

условиях применения генной терапии (воздействие PEI-pDNA комплекса, несущего ген препроинсулина) у молодых животных с экспериментальным СД свидетельствует об эффективности такого способа коррекции этой патологии. У старых животных происходило усиление деструктивно-дистрофических процессов, как при моделировании СД, так и при его коррекции с помощью генной терапии, что приводило к драматическому усилению клеточной гибели.

## ВОЗРАСТНЫЕ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ И ГЕННОЙ ТЕРАПИИ

Т. Ю. Квитницкая-Рыжова, С. П. Луговской, П. П. Клименко, Г. В. Хаблак, Е. К. Топорова\*

Государственное учреждение "Институт геронтологии им. Д. Ф. Чеботарева НАМН Украины", Киев

\*Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев

В патогенезе сахарного диабета (СД), одного из наиболее распространенных возраст-зависимых заболеваний, ведущую роль играет повреждение панкреатических островков (ПО) в результате аутоиммунного процесса, что приводит к недостаточности синтеза инсулина. При моделировании СД у экспериментальных животных широко применяется введение стрептозотоцина (СТЦ), оказывающего токсическое воздействие на  $\beta$ -клетки поджелудочной железы (ПЖ), что может быть полезным как для изучения механизмов развития заболевания, в том числе и в различные возрастные периоды, так и для поиска новых подходов для его коррекции.

**Цель работы** — изучение возрастных морфологических, гистохимических и морфометрических особенностей ПЖ, а также проявлений апоптоза при моделировании СТЦ-индуцированного СД и его коррекции с помощью генной терапии — экспериментальным препаратом PEI-pDNA-комплексом, несущим ген препроинсулина.

**Материал и методы.** Исследования проводили на мышах линии C57BL/6j двух возрастных групп: 3–5-месячные и 18–20-месячные. Для моделирования СД 1 раз в день в течение 5 сут делали внутрибрюшинную инъекцию СТЦ ("Sigma", США) из расчета 40 мг/кг на 0,1 М цитратном буфере (рН 5). Животных выводили из эксперимента через 5 нед после развития стойкой гипергликемии. В качестве контроля использовали интактных животных того же возраста, которым внутрибрюшинно вводили цитратный буфер. Часть животных с СТЦ-индуцированным СД подвергалась генной терапии плазмидным комплексом PEI-pDNA, содержащим ген препроинсулина. Через 4 нед после развития устойчивого диабета в их печень вводился раствор, содержащий плазмидный вектор для доставки гена препроинсулина человека, который был получен в отделе регуляторных механизмов клетки (руководитель академик НАМН Украины В. А. Кордюм) Института молекулярной биологии и генетики НАН Украины. ПЖ изучали с помощью стандартных гистологических методов. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, а также альдегид-фуксином по Гомори (для выявления секреторных гранул в  $\beta$ -клетках ПО) и изучали с использованием системы анализа изображений на основе микроскопа Olympus BX51 с программным обеспечением Olympus DP-Soft 3.2. Апоптоз выявляли с помощью иммуногистохимического варианта TUNEL-метода с использованием коммерческих наборов (ApopTag® Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit, Chemicon, США). Морфометрия: во всех изученных группах экспериментальных животных (контроль, СД, СД + PEI-pDNA) вычисляли следующие показатели: количество ПО на 1 мм<sup>2</sup> площади гистологического среза ПЖ, удельный объем эндокринной ткани в общем объеме ПЖ; удельный объем  $\beta$ -клеток в общем объеме ПО; количество дистрофически измененных инсулоцитов в ПО; количество лимфоцитов в ПО; апоптотический индекс. Статистический анализ проводили с помощью Манна–Уитни U теста.

**Результаты исследования.** При моделировании СТЦ-индуцированного СД у молодых и старых мышей с помощью светооптических, гистохимических и морфометрических исследований отмечен комплекс альтеративных изменений ПО, свидетельствующих о развитии дистрофических процессов и снижении функциональной (синтетической и секреторной) активности  $\beta$ -клеток, а также об усилении интенсивности апоптоза, что было особенно демонстративным у старых животных.

При введении молодым животным с СД PEI-pDNA-комплекса, несущего ген препроинсулина, отмечена определенная нормализация структурной организации ПЖ и снижение интенсивности апоптоза (уменьшение количества TUNEL-положительных клеток). Происходит увеличение общего

количества ПО, а также их удельного объема в общем объеме ткани ПЖ, что сочетается с увеличением удельного объема функционально активных  $\beta$ -клеток (с альдегид-фуксин положительной цитоплазмой) в общем объеме островков по сравнению с этими показателями у животных с СД, которым не была введена плазмиды. Все это сочетается с нормализацией показателей концентрации глюкозы в крови экспериментальных животных, которым вводился плазмидный комплекс.

При введении PEI-pDNA-комплекса, несущего ген препроинсулина, старым животным с СД не только не отмечается нормализация структурной организации ПЖ, но происходит усиление деструктивно-дистрофических процессов, вплоть до развития в ряде случаев выраженного инсулита. Кроме того, отмечается значительное увеличение интенсивности апоптоза в ПО. При этом снижение концентрации глюкозы в крови, по сравнению с группой животных, больных СД, оказывается менее выраженным, чем у молодых.

**Вывод.** Хотя применение генной терапии у молодых животных с СД не приводило к возвращению изученных показателей ПЖ до уровня контрольной группы, тем не менее отмечена четкая тенденция к их нормализации. В то же время у старых животных генная терапия не оказывала положительного эффекта, приводя к развитию патологических реакций и усилению интенсивности апоптоза. Это свидетельствует о возраст-зависимом характере эффективности корригирующих воздействий на течение СД и о необходимости учитывать возрастной фактор при разработке новых средств лечения этой патологии.

## ВПЛИВ ЕНДОГЕННОГО ТА ЕКЗОГЕННОГО ЕСТРОГЕНУ НА РІВЕНЬ АУТОАНТИТІЛ В ОВАРІЕКТОМОВАНИХ ЩУРІВ ІЗ МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ

**В. В. Козар\***, **С. І. Крижна\***, **Т. В. Кіприч\*\***, **Н. І. Горбенко\*\***, **О. В. Іванова\*\***,  
**В. І. Ковальова\***

*\*Національний фармацевтичний університет*

*\*\*ДУ "Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України", Харків*

На сьогодні продовжується активне вивчення модульовальних ефектів естрогенів на імунну систему, в тому числі на ланку аутоімунітету, за наявності станів, зумовлених дефіцитом естрогенів.

**Мета** — дослідити вплив метаболічного синдрому (МС) на тлі гіпоестрогенії на рівень аутоантитіл до нативної ДНК і кардіоліпіну в плазмі крові щурів та після введення  $17\beta$ -естрадіолу.

**Матеріали і методи.** Дослідження проведені на 3-місячних оваріектомованих щурах-самицях популяції Вістар. Індукцію МС здійснювали шляхом хронічного (протягом 2 міс) надходження фруктози із питною водою в концентрації 200 г/л (високофруктозна дієта — ВФД). МС у щурів було верифіковано за показниками глюкозного гомеостазу, інсулінорезистентності та маси тіла.  $17\beta$ -Естрадіол у формі суспензії у дозі 0,2 мг/кг вводили перорально за допомогою зонду один раз на добу починаючи з першого дня експерименту. Рівень антитіл до нативної ДНК та кардіоліпіну в плазмі крові визначали за допомогою реакції латексної аглютинації.

**Результати.** Встановлено, що оваріектомія підвищувала рівень аутоантитіл в плазмі крові щурів до нативної ДНК і до кардіоліпіну порівняно з показниками в інтактних тварин (відповідно в 2 і 3 рази;  $p < 0,05$ ). Отже, дефіцит естрогенів є самостійним чинником зростання титру аутоантитіл. У оваріектомованих щурів із МС, індукованим ВФД, спостерігали вірогідне підвищення лише рівня аутоантитіл до кардіоліпіну (в 1,7 рази;  $p < 0,05$ ) відносно такого в оваріектомованих щурів, яких утримували на стандартній дієті віварію ( $p < 0,05$ ). Отримані дані свідчать, що поєднання гіпоестрогенії з МС посилює імунологічний дисбаланс. Уведення  $17\beta$ -естрадіолу оваріектомованим щурам із МС, індукованим ВФД, сприяло достовірному зниженню рівня аутоантитіл до ДНК і кардіоліпіну в плазмі крові ( $p < 0,05$ ). При цьому рівень аналітів у щурів із МС, які утримувалися на ВФД та отримували  $17\beta$ -естрадіол, вірогідно не відрізнялися від значень в інтактних тварин.

**Висновки.** Дефіцит естрогенів є підґрунтям порушення гуморальної ланки неспецифічного (вродженого) імунітету та розвитку аутоімунних захворювань і тромботичних ускладнень. Поєднання оваріектомії з МС значно підвищує рівень аутоантитіл, що свідчить про посилення дисбалансу аутоімунітету та коагуляційного гомеостазу.  $17\beta$ -Естрадіол має протекторні властивості щодо ризику розвитку аутоагресії в організмі.