

Козыра С.А. *Определение количественного содержания флавоноидов в траве, корневищах с корнями отдельных представителей рода Geum L.*

В траве, корневищах с корнями *G. aleppicum*, *G. rivale*, *G. urbanum* методом дифференциальной спектрофотометрии изучено количественное содержание флавоноидов. Показано, что максимальное содержание флавоноидов наблюдается в надземной части исследуемых видов, среди которых *G. urbanum* доминирует.

Ключевые слова: флавоноиды, спектрофотометрия, *G. aleppicum* Jacq., *G. rivale* L., *G. urbanum* L. трава, корневища с корнями.

Summary

Kozyra S.A. *Determination of quantitative composition of flavonoids in the grass and rhizome with roots of certain representatives of Geum L. genus.*

The quantitative composition of flavonoids in the grass and rhizome with roots of *G. aleppicum*, *G. rivale*, *G. urbanum* by UV spectrophotometry is studied. It is shown that the maximum amount of flavonoids is observed in the above ground part of the investigated species among which the *G. urbanum* is dominate.

Key words: flavonoids, spectrophotometry, *G. aleppicum* Jacq., *G. rivale* L., *G. urbanum* L., grass, rhizome with roots.

Рецензент: д.фарм.н., проф. В.І. Чуєшов

СОСТОЯНИЕ ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ СЕТЧАТКИ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ДИАБЕТА

Т.В. Олейник

Донецкий национальный медицинский университет им. М.Горького

Введение

Сахарный диабет (СД) в настоящее время относится к одной из самых значительных медицинских проблем, которая распространена во всех странах мира. Согласно заключению Ассамблеи ВОЗ СД является третьей причиной смертности после сердечно-сосудистых заболеваний и онкопатологии [1,2]. Количество больных с данной патологией каждые 12-15 лет увеличивается в среднем в 2 раза, и по прогнозам ВОЗ, к 2025 году ожидается увеличение числа пациентов с СД до 300 млн человек [4,5]. Диабетическая ретинопатия (ДР), являясь ведущей причиной слепоты и слабовидения при СД, приводит к снижению качества жизни пациентов и частой инвалидизации в еще работоспособном возрасте [3,4]. Изучение патогенеза, клинических проявлений диабетической ретинопатии, возможностей её лечения и профилактики является предметом повышенного внимания ученых всего мира [2,6,7,9,14,15]. Определенная роль в развитии диабетической ретинопатии принадлежит пигментному эпителию сетчатки. Определенная роль в развитии ДР принадлежит пигментному эпителию сетчатки. Пигментный эпителий и мембрана Бруха ограничивают удаление продуктов патологического ретинального метаболизма (молочная кислота, факторы роста, распадающиеся геморрагии и фибрин) в хориоидальную циркуляцию [12,13]. В этой связи представляет научный интерес изучение специфичности нарушений в ткани сетчатки, приводящих к развитию ДР.

Целью данного исследования явилось изучение, в условиях экспериментального диабета, состояния мембранных структур пигментного эпителия сетчатки по уровню маркерного фермента лизосом – кислой фосфатазы.

Материал и методы исследования

Исследования проводились на 25 белых крысах линии «Вистар» весом 180-220 г., которые содержались на стандартном рационе вива-

рия. Из них 8 животных составили контрольную группу (интактные животные). Моделирование стрептозотоцинового диабета проводили на 17 крысах из них 8 животных выводились из эксперимента на 10 день моделирования и 9 на 28 сутки эксперимента.

Экспериментальный диабет вызывали путем интраперитонеального введения стрептозотоцина (60 мг на кг веса животного), при этом накануне в течение ночи животные не получали пищи [11,12]. Контрольным животным проводилась инъекция растворителя (10 mM цитратного буфера, pH 4,5). По завершению этапов эксперимента (через 10 и 28 дней после введения стрептозотоцина) животных декапитировали с предшествующей анестезией тиопенталом натрия (50 мг препарата на кг веса). Глаза энуклеировали на льду при температуре 0-5°C.

Принцип метода определения активности кислой фосфатазы основан на определении концентрации свободного органического компонента субстрата – паранитрофенилфосфата, образующегося в результате действия фермента [8].

Для определения активности кислой фосфатазы в пробирках последовательно смешивали 0,1 мл плазмы крови или экстракта ткани и 1,0 мл субстратно-буферного раствора (0,127 % раствор паранитрофенилфосфата в ацетатном буфере, pH 5,0). Пробирки с реакционным раствором инкубировали точно 30 мин при (37,0 ± 0,5)°C. Реакцию останавливали добавлением 1,0 мл охлажденного до 0°C 1 N раствора гидроксида натрия [10]. Измерения оптической плотности исследуемых растворов проводили на спектрофотометре «Spresol – 210» в 1-см кювете и длине волны 410 нм.

Рассчитывали активность кислой фосфатазы с использованием молярного коэффициента экстинкции, найденного путем экстраполяции по предварительно построенному калибровочному графику и выражали в нкат/мл плазмы крови или нкат/г ткани. Коэффициент вариации – 7,8 %.

Полученные результаты и их обсуждение

Данные, полученные при изучении различных форм маркерного фермента лизосом – кислой фосфатазы в пигментном эпителии и плазме крови экспериментальных животных, представлены в табл.1.

В данном исследовании было установлено, что при развитии стрептозотоцинового диабета у белых крыс в сетчатке в ранние сроки эксперимента (10-28 дней) отмечается нарушение мембранных

структур таких внутриклеточных органелл как лизосомы пигментного эпителия. Об этом свидетельствуют обнаруженные изменения уровня кислой фосфатазы в нашем эксперименте.

В этих условиях отмечается повреждение ультраструктурных элементов органов и тканей, что, в свою очередь, приводит к выходу в кровь этого маркерного лизосомального фермента и повышение его активности в плазме на 22,9% с 3,85±0,24 до 4,73±0,30 к 28 дню эксперимента.

В сетчатой оболочке уровень кислой фосфатазы достоверно отличался от уровня в контрольной группе животных уже на ранних сроках развития экспериментального диабета (14 суток) и к окончанию эксперимента повышался на 37,8 % . В то же время общее содержание кислой фосфатазы в пигментном эпителии, определяемой после обработки последнего детергентом, практически не изменялось за время проведения эксперимента.

Таблица 1

Активность кислой фосфатазы в плазме крови (нкат/л) и сетчатке (нкат/г) крыс при стрептозотоциновом диабете (M±m)

Исследуемая ткань	Статистические показатели	Контроль	Диабет	
			через 10 дней	через 28 дней
плазма крови	n	8	8	9
	M±m	3,85±0,24	4,42±0,27	4,73±0,30
	p	-	>0,05	<0,05
	%	100	114,8	122,9
сетчатка	Неседиментируемая активность			
	n	8	8	9
	M±m	110,6±6,4	143,2±8,2	152,4±7,6
	p	-	<0,01	<0,001
	%	100	129,5	137,8
	Общая активность			
	n	8	8	9
	M±m	186,7±10,2	184,3±12,4	187,4±11,5
	P	-	>0,05	>0,05
	%	100	98,7	100,4

Примечание: p – уровень значимости различий по отношению к контрольной группе.

Выводы

1. Полученные результаты свидетельствуют о значительном повреждении ультраструктурной организации пигментного

эпителия сетчатки при развитии экспериментального диабета, что можно рассматривать как одно из существенных звеньев механизма развития диабетической ретинопатии.

2. В плазме крови животных с экспериментальным диабетом уровень кислой фосфатазы повысился на 22,9% к окончанию периода наблюдения, что связано с снижением стабильности мембран клеточных и субклеточных структур внутренних органов.

Литература

1. Алифанова Т.А. Диабет и проблема инвалидности / Т.А. Алифанова, Н.Н. Кушнир // Тезисы 2-ой межд. науч. конф. офтальмологов Причерноморья. – Одесса, 2004. – С. 124.
2. Балаболкин М.И. Состояние и перспективы борьбы с сахарным диабетом / М.И. Балаболкин // Пробл. эндокринологии. – 1997. – Т. 43, № 6. – С. 3-7.
3. Балашова Л.М. Морфологические особенности и иммуногемостатические механизмы развития диабетической ретинопатии / Л.М. Балашова // Вестник офтальмол. – 1999. – № 5. – С. 45-47.
4. Бездетко П.А. Эпидемиология и частота сахарного диабета и диабетической ретинопатии / П.А. Бездетко, Е.В. Горбачева // Международный эндокринологический журнал. – 2006. – Т. 4, № 6. – С. 37-45.
5. Боднар П.М. Сучасні тенденції в терапії цукрового діабету 2 типу / П.М. Боднар // Здоров'я України. – 2005. – № 19 (128). – С. 10-11.
6. Глазные проявления диабета / [Бржеский В.В., Измайлов А.С., Залевская А.Г. и др.; под ред. Л.И. Балашиевич]. – СПб: СПбМАПО, 2004. – 382 с.
7. Acute hyperglycaemia induced changes in the transcription level of 4 major genes in human endothelial cells: macroarrays-based expression analysis / K. Chittab, K. Zibara, S. R. Belaiba, J. L. McGregor // Tromb Haemost. – 2002. – Vol. 87, № 1. – P. 141-148.
8. Ahmed F.N. Lipid peroxidation and serum antioxidant enzymes in patients with type 2 diabetes mellitus / F.N. Ahmed, F.N. Naqvi, F. Shafiq // Ann. NY Acad. Sci. – 2006. – Vol. 1084. – P. 481-489
9. Archer D.B. Diabetic retinopathy: some cellular, molecular and therapeutic considerations / D.B. Archer // Eye. – 1999. – № 13 (4). – P. 497-523.
10. Bergmeyer H.U. Methoden der enzymatischen Analyse / H.U. Bergmeyer. – Berlin, 1970. – 2220 p.
11. Cameron N.E. Anti-oxidant and pro-oxidant effect in non-diabetic and streptozotocin-diabetic rats / N.E. Cameron, A. Cotter // Diabetol. – 1994. – Vol. 37, № 5. – P. 449-459.
12. Epiretinal membranes of proliferative diabetic retinopathy: immunohistochemical study / Y. Hosoda, M. Okada, M. Matsumura [et al.] // Ophthalmic Res. – 1993. – Vol. 25, № 5. – P. 289-294.

13. Intraretinal leakage and oxidation of LDL in diabetic retinopathy / M. Wu, Y. Chen, K. Wilson [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2009. – Vol. 50. – P. 2679-2685.

14. Scanlon P.H. Visual acuity measurement and ocular co-morbidity in diabetic retinopathy screening / P.H. Scanlon, C. Foy, F.K. Chen // Br. J Ophthalmol. – 2008. – Vol. 92. – P. 775-778.

15. Shiba T. Relationship between diabetic retinopathy and sleep-disordered breathing / T. Shiba, Y. Sato, M. Takahashi // Am. J. Ophthalmol. – 2009. – Vol. 148. – P. 1017-1021.

Резюме

Олейник Т.В. Состояние пигментного эпителия сетчатки в условиях моделирования диабета.

Изучены изменения состояния пигментного эпителия сетчатки, возникающие на ранних сроках развития экспериментального диабета. Обнаружено повреждение лизосом пигментного эпителия по уровню кислой фосфатазы, который увеличился на 22,9%.

Ключевые слова: диабетическая ретинопатия, пигментный эпителий, экспериментальный диабет.

Резюме

Олейник Т.В. Стан пігментного епітелію сітківки в умовах моделювання діабету.

Вивчено зміни стану пігментного епітелію сітківки, що виникають на ранніх термінах розвитку експериментального діабету. Виявлено пошкодження лізосом пігментного епітелію за рівнем кислої фосфатази, який збільшився на 22,9%.

Ключові слова: діабетична ретинопатія, пігментний епітелій, експериментальний діабет.

Summary

Oleynik T.V. Retinal pigment epithelium in terms of design of diabetes mellitus.

The changes of state of the retinal pigment epithelium, resulting in the early stages of experimental diabetes. Corruption is detected lysosomal pigment epithelium level of acid phosphatase, which increased by 22.9%.

Key words: diabetic retinopathy, pigment epithelium, experimental diabetes.

Рецензент: д.мед.н., проф. А.М. Петруня