

ИЗМЕНЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СЕТЧАТКИ КРЫС СО СТРЕПТОЗОТОЦИНИНДУЦИРОВАННЫМ ДИАБЕТОМ: ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ДЕЛЬТА-СОНИНДУЦИРУЮЩЕГО ПЕПТИДА

Поступила 05.05.14

Через три месяца после однократного введения стрептозотоцина (50.0 мг/кг, внутривнутрибрюшинно) у крыс линии Вистар активности супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионредуктазы (ГТР) в ткани сетчатки глаза были меньше в среднем на 47.5 и 42.2 % соответственно, а содержание малонового диальдегида (МДА) – в 3.3 раза большим, чем в норме. Отведения электроретинограммы (ЭРГ) показали, что у этих животных амплитуда волны а была существенно сниженной (на 57.3 %), а латентные периоды волн а и b превышали нормальные значения (на 27.5 и 11.8 % соответственно; $P < 0.05$). После применения дельта-сониндуцирующего пептида (ДСИП; 0.05 мг/кг, внутривнутрибрюшинно, один раз в три дня в течение двух месяцев) активности СОД и ГТР не отличались достоверно от нормальных величин, а уровень МДА был большим на 53.7 % ($P < 0.05$). Амплитуда волны а в составе ЭРГ не отличалась от таковой в норме, в то время как латентные периоды волн а и b все же превышали контрольные значения (на 13.2 и 10.4 % соответственно). Таким образом, под воздействием ДСИП негативные изменения функционального состояния сетчатки, связанные с развитием диабетической ретинопатии, в заметной степени уменьшаются.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: стрептозотоциновый диабет, диабетическая ретинопатия, перекисное окисление липидов, электроретинограмма (ЭРГ), дельта-сониндуцирующий пептид (ДСИП).

ВВЕДЕНИЕ

Показано, что применение дельта-сониндуцирующего пептида (ДСИП) обуславливает антиоксидантный эффект в случаях возникновения и развития нейропатологических синдромов [1], а также физиологического старения [2]. Учитывая, что перекисное окисление липидов (ПОЛ) играет существенную роль в патогенезе диабетической ретинопатии [3, 4], нам представлялось целесообразным изучить возможность коррекции проявлений данной патологии в эксперименте под воздействием ДСИП. В опытах на крысах со стрептозотоцининдуцированным диабетом мы определяли активность супероксиддисмутазы (СОД), активность глутатионредуктазы (ГТР) и количество малонового диальдегида (МДА) в ткани сетчатки глаз крыс,

а также характеристики электроретинограммы (ЭРГ) в условиях контроля и применения ДСИП.

МЕТОДИКА

Исследования были выполнены в условиях хронического эксперимента на 39 крысах-самцах линии Вистар (масса тела 170–240 г), которых содержали в стандартных условиях вивария Одесского национального медицинского университета МЗ Украины. Экспериментальный сахарный диабет вызывали с помощью однократного внутривнутрибрюшинного введения стрептозотоцина (СТЗ) в дозе 50.0 мг/кг («Sigma Aldrich.ru», РФ) [5].

Внутрибрюшинные введения ДСИП («Sigma-Aldrich Chemie GmbH», ФРГ) осуществляли в дозе 50.0 мкг/кг один раз в неделю (10 крыс) и один раз в три дня (11 крыс) на протяжении двух месяцев. Животным контрольной группы (девять крыс с СТЗ-индуцированным диабетом) по аналогичным

¹Одесский национальный медицинский университет МЗ Украины (Украина).

Эл. почта: godlevsky@odmu.edu.ua (Л. С. Годлевский).

схемам вводили 0.5 мл гидролизата ДСИП. Группой интактного контроля служили девять крыс, которым внутрибрюшинно также по аналогичным схемам вводили 0.9 %-ный физиологический раствор NaCl.

ЭРГ регистрировали у анестезированных (кетамин гидрохлорид, 100 мг/кг, внутрибрюшинно) животных. Для световой стимуляции стандартные вспышки, генерируемые светодиодным фотостимулятором («Grass PS 22», США), подводили вдоль оптической оси глаза с помощью оптоволоконного диаметром 7.0 мм [5]. Отводящий электрод размещали на поверхности роговицы, референтный – в области ретракторов век. Регистрацию осуществляли с применением компьютерного электроэнцефалографа DX-4000-practic (Украина). Измеряли амплитуду и латентный период волн а и b. Амплитуду b-волны в составе ЭРГ измеряли от вершины а-волны до пика волны b. Латентные периоды осцилляторных потенциалов 2 и 3 измеряли с момента предъявления светового стимула до максимума амплитуды соответствующих колебаний. После эвтаназии анестезированных крыс глаза энуклеировали, сетчатку выделяли. В гомогенате тканей сетчатки определяли уровень МДА (нмоль/мг протеина [6], а также активность СОД (усл. ед./мг белка) [7] и ГТР (нМ NADPH/мин · мг белка) [8].

Статистическая обработка числовых результатов производилась с использованием метода ANOVA и критерия Ньюмена–Кеулса.

РЕЗУЛЬТАТЫ

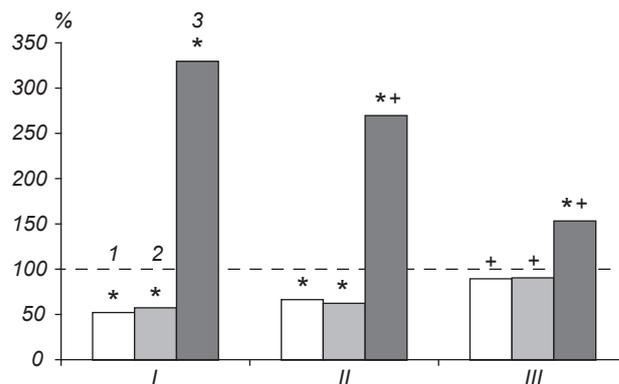
Активность СОД в ткани сетчатки крыс с экспериментальным диабетом составляла 28.3 ± 3.2 усл. ед./мг белка и была в среднем ниже, чем аналогичный показатель в группе контроля, на 47.5 % ($P < 0.05$). Активность ГТР равнялась 9.85 ± 0.11 нМ мин×мг белка, что было также значительно меньше, чем в контроле (на 42.2 %). Содержание МДА составляло 6.63 ± 0.71 нмоль/мг протеина, т. е. оно было в 3.3 раза больше, чем в норме (рис. 1).

У крыс с диабетом, которым вводили ДСИП один раз в неделю, значения активности СОД и ГТР оставались заметно меньшими, чем показатели в группе контроля (на 33.2 и 37.3 % соответственно; $P < 0.05$). Содержание МДА у таких крыс было ниже по сравнению с показателем у крыс с диабетом без лечения на 18.2 % ($P < 0.05$), но при этом

оно оставалось значительно более высоким, чем в группе контроля (в 2.7 раза; $P < 0.05$).

В условиях более частого применения ДСИП (введение на каждые третьи сутки в течение двух месяцев) значения активности СОД и ГТР значительно превышали показатели в группе крыс с диабетом без лечения (на 71.0 и 57.3 % соответственно; $P < 0.05$). Уровень МДА был в 2.15 раза меньшим, чем у животных без введения данного пептида ($P < 0.05$) (рис. 1).

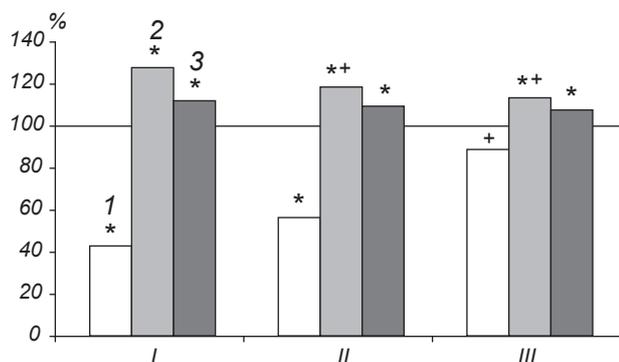
У крыс с диабетом амплитуда волны а в составе ЭРГ составляла в среднем 186.7 ± 11.3 мкВ, что было на 57.3 % меньше, чем в контроле. Средние латентные периоды волн а и b равнялись соответственно 35.57 ± 1.2 и 75.24 ± 2.0 мс. Эти значения на 27.5 и 11.8 % превышали аналогичные средние величины в контроле ($P < 0.05$) (рис. 2). В условиях применения ДСИП один раз в трое суток амплитуда волны а в 2.1 раза превышала соответствующий показатель в группе крыс с диабетом без лечения ($P < 0.05$). Латентные периоды волн а и b сокращались, но оставались большими по сравнению с показателями в группах контроля (на 13.2 и 10.4 % соответственно; $P < 0.05$).



Р и с. 1. Влияние введения дельта-сониндуцирующего пептида (ДСИП) на показатели оксидативного стресса в сетчатке крыс со стрептозотоцининдуцированным диабетом.

По горизонтали – исходные показатели (I), а также показатели в условиях введения 0.05 мг/кг ДСИП один раз в неделю (II) и раз в три дня в той же дозе (III). 1 – активность супероксиддисмутазы, 2 – активность глутатионредуктазы, 3 – уровень малонового диальдегида. По вертикали – нормированные значения показателей; за 100 % приняты показатели в контроле (интактные крысы, которым вводили гидролизат ДСИП). * Различия достоверны при сравнении с группой контроля ($P < 0.05$); + то же в сравнении с показателем до начала лечения.

Р и с. 1. Вплив уведення дельта-соніндукуючого пептиду на показники оксидативного стресу в сітківці щурів із стрептозотоциніндукованим диабетом.



Р и с. 2. Влияние дельта-сониндуцирующего пептида на параметры электроретинограммы у крыс со стрептозотоцининдуцированным диабетом.

I – амплитуда волны *a*, *2* и *3* – латентные периоды волн *a* и *b* соответственно. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

Р и с. 2. Впливи дельта-соніндукууючого пептиду на параметри електроретинограми у щурів із стрептозотоциніндукованим диабетом.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами результаты показали, что моделирование сахарного диабета у крыс с помощью введения СТЗ сопровождается увеличением уровня МДА и снижением активности СОД и ГТР в тканях сетчатой оболочки глаза. Кроме того, отмечались отчетливые изменения показателей ЭРГ – амплитуды ее компонентов становились существенно меньше, чем в контроле, а латентные периоды возникновения этих волн – больше. Подобные нарушения являются характерными для диабетической ретинопатии, которая развивается у животных с СТЗ-индуцированным диабетом [4, 5].

Применение ДСИП, который является неспецифическим антистрессорным нейропептидом [1], сопровождается заметным нивелированием проявлений экспериментальной диабетической ретинопатии. Подобное терапевтическое влияние проявляется более отчетливо в условиях относительно частого использования ДСИП (один раз в три дня на протяжении двух месяцев). Данный эффект, видимо, в значительной степени связан с реализацией антиоксидантных свойств этого нейропептида [1, 2]. Весьма возможным механизмом противодействия развитию диабетической ретинопатии под влиянием ДСИП могут быть также нейропротекторные свойства указанного агента, обусловленные блокированием рецепторов возбуждающих аминокислот и повышением продукции ГАМК [9]. Реализация подобных феноменов обеспечивает положительные терапевтические эффекты ДСИП в ус-

ловиях воспроизведения различных нейропатологических синдромов [9].

Исследования были проведены в соответствии с требованиями GLP и комиссии по биоэтике Одесского национального медицинского университета МЗ Украины (протокол № 84 от 10 октября 2008 г.).

Авторы настоящей работы – Н. В. Кресюн, Л. С. Годлевский и В. А. Полясный – подтверждают отсутствие у них конфликта интересов.

Н. В. Кресюн¹, Л. С. Годлевський¹, В. О. Полясний¹

ЗМІНИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ СІТКІВКИ ЩУРІВ ІЗ СТРЕПТОЗОТОЦИНІНДУКОВАНИМ ДІАБЕТОМ: МОЖЛИВОСТІ КОРЕКЦІЇ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ ДЕЛЬТА-СОНІНДУКУЮЧОГО ПЕПТИДУ

¹Одеський національний медичний університет МОЗ України (Україна).

Резюме

Через три місяці після одноразового введення стрептозотцину (50.0 мг/кг, внутрішньоочеревинно) у щурів лінії Вістар активності супероксиддисмутази (СОД) і глутатіонредуктази (ГТР) у тканині сітківки ока були меншими у середньому на 47.5 і 42.2 % відповідно, вміст малонового діальдегіду (МДА) – в 3.3 разу більшим, ніж у нормі. Введення електроретинограми (ЕРГ) показали, що в цих тварин амплітуда хвилі *a* було істотно зниженою (на 57.3 %), а латентні періоди хвиль *a* та *b* перевищували нормальні значення (на 27.5 і 11.8 % відповідно; $P < 0.05$). Після застосування дельта-соніндукууючого пептиду (ДСІП; 0.05 мг/кг, внутрішньоочеревинно один раз на три дні протягом двох місяців) активності СОД і ГТР не відрізнялися вірогідно від нормальних величин, а рівень МДА був більшим на 53.7 % ($P < 0.05$). Амплітуда хвилі *a* в складі ЕРГ не відрізнялася від такої в нормі, в той час як латентні періоди хвиль *a* та *b* все ж перевищували контрольні значення (на 13.2 і 10.4 % відповідно). Таким чином, під дією ДСИП негативні зміни функціонального стану сітківки, пов'язані з розвитком діабетичної ретинопатії, помітно зменшуються.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Т. И. Бондаренко, Е. А. Майборода, И. И. Михалева, И. А. Прудченко, “Метаболические эффекты дельта сониндуцирующего пептида при физиологическом старении”, *Эксперим. клин. фармакология*, **9**, 22-26 (2013).
2. В. Б. Войтенков, И. Г. Попович, А. В. Арутюнян и др., “Влияние пептида дельта-сна на свободнорадикальные процессы в головном мозгу и печени мышей при различных световых режимах”, *Успехи геронтологии*, **21**, № 1, 53-55 (2008).

3. Н. В. Кресюн, “Патофизиологические механизмы формирования диабетической ретинопатии и обоснование подходов к ее терапии”, *Интегратив. антропология*, **1**, 43-48 (2013).
4. R. Robinson, V. A. Barathi, S. S. Chaurasia, et al., “Update on animal models of diabetic retinopathy: from molecular approaches to mice and higher mammals,” *Dis. Model Mech.*, **5**, 444-456 (2012).
5. H. Sakai, Y. Tani, E. Shirasawa, et al., “Development of electroretinographic alterations in streptozotocin-induced diabetes in rats,” *Ophthalm. Res.*, **27**, 57-63 (1995).
6. И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили, “Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты”, в кн.: *Современные методы в биохимии*, Медицина, Москва (1977), с. 66-68.
7. С. Чевари, Т. Д. Андял, Д. Штиренгер, “Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в преклонном возрасте”, *Лаб. дело*, **10**, 9-13 (1991).
8. D. M. Goldberg, R. J. Spooner, and H. U. Bergmeyer, *Methods of Enzymatic Analysis*, Vol. 5, Verlag Chemie, Weinheim (1983), pp. 258-265.
9. A. A. Shandra, L. S. Godlevskii, A. I. Brusentsov, and V. A. Karlyuga, “Effects of delta-sleep-inducing peptide on NMDA-induced convulsive activity in rats,” *Neurosci. Behav. Physiol.*, **28**, 694-697 (1998).