

SCI-CONF.COM.UA

ACTUAL TRENDS OF MODERN SCIENTIFIC RESEARCH



**PROCEEDINGS OF XI INTERNATIONAL
SCIENTIFIC AND PRACTICAL CONFERENCE
JUNE 6-8, 2021**

**MUNICH
2021**

ACTUAL TRENDS OF MODERN SCIENTIFIC RESEARCH

Proceedings of XI International Scientific and Practical Conference

Munich, Germany

6-8 June 2021

Munich, Germany

2021

UDC 001.1

The 11th International scientific and practical conference “Actual trends of modern scientific research” (June 6-8, 2021) MDPC Publishing, Munich, Germany. 2021. 675 p.

ISBN 978-3-954753-02-4

The recommended citation for this publication is:

Ivanov I. Analysis of the phaunistic composition of Ukraine // Actual trends of modern scientific research. Proceedings of the 11th International scientific and practical conference. MDPC Publishing. Munich, Germany. 2021. Pp. 21-27. URL: <https://sci-conf.com.ua/xi-mezhdunarodnaya-nauchno-prakticheskaya-konferentsiya-actual-trends-of-modern-scientific-research-6-8-iyunya-2021-goda-myunhen-germaniya-arhiv/>.

Editor

Komarytsky M.L.

Ph.D. in Economics, Associate Professor

Collection of scientific articles published is the scientific and practical publication, which contains scientific articles of students, graduate students, Candidates and Doctors of Sciences, research workers and practitioners from Europe, Ukraine, Russia and from neighbouring countries and beyond. The articles contain the study, reflecting the processes and changes in the structure of modern science. The collection of scientific articles is for students, postgraduate students, doctoral candidates, teachers, researchers, practitioners and people interested in the trends of modern science development.

e-mail: munich@sci-conf.com.ua

homepage: <https://sci-conf.com.ua>

©2021 Scientific Publishing Center “Sci-conf.com.ua” ®

©2021 MDPC Publishing ®

©2021 Authors of the articles

**ВЛИЯНИЕ ПРЕРЫВИСТОЙ ГИПОКСИИ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ
СОСТОЯНИЕ КОРТИКОЛИБЕРИН-СИНТЕЗИРУЮЩИХ НЕЙРОНОВ
ПАРАВЕНТРИКУЛЯРНОГО ЯДРА ГИПОТАЛАМУСА КРЫС С
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ**

Каджарян Елизавета Витальевна

к мед. н, доцент
Запорожский государственный
медицинский университет
г. Запорожье, Украина

Введение. Известно, что кортикотропин-рилизинг гормон (кортиколиберин) играет ключевую роль в базальной и стресс-активированной корректировке функциональной активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. Основная масса нейроэндокриноцитов, вырабатывающих этот нейропептид, локализована в дорсальной части медиального мелкоклеточного субъядра паравентрикулярного ядра гипоталамуса (ПВЯ). При этом гипоталамический кортиколиберин определяет уровень глюкокортикоидов в крови – важных адаптивных гормонов организма. Кроме гипоталамуса кортиколиберин широко распространен в экстрагипоталамических системах, где он выступает в качестве нейропептидного регулятора, интегрирующего нейроэндокринные, вегетативные и поведенческие реакции организма в единый комплекс согласованных адаптивных реакций на стресс. Определено, что позитивным результатом стресса является развитие адаптационных реакций в ключевых органах и системах, ответственных за формирование резистентности к стрессовому фактору. Ранее было показано, что использование прерывистой гипоксии приводит к снижению уровня гликемии и концентрации кортикостерона у диабетических крыс. Вместе с тем, особенности реакции кортиколиберинергических нейронов при сахарном диабете и сочетанном

действии прерывистой гипоксии практически не изучены.

Цель работы: определить влияние прерывистой гипоксии на функциональное состояние кортиколиберин-синтезирующих нейронов паравентрикулярного ядра гипоталамуса крыс с экспериментальным сахарным диабетом.

Материалы и методы. Исследование проведено на 30 самцах крыс линии Вистар массой 230-250 г. Содержание животных и манипуляции с ними осуществляли в соответствии с положением «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1985) и постановления Первого национального конгресса по биоэтике (Киев, 2000). Все животные были разделены на 3 группы: 1 – интактные животные; 2.- животные с экспериментальным диабетом; 3. – животные с экспериментальным сахарным диабетом, которым проводили гипоксические тренировки. Во всех группах животные наблюдались 28 дней. Сахарный диабет у крыс 2-й экспериментальной группы моделировали однократным введением стрептозотоцина (SIGMA Chemical, США) в дозе 50 мг/кг. В исследование отбирали крыс с уровнем гликемии более 9 ммоль/л. Животных 3-ей экспериментальной группы с 14-го дня течения патологического процесса подвергали воздействию прерывистой гипоксии в течение 15 дней по 6 часов на «высоте» от 1000 до 6000 м. Мозг контрольных (интактных) и экспериментальных (28-дневный диабет) животных извлекали после одномоментной декапитации, фиксировали в жидкости Буэна и после стандартной гистологической обработки пропитывали и заливали в парапласт (MkCormick, США). На ротационном микротоме Microm-325 (Microm Corp., Германия) получали серийные фронтальные срезы гипоталамуса толщиной 7 мкм для гистохимического окрашивания на РНК и толщиной 14 мкм для иммунофлюоресцентного выявления кортиколиберина. Срезы депарафинировали и демаскировали в РТ-модуле (Thermo Scientific, США) в цитратном буферном растворе (Thermo Scientific, США). Для определения

содержания нуклеиновых кислот, преимущественно РНК, гистологические срезы окрашивали галлоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону и заключали в полимерную среду EUKITT (O.Kindler GmbH, Германия). Для выявления нейропептида гистологические срезы инкубировали с кроличьим IgG к кортикотропин-рилизинг гормону крысы (Sigma Chemical, США) в разведении 1:200 во влажной камере (T= +4°C, 24 часа), затем с козым IgG к полной молекуле IgG кролика, конъюгированными с FITC (Sigma Chemical, США), в разведении 1:64 во влажной камере (T= +37°C, 45 мин.) и заключали в смесь глицерин/фосфатный буфер (9:1).

Изучение срезов, окрашенных на РНК, проводили в видимом спектре, а срезов, для идентификации кортиколиберина – в ультрафиолетовом спектре возбуждения с помощью светофильтра 38HE с высокой эмиссией (Carl Zeiss, Германия) на микроскопе AxioImager-M2 (Carl Zeiss, Германия). Получаемое изображение с помощью 16-битной видеокамеры AxioCam-5HRm (Carl Zeiss, Германия) записывали в виде компьютерного файла для последующей обработки системой цифрового анализа изображения AxioVision 4.8.2 (Carl Zeiss, Германия).

При анализе срезов, окрашенных на РНК, в интерактивном режиме определяли нейроны, содержащие ядрышко, и в автоматическом режиме вычислялись морфометрические параметры нейронов – площадь и эквивалентный диаметр клеток, их ядер, ядрышек и цитоплазмы, а также денситометрические характеристики – оптическая плотность ($E_{оп}$ – единицы оптической плотности) ядер, ядрышек и цитоплазмы клеток, которые были обусловлены уровнем накопления РНК. Исследованию подвергали не менее 1000 нейронов в каждой серии.

При анализе срезов с иммунным окрашиванием на кортиколиберин в автоматическом режиме выделялись зоны со статистически значимой флюоресценцией, которая отображала иммунореактивность к исследуемому нейропептиду. Вычислялись концентрация, которая была обусловлена интенсивностью флюоресценции ($E_{иф}$), и удельное содержание нейропептида в

стандартном поле зрения (40 000 мкм²). Исследованию подвергали не менее 200 полей зрения в каждой серии.

Полученные данные обрабатывали пакетом статистических программ, для оценки достоверности различий в группах применяли t-критерий Стьюдента.

Результаты и обсуждение. В наших исследованиях иммунореактивность, связанная с кортиколиберином, определялась в нейронах и аксонах медиального мелкоклеточного субъядра паравентрикулярного ядра гипоталамуса экспериментальных животных. Развитие диабета у крыс в течение 4-х недель приводило к увеличению площади иммунореактивности к кортиколиберину в ПВЯ примерно в 2,1 раза, при этом в 3,7 раз повышалась концентрация нейропептида в зоне иммунореактивности и в 8 раз увеличивалось его содержание (табл. 1).

Поскольку иммунореактивный материал к кортиколиберину в ПВЯ был распределен диффузно и не полностью заполнял цитоплазму клетки, для оценки морфофункционального состояния нейронов медиального мелкоклеточного субъядра ПВЯ нами был проведен морфометрический анализ его клеток, окрашенных по Эйнарсону.

Таблица 1

Показатели иммунореактивности к кортиколиберину в ПВЯ (M±m)

Серии исследований	Площадь иммунореактивного материала, %	Концентрация иммунореактивного материала, E _{иФ}	Содержание иммунореактивного материала, E _{иФ} /100 мкм ²
Контроль	1,19±0,21	0,38±0,01	0,46±0,08
Диабет	2,57±0,23*	1,42±0,08*	3,67±0,33*
Диабет + гипоксия	0,96±0,19	0,75±0,08	0,73±0,14

Примечание: достоверность отличий (p < 0,05) к контролю (*).

Известно, что паравентрикулярное ядро гипоталамуса обладает сложной цитоархитектоникой. В нем выделяют участки скопления крупных и мелких

клеток, формирующих так называемые субъядра.

Вместе с тем, как нами установлено, клеточный состав медиального мелкоклеточного субъядра ПВЯ в норме тоже неоднороден и включает единичные крупные нейроны, площадь перикариона которых $89,8 \pm 0,8$ мкм², а их доля в субъядре составляет около 12% (табл. 2). Кроме них в субъядре выявляются очень мелкие нейроны со средней площадью перикариона $38,2 \pm 0,6$ мкм², а доминирующие в субъядре нейроны обладают площадью перикариона $59,38 \pm 0,24$ мкм².

Таблица 2

Распределение нейронов по классам (% , M±m)

Серии исследований	Площадь нейронов		
	<45 мкм ²	45-80 мкм ²	> 80 мкм ²
Контроль	7,16±0,80	81,25±1,34	11,60±1,06
Диабет	16,90±1,97 *	71,27±2,18 *	11,84±1,24
Диабет+гипоксия	14,83±0,98	76,06±1,03	9,10±0,86

Примечание: достоверность отличий ($p < 0,05$) к контролю (*)

Развитие диабета у крыс приводило к увеличению в 2,3 раза доли мелких клеток за счет достоверного снижения численности доминирующей массы нейронов средней величины.

Вместе с тем, доля последних составляла более 70%. При этом развитие диабета приводило к незначительному, но достоверному увеличению площади доминирующей группы нейронов (площадью 45-80 мкм²) за счет увеличения площади их ядер и повышению в них концентрации РНК на 26% (табл. 3).

В нейронах наблюдается снижение на 22% концентрации РНК в эксцентрически расположенных ядрышках при нарастании данного показателя в цитоплазме на 12%, что можно расценивать как признак активации процессов биосинтеза в нейронах, в том числе, и биосинтеза нейропептидов, что подтверждено нами путем определения кортиколиберина в нейронах.

Таблица 3

**Морфометрические характеристики и содержание РНК в нейронах ПВЯ
площадью 45-80 мкм² (M±m)**

Серии исследований	Параметры			
	Клетки	Ядра	Ядрышка	Цитоплазмы
Контроль	59,38±0,24	38,49±0,17 10,42±0,08	2,72±0,06 4,18±0,12	20,89±0,20 5,06±0,06
Диабет	60,27±0,30 *	39,57±0,24 * 13,15±0,13 *	2,73±0,08 2,83±0,09 *	20,71±0,25 5,68±0,08 *
Диабет+ Гипоксия	57,07±0,17	36,46±0,12 11,15±0,06	2,32±0,04 2,35±0,04	20,6±0,13 5,16±0,04

Примечание: в числителе – площадь (мкм²), в знаменателе - содержание РНК (Е_{оп}), достоверность отличий (p < 0,05) к контролю (*)

Под воздействием прерывистой гипоксии в гипоталамусе диабетических животных площадь иммунореактивности к кортиколиберину уменьшалась в 2,6 раз, его содержание в нейронах – в 1,8 раз и содержание в ПВЯ в 5 раз (табл. 1). Вероятно, это свидетельствует о снижении активности процессов биосинтеза кортиколиберина у крыс с экспериментальным диабетом в сочетании с применением гипоксических тренировок.

Что касается клеточного состава медиального мелкоклеточного субъядра ПВЯ, то гипоксические тренировки приводили к снижению численности крупных нейронов и доминированию нейронов средней величины, доля которых составляла приблизительно 76 %. В этих нейронах отмечалось небольшое, но, достоверное снижение площади клеток за счёт уменьшения на 6% площади ядер (табл. 2). Также наблюдалось снижение площади цитоплазмы и ядрышек, а содержание в них РНК было на 44% меньше, чем у контрольных (интактных) животных. Количество РНК в ядре и цитоплазме было достоверно ниже, чем у экспериментальных крыс с СД (табл. 3). Полученные данные свидетельствуют о позитивном влиянии прерывистых гипоксических тренировок, которые уменьшают выраженность стрессовой активации нейронов медиального мелкоклеточного субъядра ПВЯ, вызванных развитием сахарного диабета.

Выводы:

1. Развитие экспериментального диабета у крыс приводит к увеличению морфофункциональной активности нейронов медиального мелкоклеточного субъядра ПВЯ в сочетании с повышением иммунореактивности к кортиколиберину и повышению его концентрации в структуре.

2. Сеансы прерывистой гипоксии уменьшают выраженность активности нейронов медиального мелкоклеточного субъядра ПВЯ у диабетических крыс, приводят к снижению иммунореактивности к кортиколиберину в структуре.