

влияние препарата на развитие алактатных и гликолитических двигательных способностей, аэробной выносливости и физической работоспособности спортсменов, которые специализируются в академической гребле. Кратковременный прием предложенного препарата спортсменами, можно использовать в качестве эргогенного и адаптогенного средства в восстановительный период, а также в условиях тренировочной и соревновательной деятельности.

**Ключевые слова:** «триовит», физическая работоспособность, гребцы-академисты.

The positive effect of the drug on the development alaktatnyh and glycolytic motor abilities, aerobic endurance and physical performance of athletes who specialize in rowing. Intermittent reception proposed drug athletes, can be used as ergogenic and adaptogenic agents in the recovery period, and also in terms of training and competitive activities.

**Key words:** «TrioVite» physical performance, rowers.

Стаття надійшла 12.02.2014 р.

Рецензент Запорожець Т.М.

УДК 616.4-008.6

**Н. В. Кресюн**

*Одесский национальный медицинский университет, г. Одесса*

### ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЕТЧАТОЙ ОБОЛОЧКИ ГЛАЗА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ ДЕЛЬТА СОН-ИНДУЦИРУЮЩЕГО ПЕПТИДА

У крыс линии Вистар введением стрептозотоцина (50,0 мг/кг, в/бр) вызывали сахарный диабет (уровень глюкозы в крови превышал 300 ммоль/л). Через десять месяцев с момента моделирования диабета при гистологическом исследовании сетчатой оболочки глаза у животных с стрептозотоциновым диабетом число теней перифитов в 3,5 раза, а число ацеллюлярных капилляров – в 4,6 раз превышало показатели в контроле. Применение дельта сон-индуцирующего пептида (50,0 мкг/кг, в/бр) 1 раз в три дня уменьшало исследуемые показатели в сравнении с нелечеными животными соответственно в 2,5 и в 2,1 раза.

**Ключевые слова:** стрептозотцин, сахарный диабет, ретинопатия, дельта сон- индуцирующий пептид.

Развитие гипергликемии устойчивой сопровождается формированием метаболических нарушений, вызывающих выраженные функциональные расстройства, среди которых одним из наиболее тяжелых является ретинопатия [7, 9]. Патогенетическими механизмами диабетической ретинопатии является усиление перекисного окисления липидов, которое отмечается в ткани сетчатки глаза [6]. Отмечена прямая корреляция выраженности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и ретинопатии [4]. Ретинопатия сопровождается утерей перифитов сосудов сетчатки, увеличением числа ацеллюлярных капилляров, микроаневризм сосудов [8]. Длительный прием антиоксидантов предотвращает характерные проявления диабетической ретинопатии, определяемых гистологическими методами [8]. До последнего времени не исследовались особенности развития ретинопатии у животных со стрептозотоциновым диабетом в условиях применения дельта сон-индуцирующего пептида (ДСИП), обладающего как антиоксидантными, так и нейропротекторными свойствами [1, 2].

**Целью** работы было изучение морфологических характеристик сетчатки глаза крыс с экспериментальным сахарным диабетом, моделируемым применением стрептозотоцина, а также особенности ретинопатии в условиях введения животным ДСИП.

**Материал и методы исследования.** Исследования выполнены в условиях хронического эксперимента на крысах-самцах линии Вистар, которые содержались в стандартных условиях вивария ОНМедУ. Исследования проводили в соответствии с требованиями GLP и комиссии биоэтики ОНМедУ (протокол № 84 от 10 октября 2008 г.). Экспериментальный сахарный диабет вызывали внутривенным (в/вр) введением натошак стрептозотоцина (СТЗ) в дозе 50,0 мг/кг (“Sigma Aldrich.ru” Москва), который растворяли в буферном натриево-цитратном растворе (рН 4,5).

Через одну и две недели с момента применения СТЗ у животных в венозной крови, которую получали из хвостовой вены, определяли содержание глюкозы, и в дальнейших наблюдениях использовали животных, у которых этот уровень составлял более 300 мг/л [7]. Определение содержания глюкозы проводили в 9.00, в условиях доступа животных пищи в течение ночного времени. В течение всего наблюдения животным применяли введения инсулина (0-2 ед п/к два – пять раз в неделю) [7].

Через 10-14 дней с момента применения СТЗ начинали наблюдение в следующих группах животных: Группа №1 – интактные крысы (10 животных); Группа №2- животные с применением СТЗ (15 крыс); Группа №3 –животные с применением СТЗ и введениями гидролизата ДСИП (12 крыс); Группа №4 – крысы с СТЗ-индуцированным диабетом и применением ДСИП (50,0 мг/кг, в/бр) с частотой введений один раз в неделю (11 крыс). Группа №5 – крысы с СТЗ-индуцированным диабетом и применением ДСИП (50,0 мг/кг, в/бр) с частотой введений один раз в три дня (12 крыс).

Весь период наблюдения животных удерживали в условиях свободного доступа к пище и воде и проводили взвешивание на каждые третьи сутки. Объем выделенной мочи за сутки измеряли на протяжении 2-3 последовательных суток каждые 3 месяца. Массу тела, суточное количество потребленной пищи определяли каждую неделю наблюдений.

Крыс, которые получали введения ДСИП («Sigma-Aldrich Chemie GmbH», Германия) подвергали эвтаназии через 10 месяцев с момента начала введений препарата. Животным групп контроля осуществляли введение аналогичного объема физиологического раствора NaCl.

После выведения животных из эксперимента одно глазное яблоко каждого животного помещали в буферный раствор для выделения ретиальной сосудистой сети с помощью трипсинового метода [5]. Трипсинизированные сосуды сетчатки окрашивали гематоксилином и реактивом Шиффа.

При этом число «теней» перицитов (место на капилляре, где утерян перицит) определяли в срединной части сетчатки путем подсчета 1300 капиллярных клеток.

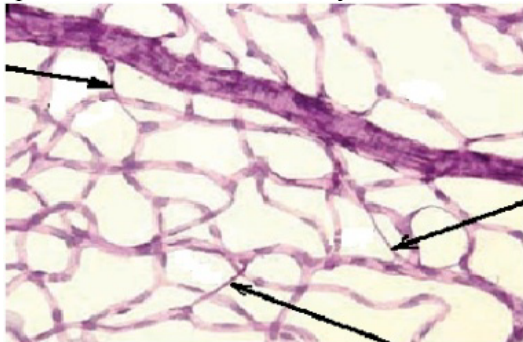


Рис. 1. Микрофотография сосудов сетчатой оболочки глаза крысы. В некоторых зонах сетчатки перициты и эндотелиоциты утеряны (стрелки). Сосудистый рисунок, был получен с помощью применения трипсина и последующего прокрашивания с помощью реактива Шиффа и гематоксилина.

Тени перицитов подсчитывали и выражали из расчета на один капилляр, которые имели хотя бы одну или две эндотелиальные клетки. Капилляры, которые были лишены перицитов, а также эндотелиальных клеток идентифицировали в качестве ацеллюлярных [5]. Число бесклеточных (ацеллюлярных) капилляров (рис. 1) подсчитывали в множестве полей зрения также в средней части сетчатки (в полях, которые были близки к пяти – семи ретиальным артериолам радирующим из оптического диска к периферическим отделам сетчатки) и выражали в относительных единицах к исследуемой площади сетчатки. В группе крыс, которым применяли ДСИП, тени перицитов подсчитывали в течение исследования сосудистой сети при большом увеличении (x 400), а в группе с диабетом без лечения процедуру подсчета проводили на цифровых фотографиях соответствующих участков сосудистой сети.

Тени перицитов легко определялись при непосредственной микроскопии образца, в то время как при изучении цифровых снимков каждый перицит можно было маркировать.

Статистическую обработку результатов исследований проводили с применением метода ANOVA и критерия Newman-Keuls оценки различий между группами.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Гистологическая оценка числа теней перицитов в сетчатке крыс, у которых отмечалась инсулин - зависимая форма сахарного диабета на протяжении четырех месяцев, показало увеличение исследуемого показателя, который составил  $3,31 \pm 0,42$ , что превышало соответствующий показатель в группе интактных крыс в 3,5 раза ( $P < 0,05$ ) (рис. 2). У крыс, которым в течение данного периода времени осуществляли введения гидролизата ДСИП число теней перицитов составило  $2,95 \pm 0,31$ , что было на 10,9% меньше, чем в группе нелеченных животных ( $P > 0,05$ ). В группе животных с СТЗ-диабетом, которым вводили ДСИП один раз в неделю, исследуемый показатель составил  $2,10 \pm 0,22$ , что было на 36,6% меньше в сравнении с показателем у диабетических крыс в отсутствие лечения ( $P < 0,05$ ) и на 2,8% меньше в сравнении с группой животных, котрым вводили гидролизат ДСИП. Применение ДСИП с частотой один раз в три дня сопровождалось снижением числа теней перицитов до  $1,21 \pm 0,14$ , что было в 2,5 раза меньше, чем у нелеченных животных с СТЗ диабетом ( $P < 0,05$ ), а также меньше на 42,4% в сравнении с показателем у крыс, которым ДСИП применяли один раз в неделю ( $P < 0,05$ ). При этом исследуемый показатель не имел достоверных отличий в сравнении с таковым в группе контроля ( $P > 0,05$ ) (рис. 2).

Число ацеллюлярных капилляров у животных с диабетом в отсутствие лечения составило  $8,7 \pm 1,2$  на  $\text{мм}^2$ , что было в 4,6 раза больше, чем в группе контроля ( $P < 0,05$ ) (рис. 3). В группе животных, которым применяли гидролизат ДСИП число ацелеллюлярных капилляров составило  $7,4 \pm 1,0$  капилляров, что не отличалось от показателя в группе животных с СТЗ-диабетом ( $P > 0,05$ ) и превышало аналогичный показатель в группе контроля в 3,9 раз ( $P < 0,05$ ). В условиях применения ДСИП частотой один раз в неделю исследуемый показатель составил  $6,6 \pm 0,9$ , что не отличалось от показателя в группе крыс с СТЗ диабетом без лечения ( $P > 0,05$ ), и в 3,5 превышало соответствующий показатель в группе контроля ( $P < 0,05$ ). Применение ДСИП частотой один раз в три дня вызывало уменьшение числа ацеллюлярных капилляров в 2,1 раза по сравнению с таковым у крыс с СТЗ в отсутствие лечения ( $P < 0,05$ ), который, однако, оставался достоверно большим (в 2,2 раза) в сравнении с аналогичным показателем в группе контроля ( $P < 0,05$ ) (рис. 3).

Представленные результаты показывают, что у крыс с диабетом, вызванным применением стрептозотоцина отмечаются выраженные нарушения микроциркуляторного русла в сетчатой оболочке глаза, проявляющиеся в повышенном образовании ацеллюлярных капилляров и исчезновении перицитов. Подобный результат соответствует результатам, полученным [6] в условиях исследования модели аллоксанового и высоким уровнем галактозы диабета у крыс. Патогенез формирующихся нарушений связан со снижением уровня глутатиона в сетчатой оболочке глаза и уменьшением активности ферментов,

обеспечивающих антиоксидантную защиту [6]. Представляют интерес данные [5], которые отметили, что дисфункция эндотелиоцитов у крыс диабетической линии BBZ/W связана с возрастанием активных радикалов в этих клетках. Li et al. [8] наблюдали нарушения уровня мРНК антиоксидантных ферментов в ретинальных перicyтах пациентов страдающих диабетом.

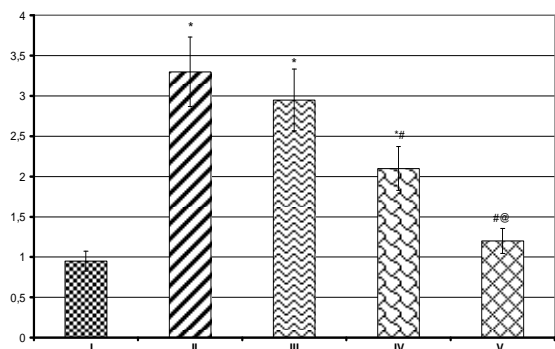


Рис. 2. Изменение числа теней перicyтов у крыс при экспериментальном сахарном диабете. По оси ординат – число теней перicyтов на 1000 сохранных клеток капилляров.

I – контроль (интактные крысы); II – крысы с экспериментальным диабетом; III – введение гидролизата ДСИП; IV – применение ДСИП (50,0 мкг, кг, в/бр раз в неделю); V – применение ДСИП (50,0 мкг, кг, в/бр каждые третьи сутки). \*-P<0,05- в сравнении с группой контроля (интактные животные); #-P<0,05 в сравнении с показателями в группе животных с СТЗ диабетом без лечения; @-P<0,05 - в сравнении с показателем в группе крыс с СТЗ-диабетом и применением ДСИП частотой один раз в неделю.

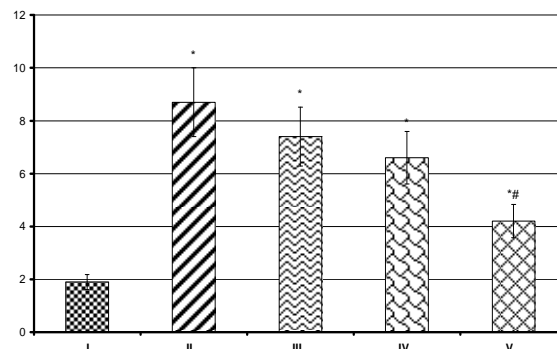


Рис. 3. Изменение числа ацеллюлярных капилляров у крыс при экспериментальном сахарном диабете. По оси ординат число ацеллюлярных капилляров (на мм²).

Следует подчеркнуть, что увеличение числа нескольких антиоксидантов в диете обеспечивает значительно более выраженный протекторный эффект в отношении усиления ПОЛ в различных органах и тканях в сравнении с эффектами, которые наблюдали при применении одного какого-либо антиоксиданта [6]. Возможно, что в механизмах осуществления протективного действия ДСИП также находятся его выраженные антиоксидантные свойства [1, 2]. Однако, следует заметить, что препарат обладает комплексным действием, которое обеспечивает неспецифическую стресс - протекцию, оказывает антидепрессивное действие [3], оказывает иммунокорректирующие влияния, реализующееся на уровне регуляции активности генома клетки.

## Выводы

1. Формирование стрептозотоцин-индуцированного диабета у крыс сопровождается развитием характерных изменений микроциркуляторного русла – увеличением числа ацеллюлярных капилляров и увеличением числа теней перicyтов капилляров.
2. Применение дельта сон-индуцирующего пептида оказывает протективное действие в отношении ретинопатии при экспериментальном диабете.
3. Протективное действие дельта сон-индуцирующего пептида в отношении экспериментальной диабетической ретинопатии выражено при его введении в дозе 50,0 мкг/кг с частотой применения один раз в три дня.

## Список литературы

1. Войтенков В. Б. Влияние пептида дельта-сна на свободнорадикальные процессы в головном мозгу и печени мышей при различных световых режимах / В. Б. Войтенков, И. Г. Попович, А. В. Арутюнян [и др.] // Успехи геронтологии. – 2008. – Т. 21, № 1. – С. 53 -55.
2. Войтенков В. Б. Дельта-сон индуцирующий пептид: итоги и перспективы/ В. Б. Войтенков, И. И. Михалева // LAP Lambert Academic Publishing. - Saarbrucken, - 2011. 220 с.
3. Михалева И. И. Взаимодействие дельта сон-индуцирующего пептида и его аналогов с клеточными мембранами: структурно-функциональный анализ / И. И. Михалева, Г. И. Рихирева, И. А. Прудченко [и др.] // Биоорг.химия. - 2006.- Т.32, №2.- С. 176-182.
4. Blom J. J. Inhibition of the adrenomedullin/nitric oxide signaling pathway in early diabetic retinopathy/ J.J.Blom, T.J.Giove, T.L.Favazza [et al.] // J.Ocul. Biol. Dis. Infor.- 2011. Vol. 4(1-2), P. 70-82.
5. Ellis E. A. Increased NADH oxidase activity in the retina of BBZ/W or diabetic rat./ E. A. Ellis, M. B. Grant, F. T. Murray [et al.] //Free Radic. Biol. Med.- 1998.- Vol. 24.- P.111–120.
6. Kern T. S. Response of capillary cell death to aminoguanidine predicts the development of retinopathy: comparison of diabetes and galactosemia/ T.S.Kern, J.Tang, M.Mizutani [et al.] //Invest. Ophthalmol. Vis.Sci.-2000.-Vol41.P3972-3978.
7. Kowluru R.A. Abnormalities of retinal metabolism in diabetes and experimental galactosemia. VII. Effect of long-term administration of antioxidants on the development of retinopathy/ R. A. Kowluru, J. Tang, T. S. Kern //Diabetes.- 2001.- Vol. 50.- P.1938-1942.
8. Li W. Altered mRNA levels of antioxidant enzymes in pre-apoptotic pericytes from human diabetic retinas/ W. Li, M. Yanoff, B. Jian [et al.] // Cell Mol. Biol.- 1999.- Vol.45.- P.59–66.
9. Wong V. H. Glial and neuronal dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats/ V.H.Wong, A.J.Vingrys, B.V.Bui // J. Ocul. Biol. Dis. Infor.- 2011 Jun;4(1-2):Vol. 42-50 - 2011

## Реферати

**ГІСТОЛОГІЧНІ ЗМІНИ СІТКІВКИ ОКА ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ В УМОВАХ ЗАСТОСУВАННЯ ДЕЛЬТА СОН-ІНДУКУЮЧОГО ПЕПТИДУ**

Кресюн Н. В.

У щурів лінії Вістар введенням стрептозотоцину (50,0 мг / кг, в / бр) викликали цукровий діабет (рівень глюкози в крові перевищував 300 ммоль /л). Через десять місяців з моменту моделювання діабету при гістологічному дослідженні сітківки ока у тварин з стрептозотоциновим діабетом число тіней перицитів в 3,5 рази, а число ацелюлярних капілярів - в 4,6 разів перевищувало показники в контролі. Застосування дельта сон-індукуючого пептиду (50,0 мкг / кг, в / бр) 1 раз на три дні зменшуються досліджувані показники у порівнянні з тваринами, які отримували лікування відповідно в 2,5 і в 2,1 рази.

**Ключові слова:** стрептозотоксин, цукровий діабет, ретинопатія, дельта сон-індукуючий пептид.

Стаття надійшла 01.03.2014 р.

**HISTOLOGICAL DETERIORATIONS OF RETINA UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL DIABETES TREATMENT WITH DELTA SLEEP-INDUCING PEPTIDE**

Kresyun N.V.

In Wistar rats via streptozotocin administration (50,0 mg/kg, i.p.) diabetes model was induced (level of glucose was higher than 300 mmol/L). Histological examination performed in ten months from the moment of model induction revealed both the net increasing of ghosts of pericytes by 3,5 times as well as increasing of the number of acellular capillaries by 4,6 times when compared with corresponded indices in control group. Delta sleep-inducing peptide administration (50,0 mcg/kg, i.p.), which was administered one time upon three days reduced the investigated indices by 2,5 and 2,1 times correspondently pertained to those ones observed in STZ-treated control without treatment.

**Key words:** streptozotocin, sugar diabetes, retinopathy, delta sleep-inducing peptide.

Рецензент Костиленко Ю.П.

УДК 611.428.018.1 – 053.31+[618.29+618.33]-097.1

О. Г. Куц, Н. Г. Васильчук

Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя

**ВПЛИВ ПРЕНАТАЛЬНОЇ АНТИГЕННОЇ СТИМУЛЯЦІЇ НА СТРУКТУРУ МЕДІАСТИНАЛЬНОГО ЛІМФАТИЧНОГО ВУЗЛА ПЛОДУ**

Описані результати дослідження структурних компонентів та клітинний склад медіастинального лімфатичного вузла в нормі та після внутрішньоутробного антигенного впливу. Виявлено, що внутрішньо плідне введення антигену прискорює дозрівання лімфовузлів середостіння, викликає структурну перебудову вузлів та змінює співвідношення кількості лімфоцитів у вузликах і паракортикальній зоні.

**Ключові слова:** лімфатичний вузол, пренатальна антигенна стимуляція.

*Робота є фрагментом НДР «Лектин-гістохімічна характеристика морфогенезу органів і тканин в ранньому постнатальному періоді онтогенезу» (№ держреєстрації 0109U003986).*

Дослідження структури периферійних органів імунної системи у ранньому постнатальному періоді розвитку заслуговує на особливу увагу, оскільки знання про особливості їх мікроанатомії в умовах норми та після внутрішньоплідного антигенного навантаження, необхідні для вивчення наслідків та проявів внутрішньоутробного інфікування [20]. Інфікування плода у разі виникнення порушень у системі мати-плацента-плід відбувається висхідним шляхом або трансплацентарно [16]. Проникнення антигенів через різні входні ворота, вірогідно має позначитися на морфогенезі центральних і периферичних лімфоїдних органів, що потребує детального вивчення.

Внутрішньоутробне антигенне навантаження будь-яким агентом викликає реактивність імунної системи плода, що сприяє енергії чи підвищеній реактивності імунної системи новонародженого. В подальшому онтогенезі такі зміни можуть завершитися формуванням стану імунологічної толерантності або алергії. Очікувані результати підтверджуються клінічним спостереженням та потребують подальшого експериментального вивчення [4]. Екзо- та ендогенні фактори, що впливають на материнський організм під час вагітності, призводять до порушення морфогенезу внутрішніх органів, що виражається дисбалансом становлення чітко детермінованої просторової структури тканин. В основі дисбалансу лежить порушення адгезії, міграції, проліферації клітин, міжклітинних та клітинно-матриксних взаємовідношень [6, 9]. Імунна система є однією з найважливіших гомеостатичних систем організму, що визначає стан здоров'я людини та її адаптаційні можливості. Особливості взаємодії плода з антигенами можуть бути вирішальними у формуванні імунного статусу новонародженого у майбутньому. Роль імунних механізмів, що здійснюють контроль за диференціюванням та дозріванням клітин організму в умовах внутрішньоутробного антигенного навантаження, вивчена недостатньо [18].

Особливий інтерес викликає вивчення медіастинального лімфатичного вузла, який розташовується на шляху виходу лімфи із центрального лімфоїдного органу – тимусу. Досить добре вивчено будову медіастинального лімфатичного вузла у людини, і практично не досліджено його морфофункціональні особливості у щурів [3], особливо у ранній період після народження.