

УДК 616.37-008.64-092:001.892.57

Вплив блокади рецепторних протеїнкіназ на морфогенез експериментальної діабетичної ретинопатії

Усенко К. О., канд. мед. наук, лікар-офтальмолог

Національний медичний
університет імені
О.О. Богомольця
Київ (Україна)

Мета – вивчити вплив блокади рецепторних протеїнкіназ із застосуванням мультікіназного інгібітора сорафенібу на морфогенез експериментальної діабетичної ретинопатії (ДР).

Матеріал та методи. У 60 тримісячних самців щурів лінії Wistar моделювали ДР шляхом одноразового введення стрептозотоцину (50 мг/кг; Sigma-Aldrich, China). Щури були розподілені на 3 групи (по 20 тварин): контрольну, із введенням інсуліну (30 Од; NovoNordisk A/S, Bagsvaerd, Denmark) та з введенням інсуліну і сорафенібу (55 мг/кг; Cipla, India). Для визначення початкових показників використано 5 інтактних тварин. Тварин виводили з експерименту через 7, 14, 28 днів та 3 місяці, морфологічні дослідження проводили після забарвлення парафінових зрізів сітківки гематоксиліном та еозином, а також барвником азан трихром (BIOGNOST Ltd, Хорватія).

Результати. При моделюванні ДР у тварин через 7 днів спостерігались загальні ознаки діабетичного пошкодження сітківки у вигляді судинних порушень, тканинного набряку та ділянок ішемії. Пізніше формувалися специфічні ознаки ДР: численні мікроаневризми по внутрішній поверхні сітківки, дегенерація гангліонарних клітин, реактивний гліоз, утворення клітинних проліфератів у зовнішніх шарах та потовщення внутрішньої обмежувальної мембрани з накопиченням грубих волокон. Лікування інсуліном зменшувало всі прояви діабетичного пошкодження сітківки, тоді як дія сорафенібу суттєво знижувала загальні ознаки та запобігала розвитку специфічних проявів ДР.

Висновок. Таким чином, блокада клітинних протеїнкіназ дозволила запобігти розвитку ознак ДР, що обґрунтовує подальше дослідження механізмів такого впливу та можливостей застосування цього підходу для лікування ДР.

Ключові слова:

діабетична ретинопатія, сітківка, стрептозотозин, мікроаневризми, ретинальна дегенерація, гліоз, інсулін, сорафеніб

Актуальність. Однією з основних глобальних проблем охорони здоров'я є цукровий діабет (ЦД) [1]. Станом на 2021 р. глобальна поширеність ЦД становила 10,5 % (536,6 млн осіб) [2]. Очікується, що цей показник у 2045 р. збільшиться до 12,2 % (783,2 млн осіб). Діабетична ретинопатія (ДР) є частим ускладненням ЦД, вона вражає одного з трьох людей із діабетом і залишається основною причиною сліпоти серед дорослого працездатного населення [1].

У розвитку ДР мають значення різні патофізіологічні процеси, зокрема гіпоксія та оксидативний стрес із накопиченням реактивних форм кисню та продуктів перекисного окислення, запалення з утворенням інтерлейкінів та факторів росту (передусім васкулоендотеліального фактора росту – VEGF), активація протеїнкінази С та гексозамінового шляху [3, 4]. Ці процеси зумовлюють пошкодження мітохондрій, клітинний апоптоз, запалення, перекисне окислення ліпідів, а також структурні та функціональні зміни сітківки, що призводить до мікросудинних порушень у вигляді неоваскуляризації та набряку тканин [4].

Порушення метаболічних процесів спричиняє специфічні судинні ураження, що стосуються дрібних

судин (мікроангіопатія) й охоплюють прекапілярні артеріоли, капіляри та дрібні вени [5]. Спостерігається втрата перичитів, потовщення базальної мембрани, пошкодження та проліферація ендотеліальних клітин. Паралельно із судинними процесами запускається нейроретинальна дегенерація у вигляді апоптозу амакринових клітин і клітин Мюллера, реактивного гліозу та збільшення товщини шарів сітківки [5].

З огляду на відомі патогенетичні шляхи розвитку ДР сучасні підходи до її лікування включають розробку систем повільного вивільнення стероїдів та анти-VEGF препаратів [6]. Їх дію доцільно доповнювати пригніченням шляху ангіопоетину-2, наприклад, через блокаду його рецепторів Tie-2 [6].

Як доповнення до традиційних схем лікування ДР із застосуванням анти-VEGF терапії перспективним є використання інгібіторів рецепторних протеїнкіназ (ІПК) [6]. В експериментальних дослідженнях встановлено, що застосування інгібітора тирозинових протеїнкіназ імаїнібу у щурів з ЦД 1-го типу (стрептозотозинний діабет) гальмувало експресію та вміст

у тканинах сітківки VEGF та індукованого гіпоксією фактора (HIF-1 α) [7], а також знижувало експресію каспази-3 (особливо у гангліонарних та мюллерових клітинах) та підвищувало рівень антиапоптичних білків Вах і Вах-х1 у тканинах сітківки [8].

Нами продемонстрований стійкий гіпоглікемічний ефект мультикіназного ІПК сорафенібу в моделях ЦД 1-го та 2-го типів (тривала жирова дієта з введенням низьких доз стрептозотину) [9]. Гіпоглікемічний ефект сорафенібу може бути зумовлений зниженням експресії ферментів глікоконезу шляхом блокування сигнального протеїназного шляху ERK/c-MYC [10]. Сорафеніб (BAY-43-9006, Nexavar®) був розроблений компанією Bayer (США) як протипухлинний препарат та схвалений FDA США для лікування неоперабельної гепатоцелюлярної карциноми та прогресуючої нирково-клітинної карциноми.

За умов гіперглікемії сорафеніб активує АМР-активовану протеїназу (АМРК) у культивованих клітинах гепатоцелюлярної карциноми, що спричиняє ефект Варбурга та сприяє катаболізму для відновлення енергетичного гомеостазу [11]. В експерименті він ефективно гальмував прогресування неалкогольного стеатогепатиту у мишей та мавп через індукцію м'якого мітохондріального роз'єднання та подальшу активацію АМРК [12].

Наведені дані обґрунтовували актуальність проведення цього пілотного дослідження можливого впливу ІПК на розвиток морфологічних проявів експериментальної ДР. На першому етапі дослідження, на нашу думку, доцільно було отримати принципову відповідь на питання: чи впливає сорафеніб на морфогенез експериментальної діабетичної ретинопатії?

Мета: вивчити вплив блокади рецепторних протеїназ із застосуванням мультикіназного інгібітора сорафенібу на морфогенез експериментальної діабетичної ретинопатії.

Матеріал та методи

У дослідженні дотримувалися нормам та принципів Директиви 2010/63 ЄС щодо захисту тварин, Гельсінкської декларації (2008) та вимог Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№1759-VI від 15.12.2009). Дослідження також отримало позитивний Експертний висновок Комісії з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень при Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця. Тварин утримували в умовах віварію на стандартному раціоні.

До дослідження залучили 60 тримісячних самців щурів лінії Wistar вагою 140–160 г. Цукровий діабет (ЦД) 1-го типу моделювали шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення стрептозотину (50 мг/кг; Sigma-Aldrich, China), розчиненого у холодному 0,1 М цитратному буфері (рН 4,5). Рівень глікемії контролювали кожні три доби за допомогою глюкометра та одноразових тест-смужок (ACCU-Chek Instant,

Roche, Germany) у крові, взятій з хвостової вени натще. Через 3 доби після ін'єкції рівень глюкози в крові тварин становив не менше ніж 15 ммоль/л. Протягом експерименту у тварин спостерігали виражену полідипсію, поліурію, кетон- та глюкозурію, а також суттєву втрату ваги, що підтвердило адекватність застосованої моделі відтворення інсулінозалежного ЦД з кетозом у щурів. У цьому дослідженні тварин спостерігали протягом 3 місяців. Для визначення початкових показників додатково використали 5 інтактних тварин.

Через 7 діб тварин зі стійкою гіперглікемією сліпим рандомізованим методом розділили на 3 групи по 20 особин. У першій групі (контроль) лікування гіперглікемії не проводили. У другій групі тваринам через день внутрішньоочеревино вводили інсулін короткої дії (Actrapid HM Penfill, Novo Nordisk A/S, Denmark) у дозі 30 ОД. У третій групі тваринам вводили інсулін за тією ж схемою, що й у другій групі, а також щоденно per os вводили водний розчин препарату Сораніб (сорафеніб 200 мг; Cipla, India) у дозі 50 мг/кг.

Тварин виводили з експерименту через 7, 14, 28 діб та 3 місяці (по 5 особин у кожен термін) шляхом смертельної ін'єкції тіопенталу (75 мг/кг) та декапітації. Після ін'єкції тіопенталу та декапітації проводили двобічну енуклеацію. Для морфологічних досліджень очі фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну та заливали в парафін. З парафінових блоків на ротаційному мікротомі HM 325 (Thermo Shandon, Велика Британія) виготовляли серійні гістологічні зрізи товщиною 2–3 мкм. Для світлооптичних досліджень серійні парафінові зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином, а також барвником азан трихром (BIOGNOST Ltd, Хорватія) [13]. При такому фарбуванні ядра клітин набувають червоного кольору, нервові волокна та глія – відтінків червоного, а елементи сполучної тканини, що містять колаген, – відтінків синього кольору. У доступній літературі нам не вдалося знайти приклади фарбування сітківки щурів з ЦД цим барвником.

Патогістологічні дослідження виконали на базі кафебри морфології, клінічної патології та судової медицини Національного університету охорони здоров'я України (завідувач – проф. Дядик О. О.). Мікроскопічне дослідження та фотоархівування проводили із використанням світлооптичного мікроскопа ZEISS (Німеччина) з системою обробки результатів Axio Imager. A2 при збільшенні об'єктивів у 5, 10, 20, 40 разів, бінокулярної насадки у 1,5 раза та окуляра у 10 разів з камерами Carl Zeiss ERc 5s, Primo Star та AxioCam 105 color та світлооптичного мікроскопа Olimpus BX 40.

Результати

Морфогенез розвитку ДР протягом періоду спостереження представлений на рисунку 1. Спостерігалось зниження щільності клітин у ядерних шарах, тканинний набряк всіх шарів сітківки, який був найбільш вираженим у внутрішньому плексіформному шарі, а також ділянки ішемії з вакуолізацією цитоплазми не-

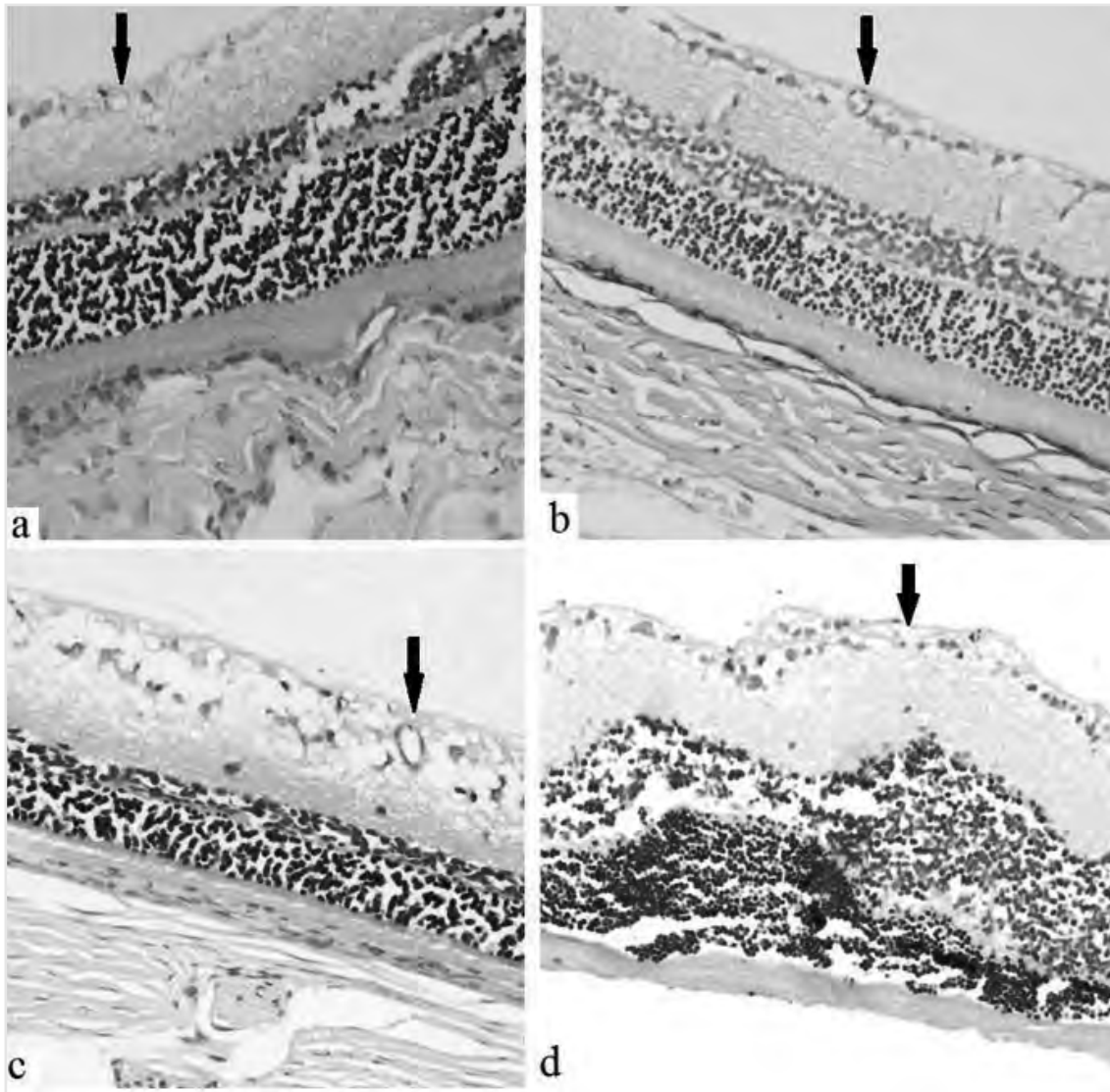


Рис. 1. Мікропрепарати сітківки щурів 1-ї (контрольної) групи: а – через 7 діб; б – 14 діб; с – 28 діб; д – 3 місяці спостереження; забарвлення гематоксилін-еозин; $\times 200$. На (а) – помітний набряк усіх шарів сітківки, особливо внутрішнього плексіформного шару з численними ділянками ішемії; розрідження нейронів та виражений набряк ядерних шарів; застій крові та екстазія венул сітківки та хоріоїдального сплетіння. На (б) і (с) – наростає розрідження ядерних шарів і розпушення нервових волокон; екстрацелюлярний набряк клітин та дегенерація гангліонарних клітин; витончення та втрата будови сегментів шару фоторецепторів. На (д) – вогнища ангіогенезу вздовж внутрішньої поверхні сітківки (чорна стрілочка), виражена дисконкомплексція шарів сітківки.

рвових клітин. Судини сітківки та хоріоїдальної оболонки були розширені, подекуди з явищами мікротромбоутворення.

У шарах нервових волокон та гангліонарних клітин виявлені численні судинні аномалії у вигляді мікроаневризми (позначені чорними стрілочками на рис. 1). Щільність гангліонарних клітин знижувалася, вони набували ознак дегенерації, клітинного набряку та пікнозу ядер. Ці зміни прогресували з 7-ї доби до 3-го місяця спостереження (див. рис. 1а-с). На останньому терміні відзначалася виражена дисконкомплексція шарів сітківки (див. рис. 1d). Причинами цього можна вважати значний набряк та утворення у зовнішньому ядерному шарі сітківки клітинних проліфератів у вигляді

щільних скупчень базofilних клітин. Також привертало увагу прогресивне ущільнення та потовщення внутрішньої обмежувальної мембрани з накопиченням грубих базofilних волокон, що чітко видно при великому збільшенні (позначено білою зірочкою на рис. 2с).

Розширені мікросудини на внутрішній поверхні сітківки спостерігалися й у інтактних тварин (чорна стрілка на рис. 2а), однак вони мали невеликий діаметр, тонку стінку та один просвіт. На відміну від них, мікроаневризми зазвичай містили декілька просвітів, огорнутих щільною мембраною, і були більш численними (див. білі стрілки на рис. 2b та 2c). Також чітко виявлявся міжклітинний набряк та поширені зони ішемії. Щільність гангліонарних клітин зменшувалася по-

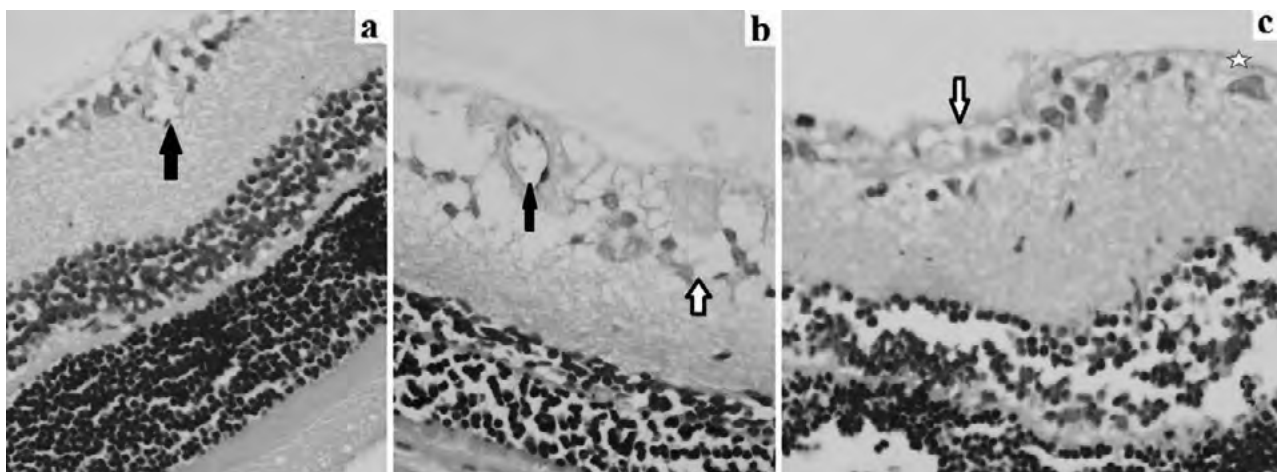


Рис. 2. Мікропрепарати сітківки щурів першої (контрольної) групи: а – сітківка інтактного щура; б – 14 діб; с – 3 місяці спостереження; забарвлення гематоксилін-еозин; $\times 400$. На (а) – нормальна будова шарів сітківки. На (б) – розширений капіляр (чорна стрілка) та вогнища ангіогенезу (біла стрілка), виражений набряк на внутрішній поверхні сітківки, потовщення внутрішньої обмежувальної мембрани. На (с) – протяжні муфти новоутворених капілярів на внутрішній поверхні сітківки (біла стрілка), гангліонарні клітини гіпохромні, набряклі, подекуди відсутні; численні ядра великих астроцитів (астрогліоз), потовщений шар нервових волокон (біла зірочка).

рівняно з контролем, вони набували ознак дегенерації, тоді як кількість та розмір астроцитів збільшувалися за типом реактивного гліозу.

Дія інсуліну (рис. 3а) та інсуліну із сорафенібом (рис. 3б) відрізнялися менш вираженим розвитком ранніх проявів ДР. Так, у другій групі щільність клітин ядерних шарів порівняно з інтактною сітківкою візуально не знижувалась, набряк і ділянки ішемії в шарах сітківки були практично відсутні. Натомість спостерігалось візуальне зниження щільності гангліонарних клітин та дисконкомплексція зовнішніх шарів сітківки (рис. 3а).

У третій групі комбіноване введення інсуліну та сорафенібуму попереджало розвиток ранніх проявів ДР (рис. 3б). Сітківка загалом мала нормальну структуру,

а характерних для контрольної групи ознак ДР не було виявлено. Специфічних ранніх ознак ДР – вогнищ ангіогенезу та клітинних проліфератів – також не спостерігалось.

Для уточнення особливостей діабетичного морфогенезу сітківки нами було проведено дослідження мікропрепаратів сітківки із застосуванням барвника азан трихром, що використовується для диференціації елементів нервової тканини [13]. Як показали результати, отримані на мікропрепаратах інтактних щурів, клітини зовнішнього ядерного шару (палички і колбочки) забарвлювалися у рудий колір. Нейрони внутрішнього ядерного шару та гангліонарні нейрони мали поліхроматофільне забарвлення, а астроцити шару нервових волокон набували чіткого рожевого кольору (рис. 4а).

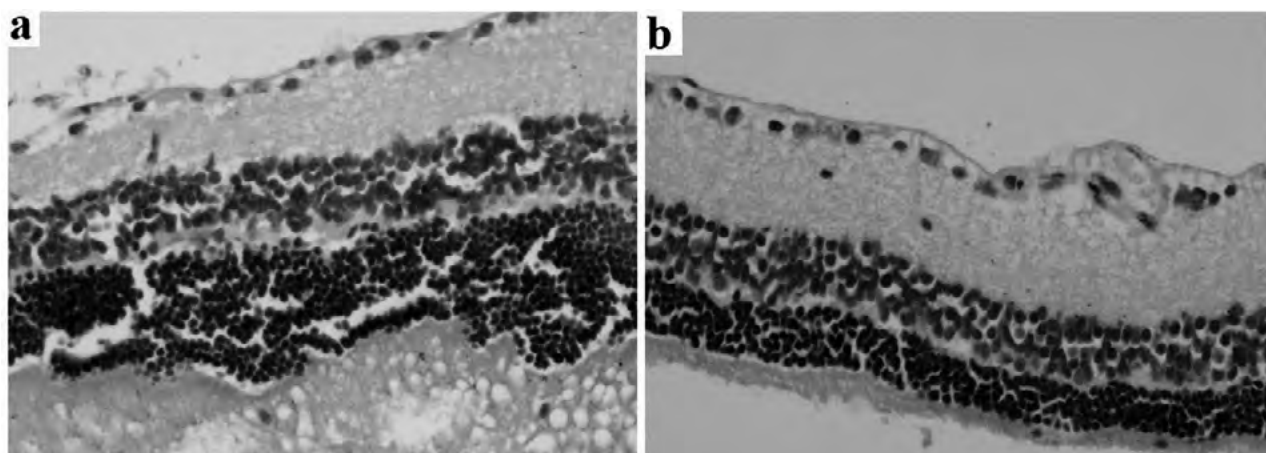


Рис. 3. Мікропрепарати сітківки щурів другої (а) та третьої (б) груп через 3 місяці спостереження; забарвлення гематоксилін-еозин; $\times 400$. На (а) – розрідження ядерних шарів та дегенеративні ознаки нейронів сітківки не виражені, вогнищ ангіогенезу не зафіксовано, відмічено ущільнення клітин та потовщення зовнішнього ядерного шару, втрата його нормальної будови. На (б) – збереження структури сітківки, відсутні вогнищ ангіогенезу у внутрішніх шарах та клітинні проліферати у зовнішніх.

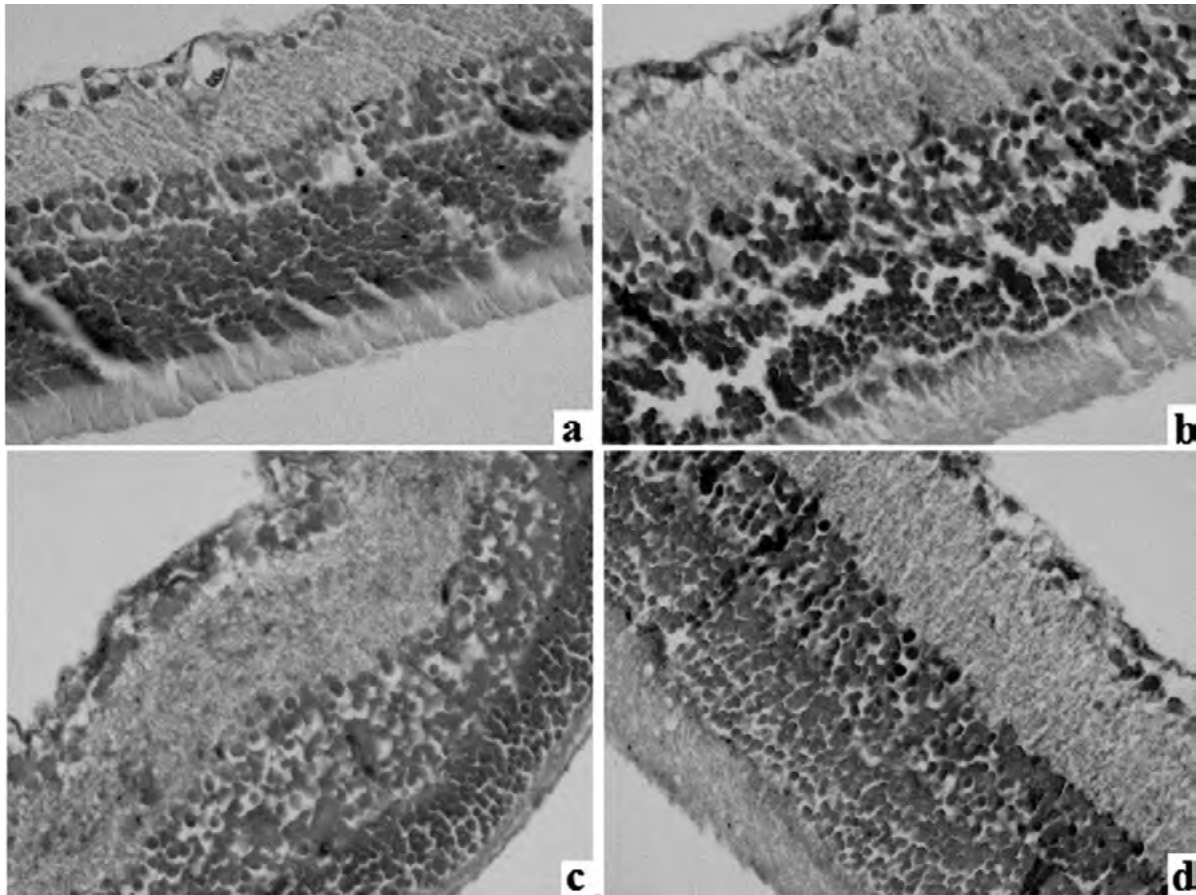


Рис. 4. Мікропрепарати сітківки щурів; забарвлення азан трихром; $\times 400$; а – сітківка інтактного щура; б – перша (контрольна) група; с – друга група; д – третя група через 3 місяці спостереження.

Цікаво, що плексіформні шари та волокна шару нервових волокон забарвлювалися у синій колір. За кольором можна було чітко диференціювати внутрішній (синій) та зовнішній (рожевий) сегменти фоторецепторів.

Через 3 місяці у контрольній групі на тлі розвитку ознак ДР спостерігалось інтенсивне червоне забарвлення клітин зовнішнього ядерного шару, особливо у ділянках їх ущільнення та проліферації (рис. 4b). У внутрішньому ядерному шарі відмічено велику кількість клітин із різним забарвленням: крупні округлі клітини набували синього кольору, переважна більшість клітин були полігональними та забарвлювалися поліхроматофільно, а невелика кількість клітин мала червоно-руде забарвлення. Чіткіше виражене синє забарвлення спостерігалось у сплетіннях волокон плексіформних шарів та вздовж внутрішньої поверхні сітківки. Натомість інтенсивність забарвлення шару фоторецепторів значно зменшувалася.

Дія інсуліну, на тлі менших загальних та специфічних ознак ДР, супроводжувалася зниженням інтенсивності червоного забарвлення ядерних шарів (див. рис. 4с). При цьому синє забарвлення шару нервових волокон залишалось досить вираженим. Комбінована дія інсуліну та сорафенібу на тлі упорядкування структури шарів сітківки, показала фактичну відсутність

ущільнення та нагромадження волокон вздовж внутрішньої поверхні сітківки (див. рис. 4d). Це дозволяє припустити, що сорафеніб гальмує реактивний астроцитарний гліоз за умов ДР.

Таким чином, при моделюванні ЦД 1-го типу виявлялися загальні ознаки ДР, такі як зниження щільності нервових клітин, тканинний набряк, ділянки ішемії та розширення судин сітківки. До специфічних ознак відносилися формування мікроаневризм на внутрішній поверхні сітківки, дегенерація гангліонарних клітин, реактивний гліоз, утворення клітинних проліфератів у зовнішніх шарах та потовщення внутрішньої обмежувальної мембрани з накопиченням грубих базофільних волокон. Лікування інсуліном призводило до послаблення всіх проявів діабетичного пошкодження сітківки, тоді як застосування сорафенібу суттєво знижувало загальні ознаки та запобігало розвитку специфічних проявів ДР. Забарвлення азан трихромом дозволило чітко диференціювати внутрішній та зовнішній шари фоторецепторів, різні клітини ядерних шарів та нервові волокна на внутрішній поверхні сітківки.

Обговорення

Відомо, що мікроангіопатія сітківки при ЦД супроводжується ішемією, неоваскуляризацією, підвищен-

ням проникності судин та набряком сітківки [14]. На ранніх стадіях ДР метаболічні порушення та оксидативний стрес призводять до накопичення токсинів у сітківці, що порушує нервово-судинні взаємовідносини. Це проявляється застоєм крові у веноулярній частині судинного русла сітківки, мікротромбоутворенням, набряком та ішемією сітківки [15]. Гостра та стійка гіперглікемія, яка формувалася вже з перших діб після введення стрептозоточину, на нашу думку, спричиняла первинні токсичні явища, що виявлялися на 7-му добу у вигляді застою крові та розширення венул зовнішнього плексіформного шару.

Надалі розгортання вторинних механізмів пошкодження, переважно гіпоксичного та запального характеру, супроводжувалося прогресуванням судинних змін із утворенням мікроаневризм. Крім того, прогресія ДР супроводжується мікрокрововиливами, інфарктами нервових волокон («ватні плями»), відкладенням ексудату, інтраретинальними аномаліями у вигляді безклітинних та неперфузованих капілярів, а також підвищенням проникності судин [16].

Також спостерігалися ознаки нейродегенерації, такі як витончення та розрідження ядерних шарів, загибель гангліонарних клітин та реактивний гліоз. Особливе значення мала дегенерація тіл та аксонів гангліонарних клітин. Згідно даних [17] вони є найбільш вразливими елементами сітківки за умов ЦД. Подібні зміни ми фіксували протягом 3 місяців спостереження за відсутності лікування.

У наших дослідженнях серед специфічних проявів ДР було виявлено утворення мікроаневризм та клітинних проліфератів. Мікроаневризми є проявом діабетичної мікроангіопатії, а механізм їх розвитку включає активацію мікро- та макроглії сітківки (реактивний гліоз) продуктами аномального глікозного метаболізму [5, 15, 17].

Активована глія є джерелом чисельних прозапальних цитокінів та факторів росту, зокрема, VEGF, який сприяє збільшенню проникності судин, апоптозу перипіцитів та ендотеліальних клітин, а також неоваскуляризації [5, 16]. Клітинні проліферати, які утворювалися у внутрішніх шарах сітківки, були представлені щільно розташованими округлими клітинами з інтенсивно забарвленою базофільною цитоплазмою. На нашу думку, можливим механізмом їх виникнення є гліально-мезенхімальний перехід клітин Мюллера. Відомо, що при ДР цей процес є ключовим фіброгенним механізмом [18]. Трансдиференціацію клітин Мюллера у міофібробласти можуть запускати надмірні концентрації VEGF та трансформаційного фактора росту (TGF- β), які накопичуються у сітківці при ДР.

Застосування інсуліну призводило до очікуваного зниження інтенсивності діабетичного пошкодження сітківки, проте як загальні, так і специфічні ознаки ДР залишалися наявними.

Ефект сорафенібу характеризувався попередженням розвитку всіх проявів ДР, що могло пояснюватися

блокуванням рецепторних протейніназ, зокрема активованого при ДР сигнального каскаду Ras/Raf-1/MEK/ERK [19]. Розвиток діабетичної нейродегенерації сітківки також попереджався через гальмування шляху p38MAPK завдяки білку-інгібітору кінази Raf-1 [20]. Важливо зазначити, що сигнальний каскад MAPK/ERK за умов ЦД сприяє активації VEGF та матричної металопротейнази (MMP-9), що призводить до загибелі капілярних клітин сітківки [19].

Отримані у нашому та інших дослідженнях ефекти сорафенібу можна пояснити через молекулярні механізми його дії. Цей препарат є мультикіназним інгібітором проліферації клітин *in vitro*, який пригнічує внутрішньоклітинні сигнальні кінази, зокрема, шлях RAF/MEK/ERK та рецепторні тирозинкінази. [21]. Дезактивація фосфорилування білка ERK є одним із механізмів інгібування сорафенібом раку шлунка [22]. Таким чином, блокада клітинних протейніназ, шляхом пригнічення кіназних каскадів, може гальмувати вплив надмірних концентрацій прозапальних чинників та факторів росту за умов ДР. Це добре пояснює ефект попередження утворення мікроаневризм та клітинних проліфератів сітківки при застосуванні сорафенібу.

Таким чином, результати цього дослідження дозволяють припустити, що блокада клітинних протейніназ може бути перспективним напрямком патогенетичної терапії ДР. Наразі тривають дослідження ефективності їх використання у сполученні з анти-VEGF терапією [6]. Однак результати нашого дослідження свідчать про наявність незалежного ефекту сорафенібу, який чітко проявлявся у попередженні проявів ДР. Це може мати особливе значення для лікування ДР на ранніх стадіях, коли анти-VEGF терапія ще не показана. Безумовно, таке припущення потребує подальшого вивчення молекулярних механізмів дії препарату при ДР в експериментальних умовах, а також дослідження ефекту ІПК при моделюванні ЦД 2-го типу.

Висновок. Встановлено, що при моделюванні ЦД 1-го типу у тварин вже на ранніх етапах спостерігаються загальні ознаки пошкодження тканин сітківки у вигляді судинних порушень, тканинного набряку та ділянок ішемії. Згодом проявляються специфічні ознаки ДР: формування мікроаневризм по внутрішній поверхні сітківки, дегенерація гангліонарних клітин, реактивний гліоз, утворення клітинних проліфератів у зовнішніх шарах та потовщення внутрішньої обмежувальної мембрани з накопиченням грубих волокон. Лікування інсуліном сприяло зменшенню проявів діабетичного пошкодження сітківки, тоді як застосування сорафенібу сприяло збереженню щільності клітин у ядерних шарах, попередженню розвитку набряку та ішемії, дилатації судин сітківки, а також запобіганню формування мікроаневризм, дегенерації гангліонарних клітин, реактивного гліозу та утворення клітинних проліфератів сітківки.

Література

1. **Wong TY, Sabanayagam C.** Strategies to Tackle the Global Burden of Diabetic Retinopathy: From Epidemiology to Artificial Intelligence. *Ophthalmologica*. 2020;243(1):9-20.
2. **Sun H, Saeedi P, Karuranga S, Pinkepank M, Ogurtsova K, Duncan BB, et al.** IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract*. 2022 Jan;183:109119.
3. **Himasa FI, Singhal M, Ojha A, Kumar B.** Prospective for Diagnosis and Treatment of Diabetic Retinopathy. *Curr Pharm Des*. 2022;28(7):560-569.
4. **Kang Q, Yang C.** Oxidative stress and diabetic retinopathy: Molecular mechanisms, pathogenetic role and therapeutic implications. *Redox Biol*. 2020 Oct;37:101799.
5. **Mrugacz M, Bryl A, Zorena K.** Retinal Vascular Endothelial Cell Dysfunction and Neuroretinal Degeneration in Diabetic Patients. *J Clin Med*. 2021 Jan 25;10(3):458.
6. **Striglia E, Caccioppo A, Castellino N, Reibaldi M, Porta M.** Emerging drugs for the treatment of diabetic retinopathy. *Expert Opin Emerg Drugs*. 2020 Sep;25(3):261-271.
7. **Зяблицев СВ, Водяник ВВ, Дядик ОО.** Вплив блокади тирозинових протеїназ на експресію васкулоендотеліального фактора росту та розвиток діабетичної ретинопатії. *Фізіол. журн*. 2023; 69(5):22-32.
8. **Зяблицев СВ, Водяник ВВ.** Апоптоз сітківки та вплив блокади тирозинових протеїназ при експериментальному цукровому діабеті. *Офтальмол. журн*. 2023;5(514):34-40.
9. **Зяблицев СВ, Усенко КО, Добровинська ОВ, Перепелиця ЮВ, Андрущенко ВА.** Вплив блокади клітинних протеїназ на обмін речовин при експериментальному цукровому діабеті. *Фізіол. журн*. 2024;3(70):16-26.
10. **Ma J, Sui F, Liu Y, Yuan M, Dang H, Liu R, Shi B, Hou P.** Sorafenib decreases glycemia by impairing hepatic glucose metabolism. *Endocrine*. 2022 Dec;78(3):446-457. doi: 10.1007/s12020-022-03202-9.
11. **Guo S, Zhang C, Zeng H, Xia Y, Weng C, Deng Y, et al.** Glycolysis maintains AMPK activation in sorafenib-induced Warburg effect. *Mol Metab*. 2023 Nov;77:101796.
12. **Jian C, Fu J, Cheng X, Shen LJ, Ji YX, Wang X, et al.** Low-dose sorafenib acts as a mitochondrial uncoupler and ameliorates nonalcoholic steatohepatitis. *Cell Metab*. 2020 May 5;31(5):892-908.e11.
13. **Beckers P, Müller C, Wallnisch C, Bartolomeus T.** Getting two birds with one stone: Combining immunohistochemistry and Azan staining in animal morphology. *J Biol Methods*. 2021 Sep 3;8(3):e153.
14. **Wang W, Lo ACY.** Diabetic Retinopathy: Pathophysiology and Treatments. *Int J Mol Sci*. 2018 Jun 20;19(6):1816.
15. **Newman EA.** Functional hyperemia and mechanisms of neurovascular coupling in the retinal vasculature. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2013 Nov;33(11):1685-95.
16. **Arboleda-Velasquez JF, Valdez CN, Marko CK, D'Amore PA.** From pathobiology to the targeting of pericytes for the treatment of diabetic retinopathy. *Curr Diab Rep*. 2015 Feb;15(2):573.
17. **Ren J, Zhang S, Pan Y, Jin M, Li J, Luo Y, Sun X, Li G.** Diabetic retinopathy: Involved cells, biomarkers, and treatments. *Front Pharmacol*. 2022 Aug 9;13:953691.
18. **Wu D, Kanda A, Liu Y, Noda K, Murata M, Ishida S.** Involvement of Müller Glial Autoinduction of TGF- β in Diabetic Fibrovascular Proliferation Via Glial-Mesenchymal Transition. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2020 Dec 1;61(14):29.
19. **Mohammad G, Kowluru RA.** Diabetic retinopathy and signaling mechanism for activation of matrix metalloproteinase-9. *J Cell Physiol*. 2012 Mar;227(3):1052-61.
20. **Wu C, Xu K, Liu W, Liu A, Liang H, Li Q, et al.** Protective Effect of Raf-1 Kinase Inhibitory Protein on Diabetic Retinal Neurodegeneration through P38-MAPK Pathway. *Curr Eye Res*. 2022 Jan;47(1):135-142. .
21. **Abdelgalil AA, Alkahtani HM, Al-Jenoobi FI.** Sorafenib. *Profiles Drug Subst Excip Relat Methodol*. 2019;44:239-266.
22. **Juan LW, En LM, Hao L, Kai HY, Ju H.** Sorafenib regulating ERK signals pathway in gastric cancer cell. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2014 Sep;38(2):438-43.

Відомості про авторів та розкриття інформації

Автор листування: Усенко Катерина Олександрівна – usenko1205@gmail.com

Заява про етичні норми. Робота з експериментальними тваринами та виведення їх з експерименту здійснювались згідно з правилами «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.) та за Законом України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». Проведення дослідження було схвалено Комісією з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень при Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця.

Відмови від відповідальності: погляди, висловлені в поданій статті, є власними, та не є офіційною позицією установи..

Джерела підтримки: відсутні.

Конфлікт інтересів. Автор свідчить про відсутність конфліктів інтересів, які б могли вплинути на її думку стосовно предмету чи матеріалів, описаних та обговорених в даному рукописі.

Надійшла 12.10.2024