

Экспериментальные статьи

НЕРОЕВ В. В., КИСЕЛЕВА Т. Н.,
РЯБИНА М. В., ОХОЦИМСКАЯ Т. Д.,
ЗОЛОТЫХ О. В.

Экспериментальное исследование состояния регионарного глазного кровотока в норме и при гипергликемии

Московский НИИ глазных болезней им. Гельмгольца
e-mail: o.zolotых@mail.ru

Реферат

С помощью цветового доплеровского картирования, энергетического картирования и импульсной доплерографии разработана схема кровоснабжения глаза крысы и изучены основные параметры кровотока. Выявлены особенности изменения глазного кровотока в экспериментальной модели стрептозотоцинового сахарного диабета в течение 12 месяцев наблюдения. Наиболее выраженные изменения отмечались в нижней глазной артерии. В центральной артерии сетчатки, центральной вене сетчатки и задних длинных цилиарных артериях наблюдалось снижение всех показателей скорости кровотока. Повышение индекса резистентности отмечалось в течение всего периода исследования. Полученные данные свидетельствуют о появлении гемодинамических нарушений до возникновения клинических признаков поражения сетчатки у крыс с гипергликемией.

Ключевые слова: цветовое доплеровское картирование, энергетическое картирование, стрептозотоциновый сахарный диабет, гипергликемия, крысы.

Neroev V. V., Kiseleva T. N., Ryabina M. V.,
Okhotsimskaya T. D., Zolotых O. V.

Experimental research of the regional ophthalmic blood flow in normal conditions and by hyperglycemia

State Medical University
e-mail: o.zolotых@mail.ru

Abstract

Using Color Doppler, Power Doppler and Impulse dopplerography we developed a scheme of the blood supply of rat's eye and studied principal parameters of the blood flow. We detected the peculiarity of the blood flow in rat's eye in the experimental model of streptozotocin-induced diabetes mellitus, the monitoring continued 12 months. The strongly pronounced changes were detected in inferior ophthalmic artery. Reduction of all blood flow parameters in central retinal artery, central retinal vein and posterior long ciliary arteries was detected. Increasing of the resistance index during the whole research period was registered. The findings indicate a beginning of hemodynamic malfunction before the clinical signs of retinal lesion by the rats with hyperglycemia.

Keywords: Color Doppler, Power Doppler, streptozotocin-induced diabetes mellitus, hyperglycemia, rats.

Введение

Сахарный диабет (СД) и его осложнения представляют серьезную медико-социальную и экономическую проблему, являясь основной причиной потери трудоспособности, ранней инвалидности и смертности населения всех экономически развитых странах мира. При СД нарушение микроциркуляции является важным патогенетическим механизмом развития гипоксии тканей. Наиболее частым и ранним проявлением микроангиопатии считается поражение глаз. Диабетическая ретинопатия (ДР) — позднее неспецифическое сосудистое осложнение СД. Развитие ДР сопровождается прогрессирующим, необратимым снижением зрения, приводя к значительному ухудшению качества жизни пациентов с СД [1].

Нарушение микрогемодинамики и изменение реологических свойств крови наблюдается уже на начальных этапах развития ДР. Установлено, что больные СД без ретинопатии или с начальными ее проявлениями имеют нарушения функции сосудов, питающих глаз [3, 4, 7]. Дальнейшее развитие ДР приводит к усугублению гемодинамических нарушений, несмотря на строгий контроль гликемии, артериального давления и липидного обмена. Действующий многофакторный каскад реакций и изменений в микроциркуляторном русле сетчатки неизбежно приводит к прогрессированию ДР и снижению зрительных функций. В этой связи повышенный интерес вызывает изучение глазного кровотока, способствующее

пониманию микроциркуляторных нарушений при СД и поиску возможностей их коррекции. Большой простор для научного поиска дают исследования на животных. Основными методами изучения патологических изменений у экспериментальных животных являются поствитальные исследования — различные методы гистологии, иммуногистохимии и т. д. Изучение живых объектов в значительной мере затруднено из-за их малого размера, а также сопряжено с дополнительными сложностями в связи с необходимостью проведения исследований под наркозом.

В качестве объекта экспериментальных исследований наибольший интерес представляет использование крыс. Это объясняется тем, что морфологическое строение и ангиоархитектоника сосудов сетчатки крысы схожи с сосудами сетчатки человека, что делает данную экспериментальную модель наиболее корректной для воспроизведения ретинальной сосудистой патологии человека [8]. Кроме этого, доступность и экономичность этих животных дают преимущества их использования. Прижизненное исследование сосудистой системы глаза и орбиты у крыс в эксперименте до сих пор не проводилось. Показатели глазного кровотока у этих животных в норме и при различных патологических состояниях специальному изучению не подвергались.

В клинической практике для оценки состояния кровотока сетчатки и зрительного нерва при различных заболеваниях глаза широко используются ультразвуковые методы исследования, такие как цветное доплеровское картирование (ЦДК) и энергетическое картирование (ЭК).

Большинство авторов указывают на высокую информативность этих методов в диагностике и прогнозе сосудистой патологии глаза в клинической практике [5, 8, 9, 11].

Проведение настоящего экспериментального исследования направлено на получение информации об особенностях гемодинамических нарушений микроциркуляторного русла органа зрения у крыс с гипергликемией задолго до появления первых клинических признаков поражения сетчатки.

Результаты проведенных исследований позволят создать гемодинамическую модель патогенеза ДР, способствующую более полному и детальному пониманию всего комплекса механизмов развития этого заболевания.

Цель исследования

Разработка схемы кровоснабжения глаза крысы и изучение основных показателей регионарного глазного кровотока *in vivo* в условиях нормо- и гипергликемии на основании данных ультразвукового исследования.

Материал и методы исследования

Эксперимент выполнен на 20 крысах-самцах (40 глаз) породы Wistar с массой тела 200–250 г. В первой серии экспериментов 10 животным определяли параметры кровотока в норме. Исследование проводили интактным крысам трехкратно с интервалом в 10 дней в условиях общей анестезии.

Во второй серии экспериментов другим 10 животным предварительно моделировали СД путем введения стрептозотоцина (60 мг/кг веса внутривентриально однократно в 1 мл 0,9 %-го раствора NaCl). Его диабетогенное действие связано с повреждением β -клеток поджелудочной железы [2]. Критерием тяжести заболевания служили уровень гипергликемии, потеря массы тела, выраженность полиурии. Уровень глюкозы в крови составлял от 20,0 до 27,0 ммоль/л, контроль осуществляли с помощью глюкометра 1 раз в неделю. Исследования проводились трехкратно в сроки 2, 4, 6 и 12 месяцев.

Ультразвуковые исследования, включающие высокочастотное серошкальное сканирование, ЦДК, ЭК и импульсную доплерографию, выполняли с помощью многофункционального ультразвукового диагностического прибора VOLUSION 730 Pro (General Electric Healthcare) с использованием линейного датчика SP 10–16 МГц в режиме сканирования “Small Part”. При соприкосновении датчика с увлажненным гелем глазом крысы и при ориентации датчика в двух стандартных проекциях — горизонтальной (аксиальной) и вертикальной — получали серошкальное изображение глаза и орбиты, а также карту сосудистых потоков в ретробульбарном пространстве.

С целью увеличения разрешающей способности в ручном режиме переключали датчик на максимальную частоту 16–6 МГц. Для оптимизации изображения регулировали глубину сканирования (до 15 мм) с помощью функции «Depth» и устанавливали фокус (Foc) в зоне интереса — 10 мм. Исследование сосуда включало следующие этапы: регистрацию потока крови с определением его направления, определение принадлежности потока крови к артериальной или венозной системе, анатомическую идентификацию сосуда в характерном для него местоположении.

С помощью импульсной доплерографии оценивали доплеровские характеристики потока в артериях и регистрировали спектр доплеровского сдвига частот (СДСЧ) с определением основных количественных показателей кровотока: максимальной систолической скорости (V_{syst}), конечной диастолической скорости (V_{diast}) и индекса резистентности или периферического сопротивления (RI). Полученные данные статистически обработаны с применением программ «Statistica for Windows 5,0» и «Biostat 6,0».

Результаты исследования и их обсуждения

При проведении ультразвукового исследования идентифицировали максимальный пульсирующий поток крови, расположенный у вершины орбиты и соответствующий по гемодинамическим характеристикам глазной артерии (ГА). Для точного определения ГА сравнивали место локализации потока крови с проекцией зрительного нерва. Если поток крови располагался внутри от зрительного нерва, то его определяли как верхнюю глазную артерию (ВГА), если снаружи — как нижнюю глазную артерию (НГА).

При проведении плоскостного сканирования через задний полюс глаза в проекции зрительного нерва

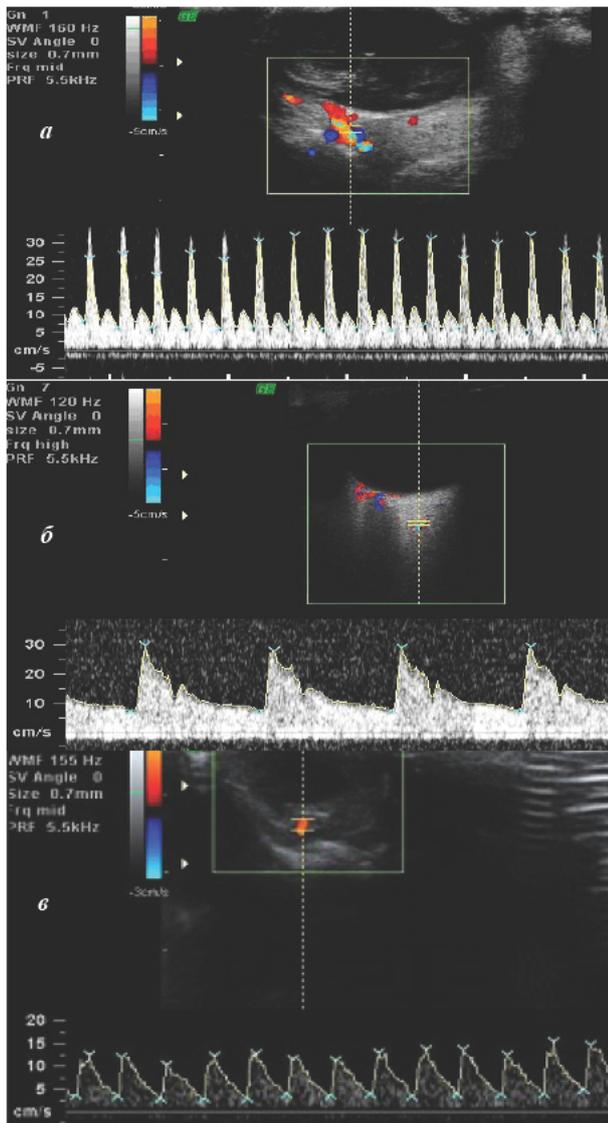


Рис. 1. а — спектр доплеровского сдвига частот кровотока в верхней глазной артерии у кролика; б — спектр доплеровского сдвига частот кровотока в глазной артерии у человека; в — спектр доплеровского сдвига частот кровотока в глазной артерин у крысы

определяли артериальный поток, соответствующий центральной артерии сетчатки (ЦАС), и минимальный пульсирующий кровоток, соответствующий центральной вене сетчатки (ЦВС). Вблизи заднего полюса глаза регистрировали два потока крови, симметричные с обеих сторон от зрительного нерва. Поток крови был направлен в сторону глаза и соответствовал проекции задних длинных цилиарных артерий (ЗДЦА). При применении ЦДК и ЭК мы отмечали наилучшую визуализацию сосудов в режиме ЭК и использовали его в комплексе с импульсной доплерографией для регистрации и анализа качественных и количественных показателей кровотока в ретробульбарных артериях и венах. Анализ полученных данных показал, что СДСЧ кровотока в сосудах орбиты здоровой крысы по сравнению с таковым в сосудах кролика по качественным и количественным характеристикам в большей степени соответствует СДСЧ кровотока в орбитальных сосудах человека в норме [6] (рис. 1 (а, б, в).

Средние значения показателей глазного кровотока в орбитальных сосудах в норме приведены в табл. 1, данные которой показывают, что наибольшие значения показателей скорости кровотока наблюдались в НГА и в среднем составили $V_{syst} = 12,25 \pm 1,55$ см/с, $V_{diast} = 4,75 \pm 0,94$ см/с, $RI = 0,61 \pm 0,1$.

Более низкие параметры скорости кровотока отмечались в ЦАС ($V_{syst} = 6,99 \pm 0,89$ см/с, $V_{diast} = 2,91 \pm 0,68$ см/с) и ЗДЦА ($V_{syst} = 5,83 \pm 0,99$ см/с, $V_{diast} = 2,48 \pm 0,41$ см/с) при невысоком индексе периферического сопротивления ($RI = 0,53 \pm 0,1$ и $RI = 0,65 \pm 0,1$ соответственно).

Показатель V_{syst} венозного кровотока в ЦВС в среднем составлял $4,23 \pm 0,73$ см/с.

На основании результатов ультразвукового исследования сосудистой системы глаза и орбиты крысы, а также с учетом литературных данных, нами была разработана схема кровоснабжения [10, 12]. Глаз крысы кровоснабжается из системы двух магистральных артерий ВГА и НГА, являющихся ветвями ГА. НГА дает крупную ветвь ЗЦА, которая, в свою очередь, разделяется на три ветви: ЦАС, ЗДЦА медиальная и латеральная.

Разработка схемы кровоснабжения глаза и оценка качественных и количественных характеристик кровотока в сосудах ретробульбарного пространства у крысы в норме позволили применить полученные данные для изучения особенностей гемодинамики глаза при моделировании сосудистой патологии в эксперименте.

Результаты исследований в экспериментальной модели стрептозотоцинового СД показали, что изменение состояния кровотока отмечалось во всех исследуемых сосудах в разные сроки наблюдения.

При осмотре глазного дна с фоторегистрацией и ангиографии с флюоресцеином в течение всего периода исследования сосудистых изменений выявлено не было.

Данные табл. 2 показывают, что наиболее выраженные изменения кровотока наблюдались в НГА. Через 2 месяца после индуцированного СД имело место достоверное повышение V_{syst} — на 39 % ($P < 0,05$), в то время как V_{diast} была снижена в 8 раз по сравнению с контролем, что являлось наименьшим значением этого показателя за весь период наблюдения (рис. 2). В дальнейшем отмечалась тенденция к снижению показателя максимальной скорости кровотока. К 12 месяцу показатели V_{syst} и V_{diast} составили 8,95 см/с и 2,38 см/с соответственно.

Следует отметить, что в НГА выраженное увеличение индекса резистентности по сравнению с группой контроля наблюдалось уже со 2 месяца наблюдения (RI — 0,97 см/с) и к 12 месяцу было максимальным (RI — 1,0).

Установлено достоверное снижение всех показателей скорости кровотока в ЦАС, ЗДЦА и достоверное повышение RI по сравнению с контролем у всех животных. Максимальное достоверное увеличение индекса резистентности в ЦАС наблюдалось с 4 месяца и сохранялось в течение всего периода исследования, в то время как в ЗДЦА достоверное

Средние показатели кровотока в сосудах глаза и орбиты у крысы

Таблица 1

Показатель	НГА	ЦАС	ЗДЦА	ЦВС
V_{syst} , см/с	12,25±1,55	6,99±0,89	5,83±0,99	4,23±0,73
V_{diast} , см/с	4,75±0,94	2,91±0,68	2,48±0,41	
RI	0,61±0,1	0,53±0,1	0,65±0,1	

Динамика показателей кровотока в орбитальных сосудах в норме и при экспериментальном СД в динамике

Таблица 2

Сосуды/показатели гемодинамики (n=20)		Сроки наблюдения			
		2 месяца	4 месяца	6 месяцев	12 месяцев
НГА	V_{syst} , см/с	17,03±1,47*	8,49±1,49*	10,39±01,57	8,95±1,54
	V_{diast} , см/с	0,6±0,87	1,49±0,92*	1,6±0,98	2,38±0,96
	RI	0,97±0,09*	0,81±0,08	0,85±0,1	1,0±0,1*
ЦАС	V_{syst} , см/с	4,33±0,88*	4,13±0,78*	5,46±0,84	5,47±0,91
	V_{diast} , см/с	1,65±0,69	1,57±0,67	2,19±0,59	1,46±0,71
	RI	0,77±0,1	0,85±0,089*	0,96±0,09*	1,0±0,1*
ЗДЦА	V_{syst} , см/с	4,05±0,92	4,8±1,0	3,02±0,93*	3,16±0,97
	V_{diast} , см/с	1,42±0,39	0,7±0,42*	0,4±0,38*	0,6±0,4*
	RI	0,97±0,09*	1,0±1,0*	0,99±0,08*	0,98±0,09*
ЦВС	V_{syst} , см/с	4,3±0,72	3,47±0,75	3,8±0,69	2,19±0,72*

*— $p < 0,05$, достоверно относительно показателей кровотока у крыс в норме.

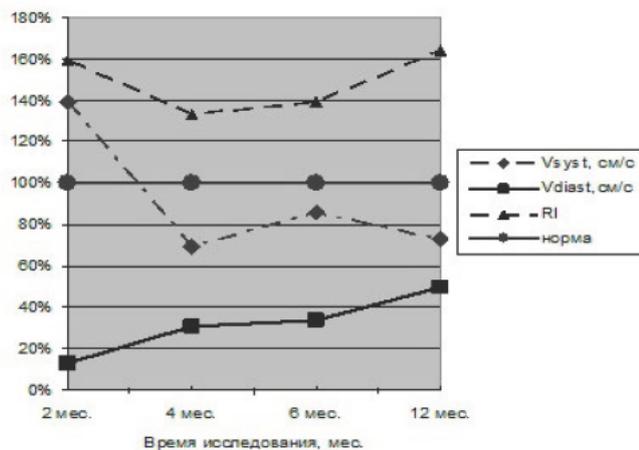


Рис. 2. Динамика параметров кровотока в НГА при индуцированном СД

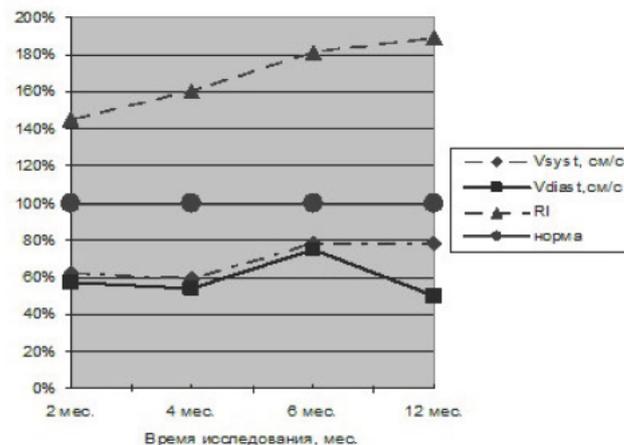


Рис. 3. Динамика параметров кровотока в ЦАС при индуцированном СД

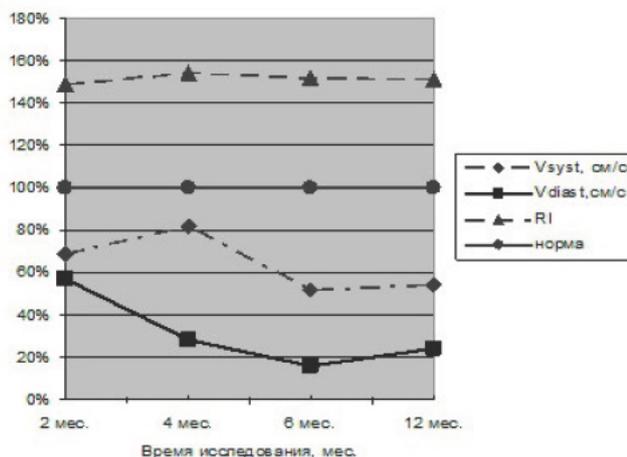


Рис. 4. Динамика параметров кровотока в ЗДЦА при индуцированном СД

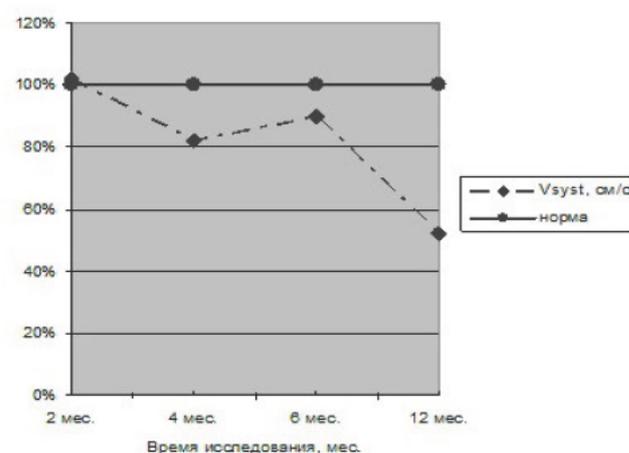


Рис. 5. Динамика параметров кровотока в ЦВС при индуцированном СД

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

увеличение RI отмечалось во всех сроках наблюдения, что может свидетельствовать о более раннем вовлечении в патологический процесс мелких орбитальных сосудов (рис. 3, 4). Выраженные изменения количественных показателей глазного кровотока указывают на значительное затруднение перфузии в системе НГА и ее ветвей уже на начальных этапах развития ДР. Скорость венозного кровотока (V_{vst}) в ЦВС достоверно снижалась лишь к 12 месяцу и в среднем составила 2,19 см/с, что свидетельствует о наличии признаков венозного стаза в орбите в отдаленные сроки развития СД (рис. 5).

Заключение

Выполненные исследования позволили разработать схему кровоснабжения глаза крысы и изучить основные параметры кровотока.

Полученные данные позволили провести оценку состояния регионарного глазного кровотока у животных в условиях гипергликемии и определить сроки появления нарушений в микроциркуляторном русле до появления клинических признаков поражения сетчатки.

Таким образом, ультразвуковые методы исследования позволяют выявлять ранние гемодинамические нарушения, по-видимому, являющиеся предвестниками диабетического поражения сетчатки, могут быть использованы в оценке развития этой патологии, а также служить дополнительным критерием эффективности профилактики и лечения глазных проявлений сахарного диабета.

Литература

1. Балашевич, Л. И. Глазные проявления диабета / Л. И. Балашевич [и др.]. — СПб., 2004. — 382 с.
2. Баранов, Б. Б. Экспериментальный диабет. Роль в клинической диабетологии / Б. Б. Баранов. — М.: Наука, 1983. — 50 с.
3. Бахритдинова, Ф. А. Гемореологические нарушения у больных с диабетическими ретинопатиями / Ф. А. Бахритдинова // Вестн. офтальмол. — 1996. — № 2. — С. 33–35.
4. Ефимов, А. С. Диабетические ангиопатии / А. С. Ефимов — М., 1989. — 288 с.
5. Киселева, Т. Н. Цветовое доплеровское картирование в офтальмологии / Т. Н. Киселева // Вестн. офтальмол. — 2001. — Т. 11. — № 6. — С. 50–52.
6. Киселева, Т. Н. Особенности гемодинамики глаза и орбиты кролика по данным современных ультразвуковых методов исследования / Т. Н. Киселева и [др.] // Рефракционная хирургия и офтальмол. — 2005. — Т. 5. — № 4. — С. 53–56.
7. Evans, D. W. Altered retrobulbar vascular reactivity in early diabetic retinopathy / D. W. Evans // Br. J. Ophthalmol. — 1997. — Vol. 12. — № 8. — P. 473–477.
8. Hammes, H. P. Experimental Approaches to Diabetic Retinopathy. Front Diabetes / H. P. Hammes, M. Porta // Basel, Karger. — 2010. — P. 42–600.
9. Kaiser, H. Ocular blood flow / H. Kaiser, J. Flammer, P. Hendricson // Basel, Karger. — 1996. — P. 226.
10. Sugiyama, K. K. Optic Nerve and Peripapillary Choroidal Microvasculature of the Rat Eye / K. K. Sugiyama [et al] // Invest. Ophthalmol. — 1999. — Vol. 35. — P. 3897–3904.
11. Sun, J. In vivo imaging of cerebral hemodynamics using high-frequency micro-ultrasound / J. Sun [et al] // Cold Spring Harb Protoc. — 2010. — Vol. 9. — P. 5495.
12. Ypsilantis, P. Ultrasonographic diagnosis of pregnancy in rats / P. Ypsilantis [et al] // J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci. — 2009. — Vol. 48. — № 6. — P. 734–739.