зміни середньої арифметичної (τ) товщини гістогематичного бар'єру та його шарів в сітківці ока щурів ($M \pm m$), нм

Група	Товщина		
	гістогематичного бар'єра	ендотелію	перикапілярних просторів
Контрольні	248 \pm 17	131 \pm 25	104 \pm 19
Дослідні	670 \pm 38*	393 \pm 41*	277 \pm 28*

* $p < 0,05$ відносно контролю

Звертаємо увагу на ще одну складову патологічного процесу. В сітківці ока піддослідних тварин пласкі синапси інколи з синаптичними стрічками, частіше асиметричні (останні, як правило, є глутаматергічними) за своєю електронною щільністю стають практично прозорими, що, ймовірно, не може не позначитися на їх функції (рис. 3.4, б).

Глутамат ідентифікується як один з найважливіших елементів патогенезу глаукоми. Ефект його ексайтотоксичності, яка спостерігається вже у перші години цієї патології, на гангліозні клітини сітківки може бути здійснений в результаті блокування відповідних рецепторів.

Показано, що підвищення вмісту глутамату – нейротоксичної збудливої амінокислоти, разом зі зниженням активності у відповідних структурах ока гальмівних амінокислот – ГАМК і гліцину, може індукувати загибель гангліозних клітин у результаті некрозу та/ або апоптозу як в умовах *in vivo*, так і *in vitro* [271,272].

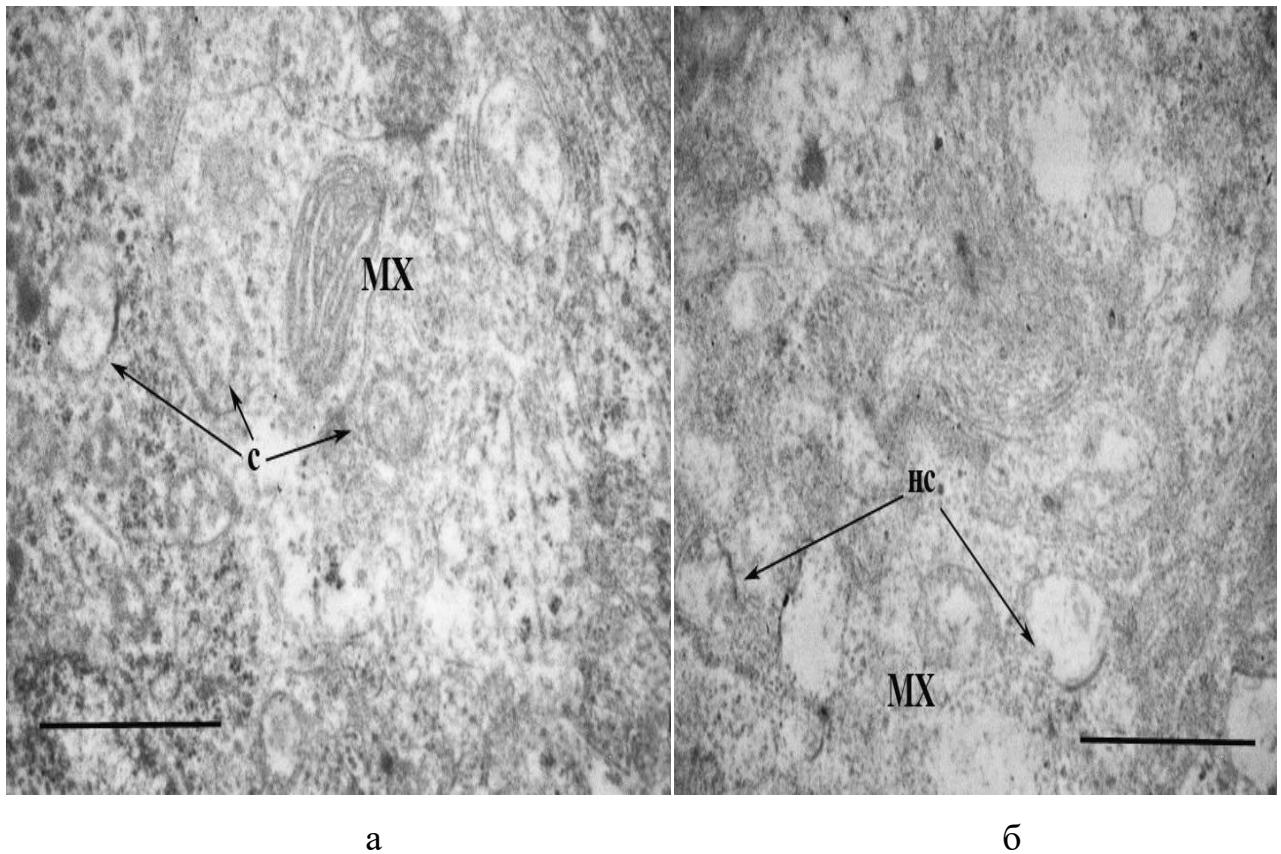


Рис. 3.4. Електронна щільність синапсів у контрольних (а) та дослідних (б) тварин після тривалого введення адреналіну с – синапси, нс – асиметричні синапси, МХ – мітохондрії. Масштаб 1 мкм

Звичайно, отримані електронномікроскопічні результати не можуть дати відповідь на питання, яким чином змінюється в умовах експерименту концентрація глутамату в сітківці. Проте особливості ультраструктури синапсів, до певної міри, можуть свідчити про зміни функціонування глутаматергічної системи.

Базуючись на аналізі наукової літератури, стає зрозумілим, що більшість дослідників та клініцистів вважають глаукому (як патологічний стан, так і модельні дослідження) мітохондріальною патологією [273], яка, як зазначалося вище, повинна супроводжуватися вторинною тканинною гіпоксією, що, в свою чергу, активізуватиме нейродегенерацію [274].

В умовах експериментального дослідження причин глутаматної ексайтотоксичності показано, що вхід Ca^{2+} через NMDA підтип глутаматних

каналів і подальше накопичення Ca^{2+} в мітохондріях є основними факторами, що призводять до загибелі органел та клітинної загибелі, зокрема при глаукомі [275].

З огляду на отримані результати та відомості з літератури [276], описані нами порушення в мітохондріальному апараті клітин сітківки (рис. 3.1, 3.2, 3.4) доводять, що застосована модель є адекватною для вивчення процесів, які відбуваються при підвищенні внутрішньоочного тиску і може бути застосована при необхідності моделювання глаукомного процесу.

Для встановлення можливих біохімічних механізмів, що призводять до виявлених протягом нашого дослідження змін ВОР і морфологічних змін в тканинах ока внаслідок тривалого введення адреналіну, були проведені біохімічні дослідження визначення ступеня оксидативного стресу. Майже всі досліджувані нами показники були вищими у тварин, яким вводили препарат адреналіну (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

**Рівень маркерів окисного стресу в тканинах сітківки щурів
за дії препарату адреналіну протягом 40 діб ($M \pm m$)**

	Око	Група контролю, n=11 (очей)	Основна група (введення адреналіну), n=11 (очей)
Супероксидний аніон радикал, нмоль/хв на мг білка	Праве	2.3±0.35	6.3±1.45*
	Ліве	1.8±0.15	14.4±0.13*
Гідроксильний радикал, нмоль/хв. на мг білка	Праве	0.53±0.09	1.21±0.12*
	Ліве	0.89±0.05	0.97±0.03
Малоновий диальдегід, нмоль/мг білка	Праве	22.36±1.41	40.1±0.39*
	Ліве	34.01±1.63	46.4±0.19*
Дієнові конюгати, нмоль/мг білка	Праве	11.7±0.13	12.5±0.09*
	Ліве	11.7±0.10	17.5±0.32*
Лейкотрієн C_4 , пмоль/мг білка	Праве	18.3±1.22	26.6±0.05*
	Ліве	21.8±0.9	23.2±1.3

* $p < 0,05$ відносно контрольних значень

Результати свідчили, що швидкість генерації супероксидного радикалу збільшувалась в 2,7 і 8 разів в правому і лівому очах відповідно ($p < 0,05$). Швидкість утворення гідроксильного радикалу збільшувалась в 2,2 рази ($p < 0,05$) в правому та залишалася без суттєвих змін у лівому оці порівняно зі значеннями у інтактних тварин.

Як наслідок збільшення швидкості утворення активних форм кисню спостерігали активацію перекисного окислення ліпідів мембран (ПОЛ), а саме: на 88% і 36% збільшувався вміст кінцевого продукту ПОЛ МДА ($p < 0,05$), вміст ДК зріс на 6,8% і 47,8% ($p < 0,05$), а вміст лейкотрієну C_4 – на 45% ($p < 0,05$) і 6,4% в правому і лівому очах відповідно (табл.3.3). Останній вказує на активацію ліпоксигеназного шляху розщеплення арахідонової кислоти – одного з джерел вільних радикалів.

Цікаво, що відбувся своєрідний перехресний розподіл у збільшенні маркерів окисного стресу між правим і лівим очами у групі із введенням адреналіну. Можна припустити, що в цій ситуації спрацював певний компенсаторний механізм, який потребує подальшого з'ясування.

Однак, незважаючи на збільшення різних маркерів окисного стресу в правому і лівому очах, ми спостерігали однаковий ступінь збільшення ВОТ, що вказує на значну чутливість зорового аналізатора до збільшення концентрації катехоламінів в організмі і до будь-яких змін окисного метаболізму, зокрема тих, що ведуть до збільшення продукції активних форм кисню – супероксидного радикалу чи гідроксильного радикалу, які в свою чергу ініціюють ПОЛ, пошкодження білків і структур клітин.

Відомо, що катехоламіни мають здатність посилювати продукцію АФК, що відбувається найімовірніше через активацію $\beta 2$ -адренорецепторів [277]. Також адреналін може піддаватись аутоокисленню з утворенням хінону і семіхінону, які вступають в окисно-відновний цикл з утворенням великої кількості АФК і індукцією окисного стресу [278].

Крім того, на модельних системах *in vitro* було показано, що адреналін може працювати не лише через свої рецептори, але й має знатність

посилювати ПОЛ ліпідів мембран безпосередньо мітохондрій і зменшувати їх мембранний потенціал [279], що ймовірно призводить до зміни їх об'єму і корелює із морфологічними порушеннями в цілісності мітохондрій, які ми виявили в нашому дослідженні. Здатність адреналіну знижувати вміст глутатіону в мітохондріях [279], очевидно, також робить внесок у послаблення антиоксидантних властивостей і розвиток окисного стресу в тканинах ока, про що свідчать маркери ПОЛ в нашому експерименті.

Основним джерелом супероксидного радикалу ($\cdot\text{O}_2^-$) в клітині – дихальний ланцюг мітохондрій, а також ряд ензимів таких як ксантинооксидаза, NO-синтаза, НАДН-оксидази тощо. Основним шляхом генерації гідроксильного радикалу ($\cdot\text{OH}^-$) може виступати не лише традиційний – утворення з H_2O_2 у реакції Фентона за наявності йонів металів (Fe^{2+} , Cu^{2+}), але й за рахунок розпаду пероксинітриту [280], який може утворитися при одночасній інтенсивній генерації супероксиду і NO у випадку неспряження NO-синтаз.

Очевидно, при тривалому введенні адреналіну так само відбувається неспряження NO-синтаз в тканинах сітківки, на що вказує збільшений VOT навіть після припинення введення препарату. $\cdot\text{OH}$ -радикал може пошкоджувати мітохондріальні мембрани, що веде до зниження продукції ними АТФ. Таким чином, збільшення продукції АФК під дією адреналіну впливає на енергопродукуючу функцію мітохондрій, що призводить до розвитку патологічного процесу і може бути передумовою розвитку глаукоми.

Отже, результати дослідження свідчать, що при підвищенні внутрішньоочного тиску, викликаному дією адреналіну, для корекції патологічного стану існують першочергові завдання, до яких, окрім загально розповсюджених, таких як заходи для зниження тиску, належить застосування комплексу антигіпоксантів та антиоксидантів широкого спектру дії, мітохондрій- та ендотелійспрямованих препаратів, а також

мембраностабілізаторів для усунення виражених та різноманітних проявів набряку клітин, біологічних бар'єрів та клітинних органел.

3.2. Вивчення антиоксидантного впливу препарату на основі N-ацетилкарнозину на розвиток катехоламініндукованих морфофункціональних порушень сітківки ока щурів

Тваринам II дослідної групи вводили адреналін і N-ацетилкарнозин (НАС) у вигляді топічних очних крапель, які закапували в кон'юнктивальний мішок по 1-2 краплі в обидва ока щодня протягом місяця. ВОТ вимірювали у правому і лівому очах, використовуючи рикошетну тонометрію Tono Vet («Icare», Фінляндія).

Отримані результати показали, що введення НАС вмісного препарату в якості антиоксидантного засобу при моделюванні катехоламінових пошкоджень сітківки ока супроводжувалось зниженням розвитку окисного стресу. Так, достовірним було зменшення швидкості продукції супероксидного радикалу на 33,3 і 62,5% ($p < 0,05$) в правому і лівому очах відповідно (табл.3.4). Швидкість продукції гідроксильного радикалу також знизилась на 52,8 і 39,1% в правому і лівому очах відповідно ($p < 0,05$). Ці дані свідчать про реалізацію антирадикальної дії досліджуваного препарату.

Разом з тим вміст проміжних продуктів окислення ліпідів – дієнових кон'югатів – достовірно збільшився в правому і лівому оці на 48 і 8% відповідно ($p < 0,05$), хоча й вміст лейкотрієнів залишився незмінним (табл.3.4).

Це говорить про вплив препарату на різні ланки ферментативного окислення ліпідів мембран. Ймовірно ліпоксигенезний шлях, продуктом якого є лейкотрієн C_4 , залишився поза впливом препарату. Водночас вміст кінцевого метаболіту ПОЛ – малонового діальдегіду – достовірно знизився на 15,4 і 22% ($p < 0,05$) порівняно зі значеннями в I дослідній групі (табл.3.4).

Отримані результати морфологічних досліджень дозволяють зробити деякі висновки та припущення щодо ефективності застосування НАС

вмісного препарату для корекції ультраструктурних змін, викликаних катехоламінами.

Таблиця 3.4

**Маркери окисного стресу в тканинах сітківки щурів
з гіперкатехолемією (M±m)**

	Око	Контроль, n=11 (очей)	Дослідна група I, n=11 (очей)	Дослідна група II, n=11 (очей)
Супероксидний аніон радикал, нмоль/хв на мг білка	Праве	2.3±0.23	6.3±0.06*	4,2±0,01 [#]
	Ліве	1.8±0.12	14.4±0.08*	5,4±0,03 [#]
Гідроксильний радикал, нмоль/хв. на мг білка	Праве	0.53±0.09	1.21±0.02*	0,57±0,03 [#]
	Ліве	0.89±0.05	0.97±0.03	0,59±0,02 [#]
Дієнові конюгати, нмоль/мг білка	Праве	11.7±0.13	12.5±0.09*	18,5±1,1 [#]
	Ліве	11.7±0.10	17.5±0.32*	18,9±0,1 [#]
Лейкотрієн C ₄ , пмоль/мг білка	Праве	18.3±1.22	26.6±0.05*	26,0±0,6
	Ліве	21.8±0.9	23.2±1.3	22,3±0,02
Малоновий диальдегід, нмоль/мг білка	Праве	22.36±1.41	40.1±0.39*	33,9±1,1 [#]
	Ліве	34.0±1.63	46.4±0.19*	36,2±0,9 [#]

* p<0,05, відносно контрольних значень [#] p<0,05 відносно значень в дослідній групі I.

Застосований препарат, мабуть, як і засоби подібної фізіологічної спрямованості не призводять до усунення структурної складової ендотеліальної дисфункції, свідченням чого є збереження гіпергідратації гістогематичного бар'єра (ГГБ) сітківки – його арифметичної товщини (τ), зокрема й ендотеліальної устілки капілярів (ЕН) (Рис. 3.5). Не спостерігалось достовірних змін τ ГГБ, ЕН та перикапілярних просторів (ПКП).

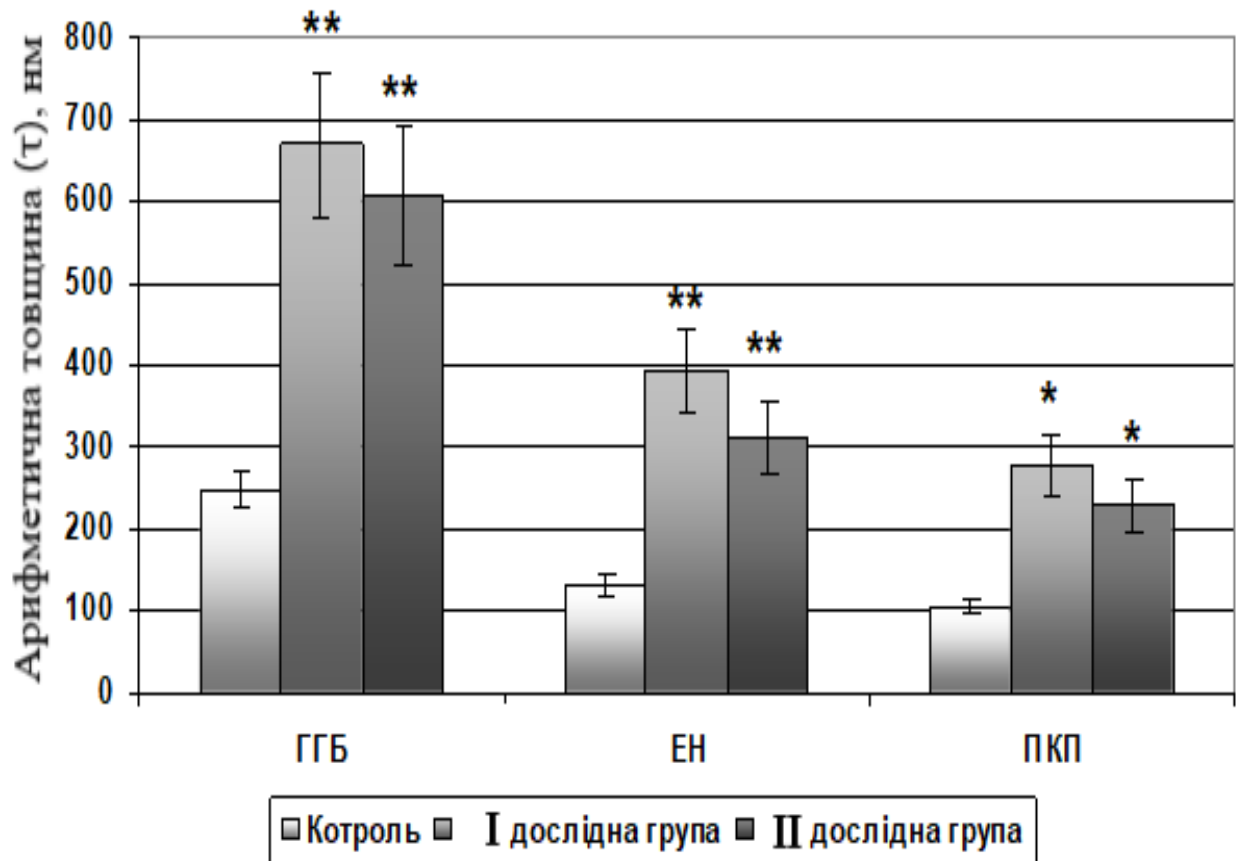


Рис. 3.5. Зміни товщини гістогематичного бар'єру (ГГБ) та його шарів (ЕН – ендотеліальна устилка капілярів, ПКП – перикапілярні простори) в сітківці ока щурів. * $p < 0,05$ ** і $p < 0,01$ відносно контрольних значень

Також не було виявлено вираженого зменшення деструктивних змін нейронів сітківки, вакуолізації, розривів і тотального просочуванням тканини сітківки плазмою (з або без білків) крові (рис. 3.6). На рис. 3.6 визначається досить добре збереження МХ.

Морфометричне вивчення мітохондріального апарату клітин сітківки виявило, що загальна кількість органел під впливом препарату не змінювалася (таблиця 3.5). Проте зменшувалася кількість структурно змінених МХ, в середньому, на 34,6% відносно дослідної групи I ($p < 0,05$).

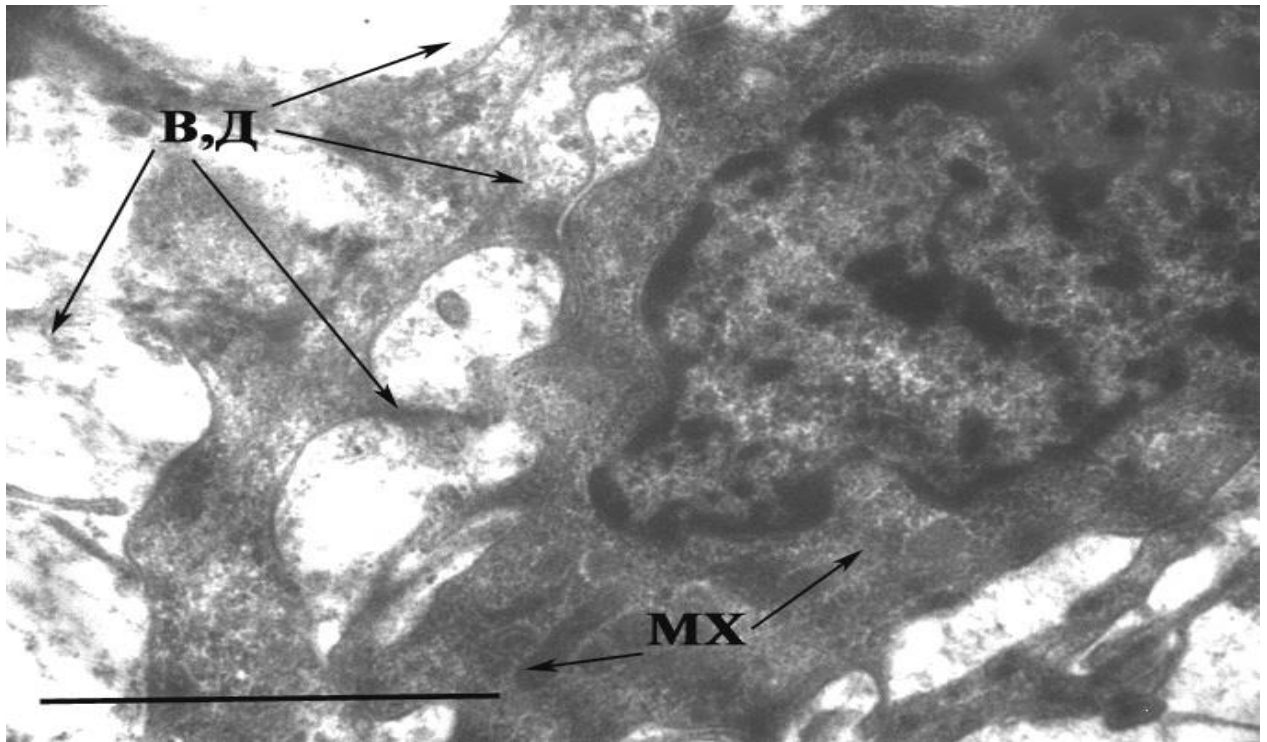


Рис. 3.6. Ультраструктура сітківки ока у тварин з введенням адреналіну та N-ацетилкарнозину

в – вакуолі, д – деструкція, МХ – мітохондрії. Масштаб 1 мкм

Таблиця 3.5

Морфометричні характеристики мітохондріального апарату сітківки ока щурів ($M \pm m$)

Групи щурів	Середня загальна кількість мітохондрій, од./10 мкм ²	Середня кількість структурно змінених мітохондрій, %	Середній діаметр мітохондрій, мкм
Контрольна, n=11	15,8±1,6	6,1±0,6	0,57±0,02
Дослідна група I, n=11	17,3±2,1	46,2±8,4**	1,02±0,12*
Дослідна група II, n=11	16,5±2,7	30,2±2,3**	0,76±0,07*

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ відносно контрольних значень.

Відзначено зменшення кількості повністю вакуолізованих органел, значна частина МХ мала невеликі ділянки пошкоджених крист, в частині МХ

утворювалися везикулярні кристи, а в деяких МХ ущільнювався матрикс (рис. 3.7).

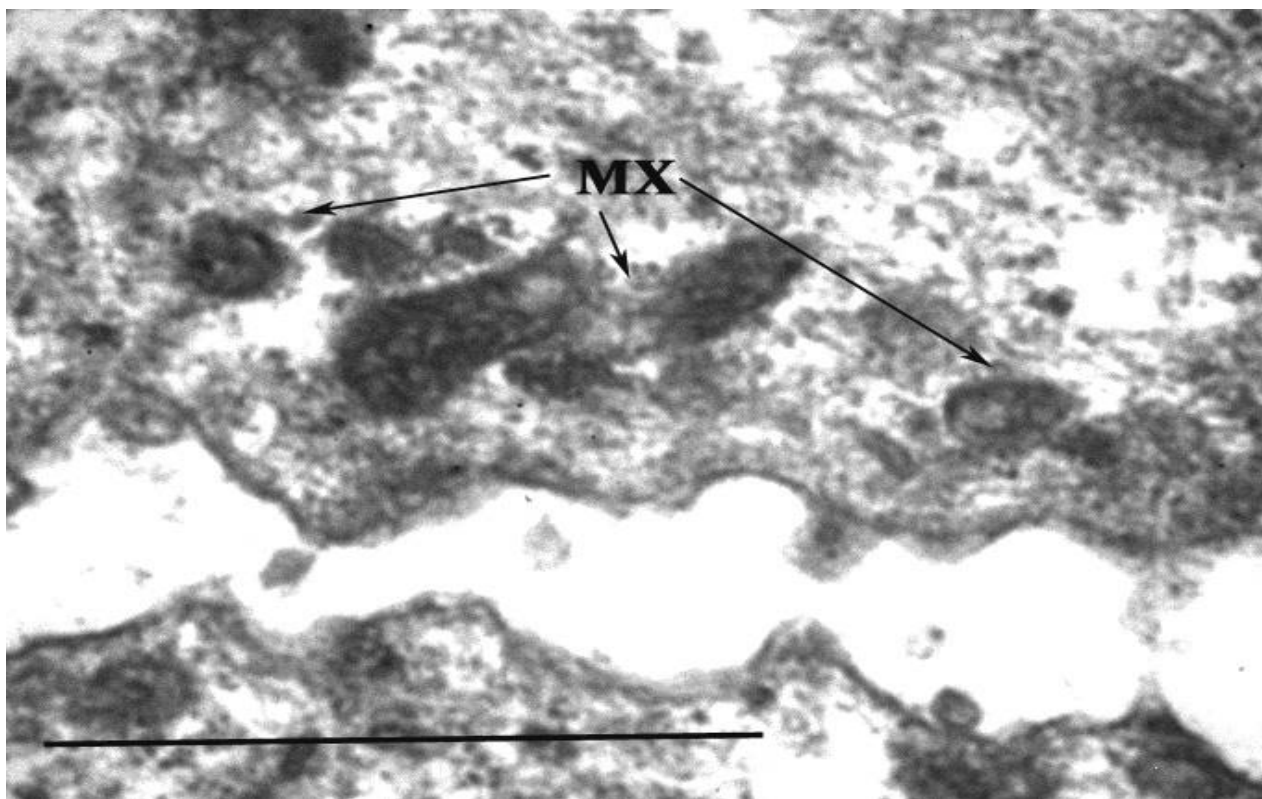


Рис. 3.7. Ультраструктура мітохондрій (МХ) в сітківці ока тварин з введенням адреналіну і антиоксидантного препарату. Масштаб 1 мкм

Як відомо, везикулярні кристи в МХ вказують на перенапруження органел і високу їх активність в плані синтезу АТФ в режимі перенавантаження, що розглядають як компенсаторну реакцію у відповідь на несприятливі умови [267]. Ущільнення мітохондріального матриксу спостерігаються при дослідженні некрозу міокарда у відповідь на введення адреналіну [281]. Окрім цього ущільнення матриксу МХ так само розглядається як компенсаторна реакція на несприятливі впливи для оптимізації синтезу макроергів [282].

Позитивні зміни ультраструктури МХ при застосуванні НАС-вмісного препарату в дослідній групі II полягали ще у зниженні ступеня їх набухання зі зменшенням середнього діаметру на 25,5% відносно дослідної групи I

($p < 0,05$) (табл.3.5). Такі зміни зменшували ймовірність повної руйнації МХ за некротичним шляхом, а також вказували на зменшення кількості органел, змінених незворотно. Отримані результати свідчать про те, що в тканині може відбуватися поліпшення енергетичного метаболізму за умов експерименту.

Результати вимірювання VOT показали, що введення досліджуваного NAC-вмісного препарату достовірно не впливало на значення VOT в дослідній групі II, які становили $11,17 \pm 1,82$ мм рт.ст. в правому і $11,5 \pm 0,96$ мм рт.ст. в лівому оці, в той час як в дослідній групі I значення VOT склали $11,2 \pm 0,9$ і $9,7 \pm 0,36$ мм відповідно і були достовірно вищим за значення в контрольній групі в середньому на 20% в кожному оці ($p < 0,05$).

Відсутність очікуваного зниження VOT під дією препарату можна пояснити тривалістю його введення та активацією багатьох механізмів вазоконстрикції за дії адреналіну, відмінних від надпродукції АФК, зокрема перевантаженням клітин кальцієм і збільшенням експресії прозапальних цитокінів, що в свою чергу збільшує тонус судин, на які дія NAC безпосередньо не поширюється.

Можна відзначити, що застосування препарату NAC при експериментальній катехолезмії не впливало на набрякові процеси в сітківці ані щодо біологічних бар'єрів, ані щодо тканини сітківки загалом. Це підтверджує відсутність зменшення значень VOT у дослідній групі II.

Однак, завдяки антиоксидантній здатності NAC покращує ультраструктуру мітохондрій у тканині сітківки, що сприяє оптимізації енергетичного метаболізму за умов збільшення адреналіну в організмі, та зменшує утворення вільних радикалів і пригнічує таким чином прогресію оксидативного стресу.

Резюме до розділу 3

Проведено оцінку впливу окисного стресу на морфо-функціональні порушення в сітківці ока у щурів. Оцінювали тканинні, клітинні особливості

та відмінності ультраструктури окремих органел при моделюванні глаукоми шляхом гіперкатехолемії.

Виявлено при морфологічному дослідженні, що в сітківці відбуваються деструктивні зміни нейронів сітківки з утворенням великих вакуолей та розривів тотальним просочуванням тканини плазмою крові. Мітохондрії також піддавалися деструктивним змінам, були частково або повністю вакуолізованими. В мітохондріальному апараті подекуди зберігалися динамічні процеси з їх поділом та так званим «брункуванням». Паралельно спостерігали компенсаторне перенапруження органелл, утворення мітохондрій з везикулярними кристами, що є показником високої активності мітохондрій в плані синтезу АТФ в режимі перенавантаження. Встановлено зростання середнього діаметру мітохондрій на 78,4%, що свідчить про процеси, пов'язані з порушенням синтезу макроергів.

Виявлено гіпергідратацію гістогематичного бар'єру, більшою мірою ендотеліальної устілки капілярів та перикапілярного простору. Відмічена активація в ендотеліальних клітинах піноцитозу. Товщина гістогематичного бар'єру зростала у 2,7 рази, ендотеліальної устілки – у 3 рази, а перикапілярних просторів – у 2,6 рази ($p < 0,05$), що збільшило шлях дифузії для кисню від капіляра до мітохондрій та призвело до розвитку вторинної гіпоксії, посилювало нейродегенерацію та погіршувало функцію сітківки.

Встановлені особливості ультраструктури синапсів свідчили про зміни функціонування глутаматергічної системи.

Отримані зміни є маркером запуску процесів нейродегенерації у зоровому аналізаторі та при клінічній екстраполяції притаманні термінальній стадії глаукоми.

На основі вивчення змін мітохондріального апарату клітин сітківки дослідних щурів встановлено, що застосована модель глаукоми є адекватною і може бути використана для подальшого вивчення при моделюванні глаукомного процесу.

Проведено вивчення біохімічних механізмів, що призводять до виявлених протягом дослідження морфологічних змін в тканинах ока та змін ВОР. Встановлено збільшення швидкості генерації супероксидного радикалу в 2,7 і 8 разів ($p < 0,05$), збільшення швидкості утворення гідроксильного радикалу в 2,2 рази ($p < 0,05$). Визначено активацію перекисного окислення ліпідів мембран (ПОЛ), а саме на 88% і 36% збільшення вмісту кінцевого продукту ПОЛ МДА ($p < 0,05$), зростання вмісту ДК на 6,8% і 47,8% ($p < 0,05$) та вмісту лейкотрієну C_4 – на 45% ($p < 0,05$) і 6,4% відповідно ($p < 0,05$). Останній показник є маркером активації ліпоксигеназного шляху розщеплення арахідонової кислоти одного з джерел вільних радикалів.

Показано, що адреналін може працювати не лише через свої рецептори, але й має знатність посилювати ПОЛ ліпідів мембран безпосередньо мітохондрій і зменшувати їх мембранний потенціал, що призводить до зміни їх об'єму і корелює із морфологічними порушеннями в цілісності мітохондрій.

Відзначено, що шляхом зниження вмісту глутатіону в мітохондріях адреналін також послаблює антиоксидантні властивості і розвиток окисного стресу в тканинах ока, про що свідчать маркери ПОЛ.

Проведено аналіз антиоксидантного впливу препарату на основі N-ацетилкарнозину на розвиток катехоламініндукованих морфофункціональних порушень сітківки ока щурів при моделюванні глаукоми.

Встановлено, що введення препарату N-ацетилкарнозину як антиоксиданта супроводжувалося зменшенням розвитку окисного стресу, продукції АФК та ПОЛ.

Визначено зменшення швидкості продукції супероксидного радикалу на 33,3 і 62,5% ($p < 0,05$), зниження швидкості продукції гідроксильного радикалу на 52,8 і 39,1% відповідно, ($p < 0,05$), що є свідченням антирадикальної дії препарату N-ацетилкарнозину.

Встановлено, що вміст проміжних продуктів окислення ліпідів – дієнових кон'югатів – збільшився на 48 і 8% відповідно, ($p < 0,05$), при

незмінному вмісті лейкотрієнів ($p > 0,05$), що вказує на відсутність впливу на ліпоксигенезний шлях.

Визначено, що вміст кінцевого метаболіту ПОЛ – малонового диальдегіду достовірно знизився на 15,4 і 22% ($p < 0,05$).

Встановлено позитивну протекторну дію препарату N-ацетилкарнозину на цілісність мембран мітохондрій: зменшення кількості структурно змінених МХ, в середньому, на 34,6% відносно дослідної групи ($p < 0,05$), зменшення середнього діаметру мітохондрій на 25,5% ($p < 0,05$), зменшення кількості органел змінених незворотно; поліпшення енергетичного метаболізму, зменшення утворення вільних радикалів, пригнічення прогресії оксидативного стресу та відсутність впливу на набрякові процеси в тканинах сітківки ока і зниження ВОР.

Антиоксидантну здатність препарату N-ацетилкарнозину можна використовувати в комплексній терапії підвищеного тонузу внутрішньоочних капілярів як антиоксидантний та мембраностабілізуючий засіб.

Перелік друкованих праць, опублікованих за матеріалами, викладеними в цьому розділі:

1. [310] Санін ВВ. Аналіз факторів розвитку та прогресування глаукомної оптичної нейропатії. Архів офтальмології України. 2022; Т.10, №3:32-41.
2. [312] Санін ВВ, Яковець АІ, Розова КВ, Коркач ЮП, Шаргородська ІВ, Риков СО, та іню Антиоксидантний вплив препарату на основі N-ацетилкарнозину на розвиток катехоламініндукованих морфофункціональних порушень сітківки ока щурів. Фізіологічний журнал. 2020; Т.66, №4:64-71. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz66.04.064>.
3. [309] Риков СО, Шаргородська ІВ, Розова КВ, Коркач ЮП, Гошовська ЮВ, Санін ВВ, та ін. Катехоламініндуковані морфофункціональні порушення і окисний стрес у сітківці ока щурів. Фізіологічний журнал. 2020; Т.66, №2-3:27-36. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz66.2-3.027>.

4. [311] Санін ВВ. Дослідження ролі оксидативного стресу в патогенезі глаукоми. В: Риков СО, редактор. Матеріали X наук.-практ. конф. дит. офт. та оптом. України з міжн. уч. Своє дитинство треба бачити`2022; 2022 Черв 11; Київ; 2022, с. 48-49.

РОЗДІЛ 4

ДОСЛІДЖЕННЯ ДІАГНОСТИЧНИХ ОЗНАК РОЗВИТКУ ТА
ПРОГРЕСУВАННЯ ГЛАУКОМНОЇ ОПТИЧНОЇ НЕЙРОПАТІЇ.
АНАЛІЗ ВПЛИВУ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОГО ЛІКУВАННЯ
НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЗОРОВО-НЕРВОВОГО АПАРАТА
У ПАЦІЄНТІВ З ГЛАУКОМОЮ НИЗЬКОГО ТИСКУ

На сьогодні у патогенезі глаукоми, особливо ускладнених її форм, залишається багато незрозумілих і суперечливих положень: чинники, що впливають на прогресування змін функціонального стану зорового аналізатора, гідродинаміки та біомеханіки ока, роль оксидативного стресу у розвитку захворювання. Не до кінця вивчено можливості нових, інноваційних методів дослідження рівня оптичної нейропатії. Особливо складною є проблема вибору алгоритму лікування далекозайшлих стадій захворювання та форм глаукоми, які рідко зустрічаються, коли зорові функції перебувають на межі [283].

Поступове накопичення даних вітчизнаної та світової літератури вказує на те, що дисбаланс окислювального стресу та мітохондріальна дисфункція можуть грати значну та важливу роль у пошкодженні гангліонарних клітин сітківки [284-287]. Отримано результати, які свідчать про значне підвищення рівнів активності супероксиддисмутази (SOD) і глутатіонпероксидази (GPX) в рідині передньої камери у пацієнтів з первинною відкритокутовою глаукомою (ПВКГ) [285]. Низка інших авторів [286] також встановили значне порушення рівнів медіаторів кисневого гомеостазу та функції нейронів у водянистій волозі хворих на ПВКГ, що є свідченням залучення реакцій на окислювальний стрес у ПВКГ-асоційованому пошкодженні нервів.

Таким чином, аналіз наукових досліджень є свідченням необхідності комплексної оцінки біомаркерів оксидативного стресу, що може допомогти зрозуміти перебіг глаукоми і пошкодження від окисного стресу гангліонарних клітин сітківки та може бути актуальною мішенню для

профілактики і лікування захворювання. На сьогодні в щоденній клінічній офтальмологічній практиці маркери оксидативного стресу та рівні антиоксидантних маркерів оцінюються недостатньо [288].

4.1. Аналіз маркерів окислювального стресу і антиоксидативного стресу в сироватці крові пацієнтів з глаукомою низького тиску

Протягом клінічного етапу дослідження ми проводили визначення маркерів окислювального стресу і антиоксидативного стресу в сироватці крові пацієнтів з глаукомою низького тиску. Аналіз результатів демонструє загальне збільшення маркерів окислювального стресу та зниження маркерів антиоксидативного стресу в сироватці крові пацієнтів з глаукомою низького тиску (табл. 4.1).

Таблиця 4.1

Аналіз лабораторних показників пацієнтів основної групи та групи порівняння, n=64 (128 очей) (M_{±m})

Групи		Показники							
		Малоновий діальдегід (МДА), мкмоль/л	Супероксиддисмутаза (СОД), МО мг/Нб	Каталаза (КТ), МО мг/Нб	Сечова кислота, мкмоль/л	Вітамін С, мг/л	Вітамін А, мкг/мл	Вітамін Е, мг/л	Трансферин, г/л
Основна – ГНТ, n=92	I стадія, n=48	8,63± 0,29*	14,24± 1,13*	240,58 ±7,26*	131,85± 13,82*	3,05 ±0,11*	0,284 ±0,05*	4,54 ±1,21*	1,83 ±0,6*
	II стадія, n=44	9,21 ±0,26*	13,36 ±1,26*	237,23 ±9,61*	119,54 ±11,93*	2,92 ±0,09*	0,198 ±0,06*	3,13 ±1,06*	1,74 ±0,5*
Порівняння, n=36		3,14 ±0,19	29,72 ±1,92	391,74 ±10,33	287,32 ±19,14	8,11 ±1,07	0,567 ±0,07	16,27 ± 1,83	2,51 ±0,8

Примітки: * - статистично вірогідні зміни по відношенню до групи порівняння, p<0,05

Так, рівень малонового діальдегіду збільшувався до $8,63 \pm 0,29$ мкмоль/л (в 2,75 рази, $p < 0,05$) при ГНТ I стадії та до $9,21 \pm 0,26$ мкмоль/л (в 2,93 рази, $p < 0,05$) у пацієнтів з ГНТ II стадії. Рівень супероксиддисмутази у пацієнтів з ГНТ I стадії дорівнював $14,24 \pm 1,13$ МО мг/Нб і був в 2,08 разів менший, ніж в групі порівняння ($p < 0,05$). Рівень каталази в цій групі дорівнював $240,58 \pm 7,26$ МО мг/Нб, що було в 1,63 рази меншим, ніж в групі порівняння ($p < 0,05$). У пацієнтів з ГНТ II стадії СОД – $13,36 \pm 1,26$ МО мг/Нб, а КТ – $237,23 \pm 9,61$ МО мг/Нб, що було меншим в 2,22 рази та 1,65 рази відповідно ($p < 0,05$) (табл. 4.1).

Визначено (табл. 4.1) значне зниження рівня сечової кислоти при ГНТ I стадії до $131,85 \pm 13,82$ мкмоль/л в 2,2 рази, ГНТ II стадії – $119,54 \pm 11,93$ мкмоль/л, в 2,4 рази, відповідно, ($p < 0,05$) (табл. 4.1).

Під час дослідження також були встановлені інші маркери недостатньої і неефективної функції захисту, а саме у пацієнтів з ГНТ відмічалось вірогідне зниження рівнів вітамінів С, А, Е та трансферину.

Так, рівень вітаміну С при ГНТ I стадії дорівнював в середньому $3,05 \pm 0,11$ мг/л, а при ГНТ II стадії – $2,92 \pm 0,09$ мг/л, при середньому рівні $8,11 \pm 1,07$ мг/л в групі порівняння (зменшення в 2,66 та 2,78 разів, $p < 0,05$). Рівень вітаміну А у пацієнтів з ГНТ I стадії, в середньому, дорівнював $0,284 \pm 0,05$ мкг/л та був на рівні $0,198 \pm 0,06$ мкг/л при ГНТ II стадії. В групі порівняння цей показник визначався на рівні $0,567 \pm 0,07$ мкг/л (зменшення в 1,99 та 2,86 разів, $p < 0,05$). Значення середнього рівня вітаміну Е у пацієнтів з ГНТ I стадії – $4,54 \pm 1,21$ мг/л, у пацієнтів з ГНТ II стадії – $3,13 \pm 1,06$ мг/л, що було вірогідно нижчим, ніж в групі порівняння – $16,27 \pm 1,83$ мг/л (зменшення в 3,58 та 5,19 разів, $p < 0,05$) (табл. 4.1).

У пацієнтів з ГНТ відмічалось також зниження рівнів трансферину, при I стадії захворювання середній рівень дорівнював $1,83 \pm 0,6$ г/л, при II стадії захворювання – $1,74 \pm 0,5$ г/л, що було вірогідно нижче, ніж в групі порівняння $2,51 \pm 0,8$ г/л (зменшення в 1,37 та 1,44 рази, $p < 0,05$) (табл. 4.1).

Аналіз Пірсона показав статистично значущу позитивну кореляцію між МДА ($r=0,811$; $p < 0,05$) та стадією глаукомного процесу і значущу негативну

кореляцію між біомаркерами окисного стресу СОД ($r=(-)0,621$; $p<0,02$), КТ ($r=(-)0,222$; $p<0,05$), рівнем сечової кислоти ($r=(-)0,331$; $p<0,02$) і стадією глаукоми.

Крім того, було проведено кореляційний аналіз зміни рівнів вітамінів і трансферину зі стадією глаукомного ураження. Встановлено вирогідну негативну кореляцію з цими показниками: вітаміном С ($r=(-)0,772$; $p<0,05$), вітаміном А ($r=(-)0,243$; $p<0,05$), вітаміном Е ($r=(-)0,564$; $p<0,05$) та трансферином ($r=(-)0,328$; $p<0,05$).

Продовж дослідження пацієнти основної групи з ГНТ були розподілені між собою за критерієм наявності / або відсутності прогресування полів зору. Слід відмитити, що на 43 очах (в 46,7%) було діагностоване прогресування полів зору протягом останніх 3 вимірювань [246].

Нами було проведено аналіз факторів, які впливали на прогресування змін полів зору, що були виміряні за допомогою полів зору та аналізу пропорційних ризиків. Результати наведені в таблиці 4.2.

Таблиця 4.2

**Аналізу факторів, які впливали
на прогресування глаукомного процесу**

Перемінна	Одномірна		Багатоваріантність	
	HR (95% ДІ)	значення P	HR (95% ДІ)	значення P
1	2	3	4	5
Вік (роки)	1,017 (0,993-1,041)	0,147	НЗ	НЗ
Стать, жіноча	1,972 (1,005-3,846)	0,051	2,231 (1,009-4,887)	0,052
Найвищий зареєстрований ВОТ, мм рт. ст.	0,986 (0,958-1,015)	0,603	НЗ	НЗ
Діастолічний артеріальний тиск, мм рт. ст.	0,991 (0,958-1,025)	0,681	НЗ	НЗ
Паління	1,409 (0,721-2,726)	0,299	НЗ	НЗ
ЦТР (мм)	0,996 (0,989-1,004)	0,593	НЗ	НЗ
АСД (мм)	0,443 (0,195-0,995)	0,048	0,487 (0,193-1,185)	0,111
ПЗВ (мм)	0,802 (0,591-1,084)	0,157	НЗ	НЗ

Продовженні таблиці 4.2

1	2	3	4	5
MD (dB)	1,016 (0,975-1,057)	0,371	НЗ	НЗ
СОД (МО мг/Нб)	0,984 (0,974-0,994)	0,05	0,983 (0,970-0,993)	0,03
МДА (мкмоль/л)	0,055 (0,013-0,237)	<0,001	0,040 (0,008-0,217)	<0,001
Вітамін С, мг/л	1,010 (1,003-1,017)	0,008	1,010 (1,002-1,017)	0,010
Вітамін Е, мг/л	0,983 (0,970-0,992)	0,05	0,982 (0,971-0,992)	0,04
Горизонтальне співвідношення екскавація-диск	1,011 (0,989-1,035)	0,038	1,011 (0,988-1,036)	0,041
Вертикальне співвідношення екскавація-диск	0,775 (0,183-3,291)	0,729	НЗ	НЗ

Примітка: НЗ – не застосовується

Як свідчив аналіз результатів, найбільші ризики для прогресування змін полів зору мали рівень МДА, СОД, рівень вітаміну С, що були визначені у багатофакторному аналізі після поправки на вік, стать, діастолічний артеріальний тиск, паління, центральну товщину рогівки, глибину передньої камери, аксіальну довжину ока, середню світлочутливість сітківки. Ризики меншої сили мали рівень вітаміну Е та горизонтальне співвідношення екскавація-диск (табл.4.2).

Шляхом застосування методу побудови та аналізу логістичних моделей регресії були визначені ризики прогресування змін полів зору. Для виявлення ознак (факторів), що найбільш пов'язані з ризиком задіяли метод покрокового виключення та було побудовано тест прогнозування ризиків. На рисунку 4.1 наведено криву цього тесту.

Критичне значення (Crit) рівня МДА на очах пацієнтів з ГНТ, що відповідає максимальному значенню показника Youden-індекс, дорівнювало (+)4,7 (Crit=(+)4,7). При вибраному критичному значенні тесту його чутливість становила 81,0%, специфічність – 83,0%. Отже, підвищення ризику початку прогресування змін полів зору пов'язані із значенням МДА >(+)4.7 (рис.4.1).

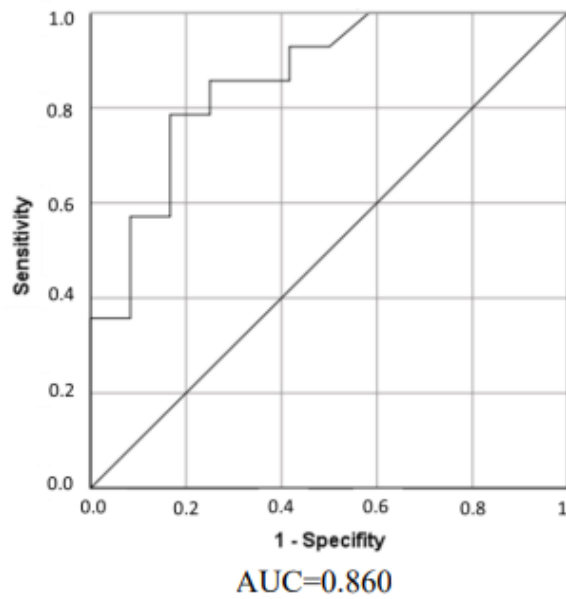


Рис. 4.1. ROC-крива тесту прогнозування ризику розвитку прогресування полів зору, факторна ознака – МДА

Також ми побудували ROC-криві тесту для СОД та вітаміну С. Результати наведені на рисунку 4.2.

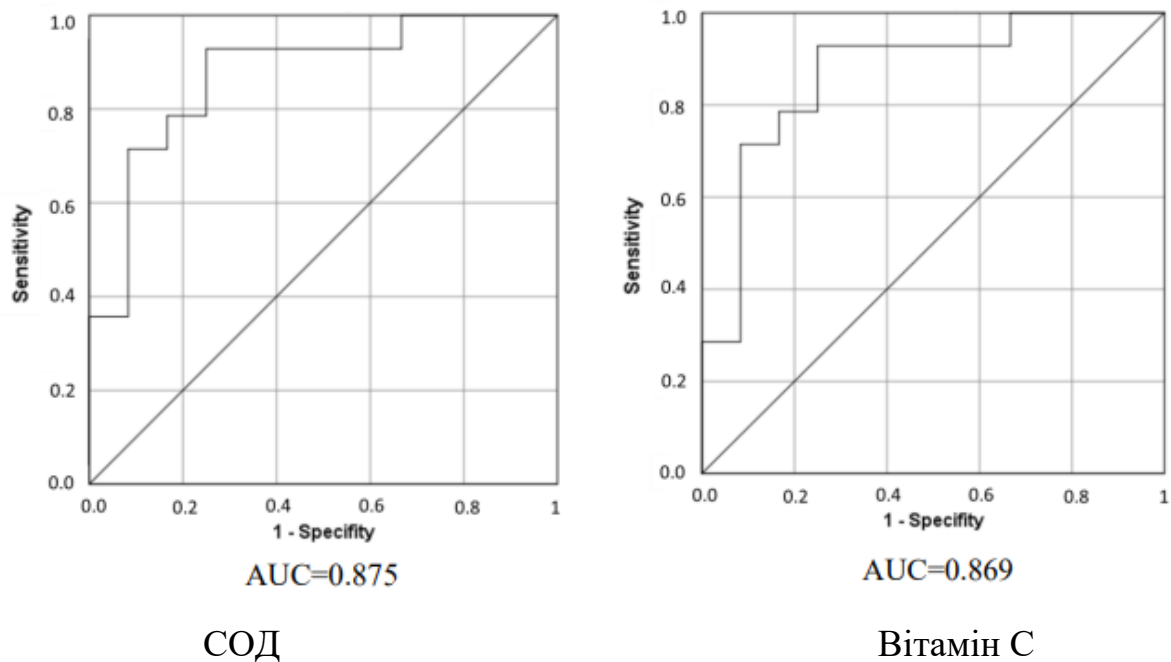


Рис. 4.2. ROC-крива тесту прогнозування ризику розвитку прогресування полів зору, факторні ознаки – СОД та вітамін С

Аналіз свідчить, що критичним значенням (Crit) рівня СОД на очах пацієнтів з ГНТ був рівень (+)19,8 (Crit=(+)19,8), а для вітаміну С - (+)4,7 (Crit=(+)4,7). При вибраних критичних значеннях тесту його чутливість становила 93,0%, специфічність – 75,0% (рис.4.2).

Таким чином, підвищення ризиків початку прогресування змін полів зору пов'язано із значенням СОД <(+)19.8, а вітаміну С - <(+)4.7.

4.2. Аналіз якісних та кількісних характеристик диска зорового нерва та перипапільярної зони у пацієнтів з глаукомою низького тиску

Оцінка диска зорового нерва є цінним інструментом у ранній діагностиці та спостереження за хворими на глаукому. Продовж дослідження ми проводили аналіз якісних та кількісних характеристик диска зорового нерва та перипапільярної ділянки у пацієнтів основної групи і визначали взаємозв'язок їх змін із прогресуванням глаукомного процесу. Особлива увага була приділена визначенню причин появи геморагій в ділянці диска зорового нерва та їх ролі у прогнозі захворювання. Результати аналізу наведені в таблиці 4.3.

Як свідчать результати, найбільш статистично виражена кореляція високої сили була отримана між рівнем малонового діальдегіду в крові та появою геморагій в ділянці диска зорового нерва ($r=0.3347$; $p<0.0005$). Відзначено також сильний кореляційний зв'язок між наявністю геморагій та швидкістю прогресування змін полів зору ($r=0.4782$; $p<0.0001$) (табл.4.3).

Значення інших факторів ризику прогресування ГОН на появу геморагій: дефіцит Вітаміну Е ($r=(-)0.1925$; $p<0,05$), фолієвої кислоти ($r=(-)0.2082$; $p<0,05$), феритину ($r=(-)0.1969$; $p<0,05$), трансферину ($r=(-)0.1833$; $p<0,05$) та тривалого паління ($r=0.1657$; $p<0,05$) – слабка кореляція. Визначена слабка залежність появи геморагій від віку пацієнта ($r=0.1521$; $p<0,05$), жіночої статі ($r=0.1846$; $p<0,05$), кількості тромбоцитів ($r=(-)0.1754$; $p<0,05$) і рівня фіброногену ($r=0.1578$; $p<0,05$) (табл.4.3).

Таблиця 4.3

Результати кореляційного аналізу між наявністю геморагій в ділянці диска зорового нерва і різними параметрами (n=128)

Параметри	r	значення P
Вік (роки)	0.1521	0.0638
Стать, жіноча	0.1846	0.0263*
Стать, чоловіча	0.0939	0.7361
Кількість антиглаукомних препаратів	-0.3867	0.0005*
Найвищий зареєстрований ВОТ, мм рт. ст.	-0.1473	0.0737
Діастолічний артеріальний тиск, мм рт. ст.	-0.1932	0.0053*
Частота пульсу (/хвилину)	-0.1234	0.1039
Малоновий діальдегід (МДА), мкмоль/л	0.3347	0.0005*
Тромбоцити, $\times 10^9$ /л	-0.1754	0.0312*
Фібриноген, мг/дл	0.1578	0.0403*
Трансферин, г/л	-0.1833	0.0154*
Феритин, нг/мл	-0.1969	0.0122*
Фолієва кислота, нг/мл	-0.2082	0.0068*
Вітамін Е, мг/л	-0.1925	0.0095*
Швидкість прогресування полів зору, %/на рік	0.4782	<0.0001*
Горизонтальне співвідношення екскавація-диск	0.1977	0.0106*
Вертикальне співвідношення екскавація-диск	0.1314	0.0662
Перипапільарна атрофія β -зони	0.2217	0.0024*
Виїмка нейроретинального паска в нижньому сегменті	-0.1950	0.0113*
Вогнищева втрата шару нервових волокон сітківки (RNFL)	-0.2629	0.0005*
Індекс кровотоку в поверхневій капілярній сітці нижньо-темпорального сегменту, в ділянці геморагій	-0.3851	0.0001*
Паління	0.1657	0.0362*

Примітка: коефіцієнт кореляції (r) і значення P обчислюються за тестом рангової кореляції Спірмена між геморагіями і іншими параметрами.

*p<0,05.

Була відсутня залежність між наявністю геморагій та рівнем ВОТ ($r=(-)0.1473$; $p>0,05$), чоловічою статтю ($r=0.0939$; $p>0,05$) та частотою пульсу ($r=(-)0.1234$; $p>0,05$) (табл.4.3).

Серед кількісних ознак, які були отримані за рахунок застосування цифрових пристроїв для візуалізації зорового нерва, відмічена наявність сильних кореляційних зв'язків між геморагіями та індексом кровотоку перипапільярних судин диска зорового нерва в поверхневій капілярній сітці нижньо-темпорального сегменту ($r=(-)0.3851$; $p<0,05$) в ділянці геморагій, вогнещевою втратою шару нервових волокон сітківки в ділянці геморагій, ($r=(-)0.2629$; $p<0,05$) та виїмкою нейроретинального паска в нижньому сегменті ($r=(-)0.1950$; $p<0,05$) (табл.4.3).

Відзначено кореляцію між геморагіями та наявністю перипапільярної атрофії β -зони ($r=0.2217$; $p<0,05$), горизонтальним співвідношенням екскавація-диск ($r=0.1977$; $p<0,05$) (табл.4.3).

Таким чином, виявлення крововиливів у диск зорового нерва відіграє істотну роль у прогнозі захворювання, оскільки є передвісником прогресуючих функціональних втрат зору при глаукомі [289,290].

На жаль, цифрові пристрої для візуалізації, такі як оптична когерентна томографія, скануюча лазерна офтальмоскопія і скануюча лазерна поляриметрія, які широко використовуються для діагностики глаукоми, не здатні виявити крововиливи в ділянку диска. Це підкреслює важливість щоденного клінічного огляду. Фотографія та замальовки диска зорового нерва забезпечує як якісну, так і кількісну інформацію головки зорового нерва при глаукомі, а також допоможе виявити тонкі крововиливи.

4.3. Результати нейропротекторного лікування пацієнтів з глаукомою низького тиску. Зміни показників зорових викликаних потенціалів та паттерн-електроретинограми тиску протягом лікування

Вході дослідження ми порівнювали параметри зорових викликаних потенціалів та електроретинограми в динаміці протягом 2 років

спостереження у пацієнтів, які систематично отримували курси місцевої та загальної нейропротекторної терапії (підгрупа I основної групи) (табл. 4.4) з результатами пацієнтів відповідного віку та статі без глаукоми та з отриманими даними у пацієнтів з глаукомою низького тиску, що зазначеної терапії не отримували (табл. 4.4).

Аналіз отриманих результатів демонстрував позитивну динаміку та покращення функціональних показників у пацієнтів I підгрупи основної групи після курсу нейропротекторної терапії, що свідчило про значне покращення функціональної активності фоторецепторів. До початку лікування середній рівень латентності піку комплексу N2 дорівнював $109 \pm 4,18$ мс, комплексу P2 – $136 \pm 6,14$ мс, комплексу N3 – $168 \pm 8,25$ мс, що було втричі вищим в 1,53, 1,36, і 1,38 рази, ніж у пацієнтів групи порівняння без глаукоми низького тиску ($p < 0,01$). Середній рівень амплітуди піків N2-P2 відповідали $7,6 \pm 0,16$ мкВ, амплітуди піків P2-N3 $4,4 \pm 0,14$ мкВ і були втричі нижчими, ніж у пацієнтів групи порівняння, в 1,35 та 1,45 рази відповідно ($p < 0,01$) (табл. 4.4).

На тлі нейропротекції відмічено покращення електрофізіологічних показників, а саме: зниження латентності піків вже через 6 місяців терапії на 12,8-18,5% ($p < 0,05$), через 12 місяців на 22,8-24,4% ($p < 0,05$) і через 24 місяці – 19,9-22,8% ($p < 0,05$) відповідно, що вказувало на покращення провідності нервових волокон. Визначено також підвищення амплітуди піків електроретинограми на 17,1-18,2% через 6 місяців терапії та 25,0-27,3% і на 23,7-25,0% через 12 та 24 місяці відповідно ($p < 0,05$) (табл. 4.4).

Аналіз параметрів зорових викликаних потенціалів та електроретинограми в динаміці у пацієнтів II підгрупа основної групи, які не отримували нейропротекторної терапії протягом 2 років, наведено в табл. 4.5.

Таблиця 4.4

**Аналіз параметрів зорових викликаних потенціалів та
електроретинограми в динаміці у пацієнтів І підгрупи основної
та групи порівняння, n=82**

Групи		Параметри				
		Латентності піків комплексу, мс			Амплітуди піків, мкВ	
		N2	P2	N3	N2-P2	P2-N3
Основна – ГНТ, І підгрупа, n=46	Вихідний рівень	109 ±4,18 **	136 ±6,14 **	168 ±8,25 **	7,6 ±0,16 **	4,4 ±0,14 **
	Через 6 місяців на тлі нейропротекторної терапії	95 ±7,13*	118 ±5,11*	137 ±9,22*	8,9 ±0,31*	5,2 ±0,17*
	Зміни показника у % до вихідного рівня	-12,8%	-13,2%	-18,5%	+17,1%	+18,2%
	Через 12 місяців на тлі нейропротекторної терапії	83,4 ±5,12*	105 ±8,28*	127 ±9,19*	9,5 ±0,24*	5,6 ±0,15*
	Зміни показника у % до вихідного рівня	-23,5%	-22,8%	-24,4%	+25,0%	+27,3%
	Через 24 місяці на тлі нейропротекторної терапії	84,2 ±6,44*	109 ±4,13*	132 ±9,19*	9,4 ±0,18*	5,5 ±0,15*
	Зміни показника у % до вихідного рівня	-22,8%	-19,9%	-21,5%	+23,7%	+25,0%
Порівнян ня, n=36	Вихідний рівень	71 ±6,22	100 ±7,13	122 ±5,22	10,3 ±0,11	6,4 ±0,13

Примітки: * - статистично вірогідні зміни по відношення до вихідного рівня ($p < 0,05$); ** - статистично вірогідні зміни по відношення до групи порівняння ($p < 0,01$).

Таблиця 4.5

**Аналіз параметрів зорових викликаних потенціалів та
електроретинограми в динаміці у пацієнтів II підгрупи основної та групи
порівняння, n=82**

Групи		Параметри				
		Латентності піків комплексу, мс			Амплітуди піків, мкВ	
		N2	P2	N3	N2-P2	P2-N3
Основна – ГНТ, II підгрупа, n=46	Вихідний рівень	98 ±5,22**	125 ±7,46**	154 ±6,84**	8,1 ±0,11**	4,8 ±0,12**
	Через 6 місяців	104 ±6,14*	130 ±8,47*	162 ±7,21*	7,6 ±0,13*	4,5 ±0,14*
	Зміни показника у % до вихідного рівня	+6,1%	+4,0%	+5,2%	-6,2%	-6,3%
	Через 12 місяців	109 ±7,25*	140 ±10,11*	178 ±9,33*	7,4 ±0,11*	4,2 ±0,07*
	Зміни показника у % до вихідного рівня	+11,2%	+12,0%	+15,6%	-8,7%	-12,5%
	Через 24 місяці	112 ±9,18*	144 ±8,73*	180 ±8,95*	7,2 ±0,12*	4,0 ±0,13*
	Зміни показника у % до вихідного рівня	+14,3%	+15,2%	+16,8%	-11,1%	-16,6%
Порівняння, n=36	Вихідний рівень	71 ±6,22	100 ±7,13	122 ±5,22	10,3 ±0,11	6,4 ±0,13

Примітки: * - статистично вірогідні зміни по відношення до вихідного рівня (p<0,05); ** - статистично вірогідні зміни по відношення до групи порівняння (p<0,01).

Результати дослідження свідчили, що у пацієнтів, які не отримували курси системної загальної і топічної нейропротекції відбувалося поступове лінійне погіршення функціональних показників. Відмічено підвищення латентності піків на 4,0-6,2% через 6 місяців спостереження та 12,2-15,6% і на 14,3-16,8% через 12 та 24 місяці відповідно (p<0,05); зниження амплітуди піків електроретинограми на 6,2-6,3% через 6 місяців та на 8,7-12,5% і на 11,1-16,6% через 12 та 24 місяці відповідно (p<0,05) (табл. 4.5).

4.4 Результати нейропротекторного лікування пацієнтів з глаукомою низького тиску. Аналіз змін периметричних показників протягом лікування

Продовж дослідження в динаміці (2 роки) оцінювались зміни полів зору у пацієнтів з глаукомою низького тиску. Результати обстежень у пацієнтів I підгрупи основної групи, які системно проходили курси нейропротекторної терапії, наведені в таблиці 4.6.

Таблиця 4.6

Аналіз динаміки зміни параметрів поля зору у пацієнтів I підгрупи основної та групи порівняння, n=82

Групи		Параметри			
		MD, dB	PSD, dB	VFI, %	RoP, % / рік
Основна – ГНТ, I підгрупа, n=46	Вихідний рівень	-7,63 ±0,3**	8,11 ±0,4**	81,0 ±6,3**	2,4 ±0.6**
	Через 6 місяців на тлі нейропротекторної терапії	-6,08 ±0,2*	6,56 ±0,5*	88,0 ±7,8*	2,2 ±0.5
	Зміни показника у % до вихідного рівня	-20,3%	-19,1%	+8,7%	-8,3%
	Через 12 місяців на тлі нейропротекторної терапії	-5,66 ±0,3*	5,70 ±0,4*	92,0 ±8,4*	2,1 ±0.3
	Зміни показника у % до вихідного рівня	-25,8%	-29,7%	+13,6%	-12,5%
	Через 24 місяці на тлі нейропротекторної терапії	-5,92 ±0,6*	5,77 ±0,5*	96,0 ±7,2*	1,9 ±0.3
	Зміни показника у % до вихідного рівня	-22,4%	-28,8%	+18,5%	-20,8%
Порівняння, n=36	Вихідний рівень	+1,14 ±0,1	1,31 ±0,2	99 ±1,6	0,2 ±0.08

Примітки: * - статистично вірогідні зміни по відношення до вихідного рівня (p<0,05); ** - статистично вірогідні зміни по відношення до групи порівняння (p<0,01).

Застосування протягом 2 років у пацієнтів з глаукомою низького тиску нейропротекторної терапії, що включала загальну терапію і місцеву інстиляційну терапію препаратом, який містить N-ацетилкарнозин, призводило до вірогідного покращення параметрів полів зору.

Так, визначено розширення полів зору, зменшення кількості скотом, покращення свідлочутливості і зниження показника MD на 20,3% через 6 місяців, на 25,8% через 12 місяців і на 22,4% через 24 місяці відповідно ($p < 0,05$) (табл.4.6).

Протягом цього часу відбулося зниження показника PSD на 19,1-28,8% ($p < 0,05$), покращення індексу полів зору на 8,7-18,5% ($p < 0,05$) та зниження швидкості прогресування полів зору з 2,4%/на рік до 1,9%/рік ($p < 0,05$), тобто на 20,8% відповідно ($p < 0,05$) (табл.4.6).

Під час проведення ретроспективного дослідження ми провели аналіз динаміки полів зору у пацієнтів з глаукомою низького тиску, які, як свідчили заключення з амбулаторних карт, протягом 2 років не проходили жодного курсу нейропротекторної терапії (II підгрупа основної групи). Результати наведені в таблиці 4.7.

Отримані дані свідчать про лінійне прогресування змін полів зору ($p < 0,05$). Встановлено звуження полів зору, збільшення кількості скотом, погіршення показника MD на 10,3% через 6 місяців, на 15,5% через 12 місяців і на 18,1% через 24 місяці відповідно ($p < 0,05$) (табл. 4.7).

Протягом 2 років спостереження відбулося поступове збільшення показника PSD на 11,9-17,4% ($p < 0,05$), погіршення індексу полів зору на 3,7-10,9% ($p < 0,05$) та збільшення швидкості прогресування полів зору з 2,2%/на рік до 2,6%/рік ($p < 0,05$), тобто на 13,6% відповідно ($p < 0,05$) (табл. 4.7).

Таблиця 4.7

Аналіз динаміки зміни параметрів поля зору у пацієнтів II підгрупи основної групи та групи порівняння, n=82

Групи		Параметри			
		MD, dB	PSD, dB	VFI, %	RoP, % / рік
Основна – ГНТ, II підгрупа, n=46	Вихідний рівень	-5,73 ±0,6**	7,67 ±0,5**	82,0 ±8,1**	2,2 ±0,4**
	Через 6 місяців	-6,32 ±0,7*	8,59 ±0,4*	79,0 ±9,5*	2,3 ±0,5
	Зміни показника у % до вихідного рівня	+10,3%	+11,9%	-3,7%	+4,5%
	Через 12 місяців	-6,62 ±0,1*	8,92 ±0,6*	76,0 ±6,2*	2,4 ±0,3
	Зміни показника у % до вихідного рівня	+15,5%	+16,3%	-7,3%	+9,1%
	Через 24 місяці	-6,76 ±0,3*	9,00 ±0,5*	73,0 ±8,4*	2,6 ±0,2
	Зміни показника у % до вихідного рівня	+18,1%	+17,4%	-10,9%	+13,6%
Порівняння, n=36	Вихідний рівень	+1,14 ±0,1	1,31 ±0,2	99 ±1,6	0,2 ±0,08

Примітки: * - статистично вірогідні зміни по відношенню до вихідного рівня ($p < 0,05$); ** - статистично вірогідні зміни по відношенню до групи порівняння ($p < 0,01$).

Резюме до розділу 4

Проведено аналіз маркерів окислювального та антиоксидативного стресу в сироватці крові пацієнтів з глаукомою низького тиску з метою діагностики. Відзначено збільшення рівня маркерів окислювального стресу і зниження рівня маркерів антиоксидативного стресу в сироватці крові пацієнтів з глаукомою низького тиску, які корелювали зі стадією глаукомного процесу.

Встановлено збільшення рівня малонового діальдегіду в 2,75 рази, при ГНТ I стадії та в 2,93 рази при ГНТ II стадії захворювання ($r=0,811$; $p < 0,05$).

Визначено зменшення рівня супероксиддисмутази у пацієнтів з ГНТ I стадії в 2,08 разів та при ГНТ II стадії в 2,22 рази ($r=(-)0,621$; $p<0,02$).

Відзначено зменшення рівня каталази в 1,63 рази та в 1,65 рази при ГНТ I стадії та II стадії захворювання відповідно ($r=(-)0,222$; $p<0,05$).

Визначено зменшення рівня сечової кислоти в крові пацієнтів з ГНТ I та II стадії захворювання, в 2,2 та 2,4 разів відповідно ($r=(-)0,331$; $p<0,05$).

Проведено аналіз в сироватці крові маркерів захисту організму, що забезпечують імунітет та безперебійну роботу життєво важливих біохімічних та фізіологічних процесів (вітамінів С, А, Е, трансферину).

Визначено зменшення рівня вітаміну С у пацієнтів з ГНТ I стадії в 2,66 рази та при ГНТ II стадії в 2,78 рази ($p<0,05$), що корелювало зі стадією глаукомного процесу ($r=(-)0,772$; $p<0,05$).

Зафіксовано зменшення рівня вітаміну А в 1,99 рази та в 2,86 рази при ГНТ I стадії та II стадії захворювання відповідно ($r=(-)0,243$; $p<0,05$).

Визначено зменшення рівня вітаміну Е в крові пацієнтів з ГНТ I та II стадії захворювання, в 3,58 та 5,19 разів відповідно ($r=(-)0,564$; $p<0,05$).

Встановлено зменшення рівня трансферину в 1,37 рази та в 1,44 рази при ГНТ I стадії та II стадії захворювання відповідно ($r=(-)0,328$; $p<0,05$).

Встановлено, що найбільші ризики для прогресування змін полів зору мали рівень МДА, СОД, рівень вітаміну С. Ризики меншої сили мали рівень вітаміну Е та горизонтальне співвідношення екскавація-диск.

Підвищення ризику початку прогресування змін полів зору пов'язано із значенням МДА $>(+)4.7$. Чутливість становила 81,0%, специфічність – 83,0%.

Критичні значення для СОД $<(+)19.8$, а вітаміну С - $<(+)4.7$, чутливість становила 93,0%, специфічність – 75,0%.

Проведено аналіз якісних та кількісних характеристик диска зорового нерва та перипапільярної ділянки у пацієнтів з ГНТ.

Встановлена найбільша залежність появи геморагій від рівня малонового діальдегіду в крові ($r=0.3347$; $p<0.0005$), що було маркером та швидкості прогресування полів зору ($r=0.4782$; $p<0.0001$). На появу

геморрагій також впливали дефіцит вітаміну Е ($r=0.4782$; $p<0.0001$), фолієвої кислоти ($r=(-)0.2082$; $p<0,05$), феритину ($r=(-)0.1969$; $p<0,05$), трансферину ($r=(-)0.1833$; $p<0,05$) та тривале паління ($r=0.1657$; $p<0,05$). Меншою мірою поява геморрагій залежала від віку пацієнта ($r=0.1521$; $p<0,05$), жіночої статі ($r=0.1846$; $p<0,05$), кількості тромбоцитів ($r=(-)0.1754$; $p<0,05$) і рівня фіброногену ($r=0.1578$; $p<0,05$).

Зафіксовано відсутність залежності появи геморрагій та рівня ВОТ ($r=(-)0.1473$; $p>0,05$), чоловічої статі ($r=0.0939$; $p>0,05$) та частоти пульсу ($r=(-)0.1234$; $p>0,05$).

Відзначено кореляційні зв'язки між геморагіями та виїмкою нейроретинального паска в нижньому сегменті ($r=(-)0.1950$; $p<0,05$), вогнещевою втратою шару нервових волокон сітківки в ділянці геморагій, ($r=(-)0.2629$; $p<0,05$) та індексом кровотоку перипапілярних судин диска зорового нерва в поверхневій капілярній сітці нижньо-темпорального сегменту ($r=(-)0.3851$; $p<0,05$) в ділянці геморагій.

Встановлено кореляцію середньої сили між геморагіями та наявністю перипапілярної атрофії β -зони ($r=0.2217$; $p<0,05$), горизонтальним співвідношенням екскавація-диск ($r=0.1977$; $p<0,05$).

Для оцінки ефективності запропонованого курсу нейропротекторного лікування проведено аналіз показників ЗВКП та ЕРГ у пацієнтів з ГНТ. Встановлено покращення функціональної активності фоторецепторів: зниження латентності піків на 12,8-18,5% ($p<0,05$) через 6 місяців, на 22,8-24,4% ($p<0,05$) через 12 місяців і на 19,9-22,8% через 24 місяці відповідно ($p<0,05$).

Визначено підвищення амплітуди піків ЕРГ на 17,1-18,2% через 6 місяців терапії та 25,0-27,3% і на 23,7-25,0% через 12 та 24 місяці відповідно ($p<0,05$). Встановлено, що у пацієнтів, які не отримували курси системної загальної і топічної нейропротекції, відбувалося поступове лінійне погіршення клініко-функціональних показників.

Проведено оцінку показників полів зору пацієнтів з ГНТ, які протягом 2 років системно отримували нейропротекторну терапію, що включала загальну терапію і місцеву інстиляційну терапію препаратом, який містить N-ацетилкарнозин. Відмічено розширення полів зору, зменшення кількості скотом, покращення показника MD на 20,3% через 6 місяців, на 25,8% через 12 місяців і на 22,4% через 24 місяці відповідно ($p < 0,05$); зниження показника PSD на 19,1-28,8% ($p < 0,05$), покращення індексу полів зору на 8,7-18,5% ($p < 0,05$) та зниження швидкості прогресування полів зору з 2,4%/на рік до 1,9%/рік ($p < 0,05$), тобто на 20,8% відповідно ($p < 0,05$).

У пацієнтів з ГНТ, які такої терапії не отримували, встановлено лінійне прогресування змін полів зору, звуження полів зору, збільшення кількості скотом, погіршення показника MD на 18,1% через 24 місяці ($p < 0,05$), збільшення показника PSD на 11,9-17,4% ($p < 0,05$), погіршення індексу полів зору на 3,7-10,9% ($p < 0,05$) та збільшення швидкості прогресування полів зору з 2,2%/на рік до 2,6%/рік ($p < 0,05$), тобто на 13,6% відповідно ($p < 0,05$).

Таким чином, клінічне обстеження головки зорового нерва залишається важливим та обов'язковим методом діагностики очей при глаукомі. Виявлення крововиливів у диск зорового нерва відіграє істотну роль у прогнозі захворювання, оскільки є передвісником прогресуючої функціональної втрати зору при глаукомі.

Встановлено можливість розширення об'єму лікувальної допомоги і потенціювання результативності інших методів медикаментозного лікування глаукоми шляхом призначення нейропротекторної терапії. Визначено позитивний нейропротекторний вплив N-ацетилкарнозину та цитиколіну на клініко-функціональні показники у пацієнтів з глаукомою низького тиску, що є патогенетично обґрунтованим підходом додаткового медикаментозного лікування пацієнтів з глаукомою задля запобігання незворотної втрати зору.

Перелік друкованих праць, опублікованих за матеріалами, викладеними в цьому розділі:

1. [264] Санін ВВ. Дослідження впливу нейропротекторної терапії на функціональний стан очей у пацієнтів з глаукомою низького тиску. Вісник проблем біології і медицини. 2022; Випуск 4.,Т.167:210-222.
2. [333] Tutchenko L, Patel S, Horak O, Sanin V, Kosuba S. Effect of cataract surgery on the refractive index of the cornea estimated by optical pachymetry. *Cornea*. 2018;37:1414-1420. DOI: 10.1097/ICO.0000000000001679.
3. [334] Сковрон МВ, Горак ОБ, Санін ВВ, Тутченко ЛП, Новак ЛП, Новак НВ. Зв'язок між проявами синдрому сухого ока та рівнем вітаміну D в крові (огляд літератури). Збірник наукових праць співробітників КМАПО імені П.Л.Шупика. 2017;Випуск 27.Книга1:151-160.
4. [335] Санін ВВ, Горак ОБ, Сковрон МВ, Новак ЛП, Тутченко ЛП, Новак НВ. Дослідження режиму лікування серед хворих з глаукомою (огляд літератури). Збірник наукових праць співробітників КМАПО імені П.Л.Шупика. 2017;Випуск 27.Книга1:144-150.
5. [327] Риков СО, Санін ВВ. Вивчення впливу оксидативного стресу на розвиток та прогресування глаукоми і визначення можливостей його корекції. В: Риков СО, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. з міжн. уч. Рефракційний пленер`22; 2022 Жовт. 19-20; Київ: Київ; 2022, с.83-86.
6. [342] Риков СО, Санін ВВ, Гудзь АС. Можливості диференційної діагностики глаукоми низького тиску за допомогою ангіо-ОКТ. В: Риков СО, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. з міжн. уч. Рефракційний пленер`19; 2019 Жовт. 17-19; Київ: Київ; 2019, с.91.
7. [336] Тутченко ЛП, Санін ВВ, Горак ОБ, Сковрон МВ, Новак ЛП, Новак НВ. Аналіз факторів, що впливають на рівень дотримання призначеного лікування при глаукомі. Матеріали 40-вої юв. наук.-практ. конф. мол. вч. НМАПО імені П.Л.Шупика з міжн. уч., присв. Дню науки. Інновації в медицині: досягнення молодих вчених; 2017 Трав.18;Київ:58.

8. [337] Tutchenko L, Patel S, Horak O, Sanin V, Kosuba S. Cataract surgery and refractive index of the cornea. *Матеріали наук.-практ. конф. з міжн. уч. European Biomedical Young Scientist Conference НМАРО (до 100 річ. заснування НМАРО імені П.Л.Шупика МОЗ України);2021 Кві 19-21; Київ:2.*
9. [338] Tutchenko L, Horak O, Sanin V, Kosuba S, Patel S. Estimation of the refractive index of the human cornea in vivo by non-invasive optical pachymetry. [Internet]; 2017 Oct 7-11; Lisbon: ESCRS; 2017. Available from: <https://legacy.es CRS.org/Lisbon2017/programme/Free-papers-overview.asp>
- 10.[339] Tutchenko L, Patel S, Horak O, Sanin V, Kosuba S. Can the refractive index of the human cornea be estimated in vivo by non-invasive optical pachymetry? В: Риков СО, редактор. *Матеріали наук.-практ. конф. офт. та оптом. з міжн. уч. Рефракційний пленер`17; 2017 Жовт 20-21; Київ: Київ; 2017, с.140-141.*
- 11.[340] Сковрон МВ, Горак ОБ, Санін ВВ, Новак ЛП, Тутченко ЛП, Новак НВ. Сучасні погляди на зв'язок між рівнем вітаміну D та синдромом сухого ока. *Матеріали 40-вої юв. наук.-практ. конф. мол. вч. НМАРО імені П.Л.Шупика з міжн. уч., присв. Дню науки. Інновації в медицині: досягнення молодих вчених; 2017 Трав.18;Київ:59-60.*
- 12.[341] Горак ОБ, Санін ВВ, Сковрон МВ, Новак ЛП, Тутченко ЛП, Новак НВ. Виявлення чинників впливу на якість лікування хворих на глаукому. *Матеріали 40-вої юв. наук.-практ. конф. мол. вч. НМАРО імені П.Л.Шупика з міжн. уч., присв. Дню науки. Інновації в медицині: досягнення молодих вчених; 2017 Трав.18;Київ:22-23.*

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Глаукома є однією з основних причин необоротної сліпоти в усьому світі [291-293]. Протягом багатьох років було представлено цілу низку теорій для пояснення патогенезу глаукоми. Незважаючи на отримані успіхи в цьому напрямку, дослідження тривають, а механізми, що лежать в основі глаукоматозної нейропатії зорового нерва, залишаються нез'ясованими.

Хоча основна патофізіологія глаукоматозної оптичної нейропатії (ГОН) залишається до кінця не зрозумілою, підвищений внутрішньоочний тиск вважається найважливішим фактором ризику [294]. В той же час достотно відомо, що у значної частини пацієнтів захворювання виникає, незважаючи на нормальний ВОТ. Отже, інші фактори ризику також мають брати участь у нейропатії зорового нерва. Кількість пацієнтів з ГНТ з кожним роком стрімко зростає, і Україна не є виключенням [294].

Попри те, що механізми, які лежить в основі глаукомного ураження зорового нерва, залишаються погано вивченими, принаймні три основні теорії, включаючи судинну, біомеханічну та біохімічну теорії, що запропоновані останнім часом, стрімко розвиваються. Судинна теорія глаукома розглядає ГОН як наслідок недостатнього кровопостачання внаслідок підвищення ВОТ та/або інших факторів ризику зниження очного кровотоку [295].

Механічна теорія припускає, що ГОН може бути результатом підвищення ВОТ до ділянок високого напруження, зсуву та деформації в *lamina cribrosa* [295]. За останні кілька років відбувався значний прорив в біохімічних дослідженнях і зміни поглядів вчених щодо можливої ролі біохімічних факторів, що призводять до глаукоматозної нейродегенерації[296].

Ці біохімічні механізми включають роль вільних радикалів кисню, оксиду азоту, амінокислот, каспази, протеїнкінази, фактору некрозу пухлини-альфа, нейротрофінів та металопротеїнів [296].

Інтригуючим висновком кількох досліджень є те, що внутрішньочерепний тиск (ВЧТ) нижчий у пацієнтів з ПВКГ і ГНТ [297-299], і зростає кількість доказів того, що глаукома – це стан, який розвивається через невідповідність тисків з обох сторін *lamina cribrosa*. Зоровий нерв, біла речовина тракту центральної нервової системи (ЦНС), охоплений у всі три менінгеальні шари і оточений спинномозковою рідиною (СМР) у субарахноїдальному просторі (ППА) з тиском, еквівалентним ВЧТ [300].

Встановлено рух ліквору назовні зорового нерва. При введенні індикаторів у велику цистерну або бічні шлуночки мозку він був виявляний в/навколо зорового нерва [301, 302]. Таким чином, крім ВОТ, зоровий нерв піддається впливу ВЧТ [294]. *Lamina cribrosa* розділяє ці дві ділянки тиску [294]. Вона утворює бар'єр між відділенням високого тиску внутрішньоочного простору і відділом низького тиску ретробульбарного лікворного простору [303], на який на рівні головки зорового нерва впливають як ВОТ, так і ВЧТ.

Різниця між ВОТ і ВЧТ через *lamina cribrosa* називається різниця тиску через *lamina cribrosa* (TLCPD) [294]. Падіння тиску, яке відбувається через *lamina cribrosa* (IOP-ICP), збільшується з підвищенням ВОТ або зниженням ВЧТ [294].

Останні дослідження біологічного складу СМР засвідчили важливість так званої «глімфатичної системи» в кліренсі потенційно нейротоксичних відходів, включаючи амілоїд- β ($A\beta$), від мозку через навколосудинні простори кровоносних судин головного мозку [304]. На сьогодні нові дослідження підтверджують гіпотезу про присутність подібної системи в оці та зоровому нерві [297]. Відкриття такої «очної глімфатичної системи» може надати нові знання для розуміння патофізіології глаукоми, враховуючи вже існуючі дослідження, отримані на моделях глаукоми у тварин, які показали, що $A\beta$ є ймовірним посередником індукованої тиском смерті ГКС [305]. Крім того, інтригуючим моментом є те, що глімфатична гіпотеза глаукоми

може інтегрувати в собі багато аспектів вищезазначених судинної, біомеханічної та біохімічної теорії захворювання.

Окислювальний стрес зазвичай спостерігається при всіх нейродегенеративних захворюваннях. Хоча знання про механізми, які лежать в основі цього стану, до кінця не вивчені, вважається, що мозок особливо чутливий до окислювального стресу через високе споживання кисню та його вразливий антиоксидантний захист. Окислювальний стрес може прямо чи опосередковано спричиняти схильність нейронів до смерті внаслідок мітохондріальної дисфункції, зміненого протеостазу, фізіологічного метаболізму нейромедіаторів, запалення або дерегуляції шляхів антиоксидантів. Підвищення рівня активних форм кисню (АФК) і активних форм азоту (АФА) та порушення механізмів антиоксидантного захисту часто спостерігаються у більшості нейродегенеративних захворювань, таких як хвороба Альцгеймера, Паркінсона, Хантінгтона, бічний аміотрофічний склероз (БАС) та глаукома [306].

Кілька досліджень, заснованих на фармакологічних і генетичних тваринних та клітинних моделях нейродегенеративних захворювань, свідчать про першопричинну роль АФК та АФА у пошкодженні білків, ліпідів і нуклеїнових кислот, що руйнує функцію клітини і активує шляхи її загибелі (апоптоз). Генетичні мутації, а також компоненти шляхів антиоксидантного захисту також вразливі до окисного стресу і є причиною розвитку нейродегенеративних процесів [307].

Будь-яке фізичне емоційне навантаження на організм супроводжується значною активацією нервової, серцево-судинної та інших систем тіла людини, що зумовлено триразовим збільшенням насосної функції серця, зростанням роботи міокарда і його потреб в забезпеченні киснем. Останнє свідчить про активацію основного продуцента енергії в серцевому м'язі – мітохондрій, які складають до 30% його маси і забезпечують надходження більш ніж 95% потрібного аденозинтрифосфату (АТФ). Не менш значні

потреби в енергії і кисні мають клітини центральної нервової системи, зокрема і клітини зорового аналізатора.

Синтез АТФ в мітохондріях відбувається за рахунок окисного фосфорилування, наслідком якого, крім АТФ, є продукція активних форм кисню (АФК): супероксидного радикалу ($O_2^{\cdot-}$), гідроксильного радикалу (OH^{\cdot}) та стабільного метаболіту перекису водню (H_2O_2) [308], які інактивуються ферментами антиоксидантної системи – супероксиддисмутазою, каталозою, глутатіонпероксидазою і пероксиредоксином, що присутні в мітохондріях. Недостатність антиоксидантної системи призводить до надмірної продукції АФК, які разом із активними формами азоту, такими як пероксинітрит ($ONOO^-$), окислюють біомолекули (ДНК, білки, ліпіди) і спричинюють розвиток клітинної дисфункції та її загибелі.

Першим завданням нашої роботи було визначення ролі окисного стресу в розвитку нейродегенеративних процесів та його впливу на рівень ВОТ, морфологію і показники окисного метаболізму в тканинах сітківки в експерименті. Для рішення цього завдання ми зупинилися на відомій моделі глаукоми у щурів, що досягається шляхом гіперкатехолемії, автором якої було отримано достатнє та тривале підвищення рівня внутрішньоочного тиску [147]. Однак не були визначені чинники, що зумовили таке підвищення ВОТ, не було проаналізовано наслідки впливу підвищеного ВОТ на структури сітківки ока та не було визначено можливі шляхів корекції такого стану.

Після моделювання, згідно описаного способу [147], протягом 40 днів гіперкатехолемії у тварин дослідної групи здійснювали вимірювання ВОТ. З'ясувалось, що введення щурам препарату адреналіну протягом 40 діб супроводжувалось вірогідним збільшення ВОТ, значення якого становило $10,1 \pm 0,69$ і $10,3 \pm 0,61$ мм рт. ст. в правому і лівому оці відповідно ($p < 0.03$), порівняно з фоновим для обох значень, яке було визначено у інтактних

тварин на рівні: $8,54 \pm 0,28$ і $8,36 \pm 0,38$ мм рт. ст. в правому і лівому оці відповідно [309-311].

Варто зазначити, що підвищений ВОТ у дослідній групі спостерігався і через 42 дні після останнього введення препарату адреналіну і становив $11,2 \pm 0,9$ і $9,7 \pm 0,36$ мм рт. ст. в правому і лівому оці відповідно, що було достовірно вище порівняно з фоновим ($p < 0.04$ для обох значень) [309-311].

Отримано результати, які вказували на вигогідне зростання ВОТ в умовах гіперкатехолемії в обох очах, в середньому, на 21%, з тривалим стійким ефектом навіть після припинення введення адреналіну [309-311], що давало змогу зробити висновок щодо адекватності отриманої моделі глаукоми для вирішення наступних, поставлених в дисертаційному дослідженні завдань.

Наступним кроком було проведення морфологічних та морфометричних досліджень, в яких зосереджували увагу на тканинних, клітинних особливостях та відмінностях ультраструктури окремих органел при підвищенні ВОТ.

Було встановлено, що в ультраструктурній організації сітківки відбувається тотальний та локальний набряк структур. Таку особливість можна пояснити саме підвищенням загального ВОТ. Інші чинники розвитку набряків – зниження колоїдно-осмотричного (онкотичного) тиску плазми крові, яке призводить до виходу рідини з судинного русла в тканини та мембраногенний механізм, який зумовлений підвищенням проникності цитоплазматичних мембран та мембран окремих органел внаслідок тканинної гіпоксії. Останній механізм, як свідчать попередні дослідження, може відігравати досить суттєву роль у розвитку деструктивних процесів [266].

Таким чином, стає зрозумілим підґрунтя отриманих в наших дослідженнях деструктивних змін нейронів з утворенням великих вакуолей та розривів, тотальним просочування тканини плазмою крові. Мітохондрії також піддавалися деструктивним змінам, були частково або повністю вакуолізованими. В мітохондріальному апараті подекуди зберігалися

динамічні процеси з їх поділом та так званім «брункуванням». Паралельно спостерігали компенсаторне перенапруження органелл, утворення мітохондрій з везикулярними кристами [309-311].

Пояснення таких ультраструктурних змін полягає у показниках високої активності мітохондрій в плані синтезу АТФ в режимі перенавантаження[267].

Шляхом морфометричного вивчення нами було встановлено різке збільшення середньої кількості структурно пошкоджених органел (в 7,6 разів), що унеможливило забезпечення нормального енергетичного метаболізму в сітківці. Наступним проявом ультраструктурних змін мітохондрій було значне зростання середнього діаметру мітохондрій на 78,4%, що свідчило про активацію процесів, які пов'язані з порушенням синтезу макроергів [309-311]. Були виявлені так звані мега-мітохондрії, що були пошкодженими незворотно [309-311]. Такі зміни, як свідчить література, є проявами наступного структурного їх перетворення із загибеллю за некротичним типом [268], що запускає каскад реакцій і процесів нейродегенерації у зоровому аналізаторі і зрештою призводять до апоптичної загибелі клітини [269].

Таким чином, отримані в нашій моделі порушення ультраструктури сітківки та клітинних органел при екстраполяції в клінічні умови притаманні термінальній стадії глаукоми [309-311].

У досліджуваних тканинах нами було виявлено гіпергідратацію гістогематичного бар'єру, більшою мірою ендотеліальної устілки капілярів та перикапілярного простору. Потовщення ГГБ супроводжувалося значним підвищенням проникності цитоплазматичних мембран, зокрема мембран ендотелію. При цьому також була відмічена активація в ендотеліальних клітинах піноцитозу [309-311]. Такі структурні перебудови, як свідчать результати досліджень [270], є проявами активних обмінних і транспортних процесів.

За результатами наших досліджень: товщина гістогематичного бар'єру зростала у 2,7 рази, ендотеліальної устілки – у 3 рази, а перикапілярних просторів – у 2,6 рази ($p < 0,05$), що збільшило шлях дифузії для кисню від капіляра до мітохондрій та призвело до розвитку вторинної гіпоксії, посилювало нейродегенерацію та погіршувало функцію сітківки [309-311].

Нами було встановлено ультраструктурні зміни синапсів. Пласкі синапси (інколи з синаптичними стрічками) в сітківці ока піддослідних тварин за своєю електронною щільністю стали практично прозорими. Ці явища свідчили про зміни функціонування глутаматергічної системи та ще одну складову патологічного процесу [309-311]. Оскільки глутамат, на думку багатьох дослідників [271,272], ідентифікується як один з найважливіших елементів патогенезу глаукоми. Ефект його ексайтотоксичності на гангліонарні клітини сітківки здійснюється вже у перші години цієї патології в результаті блокування відповідних рецепторів. Доведено, що підвищення вмісту глутамату разом із паралельним зниженням активності у відповідних структурах ока ГАМК і гліцину, гальмівних амінокислот, індукує загибель гангліозних клітин, як в умовах *in vivo*, так і *in vitro* [271,272].

У процесі проведення дослідження ми не ставили перед собою завдання вивчити, яким чином змінюється концентрація глутамату в сітківці, проте отримані нами особливості ультраструктури синапсів, свідчать про зміни функціонування глутаматергічної системи [309-311].

Аналіз доступної нам літератури останніх років свідчить, що більшість дослідників вважають глаукомну оптичну нейропатію мітохондріальною патологією [273], що супроводжується вторинною тканинною ішемією та призводить до нейродегенерації [274]. Деякі експериментальні дослідження свідчать, що причиною глутаматної ексайтотоксичності є вхід Ca^{2+} через NMDA підтип глутаматних каналів і подальше накопичення Ca^{2+} в мітохондріях, що призводить до загибелі органел та всієї клітини і спостерігається при глаукомі [275].

Отримані та проаналізовані продовж нашого дослідження ультраструктурні зміни в мітохондріальному апараті клітин сітківки повністю доводять адекватність обраної моделі для подальшого вивчення процесів, властивих глаукомі та відповідають літературним джерелам [276].

Наступним завданням експериментальної частини нашого дослідження було вивчення можливих біохімічних механізмів, що призводять до морфологічних змін в тканинах ока внаслідок тривалого введення адреналіну та підвищення ВОР. Нами були проведені біохімічні дослідження визначення ступеня оксидативного стресу.

Встановлено збільшення швидкості генерації супероксидного радикалу в 2,7 і 8 разів ($p < 0,05$), збільшення швидкості утворення гідроксильного радикалу в 2,2 рази ($p < 0,05$). Визначено активацію перекисного окислення ліпідів мембран (ПОЛ), а саме на 88% і 36% збільшення вмісту кінцевого продукту ПОЛ МДА ($p < 0,05$), зростання вмісту ДК на 6,8% і 47,8% ($p < 0,05$) та вмісту лейкотрієну C_4 – на 45% ($p < 0,05$) і 6,4% відповідно ($p < 0,05$). Відомо, що показник лейкотрієну C_4 є маркером активації ліпоксигеназного шляху розщеплення арахідонової кислоти, що відноситься до одного з джерел вільних радикалів [309-311].

Показано, що адреналін може працювати не лише через свої рецептори, але й має знатність посилювати ПОЛ ліпідів мембран безпосередньо мітохондрій і зменшувати їх мембранний потенціал, що призводить до зміни їх об'єму і корелює із морфологічними порушеннями в цілісності мітохондрій, які ми отримали протягом нашого дослідження, що є продовженням попередніх досліджень в цьому напрямку [279].

Було встановлено, що шляхом зниження вмісту глутатіону в мітохондріях адреналін також послаблює антиоксидантні властивості і сприяє розвитку окисного стресу в тканинах ока, про що свідчать маркери ПОЛ, які ми визначили в нашому експерименті і які не визначалися попередніми дослідниками [309-311].

Відомо, що основним джерелом супероксидного радикалу ($\cdot\text{O}_2^-$) в клітині виступає дихальний ланцюг мітохондрій, а також ряд ензимів. У той же час основним шляхом генерації гідроксильного радикалу ($\cdot\text{OH}$) виступає не лише традиційний – утворення з H_2O_2 у реакції Фентона, але й шлях, отриманий за рахунок розпаду пероксинітриту [280], який може утворитися при одночасній інтенсивній генерації супероксиду і NO у випадку неспряження NO-синтаз.

Цілком можливо, що при тривалому введенні адреналіну так само відбувається неспряження NO-синтаз в тканинах сітківки, про що свідчить збільшений VOT в процесі наших досліджень, навіть після припинення введення препарату. У той же час $\cdot\text{OH}$ -радикал може пошкоджувати мітохондріальні мембрани, що призводить до зниження продукції ними АТФ. Таким чином, збільшення продукції АФК під дією адреналіну впливає на енергопродукуючу функцію мітохондрій, що в свою чергу, впливає на розвиток патологічного процесу і є передумовою розвитку глаукоми [309-311].

Таким чином, результати наших досліджень свідчать, що при підвищенні внутрішньоочного тиску, викликаному дією адреналіну, для корекції патологічного стану існують першочергові завдання, до яких, окрім загально прийнятої стратегії, спрямованої на зниження VOT, належить застосування мітохондрій- та ендотелійспрямованих препаратів, комплексу антигіпоксантив та антиоксидантів широкого спектру дії, а також мембраностабілізаторів для усунення виражених та різноманітних проявів набряку клітин, біологічних бар'єрів та клітинних органел [309-311].

Все більшого визнання останнім часом набуває нейропротекторна терапія, один із найважливіших напрямків в лікуванні глаукоми, який динамічно розвивається [312], від ішемії і окисного стресу, метою якої є підвищення резистентності зорового нерва до негативних факторів, які провокують прогресування його атрофії, а також профілактика вторинної дегенерації та атрофії нервових волокон і сітківки [313]. Задля цього

використовують препарати, що покращують кровообіг у системі зорового нерва, сітківки, ангіопротектори, гемокоректори, нейропептиди, ноотропи, вітаміни і антиоксиданти [313].

Однією з проблем лікування глаукоми є поліфакторність даного захворювання. Вченими в різні часи були задіяні різні підходи з метою пошуку антиоксидантних сполук, які мають потужну нейропротекторну дію. Незважаючи на кілька невдач у минулих клінічних випробуваннях, пошуки тривають [314,315].

До однієї з таких сполук відноситься N-ацетилкарнозин (NAC), що на сьогодні використовується як фармакологічний агент при лікуванні початкової катаракти [316], однією із загальновизнаних причин якої також є окисний стрес. Встановлено, що NAC є аналогом ендogenous дипептиду з антиоксидантними властивостями карнозину (β -аланіл-L-гістидину), зниження вмісту якого в кришталіку при катаракті відбувається в 5 разів [317]. Антиоксидантні властивості екзогенний NAC проявляються в здатності проникати в передню камеру ока та потім метаболізуватися до L-карнозину і реалізувати свою антиоксидантну дію. Саме з цими властивостями пов'язують його ефективність в гальмуванні розвитку катаракти [317].

Іншою характеристикою NAC є його шапероноподібні властивості. В експериментальних умовах було показано, що NAC в комплексі з D-пантенином зменшували фракцію водонерозчинних білків в кришталіку за дії УФ-випромінення, чим попереджали УФ-індуковане змутніння кришталіка і відповідно формування і прогресування катаракти [318]. Крім того, був показаний зв'язок NAC з гальмуванням вкорочення теломерів в епітеліальних клітинах кришталіка і відповідно старіння цих клітин, що викликається окисним стресом і так само проявляється при катаракті [319, 320].

Незважаючи на доведений корисний вплив NAC на тваринних моделях, в літературі відсутні повідомлення щодо результатів клінічних досліджень,

які вказували на ефективність використання НАС для гальмування розвитку оксидативного стресу при очній патології.

Враховуючи вищенаведене, наступним завданням нашого дослідження було оцінити вплив N-ацетилкарнозин вмісного препарату на розвиток катехоламінових пошкоджень ультраструктури сітківки ока та показники окисного стресу в експерименті, та на основі отриманих результатів оцінити можливість застосування його в клінічних умовах.

Отримані результати засвідчили, що введення НАС вмісного препарату як антиоксиданта при моделювання гіперкатехолемії, одного із основних чинників підвищеного ВОТ і ризик-факторів виникнення глаукоми, супроводжувалося зменшенням розвитку окисного стресу, продукції АФК та ПОЛ. Визначено виражене зменшення швидкості продукції супероксидного радикалу на 33,3 і 62,5% ($p < 0,05$), зниження швидкості продукції гідроксильного радикалу на 52,8 і 39,1% відповідно ($p < 0,05$), що є свідченням антирадикальної дії препарату N-ацетилкарнозину [321].

Разом з тим встановлено, що вміст проміжних продуктів окислення ліпідів – дієнових кон'югатів – збільшився на 48 і 8% відповідно ($p < 0,05$), при незмінному вмісті лейкотрієнів ($p > 0,05$) [321].

Це свідчить про вплив препарату на різні ланки ферментативного окислення ліпідів мембран. Ймовірно ліпоксигенезний шлях, продуктом якого є лейкотрієн C_4 , залишився поза впливом препарату [321].

Встановлено, що вміст кінцевого метаболіту ПОЛ – малонового диальдегіду – достовірно знизився на 15,4 і 22% ($p < 0,05$) [321].

Отримані результати морфологічних досліджень дозволяють зробити деякі висновки та припущення щодо ефективності застосування НАС вмісного препарату для корекції ультраструктурних змін, викликаних катехоламінами.

Встановлено позитивну протекторну дію препарату N-ацетилкарнозину: зменшення кількості структурно змінених МХ в середньому на 34,6% відносно дослідної групи ($p < 0,05$). Відмічено

зменшення кількості повністю вакуолізованих органел, значна частина МХ мала невеликі ділянки пошкоджених крист, в частині МХ утворювалися везикулярні кристи, а в деяких МХ ущільнювався матрикс [321].

Дослідження інших вчених вказують на те, що везикулярні кристи в МХ є ознакою перенапруження органел і високу їх активність в плані синтезу АТФ в режимі перенавантаження, що можна розглядати як компенсаторну реакцію у відповідь на несприятливі умови [267]. Так, в деяких роботах [281] описані ущільнення мітохондріального матриксу, що спостерігалися при дослідженні некрозу міокарда у відповідь на введення адреналіну. Іншими вченими [282], ущільнення матриксу МХ також розглядається як компенсаторна реакція на несприятливі впливи для оптимізації синтезу макроергів.

Крім того, в нашому дослідженні позитивні зміни ультраструктури МХ при застосуванні НАС-вмісного препарату полягали ще у зниженні ступеня їх набухання зі зменшенням середнього діаметру на 25,5% відносно дослідної групи I ($p < 0,05$). Такі зміни зменшували ймовірність повної руйнації МХ за некротичним шляхом, а також вказували на зменшення кількості органел, які були змінені незворотно. Отже, отримані нами результати свідчили про те, що в тканині відбувалося поліпшення енергетичного метаболізму за умов експерименту [321].

Слід відзначити, що результати вимірювання ВОТ засвідчили, що введення досліджуваного НАС-вмісного препарату достовірно не впливало на зміни значення ВОТ. Відсутність зниження ВОТ під дією препарату можна пояснити тривалістю його введення, з одного боку, а з іншого, активацією багатьох механізмів вазоконстрикції під впливом дії адреналіну, відмінних від надпродукції АФК, зокрема перевантаженням клітин кальцієм і збільшенням експресії прозапальних цитокінів, що в свою чергу збільшує тонус судин, на які дія НАС безпосередньо не поширюється [321].

Однак, завдяки антиоксидантній здатності НАС покращує ультраструктуру мітохондрій у тканині сітківки, що має, з одного боку,

сприяти оптимізації енергетичного метаболізму за умов збільшення адреналіну в організмі, з іншого – зменшувати утворення вільних радикалів і пригнічувати таким чином прогресію оксидативного стресу [321].

Таким чином, антиоксидантну здатність препарату N-ацетилкарнозину можна в подальшому використовувати в комплексній терапії підвищеного тонузу внутрішньоочних капілярів як антиоксидантний та мембраностабілізуючий засіб.

Як свідчить досвід багатьох світових експертів і результати наших власних експериментальних досліджень, оцінка маркерів перекисного окиснення ліпідів, які пов'язані з окисним стресом, на сьогодні досить корисна. Аналіз світової літератури останніх років свідчить, що дисбаланс окислювального стресу може грати значну та важливу роль у пошкодженні гангліонарних клітин сітківки [285-287]. При проведенні клінічних досліджень встановлено значне підвищення рівнів активності супероксиддисмутази (SOD) і глутатіонпероксидази (GPX) в рідині передньої камери у пацієнтів з ПВКГ [285]. Крім того, результати робіт інших вчених [286] вказують на значне порушення рівнів медіаторів кисневого гомеостазу та функції нейронів у водянистій волозі хворих на ПВКГ, що є свідченням залучення реакцій на окислювальний стрес у ПВКГ-асоційованому пошкодженні нервів.

Інші мета-аналізи також продемонстрували, що найбільш важливий розмір ефекту для окислювального стресу був визначений у водному середовищі вологи передньої камери [322]. Порушення оксидантно-антиоксидантного балансу у водянистій волозі викликає збільшення продукції активних форм кисню, що може призвести до ушкодження трабекулярної сітки [323] у схильних пацієнтів [324]. Трабекулярна сітка регулює відтік водянистої вологи через передню камеру [325]. Однак ця структура має найбільшу чутливість до наслідків окислювального стресу [326]. Структурні зміни неминуче вплинуть на флюктуації рівнів внутрішньоочного тиску, що призведе до ушкодження зорового нерву і

дегенерації гангліозних клітин сітківки, які вражені хронічним окислювальним стресом. Запускається порочне коло, що буде початком стійкої прогресії дегенеративно-дистрофічного процесу.

Таким чином, аналіз літератури демонструє, що чинники окисного стресу достатнім чином вивчалися в рідині передньої камери. Однак лише деякі поодинокі дослідження [287] є свідченням того, що концентрація малондіальдегіду (MDA) у пацієнтів з ПВКГ була значно вищою, а рівень сечової кислоти в сироватці крові, яка є основною молекулою антиоксиданту, був значно нижчим, ніж у пацієнтів без глаукоми.

Таким чином, проведений нами аналіз доступної літератури та результатів, отриманих іншими вченими, був свідченням необхідності комплексної оцінки біомаркерів окислативного стресу в крові хворих на глаукому, що може допомогти краще зрозуміти перебіг ПВКГ і механізми, які лежать в основі пошкодження від окисного стресу гангліонарних клітин сітківки. Крім того, визначення найбільш вирогідних маркерів, які відображають такі зміни, може бути в подальшому актуальною мішенню для ранньої діагностики таких змін, профілактики і лікування глаукоми.

На сьогодні відомі роботи вітчизняних вчених в цьому напрямку [284], однак в щоденній клінічній практиці маркери окислативного стресу та рівні антиоксидантних маркерів оцінюються недостатньо і не знайшли широкого запровадження в повсякденну роботу лікарів офтальмологів [280,288].

Слід зазначити, що з кожним роком зростає процент пацієнтів з глаукомою низького тиску в Україні [283]. Навіть, арсенал медикаментозних засобів, який щорічно стрімко збільшується, не запобігає розвитку глаукомної атрофії зорового нерва у цієї категорії пацієнтів [283,288].

Таким чином, невирішеним актуальним завданням сучасної офтальмології залишається дослідження маркерів окислювального та антиоксидативного стресу в сироватці крові пацієнтів з глаукомою низького тиску і визначення можливості їх застосування для діагностики

прогресування глаукомного процесу, що стало наступним завданням нашого дисертаційного дослідження.

В клінічну частину дослідження були включені 64 пацієнти (128 очей), з яких 46 пацієнтів (92 ока) з глаукомою низького тиску I та II стадії захворювання склали основну групу. В групу порівняння увійшли 18 пацієнтів (36 очей) без глаукоми. Всі пацієнти були обізнані про характер дослідження та підписали інформовану згоду.

Протягом дослідження встановлено збільшення рівня малонового діальдегіду в 2,75 рази, при ГНТ I стадії та в 2,93 рази при ГНТ II стадії захворювання ($p < 0,05$). Таким чином, кінцевий продукт ПОЛ, МДА був значно підвищений у пацієнтів основною групи з ГНТ та його рівень корелював зі стадією глаукомного процесу ($r = 0,811$; $p < 0,05$) [264,327].

Рівень супероксиддисмутази вирогідно зменшувався у пацієнтів з ГНТ I стадії в 2,08 разів та при ГНТ II стадії в 2,22 рази ($r = (-)0,621$; $p < 0,02$). Визначено також зменшення рівня каталази в 1,63 рази та в 1,65 рази при ГНТ I стадії та II стадії захворювання відповідно ($r = (-)0,321$; $p < 0,05$). Рівень сечової кислоти в крові пацієнтів з ГНТ I та II стадії захворювання був меншим в 2,2 та 2,4 рази, ніж у групи порівняння відповідно ($r = (-)0,331$; $p < 0,05$). Ці результати були свідченням загального падіння активності ферментів системи антиоксидантного захисту [264,327].

Також нами було проаналізовано вміст маркерів захисту організму, що забезпечують імунітет та безперебійну роботу життєво важливих біохімічних та фізіологічних процесів в сироватці крові хворих на ГНТ та пацієнтів без глаукоми.

Визначено зменшення рівня вітаміну С у пацієнтів з ГНТ I стадії в 2,66 рази та при ГНТ II стадії в 2,78 рази ($p < 0,05$), що корелювало зі стадією глаукомного процесу ($r = (-)0,772$; $p < 0,05$). Також встановлено зменшення рівня вітаміну А в 1,99 рази та в 2,86 рази при ГНТ I стадії та II стадії захворювання відповідно ($r = (-)0,243$; $p < 0,05$). Рівень вітаміну Е в крові пацієнтів з ГНТ I та II стадії захворювання був зменшений в 3,58 та 5,19 разів

відповідно ($r=(-)0,564$; $p<0,05$). Встановлено зменшення рівня трансферину в 1,37 рази та в 1,44 рази при ГНТ I стадії та II стадії захворювання відповідно, ($r=(-)0,328$; $p<0,05$) [264,327].

Шляхом багатофакторного аналізу після поправки на вік, стать, діастолічний артеріальний тиск, паління, центральну товщину рогівки, глибину передньої камери, аксіальну довжину ока, середню світлочутливість сітківки було визначено, що найбільші ризики прогресування мали рівень МДА, СОД, рівень вітаміну С. Ризики меншої сили мали рівень вітаміну Е та горизонтальне співвідношення екскавація-диск.

Критичне значення рівня МДА на очах пацієнтів з ГНТ дорівнювало ($\text{Crit}(+)4,7$). При вибраному критичному значенні тесту його чутливість становила 81,0%, специфічність – 83,0%. Таким чином, підвищення ризику початку прогресування змін полів зору були пов'язані із значенням МДА $>(+)4,7$.

Визначено, що (Crit) рівня СОД на очах пацієнтів з ГНТ був рівень $(+)19,8$, а для вітаміну С - $(+)4,7$. При вибраних критичних значеннях тесту його чутливість становила 93,0%, специфічність – 75,0%.

Таким чином, підвищення ризиків початку прогресування змін полів зору були пов'язані із значенням СОД $<(+)19,8$ та вітаміну С - $<(+)4,7$.

Результати нашого дослідження є свідченням збільшенням маркерів окислювального стресу та зменшення маркерів захисту організму в крові пацієнтів з глаукомою низького тиску. Найбільш специфічним було значення підвищення вмісту малонового діальдегіду та зниження рівнів вітаміну С та вітаміну Е, що корелювало зі стадією глаукомного процесу [264,327].

Вітамін С є важливим виловлювачем АФК і може захищати різні біологічні субстрати (білки, жирні кислоти, ДНК) від окислення. Вітамін С також здатний запобігати окисленню ЛПНЩ, спричиненому різними АФК. Різке зниження рівнів вітаміну С скоріш за все пояснюється тим фактом, що рівень глутатіону, який бере участь в метаболізмі аскорбинової кислоти, виснажується у зв'язку з необхідністю метаболізувати АФК та АФА, рівень

яких збільшується на тлі прогресування окисного стресу. Таким чином, виснаження глутатіону призводить до утворення аскорбінових радикалів, які не можуть регенерувати в аскорбінову кислоту, що є причиною значного зниження її рівня, який корелює зі ступенем окислювального стресу.

Вітамін Е може включатися в жирні кислоти клітинної мембрани та ліпопротеїнів, де він виконує захисну функцію та пригнічує прогресування перекисного окислення ліпідів, спричиненого оксидативним стресом. Вітамін А реагує із синглетним киснем і може запобігти окисленню деяких біологічних субстратів, особливо поліненасичених жирних кислот.

Таким чином, окислювальний стрес є фактором ризику прогресування змін полів зору при ГНТ, одним із механізмів є, на нашу думку, пряма нейротоксичність ГКС, спричинена окисним стресом.

Окислювальні стресові ситуації базуються на багатofакторних патомеханізмах, проти яких організм намагається захиститися за допомогою складних, різноманітних механізмів. Це неминуче означає, що, з одного боку, для повноцінної діагностики слід використовувати надійні лабораторні параметри, що можуть свідчити про початок та прогресування захворювання а, з іншого боку, ці параметри можуть бути в подальшому застосовані для вибору персоналізованого режиму терапії.

Ще важливими чинниками, які необхідно обов'язково враховувати при підборі індивідуального лікування, є чинники, що можуть свідчити про ранній початок та подальше прогресування захворювання. Визначенню таких чинників було присвячене наступне завдання нашого дисертаційного дослідження.

Загальновідомо, що оцінка диска зорового нерва є цінним інструментом у діагностиці та спостереження за хворими на глаукому. Протягом дослідження ми провели аналіз якісних та кількісних характеристик диска зорового нерва та перипапільярної ділянки у пацієнтів з ГНТ і визначали їх взаємозв'язок із прогресуванням глаукомного процесу.

Особлива увага була приділена аналізу причин появи геморагій в ділянці диска зорового нерва та їх ролі у прогнозі захворювання.

Встановлено найбільшу залежність появи геморагій від рівня малонового діальдегіду в крові ($r=0.3347$; $p<0.0005$), що було маркером та швидкості прогресування змін полів зору ($r=0.4782$; $p<0.0001$). На появу геморагій також впливали дефіцит вітаміну Е ($r=0.4782$; $p<0.0001$), фолієвої кислоти ($r=(-)0.2082$; $p<0,05$), феритину ($r=(-)0.1969$; $p<0,05$), трансферину ($r=(-)0.1833$; $p<0,05$) та тривале паління ($r=0.1657$; $p<0,05$). Меншою мірою поява геморагій залежала від віку пацієнта ($r=0.1521$; $p<0,05$), жіночої статі ($r=0.1846$; $p<0,05$), кількості тромбоцитів ($r=(-)0.1754$; $p<0,05$) і рівня фіброногену ($r=0.1578$; $p<0,05$) [264].

Крім того, визначена відсутність залежності появи геморагій від рівня ВОТ ($r=(-)0.1473$; $p>0,05$), чоловічої статі ($r=0.0939$; $p>0,05$), частоти пульсу ($r=(-)0.1234$; $p>0,05$) та наявності діабету ($r=(-)0.0372$; $p>0,05$) [264].

Були встановлені сильні кореляційні зв'язки між геморагіями та виїмкою нейроретинального паска в нижньому сегменті ($r=(-)0.1950$; $p<0,05$), вогнещевою втратою шару нервових волокон сітківки в ділянці геморагій, ($r=(-)0.2629$; $p<0,05$) та індексом кровотоку перипапілярних судин диска зорового нерва в поверхневій капілярній сітці нижньо-темпорального сегменту ($r=(-)0.3851$; $p<0,05$) в ділянці геморагій [264].

Також встановлено кореляцію середньої сили між геморагіями та наявністю перипапілярної атрофії β -зони ($r=0.2217$; $p<0,05$), горизонтальним співвідношенням екскавація-диск ($r=0.1977$; $p<0,05$) [264].

Таким чином, діагностика появи крововиливів у ділянці диску зорового нерва відіграє істотну роль у подальшому прогнозі захворювання, оскільки є передвісником прогресуючої функціональної втрати зору при глаукомі ($r=0.4782$; $p<0.0001$).

Аналізуючи доступну вітчизняну та закордонну літературу, ми знайшли роботи, в яких автори також намагалися визначити природу появи геморагій в ділянці головки зорового нерва [289, 290] та можливе

співвідношення з прогресуванням глаукоми. Було порівняно пацієнтів з ПВКГ та офтальмогіпертензією. Але вибірка пацієнтів була не досить великою та тривалість спостереження не дали змоги отримати вирогідні результати. Ряд інших дослідників намагалися визначити залежність морфометричних змін в ділянці диска зорового нерва з наявністю геморагій [328-330], але автори не розбивали параметри ОКТ на різні сектори та не брали до уваги визначення параметрів ангіо-ОКТ.

На сьогодні стандартні програми цифрових пристроїв для візуалізації заднього відрізка ока, такі як оптична когерентна томографія, ОКТ, ангіо-ОКТ, скануюча лазерна офтальмоскопія і скануюча лазерна поляриметрія, що широко застосовуються для діагностики глаукоми, не здатні виявити крововиливи в ділянку диска. Це в котре підкреслює важливість щоденного рутинного клінічного огляду. Фотографія та замальовки диска зорового нерва забезпечує як незамінну якісну інформацію стану головки зорового нерва при глаукомі, а також допоможе виявити тонкі крововиливи.

Таким чином, виявлені нами закономірності появи геморагій в ділянці зорового нерва допоможуть в подальшому краще зрозуміти патогенез цього явища при глаукомі задля пошуку нових можливостей лікування цієї складної хвороби і запобігання незворотної втрати зору.

Як свідчать результати наших власних досліджень, оцінка рівнів маркерів окислювального та антиоксидативного стресу може стати першим кроком в розробці персоналізованих клінічних маршрутів пацієнтів з глаукомою. Результати свідчать, що можливість визначення перших початкових порушень оксидантно-антиоксидантного балансу, які викликані збільшенням продукції активних форм кисню, що в подальшому можуть призвести до ушкоджень не тільки трабекулярної сітки [331] у схильних пацієнтів [332], а й стінки судин, які живлять зоровий нерв з розвитком геморагій та локальній дегенерації гангліозних клітин сітківки, які вражені хронічним окислювальним стресом, що проявляється втратою нервових волокон сітківки в ділянці геморагій, дасть змогу втрутитися в порочне коло

та перервати механізми ще на етапі, коли не почалася стійка прогресія дегенеративно-дистрофічного процесу.

На сьогодні механізми апоптозу гангліозних клітин поєднують багато чинників [5, 283,309]. Тому важливо, крім симптоматичної терапії, на основі ліків, ініціювати причинно-наслідкові заходи, які також спрямовані на зміну способу життя та усунення факторів стресу.

Для запобігання каскаду реакцій, що викликають ураження і апоптоз гангліозних клітин сітківки, головним чином внаслідок ішемії, коли ураження нервової тканини ще не стало незворотнім, вчені та практичні офтальмологи вдаються до різноманітних підходів нейропротекторної терапії [283,321]. Визначено [283], що нейропротекція буде найбільш ефективною, коли анатомічно і функціонально збережений нейрон, анатомічно і функціонально збережені аксони і дендрити, та збережені біохімічні і біофізичні процеси, що забезпечують проведення нервового імпульсу.

При формуванні схеми нейропротекторної терапії ми намагалися врахувати основні, найбільш значущі фактори ризику розвитку оптичної нейропатії та включити мінімальну кількість препаратів, місцевої та загальної дії, що забезпечували би різнонаправлену дію, з урахуванням всіх чинників розвитку захворювання.

Останнім часом в якості ад'ювантної терапії глаукоми найбільш доведені за ефективністю засоби, що мають вторинну нейропротекторну дію, впливають на переривання не тільки ранніх, але і відтермінованих процесів ішемічного каскаду загибелі нейронів, запобігають механізмам фокальної ішемії, коригують метаболічні порушення, покращують місцеву мікроциркуляцію і трофіку тканин, підвищують стійкість різних функціональних систем до зниження перфузійного тиску кисню в тканинах, знижують проникність судинної стінки, в'язкість і згортання крові, захищають сітківку від шкідливої дії світла, володіють нейромедіаторною та антиоксидантною дією [283]. До цієї категорії засобів відноситься N-ацетилкарнозин, позитивний вплив та антиоксидантні властивості якого було

доведено результатами експериментальної частини нашого дослідження [321].

Крім того, відомо, що цитіколін є природнім і основним попередником при синтезі фосфоліпідів нейрональних мембран, фактором росту нервових волокон зорового нерву, стимулює біосинтез структурних фосфоліпідів мембран нейронів, забезпечує структурне відновлення цілісності ушкоджених мембран нервових клітин, покращує функцію нейрорецепторів та нейронних мембран, зменшує набряк нейронів та є сучасним холіноміметиком, антагоністом NMDA рецепторів [283].

В схему нашого нейропротекторного лікування був також включений багатокомпонентний засіб, який містить природні фактори нейрогенезу, нейротрофного фактора головного мозку (BDNF), з групи нейропептидів, який усуває дисбаланс про- і протизапальних цитокінів і підвищує вміст нейротрофічних факторів. До схеми увійшов також комплексний препарат, який поєднував цитіколін, антиоксиданти та антигіпоксанти. Крім того, був задіяний ангіопротектор, який знижував вязкість крові, мав фібринолітичну активність, збільшував вміст циклічних нуклеотидів у тканинах, зменшував проникність судинної стінки та покращував мікроциркуляцію, і додано ноотропний засіб у вигляді пептидного препарату.

Таким чином, застосування препаратів, які водночас впливають на декілька ланок і можуть діяти превентивно та не мають протипоказів, з нашого погляду, були найбільш перспективними і доцільними при лікуванні пацієнтів основної групи з глаукомою низького тиску.

На тлі місцевого та системного нейропротекторного лікування, яке системно проводилося у пацієнтів основної групи протягом 2 років, проведено аналіз показників зорових функцій та електрофізіологічних показників: ЗВКП та ЕРГ.

Оцінка показників полів зору пацієнтів з ГНТ, які протягом 2 років системно отримували нейропротекторну терапію, що включала загальну терапію і місцеву інстиляційну терапію препаратом, який містить N-

ацетилкарнозин свідчила: відмічено розширення полів зору, зменшення кількості скотом, покращення показника MD на 20,3% через 6 місяців на 25,8% через 12 місяців і на 22,4% через 24 місяці відповідно ($p < 0,05$); зниження показника PSD на 19,1-28,8% ($p < 0,05$), покращення індексу полів зору на 8,7-18,5% ($p < 0,05$) та зниження швидкості прогресування полів зору з 2,4%/на рік до 1,9%/рік ($p < 0,05$), тобто на 20,8% відповідно ($p < 0,05$) [264, 310].

У той же час, у пацієнтів з ГНТ, які такої терапії не отримували, встановлено лінійне прогресування змін полів зору, звуження полів зору, збільшення кількості скотом, погіршення показника MD на 18,1% через 24 місяці ($p < 0,05$), збільшення показника PSD на 11,9-17,4% ($p < 0,05$), погіршення індексу полів зору на 3,7-10,9% ($p < 0,05$) та збільшення швидкості прогресування полів зору з 2,2%/на рік до 2,6%/рік ($p < 0,05$), тобто на 13,6%, відповідно ($p < 0,05$) [264, 310].

Встановлено покращення функціональної активності фоторецепторів: зниження латентності піків на 12,8-18,5% ($p < 0,05$) через 6 місяців, на 22,8-24,4% ($p < 0,05$) через 12 місяців і на 19,9-22,8% через 24 місяці відповідно ($p < 0,05$) [264, 310].

Визначено підвищення амплітуди піків ЕРГ на 17,1-18,2% через 6 місяців терапії та 25,0-27,3% і на 23,7-25,0% через 12 та 24 місяці відповідно ($p < 0,05$). Встановлено, що у пацієнтів, які не отримували курси системної загальної і топічної нейропротекції відбувалося поступове лінійне погіршення функціональних показників [264, 310].

Отримані протягом виконання дослідження результати експериментальних та клінічних етапів роботи можуть служити обґрунтуванням для рекомендації для подальшого клінічного застосування в якості нейропротекторного лікування комплексу заходів: місцево – топічний препарат, який включає N-ацетилкарнозин; загальна терапія – антагоніст NMDA рецепторів, антиоксиданти та антигіпоксанти, амінокислоти.

Крім того, слід зазначити, що впровадження в роботу практичних офтальмологів розроблених курсів нейропротекторної терапії, які відрізняються оптимізацією фармакологічного навантаження на тканини ока та системи детоксикації організму, є простими, доступними і позбавленими побічних ефектів, дасть можливість розширити об'єм лікувальної допомоги пацієнтам з глаукомою і потенціювати результати, які отримані завдяки іншим методикам лікування: фізіотерапевтичним, лазерним, хірургічним тощо.

Все вищезазначене відкриває нові шляхи у вирішенні важливого науково-прикладного завдання сучасної офтальмології – підвищення ефективності лікування хворих на глаукомну оптичну нейропатію.

Виявлення крововиливів у диск зорового нерва та патогномонійних кореспондуючих з ними структурних змін в головці зорового нерва відіграє істотну роль у прогнозі захворювання, оскільки є передвісником прогресуючої функціональної втрати зору при глаукомі.

Впровадження визначення маркерів окислювального стресу і маркерів антиоксидативного стресу в сироватці крові пацієнтів з глаукомою як додаткового методу ранньої діагностики хворих на глаукомну оптичну нейропатію дозволить розширити обсяг лікувальної допомоги, спланувати подальші комплекси нейропротекторного лікування, підвищити рівень і якість життя населення України, понизити рівень інвалідності в групі захворювань органу зору та вирішити важливе науково-прикладне завдання сучасної офтальмології.

ВИСНОВКИ

1. Глаукомна оптична нейропатія зорового нерва є постійно прогресуючим хронічним захворюванням, що призводить до необоротної сліпоти і є соціально значимою проблемою у всьому світі. З кожним роком зростає відсоток хворих на глаукому низького тиску в Україні (Шаргородська ІВ, Ніколайчук НС; 2018). Оксидативний стрес та мітохондріальна дисфункція, що розглядаються як чинники ремоделювання та прогресування глаукомної оптичної нейропатії, зустрічаються в 10-50% випадків глаукоми (Fang F, Weinreb RN; 2022). Пошук та впровадження нових методів діагностики та патогенетично спрямованих методик лікування хворих на глаукому є актуальною проблемою сучасної офтальмології.
2. Встановлено в експерименті при моделюванні глаукоми шляхом гіперкатехолемії відмінності ультраструктури органел, що лежать в основі виявлених морфологічних змін: деструктивні зміни нейронів сітківки, вакуолізацію, «брункування» мітохондрій, утворення мітохондрій з везикулярними кристами, зростання середнього діаметру мітохондрій на 78,4%, гіпергідратацію та потовщення гістогематичного бар'єру у 2,7 рази, ендотеліальної устілки капілярів у 3 рази та перикапілярного простору у 2,6 рази ($p < 0,05$), активацію в ендотеліальних клітинах піноцитозу; а також біохімічні механізми збільшення швидкості генерації супероксидного радикалу в 2,7 і 8 разів ($p < 0,05$), гідроксильного радикалу в 2,2 рази ($p < 0,05$), збільшення вмісту кінцевого продукту пероксидації ліпідів - малонового діальдегіду на 88% і 36% ($p < 0,05$), зростання вмісту дієнових конюгатів на 6,8% і 47,8% ($p < 0,05$) та лейкотрієну C_4 – на 45% ($p < 0,05$) і 6,4% ($p < 0,05$) відповідно.
3. Встановлено при моделюванні глаукоми шляхом гіперкатехолемії мембраностабілізуючу та антирадикальну дію N-ацетилкарнозину: зменшення кількості структурно змінених мітохондрій на 34,6% ($p < 0,05$), зменшення середнього діаметру мітохондрій на 25,5% ($p < 0,05$),

зменшення кількості органел, змінених незворотно; а також поліпшення енергетичного метаболізму: зниження утворення вільних радикалів: швидкості продукції супероксидного радикалу на 33,3 і 62,5% ($p < 0,05$), гідроксильного радикалу на 52,8 і 39,1%, відповідно ($p < 0,05$), зниження вмісту малонового діальдегіду на 15,4 і 22% ($p < 0,05$).

4. Встановлено в крові пацієнтів з глаукомою низького тиску (ГНТ) маркери окислювального та антиоксидативного стресу: збільшення рівня малонового діальдегіду в 2,75 рази при ГНТ I стадії та в 2,93 рази – при ГНТ II стадії ($r = 0,811$; $p < 0,05$); зменшення рівня супероксиддисмутази при ГНТ I стадії в 2,08 разів та при ГНТ II стадії – в 2,22 рази ($r = (-)0,621$; $p < 0,02$); зменшення рівня каталази в 1,63 рази та в 1,65 рази при ГНТ I стадії та II стадії відповідно ($r = (-)0,222$; $p < 0,05$); зменшення рівня сечової кислоти в крові при ГНТ I та II стадії, в 2,2 та 2,4 разів відповідно ($r = (-)0,331$; $p < 0,05$).
5. Встановлено в крові пацієнтів з глаукомою низького тиску (ГНТ) зниження вмісту маркерів захисту організму (рівня вітамінів): вітаміну С в 2,66 рази при ГНТ I стадії та в 2,78 рази при ГНТ II стадії ($p < 0,05$), ($r = (-)0,772$; $p < 0,05$); вітаміну А в 1,99 рази та в 2,86 рази при ГНТ I стадії та II стадії відповідно, ($r = (-)0,243$; $p < 0,05$); вітаміну Е при ГНТ I та II стадії в 3,58 та 5,19 разів відповідно, ($r = (-)0,564$; $p < 0,05$); зменшення рівня трансферину в 1,37 рази та в 1,44 рази при ГНТ I стадії та II стадії відповідно, ($r = (-)0,328$; $p < 0,05$). Найбільші ризики для прогресування змін поля зору мав рівень малонового діальдегіду – $> (+)4.7$ при чутливості 81,0% та специфічності 83%, та супероксиддисмутази – $< (+)19.8$, та вітаміну С – $< (+)4.7$, при чутливості 93,0% і специфічності 75,0%.
6. Досліджено за допомогою Ангіо-ОКТ особливості появи геморагій в ділянці голівки диска зорового нерва. Встановлено зв'язки між геморагіями та індексом кровотоку перипапілярних судин диска зорового нерва в поверхневій капілярній сітці нижньо-темпорального сегменту ($r = (-)0.3851$; $p < 0,05$) в ділянці геморагій; а також вогнешевою втратою

шару нервових волокон сітківки в ділянці геморагій, ($r=(-)0.2629$; $p<0,05$) та виїмкою нейроретинального паска в нижньому сегменті ($r=(-)0.1950$; $p<0,05$). Відзначено залежність появи геморагій від рівня малонового діальдегіду в крові ($r=0.3347$; $p<0.0005$), що також пов'язано з прогресуванням змін поля зору ($r=0.4782$; $p<0.0001$).

7. Виявлено поліпшення функціональних показників при застосуванні курсів нейропротекторної терапії з включенням N-ацетилкарнозину, цитиколіну, антиоксидантів, антигіпоксантив, ангіопротекторів та амінокислот. Відзначалося розширення полів зору, зменшення кількості скотом, покращення показника MD на 20,3% через 6 місяців, на 25,8% через 12 місяців і на 22,4% через 24 місяці відповідно, ($p<0,05$); зниження PSD на 19,1-28,8% ($p<0,05$), покращення індексу полів зору на 8,7-18,5% ($p<0,05$) та зниження швидкості прогресування змін полів зору на 20,8% ($p<0,05$).
8. Виявлено покращення електрофізіологічних показників при застосуванні курсів нейропротекторної терапії з включенням N-ацетилкарнозину, а саме: зниження латентності ЗВКП на 12,8-18,5% ($p<0,05$) через 6 місяців, на 22,8-24,4% ($p<0,05$) через 12 місяців і на 19,9-22,8% через 24 місяці відповідно, ($p<0,05$); підвищення амплітуди піків електроретинограми на 17,1-18,2% через 6 місяців терапії та 25,0-27,3% і на 23,7-25,0% через 12 та 24 місяців відповідно ($p<0,05$).
9. Розроблено критерії ранньої діагностики глаукоми та схему нейропротекторного лікування пацієнтів на глаукому низького тиску, які впроваджені в практичну роботу клінічних баз кафедри офтальмології Національного медичного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика; Медичного центру «Очі клінік»; офтальмологічного відділення Національної дитячої спеціалізованої лікарні «ОХМАДИТ» МОЗ України та включені в програму лекцій, семінарських та практичних занять на кафедрах офтальмології: Національного медичного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика,

Національного медичного університету імені О.О.Богомольця, Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, Дніпровського державного медичного університету МОЗ України», Вінницького національного медичного університету імені М.І.Пирогова, Української медичної стоматологічної академії та Одеського національного медичного університету.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Розроблена схема нейропротекторної терапії, що включає місцеве застосування N-ацетилкарнозину та системне лікування з включенням цитиколіну, антиоксидантів, антигіпоксантів, ангіопротекторів та амінокислот може бути рекомендована для впровадження в практику роботи очних відділень обласних та міських лікарень, офтальмологічних центрів:
 - у пацієнтів з глаукомною оптичною нейропатією використання запропонованого методу призведе до поліпшення функціонального стану зорово-нервового апарату;
 - у пацієнтів з оптичною нейропатією дозволить потенціювати результативність інших методів медикаментозного лікування: лазерних, хірургічних тощо;
 - у пацієнтів без глаукоми як профілактика порушень окисного статусу організму та поліпшення зорових функцій ока.
2. Розроблені критерії ранньої діагностики і визначення геморагій в ділянці диска зорового нерва можуть бути рекомендовані для включення в схеми обстеження пацієнтів з підозрою та хворих на глаукому в динаміці для виявлення ризиків прогресування захворювання.
3. Визначені маркери оксидативного стресу та мітохондріальної дисфункції можуть бути включені в програми навчання лікарів-інтернів, підвищення кваліфікації лікарів-офтальмологів, морфологів, гістологів задля застосування як високоспецифічного методу доклінічної діагностики захворювання та визначення ризиків прогресування оптичної нейропатії.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. 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 Nov 1;121:2081-2090. doi: [10.1016/j.ophtha.2014.05.013](https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2014.05.013)
2. Quigley HA, Broman AT. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. *Br. J. Ophthalmol.* 2006 Mar;90:262-267. doi: [10.1136/bjo.2005.081224](https://doi.org/10.1136/bjo.2005.081224)
3. Janssen SF, Gorgels TG, Ramdas WD, Klaver CC, van Duijn CM, Jansonius NM, Bergen AA. The vast complexity of primary open angle glaucoma: Disease genes, risks, molecular mechanisms and pathobiology. *Prog Retin Eye Res.* 2013 Nov;37:31-67. doi: [10.1016/j.preteyeres.2013.09.001](https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2013.09.001)
4. Жабоедов ДГ, Петренко ОВ. Роль оксида азота в патогенезе глаукомы и перспективы разработки новых способов лечения глаукоматозной оптической нейропатии. *Международный медицинский журнал*. 2004; 10 (2):59-64.
5. Жабоедов ДГ, Лаврик НС, Коцюруба АВ, Курилина ЕИ, Коркач ЮП. Способ прогнозирования вероятности избыточной пролиферации в зоне оперативного вмешательства у больных первичной открытоугольной глаукомой. Патент Украины №49934 U A61F9/00. Україна. №u201001670: Заяв.17.02.2010; Опублік. 11.05.2010. Бюл.№9, 2010.
6. Friedman DS, Wilson MR, Liebmann JM, Fechtner RD, Weinreb RN. An evidence-based assessment of risk factors for the progression of ocular hypertension and glaucoma. *Am. J. Ophthalmol.* 2004 Sep;138:19-31. doi: [10.1016/j.ajo.2004.04.058](https://doi.org/10.1016/j.ajo.2004.04.058)
7. Neufeld AH. Nitric oxide: A potential mediator of retinal ganglion cell damage in glaucoma. *Surv. Ophthalmol.* 1999 Jun;43(1):129-135. doi: [10.1016/s0039-6257\(99\)00010-7](https://doi.org/10.1016/s0039-6257(99)00010-7)
8. Kumar DM, Agarwal N. Oxidative stress in glaucoma: A burden of evidence. *J. Glaucoma.* 2007 May;16:334-343. doi: [10.1097/01.ijg.0000243480.67532.1b](https://doi.org/10.1097/01.ijg.0000243480.67532.1b)

9. Mittal M, Siddiqui MR, Tran K, Reddy SP, Malik AB. Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxid. Redox Signal.* 2014 Mar 1; 20:1126-1167. doi: [10.1089/ars.2012.5149](https://doi.org/10.1089/ars.2012.5149)
10. De Gaetano A, Gibellini L, Zanini G, Nasi M, Cossarizza A, Pinti M. Mitophagy and Oxidative Stress: The Role of Aging. *Antioxidants (Basel)*. 2021 May;10:794. doi: [10.3390/antiox10050794](https://doi.org/10.3390/antiox10050794)
11. Gorbatyuk MS, Starr CR, Gorbatyuk OS. Endoplasmic reticulum stress: New insights into the pathogenesis and treatment of retinal degenerative diseases. *Prog. Retin. Eye Res.* 2020 Apr 6;79:100860. doi: [10.1016/j.preteyeres.2020.100860](https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2020.100860)
12. Sies H, Jones DP. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2020 Jul;21:363-383. doi: [10.1038/s41580-020-0230-3](https://doi.org/10.1038/s41580-020-0230-3)
13. Chrysostomou V, Rezania F, Trounce IA, Crowston JG. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in glaucoma. *Curr. Opin. Pharm.* 2013 Feb;13:12-15. doi: [10.1016/j.coph.2012.09.008](https://doi.org/10.1016/j.coph.2012.09.008)
14. Li GY, Osborne NN. Oxidative-induced apoptosis to an immortalized ganglion cell line is caspase independent but involves the activation of poly(ADP-ribose)polymerase and apoptosis-inducing factor. *Brain Res.* 2008 Jan 10; 1188:35-43. doi: [10.1016/j.brainres.2007.10.073](https://doi.org/10.1016/j.brainres.2007.10.073)
15. Tezel G, Yang X. Caspase-independent component of retinal ganglion cell death, in vitro. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2004 Nov;45:4049-4059. doi: [10.1167/iovs.04-0490](https://doi.org/10.1167/iovs.04-0490)
16. Nita M, Grzybowski A. The Role of the Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in the Pathomechanism of the Age-Related Ocular Diseases and Other Pathologies of the Anterior and Posterior Eye Segments in Adults. *Oxid Med. Cell Longev.* 2016 Jan 10;2016:3164734. doi: [10.1155/2016/3164734](https://doi.org/10.1155/2016/3164734)
17. Weinreb RN, Khaw PT. Primary open-angle glaucoma. *Lancet.* 2004 May 22; 363(9422):1711-1720. doi: [10.1016/s0140-6736\(04\)16257-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(04)16257-0)

18. Weinreb RN, Aung T, Medeiros FA, JAMA. 2014 May 14;311(18):1901-1911. doi: [10.1001/jama.2014.3192](https://doi.org/10.1001/jama.2014.3192)
19. Nickells RW, Howell GR, Soto I, John SW. Under pressure: cellular and molecular responses during glaucoma, a common neurodegeneration with axonopathy. *Annu Rev Neurosci.* 2012 Apr 12;35:153-179. doi: [10.1146/annurev.neuro.051508.135728](https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.051508.135728)
20. Osborne NN. Pathogenesis of ganglion “cell death” in glaucoma and neuroprotection: focus on ganglion cell axonal mitochondria. *Prog Brain Res.* 2008;173:339-352. doi: [10.1016/s0079-6123\(08\)01124-2](https://doi.org/10.1016/s0079-6123(08)01124-2)
21. Моїсеєнко РО, Голубчиков МВ, Слабкий ГО, Риков СО. Офтальмологічна допомога в Україні за роки незалежності. Аналітично-статистичний довідник. Кропивницький: Поліум; 2019; 368 с.
22. Сергієнко ММ, Шаргородська ІВ. Перспективи в лікуванні глаукоми. *Український медичний часопис.* 2002; 1:148-152.
23. Leite MT, Sakata LM, Medeiros FA. Managing glaucoma in developing countries. *Arq Bras Oftalmol.* 2011 Mar-Apr;74(2):83-84. doi: [10.1590/s0004-27492011000200001](https://doi.org/10.1590/s0004-27492011000200001)
24. Rotchford AP, Kirwan JF, Muller MA, Johnson GJ, Roux P. Temba glaucoma study: a populationbased cross-sectional survey in urban South Africa. *Ophthalmology.* 2003 Feb;110(2):376-382. doi: [10.1016/s0161-6420\(02\)01568-3](https://doi.org/10.1016/s0161-6420(02)01568-3)
25. Hennis A, Wu SY, Nemesure B, Honkanen R, Leske MC. Barbados Eye Studies Group. Awareness of incident open-angle glaucoma in a population study: the Barbados Eye Studies. *Ophthalmology.* 2007 Oct;114(10):1816-1821. doi: [10.1016/j.opthta.2007.06.013](https://doi.org/10.1016/j.opthta.2007.06.013)
26. Sathyamangalam RV, Paul PG, George R, et al. Determinants of glaucoma awareness and knowledge in urban Chennai. *Indian J Ophthalmol.* 2009 Sep-Oct;57(5):355-360. doi: [10.4103/0301-4738.55073](https://doi.org/10.4103/0301-4738.55073)
27. Budenz DL, Barton K, Whiteside-de Vos J, et al. Tema Eye Survey Study Group. Prevalence of glaucoma in an urban West African population: the Tema

- Eye Survey. *JAMA Ophthalmol.* 2013 May;131(5):651-658. doi: [10.1001/jamaophthalmol.2013.1686](https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2013.1686)
- 28.Friedman DS, Wolfs RC, O'Colmain BJ, et al. Eye Diseases Prevalence Research Group. Prevalence of open-angle glaucoma among adults in the United States. *Arch Ophthalmol.* 2004 Apr;122(4):532-538. doi: [10.1001/archopht.122.4.532](https://doi.org/10.1001/archopht.122.4.532)
- 29.Day AC, Baio G, Gazzard G, et al. The prevalence of primary angle closure glaucoma in European derived populations: a systematic review. *Br J Ophthalmol.* 2012 Sep;96(9):1162-1167. doi: [10.1136/bjophthalmol-2011-301189](https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2011-301189)
- 30.Hollands H, Johnson D, Hollands S, Simel DL, Jinapriya D, Sharma S. Do findings on routine examination identify patients at risk for primary open-angle glaucoma? *JAMA.* 2013 May 15;309(19):2035-2042. doi: [10.1001/jama.2013.5099](https://doi.org/10.1001/jama.2013.5099)
- 31.Kersey JP, Broadway DC. Corticosteroid-induced glaucoma: a review of the literature. *Eye (Lond).* 2006 Apr; 20(4):407-416. doi: [10.1038/sj.eye.6701895](https://doi.org/10.1038/sj.eye.6701895)
- 32.Flammer J, Konieczka K, Flammer A. The role of ocular blood flow in the pathogenesis of glaucomatous damage. *US Ophthalmic Review.* 2011.4(2):84-87.
- 33.Klein BE, Klein R, Sponsel WE, et al. Prevalence of glaucoma. The Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology.* 1992 Oct;99(10):1499-1504. doi: [10.1016/s0161-6420\(92\)31774-9](https://doi.org/10.1016/s0161-6420(92)31774-9)
- 34.Heijl A, Leske MC, Bengtsson B, Hyman L, Bengtsson B, Hussein M. Reduction of intraocular pressure and glaucoma progression: results from the Early Manifest Glaucoma Trial. *Arch Ophthalmol.* 2002 Oct;120(10):1268-1279. doi: [10.1001/archopht.120.10.1268](https://doi.org/10.1001/archopht.120.10.1268)
- 35.Drance SM, Begg IS. Sector hemorrhage: a probable acute ischemic disc change in chronic simple glaucoma. *Can J Ophthalmol.* 1970 Apr;5(2):137-141
- 36.Drance SM. Disc hemorrhages in the glaucomas. *Surv Ophthalmol.* 1989 Mar-Apr;33(5):331-337. doi: [10.1016/0039-6257\(89\)90010-6](https://doi.org/10.1016/0039-6257(89)90010-6)

37. Hoyng PF, de Jong N, Oosting H, Stijlma J. Platelet aggregation, disc hemorrhage and progressive loss of visual fields in glaucoma. A seven year follow-up study on glaucoma. *Int Ophthalmol*. 1992 Mar;16(2):65-73. doi: [10.1007/bf00918934](https://doi.org/10.1007/bf00918934)
38. Sonnsjo B, Dokmo Y, Krakau T. Disc haemorrhages, precursors of open angle glaucoma. *Prog Retin Eye Res*. 2002 Jan;21(1):35-36. doi: [10.1016/s1350-9462\(01\)00019-2](https://doi.org/10.1016/s1350-9462(01)00019-2)
39. Kitazawa Y, Shirato S, Yamamoto T. Optic disc hemorrhage in low-tension glaucoma. *Ophthalmology*. 1986 Jun;93(6):855-857. doi: [10.1016/s0161-6420\(86\)33658-3](https://doi.org/10.1016/s0161-6420(86)33658-3)
40. Suh MH, Park KH. Period prevalence and incidence of optic disc haemorrhage in normal tension glaucoma and primary open-angle glaucoma. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2011 Aug;39(6):513-519. doi: [10.1111/j.1442-9071.2010.02482.x](https://doi.org/10.1111/j.1442-9071.2010.02482.x)
41. Bjerrum J. Om en tilfojeke til den saedvanlige synsfelfundersogelse samt om synfelet ved glaukom. *Nord Ophthalmol Tskr (Copenh)*. 1889;2:141-185.
42. Soares AS, Artes PH, Andreou P. Factors associated with optic disc hemorrhages in glaucoma. *Ophthalmology*. 2004 Sep;111(9):1653-1657. doi: [10.1016/j.ophtha.2004.03.023](https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2004.03.023)
43. Budenz DL, Anderson DR, Feuer WJ. Detection and prognostic significance of optic disc hemorrhages during the Ocular Hypertension Treatment Study. *Ophthalmology*. 2006 Dec;113(12):2137-2143. doi: [10.1016/j.ophtha.2006.06.022](https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2006.06.022)
44. Bengtsson B, Leske MC, Yang Z, Heijl A. Early Manifest Glaucoma Trial Group. Disc hemorrhages and treatment in the early manifest glaucoma trial. *Ophthalmology*. 2008 Nov;115(11):2044-2048. doi: [10.1016/j.ophtha.2008.05.031](https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2008.05.031)
45. De Moraes CG, Juthani VJ, Lienmann JM. Risk factors for visual field progression in treated glaucoma. *Arch Ophthalmol*. 2011 May;129(5):562-568. doi: [10.1001/archophthalmol.2011.72](https://doi.org/10.1001/archophthalmol.2011.72)

46. Ishida K, Yamamoto T, Sugiyama K, Kitazawa Y. Dick hemorrhage is a significantly negative prognostic factor in normal tension glaucoma. *Am J Ophthalmol.* 2000;129(6):707-714.
47. Araie M, Shirato S, Yamazaki Y. Risk factors for progression of normal-tension glaucoma under b-blocker monotherapy. *Acta Ophthalmol.* 2012 Aug;90(5):337-343. doi: [10.1111/j.1755-3768.2012.02425.x](https://doi.org/10.1111/j.1755-3768.2012.02425.x)
48. Choi J, Kook MS. Systemic and Ocular Hemodynamic Risk Factors in Glaucoma. *BioMed Res. Int.* 2015;2015:141905. doi: [10.1155/2015/141905](https://doi.org/10.1155/2015/141905)
49. Flammer J, Konieczka K, Bruno RM, Virdis A, Flammer AJ, Taddei S, Ferrari R. The Eye and the Heart. *Eur. Heart J.* 2009;34:1270-1278.
50. Resch H, Garhofer G, Fuchsjäger-Mayrl G, Hommer A, Schmetterer L. Endothelial Dysfunction in Glaucoma. *Acta Ophthalmol.* 2009 Feb;87:4-12. doi: [10.1111/j.1755-3768.2007.01167.x](https://doi.org/10.1111/j.1755-3768.2007.01167.x)
51. Pache M, Flammer J. A Sick Eye in a Sick Body? Systemic Findings in Patients with Primary Open-Angle Glaucoma. *Surv. Ophthalmol.* 2006 May-Jun;51:179-212. doi: [10.1016/j.survophthal.2006.02.008](https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2006.02.008)
52. Evangelho K, Mogilevskaya M, Losada-Barragan M, Vargas-Sanchez JK. Pathophysiology of Primary Open-Angle Glaucoma from a Neuroinflammatory and Neurotoxicity Perspective: A Review of the Literature. *Int. Ophthalmol.* 2019 Jan;39:259-271. doi: [10.1007/s10792-017-0795-9](https://doi.org/10.1007/s10792-017-0795-9)
53. Vernazza S, Oddone F, Tirendi S, Bassi AM. Risk Factors for Retinal Ganglion Cell Distress in Glaucoma and Neuroprotective Potential Intervention. *Int. J. Mol. Sci.* 2021 Aug;22(15):7994. doi: [10.3390/ijms22157994](https://doi.org/10.3390/ijms22157994)
54. Opere CA, Heruye S, Njie-Mbye YF, Ohia SE, Sharif NA. Regulation of Excitatory Amino Acid Transmission in the Retina: Studies on Neuroprotection. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* 2018 Jan/Feb;34(1-2):107-118. doi: [10.1089/jop.2017.0085](https://doi.org/10.1089/jop.2017.0085)
55. Kong GYX, van Bergen NJ, Trounce IA, Crowston JG. Mitochondrial Dysfunction and Glaucoma. *J. Glaucoma* 2009 Feb;18(2):93-100. doi: [10.1097/ijg.0b013e318181284f](https://doi.org/10.1097/ijg.0b013e318181284f)

56. Toft-Kehler AK, Skytt DM, Svareb A, Lefeverec E, van Hovec I, Moonsc L, Waagepetersend HS, Kolko M. Mitochondrial Function in Müller Cells—Does It Matter? *Mitochondrion* 2017 Sep;36:43-51. doi: 10.1016/j.mito.2017.02.002
57. Jassim AH, Inman DM, Mitchell CH. Crosstalk Between Dysfunctional Mitochondria and Inflammation in Glaucomatous Neurodegeneration. *Front. Pharmacol.* 2021 Jul 21;12:699623. doi: 10.3389/fphar.2021.699623
58. Saccà SC, Izzotti A. Focus on Molecular Events in the Anterior Chamber Leading to Glaucoma. *Cell. Mol. Life Sci.* 2014 Jun;71(12):2197-218. doi: 10.1007/s00018-013-1493-z
59. Жабоедов ГД, Скрипник РЛ, Петренко ОВ, Жабоедов ДГ. Современные концепции постановки диагноза глаукома, проблемы трактовки внутриглазного давления и факторов риска при этой патологии. *Офтальмология. Восточная Европа.* 2013; 4(19): 7-14.
60. Masuda T, Shimazawa M, Hara H. Retinal Diseases Associated with Oxidative Stress and the Effects of a Free Radical Scavenger (Edaravone). *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2017;2017:9208489. doi: 10.1155/2017/9208489
61. Carelli V, Ross-Cisneros FN, Sadun AA. Mitochondrial dysfunction as a cause of optic neuropathies. *Prog Retin Eye Res.* 2004 Jan;23:53-89. doi: 10.1016/j.preteyeres.2003.10.003
62. Aslan M, Cort A, Yucel I. Oxidative and Nitrate Stress Markers in Glaucoma. *Free Radical Biol. Med.* 2008 Aug 15;45(4):367-76. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2008.04.026
63. Sies H. Oxidative Stress: Introductory Remarks. In *Oxidative Stress*; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 1985; Volume 1.
64. Sies H. Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants. *Exp. Physiol.* 1997 Mar;82(2):291-5. doi: 10.1113/expphysiol.1997.sp004024
65. Halliwell B. Free Radicals, Antioxidants, and Human Disease: Curiosity, Cause, or Consequence? *Lancet* 1994 Sep 10;344(8924):721-4. doi: 10.1016/s0140-6736(94)92211-x

66. Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, Squadrito F, Altavilla D, Bitto A. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2017;2017:8416763. doi: [10.1155/2017/8416763](https://doi.org/10.1155/2017/8416763)
67. Cadenas E, Davies KJA. Mitochondrial Free Radical Generation, Oxidative Stress, and Aging. *Free Radic. Biol. Med.* 2000 Aug;29(3-4):222-30. doi: [10.1016/s0891-5849\(00\)00317-8](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(00)00317-8)
68. Turrens JF. Mitochondrial Formation of Reactive Oxygen Species. *J. Physiol.* 2003 Oct 15;552(Pt 2):335-44. doi: [10.1113/jphysiol.2003.049478](https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.049478)
69. Lodish H, Berk A, Kaiser CA, Amon A, Ploegh H, Bretscher A, Krieger M, Martin KC. *Molecular Cell Biology*, 8th ed.; Chegg: Santa Clara, CA, USA, 2016.
70. Ji LL, Yeo D. Oxidative Stress: An Evolving Definition. *Fac. Rev.* 2021 Feb 9; 10:13. doi: [10.12703/r/10-13](https://doi.org/10.12703/r/10-13)
71. Nucci C, di Pierro D, Varesi C, Ciuffoletti E, Russo R, Gentile R, Cedrone C, Duran MDP, Coletta M, Mancino R. Increased Malondialdehyde Concentration and Reduced Total Antioxidant Capacity in Aqueous Humor and Blood Samples from Patients with Glaucoma. *Mol. Vis.* 2013 Aug 7;19:1841-6.
72. Asano Y, Himori N, Kunikata H, Yamazaki M, Shiga Y, Omodaka K, Takahashi H, Nakazawa T. Age- and Sex-Dependency of the Association between Systemic Antioxidant Potential and Glaucomatous Damage. *Sci. Rep.* 2017 Aug 14 ;7:8032. doi: [10.1038/s41598-017-08624-4](https://doi.org/10.1038/s41598-017-08624-4)
73. Zanon-Moreno V, Garcia-Medina JJ, Gallego-Pinazo R, Vinuesa-Silva I, Moreno-Nadal MA, Pinazo-Duran MD. Antioxidant Status Modifications by Topical Administration of Dorzolamide in Primary Open-Angle Glaucoma. *Eur. J. Ophthalmol.* 2009 Jul-Aug;19(4):565-71. doi: [10.1177/112067210901900408](https://doi.org/10.1177/112067210901900408)

- 74.Ferreira SM, Lerner SF, Brunzini R, Evelson PA, Llesuy SF. Oxidative Stress Markers in Aqueous Humor of Glaucoma Patients. *Am. J. Ophthalmol.* 2004 Jan;137(1):62-9. doi: 10.1016/s0002-9394(03)00788-8.
- 75.Rokicki W, Zalejska-Fiolka J, Pojda-Wilczek D, Hampel A, Majewski W, Ogultekin S, Mrukwa-Kominek E. Differences in Serum Oxidative Status between Glaucomatous and Nonglaucomatous Cataract Patients. *BMC Ophthalmol.* 2017 Feb 15;17:13. doi: [10.1186/s12886-017-0409-3](https://doi.org/10.1186/s12886-017-0409-3)
- 76.Lascaratos G, Chau KY, Zhu H, Gkotsi D, King R, Gout I, Kamal D, Luthert PJ, Schapira AHV, Garway-Heath DF. Resistance to the Most Common Optic Neuropathy Is Associated with Systemic Mitochondrial Efficiency. *Neurobiol. Dis.* 2015 Oct;82:78-85. doi: 10.1016/j.nbd.2015.05.012
- 77.Jansen EHJM, Ruskovska T. Comparative Analysis of Serum (Anti) Oxidative Status Parameters in Healthy Persons. *Int. J. Mol. Sci.* 2013 Mar;14(3):6106-6115. doi: [10.3390/ijms14036106](https://doi.org/10.3390/ijms14036106)
- 78.Ruskovska T, Jansen EHJM, Antarorov R. Evaluation of Assays for Measurement of Serum (Anti) Oxidants in Hemodialysis Patients. *BioMed Res. Int.* 2014;2014:843157. doi: 10.1155/2014/843157
- 79.Tanito M, Kaidzu S, Takai Y, Ohira A. Association between Systemic Oxidative Stress and Visual Field Damage in Open-Angle Glaucoma. *Sci. Rep.* 2016;6:25792. doi: [10.3164/jcbrn.22-66](https://doi.org/10.3164/jcbrn.22-66)
- 80.Abu-Amero KK, Kondkar AA, Mousa A, Osman EA, Al-Obeidan SA. Decreased Total Antioxidants in Patients with Primary Open Angle Glaucoma. *Curr. Eye Res.* 2013;38:959-964. doi: 10.3109/02713683.2013.794246
- 81.Itoh K, Nakamura K, Iijima M, Sesaki H. Mitochondrial dynamics in neurodegeneration. *Trends Cell Biol* 2013;23:64-71. doi: 10.1016/j.tcb.2012.10.006
- 82.Langbol M, Saruhanian S, Baskaran T, Tiedemann D, Mouhammad ZA, Toft-Kehler AK, Jun B, Vohra R, Bazan NG, Kolko M. Increased Antioxidant Capacity and Pro-Homeostatic Lipid Mediators in Ocular Hypertension-A

- Human Experimental Model. *J. Clin. Med.* 2020 Sep 15;9(9):2979. doi: 10.3390/jcm9092979
83. Ju WK, Kim KY, Lindsey JD, Angert M, Duong-Polk KX, Scott RT et al. Intraocular pressure elevation induces mitochondrial fission and triggers OPA1 release in glaucomatous optic nerve. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49:4903-4911. doi: 10.1167/iovs.07-1661
84. Lushchak VI. Glutathione Homeostasis and Functions: Potential Targets for Medical Interventions. *J. Amino Acids.* 2012;2012:736837.
85. Yabana T, Sato K, Shiga Y, Himori N, Omodaka K, Nakazawa T. The Relationship between Glutathione Levels in Leukocytes and Ocular Clinical Parameters in Glaucoma. *PLoS ONE* 2019 Dec 30;14(12):e0227078. doi: [10.1371/journal.pone.0227078](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227078)
86. Gherghel D, Griffiths HR, Hilton EJ, Cunliffe IA, Hosking SL. Systemic Reduction in Glutathione Levels Occurs in Patients with Primary Open-Angle Glaucoma. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2005 Mar;46(3):877-83. doi: 10.1167/iovs.04-0777
87. Gherghel D, Mroczkowska S, Qin L. Reduction in Blood Glutathione Levels Occurs Similarly in Patients with Primary-Open Angle or Normal Tension Glaucoma. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2013 May 9;54(5):3333-9. doi: 10.1167/iovs.12-11256
88. Michelet F, Gueguen R, Leroy P, Wellman M, Nicolas A, Siest G. Blood and Plasma Glutathione Measured in Healthy Subjects by HPLC: Relation to Sex, Aging, Biological Variables, and Life Habits. *Clin. Chem.* 1995 Oct;41(10):1509-17.
89. Karakurt Y, Mertoglu C, Gok G, Ucak T, Tasli N, Erel O, Tasli G. Thiol-Disulfide Homeostasis and Serum Ischemia Modified Albumin Levels in Patients with Primary Open-Angle Glaucoma. *Curr. Eye Res.* 2019 Aug;44(8):896-900. doi: 10.1080/02713683.2019.1594925
90. McCord J, Fridovich I. Superoxide Dismutase. An Enzymic Function for Erythrocyte (Hemocytin). *J. Biol. Chem.* 1969 Nov 25;244(22):6049-55.

91. Fukai T, Ushio-Fukai M. Superoxide Dismutases: Role in Redox Signaling, Vascular Function, and Diseases. *Antioxid. Redox Signal.* 2011 Sep 15;15(6):1583-606. doi: 10.1089/ars.2011.3999
92. Canizales L, Rodriguez L, Rivera C, Martinez A, Mendez F, Castillo A. Low-Level Expression of SOD1 in Peripheral Blood Samples of Patients Diagnosed with Primary Open-Angle Glaucoma. *Biomark. Med.* 2016 Dec;10(12):1218-1223. doi: 10.2217/bmm-2016-0167
93. Liu Q, Ju WK, Crowston JG, Xie F, Perry G, Smith MA et al. Oxidative stress is an early event in hydrostatic pressure induced retinal ganglion cell damage. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48:4580-4589. doi: 10.1167/iovs.07-0170
94. Ghanem AA, Arafa LF, El-Baz A. Oxidative Stress Markers in Patients with Primary Open-Angle Glaucoma. *Curr. Eye Res.* 2010 Apr;35(4):295-301. doi: 10.3109/02713680903548970
95. Goyal A, Srivastava A, Sihota R, Kaur J. Evaluation of Oxidative Stress Markers in Aqueous Humor of Primary Open Angle Glaucoma and Primary Angle Closure Glaucoma Patients. *Curr. Eye Res.* 2014 Aug;39(8):823-9. doi: 10.3109/02713683.2011.556299
96. Mills GC. Hemoglobin Catabolism: I. Glutathione Peroxidase, and Erythrocyte Enzyme Which Protects Hemoglobin from Oxidative Breakdown. *J. Biol. Chem.* 1957 Nov;229(1):189-97.
97. Lubos E, Loscalzo J, Handy DE. Glutathione Peroxidase-1 in Health and Disease: From Molecular Mechanisms to Therapeutic Opportunities. *Antioxid. Redox Signal.* 2011 Oct 1;15(7):1957–1997. doi: [10.1089/ars.2010.3586](https://doi.org/10.1089/ars.2010.3586)
98. Loew O. A New Enzyme of General Occurrence in Organisms. *Science* 1900 May 4;11(279):701-2. doi: 10.1126/science.11.279.701
99. Lazarow PB, de Duve C. The Synthesis and Turnover of Rat Liver Peroxisomes: V. Intracellular Pathway of Catalase Synthesis. *J. Cell Biol.* 1973 Nov 1;59(2):507-524. doi: [10.1083/jcb.59.2.507](https://doi.org/10.1083/jcb.59.2.507)

100. Middelkoop E, Wiemer EAC, Schoenmaker DET, Strijland A, Tager JM. Topology of Catalase Assembly in Human Skin Fibroblasts. *BBA Mol. Cell Res.* 1993 Dec 16;1220(1):15-20. doi: 10.1016/0167-4889(93)90091-3
101. Król M, Kepinska M. Human Nitric Oxide Synthase-Its Functions, Polymorphisms, and Inhibitors in the Context of Inflammation, Diabetes and Cardiovascular Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2021 Dec 23;22(1):56. doi: 10.3390/ijms22010056
102. Reina-Torres E, de Ieso ML, Pasquale LR, Madekurozwa M, van Batenburg-Sherwooda J, Overby DR, Stamer WD. The Vital Role for Nitric Oxide in Intraocular Pressure Homeostasis. *Prog. Retin. Eye Res.* 2020 Jul;83:100922. doi: 10.1016/j.preteyeres.2020.100922
103. Schmetterer L, Polak K. Role of Nitric Oxide in the Control of Ocular Blood Flow. *Prog. Retin. Eye Res.* 2001 Nov;20(6):823-47. doi: 10.1016/s1350-9462(01)00014-3
104. Orgül S, Gugleta K, Flammer J. Physiology of Perfusion as It Relates to the Optic Nerve Head. *Surv. Ophthalmol.* 1999 Jun;43 Suppl 1:S17-26. doi: 10.1016/s0039-6257(99)00009-0
105. Salvatore S, Vingolo EM. Endothelin-1 Role in Human Eye: A Review. *J. Ophthalmol.* 2010 Mar 3;2010:354645. doi: [10.1155/2010/354645](https://doi.org/10.1155/2010/354645)
106. Murphy MP. Nitric Oxide and Cell Death. *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.* 1999 May 5;1411(2-3):401-14. doi: 10.1016/s0005-2728(99)00029-8
107. Brown GC, Borutaite V. Nitric Oxide, Mitochondria, and Cell Death. *IUBMB Life* 2001 Sep-Nov;52(3-5):189-95. doi: 10.1080/15216540152845993
108. Ghanem AA, Elewa AM, Arafa LF. Endothelin-1 and Nitric Oxide Levels in Patients with Glaucoma. *Ophthalmic Res.* 2011;46(2):98-102. doi: 10.1159/000323584
109. Polak K, Luksch A, Berisha F, Fuchsjaeger-Mayrl G, Dallinger S, Schmetterer L. Altered Nitric Oxide System in Patients with Open-Angle

- Glaucoma. Arch. Ophthalmol. 2007 Apr;125(4):494-8. doi: 10.1001/archophth.125.4.494
110. Fernandez-Durango R, Fernandez-Martinez A, Garcia-Feijoo J, Castillo A, de la Casa JM, Garcia-Bueno B, Perez-Nievas BG, Fernandez-Cruz A, Leza JC. Expression of Nitrotyrosine and Oxidative Consequences in the Trabecular Meshwork of Patients with Primary Open-Angle Glaucoma. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2008 Jun;49(6):2506-11. doi: 10.1167/iovs.07-1363
111. Sugiyama T, Moriya S, Oku H, Azuma I. Association of Endothelin-1 with Normal Tension Glaucoma: Clinical and Fundamental Studies. *Surv. Ophthalmol.* 1995 May;39 Suppl 1:S49-56. doi: 10.1016/s0039-6257(05)80073-6.
112. Noske W, Hensen J, Wiederholt M. Endothelin-like Immunoreactivity in Aqueous Humor of Patients with Primary Open-Angle Glaucoma and Cataract. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 1997 Sep;235(9):551-2.
113. Cellini M, Strobbe E, Gizzi C, Balducci N, Toschi PG, Campos EC. Endothelin-1 Plasma Levels and Vascular Endothelial Dysfunction in Primary Open Angle Glaucoma. *Life Sci.* 2012 Oct 15;91(13-14):699-702.
114. Choritz L, Machert M, Thieme H. Correlation of Endothelin-1 Concentration in Aqueous Humor with Intraocular Pressure in Primary Open Angle and Pseudoexfoliation Glaucoma. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2012 Oct 23;53(11):7336-42.
115. Wareham LK, Calkins DJ. The Neurovascular Unit in Glaucomatous Neurodegeneration. *Front. Cell Dev. Biol.* 2020 Jun 16;8:452.
116. Hernandez MR, Miao H, Lukas T. Astrocytes in Glaucomatous Optic Neuropathy. *Prog. Brain Res.* 2008;173:353-73.
117. Garhöfer G, Zawinka C, Resch H, Huemer KH, Schmetterer L, Dorner GT. Response of Retinal Vessel Diameters to Flicker Stimulation in Patients with Early Open Angle Glaucoma. *J. Glaucoma.* 2004 Aug;13(4):340-4.

118. Ford G, Harrison P, Rice D, Smith J, Treffry A, White J, Yariv J. Ferritin: Design and Formation of an Iron-Storage Molecule. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 1984 Feb 13;304(1121):551-65.
119. Lee DH, Zacharski LR, Jacobs DR, Jr. Comparison of the Serum Ferritin and Percentage of Transferrin Saturation as Exposure Markers of Iron-Driven Oxidative Stress-Related Disease Outcomes. *Am. Heart J.* 2006 Jun;151(6):1247.e1-7.
120. Hori A, Mizoue T, Kasai H, Kawai K, Matsushita Y, Nanri A, Sato M, Ohta M. Body Iron Store as a Predictor of Oxidative DNA Damage in Healthy Men and Women. *Cancer Sci.* 2010 Feb;101(2):517-22.
121. Gye HJ, Kim JM, Yoo C, Shim SH, Won YS, Sung KC, Lee MY, Park KH. Relationship between High Serum Ferritin Level and Glaucoma in a South Korean Population: The Kangbuk Samsung Health Study. *Ophthalmology.* 2016 Dec;100(12):1703-1707.
122. Lin SC, Wang SY, Yoo C, Singh K, Lin SC. Association between Serum Ferritin and Glaucoma in the South Korean Population. *JAMA Ophthalmol.* 2014 Dec;132(12):1414-20.
123. Wang SY, Singh K, Lin SC. The Association between Glaucoma Prevalence and Supplementation with the Oxidants Calcium and Iron. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2012 Feb 13;53(2):725-31.
124. Singh A, Kukreti R, Saso L, Kukreti S. Oxidative Stress: A Key Modulator in Neurodegenerative Diseases. *Molecules* 2019 Apr 22;24(8):1583.
125. Kondkar AA, Azad TA, Sultan T, Osman EA, Almobarak FA, Al-Obeidan, SA. Elevated Plasma Level of 8-Hydroxy-2'- Deoxyguanosine Is Associated with Primary Open-Angle Glaucoma. *J. Ophthalmol.* 2020 Apr 25;2020:6571413.
126. Mohanty K, Dada R, Dada T. Oxidative DNA Damage and Reduced Expression of DNA Repair Genes: Role in Primary Open Angle Glaucoma (POAG). *Ophthalmic Genet.* 2017 Sep-Oct;38(5):446-450.

127. Izzotti A, Longobardi M, Cartiglia C, Sacca SC. Mitochondrial Damage in the Trabecular Meshwork of Patients with Glaucoma. *Arch. Ophthalmol.* 2011 Jun;128(6):724-30.
128. Saccà SC, Pascotto A, Camicione P, Capris P, Izzotti A. Oxidative DNA Damage in the Human Trabecular Meshwork: Clinical Correlation in Patients with Primary Open-Angle Glaucoma. *Arch. Ophthalmol.* 2005 Apr;123(4):458-63.
129. Gawel S, Wardas M, Niedworok E, Wardas P. Malondialdehyde (MDA) as a Lipid Peroxidation Marker. *Wiad. Lek.* 2004;57(9-10):453-5.
130. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2014 May 8;2014:360438.
131. Umeno A, Tanito M, Kaidzu S, Takai Y, Horie M, Yoshida Y. Comprehensive Measurements of Hydroxylinoleate and Hydroxyarachidonate Isomers in Blood Samples from Primary Open-Angle Glaucoma Patients and Controls. *Sci. Rep.* 2019 Feb 18;9(1):2171.
132. Ischiropoulos H, Zhu L, Chen J, Tsai M, Martin JC, Smith CD, Beckman JS. Peroxynitrite-Mediated Tyrosine Nitration Catalyzed by Superoxide Dismutase. *Arch. Biochem. Biophys.* 1992 Nov 1;298(2):431-7.
133. Feilchenfeld Z, Yücel YH, Gupta N. Oxidative Injury to Blood Vessels and Glia of the Pre-Laminar Optic Nerve Head in Human Glaucoma. *Exp. Eye Res.* 2008 Nov;87(5):409-14.
134. Гельфанд ІМ, Розенфельд МА, Шіфрін МА. Нариси про спільну роботу математиків та лікарів. Київ: Наука; 1989; 272 с.
135. Shidlovskiy NP. Theorey and methodology development of a system mobiled pharmacy – complexed. *Alphabit medical.*2005;8:24-26.
136. Павлюченко КП, Сердюк ВН, Могилевський СЮ. Багатофакторна математична модель ефективності лікування первинної відкритокутової глаукоми. *Офтальмологія Східна Європа.* 2014;4(23):267-271.

137. Morrison JC, Cepurna WO, Johnson EC. Modeling glaucoma in rats by sclerosing aqueous outflow pathways to elevate intraocular pressure [Experimental Eye Research](#). 2015 Dec;141:23-32.
138. Gaasterland D. Experimental glaucoma in the rhesus monkey. *Invest Ophthalmol*. 1974 Jun;13(6):455-7;
139. Vecino E, Sansar CS. Glaucoma Animal Models, in: Rumelt. *Glaucoma - Basic and Clinical Concepts*. InTech, Rijeka. 2011;319-334.
140. Morrison J. Structure and composition of the rodent lamina cribrosa. *Exp. Eye Res*. 1995 Feb;60(2):127-35;
141. Urcola JH, Herna'ndez M, Vecino E. Three experimental glaucoma models in rats: comparison of the effects of intraocular pressure elevation on retinal ganglion cell size and death. *Exp. Eye Res*. 2006 Aug;83, 429-437.
142. Kaluza G, Maurer H. Stress and intraocular pressure in open angle glaucoma. *Psychology & Health*. 1997;12(5):667-75.
143. Shily BG. Psychophysiological stress, elevated intraocular pressure, and acute closed-angle glaucoma. *Am J Optom Physiol Opt*. 1987 Nov;64(11):866-870.
144. Miller DB, O'Callaghan JP. Neuroendocrine aspects of the response to stress. *Metabolism*. 2002 Jun;51(6 Suppl 1):5-10.
145. Garg M, Khanna D. Exploration of pharmacological interventions to prevent isoproterenol-induced myocardial infarction in experimental models. *Therap Adv Cardiovasc Dis*. 2014 Aug;8(4):155-69.
146. Wang W, Zhang H, Gao H, Kubo H, Berretta RM, Chen X, Houser SR. β 1-Adrenergic receptor activation induces mouse cardiac myocyte death through both L-type calcium channel-dependent and -independent pathways. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2010 Aug;299(2):322-31.
147. Mikheyitseva IM. Protective effect of melatonin on experimental glaucoma in rats. *Fiziol Zh*. 2013;59(1):78- 83. [Ukrainian].

148. Samusenko IA, Alekseev VN, Abuzayed VN. Morphological manifestations of therapeutic pathomorphosis of glaucoma optical neuropathy in experimental glaucoma. *Glaucoma*. 2003 Sep;4:3-9. [Russian].
149. Михейцева ІМ. Фармакологічна корекція експериментальної відкритокутової глаукоми. Автореферат кан. біол. наук. Одеса. 1998; 16 с.
150. Knott AB, Perkins G, Schwarzenbacher R, Bossy-Wetzel E. Mitochondrial fragmentation in neurodegeneration. *Nat Rev Neurosci* 2008 Jul;9:505-518.
151. Garway-Heath DF, Lascaratos G, Bunce C, Crabb DP, Russell RA, Shah A. United Kingdom Glaucoma Treatment Study Investigators. The United Kingdom Glaucoma Treatment Study: A multicenter, randomized, placebo-controlled clinical trial: Design and methodology. *Ophthalmology* 2013 Jan;120(1):68-76.
152. Chin YC, Perera SA, Tun TA, et al. Structural Differences in the Optic Nerve Head of Glaucoma Patients With and Without Disc Hemorrhages. *J Glaucoma* 2016 Feb;25(2):e76–81.
153. Kass MA, Heuer DK, Higginbotham EJ, Johnson CA, Keltner JL, Miller JP, Parrish RK, Wilson MR, Gordon MO. The Ocular Hypertension Treatment Study: A randomized trial determines that topical ocular hypotensive medication delays or prevents the onset of primary open-angle glaucoma. *Arch. Ophthalmol.* 2002 Jun;120(6):701-13; discussion 829-30.
154. Collaborative Normal-Tension Glaucoma Study Group. Comparison of glaucomatous progression between untreated patients with normal-tension glaucoma and patients with therapeutically reduced intraocular pressures. *Am. J. Ophthalmol.* 1998 Oct;126(4):487-97.
155. Casson, RJ, Chidlow G, Ebnetter A, Wood JP, Crowston J, Goldberg I. Translational neuroprotection research in glaucoma: A review of definitions and principles. *Clin. Exp. Ophthalmol.* 2012 May-Jun;40(4):350-7.
156. Chidlow G, Ebnetter A, Wood, JP, Casso RJ. The optic nerve head is the site of axonal transport disruption, axonal cytoskeleton damage and putative axonal

- regeneration failure in a rat model of glaucoma. *Acta Neuropathol.* 2011 Jun;121(6):737-51.
157. Weinreb RN, Levin LA. Is neuroprotection a viable therapy for glaucoma? *Arch. Ophthalmol.* 1999 Nov;117(11):1540-4.
158. Pietrucha-Dutczak M, Amadio M, Govoni S, Lewin-Kowalik J, Smedowski A. The Role of Endogenous Neuroprotective Mechanisms in the Prevention of Retinal Ganglion Cells Degeneration. *Front. Neurosci.* 2018 Nov 15;12:834.
159. Barbacid M. Neurotrophic factors and their receptors. *Curr. Opin. Cell Biol.* 1995 Apr;7(2):148-55.
160. Kimura A, Namekata K, Guo X, Harada C, Harada T. Neuroprotection, Growth Factors and BDNF-TrkB Signalling in Retinal Degeneration. *Int. J. Mol. Sci.* 2016 Sep 20;17(9):1584.
161. Chang EE, Goldberg JL. Glaucoma 2.0: Neuroprotection, neuroregeneration, neuroenhancement. *Ophthalmology* 2012 May;119(5):979-86.
162. Koeberle PD, Ball AK. Neurturin enhances the survival of axotomized retinal ganglion cells in vivo: Combined effects with glial cell line-derived neurotrophic factor and brain-derived neurotrophic factor. *Neuroscience.* 2002;110(3):555-67.
163. Lambiase A, Aloe L, Centofanti M, Parisi V, Báo SN, Mantelli F, Colafrancesco V, Manni GL, Bucci MG, Bonini S. Experimental and clinical evidence of neuroprotection by nerve growth factor eye drops: Implications for glaucoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2009 Aug 11;106(32):13469-74.
164. Ji JZ, Elyaman W, Yip HK, Lee VW, Yick LW, Hugon J, So KF. CNTF promotes survival of retinal ganglion cells after induction of ocular hypertension in rats: The possible involvement of STAT3 pathway. *Eur. J. Neurosci.* 2004 Jan;19(2):265-72.
165. Schuettauf F, Vorwerk C, Naskar R, Orlin A, Quinto K, Zurakowski D, Dejneka NS, Klein RL, Meyer EM, Bennett J. Adeno-associated viruses containing bFGF or BDNF are neuroprotective against excitotoxicity. *Curr. Eye Res.* 2004 Apr 28;30(17):5998–6010.

166. Beykin G, Stell L, Halim MS, Nuñez M, Popova L, Nguyen BT, Groth SL, Dennis A, Li Z, Atkins M. Phase 1b Randomized Controlled Study of Short Course Topical Recombinant Human Nerve Growth Factor (rhNGF) for Neuroenhancement in Glaucoma: Safety, Tolerability, and Efficacy Measure Outcomes. *Am. J. Ophthalmol.* 2022 Feb;234:223-234.
167. Johnson TV, Bull ND, Martin KR. Neurotrophic factor delivery as a protective treatment for glaucoma. *Exp. Eye Res.* 2011 Aug;93(2):196-203.
168. Cha YW, Kim ST. Serum and aqueous humor levels of brain-derived neurotrophic factor in patients with primary open-angle glaucoma and normal-tension glaucoma. *Int. Ophthalmol.* 2021 Nov;41(11):3869-3875.
169. Uzel MM, Elgin U, Boral B, Çiçek M, Sen E, Sener B, Yılmazbas P. The effect of trabeculectomy on serum brain-derived neurotrophic factor levels in primary open-angle glaucoma. *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 2018 Jun;256(6):1173-1178.
170. Ko ML, Hu DN, Ritch R, Sharma SC, Chen CF. Patterns of retinal ganglion cell survival after brain-derived neurotrophic factor administration in hypertensive eyes of rats. *Neurosci. Lett.* 2001 Jun 8;305(2):139-42.
171. Peinado-Ramón P, Salvador M, Villegas-Pérez MP, Vidal-Sanz M. Effects of axotomy and intraocular administration of NT-4, NT-3, and brain-derived neurotrophic factor on the survival of adult rat retinal ganglion cells. A quantitative in vivo study. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1996 Mar;37(4):489-500.
172. Lazaldin MAM, Iezhitsa I, Agarwal R, Agarwal P, Ismail NM. Neuroprotective effects of exogenous brain-derived neurotrophic factor on amyloid-beta 1-40-induced retinal degeneration. *Neural Regen. Res.* 2023 Feb;18(2):382-388.
173. Shpak AA, Guekht AB, Druzhkova TA, Kozlova KI, Gulyaeva NV. Ciliary neurotrophic factor in patients with primary open-angle glaucoma and age-related cataract. *Mol. Vis.* 2017 Nov 17;23:799-809.

174. Birch DG, Bennett LD, Duncan JL, Weleber RG, Pennesi ME. Long-term Follow-up of Patients With Retinitis Pigmentosa Receiving Intraocular Ciliary Neurotrophic Factor Implants. *Am. J. Ophthalmol.* 2016 Oct;170:10-14.
175. Thanos CG, Bell WJ, O'Rourke P, Kauper K, Sherman S, Stabila P, Tao W. Sustained secretion of ciliary neurotrophic factor to the vitreous, using the encapsulated cell therapy-based NT-501 intraocular device. *Tissue Eng.* 2004 Nov-Dec;10(11-12):1617-22.
176. Gordon T. Electrical Stimulation to Enhance Axon Regeneration After Peripheral Nerve Injuries in Animal Models and Humans. *Neurotherapeutics.* 2016 Apr;13(2):295-310.
177. Pardue MT, Allen RS. Neuroprotective strategies for retinal disease. *Prog. Retin. Eye Res.* 2018 Jul;65:50-76.
178. Hanif AM, Kim MK, Thomas JG, Ciavatta VT, Chrenek M, Hetling JR, Pardue MT. Whole-eye electrical stimulation therapy preserves visual function and structure in P23H-1 rats. *Exp. Eye Res.* 2016 Aug;149:75-83.
179. Ni YQ, Gan DK, Xu HD, Xu GZ, Da CD. Neuroprotective effect of transcorneal electrical stimulation on light-induced photoreceptor degeneration. *Exp. Neurol.* 2009 Oct;219(2):439-52.
180. Akiba S, Kawauchi T, Oka T, Hashizume T, Sato T. Inhibitory effect of the leaf extract of *Ginkgo biloba* L. on oxidative stress-induced platelet aggregation. *Biochem. Mol. Biol. Int.* 1998 Dec;46(6):1243-8.
181. Chung HS, Harris A, Kristinsson JK, Ciulla TA, Kagemann C, Ritch R. *Ginkgo biloba* extract increases ocular blood flow velocity. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* 1999 Jun;15(3):233-40.
182. Kleijnen J, Knipschild P. *Ginkgo biloba*. *Lancet* 1992 Nov 7;340(8828):1136-9.
183. Cheung ZH, So KF, Lu Q, Yip HK, Wu W, Shan JJ, Pang PK, Chen CF. Enhanced survival and regeneration of axotomized retinal ganglion cells by a mixture of herbal extracts. *J. Neurotrauma* 2002 Mar;19(3):369-78.

184. Marcocci L, Maguire JJ, Droy-Lefaix MT, Packer L. The nitric oxide-scavenging properties of Ginkgo biloba extract EGb 761. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1994 Jun 15;201(2):748-55.
185. Ritch R. Potential role for Ginkgo biloba extract in the treatment of glaucoma. *Med. Hypotheses* 2000 Feb;54(2):221-35.
186. Saccà SC, Izzotti A, Rossi P, Traverso C. [Glaucomatous outflow pathway and oxidative stress](#). *Exp Eye Res.* 2007 Mar;84(3):389-99.
187. Quaranta L, Bettelli S, Uva MG, Semeraro F, Turano R, Gandolfo E. Effect of Ginkgo biloba extract on preexisting visual field damage in normal tension glaucoma. *Ophthalmology.* 2003 Feb;110(2):359-62; discussion 362-4.
188. Lee J, Sohn SW, Kee C. Effect of Ginkgo biloba extract on visual field progression in normal tension glaucoma. *J. Glaucoma.* 2013 Dec;22(9):780-4.
189. Guo X, Kong X, Huang R, Jin L, Ding X, He M, Liu X, Patel MC, Congdon NG. Effect of Ginkgo biloba on visual field and contrast sensitivity in Chinese patients with normal tension glaucoma: A randomized, crossover clinical trial. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2014 Jan 7;55(1):110-6.
190. Crish SD, Calkins DJ. Neurodegeneration in glaucoma: Progression and calcium-dependent intracellular mechanisms. *Neuroscience.* 2011 Mar 10;176:1-11.
191. Osborne NN, Wood JP, Chidlow G, Casson R, DeSantis L, Schmidt KG. Effectiveness of levobetaxolol and timolol at blunting retinal ischaemia is related to their calcium and sodium blocking activities: Relevance to glaucoma. *Brain Res. Bull.* 2004 Feb 15;62(6):525-8.
192. Yamada H, Chen YN, Aihara M, Araie M. Neuroprotective effect of calcium channel blocker against retinal ganglion cell damage under hypoxia. *Brain Res.* 2006 Feb 3;1071(1):75-80.
193. Otori Y, Kusaka S, Kawasaki A, Morimura H, Miki A, Tano Y. Protective effect of nilvadipine against glutamate neurotoxicity in purified retinal ganglion cells. *Brain Res.* 2003 Jan 31;961(2):213-9.

194. Koseki N, Araie M, Tomidokoro A, Nagahara M, Hasegawa T, Tamaki Y, Yamamoto S. A placebo-controlled 3-year study of a calcium blocker on visual field and ocular circulation in glaucoma with low-normal pressure. *Ophthalmology*. 2008 Nov;115(11):2049-57.
195. Koseki N, Araie M, Yamagami J, Shirato S, Yamamoto S. Effects of oral brovincamine on visual field damage in patients with normal-tension glaucoma with low-normal intraocular pressure. *J. Glaucoma*. 1999 Apr;8(2):117-23.
196. Sawada A, Kitazawa Y, Yamamoto T, Okabe I, Ichien K. Prevention of visual field defect progression with brovincamine in eyes with normal-tension glaucoma. *Ophthalmology*. 1996 Feb;103(2):283-8.
197. Araie M, Mayama C. Use of calcium channel blockers for glaucoma. *Prog. Retin. Eye Res*. 2011 Jan;30(1):54-71.
198. Yilmaz KC, Sur Gungor S, Ciftci O, Akman A, Muderrisoglu H. Relationship between primary open angle glaucoma and blood pressure. *Acta Cardiol*. 2020 Feb;75(1):54-58.
199. Hare WA, WoldeMussie E, Lai RK, Ton H, Ruiz G, Chun T, Wheeler L. Efficacy and safety of memantine treatment for reduction of changes associated with experimental glaucoma in monkey, I: Functional measures. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2004 Aug;45(8):2625-39.
200. Hare W, WoldeMussie E, Lai R, Ton H, Ruiz G, Feldmann B, Wijono M, Chun T, Wheeler L. Efficacy and safety of memantine, an NMDA-type open-channel blocker, for reduction of retinal injury associated with experimental glaucoma in rat and monkey. *Surv. Ophthalmol*. 2001 May;45 Suppl 3:S284-9; discussion S295-6.
201. WoldeMussie E, Yoles E, Schwartz M, Ruiz G, Wheeler LA. Neuroprotective effect of memantine in different retinal injury models in rats. *J. Glaucoma* 2002 Dec;11(6):474-80.
202. Yücel YH, Gupta N, Zhang Q, Mizisin AP, Kalichman MW, Weinreb RN. Memantine protects neurons from shrinkage in the lateral geniculate nucleus in experimental glaucoma. *Arch. Ophthalmol*. 2006 Feb;124(2):217-25.

203. Weinreb RN, Liebmann JM, Cioffi GA, Goldberg I, Brandt JD, Johnson CA, Zangwill LM, Schneider S, Badger H, Bejanian M. Oral Memantine for the Treatment of Glaucoma: Design and Results of 2 Randomized, Placebo-Controlled, Phase 3 Studies. *Ophthalmology* 2018 Dec;125(12):1874-1885.
204. Kromer R, Glusa P, Framme C, Pielen A, Junker B. Optical coherence tomography angiography analysis of macular flow density in glaucoma. *Acta Ophthalmol.* 2019 Mar;97(2):e199-e206.
205. Nouri-Mahdavi K, Nikkhou K, Hoffman DC, Law SK, Caprioli J. Detection of early glaucoma with optical coherence tomography (StratusOCT). *J. Glaucoma.* 2008 Apr-May;17(3):183-8.
206. Adibhatla RM, Hatcher JF, Dempsey RJ. Effects of citicoline on phospholipid and glutathione levels in transient cerebral ischemia. *Stroke.* 2001 Oct;32(10):2376-81.
207. Grieb P, Jünemann A, Rekas M, Rejdak R. Citicoline: A Food Beneficial for Patients Suffering from or Threatened with Glaucoma. *Front. Aging Neurosci.* 2016 Apr 8;8:73.
208. Mir C, Clotet J, Aledo R, Durany N, Argemí J, Lozano R, Cervós-Navarro J, Casals N. CDP-choline prevents glutamate mediated cell death in cerebellar granule neurons. *J. Mol. Neurosci.* 2003 Feb;20(1):53-60.
209. FitzGibbon T, Nestorovski Z. Human intraretinal myelination: Axon diameters and axon/myelin thickness ratios. *Indian J. Ophthalmol.* 2013 Oct;61(10):567-75.
210. Schuettauf F, Rejdak R, Thaler S, Bolz S, Lehaci C, Mankowska A, Zarnowski T, Junemann A, Zagorski Z, Zrenne, E. Citicoline and lithium rescue retinal ganglion cells following partial optic nerve crush in the rat. *Exp. Eye Res.* 2006 Nov;83(5):1128-34.
211. Parisi V, Manni G, Colacino G, Bucci MG. Cytidine-50-diphosphocholine (citicoline) improves retinal and cortical responses in patients with glaucoma. *Ophthalmology.* 1999;106:1126-1134.

212. Parisi V, Centofanti M, Ziccardi L, Tanga L, Michelessi M, Roberti G, Manni G. Treatment with citicoline eye drops enhances retinal function and neural conduction along the visual pathways in open angle glaucoma. *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 2015 Aug;253(8):1327-40.
213. Roberti G, Tanga L, Parisi V, Sampalmieri M, Centofanti M, Manni G. A preliminary study of the neuroprotective role of citicoline eye drops in glaucomatous optic neuropathy. *Indian J. Ophthalmol.* 2014 May;62(5):549-53.
214. Dahlmann-Noor A, Vijay S, Jayaram H, Limb A, Khaw PT. Current approaches and future prospects for stem cell rescue and regeneration of the retina and optic nerve. *Can. J. Ophthalmol.* 2010 Aug;45(4):333-41.
215. Fu L, Kwok SS, Chan YK, Ming Lai JS, Pan W, Nie L, Shih KC. Therapeutic Strategies for Attenuation of Retinal Ganglion Cell Injury in Optic Neuropathies: Concepts in Translational Research and Therapeutic Implications. *Biomed Res. Int.* 2019 Nov 11;2019:8397521.
216. Edo A, Sugita S, Futatsugi Y, Sho J, Onishi A, Kiuchi Y, Takahashi M. Capacity of Retinal Ganglion Cells Derived from Human Induced Pluripotent Stem Cells to Suppress T-Cells. *Int. J. Mol. Sci.* 2020 Oct 22;21(21):7831.
217. Guo X, Zhou J, Starr C, Mohns EJ, Li Y, Chen EP, Yoon Y, Kellner CP, Tanaka K, Wang H. Preservation of vision after CaMKII-mediated protection of retinal ganglion cells. *Cell.* 2021 Aug 5;184(16):4299-4314.e12.
218. Harrell CR, Fellabaum C, Arsenijevic A, Markovic BS, Djonov V, Volarevic V. Therapeutic Potential of Mesenchymal Stem Cells and Their Secretome in the Treatment of Glaucoma. *Stem Cells Int.* 2019 Dec 27;2019:7869130.
219. Emre E, Yüksel N, Duruksu G, Pirhan D, Subaşı C, Erman G, Karaöz E. Neuroprotective effects of intravitreally transplanted adipose tissue and bone marrow-derived mesenchymal stem cells in an experimental ocular hypertension model. *Cytotherapy* 2015 May;17(5):543-59.
220. Harper MM, Grozdanic SD, Blits B, Kuehn MH, Zamzow D, Buss JE, Kardon RH, Sakaguchi DS. Transplantation of BDNF-secreting mesenchymal

- stem cells provides neuroprotection in chronically hypertensive rat eyes. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2011 Jun;52(7):4506–4515.
221. Johnson TV, Bull ND, Hunt DP, Marina N, Tomarev SI, Martin KR. Neuroprotective effects of intravitreal mesenchymal stem cell transplantation in experimental glaucoma. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2010 Apr;51(4):2051–2059.
222. Mead B, Amaral J, Tomarev S. Mesenchymal Stem Cell-Derived Small Extracellular Vesicles Promote Neuroprotection in Rodent Models of Glaucoma. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2018 Feb 1;59(2):702-714.
223. Wang Y, Lv J, Huang C, Li X, Chen Y, Wu W, Wu R. Human Umbilical Cord-Mesenchymal Stem Cells Survive and Migrate within the Vitreous Cavity and Ameliorate Retinal Damage in a Novel Rat Model of Chronic Glaucoma. *Stem Cells Int.* 2021 Oct 25;2021:8852517.
224. Roubeyx C, Godefroy D, Mias C, Sapienza A, Riancho L, Degardin J, Fradot V, Ivkovic I, Picaud S, Sennlaub F. Intraocular pressure reduction and neuroprotection conferred by bone marrow-derived mesenchymal stem cells in an animal model of glaucoma. *Stem Cell Res. Ther.* 2015 Sep 16;6(1):177.
225. Vilela CAP, Messias A, Calado RT, Siqueira RC, Silva MJL, Covas DT, Paula JS. Retinal function after intravitreal injection of autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cells in advanced glaucoma. *Doc. Ophthalmol.* 2021 Aug;143(1):33-38.
226. Greco SJ, Rameshwar P. Microenvironmental considerations in the application of human mesenchymal stem cells in regenerative therapies. *Biol. Targets Ther.* 2008 Dec;2(4):699-705.
227. Newman NJ, Yu-Wai-Man P, Carelli V, Biousse V, Moster ML, Vignal-Clermont C, Sergott RC, Klopstock T, Sadun AA, Girmens JF. Intravitreal Gene Therapy vs. Natural History in Patients With Leber Hereditary Optic Neuropathy Carrying the m.11778G>A ND4 Mutation: Systematic Review and Indirect Comparison. *Front. Neurol.* 2021 May 24;12:662838.

228. Wan X, Pei H, Zhao MJ, Yang S, Hu WK, He H, Ma SQ, Zhang G, Dong XY, Chen C. Efficacy and Safety of rAAV2-ND4 Treatment for Leber's Hereditary Optic Neuropathy. *Sci. Rep.* 2016 Feb 19;6:21587.
229. Jain A, Zode G, Kasetti RB, Ran FA, Yan W, Sharma TP, Bugge K, Searby CC, Fingert JH, Zhang F. CRISPR Cas9-based treatment of myocilin-associated glaucoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2017 Oct 17;114(42):11199-11204.
230. Osborne A, Khatib TZ, Songra L, Barber AC, Hall K, Kong GYX, Widdowson PS, Martin KR. Neuroprotection of retinal ganglion cells by a novel gene therapy construct that achieves sustained enhancement of brain-derived neurotrophic factor/tropomyosin-related kinase receptor-B signaling. *Cell Death Dis.* 2018 Sep 26;9(10):1007.
231. Pease ME, Zack DJ, Berlinicke C, Bloom K, Cone F, Wang Y, Klein RL, Hauswirth WW, Quigley HA. Effect of CNTF on retinal ganglion cell survival in experimental glaucoma. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2009 May;50(5):2194-200.
232. Donahue RJ, Fehrman RL, Gustafson JR, Nickells RW. BCLX(L) gene therapy moderates neuropathology in the DBA/2J mouse model of inherited glaucoma. *Cell Death Dis.* 2021 Aug 10;12(8):781.
233. Fang F, Zhuang P, Feng X, Liu P, Liu D, Huang H, Li L, Chen W, Liu L, Sun Y. NMNAT2 is downregulated in glaucomatous RGCs, and RGC-specific gene therapy rescues neurodegeneration and visual function. *Mol. Ther.* 2022 Apr 6;30(4):1421-1431.
234. Lani-Louzada R, Marra C, Dias MS, de Araújo VG, Abreu CA, Ribas VT, Adesse D, Allodi S, Chiodo V, Hauswirth W. Neuroprotective Gene Therapy by Overexpression of the Transcription Factor MAX in Rat Models of Glaucomatous Neurodegeneration. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2022 Feb 1;63(2):5.
235. Visuvanathan S, Baker AN, Lagali PS, Coupland SG, Miller G, Hauswirth WW, Tsilfidis C. XIAP gene therapy effects on retinal ganglion cell structure

- and function in a mouse model of glaucoma. *Gene Ther.* 2022 Apr;29(3-4):147-156.
236. Rocha LR, Huu VA, Torre CP, Xu Q, Jabari M, Krawczyk M, et al. Early removal of senescent cells protects retinal ganglion cells loss in experimental ocular hypertension. *Aging Cell.* 2020 Feb;19(2):e13089.
237. Wickley B. *Electron microscopy for beginners.* M: World. 1975.
238. Karupu VYa. *Electron microscopy.* K: Vish school. 1984.
239. Eglen SJ, Weeks M, Jessop M, Simonotto J, Jackson T, Sernagor E. Data repository and analysis framework for spontaneous neural activity recordings in developing retina. *Gigascience.* 2014 Mar 26;3(1):3
240. Weibel ER. *Lung morphometry: the link between structure and function.* *Cell Tissue Res.* 2017;367(3):413-26
241. Kuthan H, Ullrich V, Estabrook RW. A quantitative test for superoxide radicals produced in biological systems. *Biochem J.* 1982;203(3):551-8.
242. Humphries KM, Yoo Y, Szweda LI. Inhibition of NADH-linked mitochondrial respiration by 4-hydroxy-2-nonenal. *Biochemistry.* 1998;37(2):552-7.
243. Mihara M, Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem.* 1978;86(1):271-8.
244. Gavrilov VB, Gavrilova AR, Khmara NF. Measurement of dieneconjugates in blood plasma using the UV absorption of heptane and isopropanol extracts. *Lab Delo.* 1988;(2):60-4. [Russian].
245. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951;193(1):265-75.
246. *Terminology and guidelines for glaucoma 5th Edition / Br J Ophthalmol.* 2021 Jun;105 (Suppl 1):1-169.
247. Brusini P, Salvetat ML, Zeppieri M, Parisi L. Frequency Doubling Technology perimetry with the Humphrey Matrix 30-2 test. *Glaucoma.* 2006;15 (2):77-83.

248. Takhchidi KhP, Egorova EV, Uzunyan AG. Ultrasonic biomicroscopy in the diagnosis of petology of the anterior segment of the eye. 2007:128. [Russian].
249. Vodovozov AM. Light reflexes of the fundus and their clinical significance. 1998. 168 p. [Russian].
250. Nesterov AP, Khasanova NKh, Batmanov YuE. Gonioscopy in the differential diagnosis of glaucoma. *Journal of Ophthalmology*. 1971;4:246-250.
251. Бакбардін ЮВ, Кондратенко ЮМ. ТонOMETричні, тонографічні та гоніоскопічні методи дослідження. 1998. Київ; Здоров'я:75с.
252. Bassev ChE, Siguenza CA. Refractometry measurements for industrial quality control. *Biophysical Journal*. 2010;98(3):1:408.
253. Gladkova ND, Sergeev AM. Guide to optical coherence tomography. 2007:296 p. [Russian].
254. Shamshinova AM. Functional research in ophthalmology. 1999: 416 s.
255. Гжегоцький МР, Заячківська ОС, Куцик ЛБ, Петришин ЮС, Кондро ММ. Фізіологія сенсорних систем. Методичні вказівки. Львів; 2012: 84с.
256. Андреев ЛІ, Кожем'якін ЛА. Методика визначення малонового діальдегіду. *Лабораторна справа*. 1988;11:41-43.
257. Engin KN, Yemisci B, Yigit U, Agachan A, Coskun C. Variability of serum oxidative stress biomarkers relative to biochemical data and clinical parameters of glaucoma patients. *Mol Vis*. 2010 Jul 9;16:1260-71
258. Kamyshnikov VS. Handbook of clinical biochemical laboratory diagnostics. 2000; 280p/
259. Yildirim O, Ates NA, Ercan B, Muslu N, Unlu A, Tamer L, et al. Role of oxidative stress enzymes in open-angle glaucoma. *Eye (Lond)*. 2005 May;19(5):580-3.
260. Tezel G. Oxidative stress in glaucomatous neurodegeneration: mechanisms and consequences. *Prog Retin Eye Res*. 2006 Sep;25:490-513.
261. Hinton D.R., Sadun A.A., Blanks J.C., Miller C.A. Optic-nerve degeneration in Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med*. 1986 Aug 21;315(8):485-487.

262. Gupta N, Greenberg G, de Tilly LN, Gray B, Polemidiotis M, Yücel YH. Atrophy of the lateral geniculate nucleus in human glaucoma detected by magnetic resonance imaging. *Br. J. Ophthalmol.* 2009 Jan;93(1):56–60.
263. Ho WL, Leung Y, Tsang AW, So KF, Chiu K, Chang RC. Review: tauopathy in the retina and optic nerve: does it shadow pathological changes in the brain? *Mol. Vis.* 2012;18:2700–2710.
264. Санін ВВ. Дослідження впливу нейропротекторної терапії на функціональний стан очей у пацієнтів з глаукомою низького тиску. *Вісник проблем біології і медицини.* 2022; Випуск 4.,Т.167:210-222.
265. Garg M, Rummyantsev PO, Saenko VA, Rummyantseva UV, Chekin SYu. Statistical methods of analysis in clinical practice. *Problems of Endocrinology.* 2009 Oct 15;55(6):48-56.
266. Plotnikov VA. Edema: causes and consequences. A modern look at treatment and prophylaxis. M: Lit Res. 2009. [Russian]
267. Sudakova YV, Bakeyeva LY, Tsiplenkova V.G. Energozavisimye izmeneniy aul'trastruktury mitokhondriy kardiomiotsitov cheloveka pri alkohol'nom porazhenii serdtsa. *Arkhiv Patologii.* 1999;2:15-20. [Russian]
268. Rozova EV, Trepatskaya TV. Ultrastructural features of the destruction and morphogenesis of mitochondria in body tissues during hypoxia of various genesis. *Works Crim Med Univ.* 2006;142(3):126-9. [Russian]
269. Alekseev VN, Gazizova IR. Neurodegenerative changes in patients with primary open angle glaucoma. *Ophthalmology.* 2012;1:154-6. [Russian]
270. Rozova EV. Influence of normo- and hypobaric hypoxia on ultrastructure of lung tissue and myocardium. *Fiziol Zh.* 2008;54(2):63-8. [Ukrainian]
271. Honkanen RA, Baruah S, Zimmerman MB, Khanna CL, Weaver YK, Narkiewicz J, Waziri R, Gehrs KM, Weingeist TA, Boldt HC, Folk JC, Russell SR, Kwon YH. Vitreous amino acid concentrations in patients with glaucoma undergoing vitrectomy. *Arch Ophthalmol.* 2003;121(2):183-8.

272. Mihaytseva IN. The imbalance of neurotransmitters of the rat eye retinal network in experimental glaucoma neuropathy. *Neurophysiology*. 2011;43(5):457-9. [Ukrainian]
273. Mukesh BN, McCarty CA, Rait JL, Taylor HR. Five-year incidence of open-angle glaucoma: the visual impairment project. *Ophthalmology*. 2002 Jun;109(6):1047-51.
274. Nucci C, Martucci A, Martorana A, Sancesario GM, Cerulli L. Glaucoma progression associated with altered cerebral spinal fluid levels of amyloid beta and tau proteins. *Clin Exp Ophthalmol*. 2011;39(3):279-81.
275. Bolshakov AP. Investigation of the mechanisms of mitochondrial depolarization and calcium dysregulation induced by an exciting mediator glutamate in the neurons of the brain. *Autoref dis Cand Phys-Math Sciences*. M: 2007. [Russian].
276. Mihaytseva IN. Glaucoma models, advantages and disadvantages. Adrenaline-induced glaucoma as adequate model of the human glaucoma process. *Ophthalmology*. 2011;3:89-92. [Russian].
277. Sun F, Ding XP, An SM, Tang YB, Yang XJ, Teng L, Zhang C, Shen Y, Chen HZ, Zhu L. Adrenergic DNA damage of embryonic pluripotent cells via β_2 receptor signalling. *Sci Rep*. 2015 Oct 30;5:15950.
278. Bindoli A, Deeble DJ, Rigobello MP, Galzigna L. Direct and respiratory chain-mediated redox cycling of adreno chrome. *Biochim Biophys Acta*. 1990 Apr 26;1016(3):349-56.
279. Mishra S, Chattopadhyay A, Naaz S, Ghosh AK, Das AR, Bandyopadhyay D. Oleic acid ameliorates adrenaline induced dysfunction of rat heart mitochondria by binding with adrenaline: An isothermal titration calorimetry study. *Life Sci*. 2019 Feb 1;218:96-111.
280. Pryor WA, Squadrito GL. The chemistry of peroxynitrite: a product from the reaction of nitric oxide with superoxide. *Am J Phys*. 1995;268(5):699-722.
281. Novoselov VP, Savchenko SV, Porvin AN, Koshlyak DA, Nadev AP, Ageeva TA, Chikinev YV, Polyakevich AS. Ultrastructure of Cardiomyocytes

- and Blood Capillary Endotheliocytes in the Myocardium under Conditions of Experimental Mechanical Injury to the Heart. *Bull Exp Biol Med.* 2016 May;161(1):134-6.
282. Antonova EI. Ultrastructural manifestations of the primary compensatory-adaptive response of hepatocytes in animals with various thermoregulation after exposure to hyperthermia. *Morfologiya.* 2008;133(4):24-8.
283. Shargorodska IV, Nikolaichuk NS. Efectivnistj neyroprotectortoj terapii v kompleksnomu likuvanni hvorih na glaucoma nizhkogo tisku. *Archives of Ophthalmology of Ukraine.* 2018;2(11):43-51. [in Ukraine].
284. Serdyuk VM. Studying of regenerative potential of glutation in the retina and the optic nerve at modelling of the openangel glaucoma at rabbits. *Taurian Medical and Biological Bulletin.* 2011;14;1(53):142-145. [in Ukraine].
285. Adav SS, Wei J, Qian J, Gan NY, Yip LWL, Sze SK. Aqueous humor protein dysregulation in primary angle-closure glaucoma. *International Ophthalmology.* 2019 Apr;39(4):861-871.
286. Цибульська ТЄ, Горбачова СВ. Біохімічні критерії прогресування набутої міопії у дітей. Зб. наук. праць співробітників НМАПО ім.П.Л. Шупика. 2019; 34:147-160.
287. Chang D, Sha Q, Zhang X. et al. The evaluation of the oxidative stress parameters in patients with primary angle-closure glaucoma. *PLoS One.* 2011;6:27218.
288. Pryor WA, Godber SS. Noninvasive measures of oxidative stress status in humans. *Free Radic Biol Med.* 1991;10:177-184.
289. Marga T. Rasker, MD; Aad van den Enden, MSc; Douwe Bakker; et al Deterioration of Visual Fields in Patients With Glaucoma With and Without Optic Disc Hemorrhages. *Arch Ophthalmol.* 1997 Oct;115(10):1257-62.
290. Suh MH, Park KH, Kim H, et al. Glaucoma progression after the first-detected optic disc hemorrhage by optical coherence tomography. *J Glaucoma.* 2012 Aug;21(6):358-66.

291. Quigley HA. Number of people with glaucoma worldwide, *British Journal of Ophthalmology*, 1996 May 80(5):389-393.
292. Resnikoff S, Pascolini D, Etya'ale D. Global data on visual impairment in the year 2002, *Bulletin of the World Health Organization*. 2004 Nov;82(11):844-51.
293. Bonomi L, Marchini G, Marraffa M, et al. Prevalence of glaucoma and intraocular pressure distribution in a defined population. The Egna-Neumarkt Study. *Ophthalmology*. 1998 Feb;105(2):209-15.
294. Berdahl JP, Allingham RR. Intracranial pressure and glaucoma. *Current Opinion in Ophthalmology*. 2010 Mar;21(2):106-11.
295. Flammer J, Orgul S, Costa VP. The impact of ocular "blood flow in glaucoma. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2002 Jul;21(4):359-93.
296. Ahmad SS, Ghani SA, Rajagopal TH. Current concepts in the biochemical mechanisms of glaucomatous neurodegeneration. *Journal of Current Glaucoma Practice*. 2013 May-Aug;7(2):49-53.
297. Wostyn P, Killer HE, De Deyn P.P. Glymphatic stasis at the site of the lamina cribrosa as a potential mechanism underlying open-angle glaucoma. *Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2017 Jul;45(5):539-547.
298. Berdahl JP, Fautsch M.P, Stinnett SS, Allingham RR. Intracranial pressure in primary open angle glaucoma, normal tension glaucoma, and ocular hypertension: a case-control study. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2008 Dec;49(12):5412-8.
299. Ren R, Jonas J.B, Tian G. Cerebrospinal fluid pressure in glaucoma: a prospective study. *Ophthalmology*. 2010 Feb;117(2):259-66.
300. Wostyn P, Van Dam D, Audenaert K, Killer HE, De Deyn PP, De Groot V. A new glaucoma hypothesis: A role of glymphatic system dysfunction. *Fluids and Barriers of the CNS*, 2015 Jun 29;12:16.
301. Rodriguez-Peralta LA. Hematic and fluid barriers in the optic nerve. *Journal of Comparative Neurology*. 1966 Jan;126(1):109-21.

302. Tsukahara I, Yamashita H. An electron microscopic study on the blood-optic nerve and fluid-optic nerve barrier. *Albrecht von Graefes Archiv fur Klinische und Experimentelle " Ophthalmologie*. 1975 Sep 5;196(3):239-46.
303. Jonas JB, Jonas SB. Histomorphometry of the circular peripapillary arterial ring of Zinn-Haller in normal eyes and eyes with secondary angle-closure glaucoma. *Acta Ophthalmologica*. 2010 Dec;88(8):e317-22.
304. Iliff JJ, Wang M, Liao Y. A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid β . *Science Translational Medicine*. 2012 Aug 15;4(147):147ra111.
305. Guo L, Salt TE, Luong V. Targeting amyloid- β in glaucoma treatment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007 Aug 14;104(33):13444–13449.
306. Domanskyi A, Parlato R. Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases. *Antioxidants*. 2022 Mar;11:504-507.
307. Liou CW, Chen SH, Lin TK, Tsai MH, Chang CC. Oxidative Stress Biomarkers and Mitochondrial DNA Copy Number Associated with APOE4 Allele and Cholinesterase Inhibitor Therapy in Patients with Alzheimer's Disease. *Antioxidants*. 2021 Dec;10:1971.
308. Sovari AA, Dudley SC Jr. Reactive oxygen species targeted therapeutic interventions for atrial fibrillation. *Front Physiol*. 2012 Aug 6;3:311.
309. Риков СО, Шаргородська ІВ, Розова КВ, Коркач ЮП, Гошовська ЮВ, Санін ВВ, та ін. Катехоламініндуковані морфофункціональні порушення і окисний стрес у сітківці ока щурів. *Фізіологічний журнал*. 2020; Т.66,№2-3:27-36.
310. Санін ВВ. Аналіз факторів розвитку та прогресування глаукомної оптичної нейропатії. *Архів офтальмології України*. 2022; Т.10,№3:32-41.
311. Санін ВВ. Дослідження ролі оксидативного стресу в патогенезі глаукоми. В: Риков СО, редактор. *Матеріали X наук.-практ. конф. дит.*

- офт. та оптом. України з міжн. уч. Своє дитинство треба бачити`2022; 2022 Черв 11; Київ; 2022, с. 48-49.
312. Kaushik S, Pandav SS, Ram J. Neuroprotection in glaucoma. *J Postgrad Med.* 2003 Jan-Mar;49:90-5.
313. Barkana Y, Belkin M. Neuroprotection in ophthalmology: A review. *Brain Res Bull.* 2004 Feb 15;62:447-53.
314. Nguyen CD, Lee G. Neuroprotective Activity of Melittin-The Main Component of Bee Venom Against Oxidative Stress Induced by A β 25–35 in In Vitro and In Vivo Models. *Antioxidants.* 2021 Oct 21;10(11):1654.
315. Wang W, Wu X, Yang CS, Zhang J. An Unrecognized Fundamental Relationship between Neurotransmitters: Glutamate Protects against Catecholamine Oxidation. *Antioxidants* 2021 Sep 30;10(10):1564.
316. Babizhayev MA, Burke L, Micans P, Richer SP. N-Acetylcarnosine sustained drug delivery eye drops to control the signs of ageless vision: glare sensitivity, cataract amelioration and quality of vision currently available treatment for the challenging 50,000-patient population. *Clin Interv Aging.* 2009;4:31-50.
317. Boldyrev AA, Dupin AM, Bunin AYa, Babizhayev MA, Severin SE. The antioxidative properties of carnosine, a natural histidine containing dipeptide. *Biochem Int.* 1987;15:1105-13.
318. Avetisov SÉ, Sheremet NL, Muranov KO, Polianskiĭ NB, Polunin GS, Ostrovskiĭ MA. Deceleration of cataract development in rats under the action of N-acetylcarnosine and D-pantethine mixture. *Eksp Klin Farmakol.* 2014;77(11):11-5.
319. Shao L, Li QH, Tan Z. L-carnosine reduces telomere damage and shortening rate in cultured normal fibroblasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004 Nov 12;324(2):931-6.
320. Babizhayev MA; Yegorov YE. Telomere attrition in lens epithelial cells - a target for N-acetylcarnosine therapy. *Front Biosci.* 2010 Jun 1;15(3):934-56.

321. Санін ВВ, Яковець АІ, Розова КВ, Коркач ЮП, Шаргородська ІВ, Риков СО, та інші Антиоксидантний вплив препарату на основі N-ацетилкарнозину на розвиток катехоламініндукованих морфо-функціональних порушень сітківки ока щурів. *Фізіологічний журнал*. 2020; Т.66,№4:64-71.
322. Borchman D, Yappert MC. Age-related lipid oxidation in human lenses. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1998 May;39(6):1053-8.
323. Zhao J, Wang S, Zhong W, Yang B, Sun L, Zheng Y. Oxidative stress in the trabecular meshwork (Review). *Int J Mol Med*. 2016 Oct;38(4):995-1002.
324. Wiggs JL. Glaucoma Genes and Mechanisms. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2015;134:315-342.
325. Alvarado JA, Alvarado RG, Yeh RF, Franse-Carman L, Marcellino GR, Brownstein MJ. A new insight into the cellular regulation of aqueous outflow: how trabecular meshwork endothelial cells drive a mechanism that regulates the permeability of Schlemm's canal endothelial cells. *Br J Ophthalmol*. 2005 Nov;89(11):1500-5.
326. Izzotti A, Bagnis A, Sacca SC. The role of oxidative stress in glaucoma. *Mutat Res*. 2006 Mar;612(2):105-14.
327. Риков СО, Санін ВВ. Вивчення впливу оксидативного стресу на розвиток та прогресування глаукоми і визначення можливостей його корекції. В: Риков СО, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. з міжн. уч. Рефракційний пленер`22; 2022 Жовт. 19-20; Київ: Київ; 2022, с.83-86.
328. Liu X, Lau A, Hou H, Moghimi S, Proudfoot JA, Chan E, Do J, Camp A, Welsbie D, de Moraes CG, Girkin CA, Liebmann JM, Weinreb RN. Progressive Thinning of Retinal Nerve Fiber Layer and Ganglion Cell-Inner Plexiform Layer in Glaucoma Eyes with Disc Hemorrhage *Ophthalmol Glaucoma*. 2021 Sep-Oct;4(5):541-549.
329. Rao HL, Pradhan ZS, Weinreb RN, et al. Optical Coherence Tomography Angiography Vessel Density Measurements in Eyes With Primary Open-Angle Glaucoma and Disc Hemorrhage. *J Glaucoma*. 2017 Oct;26(10):888-895.

330. Park HL, Kim JW, Park CK. Choroidal Microvasculature Dropout Is Associated with Progressive Retinal Nerve Fiber Layer Thinning in Glaucoma with Disc Hemorrhage. *Ophthalmology*. 2018 Jul;125(7):1003-1013.
331. De la Paz, Epstein D. Effect of age on superoxide dismutase activity of human Trabecular Meshwork Invest. *Ophthalmology Vision Science*. 1996 Aug;37(9):1849-53.
332. Schlötzer-Schrehardt, U, Naumann, G. Ocular and systemic pseudoexfoliation syndrome. *American Journal of Ophthalmology*. 2006 May;141(5):921-937.
333. [Tutchenko L](#), [Patel S](#), [Horak O](#), [Sanin V](#), [Kosuba S](#). Effect of cataract surgery on the refractive index of the cornea estimated by optical pachymetry. *Cornea*. 2018 Nov;37(11):1414-1420.
334. Сковрон МВ, Горак ОБ, Санін ВВ, Тутченко ЛП, Новак ЛП, Новак НВ. Зв'язок між проявами синдрому сухого ока та рівнем вітаміну D в крові (огляд літератури). *Збірник наукових праць співробітників КМАПО імені П.Л.Шупика*. 2017;Випуск 27.Книга1:151-160.
335. Санін ВВ, Горак ОБ, Сковрон МВ, Новак ЛП, Тутченко ЛП, Новак НВ. Дослідження режиму лікування серед хворих з глаукомою (огляд літератури). *Збірник наукових праць співробітників КМАПО імені П.Л.Шупика*. 2017;Випуск 27.Книга1:144-150.
336. Тутченко ЛП, Санін ВВ, Горак ОБ, Сковрон МВ, Новак ЛП, Новак НВ. Аналіз факторів, що впливають на рівень дотримання призначеного лікування при глаукомі. *Матеріали 40-вої юв. наук.-практ. конф. мол. вч. НМАПО імені П.Л.Шупика з міжн. уч., присв. Дню науки. Інновації в медицині: досягнення молодих вчених*; 2017 Трав.18;Київ:58-59.
337. Tutchenko L, Patel S, Horak O, Sanin V, Kosuba S. Cataract surgery and refractive index of the cornea. *Матеріали наук.-практ. конф. з міжн. уч. European Biomedical Young Scientist Conference НМАРО (до 100 річ. заснування НМАПО імені П.Л.Шупика МОЗ України)*; 2021 Кві 19-21; Київ:2.

338. Tutchenko L, Horak O, Sanin V, Kosuba S, Patel S. Estimation of the refractive index of the human cornea in vivo by non-invasive optical pachymetry. [Internet]; 2017 Oct 7-11; Lisbon: ESCRS; 2017. Available from: <https://legacy.escrs.org/Lisbon2017/programme/Free-papers-overview.asp>
339. Tutchenko L, Patel S, Horak O, Sanin V, Kosuba S. Can the refractive index of the human cornea be estimated in vivo by non-invasive optical pachymetry. В: Риков СО, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. офт. та оптом. з міжн. уч. Рефракційний пленер`17; 2017 Жовт 20-21; Київ: Київ; 2017, с.140-141.
340. Сковрон МВ, Горак ОБ, Санін ВВ, Новак ЛП, Тутченко ЛП, Новак НВ. Сучасні погляди на зв'язок між рівнем вітаміну D та синдромом сухого ока. Матеріали 40-вої юв. наук.-практ. конф. мол. вч. НМАПО імені П.Л.Шупика з міжн. уч., присв. Дню науки. Інновації в медицині: досягнення молодих вчених; 2017 Трав.18;Київ:59-60.
341. Горак ОБ, Санін ВВ, Сковрон МВ, Новак ЛП, Тутченко ЛП, Новак НВ. Виявлення чинників впливу на якість лікування хворих на глаукому. Матеріали 40-вої юв. наук.-практ. конф. мол. вч. НМАПО імені П.Л.Шупика з міжн. уч., присв. Дню науки. Інновації в медицині: досягнення молодих вчених; 2017 Трав.18;Київ:22-23.
342. Риков СО, Санін ВВ, Гудзь АС. Можливості диференційної діагностики глаукоми низького тиску за допомогою ангіо-ОКТ. В: Риков СО, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. з міжн. уч. Рефракційний пленер`19; 2019 Жовт. 17-19; Київ: Київ; 2019, с.91.

ДОДАТКИ

Додаток №1

Акти впровадження результатів роботи у науковій та практичній діяльності

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор
Національної медичної
академії післядипломної освіти

ім. П.Л. Шупика
НАМН України,
професор Вдовиченко Ю.П.



2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Катехоламін-індуковані морфофункціональні порушення і окисний стрес в сітківці ока у щурів.
2. **Установа – розробник, автор:** Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), кафедра офтальмології, Риков Сергій Олександрович, Шаргородська Ірина Василівна, Санін Володимир Володимирович, Яковець Антоніна Іванівна.
3. **Джерело інформації:** Риков С.О., Шаргородська І.В., Санін В.В., Яковець А.І. та співавтори. Катехоламініндуковані морфофункціональні порушення і окисний стрес у сітківці ока щурів. Фізіологічний журнал. 2020; 66,1:21-30.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра офтальмології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика.
5. **Форми впровадження:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри – лекційному курсі та при проведенні практичних занять, в лікувально-діагностичній роботі.
6. **Термін впровадження:** вересень 2019 – квітень 2020 року.
7. **Зауваження та пропозиції:** впровадження дозволить підвищити ефективність моделювання глаукоми; розробити засоби нівелювання окисного стресу, мітохондрій- та ендотелійспрямованих препаратів, а також мембраностабілізаторів, антиоксидантів та антигіпоксантів в лікуванні глаукоми; деталізувати методи моделювання та методи нейропротекторного лікування різних форм глаукоми під час викладання теми «Методи лікування в офтальмології».
8. **Протокол засідання кафедри №4 від 01 квітня 2020 року.**

Завідувач кафедри офтальмології
д. мед. н., професор

Риков С.О.

Продовження додатку №1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор
Медичного центру
«OSHI CLINIC»Т. М. Жмурик
2022 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Дослідження впливу нейропротекторної терапії на функціональний стан очей у пацієнтів з глаукомою низького тиску.
2. **Установа – розробник, автор:** Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), кафедра офтальмології, Санін Володимир Володимирович.
3. **Джерело інформації:** Санін В.В. Дослідження впливу нейропротекторної терапії на функціональний стан очей у пацієнтів з глаукомою низького тиску. Вісник проблем біології і медицини. 2022; Випуск 4., Т.167:210-222.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра офтальмології Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика.
5. **Форми впровадження:** матеріали використовуються в лікувальному процесі кафедри – в лікувально-діагностичній роботі при обстеженні та лікуванні пацієнтів з глаукомою, оптичними нейропатіями, атрофією зорового нерва.
6. **Термін впровадження:** січень 2020 – грудень 2022 року.
7. **Зауваження та пропозиції:** впровадження дозволить підвищити ефективність діагностики та лікування глаукоми; розробити засоби нівелювання окисного стресу, мітохондрій- та ендотелійспрямованих препаратів, а також мембранстабілізаторів, антиоксидантів та антигіпоксантів в лікуванні глаукоми, оптичних нейропатій та атрофії зорового нерва; деталізувати методи нейропротекторного лікування різних форм глаукоми, вторинних атрофій зорового нерва.
8. **Отримані автором висновки дисертаційного дослідження** рекомендовано до включення в клінічний протокол обстеження та маршрут пацієнтів з глаукомою, оптичною нейропатією, атрофією зорового нерва.

Головний лікар
Медичного центру
«OSHI CLINIC»
Д. мед. н.

Д.В.Жмурик

Продовження додатку №1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Генеральний директор
 НАСЛ «ОХМАДИТ»
 МОЗ України
 Жовнір В.А.

_____ 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Дослідження впливу нейропротекторної терапії на функціональний стан очей у пацієнтів з глаукомою низького тиску.
2. **Установа – розробник, автор:** Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), кафедра офтальмології, Санін Володимир Володимирович.
3. **Джерело інформації:** Санін В.В. Дослідження впливу нейропротекторної терапії на функціональний стан очей у пацієнтів з глаукомою низького тиску. Вісник проблем біології і медицини. 2022; Випуск 4., Т.167:210-222.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра офтальмології Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика.
5. **Форми впровадження:** матеріали використовуються в лікувальному процесі кафедри – в лікувально-діагностичній роботі при обстеженні та лікуванні пацієнтів з глаукомою, оптичними нейропатіями, атрофією зорового нерва.
6. **Термін впровадження:** січень 2020 – грудень 2022 року.
7. **Зауваження та пропозиції:** впровадження дозволить підвищити ефективність діагностики та лікування глаукоми; розробити засоби нівелювання окисного стресу, мітохондрій- та ендотелійспрямованих препаратів, а також мембранстабілізаторів, антиоксилантів та антигіпоксантів в лікуванні глаукоми, оптичних нейропатій та атрофії зорового нерва; деталізувати методи нейропротекторного лікування різних форм глаукоми, вторинних атрофій зорового нерва.
8. Отримані автором висновки дисертаційного дослідження рекомендовано до включення в клінічний протокол обстеження та маршрут пацієнтів з глаукомою, оптичною нейропатією, атрофією зорового нерва.

Завідувач відділенням дитячої
 офтальмології та мікрочірургії ока
 д. мед. н., професор

Ю.В.Барінов

Продовження додатку №1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор
з науково-педагогічної роботи
ДЗ «ДМА» МОЗ України
д. мед. н., професор
Науменко Л.Ю.



2020 р.

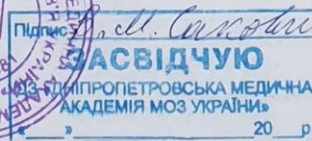
АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Катехоламін-індуковані морфофункціональні порушення і окисний стрес в сітківці ока у щурів.
2. **Установа – розробник, автор:** Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), кафедра офтальмології, Риков Сергій Олександрович, Шаргородська Ірина Василівна, Санін Володимир Володимирович, Яковець Антоніна Іванівна.
3. **Джерело інформації:** Риков С.О., Шаргородська І.В., Санін В.В., Яковець А.І. та співавтори. Катехоламініндуковані морфофункціональні порушення і окисний стрес у сітківці ока щурів. Фізіологічний журнал. 2020; 66,1:21-30.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра офтальмології Дніпропетровської державної медичної академії.
5. **Форми впровадження:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри – лекційному курсі та при проведенні практичних занять, в лікувально-діагностичній роботі.
6. **Термін впровадження:** січень 2019 – червень 2020 року.
7. **Зауваження та пропозиції:** впровадження дозволить підвищити ефективність моделювання глаукоми; розробити засоби нівелювання окисного стресу, мітохондрій- та ендотелійспрямованих препаратів, а також мембранстабілізаторів, антиоксилантів та антигіпоксантів в лікуванні глаукоми; деталізувати методи моделювання та методи нейропротекторного лікування різних форм глаукоми під час викладання теми «Методи лікування в офтальмології».
8. **Протокол засідання кафедри № 2 від 02 вересня 2020 року.**

Професор кафедри
офтальмології
д. мед. н., професор



В. М. Сакович



Продовження додатку №1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор з науково-педагогічної роботи
Української медичної
стоматологічної академії

професор д. мед. н. Дворник В. М.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Катехоламін-індуковані морфофункціональні порушення і окисний стрес в сітківці ока у щурів.
2. **Установа – розробник, автор:** Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), кафедра офтальмології, Риков Сергій Олександрович, Шаргородська Ірина Василівна, Санін Володимир Володимирович.
3. **Джерело інформації:** Риков С.О., Шаргородська І.В., Санін В.В. та співавтори. Катехоламініндуковані морфофункціональні порушення і окисний стрес у сітківці ока щурів. Фізіологічний журнал. 2020; 66,1:21-30.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра офтальмології Української медичної стоматологічної академії.
5. **Форми впровадження:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри – лекційному курсі та при проведенні практичних занять, в лікувально-діагностичній роботі.
6. **Термін впровадження:** вересень 2019 – квітень 2020 року.
7. **Зауваження та пропозиції:** впровадження дозволить підвищити ефективність моделювання глаукоми; розробити засоби нівелювання окисного стресу, мітохондрій- та ендотелійспрямованих препаратів, а також мембранстабілізаторів, антиоксилантів та антигіпоксантів в лікуванні глаукоми; деталізувати методи моделювання та методи нейропротекторного лікування різних форм глаукоми під час викладання теми «Методи лікування в офтальмології».

Протокол засідання кафедри № 18 від 27 квітня 2020 року.

Відповідальний за впровадження:

Професор кафедри оториноларингології

з офтальмологією

д. мед. н., професор

Безкоровайна І. М.

Продовження додатку №1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

в. о. проректора з науково-педагогічної
(учбово-методичної) роботи
Одеського національного медичного
університету МОЗ України,
д. мед. н. професор Шмакова І. П.



« » 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Катехоламін-індуковані морфофункціональні порушення і окисний стрес в сітківці ока у щурів.
2. **Установа – розробник, автор:** Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), кафедра офтальмології, Риков Сергій Олександрович, Петренко Оксана Василівна, Яковець Антоніна Іванівна.
3. **Джерело інформації:** Риков С.О., Шаргородська І.В., Санін В.В., Яковець А.І. та співавтори. Катехоламініндуковані морфофункціональні порушення і окисний стрес у сітківці ока щурів. Фізіологічний журнал. 2020; 66,1:21-30.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра офтальмології Одеського національного медичного університету МОЗ України.
5. **Форми впровадження:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри – лекційному курсі та при проведенні практичних занять, в лікувально-діагностичній роботі.
6. **Термін впровадження:** вересень 2019 – квітень 2020 року.
7. **Зауваження та пропозиції:** впровадження дозволить підвищити ефективність моделювання глаукоми; розробити засоби нівелювання окисного стресу, мітохондрій- та ендотелійспрямованих препаратів, а також мембран стабілізаторів, антиоксилантів та антигіпоксантів в лікуванні глаукоми; деталізувати методи моделювання та методи нейропротекторного лікування різних форм глаукоми під час викладання теми «Методи лікування в офтальмології».
8. **Протокол засідання кафедри № 8 від 29.05.2020 року.**

Завідувач кафедри офтальмології
Д. мед. н., професор

Л.В. Венгер

Продовження додатку №1

ЗАТВЕРДЖУЮ
Ректор Львівського національного
медичного університету
імені Данила Галицького
академік НАМН України
проф. Б.С. Зіменковський
“ _____ ” _____ 2020 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Катехоламін-індуковані морфофункціональні порушення і окисний стрес в сітківці ока у щурів.
2. **Установа – розробник, автор:** Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), кафедра офтальмології, Риков Сергій Олександрович, Шаргородська Ірина Василівна, Санін Володимир Володимирович.
3. **Джерело інформації:** Риков С.О., Шаргородська І.В., Санін В.В. та співавтори. Катехоламініндуковані морфофункціональні порушення і окисний стрес у сітківці ока щурів. Фізіологічний журнал. 2020; 66,1:21-30.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра офтальмології ФПДО Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.
5. **Форми впровадження:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри – лекційному курсі та при проведенні практичних занять, в лікувально-діагностичній роботі.
6. **Термін впровадження:** вересень 2019 – березень 2020 року.
7. **Зауваження та пропозиції:** впровадження дозволить підвищити ефективність моделювання глаукоми; розробити засоби нівелювання окисного стресу, мітохондрій- та ендотелійспрямованих препаратів, а також мембранстабілізаторів, антиоксилантів та антигіпоксантів в лікуванні глаукоми; деталізувати методи моделювання та методи нейропротекторного лікування різних форм глаукоми під час викладання теми «Методи лікування в офтальмології».
8. **Протокол засідання кафедри № 9 від 10 березня 2020 року.**

Завідувач кафедри офтальмології ФПДО
Львівського національного медичного університету
імені Данила Галицького,
д.мед.н., проф.



Гудзь А.С.

Продовження додатку №1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Перший проректор
 з науково-педагогічної роботи та
 післядипломної освіти
 Національного медичного
 університету імені О. О. Богомольця
 МОЗ України
 професор Кучин Ю. Л.



2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Катехоламін-індуковані морфофункціональні порушення і окисний стрес в сітківці ока у шурів.
2. **Установа – розробник, автор:** Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), кафедра офтальмології, Риков Сергій Олександрович, Шаргородська Ірина Василівна, Санін Володимир Володимирович, Яковець Антоніна Іванівна.
3. **Джерело інформації:** Риков С.О., Шаргородська І.В., Санін В.В., Яковець А.І. та співавтори. Катехоламініндуковані морфофункціональні порушення і окисний стрес у сітківці ока шурів. Фізіологічний журнал. 2020; 66,1:21-30.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра офтальмології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця.
5. **Форми впровадження:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри – лекційному курсі та при проведенні практичних занять, в лікувально-діагностичній роботі.
6. **Термін впровадження:** вересень 2019 – квітень 2020 року.
7. **Зауваження та пропозиції:** впровадження дозволить підвищити ефективність моделювання глаукоми; розробити засоби нівелювання окисного стресу, мітохондрій- та ендотелійспрямованих препаратів, а також мембраностабілізаторів, антиоксидантів та антигіпоксантів в лікуванні глаукоми; деталізувати методи моделювання та методи нейропротекторного лікування різних форм глаукоми під час викладання теми «Методи лікування в офтальмології».
8. **Протокол засідання кафедри №14 від 10.06.2020 року.**

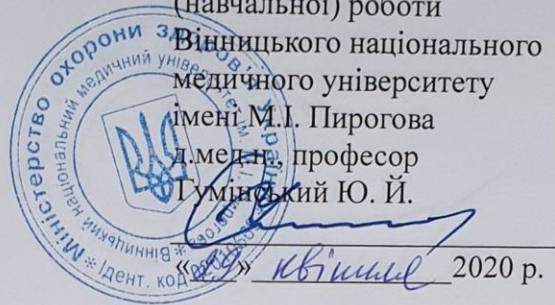
Завідувач кафедри офтальмології
 Національного медичного університету
 імені О. О. Богомольця МОЗ України
 д. мед. н., доцент

Д. Г. Жабосдов

Продовження додатку №1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор

з науково-педагогічної
(навчальної) роботиВінницького національного
медичного університету
імені М.І. Пирогова
д.мед.г., професор
Гумінський Ю. Й.

«28 квітня» 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Катехоламін-індуковані морфофункціональні порушення і окисний стрес в сітківці ока у щурів.
2. **Установа – розробник, автор:** Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), кафедра офтальмології, Риков Сергій Олександрович, Шаргородська Ірина Василівна, Санін Володимир Володимирович, Яковець Антоніна Іванівна.
3. **Джерело інформації:** Риков С.О., Шаргородська І.В., Санін В.В., Яковець А.І. та співавтори. Катехоламініндуковані морфофункціональні порушення і окисний стрес у сітківці ока щурів. Фізіологічний журнал. 2020; 66,1:21-30.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра очних хвороб **Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова.**
5. **Форми впровадження:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри – лекційному курсі та при проведенні практичних занять, в лікувально-діагностичній роботі.
6. **Термін впровадження:** січень 2019 – червень 2020 року.
7. **Зауваження та пропозиції:** впровадження дозволить підвищити ефективність моделювання глаукоми; розробити засоби нівелювання окисного стресу, мітохондрій- та ендотелійспрямованих препаратів, а також мембранстабілізаторів, антиоксилантів та антигіпоксантів в лікуванні глаукоми; деталізувати методи моделювання та методи нейропротекторного лікування різних форм глаукоми під час викладання теми «Методи лікування в офтальмології».
8. **Протокол засідання кафедри № 14 від 28 квітня 2020 року.**

Завідувач кафедри очних хвороб
к. мед. н., доцент

Н. В. Малачкова

Додаток №2. Список публікацій здобувача

Наукові праці в яких опубліковані основні наукові результати дисертації

1. [264] Санін ВВ. Дослідження впливу нейропротекторної терапії на функціональний стан очей у пацієнтів з глаукомою низького тиску. Вісник проблем біології і медицини. 2022; Випуск 4.,Т.167:210-222.
2. [310] Санін ВВ. Аналіз факторів розвитку та прогресування глаукомної оптичної нейропатії. Архів офтальмології України. 2022; Т.10,№3:32-41.
3. [312] Санін ВВ, Яковець АІ, Розова КВ, Коркач ЮП, Шаргородська ІВ, Риков СО, та інші Антиоксидантний вплив препарату на основі N-ацетилкарнозину на розвиток катехоламініндукованих морфо-функціональних порушень сітківки ока щурів. Фізіологічний журнал. 2020; Т.66,№4:64-71. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz66.04.064>.
4. [309] Риков СО, Шаргородська ІВ, Розова КВ, Коркач ЮП, Гошовська ЮВ, Санін ВВ, та ін. Катехоламініндуковані морфофункціональні порушення і окисний стрес у сітківці ока щурів. Фізіологічний журнал. 2020; Т.66,№2-3:27-36. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz66.2-3.027>.
5. [333] Tutchenko L, Patel S, Horak O, Sanin V, Kosuba S. Effect of cataract surgery on the refractive index of the cornea estimated by optical pachymetry. Cornea. 2018;37:1414-1420. DOI: [10.1097/ICO.0000000000001679](https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000001679).
6. [334] Сковрон МВ, Горак ОБ, Санін ВВ, Тутченко ЛП, Новак ЛП, Новак НВ. Зв'язок між проявами синдрому сухого ока та рівнем вітаміну D в крові (огляд літератури). Збірник наукових праць співробітників КМАПО імені П.Л.Шупика. 2017;Випуск 27.Книга1:151-160.
7. [335] Санін ВВ, Горак ОБ, Сковрон МВ, Новак ЛП, Тутченко ЛП, Новак НВ. Дослідження режиму лікування серед хворих з глаукомою (огляд літератури). Збірник наукових праць співробітників КМАПО імені П.Л.Шупика. 2017;Випуск 27.Книга1:144-150.

Наукові праці які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

8. [311] Санін ВВ. Дослідження ролі оксидативного стресу в патогенезі глаукоми. В: Риков СО, редактор. Матеріали X наук.-практ. конф. дит. офт. та оптом. України з міжн. уч. Своє дитинство треба бачити`2022; 2022 Черв 11; Київ; 2022, с. 48-49. *(Тези, усна доповідь)*.
9. [327] Риков СО, Санін ВВ. Вивчення впливу оксидативного стресу на розвиток та прогресування глаукоми і визначення можливостей його корекції. В: Риков СО, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. з міжн. уч. Рефракційний пленер`22; 2022 Жовт. 19-20; Київ: Київ; 2022, с.83-86. *(Тези, усна доповідь)*.
- 10.[342] Риков СО, Санін ВВ, Гудзь АС. Можливості диференційної діагностики глаукоми низького тиску за допомогою ангіо-ОКТ. В: Риков СО, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. з міжн. уч. Рефракційний пленер`19; 2019 Жовт. 17-19; Київ: Київ; 2019, с.91.
- 11.[336] Тутченко ЛП, Санін ВВ, Горак ОБ, Сковрон МВ, Новак ЛП, Новак НВ. Аналіз факторів, що впливають на рівень дотримання призначеного лікування при глаукомі. Матеріали 40-вої юв. наук.-практ. конф. мол. вч. НМАПО імені П.Л.Шупика з міжн. уч., присв. Дню науки. Інновації в медицині: досягнення молодих вчених; 2017 Трав.18;Київ:58. *(Тези, усна доповідь)*.
- 12.[337] Tutchenko L, Patel S, Horak O, Sanin V, Kosuba S. Cataract surgery and refractive index of the cornea. Матеріали наук.-практ. конф. з міжн. уч. European Biomedical Young Scientist Conference НМАПО (до 100 річ. заснування НМАПО імені П.Л.Шупика МОЗ України);2021 Кві 19-21; Київ:2. *(Тези, усна доповідь)*.
- 13.[338] Tutchenko L, Horak O, Sanin V, Kosuba S, Patel S. Estimation of the refractive index of the human cornea in vivo by non-invasive optical pachymetry. [Internet]; 2017 Oct 7-11; Lisbon: ESCRS; 2017. Available from: <https://legacy.es CRS.org/Lisbon2017/programme/Free-papers-overview.asp> *(Тези, стендова доповідь)*.

- 14.[339] Tutchenko L, Patel S, Horak O, Sanin V, Kosuba S. Can the refractive index of the human cornea be estimated in vivo by non-invasive optical pachymetry. В: Риков СО, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. офт. та оптом. з міжн. уч. Рефракційний пленер`17; 2017 Жовт 20-21; Київ: Київ; 2017, с.140-141. *(Тези, усна доповідь)*.
- 15.[340] Сковрон МВ, Горак ОБ, Санін ВВ, Новак ЛП, Тутченко ЛП, Новак НВ. Сучасні погляди на зв'язок між рівнем вітаміну D та синдромом сухого ока. Матеріали 40-вої юв. наук.-практ. конф. мол. вч. НМАПО імені П.Л.Шупика з міжн. уч., присв. Дню науки. Інновації в медицині: досягнення молодих вчених; 2017 Трав.18;Київ:59-60.
- 16.[341] Горак ОБ, Санін ВВ, Сковрон МВ, Новак ЛП, Тутченко ЛП, Новак НВ. Виявлення чинників впливу на якість лікування хворих на глаукому. Матеріали 40-вої юв. наук.-практ. конф. мол. вч. НМАПО імені П.Л.Шупика з міжн. уч., присв. Дню науки. Інновації в медицині: досягнення молодих вчених; 2017 Трав.18;Київ:22-23.

Додаток № 3. Апробації дисертації

Основні положення дисертаційної роботи були викладені й обговорені на:

- X науково-практичній конференції дитячих офтальмологів та оптометристів України з міжнародною участю «Своє дитинство треба бачити`2022» (Київ, 11 червня 2022);
- науково-практичній конференції з міжнародною участю Рефракційний пленер`22 (Київ, 19-20-жовтня 2022);
- науково-практичній конференції з міжнародною участю Рефракційний пленер`19 (Київ, 17-19-жовтня 2019);
- науково-практичній конференції з міжнародною участю European Biomedical Young Scientist Conference NMAPO (до 100 річчя заснування Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України) (Київ, 19-21 квітня 2021);
- науково-практичній конференції з міжнародною участю Рефракційний пленер`17 (Київ, 20-21 жовтня 2017);
- XXXV Congress of European Society of Cataract & Refractive Surgeons (Lisbon, Portugal, 7-11 October, 2017);
- науково-практичній конференції молодих вчених Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика з міжнародною участю присвяченої Дню науки «Інновації в медицині: досягнення молодих вчених» (Київ, 18 травня 2017).