

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

АБРАМОВА ТЕТЯНА ВІКТОРІВНА

УДК: 616.37-018.1:616.379-008.64]-092.9

ДИСЕРТАЦІЯ

**РЕМОДЕЛЮВАННЯ ЕНДОКРИННОГО АПАРАТУ ПІДШЛУНКОВОЇ
ЗАЛОЗИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ У
НОРМО- ТА ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ**

14.03.04 – патологічна фізіологія

22 Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук.
Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело
_____ Т.В. Абрамова

Науковий керівник – **Колесник Юрій Михайлович**, Заслужений діяч науки і
техніки України, доктор медичних наук, професор, ректор Запорізького
державного медичного університету МОЗ України, професор кафедри
патологічної фізіології.

Запоріжжя – 2020

АНОТАЦІЯ

Абрамова Т.В. Ремоделювання ендокринного апарату підшлункової залози при експериментальному цукровому діабеті у нормо- та гіпертензивних щурів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 «Патологічна фізіологія» (222 Медицина). – Запорізький державний медичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2020.

Запорізький державний медичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2020.

У дисертації наведено теоретичне обґрунтування і експериментальне вирішення актуальної наукової задачі, яка полягає у встановленні механізмів ремоделювання ендокринного апарату панкреатичних островців у нормотензивних щурів лінії Wistar і спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR, а також вивченні реактивності ендокриноцитів при індукції експериментального цукрового діабету.

Дослідження виконані на дорослих самцях щурів лінії SHR із артеріальною гіпертензією, що розвивається спонтанно та підвищує систолічний артеріальний тиск на момент експерименту до $155,7 \pm 0,9$ мм рт. ст., і з рівнем глікемії натще $4,73 \pm 0,10$ ммоль/л, що на 20 % вище, ніж у контрольних щурів лінії Wistar. Контрольна група тварин була представлена дорослими самцями щурів лінії Wistar з систолічним артеріальним тиском $105,0 \pm 1,1$ мм рт. ст. і рівнем глікемії натще $3,94 \pm 0,09$ ммоль/л. Концентрація інсуліну в крові щурів лінії SHR була на 27 % вищою, ніж у щурів лінії Wistar, і становила $10,99 \pm 0,37$ мкМО/мл. При цьому індекс НОМА у гіпертензивних щурів підвищувався до $3,41 \pm 0,21$ проти $1,43 \pm 0,08$ у щурів лінії Wistar.

Особливістю методичного підходу до дослідження ендокринного апарату підшлункової залози було послідовне імунофлюоресцентне забарвлення на інсулін, глюкагон і соматостатин в серійних зрізах підшлункової залози. Це дозволило здійснити реконструкцію підшлункової

залози, класифікувати і описати панкреатичні острівці різних типів, встановити кількісні параметри розподілу ендокриноцитів різних типів в острівцях, щільності їх популяції в підшлунковій залозі, отримати дані про питомі показники вмісту інсуліну, глюкагону і соматостатину в панкреатичних острівцях і у підшлунковій залозі.

За даними кількісного імунофлюоресцентного дослідження було показано, що для гіпертензивних щурів лінії SHR характерна нормоглікемія натще, але в тесті толерантності до глюкози встановлено зміну глікемічного профілю за діабетичним типом. Формування артеріальної гіпертензії у щурів лінії SHR супроводжується ремоделюванням інсулярного апарату підшлункової залози, в якій кількість панкреатичних острівців знижується у 2 рази, чисельність бета-клітин зменшується у 8 разів, в підшлунковій залозі домінують острівці площею поперечного перерізу менш 1500 мкм². Незважаючи на помірну гіпертрофію бета-ендокриноцитів і підвищення в них концентрації інсуліну, питомий вміст інсуліну в підшлунковій залозі у гіпертензивних тварин був приблизно у 3 рази менший, ніж у нормотензивних щурів лінії Wistar. Встановлено, що панкреатичні острівці гіпертензивних щурів лінії SHR характеризуються 2-кратним збільшенням пулу альфа-ендокриноцитів, чисельність яких та питомий вміст глюкагону в підшлунковій залозі становить в 2 рази більше, ніж у нормотензивних щурів лінії Wistar. При цьому чисельність дельта-ендокриноцитів на 18 % перевищує аналогічний показник нормотензивних щурів лінії Wistar, однак питомий вміст соматостатину становить тільки 73 % від величини даного показника у щурів лінії Wistar. Показано, що в ендокриноцитах панкреатичних острівців гіпертензивних щурів лінії SHR в 2 рази знижується площа матеріалу, імунореактивного до антиапоптотичного білку Bcl2, а його відносний вміст в панкреатичних острівцях у 3 рази нижчий, ніж у нормотензивних щурів лінії Wistar. При цьому відносно показників експресії проапоптотичного білка p53 в ендокриноцитах істотних відмінностей між нормо- і гіпертензивними щурами не спостерігається.

Розширено наукові уявлення щодо реактивності і резистентності ендокриноцитів підшлункової залози до однократного введення бета-цитотоксичного антибіотика стрептозотоцину, який викликає розвиток цукрового діабету у щурів. При моделюванні діабету у експериментальних тварин спостерігалася стійка гіперглікемія, більш виражена у нормотензивних щурів лінії Wistar ($17,69 \pm 1,11$ ммоль/л), ніж у гіпертензивних щурів лінії SHR ($11,45 \pm 0,89$ ммоль/л). Розвиток діабету призводив до зменшення концентрації імунореактивного інсуліну в крові на 30 % у щурів лінії Wistar, та на 43 % у щурів лінії SHR.

При цьому встановлено, що розвиток діабету у гіпертензивних щурів лінії SHR підсилює ремоделювання інсулярного апарату та призводить до виснаження пулу бета-ендокриноцитів, 2-кратному зменшенню їх чисельності в підшлунковій залозі, зниженню на 30 % синтезованого ними інсуліну, зниженню концентрації інсуліну в периферичній крові на 43 % та зростанню рівня глікемії до $11,5 \pm 0,9$ ммоль/л. Разом з тим, параметри бета-цитотоксичної дії стрептозотоцину у гіпертензивних щурів лінії SHR менш виражені у порівнянні з реакцією панкреатичних острівців у нормотензивних щурів лінії Wistar. Встановлено, що розвиток діабету у щурів лінії SHR призводить до 4-кратного зниження чисельності популяції альфа-клітин, на відміну від нормотензивних щурів лінії Wistar, в яких пул альфа-ендокриноцитів збільшується у 2 рази. При цьому питомий вміст глюкагону в підшлунковій залозі у гіпертензивних щурів лінії SHR зростає в 1,5 рази і в абсолютних значеннях сягає показників нормотензивних щурів лінії Wistar. При цьому реакція соматостатин-синтезуючого пулу ендокриноцитів на розвиток діабету характеризується істотним, на 80 %, збільшенням чисельності дельта-клітин і 8 - кратним зростанням питомого вмісту гормону в підшлунковій залозі у нормотензивних щурів лінії Wistar при відсутності статистично значущих змін у гіпертензивних щурів лінії SHR. Характерно, що питомий вміст антиапоптотичного білка Bcl2 в панкреатичних острівцях при діабеті зменшується тільки у нормотензивних щурів лінії Wistar (в 1,5 рази). У

той же час, розвиток діабету призводить до однакового зростання концентрації проапоптотичного білка p53 в ендокриноцитах і підвищення його питомого вмісту в підшлунковій залозі у нормо-і гіпертензивних щурів.

Наукова новизна. Уперше, на підставі комплексного кількісного імунофлюоресцентного аналізу серійних зрізів підшлункової залози, отримані нові дані про характер ендокринної організації панкреатичних острівців у спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR. Встановлено кількісні критерії розподілу у підшлунковій залозі панкреатичних острівців різної величини, описані кількісні параметри чисельності окремих видів ендокриноцитів, концентрації в них острівцевих гормонів і їх умісту в підшлунковій залозі.

Уперше встановлено, що у гіпертензивних щурів лінії SHR з нормоглікемією натще спостерігається зміна глікемічного профілю за діабетичним типом в тесті толерантності до глюкози, ремоделювання інсулярного апарату підшлункової залози зі зниженням кількості панкреатичних острівців у 2 рази і зменшенням чисельності бета-клітин у 8 разів у порівнянні з нормотензивними щурами лінії Wistar. При цьому гіпертензивні щури лінії SHR на відміну від нормотензивних щурів лінії Wistar характеризуються на 27 % вищою концентрацією інсуліну в крові з індексом НОМА, що перевищує 3,0.

Уперше встановлено, що у щурів лінії SHR панкреатичні острівці характеризуються 2-кратним збільшенням пулу альфа-ендокриноцитів і 2-кратним зростанням питомого вмісту глюкагону в підшлунковій залозі у порівнянні з нормотензивними щурами лінії Wistar. Показано, що чисельність дельта ендокриноцитів в підшлунковій залозі щурів лінії SHR на 18 % вища, ніж у нормотензивних щурів лінії Wistar, однак питомий вміст соматостатину становить тільки 73 % від величини даного показника у щурів лінії Wistar.

Уперше доведено, що в ендокриноцитах панкреатичних острівців щурів лінії SHR у 2 рази знижуються показники імунореактивності до антиапоптотичного білка Bcl2, а відносний вміст самого білка у 3 рази нижчий, ніж у щурів лінії Wistar. При цьому відносно показників експресії

проапоптотичного білка p53 в ендокриноцитах істотних відмінностей між нормо-і гіпертензивними щурами не спостерігається.

Уперше проведено вивчення реактивності ендокриноцитів підшлункової залози гіпертензивних щурів лінії SHR до дії бета-цитотоксичного антибіотика стрептозотоцину. При цьому встановлено, що розвиток стрептозотоцинового діабету у щурів лінії SHR призводить до підвищення концентрації глюкози в крові у 2,4 раза, виснаження пулу бета-ендокриноцитів, зниження синтезованого в підшлунковій залозі інсуліну на 30 % на тлі підвищення питомого вмісту глюкагону в 1,5 раза, зниження концентрації імунореактивного інсуліну в периферичній крові на 43 %. Подібні зміни супроводжуються зменшенням експресії антиапоптотичного білка Bcl2 і зростанням концентрації проапоптотичного білка p53 в ендокриноцитах.

Практичне значення. Робота є фундаментальним дослідженням. Її результати розширюють наукові уявлення про патогенетичні особливості ремоделювання ендокринного апарату підшлункової залози у гіпертензивних щурів лінії SHR. Кількісні методи оцінки чисельності популяції окремих видів ендокриноцитів, концентрації синтезованих ними інсуліну, глюкагону і соматостатину, оцінка ступеня експресії антиапоптотичних і проапоптотичних білків, відкривають можливості для прогнозування ендокринного резерву підшлункової залози в умовах функціональних навантажень і формування клінічної або експериментальної патології.

Нові теоретичні положення дисертації використовуються в навчальному процесі на кафедрі патологічної фізіології Буковінського державного медичного університету МОЗ України, кафедрі загальної та клінічної патофізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету МОЗ України, кафедрі патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету МОЗ України, кафедрі патологічної фізіології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України.

Ключові слова: артеріальна гіпертензія, експериментальний цукровий діабет, ендокринні панкреатичні островці, щури зі спадковою спонтанною гіпертензією.

ANNOTATION

Abramova T.V. Remodeling of the Endocrine Apparatus of the Pancreas in Normotensive and Hypertensive Rats with Experimental Diabetes Mellitus. – Qualification scientific work as the manuscript.

Thesis for a Candidate of Medical degree by specialty 14.03.04 “Pathological physiology”. – Zaporizhzhia State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2020.

Zaporizhzhia State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2020.

The dissertation presents a theoretical justification and an experimental solution to an actual scientific task, which is to establish mechanisms for the remodeling of the endocrine apparatus of pancreatic islets in normotensive Wistar rats and spontaneously hypertensive SHR rats. Also, the parameters of the reactivity of endocrinocytes in the course of experimental diabetes mellitus were studied.

The studies were performed on adult male SHR rats with systolic blood pressure at the time of the experiment 155.7 ± 0.9 mm Hg and fasting glycemia level 4.73 ± 0.10 mmol/L. The control group of animals was represented by adult male Wistar rats with systolic blood pressure at the time of the experiment 105.0 ± 1.1 mm Hg and fasting blood glucose level 3.94 ± 0.09 mmol/L. The insulin concentration in the blood of SHR rats was 27 % higher than that of Wistar rats, and was 10.99 ± 0.37 μ IU/ml. Moreover, the HOMA index in hypertensive rats reached 3.41 ± 0.21 vs 1.43 ± 0.08 in Wistar rats.

The sequential immunofluorescence staining of the serial sections of the pancreas with the detection of insulin, glucagon and somatostatin in endocrinocytes was a specific feature of the methodological approach to the study of pancreatic

endocrine apparatus structure. This approach made it possible to carry out pancreatic reconstruction, to classify and describe pancreatic islets of various types, to establish quantitative parameters of endocrinocytes various types distribution in the islets, their population density in the pancreas, and to obtain data on specific contents of insulin, glucagon and somatostatin in pancreatic islets and in the pancreas in the whole.

Based on a quantitative immunofluorescence study, it was shown that fasting SHR rats are characterized by fasting normoglycemia. Meanwhile, a change in the glycemic profile of a diabetic type was detected during the glucose tolerance test. The formation of arterial hypertension in SHR rats is accompanied by remodeling of the insular apparatus of the pancreas: the number of pancreatic islets is reduced by 2 times, the number of beta cells is reduced by 8 times, withal pancreatic islets with a cross-sectional area of less than $1500 \mu\text{m}^2$ prevail. Despite moderate hypertrophy of beta-endocrinocytes and an increase in insulin concentration in them, the insulin content in the pancreas in hypertensive animals is about 3 times less in comparison with normotensive Wistar rats. It was found that the pancreatic islets of hypertensive SHR rats are characterized by a 2-fold increase in the number of alpha-endocrinocytes and glucagon content in the pancreas compared to normotensive Wistar rats. At the same time, the number of delta-endocrinocytes is 18 % higher than the corresponding indicator of normotensive Wistar rats, however, the specific somatostatin content is only 73 % of the value of this indicator in Wistar rats. It was shown that in the endocrinocytes of pancreatic islets of hypertensive SHR rats, the area of immunoreactive to the anti-apoptotic protein Bcl2 material is reduced by 2 times, and its relative content in pancreatic islets becomes 3 times lower than in normotensive Wistar rats. Meanwhile, there were no significant differences between normotensive and hypertensive rats in the expression values of the proapoptotic p53 protein in endocrinocytes.

The scientific understanding of the reactivity and resistance of pancreatic endocrinocytes to a single injection of the beta-cytotoxic antibiotic streptozotocin, which causes the development of diabetes in rats, has been expanded. Modeling of

diabetes mellitus in experimental animals caused persistent hyperglycemia, which was more pronounced in normotensive Wistar rats (17.69 ± 1.11 mmol/L) than in hypertensive SHR rats (11.45 ± 0.89 mmol/L). The development of diabetes mellitus resulted in a 30 % reduction of immunoreactive insulin concentration in Wistar rats and a 43 % reduction in SHR rats.

It was found that the development of diabetes in hypertensive SHR rats strengthens the remodeling of the insular apparatus and leads to a 2-fold depletion of beta-endocrinocytes pool and a 30 % decrease in the insulin synthesized by them. It was found that the development of diabetes in SHR rats leads to a fourfold decrease in the population of alpha-cells, in contrast to normotensive Wistar rats, in which the pool of alpha-endocrinocytes increases by 2 times. In this case, the specific glucagon content in the pancreas in hypertensive SHR rats increases by 1.5 times and reaches the rate of normotensive Wistar rats in absolute values. The response of the somatostatin-synthesizing pool of endocrinocytes to the diabetes development is characterized by a significant, 80 % increase in the number of delta cells and an 8-fold increase in the specific hormone content in the pancreas in normotensive Wistar rats whereas statistically significant changes in hypertensive SHR rats were absent. The specific content of the anti-apoptotic protein Bcl2 in pancreatic islets decreases only in normotensive Wistar rats with experimental diabetes by 1.5 times. At the same time, the development of diabetes leads to a similar increase in the concentration of the pro-apoptotic p53 protein in endocrinocytes and an increase in its specific content in the pancreas in normotensive and hypertensive rats.

Scientific novelty. For the first time, the new data on the nature of the endocrine organization of pancreatic islets in spontaneously hypertensive SHR rats is obtained based on a comprehensive quantitative immunofluorescence analysis of the pancreas. Quantitative criteria for the distribution of pancreatic islets of various sizes in the pancreas are proposed. Quantitative parameters of the number of certain types of endocrinocytes (beta-, alpha- and delta-cells), the concentration of hormones in them and their content in the pancreas are described.

It was found for the first time that SHR rats with fasting normoglycemia, there is a change in the glycemic profile of the diabetic type in the glucose tolerance test and remodeling of the pancreatic insular apparatus with a 2-fold decrease in the number of pancreatic islets and an 8-fold decrease in the number of beta-cells in comparison with normotensive Wistar rats. Moreover, hypertensive SHR rats, in contrast to normotensive Wistar rats, are characterized by a 27 % higher blood insulin concentration and a HOMA index exceeding 3.0.

For the first time, it was found that pancreatic islets in SHR rats are characterized by a 2-fold increase in the alpha-endocrinocytes pool and a 2-fold increase in the specific glucagon content in the pancreas in comparison with normotensive Wistar rats. It was shown that the number of delta-endocrinocytes in the pancreas of SHR rats is 18 % higher than that of normotensive Wistar rats, however, the specific somatostatin content is only 73 % of the value of this indicator in Wistar rats.

It was proved that the immunoreactivity to the anti-apoptotic protein Bcl2 in the endocrinocytes of pancreatic islets of the SHR rats is 2 times lower, and the relative protein content is 3 times lower than that in the Wistar rats. Moreover, there were no significant differences between normotensive and hypertensive rats in relation to the expression values of the proapoptotic p53-protein in endocrinocytes.

For the first time, a study of the pancreatic endocrinocytes reactivity of hypertensive SHR rats to the action of the beta-cytotoxic antibiotic streptozotocin is done. It was found that the development of streptozotocin-induced diabetes in SHR rats leads to an increase in blood glucose concentration by 2.4 times, a depletion of the beta-endocrinocyte pool, reduction of insulin synthesizing in the pancreas by 30 % while glucagon specific content increase by 1.5 times, reduction the immunoreactive insulin concentration in peripheral blood by 43 %. Such changes are accompanied by a decrease in the expression of the antiapoptotic protein Bcl2 and an increase in the concentration of the proapoptotic p53 protein in pancreatic endocrinocytes.

Practical meaning. The work is a fundamental research. Its results expand the scientific understanding of the pathogenetic features of remodeling of the endocrine pancreatic apparatus in hypertensive SHR rats. Quantitative methods for assessing the population size of certain types of endocrinocytes; the concentration of insulin, glucagon and somatostatin synthesized by them; the evaluation of expression degree of antiapoptotic Bcl2 and proapoptotic p53 proteins – all that open up the possibility to estimate the pancreatic endocrine reserve under functional loads and the development of clinical or experimental pathology.

New theoretical positions of the thesis are used in the educational process at Department of Pathophysiology of the Bukovinskiy State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Department of General and Clinical Pathophysiology named after V.V. Podvysotsky Odesa National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Department of Pathological Physiology of the Zaporizhzhia State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, the Department of Pathophysiology of the Bogomoletz' National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine.

Key words: *arterial hypertension, experimental diabetes mellitus, endocrine pancreas, spontaneously hypertensive rats.*

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ НА ТЕМУ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Gancheva O.V., Kolesnik Yu.M., Abramova T.V., Samoylenko N.Yu., Abramov A.V. Metabolic disturbances in hypertensive SHR rats. *Clinical Pharmacy (Клінічна фармація)*. 2013. Т. 17, №4. С. 56-58. (Дисертант виконав набір матеріалу, біохімічні дослідження та статистичну обробку результатів).
2. Ivanenko T.V., Abramova T.V., Kuzo N.V., Tyshchenko S.V. Current methods of studying of the proliferative activity in experiment. *Патологія*. 2014. Т. 11, №1 (30). С. 4-7. (Дисертант виконав набір та аналіз літературного матеріалу).
3. Abramova T.V. The distribution of the islets of Langerhans in pancreas of euglycemic spontaneously hypertensive rats. *Патологія*. 2016. Т. 13, №1 (36). – С. 19–21. DOI: 10.14739/2310-1237.2016.1.72359 (Дисертант виконав набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів).
4. Abramova T.V., Kolesnyk Yu.M. The features of beta-cells organization in the pancreas of spontaneously hypertensive rat (SHR). *Патологія*. 2016. Т. 13, №3 (38). С. 4–8. DOI: 10.14739/2310-1237.2016.3.86931 (Дисертант виконав набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів).
5. Іваненко Т.В., Колесник Ю.М., Абрамова Т.В. Аналіз ендокринного статусу та рівня експресії білків апоптозу і проліферації в панкреатичних острівцях щурів з експериментальним цукровим діабетом після закінчення переривчастих гіпоксичних тренувань. *Патологія, реабілітація, адаптація (Pathology, rehabilitation, adaptation)*. 2017. Т. 15, №2.- С. 87-93 (Дисертант виконав набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів).
6. Абрамова Т.В., Колесник Ю.М. Особенности организации популяции альфа-клеток в поджелудочной железе у крыс со спонтанной гипертензией (SHR). *Патологія*. 2017. Т. 14, №2 (40). С. 124–128. DOI:

10.14739/2310-1237.2017.2.109249 (*Дисертант виконав набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів*).

7. Абрамова Т.В., Колесник Ю.М., Иваненко Т.В. Функциональное состояние β -клеток поджелудочной железы у крыс со спонтанной гипертензией (SHR) при экспериментальном диабете. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2017. Т. 17, вип. 4 (60), ч. 2. С. 9-12. (*Дисертант виконав моделювання діабету, набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів*).

8. Абрамова Т.В., Колесник Ю.М., Иваненко Т.В. Количественные изменения популяции эндокриноцитов поджелудочной железы у крыс линии SHR на фоне развития стрептозотоцин-индуцированного диабета. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2018. Т. 17, № 4 (66). С. 8-14. DOI: 10.24061/1727-4338XVE466.2018.181 (*Дисертант виконав моделювання діабету, набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів*).

9. Abramova T.V., Ivanenko T.V., Melnikova O.V. Features of Bcl2 and p53 proteins synthesis in pancreatic islets of normotensive and hypertensive rats with streptozotocin-induced diabetes. *Патологія*. 2019. Т. 16, №3 (47). С. 350-354. DOI: 10.14739/2310-1237.2019.3.188846 (*Дисертант виконав моделювання діабету, набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів*).

10. Колесник Ю.М., Абрамова Т.В., Самойленко Н.Ю., Тіщенко С.В. Спадкова залежність формування метаболічних порушень у щурів лінії SHR на тлі артеріальної гіпертензії. *Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів: матеріали VI науково-практична конф. (Тернопіль, ТДМУ.- 31 жовтня – 1 листопада 2013 р.)*. Здобутки клінічної та експериментальної медицини. 2013. №2 (19). С. 251-252. (*Дисертант виконав*

набір матеріалу, біохімічні дослідження та статистичну обробку результатів).

11. Абрамова Т.В., Колесник Ю.М., Иваненко Т.В., Ганчева О.В. Морфофункціональне состояние інсулярного апарату при спонтанній гіпертензії у крыс. *Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології*: матеріали науково-практичної конференції 14-ті Данилевські читання (Харків, 2-3 березня 2015). Харків, 2015. С. 21. *(Дисертант виконав набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів).*

12. Колесник Ю.М., Абрамова Т.В. Организация інсулярного апарату панкреатических островков у крыс гіпертензивных крыс линии SHR. *Актуальні проблеми сучасної патоморфології та патофізіології*: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 50-річчю кафедри патологічної анатомії та кафедри патофізіології ЗДМУ (Запоріжжя, 28-29 травня 2015). *Патологія*. 2015. Т. 1 (додаток). С. 55-56. *(Дисертант виконав набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів).*

13. Абрамова Т.В. Особливості структури панкреатичних острівців за умов спадкової артеріальної гіпертензії у щурів лінії SHR. *Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм*: матеріали VIII науково-практичної конференції (Тернопіль, 1-2 жовтня 2015 р.). Тернопіль: ТДМА, 2015. С. 3. *(Дисертант виконав набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів).*

14. Колесник Ю.М., Абрамова Т.В., Грекова Т.А. Особенности организации панкреатических островков у гипертензивных крыс линии SHR. *Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції*: матеріали VII Національного з'їзду патофізіологів України (Харків 5-7 жовтня 2016 р.). Харків, 2016. С. 106. *(Дисертант виконав набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів).*

15. Колесник Ю.М., Абрамова Т.В., Іваненко Т.В., Ковальов М.М. Характеристика популяції бета-клітин у підшункової залозі щурів лінії SHR за умов розвитку стрептозотоцинового діабету. *Фізіологія і патологія нейроімуноендокринної регуляції: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 105-річчю від дня народження професора Я.Д. Кіршенבלата (Чернівці, 5-6 жовтня 2017 р.). Клінічна та експериментальна патологія*. Т. 16, № 3 (61), ч. 2. С. 53. *(Дисертант виконав моделювання діабету, набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів)*.

16. Колесник Ю.М., Абрамова Т.В., Іваненко Т.В., Абрамов А.В. Порівняльна характеристика популяції ендокриноцитів підшункової залози у щурів лінії Wistar і SHR зі стрептозотин-індукованим діабетом. *Інтегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики: матеріали VII Пленуму Українського наукового товариства патофізіологів та науково-практичної конференції, присвячених 110-річчю з дня народження члена-кореспондента АМН СРСР, професора М.Н. Зайка (Полтава, 11-12 жовтня 2018 р.). Полтава, 2018. С. 44-45. (Дисертант виконав моделювання діабету, набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів)*.

17. Колесник Ю.М., Абрамова Т.В., Іваненко Т.В., Абрамов А.В., Жулинський В.О. Особливості організації популяції ендокриноцитів підшункової залози у щурів лінії SHR та їх реакція на розвиток стрептозотин-індукованого діабету: матеріали XX-го з'їзду Українського фізіологічного товариства ім. П.Г. Костюка з міжнародною участю, присвяченого 95-річчю від дня народження академіка П.Г. Костюка (Київ, 28-30 травня 2019 р.). *Фізіол. журн.* 2019. Т.65, №3 (додаток). С. 22-23. *(Дисертант виконав моделювання діабету, набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів)*.

18. Абрамова Т.В., Іваненко Т.В., Мельникова О.В. Експресія білків апоптозу в ендокриноцитах підшлункової залози у щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом за умов нормального та підвищеного артеріального тиску. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: матеріали II Науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю (Харків, 21 листопада 2019 р.). Харків: НФУ, 2019. С. 56-57. (Дисертант виконав моделювання діабету, набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів).*

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, символів, скорочень і термінів	20
Вступ.....	21
Розділ 1 Сучасні уявлення про організацію ендокринного апарату підшлункової залози в нормі і при експериментальної і клінічної патології (огляд літератури)	28
1.1 Панкреатичні островці як ендокринний орган і його участь в метаболізмі.....	28
1.2 Функціональний стан панкреатичних островців при порушенні толерантності до глюкози, гіперглікемії і метаболічних порушеннях.....	35
1.3 Молекулярні маркери функціонального стану ендокриноцитів панкреатичних островців.....	41
1.4 Патогенетичні паралелі між артеріальною гіпертензією і цукровим діабетом.....	44
Розділ 2 Матеріал та методи дослідження.....	51
2.1 Експериментальні тварини.....	51
2.2 Визначення фізіологічних і біохімічних параметрів у експериментальних тварин.....	53
2.3 Моделювання цукрового діабету.....	53
2.4 Підготовка підшлункової залози для імунофлюоресцентного дослідження.....	55
2.5 Техніка постановки імунофлюоресцентної реакції.....	56
2.6 Кількісний аналіз імунофлюоресцентної реакції.....	59
2.7 Методи статистичного аналізу.....	61
Розділ 3 Структурно-функціональне ремоделювання панкреатичних островців у щурів лінії SHR зі спонтанною гіпертензією.....	62
3.1 Гормонально-метаболічні показники у щурів лінії SHR зі спонтанною гіпертензією.....	62

3.2 Особливості організації популяції бета-клітин в підшлунковій залозі у щурів лінії SHR зі спонтанною гіпертензією.....	64
3.3 Особливості організації популяції альфа-клітин в підшлунковій залозі у щурів лінії SHR зі спонтанною гіпертензією.....	70
3.4 Особливості організації популяції дельта клітин в підшлунковій залозі у щурів лінії SHR зі спонтанною гіпертензією.....	77
3.5 Особливості синтезу білків Bcl2 і p53 у панкреатичних острівцях нормотензивних і гіпертензивних щурів.....	81
Розділ 4 Реактивні зміни структурно-функціонального стану панкреатичних острівців у щурів лінії SHR зі спонтанною гіпертензією після одноразового введення стрептозотоцину.....	88
4.1 Гормонально-метаболічні показники у щурів лінії SHR зі спонтанною гіпертензією після введення стрептозотоцину....	88
4.2 Особливості організації популяції бета-клітин в підшлунковій залозі у щурів лінії SHR зі спонтанною гіпертензією після введення стрептозотоцину.....	91
4.3 Особливості організації популяції альфа-клітин в підшлунковій залозі у щурів лінії SHR зі спонтанною гіпертензією після введення стрептозотоцину.....	96
4.4 Особливості організації популяції дельта клітин в підшлунковій залозі у щурів лінії SHR зі спонтанною гіпертензією після введення стрептозотоцину.....	104
4.5 Особливості синтезу білків Bcl2 і p53 у панкреатичних острівцях нормотензивних і гіпертензивних щурів після введення стрептозотоцину.....	106
Розділ 5 Аналіз та узагальнення результатів дослідження.....	113

Висновки.....	127
Список використаних джерел.....	129
Додатки	157
Додаток А Акти впровадження.....	157
Додаток Б Список опублікованих автором праць на тему дисертації	161
Додаток В Відомості про апробацію результатів дисертації.....	166

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ,
СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ**

ВООЗ	–	всесвітня організація охорони здоров'я
МОЗ	–	міністерство охорони здоров'я України
O _{1ф}	–	умовна одиниця вимірювання інтенсивності імунофлюоресценції
ПО	–	панкреатичні острівці
ЦД	–	стрептозотоцин-індукований цукровий діабет
Bcl2	–	антиапоптотичний білок з сімейства Bcl-2
НОМА-IR	–	індекс інсулінорезистентності
p53	–	проапоптотичний білок, продукт активності гена TP53

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. У світі артеріальна гіпертензія діагностовано у більш ніж 970 мільйонів чоловік, а до 2025 року прогнозується зростання числа хворих до 1,56 мільярда чоловік [1]. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я відсоток світового населення, у яких зареєстровані цифри, що перевищують 140 мм рт. ст. для систолічного і / або 90 мм рт. ст. для діастолічного артеріального тиску, виріс з 15 % в 1975 році до 35 % в 2015 році [1]. Гіпертонічна хвороба «молодіє», і через її ускладнень щорічно помирає понад 17 мільйонів чоловік у віці до 60 років [1-4]. За даними офіційної статистики МОЗ в Україні приблизно 32 % дорослого населення країни страждає на гіпертонічну хворобу. Більш того, за останній час спостерігається стійке зростання поширеності гіпертонічної хвороби більш ніж в два рази в порівнянні з 1998 роком і на 170 % у порівнянні з 2000 роком [5-6].

За даними міжнародної федерації діабету [7] та Всесвітньої організації охорони здоров'я [8] в світі налічується близько чотирьохсот мільйонів хворих на цукровий діабет. За останні 10 років він став причиною смерті більшої кількості людей, ніж за всі роки воєн разом узятих [9]. У період з 1980 по 2014 роки чисельність хворих на цукровий діабет у світі збільшилася з 4,7 % до 8,6 % населення [10-11]. До теперішнього часу чисельність хворих на гіпертонічну хворобу та цукровий діабет в Україні не набагато відрізняються від середніх світових показників. Однак, незважаючи на те що для гіпертонічної хвороби та цукрового діабету характерні різні етіологія і патогенез, для обох нозологій характерна коморбідна патогенність, найбільш яскраво проявляється у пацієнтів з метаболічним синдромом [6, 11-14].

Відомо, що тривалий перебіг гіпертонічної хвороби призводить до хронічного порушення центрального і периферичного кровообігу, що

призводить до порушення мікроциркуляції в різних органах. Не виключено, що підшлункова залоза, включаючи її ендокринні панкреатичні острівці, може бути ще одним органом мішенню ураження при гіпертонічній хворобі. Панкреатичні бета-клітини відповідальні за продукцію за все інсуліну, необхідного організму для підтримки гомеостазу глюкози, і порушення кровообігу в підшлунковій залозі при артеріальній гіпертензії може негативно впливати на механізми регенерації бета-клітин [4, 15-16], на кількість и інсуліну, який ними секретується, і, таким чином, сприяти порушенню метаболізму глюкози в організмі і розвитку діабету.

Показано, що артеріальна гіпертензія більш ніж в 3 рази частіше зустрічається у хворих на цукровий діабет в порівнянні з недіабетичними пацієнтами [17-18]. Наявність у хворого артеріальної гіпертензії та цукрового діабету відразу переводить його в групу високого і дуже високого ризику серцево-судинних ускладнень [2]. Якщо зіставити офіційну медичну статистику, то можна помітити той факт, що для обох нозологічних форм захворюваність серед населення в Україні відрізняється в 4,5 раза (32 % для гіпертонічної хвороби і 7,1 % для цукрового діабету), а смертність від цих захворювань різниться всього лише на 30 % (0,55 % для гіпертонічної хвороби і 0,38 % для цукрового діабету) [19-20]. Цей факт підкреслює коморбідність патогенність поєднання гіпертонічної хвороби та цукрового діабету і закономірно ставить питання про можливість формування дисфункції панкреатичних острівців при артеріальній гіпертензії.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету МОЗ України «Закономірності формування метаболічних порушень, нейроендокринного та вегетативного дисбалансів в патогенезі експериментальної артеріальної гіпертензії різного генезу», 2014-2016 рр. (№ державної реєстрації 0114U000966), «Роль пептидергічних структур гіпоталамусу та стовбуру мозку в патогенезі артеріальної гіпертензії», 2017–2019 рр. (№ державної

реєстрації 0117U0002579), та науково-дослідної роботи Навчального медико-лабораторного центру Запорізького державного медичного університету МОЗ України «Механізми реакції органів з різним регенераторним потенціалом на ушкодження», 2016-2019 рр. (№ держреєстрації 0116U005352).

Мета дослідження: Встановити морфофункціональні особливості ремоделювання ендокриноцитів панкреатичних острівців у нормотензивних щурів лінії Wistar та спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR при розвитку експериментального цукрового діабету.

Завдання дослідження:

1. Вивчити функціональний стан інсулін-, глюкагон- і соматостатін-синтезуючих ендокриноцитів в у щурів лінії Wistar в нормі.

2. Вивчити функціональний стан інсулін-, глюкагон- і соматостатін-синтезуючих ендокриноцитів в у щурів лінії SHR з сформованою артеріальною гіпертензією.

3. Вивчити показники синтезу білкових регуляторів апоптозу Bcl2 і p53 у панкреатичних острівцях у щурів лінії Wistar та гіпертензивних щурів лінії SHR в нормі.

4. Вивчити вплив стрептозотоцин-індукованого цукрового діабету на функціональний стан ендокриноцитів в підшлунковій залозі, а також показники синтезу білкових регуляторів апоптозу Bcl2 і p53 у нормотензивних щурів лінії Wistar та гіпертензивних щурів лінії SHR.

5. Встановити закономірності зміни морфофункціонального стану ендокриноцитів панкреатичних острівців при формуванні артеріальної гіпертензії та розвитку стрептозотоцин-індукованого діабету в експерименті.

Об'єкт дослідження: механізми ремоделювання панкреатичних острівців за умов розвитку артеріальної гіпертензії у щурів лінії SHR та за умов розвитку експериментального цукрового діабету.

Предмет дослідження: функціональний стан альфа-, бета-, дельта ендокриноцитів підшлункової залози, рівень експресії білків Bcl2 і p53 у нормотензивних щурів лінії Wistar та гіпертензивних щурів лінії SHR та на

фоні розвитку експериментального цукрового діабету.

Методи дослідження: патофізіологічні, біохімічні, морфометричні, денситометричні, імунофлюоресцентні, статистичний аналіз результатів.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше, на підставі комплексного кількісного імунофлюоресцентного аналізу серійних зрізів підшлункової залози, отримані нові дані про характер ендокринної організації панкреатичних острівців у спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR. Встановлено кількісні критерії розподілу в підшлунковій залозі панкреатичних острівців різної величини, описані кількісні параметри чисельності окремих видів ендокриноцитів, концентрації в них острівцевих гормонів і їх вмісту в підшлунковій залозі.

Вперше встановлено, що у гіпертензивних щурів лінії SHR з нормоглікемією натщесерце спостерігається зміна глікемічного профілю за діабетичним типом в тесті толерантності до глюкози, ремоделювання інсулярного апарату підшлункової залози зі зниженням кількості панкреатичних острівців в 2 рази і зменшенням чисельності бета-клітин в 8 разів у порівнянні з нормотензивними щурами лінії Wistar. При цьому гіпертензивні щури лінії SHR на відміну від нормотензивних щурів лінії Wistar характеризуються на 27 % вищою концентрацією інсуліну в крові із індексом НОМА, що перевищує 3,0.

Вперше встановлено, що у щурів лінії SHR панкреатичні острівці характеризуються 2-кратним збільшенням пулу альфа-ендокриноцитів і 2-кратним зростанням питомого вмісту глюкагону в підшлунковій залозі у порівнянні з нормотензивними щурами лінії Wistar. Показано, що чисельність дельта ендокриноцитів в підшлунковій залозі щурів лінії SHR на 18 % вища, ніж у нормотензивних щурів лінії Wistar, однак питомий вміст соматостатину становить тільки 73 % від величини даного показника у щурів лінії Wistar.

Вперше доведено, що в ендокриноцитах панкреатичних острівців щурів лінії SHR у 2 рази знижуються показники імунореактивності до антиапоптотичного білку Bcl2, а відносний вміст самого білка у 3 рази

нижчий, ніж у щурів лінії Wistar. При цьому відносно показників експресії проапоптотичного білка p53 в ендокриноцити істотних відмінностей між нормо-і гіпертензивними щурами не спостерігається.

Вперше проведено вивчення реактивності ендокриноцитів підшлункової залози гіпертензивних щурів лінії SHR до дії бета-цитотоксичного антибіотика стрептозотоцина. При цьому встановлено, що розвиток стрептозотоцинового діабету у щурів лінії SHR призводить до підвищення концентрації глюкози в крові у 2,4 раза, виснаження пулу бета-ендокриноцитів, зниження синтезованого в підшлунковій залозі інсуліну на 30 % на тлі підвищення питомого вмісту глюкагону в 1,5 раза, зниженню концентрації імунореактивного інсуліну в периферичній крові на 43 %. Подібні зміни супроводжуються зменшенням експресії антиапоптотичного білка Bcl2 і зростанням концентрації проапоптотичного білка p53 в ендокриноцитах.

Практичне значення одержаних результатів. Робота є фундаментальним дослідженням. Її результати розширюють наукові уявлення про патогенетичні особливості ремоделювання ендокринного апарату підшлункової залози у гіпертензивних щурів лінії SHR. Кількісні методи оцінки чисельності популяції окремих видів ендокриноцитів, концентрації синтезованих ними інсуліну, глюкагону і соматостатину, оцінка ступеня експресії антиапоптотичних і проапоптотичних білків, відкривають можливості прогнозування ендокринного резерву підшлункової залози в умовах функціональних навантажень і формування клінічної або експериментальної патології.

Нові теоретичні положення дисертації використовуються в навчальному процесі на кафедрі патологічної фізіології Буковінського державного медичного університету МОЗ України, кафедрі загальної та клінічної патофізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету МОЗ України, кафедрі патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету МОЗ України, кафедрі

патологічної фізіології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України.

Особистий внесок дисертанта. Дисертаційна робота є самостійно виконаним дослідженням автора, науковим керівником визначені тема і складена програма дослідження. Дисертант особисто виконав патентно-інформаційний пошук і аналіз літератури, а також патофізіологічні, біохімічні, морфометричні, денситометричні, імунофлюоресцентні дослідження матеріалу; провів статистичний аналіз отриманих даних, систематизував та інтерпретував отримані результати; написав всі розділи дисертації; сформулював висновки.

Апробація результатів дисертації відбулась на засіданні кафедр патологічної фізіології, нормальної фізіології, анатомії людини, патологічної анатомії і судової медицини, лабораторної діагностики, мікробіології, вірусології та імунології, фармакології та медичної рецептури Запорізького державного медичного університету МОЗ України 02.06.2020 р.

Основні положення роботи були представлені та обговорені на: VI науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів» (Тернопіль, 2013); науково-практичній конференції «Сучасні проблеми біологічної хімії» (Харків, 2013); науково-практичній конференції «Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології (14-ті Данилевські читання)» (Харків, 2015); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні проблеми сучасної патоморфології та патофізіології» (Запоріжжя, 2015); VIII науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, 2015); VII Національному з'їзді патофізіологів України «Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції» (Харків, 2016); науковій конференції, присвяченій 120-річчю від дня народження та 40-річчю від дня смерті акад. М.М. Сиротиніна (Київ, 2017); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 105-річчю від дня народження професора Я.Д. Кіршенבלата

«Фізіологія і патологія нейроімуноендокринної регуляції» (Чернівці, 2017); Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я» (Полтава, 2017); VII Пленумі Українського наукового товариства патофізіологів та науково-практичній конференції, присвяченій 110-річчю з дня народження члена-кореспондента АМН СРСР, професора М.Н. Зайка «Інтегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики» (Полтава, 2018); XX з'їзді Українського фізіологічного товариства ім. П.Г. Костюка з міжнародною участю, присвяченого 95-річчю від дня народження академіка П.Г. Костюка (Київ, 2019); II науково-практичній internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (Харків, 2019).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 18 наукових праць: 9 статей у наукових фахових виданнях України, серед яких 5 статей у журналах, які індексуються міжнародними наукометричними базами; та 9 тез в матеріалах міжнародних і Всеукраїнських науково-практичних конференцій.

Структура то обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 167 сторінках машинопису і складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 2 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел, додатків. Робота ілюстрована 33 рисунками та 23 таблицями. Список літератури містить 265 джерел (49 кирилицею та 216 латиницею).

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО ОРГАНІЗАЦІЮ ЕНДОКРИННОГО АПАРАТУ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ В НОРМІ І ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ТА КЛІНІЧНІЙ ПАТОЛОГІЇ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Панкреатичні острівці як ендокринний орган і його участь в метаболізмі

Панкреатичні острівці або острівці Лангерганса, вперше були описані Paul Langerhans в 1869 році як острівці змішаних популяцій ендокринних клітин, розкидані в паренхімі підшлункової залози. Панкреатичні острівці залучили інтерес дослідників з-за гормонів, що виробляються і виділяються ендокринними клітинами, і які беруть участь в регуляції гомеостазу глюкози. Відкриття Frederick Banting і Charles Best в 1921 році інсуліну, демонстрація його здатності знижувати рівень глюкози в крові у собак, і подальша розробка інсуліну як препарату для клінічного застосування у співпраці з John Macleod і James Collip, привели до присудження Banting і Macleod в 1923 році Нобелівської премії в області фізіології і медицини. З тих пір фізіологія бета-клітин і їх роль в патогенезі цукрового діабету 1-го і 2-го типу стали предметом інтенсивного вивчення [21].

Відповідно до сучасних уявлень, панкреатичний острівець є функціонально високоорганізованим мікро-органом з певними розмірами і структурою, міжклітинними взаємодіями, аутокринним, паракринним, нервовим і гормональним регулюванням [22-25]. Панкреатичні острівці оточені сполучною тканиною, волокна якої поширюються з міждольчастих перетинок екзокринної частини, дифузно розподілені в екзокринній паренхімі підшлункової залози і складають 1,5–2 % її загального об'єму [26].

Клітинний склад і архітектура острівців підшлункової залози розрізняються у різних видів тварин [27-28]. За оцінками ряду дослідників, загальна кількість острівців у підшлунковій залозі людини становить від 3,2

до 14,8 мільйонів, а загальний об'єм островців - від 0,5 до 2,0 см³ [29-30]. Встановлено, що у людей приблизно 60 % ендокриноцитів панкреатичних островців становлять бета-клітини, які синтезують інсулін, до 30 % клітин складають альфа-клітини, які синтезують глюкагон, а решта 10 % клітинного складу припадає на дельта-клітини, які синтезують соматостатин, РР-клітини, які синтезують панкреатичний поліпептид, і епсилон-клітини, які синтезують грелін [23, 29, 31-33]. При цьому в островцях ендокриноцити різних типів розподілені здебільшого хаотично. На відміну від людей, у гризунів (миші, щури) панкреатичні островці мають іншу архітектуру з центральним ядерним пулом бета-клітин чисельністю до 80 % від загальної маси ендокриноцитів, оточеним іншими типами ендокринних клітин [28, 34-35]. Проте, основним типом островцевих ендокриноцитів є бета-клітини [36-37]. Крім різноманітних ендокриноцитів, кожен острівець містить і неендокринні клітини, які представлені ендотелієм (до 10 %), нечисленними фібробластами, пов'язаними з капсулою, мікрокапілярами островця, дендритними клітинами, а також 3-10 резидентними макрофагами, які можуть грати первинну роль в опосередкуванні і ініціації деструкції бета-клітин при розвитку аутоімунного цукрового діабету [38-40].

Формування панкреатичних островців в ембріогенезі залежить від впливу багатьох чинників, починаючи від зовнішніх сигналів, таких як стан харчування материнського організму, так і нейрогенного контролю з боку центральної нервової системи плода [41-42]. На дорослих мишах було показано, що втрата до 90 % маси бета-клітин призводить до активації їх поділу в залозі [42-44]. При цьому, відновлення пулу бета-клітин може відбуватися за допомогою трансдиференціювання інших островцевих клітин, зокрема альфа-клітин [45] і дельта-клітин [46].

Кровопостачання панкреатичних островців відбувається за рахунок комплексної системи фенестрованих капілярів [47]. Кожен з островців васкуляризується 1-3 артеріями і 1-6 венами. Біфуркації аферентних судин починаються в периферійній зоні островця, що складається з альфа- і дельта-

клітин, потім заглиблюються в центр острівця, сформований бета-клітинами, утворюючи синусоїдальну капілярну мережу [48]. Особливості мікроциркуляції острівця особливо важливі для індукції експресії гена інсуліну в період морфогенезу підшлункової залози [49-50], так само, як і для проведення секреторних сигналів між острівцевими клітинами [51]. При вивченні кровопостачання панкреатичних острівців щурів була встановлена чітка послідовність перфузії ендокриноцитів в острівці: спочатку бета-клітини, як первинний сенсор концентрації глюкози, що реагує секрецією інсуліну, потім альфа-клітини, активність яких схильна до інгібуючого впливу на інсулін, і, в останню чергу, дельта-клітини, які реагують секрецією соматостатина на надлишок як інсуліну, так і глюкагону [52].

Закономірності ендокринної регуляції в межах панкреатичного острівця за допомогою мікросудин досі досконально не вивчені, але пропонується кілька теорій, які описують внутріострівцеві регуляторні процеси [51]. Центральною концепцією першої з них є вплив секреторних продуктів не-бета-клітин на секрецію інсуліну бета-клітинами, в той час як інсулін не впливає на секрецію інших острівцевих гормонів. Прототип острівця цієї моделі має певну цитоархітекtonіку з розташування не-бета-клітин по периферії острівця і центральною локалізацією бета-ендокриноцитів, які формують ядро острівця, що характерно для панкреатичних острівців щурів, мишей і кролей. Аферентні артеріоли досягають периферії острівця, діляться на більш дрібні судини, і першими кровозабезпечуються не-бета-клітинні регіони, а після доставляють кров до розташованих в глибині бета-ендокриноцитам.

Абсолютно протилежно описує мікроциркуляцію в острівцях друга модель, згідно з якою артеріоли в кількості 1-3 пенетрирують кожен острівець, кровозабезпечуючі спочатку його ядро, що складається з бета-клітин, поширюючись на периферію, і виділений в циркуляцію інсулін впливає на секреторну активність не-бета-клітин [51, 53-54].

Відповідно до третьої моделі, артеріоли, що живлять острівець, підходять тільки з одного боку і відразу ж діляться на капіляри, які

перфузують всі типи ендокринних клітин, які отримують кров, незалежно від типу. При цьому існують два типи «ворот», які контролюють кровопостачання острівця. Зовнішніми «воротами» на рівні дистальної артеріоли регулюється приплив крові до всього острівця. Внутрішніми «воротами» на рівні проксимальних артеріол є ендотелій судин, який здатний змінювати обсяг капілярів, звужуючи їх. При цьому, послідовність перфузії ендокринних клітин не постійна і контролюється внутрішніми «воротами», які відкриваються або закриваються, регулюючи приплив крові до областей острівця, які мають загальний аферентну судину і складаються з одного типу ендокриноцитів [54]. Звідси, при збільшенні концентрації глюкози в крові «ворота», які контролюють приплив крові до бета-клітин, відкриваються, і реакція бета-ендокриноцитів полягає в секреції інсуліну в мікроциркуляцію. У той же час, «ворота», що регулюють перфузію альфа-клітин, повинні бути закриті. При гіпоглікемії працює зворотний принцип перфузії. На відміну від перших двох моделей, при даній моделі взаємодія між ендокринними клітинами як одного, так і різних типів, можлива в будь-яких комбінаціях, доповнюючи паракринні ефекти острівцевих клітин. Така модель більш характерна для панкреатичних острівців людини з притаманним їм дифузним розташуванням різного типу ендокриноцитів [31, 51]. Венозний дренаж однаковий для описаних трьох моделей і здійснюється в інсуло-ацинарну портальну систему [51, 54].

Поряд з капілярами в острівцях виявляються нервові волокна вегетативної нервової системи, які досягають острівця разом з кровоносними судинами. Виділяють три типи нервових волокон - симпатичні, парасимпатичні і сенсорні, - які іннервують підшлункову залозу, а також астрогліальну клітинну популяцію, яка інкапсульована в панкреатичні острівці [55]. Симпатичні і парасимпатичні нервові волокна беруть участь в підтримці гомеостазу глюкози крові відповідно до енергетичних потреб організму [41]. Парасимпатичні нейрони, які є похідними блукаючого нерву або внутріпанкреатичних гангліонарних нейроцитів, і містять

нейротрансмітери, які симулюють секрецію інсуліну [22, 56-57]. Експериментально показано, що двостороння стовбутова ваготомія у експериментальних тварин призводить до пригнічення процесів синтезу і секреції інсуліну [58]. На периферії панкреатичні острівці іннервовані мережею чутливих нервових терміналій, що містять сенсорні нейропептиди, вплив яких на секрецію інсуліну імовірно є інгібуючий [22, 55].

У бета-клітинах інсулін міститься в секреторних гранулах у концентрації близько 100 ммоль [59] в комплексі з іонами цинку, і секретується з бета-клітин у відповідь на високі концентрації глюкози і інших поживних речовин в крові [59], а також у відповідь на дію нейротрансмітерів, які вивільняються при споживанні їжі [60]. У свою чергу, секреція інсуліну пригнічується соматостатином [61], адреналіном [62-63], галаніном [64], греліном [65], лептином [66] і іонами цинку [67-68]. Цікаво, що у людей після часткової панкреатектомії відзначається підвищення функції бета-клітин [69], яке не супроводжується регенерацією їх пулу [70]. Крім того, у тій же групі пацієнтів, у яких раніше спостерігалось післяопераційне підвищення рівня глюкози натще і постпрандіальна гіперглікемія [71], обидва параметри поліпшувалися приблизно через 3 роки після панкреатектомії за рахунок підвищення бета-клітинної функції [69]. Компенсаторне збільшення функції бета-клітин і посилення секреторної відповіді спостерігалось у огрядних людей у порівнянні з худими [72]. Є докази того, що регенерація бета-клітин може відбуватися в підшлунковій залозі у осіб, які страждають на ожиріння [16].

Відомі ефекти інсуліну на метаболізм не зводиться тільки до зниження вмісту глюкози в крові, а є життєво необхідним гормоном для регуляції багатьох клітинних функцій, зокрема, інсулін бере участь у метаболізмі нуклеїнових кислот, регулює процеси транскрипції і трансляції, що забезпечує синтез внутрішньоклітинних білків [73]. Інсулін регулює метаболізм ліпідів особливо в постпрандіальному періоді. Інсулін, що секретується під час всмоктування продуктів перетравлення їжі та надходження до кровотоку, пригнічує в адипоцитах гормон-чутливу ліпазу, яка гідролізує тригліцериди жирової тканини

на гліцерин і жирні кислоти [74]. Одночасно інсулін безпосередньо пригнічує синтез ліпопротеїнів дуже низької щільності в печінці [75].

Як уже згадувалося вище, альфа-клітини панкреатичних острівців становлять другу за чисельністю (15-20 %) популяцію ендокриноцитів підшлункової залози [23, 76-77]. Глюкагон, що синтезується в альфа-клітинах, грає важливу роль в регуляції гомеостазу глюкози, активуючи в печінці глюконеогенез і підвищуючи тим самим рівень глікемії. Більш ніж 40 років тому Unger і Orci [78], запропонувавши бігормональну гіпотезу патогенезу цукрового діабету, розглядали інсулін і глюкагон як ключові і рівнозначні регулятори гомеостазу глюкози. Відзначено, що при цукровому діабеті 2 типу для альфа-клітин характерна підвищена секреція глюкагону, а також полегшення секреції глюкагону у відповідь на високі концентрації амінокислот в крові і неефективне придушення секреції глюкагону при гіперглікемії [79-80]. На підставі ряду проведених досліджень було висловлено припущення, що гіперглюкагокемія при діабеті 2 типу може бути результатом втрати внутрішнього механізму регуляції функції альфа-клітин з боку глюкози і амінокислот [79, 81], а також зовнішньої регуляції з боку інсуліну і катіонів цинку [68, 82-83]. Однак, рядом дослідників втрата чутливості до живильних речовин, інсуліну та цинку, як механізми гіперглюкокемії при діабеті, оскаржуються [17, 84-86]. Як регулятори секреції глюкагону альфа-клітинами також розглядаються гормони кишечника - глюкагон-подібний пептид-1 (GLP-1) і шлунковий інгібуючий поліпептид (GIP) [87-89]. Соматостатин, що секретується дельта-клітинами підшлункової залози, також пригнічує секрецію глюкагону [90-91]. При цьому було показано, що свій інгібуючий ефект на альфа-клітини соматостатин може надавати завдяки своїй стимуляції секреції GLP-1 [89].

Надаючи високе значення ролі глюкагон-синтезуючим альфа-клітинам у регуляції гомеостазу глюкози, в даний час все більше дослідників схиляються до глюкагоноцентричної теорії патогенезу діабету, визначаючи глюкагон-супресивну терапію як головне стратегічне джерело успіху при

лікуванні пацієнтів з цукровим діабетом 2-го типу [92-93]. У зв'язку з цим, цілком зрозуміло зростаючий інтерес до фізіології альфа-ендокриноцитів не тільки в нормі та в експериментальній і клінічній діабетології [94-95], але і в разі розвитку неендокринних захворювань. До останніх можна віднести гіпертонічну хворобу, яка патогенетично не пов'язана із цукровим діабетом, але часто-густо з ним асоційована в так званому метаболічному синдромі.

Дельта-клітини становлять від 5 % [96] до 10 % [23, 76] популяції острівцевих клітин. Соматостатин, що виділяється дельта клітинами, пригнічує секрецію інсуліну і глюкагону навіть в умовах підвищеної концентрації в крові нутрієнтів [63, 97-98]. Примітне те, що дельта-клітини здатні трансдиференціюватися в бета-ендокриноцити при значному виснаженні пулу бета-клітин [46]. Було встановлено, що при панкреатична специфікація прогеніторних ендокриноцитів у бета-клітини або дельта-ендокриноцити визначається транскрипційним фактором Pax4 [99]. Нещодавно було показано, що порушення експресії фактора Pax4 в альфа-клітинах призводить до їх трансформації в бета-подібні клітини, але, при цьому даний транскрипційні фактор не контролює трансформацію дельта-клітин в бета-подібні ендокриноцити [100]. Показано, що важливу роль в проліферації дельта-ендокриноцитів і регуляції їх функції забезпечує ген Nhex [101], зниження експресії якого призводить до порушення паракринної регуляції секреції інсуліну, що потенційно може сприяти розвитку діабету 2-го типу [91, 101]. У той же час, у пацієнтів з цукровим діабетом на тлі гіперглюкагонемії ефективний контроль рівня глюкози в крові досягається шляхом екзогенного введення соматостатина або його аналогів [96-97].

Таким чином, ендокринні клітини панкреатичних острівців мають чітку регуляторну функцію і працюють в складній регуляторній мережі, забезпечуючи паракринний і нейрогенний контроль енергетичного гомеостазу, в першу чергу, метаболізму глюкози. Існуючі відмінності в цитоархітектоніці панкреатичних острівців у людей і тварин, тим не менш, істотно не впливають на особливості контролю енергетичного і вуглеводного

гомеостазу, а дані останніх 10-15 років переконливо свідчать про те, що ендокринні клітини панкреатичних острівців мають певну морфологічну та функціональну пластичність, і що можливо перетворення не-бета-клітин в бета-ендокриноцити і, таким чином, поповнення пулу бета-клітин і відновлення інсулін-синтезуючої функції підшлункової залози. Ці дані є надзвичайно важливими для розробки перспективних стратегій не тільки в лікуванні цукрового діабету, але попередження переддіабетичних станів і розвитку інсулінорезистентності при неендокринній патології.

1.2 Функціональний стан панкреатичних острівців при порушенні толерантності до глюкози, гіперглікемії і метаболічних порушеннях

Розвиток гіперглікемії в результаті дії на організм певних ендогенних (вік, генетична схильність) і екзогенних несприятливих факторів (пренатальна гіперглікемія, відбіркове пошкодження бета-клітин) супроводжується змінами морфофункціональної характеристики і цітоархітекtonики панкреатичних острівців. Ступінь виразності і початок розвитку гіперглікемії на тлі зміни морфофункціональних параметрів альфа-, бета-, дельта- і амілін-синтезуючих клітин залежить від кожного конкретного причинного фактору [22, 36, 102]. Вікова динаміка зміни стану панкреатичних острівців характеризується зростанням їх площі за рахунок збільшення кількості бета-ендокриноцитів на тлі нормоглікемії у молодих тварин. Що стосується старих тварин, у яких концентрація глюкози крові перевищує нормоглікемічний рівень, площа острівців зменшується, і це обумовлено зниженням чисельності бета-клітин. Проте, бета-ендокриноцити збільшуються за розміром, в них самих і в острівцях зростає вміст інсуліну, але, у той же час, в острівцях збільшується кількість й альфа-клітин [25, 34, 102].

На відміну від нормальних фізіологічних умов, секреція інсуліну і його участь в метаболізмі зменшується при голодуванні, м'язовому та нервовому навантаженні, а також при інших формах стресу, коли зростає потреба у використанні вуглеводів і жирів [103]. Вагітність також є однією з причин

зниження рівня секреції інсуліну і, відповідно, його участі в метаболічних процесах, а саме в розвитку гестаційного діабету. Під час вагітності плацента секретує плацентарний лактоген, і цей гормон є антагоністом інсуліну і ускладнює його роботу [104-105]. При гестаційному діабеті виявляється аномальна чутливість тканин до дії інсуліну [60, 106-107]. Встановлено, що в пізні терміни нормальної вагітності розвивається інсулінорезистентність, яка пов'язана з накопиченням жирової тканини і необхідністю суттєвого, на 70 %, зростання фетоплацентарної доставки нутрієнтів, чого вимагає нормальне забезпечення ембріогенезу плода [106, 108]. Еуглікемія при фізіологічній вагітності підтримується компенсаторним збільшенням секреції інсуліну. Тому, ключовим фактором, що сприяє розвитку гестаційного діабету, є функціональна недостатність бета-ендокриноцитів компенсаторно посилювати секрецію інсуліну [60, 109].

Генетично запрограмовані статеві і індивідуальні особливості мікроструктури мозку, поведінки, центральної регуляції гіпоталамо-гіпофізарно-адренкортикальної системи та репродуктивної системи можуть модифікуватися під впливом стресу материнського організму під час вагітності [110]. При вагітності в материнському організмі різко зростає секреція кортикостероїдів, але плід людини захищений від них підвищеним рівнем транскортина (кортикостероїд-зв'язуючого глобуліну) і плацентарними ферментами, які частково інактивують кортикостероїди. Однак індукований хронічний гестаційний стрес (імобілізація, хронічна гіпоксія, фізичне напруження, голодування та інші) на початку вагітності здатний затримати нормальний розвиток плода. В результаті створюються передумови для метаболічних порушень, серцево-судинної та іншої патології в дорослому житті, що підтверджено експериментальними і епідеміологічними дослідженнями [110-112].

Ендокринні захворювання набули широкого поширення в нашій країні, особливо в останнє десятиліття. Що стосується цукрового діабету, то він визначається виключно швидким зростанням захворюваності. Так, за

оцінками ВООЗ, число хворих на нашій планеті до 2000 року складало 175,4 млн., а вже у 2011 році збільшилося до 240 млн. чоловік. Цілком очевидно, що прогноз фахівців про те, що число хворих на діабет за кожні наступні 12-15 років буде подвоюватися, виправдовується [8-9].

Відомо, що цукровий діабет 1-го типу характеризується аутоімунною деструкцією панкреатичних бета-клітин [113]. Відправним моментом порушення функціонального стану панкреатичних острівців у розвитку цукрового діабету 1-го типу є масивне їх руйнування і, як наслідок, критичне зниження рівня інсуліну в крові і розвиток абсолютної інсулінової недостатності [114]. У людини це захворювання найчастіше є генетично детермінованим і обумовленим дефектами ряду генів, що кодують поверхневий рецептор Т-клітин, а також гени тирозинових фосфатаз Т-лімфоцитів - RTPN22 і RTPN2, та гени інтерлейкіну 2 (IL2) і α -ланцюга його рецептора (IL2RA) [115]. Ці дефекти формують схильність до аутоімунної агресії організму до клітин підшлункової залози і негативно позначаються на регенераційній здатності бета-клітин [116].

В основі аутоімунного ураження клітин лежить їх пошкодження будь-якими цитотоксичними агентами. Ушкодження бета-клітин викликає виділення аутоантигенів, які стимулюють активність макрофагів і Т-кілерів, що, в свою чергу, призводить до утворення і виділення в кров інтерлейкінів в концентраціях, що надають токсичну дію на клітини підшлункової залози. Також бета-клітини пошкоджуються резидентними макрофагами підшлункової залози. Таким чином, після початку масивної загибелі бета-клітин запускається механізм їх аутоімунного ураження [114].

Дисфункція бета-клітин і інсулінорезистентність - два взаємо-пов'язаних і точно встановлених патофізіологічних ознак цукрового діабету 2-го типу [117]. Обидва типи цукрового діабету (1-й та 2-й типи) характеризуються прогресуючим зниженням функції бета-ендокриноцитів. Але, в основі діабету 1-го типу лежить модульований цитокінами аутоімунний інсуліт, і тому спустошення пулу бета-ендокриноцитів відбувається він в короткий проміжок

часу [118]. При 2 типі діабету прогресуюча інсулінорезистентність збільшує функціональне навантаження на бета-клітини, порушується робота ендоплазматичного ретикулума, що, разом з ліпо- і глюкотоксичністю, обумовлює поступове зниження їх функції [113]. У дослідженнях на секційному матеріалі підшлункової залози хворих на цукровий діабет 1-го типу було відзначено зниження маси ендокринної тканини і практично повна відсутність бета-клітин, але панкреатичні острівці в стані атрофії містили певну кількість альфа- і дельта-ендокриноцитів. При цьому кількість альфа-, дельта- і клітин, що синтезують панкреатичний поліпептид, а також їх співвідношення в острівцях, не відрізнялося від аналогічних показників, отриманих при дослідженні підшлункової залози, взятої з контрольної групи аутопсійного матеріалу [119].

Функціональна недостатність панкреатичних острівців виникає також в результаті порушень на будь-якій стадії синтезу і секреції інсуліну [120-124]. Причиною інсулінової недостатності може бути пошкодження рецепторної системи транспортерів глюкози GluT, коли припиняється викид інсуліну в кров у відповідь на зв'язування глюкози з мембранним рецептором бета-клітин. Інсулінова недостатність може бути також результатом ушкодження аденілатциклазної системи, порушення гліколізу, механізмів надходження кальцію в клітку, що ускладнює передачу інформації з рецептора в клітку. До таких же наслідків призводять вроджені та набуті «поломки» у відповідній частині генетичного апарату; дефіцит необхідних для синтезу інсуліну амінокислот, особливо лейцину і аргініну; порушення переходу проінсуліну в інсулін і секреції інсуліну бета-гранулами бета-клітин. Порушення цілості панкреатичних острівців при різних деструктивних процесах, обумовлених пухлинами, кістами, травмами, циротичними і запальними процесами в підшлунковій залозі, або склеротичному пошкодженні судин, також викликає порушення функціонального стану панкреатичних острівців і, відповідно, недостатність інсуліну [109, 120-124]. Подібну ж роль може грати інфекційне ураження острівців при скарлатині, кашлюку, епідемічний паротит, грипі,

ангіні, пиці, сифілісі, туберкульозі. Пошкодження острівців може бути результатом імунної реакції на інсулін або на бета-клітини. Цитотоксичність по відношенню до бета-клітин мають родентициди, стрептозотоцин, нітрозаміни, деякі лікарські препарати, діуретики, пероральні контрацептиви, бета-адренергічні препарати, кортикотропін. Причиною інсулінової недостатності може бути вживання харчових речовин, що містять ціаніди (коріння маниоку, сорго). Зазвичай ціаніди знешкоджуються за участю сірковмісних амінокислот, але при білкової недостатності створюються умови для їх накопичення в організмі. Таке походження цукрового діабету при квашиоркорі та інших формах недостатності харчування у жителів країн тропічного поясу [109, 120-125].

Існує ряд факторів, які впливають безпосередньо на секрецію інсуліну і на його участь в метаболічних процесах, основні з них це стрес, гестаційний діабет, пренатальний стрес, артеріальна гіпертензія і ожиріння [124-125]. Сучасним визначенням гестаційного діабету є порушення вуглеводного обміну, вперше виникле або вперше встановлене під час вагітності [109, 126, 127]. Для цього стану характерне збільшене трансплацентарне надходження глюкози і інших нутрієнтів з крові матері до плоду, чим й обумовлена макросомія новонародженого [112]. При цьому наслідком пренатальної гіперглікемії є структурна і функціональна адаптація ендокринної частини підшлункової залози, яка проявляється її гіпертрофією за рахунок збільшення кількості маленьких острівців, площа яких в подальшому вже не збільшується, та гіперплазію інсулін-синтезуючих бета-клітин [108, 128]. Але, проблема полягає в тому, що схильність до внутрішньоутробної гіперглікемії є фактором ризику для розвитку таких патологічних станів, як ожиріння, порушення толерантності до глюкози, інсулінорезистентність та метаболічних порушень у нащадків в дорослому віці [124, 129]. Результати експериментальних досліджень ембріональної підшлункової залози щурів показали, що висока концентрація глюкози протягом внутрішньоутробного періоду розвитку сприяє реплікації бета-ендокриноцитів плода і посилення їх

біосинтетичної активності [130]. Наслідком таких змін є гіперінсулінемія, яка, як відомо, надає шкідливу дію на вентромедіальну частину гіпоталамуса, який контролює секрецію інсуліну за допомогою модуляції тонусу блукаючого нерву [112, 131]. До того ж, діабет-асоційований дизморфогенез характеризується високим рівнем апоптозу ендокриноцитів, порушенням синтезу простагландинів і мембранних ліпідів, а також загальним розладом метаболізму плода [132]. Важливо відзначити, що в клінічному дослідженні новонароджених від матерів, які страждають на цукровий діабет, в пуповинній крові були виявлені високі рівні сироваткового амліну [133]. Автори зробили висновок, що це зумовлено підвищеною ендогенною продукцією амліна, а не його трансплацентарної передачею, тому що зниження концентрації цього пептиду в сироватці крові протягом перших п'яти днів постнатального життя не відбувалося. Найімовірніше, транзиторна неонатальна гіперінсулінемія, як наслідок внутрітрубного впливу хронічної гіперглікемії, обумовлює і гіперамілінемію. Це спостереження, безумовно, є додатковим свідченням спільної секреції інсуліну і амліна, позитивна кореляція яких була також продемонстрована і в цьому дослідженні [133].

Що стосується ожиріння, то воно є давно відомим та одним з найбільш важливих факторів розвитку інсулінорезистентності, при якому має місце компенсаторне збільшення маси бета-клітин у підшлунковій залозі, і гіперінсулінізм, як ранній компенсаторний механізм [134-135]. Показано, що хронічна гіперглікемія плода внаслідок гестаційного діабету материнського організму, а також генетично детермінована гіпертензія у щурів лінії SHR, призводять до порушення показників вуглеводного і жирового обмінів, які залежать від виду тригерного фактора, маси тіла і статевої приналежності, прогресують з віком, та розвиваються на тлі зміненого гормонально-цитокінового статусу [136].

Проте недавні дослідження патогенезу цукрового діабету, проведені на добровольцях з мінімальними відхиленнями у тесті толерантності до глюкози, показали, що більш значущим для клінічної маніфестації діабету є порушення

секреції інсуліну вже на стадії початкових змін толерантності до глюкози [137], що, цілком ймовірно, відображає нездатність бета-ендокриноцитів адаптуватися до периферичної інсулінорезистентності. Гіперглікемії за умов вже розвиненої інсулінорезистентності притаманна бета-токсична дія, що посилює порушення інсулін-секреторну функцію бета-клітин, і, замикаючи порочне коло патогенезу, призводить до прогресування цукрового діабету [135, 138]. У дослідженнях, проведених на ізольованих панкреатичних острівцях людини, за допомогою електронної мікроскопії було встановлено, що відкладення острівцевого амілоїду порушує морфологію острівців і глюкозо-стимульовану секрецію інсуліну. Мембранотоксична дія амілоїдного поліпептиду проявляється руйнуванням міжклітинних контактів між сусідніми бета-клітинами. Наслідком цього є десинхронізація процесів секреції інсуліну [139], адже саме синхронна електрична активність всього пулу бета-ендокриноцитів острівців забезпечує адекватну глюкозо-стимульовану секрецію інсуліну. Необхідно відзначити, що внутріострівцеві періваскулярні амілоїдні відкладення, які утворюються в результаті конверсії амілоїдного поліпептиду в нерозчинні фібрили, звужують просвіти судин, порушуючи трофіку ендокриноцитів в острівці і нормальне функціонування бета-клітин як головного сенсора глюкози в організмі [140].

1.3 Молекулярні маркери функціонального стану ендокриноцитів панкреатичних острівців

Для визначення функціонального стану будь-якої тканини організму виділяють ряд біологічних маркерів сприяючих у визначенні антиапоптотичних, проапоптотичних, проліферируючих і багатьох інших можливостей її клітин. Вибір того чи іншого молекулярного маркера, варіабельність якого буде покладена в основу роботи, є одним із важливих завдань для дослідника [141].

Апоптоз - форма клітинної загибелі, необхідна для видалення пошкоджених і непотрібних клітин з організму, і відіграє важливу роль майже

у всіх аспектах розвитку та функціонування клітин тварин і людини. За роки вивчення у накопичилися відомості про гормони, гени і регуляторні механізми апоптозу [142]. Так встановлено, що мітохондрії є тим центром клітини, у якому приймається рішення про запуск механізму її загибелі: мембрана мітохондрій розривається, що призводить до утворення реактивних форм кисню і вивільненню апоптогенних чинників, які є сигналом для активації фінальної, або ефекторної, стадії апоптозу. Точні механізми, за рахунок яких підвищується проникність мембрани мітохондрій, до кінця не з'ясовані. Більшість з них пов'язують з сімейством регуляторних антиапоптотичних білків Bcl-2, які самостійно або за допомогою інших білків мітохондрій (переносника аденілового нуклеотиду ANT, потенціал-залежного аніонного каналу VDAC) порушують мітохондріальний гомеостаз [143-144]. Серед білків сімейства Bcl-2 виділяється група як з анти-апоптотичною, так і з про-апоптотичною активністю. Такі білки як Bcl2-protein (Bcl2), B-cell lymphoma-extra-large (Bcl-xL), Bcl-2-like protein 2 (Bcl-w), Bcl-2-like protein 10 (Bcl-B), myeloid cell leukemia 1 (MCL-1) and Bcl-2 related gene A1 (A1) - апоптозу [146].

Регулятор апоптозу Bcl2 являє собою внутрішньоклітинний білковий фактор, основний представник антиапоптотичного сімейства білків і пригнічує апоптоз у багатьох клітинних системах, включаючи лімфогематопоетичні клітини і нейрони [145-146]. Він регулює клітинну смерть, контролюючи проникність мітохондріальної мембрани [144], та інгібує каспази за рахунок запобігання виходу цитохрому-С з мітохондрій і/або за рахунок зв'язування фактора, що активізує апоптоз - ARAF1 [147]. Раніше вважали, що Bcl2-подібні білки працюють як реостат і визначають баланс між про- та антиапоптотичними білками [145]. Однак сьогодні відомо, що регуляція апоптозу представниками сімейства Bcl-2 більш складна і крім механізму реостата включає в себе стимул-специфічну модифікацію ВНЗ-білків. У багатьох випадках ВНЗ-білки служать внутрішньоклітинними рецепторами, які можуть активуватися або на етапі транскрипції (Nip3, Nix, PUMA, Noxa, Hrk), або після транскрипції (Bad, Bid, Bik, Blk, Map-1) через

безліч механізмів сигнальної трансдукції. Після активації ці білки вступають у взаємодію зі своїми мультидоменними співбратами і, залежно від виду ВНЗ-білка, можуть або полегшити введення проапоптотичних мультидоменних білків сімейства Bcl-2 через мітохондріальну мембрану, порушуючи її цілісність і потенціал спокою, необхідний для окисного фосфорилування, або нівелювати дію антиапоптотичних білків сімейства Bcl-2 [142, 144]. Показано, що вирішальним моментом у запуску апоптозу є гетеродиме-ризація білків сімейства Bcl-2 - індукторів та інгібіторів апоптозу [142, 144].

Протилежною дією щодо тканинного регулятора - білка Bcl2 - володіє проапоптотичний білок p53 [148]. Білок p53 є продуктом гена-супресора пухлини *TP53* і експресується у всіх клітинах організму. При відсутності ушкоджень генетичного апарату білок p53 знаходиться в неактивному стані, а при появі пошкоджень ДНК активується. Функція білка p53 полягає у видаленні з пулу репліцируючих клітин тільки тих, які є потенційно онкогенними. Звідси білок p53 має образну назву хранитель геному (*guardian of the genome*). Показано, що втрата функції білка p53 може стати головною причиною виникнення приблизно 50 % випадків злоякісних пухлин людини [148-149]. Активація білка p53 полягає в придбанні здатності зв'язуватися з ДНК і активувати транскрипцію генів, які містять у регуляторній області нуклеотидну послідовність, яка позначається як p53-response element (ділянка ДНК, з яким зв'язується білок p53). Результатом активації p53 є зупинка клітинного циклу і реплікації ДНК, і як наприклад, при сильному стресовому сигналі білок p53 ініціює запуск апоптозу [148]. Білок p53 активується при пошкодженнях генетичного апарату, а також при стимулах, які можуть привести до подібних пошкоджень, або є сигналом про несприятливий стан клітини (стресовому стані). У регуляції активності білка p53 провідна роль належить посттрансляційним модифікаціям білка і його взаємодій з іншими білками [149]. Різноманітні компоненти транскрипційного апарату взаємодіють з p53 під час його функціонування в якості транскрипційного фактора. Наприклад, білок з сімейства пептидилпролізомераз - Pin1 -

зв'язується з p53 після фосфорилування N-кінцевій частині p53 і змінює його конформацію, що призводить до певних функціональних змін з боку p53 [150-151]. Ряд регуляторних білків, таких як HIF1 α , Ref-1, тіоредоксін, Wox1, COX2, NQO1, зв'язуючись з білком p53 модифікують його стан, і, таким чином, диференційно впливають на його функцію та мають певні біологічні та фізіологічні наслідки [152-157].

1.4 Патогенетичні паралелі між артеріальною гіпертензією і цукровим діабетом

У світі артеріальна гіпертензія діагностовано у більш ніж 970 мільйонів чоловік, а до 2025 року прогнозується зростання числа хворих до 1,56 мільярда [1]. За даними всесвітньої організації охорони здоров'я гіпертонічна хвороба «молодіє», а через її ускладнень щорічно помирає понад 17 мільйонів чоловік у віці до 60 років [158]. За даними офіційної статистики МОЗ в Україні більше 30 % дорослого населення країни страждає на гіпертонічну хворобу. Більш того, за останній час спостерігається стійке зростання поширеності гіпертонічної хвороби більш ніж в два рази в порівнянні з 1998 роком і на 170 % у порівнянні з 2000 роком [5-6].

Поширеність артеріальної гіпертензії в світі і високі темпи її поширення роблять актуальним подальше вивчення патогенезу гіпертонічної хвороби, а також механізмів розвитку органних ускладнень, викликаних тривалою артеріальною гіпертензією. Одним з важливих аспектів вивчення патогенезу артеріальної гіпертензії є експериментальне відтворення патології на лабораторних тваринах. В огляді L.Lerman з співавт. (2005) детально розглянуті ефективні експериментальні моделі артеріальної гіпертензії, засновані на відтворенні ключових патогенетичних факторів, пов'язаних з регулюванням артеріального тиску, генетичною основою гіпертензії, спадкуванням ознак гіпертензії і клітинних реакцій на пошкодження, що призводять до підвищення артеріального тиску [159]. Згідно з проведеним

аналізом, експериментальні моделі артеріальної гіпертензії діляться на моделі, що відтворюють вторинну артеріальну гіпертензію та генетичні моделі.

Так, вторинна артеріальна гіпертензія відтворюється моделюванням реноваскулярної патології (кліпування ренальної артерії, коарктацією аорти, тотальної оклюзії, мікроемоблізацією), пошкодженням нирок (частковою або тотальною нефроектомією, моделюванням запалення нирок, радіаційним опроміненням), введенням вазоактивних речовин (реніну, ангіотензину II, альдостерону, норадреналіну, пресорних простагландинів та ін.), ендокринних моделей артеріальної гіпертензії (DOCA-сольова гіпертензія, модель пре-еклампсії, гиперкортицизм, гіперестрогенемія і ін.), і нейрогенна модель експериментальної артеріальної гіпертензії (психосоціальний стрес, стимуляція пресорних центрів центральної нервової системи, барорецепторна денервація).

В основу створення генетичних моделей артеріальної гіпертензії були покладені принципи відбору ліній тварин з фенотипічно стійкою гіпертензією (спонтанно гіпертензивні щури лінії SHR, щури лінії SHR, схильні до інсульту, генетично гіпертензивні щури, гіпертензивні щури лінії Lyon, міланська лінія щурів SHR, щури з спадковим ожирінням) і лінії тварин з індуцируемой мутацією ключових генів гормонів, що володіють вазопресорним ефектом, або клітинних рецепторів до них. При цьому виявилось, що найбільш успішними при моделюванні артеріальної гіпертензії у гризунів, так само як і більш схожими за клінічним перебігом гіпертонічної хвороби у людей, були генетично-орієнтовані експериментальні моделі.

Однією з таких експериментальних моделей у тварин, яка за основними механізмами розвитку гіпертензії близька до есенціальною форми гіпертонічної хвороби у людини, є щури лінії SHR зі спонтанною гіпертензією. Щури лінії SHR були виведені шляхом близькоспоріднених схрещувань щурів лінії Wistar з тваринами з розвиненою артеріальною гіпертензією, і у яких приблизно в 4-6 тижневому віці без фізіологічного, фармакологічного або хірургічного втручання реєструються високі цифри артеріального тиску, аж до 180 мм рт. ст. і навіть вище [159-161]. У дослідженнях *in vivo* було

встановлено, що на ранніх стадіях у щурів лінії SHR формується підвищений серцевий викид з нормальним загальним периферичним опором, але з дорослішанням тварин серцевий викид повертається до нормальних значень, в той час як гіпертрофований м'язовий шар кровеносних судин призводить до збільшення загального периферичного опору току крові [162]. В результаті патофізіологічних процесів кровеносні судини у щурів лінії SHR стають менш чутливими до дії гуморальних чинників регуляції судинного тону, що сприяє підвищенню ризику розвитку таких ускладнень як тромбоз, крововилив в мозок, нефросклероз і поразки міокарда [163]. Завдяки цим патогенетичним особливостям у щурів лінії SHR частота виникнення спонтанного інсульту досягає 80 % у самців і 60 % у самок з поширеним на церебральний атеросклероз [164]. Саме тому генетичні моделі експериментальної артеріальної гіпертензії, зокрема шури лінії SHR, виявилися більш вдалим для вивчення патогенезу гіпертензії, асоційованої з супутніми соматичними захворюваннями, поширеними в клінічній практиці, і дозволяють більш наближено до клінічної патології вивчати вторинні ушкодження органів-мішеней внаслідок розвитку артеріальної гіпертензії [159, 161, 163-164].

У зв'язку з цим увагу багатьох клініцистів і дослідників займає питання патогенетичної взаємозумовленості артеріальної гіпертензії та цукрового діабету [11]. Так дослідники з Hong Kong показали, що тільки у 42 % хворих з діабетом відзначаються нормальні цифри артеріального тиску, а для 56 % гіпертоніків характерно збереження нормальної толерантності до глюкози [13]. У північноамериканській популяції гіпертонічна хвороба спостерігається у 30 % пацієнтів з цукровим діабетом 1 типу та у 50–80 % пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу [14]. При цьому частота виникнення діабету 2 типу у північноамериканських гіпертоніків спостерігається в 2,5 - 3 рази вище, ніж у людей з нормальними цифрами артеріального тиску [165]. Багато дослідників вважають, що частота народження поєднання порушення толерантності до глюкози і підвищення кров'яного тиску у одного і того ж людини

спостерігається набагато вище, ніж поєднання діабету і гіпертонічної хвороби [11, 13, 166]. Припущення про існування загальних патогенетичних паралелей між діабетом і артеріальною гіпертензією передбачає наявність або загальних генетичних, або загальних екологічних факторів в етіології даних захворювань.

В якості загальних генетичних паралелей для зазначених нозологій називають генетичні варіанти структури генів, що кодують ангіотензиноген, адреномедулін (вазоділятаторний пептидний гормон), аполіпопротеїн, альфа-аддуктін, аномальні продукти яких відзначаються у пацієнтів з цукровим діабетом, артеріальною гіпертензією, порушенням толерантності до глюкози і при метаболічному синдромі [11, 167-169]. Відзначено, що очікувані генетичні дисоціації, які спостерігаються у плодів під час гестаційного діабету, можуть призводити до кардіометаболічного синдрому у дорослий період життя [170-171].

Загальним, патогенетично об'єднуючим діабет і гіпертензію, є синдром інсулінорезистентності - стан, при якому нормальний рівень інсуліну не включає механізми абсорбції глюкози, що призводить до порушення реакції на екзогенне введення інсуліну в скелетних м'язах, печінці, жировій тканині і серцево-судинної тканини [4]. Резистентність до інсуліну також виникає через різних генетичних причин [172] і дії чинників навколишнього середовища, включаючи ожиріння [173]. Інсулінорезистентність зустрічається у більшості пацієнтів з діабетом 2 типу, так само як і у понад 50 % пацієнтів з есенціальною гіпертензією [174].

Ожиріння, як глобальна медична проблема для сучасного світу, однозначно асоціюється з високим ризиком розвитку та цукрового діабету, і артеріальної гіпертензії [3, 13, 125].

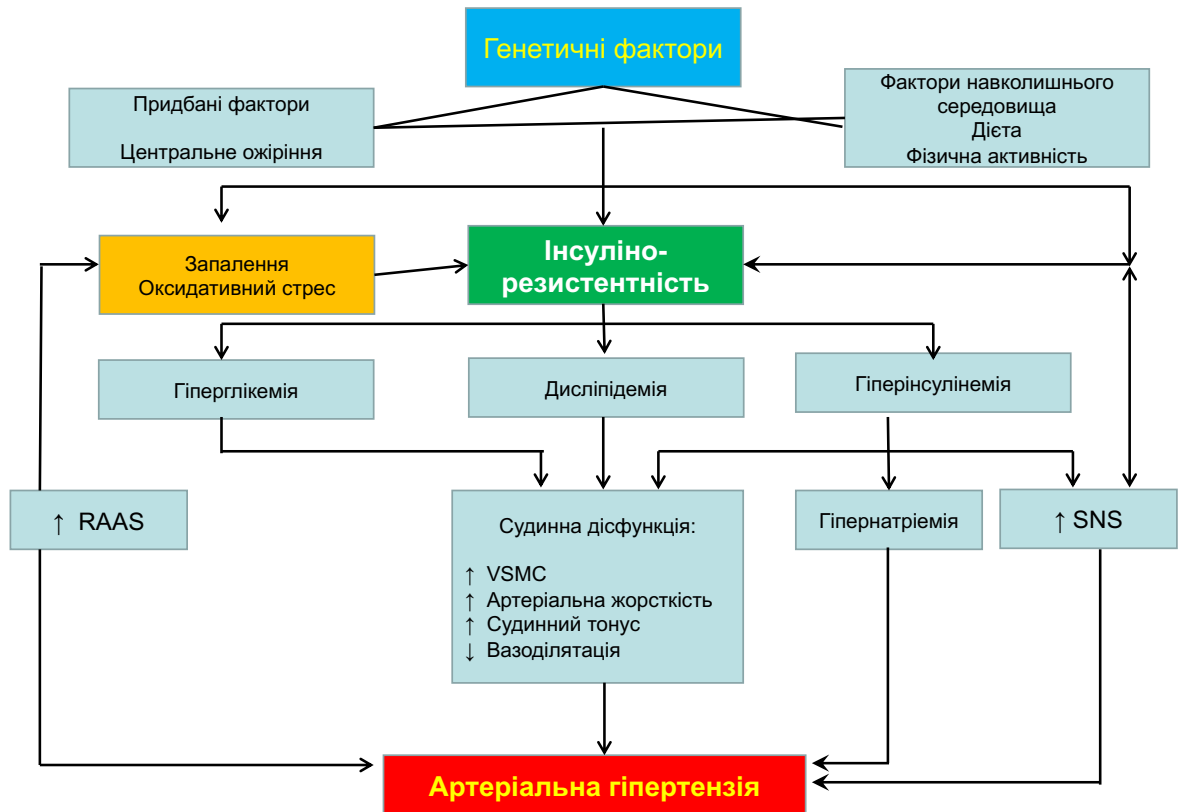
Загальним для і артеріальної гіпертензії та цукрового діабету є формування уповільнених запальних процесів у багатьох тканинах [175-176] і збільшення концентрації в крові С-реактивного протеїну, як маркера запалення [177]. При цьому показано, що ангіотензин II є тригером судинного

запалення і стимулює збільшення утворення активних форм кисню [175], активує NADH/NADPH-оксидазу, протеїн С, мітоген-активовану протеїнкіназу (МАРК) [178-179], стимулює утворення прозапального інтерлейкіну-6 і молекул клітинної адгезії [180]. При цьому клінічне застосування традиційних для гіпертонічної хвороби інгібіторів ангіотензин-перетворюючого ферменту або блокаторів рецепторів до ангіотензину II істотно знижує інтенсивність запальних процесів як у хворих з артеріальною гіпертензією, так і у пацієнтів з цукровим діабетом [181].

Психосоціальний стрес і стимуляція симпатичної нервової системи, викликана хронічним стресом, є ще одним важливим пресорним механізмом, що призводить до розвитку гіпертонічної хвороби [182]. Але, крім того, підвищена активність симпатичної нервової системи призводить до порушення метаболізму глюкози [183] і ліпідного обміну [184]. Підвищена активність або дизрегуляція гіпоталамо-гіпофізарно-адренокортикальної системи грає ключову роль в патогенезі хронічного стресу та важливу роль в патогенезі ожиріння і гіпертонічної хвороби [185], а також цукрового діабету [56, 94, 130, 186-195].

Загальні уявлення про патофізіологічні механізми, які об'єднують артеріальну гіпертензію та цукровий діабет, представлені на рисунку 1.1.

У зв'язку з цим важливо відзначити, що поруч епідеміологічних досліджень було встановлено, що артеріальна гіпертензія є фактором ризику розвитку цукрового діабету 2-го типу [196-197]. Підставою припустити зв'язок цих двох захворювань послужило те, що пацієнти з есенціальною гіпертензією є інсулінорезистентність незалежно від наявності ожиріння і його ступеня. Тому як здатність інсуліну стимулювати поглинання глюкози периферійними тканинами в нормальних умовах варіює в широких межах, мабуть, і 2-й тип цукрового діабету не розвивається до тих пір, поки панкреатичні бета-клітини секретують достатню кількість інсуліну для підтримки нормального вуглеводного гомеостазу.



Примітка. RAAS - ангіотензин-альдостеронова система; SNS - симпатична нервова система; VSMC - судинна гладком'язова клітина.

Рисунок 1.1 - Патофізіологічні механізми розвитку артеріальної гіпертензії при цукровому діабеті за даними Mugo M.N. et al., 2007 [6].

Характеризуючи особливості фізіології спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR, слід відзначити те, що крім морфологічних і функціональних порушень у великих і дрібних судинах різних органів, тваринам цієї лінії властива інсулінорезистентність і підвищена чутливість бета-клітин до глюкозо-стимульованої секреції інсуліну, також мають місце у хворих, які страждають на гіпертонічну хворобу [198]. Цікаво зауважити, що судинний комплекс панкреатичних острівців надзвичайно чутливий до локально продукуються ендотеліальних факторів [199], і, тому, може відчувати наслідки артеріальної гіпертензії. Підвищена перфузія панкреатичних острівців була виявлена і в інших експериментальних моделях з високими функціональними

потребами в секретії інсуліну (тривала інфузія щурам глюкози, лінійні тварини з ожирінням) [56, 200]. Показано, що артеріальна гіпертензія більш ніж в 3 рази частіше зустрічається у хворих на цукровий діабет в порівнянні з недіабетичними пацієнтами [17-18]. Наявність у хворого артеріальної гіпертензії та цукрового діабету відразу переводить його в групу високого і дуже високого ризику серцево-судинних ускладнень [2]. Таке поєднання несе в собі величезний ризик швидкого і прогресивного розвитку судинних ускладнень, характерних як для артеріальної гіпертензії, так і для цукрового діабету, оскільки органи-мішені для зазначених захворювань одні і ті ж - серце, центральна нервова система, нирки, судини. Тому, цілком ймовірно, що адекватне кровопостачання грає ключову роль в підтримку бета-клітинної гіперфункції, необхідної для компенсації інсулінорезистентності [198].

Резюмуючи вищесказане, очевидним є той факт, що асоціація порушення толерантності до глюкози і/або цукрового діабету та артеріальної гіпертензії медичною громадськістю не піддається сумніву. Однак, домінуючою патологією, яка є предиктором розвитку іншої, сателітної патології, визнається цукровий діабет, що приводить з часом до формування діабетичної макро- і мікроангіопатії, діабетичної кардіопатії, і отже, розвитку артеріальної гіпертензії. На підставі літературних даних і результатів досліджень, проведених під керівництвом професора Ю. М. Колесника на кафедрі патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету (1990-2019 рр.) [102, 136, 186-195, 201-204], ми вважаємо правомірність існування альтернативної гіпотези, згідно з якою хронічна артеріальна гіпертензія формує комплекс патогенетичних предикторів ремоделювання ендокринного апарату підшлункової залози, що підвищує ризик і робить можливим вторинний розвиток порушення толерантності до глюкози, формування інсулінорезистентності та розвитку цукрового діабету.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Експериментальні тварини

Дослідження проведені на статевозрілих самцях щурів віком 5-6 місяців: 30 щурах лінії Wistar і 47 щурах лінії SHR, для яких притаманно розвиток спонтанної гіпертензії. Тварини були отримані з розплідника об'єднання ветеринарної медицини ТОВ «Біомодельсервіс» міста Києва (Україна). Усі дослідження проведені в осінньо-зимовий період в віварії Запорізького державного медичного університету. Тварини перебували при температурі повітря 20-25°C в умовах природного освітлення при вільному доступі до води і їжі. Вся експериментальна частина була виконана на базі Навчального медико-лабораторного центра Запорізького державного медичного університету, який акредитовано на право проведення вимірювань, що знаходяться в сфері державного метрологічного нагляду (Свідоцтво про атестацію № 039/14 від 25 червня 2014 р., Свідоцтво про технічну компетентність № 033/18 від 26 грудня 2018 р.).

Експериментальну частину дослідження виконували в суворій відповідності з національними «Спільними етичними принципами експериментів на тваринах» (Україна, 2001), які узгоджуються з директивою Ради 2010/63EU Європейського парламенту і Ради від 22 вересня 2010 року по захисту тварин, що використовують для наукових цілей (Council Directive 2010/63EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes). Комісією з питань біоетики Запорізького державного медичного університету МОЗ України (протокол № 5 від 12.03.2020 р.) порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

Тварини були розділені на чотири експериментальні групи:

інтактні щури лінії Wistar (група 1, n=15) і з експериментальним

цукровим діабетом 28-денний тривалістю (група 2, n=15);

інтактні щури лінії SHR (група 3, n=32); з експериментальним цукровим діабетом 28-денний тривалістю (група 4, n=15).

Розподіл тварин по групах і проведеним маніпуляціям приведено в табл.

2.1.

Таблиця 2.1 – Розподіл експериментальних тварин по групах

Показники	Кількість тварин	
	Щури лінії Wistar	Щури лінії SHR
Контрольна група		
Загальна кількість тварин	15	32
Вимірювання рівня глюкози	15	32
Вимірювання рівня інсуліну	15	32
Вимірювання артеріального тиску	15	32
Проведення тесту толерантності до глюкози	7	7
Морфометричне та імунофлюоресцентне дослідження підшлункової залози	10	10
Моделювання експериментального діабету		
Загальна кількість тварин	15	15
Вимірювання рівня глюкози	15	15
Вимірювання рівня інсуліну	15	15
Вимірювання артеріального тиску	15	15
Морфометричне та імунофлюоресцентне дослідження підшлункової залози	10	10
Загальна кількість тварин, використаних у експерименті	30	47

2.2 Визначення фізіологічних і біохімічних параметрів у експериментальних тварин

У всіх експериментальних тварин після 16-часового позбавлення їжі визначали вагу і забирали кров із хвостової вени для вимірювання концентрації глюкози і інсуліну. Систолічний артеріальний тиск визначали за допомогою системи неінвазивного контролю тиску BP-2000 (Visitech Systems, США) без використання наркозу. Вимірювання артеріального тиску у кожній тварини проводили тричі з 5-хвилинним інтервалом і усередненням результатів. Концентрацію глюкози визначали тест-смужками Test Strip II за допомогою глюкометра GlucoCard-II (ARKRAY Inc., Японія). Концентрацію інсуліну визначали імуноферментним методом з використанням набору Rat Insulin ELISA (80-INSRT-E01, ALPCO, США) і стандартного протоколу, визначеним виробником. Результати зчитували за допомогою імуноферментного аналізатора Sirio-S (Італія). У всіх експериментальних тварин вираховували індекс HOMA-IR за формулою:

$$\text{HOMA-IR} = (\text{глікемія, ммоль/л}) * (\text{інсулін, мкМЕ/мл}) / 22,5. \quad (2.1)$$

У частині щурів лінії Wistar (7 тварин) і щурах лінії SHR (7 тварин) проводили тест толерантності до глюкози шляхом внутрішньочеревного введення розчину глюкози в дозі 2 г/кг ваги тварини. При проведенні тесту толерантності до глюкози у тварин кожні 15 хвилин з хвостової вени відбирали кров для визначення концентрації глюкози. Негативних ефектів при проведенні тесту толерантності до глюкози або загибелі тварин не спостерігалось.

2.3 Моделювання цукрового діабету

Для ініціації цукрового діабету у щурів застосовували стрептозотоцинову модель захворювання, яка є однією з найбільш поширених експериментальних моделей діабету у щурів [205-206]. Стрептозоточин (2-дезоксіметіл-нітрососечовина-глюкозопіраноза) має специфічну

бета-цитотоксичну дію [205-207]. У бета-клітинах стрептозотоцин викликає утворення розривів в молекулах ДНК, що призводить до активації процесів ядерного полі-АДФ-рибозилування, які, в свою чергу, викликають різке зниження рівня внутрішньоклітинного НАД і загибель клітини [205]. У порівнянні з алоксаном, який раніше застосовували для відтворення експериментального цукрового діабету у тварин, стрептозотоцин є більш ефективним в індукції діабету, і забезпечує більш стабільний перебіг хвороби протягом тривалого періода [121, 205, 208-210]. За характером гормонально-метаболических змін стрептозотоцин-індукований діабет у щурів багато в чому подібний до цукрового діабету 1 типу у людини [205-206, 210-211]. При цьому ступінь тяжкості перебігу патологічного процесу характеризується чіткою залежністю від застосовуваної дози препарату [158, 205].

Стрептозотоцин (SIGMA Chemical, США) вводили щурам внутрішньочеревно в дозі 50 мг / кг ваги, розчиненої у 0,5 мл 0,1 М цитратного буферу (рН = 4,5) безпосередньо перед самим моментом введення [193, 206]. Така доза стрептозотоцину не призводила до розвитку абсолютної інсулінової недостатності, але викликала пошкодження бета-клітин з наступним розвитком інсуліта [193, 206, 208-209, 211].

Для поліпшення виживання тварин при моделюванні діабету усі щури протягом перших 2-х діб в якості пиття отримували 10 % розчин сахарози замість питної води. Це попереджало розвиток гіпоглікемії внаслідок масованого викиду інсуліну з пошкоджених стрептозотоцином бета-клітин. В результаті таких запобіжних заходів розвиток експериментального діабету не супроводжувався загибеллю тварин. Час, що минув з дня введення стрептозотоцину, в подальшому викладенні матеріалу інтерпретувався як тривалість перебігу діабету.

2.4 Підготовка підшлункової залози для імунофлюоресцентного дослідження

Для вивчення стану ендокриноцитів панкреатичних острівців застосовували імунофлюоресцентний метод їх ідентифікації у серійних гістологічних зрізах усієї підшлункової залози. Для цього експериментальних тварин в останній день досліджень в 18.00 позбавляли їжі, і на наступний день (після 16 годинного голодування) тварин декапітували під наркозом (етамінал натрію 40 мг/кг внутрішньоочеревно). Підшлункову залозу витягували і поміщали в фіксатор Буена на 20 годин при кімнатній температурі. Після фіксації зразки підшлункової залози промивали у холодній проточній водопровідній воді протягом 3-х годин. Після стандартної процедури зневоднення у висхідних концентраціях етанолу від 50 % до 100 % при $T=25^{\circ}\text{C}$, просочення хлороформом при $T=37^{\circ}\text{C}$ і парапластом (MkCormick, США) при $T=56^{\circ}\text{C}$), підшлункову залозу заливали у парапласт.

Серійні зрізи підшлункової залози завтовшки 5 мкм отримували на ротаційному мікротомі MICROM HR-325 (Microm, Німеччина).

Особливістю методичного підходу до дослідження ендокринного апарату підшлункової залози було послідовне імунофлюоресцентне забарвлення на інсулін, глюкагон і соматостатин у серійних зрізах залози. Це дозволило здійснити реконструкцію підшлункової залози, класифікувати й описати панкреатичні острівці різних типів, встановити кількісні параметри розподілу ендокриноцитів різних типів в острівцях, щільності їх популяції в підшлунковій залозі, отримати дані про питомі показники вмісту інсуліну, глюкагону й соматостатину у панкреатичних острівцях та й у підшлунковій залозі. Для цього серійні гістологічні зрізи підшлункової залози розміщували па предметних скельцях у суворо визначеної послідовності, схематично відображеної на рисунку 2.1.

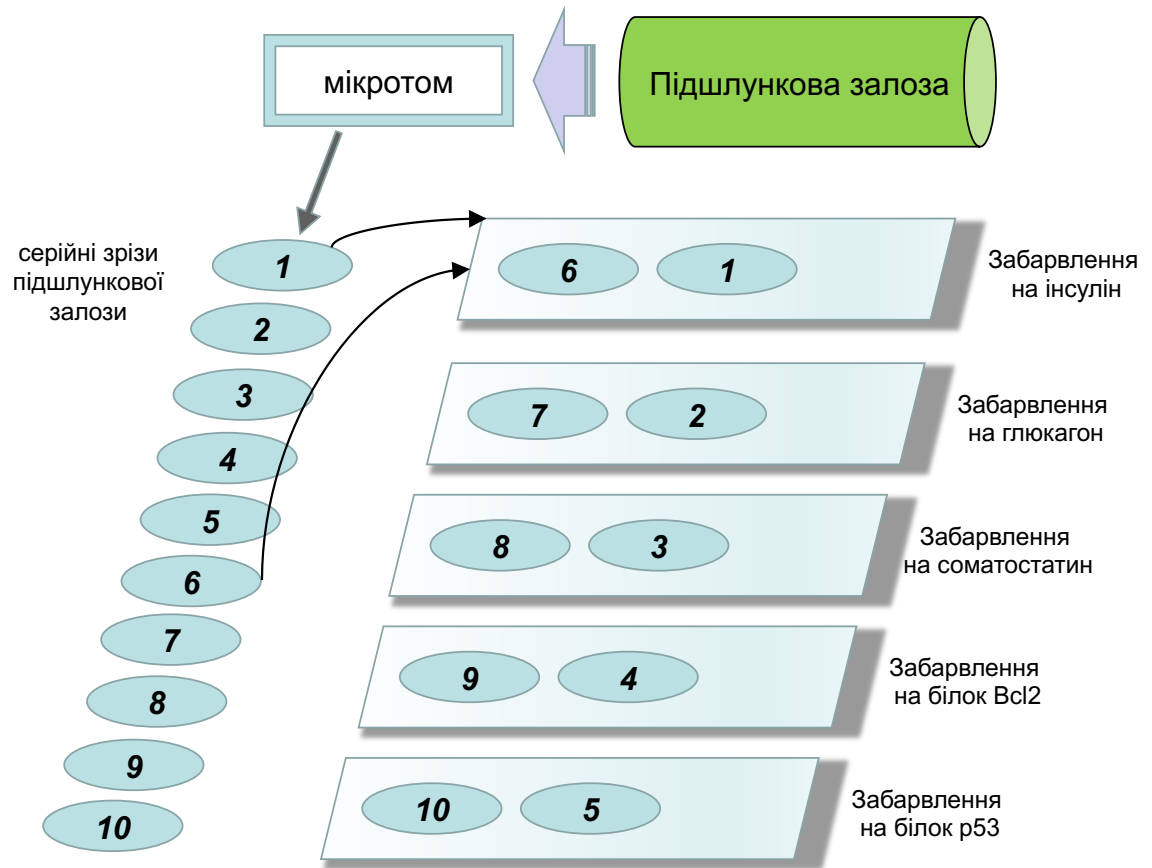


Рисунок 2.1 – Техніка розміщення серійних зрізів підшлункової залози на предметних скельцях.

2.5 Техніка постановки імунофлуоресцентної реакції

Для проведення імунофлуоресцентної реакції серійні гістологічні зрізи депарафінували протягом 20 хвилин при $T = 85^{\circ}\text{C}$, і проводили демаскування антигенів протягом 5 хвилин при $T = 95^{\circ}\text{C}$ у розчині цитратного буферу ($\text{pH} = 9,0$, Thermo Scientific, США) у програмованому РТ- модулі (Thermo Scientific, США). Після охолодження до $T = 37^{\circ}\text{C}$ зрізи тричі по 10 хвилин відмивали у $0,1 \text{ M}$ фосфатному буфері ($\text{pH} = 7,2$). Перед інкубацією з первинними антитілами зрізи інкубували з нормальною мишачою сироваткою (sc-45051, Santa Cruz Biotechnology, США) у розведенні 1:10 у $0,1 \text{ M}$ фосфатному буфері ($\text{pH} = 7,2$) протягом 30 хвилин при $T = 37^{\circ}\text{C}$.

У послідовній серії гістологічних скелець зі серійними зрізами підшлункової залози проводили інкубацію з первинними антитілами (табл. 2.2), які попередньо розводили у співвідношенні 1:200 та наносили у об'ємі 200 мкл на кожній зріз окремого скельця в наступній послідовності:

- 1) антитіла до інсуліну,
- 2) антитіла до глюкагону,
- 3) антитіла до соматостатину,
- 4) антитіла до білка Bcl-2,
- 5) антитіла до білка p53.

Інкубацію з первинними антитілами проводили у вологій камері протягом 24 години при $T=+4^{\circ}\text{C}$. Після інкубації надлишок первинних антитіл тричі відмивали в 0,1 М фосфатному буфері та інкубували протягом 60 хвилин при $T = 37^{\circ}\text{C}$ зі вторинними антитілами, кон'югованими з флюорохромом у розведенні 1:64 в 0,1 М фосфатному буфері ($\text{pH}=7,2$). Вторинні антитіла застосовували в наступній послідовності, наносячи по 200 мкл на кожний зріз:

- 1) для зрізів, інкубованих з антитілами до інсуліну, використовували мишачі антитіла до IgG кролика, кон'юговані з FITC;
- 2) для зрізів, інкубованих з антитілами до глюкагону, використовували мишачі антитіла до IgG кози, кон'юговані з FITC, або мишачі антитіла до IgG кози, кон'юговані з Texas Red (TR);
- 3) для зрізів, інкубованих з антитілами до соматостатину, білкам Bcl2 і p53, використовували антитіла до каппа протеїну IgG миші (m-IgGк BP), кон'юговані з FITC;
- 4) для окремих зрізів, інкубованих з антитілами до білку p53, використовували козячі антитіла до IgG миші, кон'юговані з Texas Red (TR).

Таблиця 2.2 – Антитіла виробництва Santa Cruz Biotechnology (США) для імунофлюоресцентного забарвлення гістологічних зрізів.

Назва	Тип	Клон	№ за каталогом
кролячі поліклональні IgG до інсуліну щурів	первинне	H-98	sc-9168
козячі поліклональні IgG до глюкагону щурів	первинне	C-18	sc-7779
мишачі моноклональні IgG2a до соматостатину щурів	первинне	G-10	sc-55565
мишачі моноклональні IgG1 до білка Bcl-2	первинне	C-2	sc-7382
мишачі моноклональні IgG1 до білка p53	первинне	C-11	sc-55476
мишачі антитіла до IgG кроля, кон'юговані з FITC	вторинне		sc-2359
мишачі антитіла до IgG кози, кон'юговані з FITC	вторинне		sc-23569
антитіла до каппа протеїну IgG миші (m-IgGκ BP), кон'юговані з FITC	вторинне		sc-516140
мишачі антитіла до IgG кози, кон'юговані з Texas Red (TR)	вторинне		sc-3916
козячі антитіла до IgG миші, кон'юговані з Texas Red (TR)	вторинне		sc-2781

Після інкубації зрізи тричі промивали 0,1 М фосфатним буфером і укладали у суміш гліцерину і фосфатного буфера (у співвідношенні 9:1), та накривали покривним склом для подальшої флюоресцентної мікроскопії.

Контроль специфічності зв'язування антитіл проводили аналогічним чином, за винятком інкубації з первинними антитілами.

2.6 Кількісний аналіз імунофлюоресцентної реакції

Вивчення імунофлюоресцентної реакції проводили на флюоресцентному мікроскопі AxioImager-M2 (Carl Zeiss, Німеччина), оснащеного камерою AxioCam-HRm (Carl Zeiss, Німеччина). Для зрізів, оброблених антитілами, кон'югованими з FITC, застосовували високоемісійний світлофільтр 38HE ($\lambda_{ex} = 470/40$ нм, $\lambda_{em} = 525/50$ нм; Carl Zeiss, Німеччина), який дає зелену флюоресценцію. Для зрізів, оброблених антитілами, кон'югованими з TR, застосовували високоемісійний світлофільтр 43HE ($\lambda_{ex} = 550/25$ нм, $\lambda_{em} = 605/70$ нм; Carl Zeiss, Німеччина), який дає червону флюоресценцію.

Зображення, що отримували на мікроскопі, за допомогою програмного пакета аналізу зображення AxioVision-4.8.2 (Carl Zeiss, Німеччина, ліцензія № 3005339) оцифровували за денситометричною шкалою з 256 градаціями сірого кольору і записували за допомогою спеціалізованого комп'ютера HP-Z800 (Hewlett-Packard, США). При цьому уникали ефекту «вигорання» препарату під впливом тривалого ультрафіолетового опромінення.

Якісний і кількісний аналіз імунофлюоресцентної реакції здійснювався засобами програмного пакету цифрового аналізу зображення AxioVision-4.8.2. Алгоритм кількісного аналізу імунофлюоресцентної реакції передбачав автоматичний, незалежний від оператора, режим виділення статистично значущої флюоресценції, пов'язаної з накопиченням імунореактивного матеріалу в ендокриноцитах, і неспецифічної флюоресценції - так званого фону світіння препарату. В інтерактивному режимі при необхідності коректувалися зовнішні кордони панкреатичних островців, що містять ендокриноцити.

Панкреатичні островці класифікували автоматично в залежності від величини площі їх поперечного перетину [29, 212-213]. Особливістю класифікаційного аналізу було те, що параметри, що характеризують приналежність об'єктів до того чи іншого класу, визначалися не дослідником, а самою програмою після їх «попереднього вивчення» у всіх ідентифікованих

об'єктів (так звана класифікація методом самонавчання). На підставі цього, було виділено 5 класів острівців:

«клас 1» включав поодинокі клітини;

«клас 2» включав «малі» панкреатичні острівці, площею 180-1500 мкм²;

«клас 3» включав «середні» панкреатичні острівці, площею 1500-3500 мкм²;

«клас 4» включав «великі» панкреатичні острівці, площею 3500-7500 мкм²;

«клас 5» включав «гігантські» панкреатичні острівці, площею більше ніж 7500 мкм².

За допомогою програмного пакету AxioVision-4.8.2 всередині панкреатичних острівців автоматично виділялися кордони окремих ендокриноцитів, для яких автоматично обчислювалися кількість клітин на поперечний переріз панкреатичного острівця, площа кожної клітини, питома концентрація і вміст гормону у кожній в клітині, сумарний вміст гормону в площі перетину підшлункової залози.

Концентрацію досліджуваних гормонів (інсуліну, глюкагону, соматостатину) і білків (Bcl2, p53) в ендокриноцитах обчислювали як десятичний логарифм відношення інтенсивності флуоресценції імунореактивного матеріалу у ендокриноцитах показника до неспецифічної флуоресценції ацинарної тканини підшлункової залози і висловлювали в умовних одиницях флуоресценції (O_{IF}).

Вміст гормонів (інсуліну, глюкагону, соматостатину), а також білків (Bcl2, p53) в підшлунковій залозі, розраховували, як множину показника їх концентрації у ендокриноциті, площі імунореактивного матеріалу в клітині і питомої кількості ендокриноцитів (з урахуванням представництва острівців різних типів) і висловлювали в умовних одиницях флуоресценції (O_{IF} на 1 см² площі зрізу залози).

Досліджували не менше 5 см² сумарної площі зрізів підшлункової залози у кожної тварини.

2.7 Методи статистичного аналізу

Математичний аналіз і статистичну обробку даних (перевірка гіпотези на нормальність розподілу, статистичне оцінювання і визначення критеріїв достовірності відмінностей між порівнюваними вибірками) проводили за допомогою програмного пакета EXCEL 2003 (Microsoft Corp.) з інтегрованою програмною надбудовою AtteStat [214] і за допомогою програми статистичного аналізу «STATISTICA» (StatSoft Inc., США, ліцензія № AXXR712D833214FAN5). Гіпотезу про нормальність розподілу експериментальних даних перевіряли критерієм Шапіро-Уїлка (Shapiro-Wilk test). Достовірність відмінностей між експериментальними групами оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента (для безперервно розподілених даних з нормальним розподілом) і U-критерію Манна-Уїтні (для дискретно розподілених даних або для безперервно розподілених даних з розподілом, що відрізняється від нормального). Достовірними вважали відмінності при $p < 0,05$ [215].

Дані з безперервним розподілом представляли у вигляді середньої величини (M) і помилки середньої (m) - ($M \pm m$), а дискретно розподілені дані (кількість клітин, острівців) - у вигляді медіани (Me) і міжквартильного розмаху між значеннями 25-го ($Q1$) і 75-го ($Q3$) процентілей ($Q1 \div Q3$).

У графіках на рисунках дані представляли у вигляді середньої арифметичної та її довірчого інтервалу ($M \pm$ довірчий інтервал), який розраховували як множина помилки середньої величини (m) та коефіцієнту Стьюдента (t) для $p=0,05$ відповідно за кількістю спостережень (n), яка дорівнює сумі спостережень у групах порівняння.

Результати досліджень, наведені в цьому розділі, опубліковані в роботі [216].

РОЗДІЛ 3

СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНЕ РЕМОДЕЛЮВАННЯ ПАНКРЕАТИЧНИХ ОСТРІВЦІВ У ЩУРІВ ЛІНІЇ SHR ЗІ СПОНТАННОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ

3.1 Гормонально-метаболічні показники у щурів лінії SHR зі спонтанною гіпертензією

Визначення рівня глікемії натще, після попередньої 16-годинної харчової депривації, показало, що у щурів лінії Wistar концентрація глюкози відповідала $3,94 \pm 0,09$ ммоль/л, що відповідає прийнятому нормоглікемічному діапазону (табл. 3.1). У той же час, за показником концентрації глюкози натще досліджувану групу щурів лінії SHR (n=47) можна було розділити на три приблизно рівні групи:

1) тварини з нормоглікемічним рівнем $4,73 \pm 0,10$ ммоль/л (n=15, або 32 % від досліджуваної когорти), який, тим не менш був на 20 % вище ($p < 0,001$), ніж у щурів лінії Wistar ;

2) тварини з підвищеним рівнем глюкози $6,03 \pm 0,10$ ммоль/л (n=18, або 38 % від досліджуваної когорти), що вище нормоглікемічного діапазону і дозволяє визначити дану групу тварин з порушенням толерантності до глюкози;

3) тварини з гіперглікемією $7,38 \pm 0,20$ ммоль/л (n=14, або 30 % від досліджуваної когорти).

У подальших наших дослідженнях відбиралися тільки щури лінії SHR з нормоглікемією натщесерце. У цих тварин маса тіла не відрізнялася від такої у щурів лінії Wistar, а показники систолічного артеріального тиску були на 48 % більшими ($155,7 \pm 0,9$ мм рт. ст.), ніж у нормотензивних щурів лінії Wistar ($105,0 \pm 1,1$ мм рт. ст.). Разом з тим, концентрація глюкози й інсуліну в крові у нормоглікемічних щурів лінії SHR була на 20 % і 27,7 %, відповідно, більшою,

ніж у нормотензивних щурів лінії Wistar, і це призводило до підвищення у них індексу інсулінорезистентності НОМА-IR вище за верхню межу нормального діапазону (табл. 3.1, рис. 3.1).

Таблиця 3.1 - Гормонально-метаболичні показники у щурів лінії Wistar і SHR (M±m)

Показники	Щури лінії Wistar	Щури лінії SHR		
		з нормоглікемією	з порушеною толерантністю до глюкози	з гіперглікемією
Вага, г	232,2±6,7	236,2±3,9	377,0±5,1 * ¹	405,7±4,8 * ^{1,2}
Глюкоза, ммоль/л	3,94±0,09	4,73±0,10 *	6,03±0,10 * ¹	7,38±0,20 * ^{1,2}
Інсулін, мкМО/мл	8,61±0,41	10,99±0,37 *	15,31±0,64 * ¹	25,97±0,47 * ^{1,2}
НОМА-IR	1,44±0,08	2,74±0,15 *	4,10±0,14 * ¹	8,52±0,26 * ^{1,2}

Примітка. Достовірність відмінностей $p < 0,05$ (для t критерію Стьюдента) до щурів лінії Wistar (*), SHR з нормоглікемією (¹) і SHR з порушеною толерантністю до глюкози (²).

Проведення тесту толерантності до глюкози у цих тварин показало істотну його зміну в порівнянні з нормотензивними щурами лінії Wistar. Так, пік глікемії досягався пізніше (на 30-й хвилині) і за своїм показником значно перевищував поріг ниркової реабсорбції, а на 90-й хвилині тесту показники глікемії не досягали нормоглікемічного діапазону (рис. 3.1). Отже, еуглікемічні показники глюкози натще у щурів лінії SHR можна розглядати як показник фізіологічного стану вуглеводного гомеостазу.

В раніш проведених дослідженнях [189, 217-218] було встановлено, що у нормоглікемічних щурів лінії SHR відзначалися більш високі показники концентрації в крові ліпідів, тригліцеридів і холестерину, що в певній мірі

відображає наявність метаболічних порушень у ліпідному обміні, а порушення толерантності до глюкози і підвищення концентрації інсуліну, лептину і індексу HOMA-IR свідчило про формування первинної інсулінорезистентності у гіпертензивних щурів. Раніше у цих тварин також були виявлені порушення гормонально-цитокінового балансу, що характеризуються високим рівнем в крові кортикостероїдів і прозапальних цитокінів інтерлейкіну-6 та фактору некрозу пухлин альфа [136].

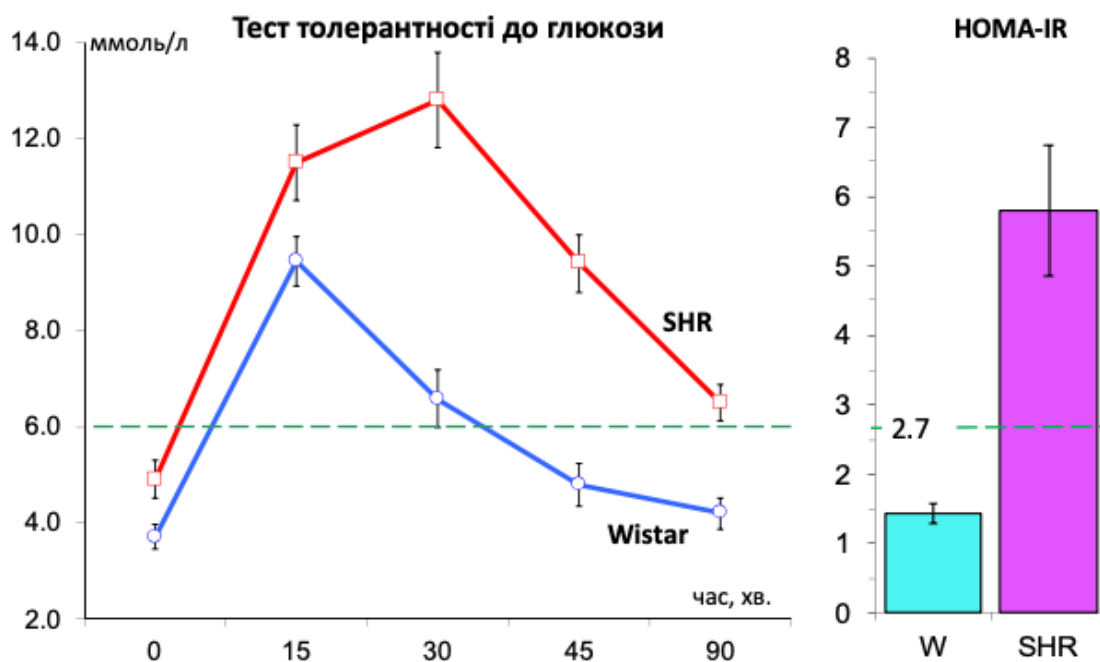


Рисунок 3.1 - Тест толерантності до глюкози і індекс HOMA-IR у щурів лінії Wistar (W) і SHR з еуглікемією натще.

3.2 Особливості організації популяції бета-клітин в підшлунковій залозі у щурів лінії SHR зі спонтанною гіпертензією

Постановка реакції непрямой імунофлуоресценції з поліклональними антитілами до інсуліну і подальша інкубація вторинними антитілами, кон'югованими з FITC, показали, що в підшлунковій залозі нормотензивних щурів лінії Wistar і у гіпертензивних щурів лінії SHR виявлялися островці різної величини (рис. 3.2).

Порівняльний аналіз розподілу панкреатичних островців у підшлунковій

залозі у експериментальних тварин свідчив про те, що кількість островців у гіпертензивних щурів лінії SHR було в 2 рази менше, ніж у нормотензивних щурів лінії Wistar (табл. 3.2, рис. 3.3).

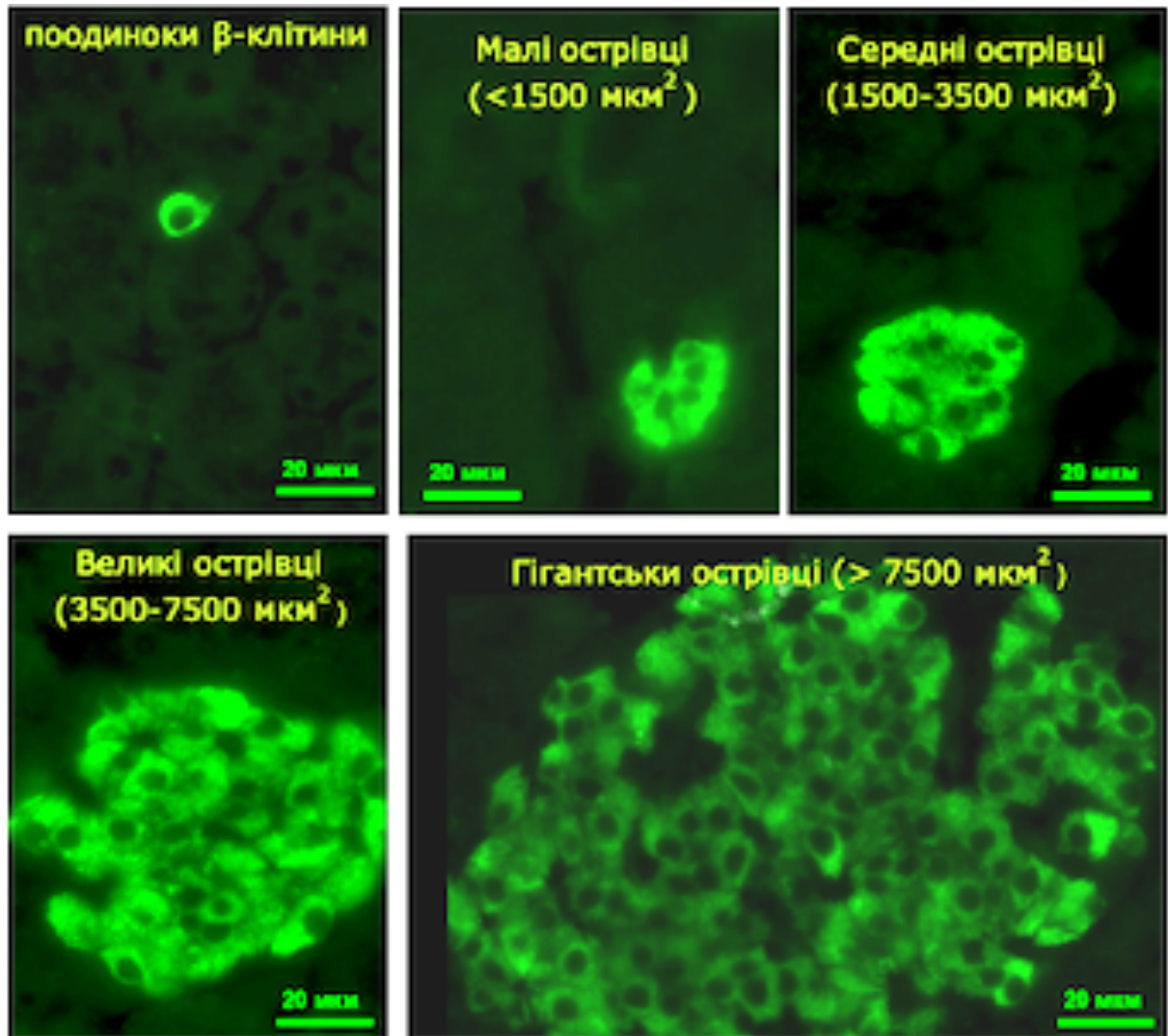


Рисунок 3.2 - Панкреатичні островці різних типів. Реакція непрямой імунофлюоресценції з поліклональними антитілами до інсуліну і вторинними антитілами, кон'югованими з FITC.

При цьому відзначалися істотні відмінності в характері розподілу островців різного типу: якщо у нормотензивних щурів 75 % островців були представлені маленькими (площею менш як 1500 мкм²) і середніми (площею 1500 - 3500 мкм²) утвореннями приблизно в рівному співвідношенні, то у гіпертензивних щурів близько 80 % всіх островців становили маленькі

острівці. У гіпертензивних тварин лінії SHR частка острівців середньої величини (площею 1500 - 3500 мкм²) була в 3 рази менше, а великих острівців (площею 3500 - 7500 мкм²) в 4 рази менше в порівнянні з щурами лінії Wistar (рис. 3.4).

Таблиця 3.2 - Параметри розподілу панкреатичних острівців, що містять бета-клітини, в підшлунковій залозі (на 1 см² площі зрізу) щурів лінії Wistar (чисельник) і лінії SHR (знаменник)

Тип острівців	Кількість острівців, Me (Q1 ÷ Q3)	Кількість бета-клітин, Me (Q1 ÷ Q3)	Вміст інсуліну, O _{1Ф} /см ² , M±m
Одиничні бета-клітини	$\frac{3 (3 \div 5)}{14 (7 \div 15)} \#$	$\frac{5 (4 \div 7)}{15 (10 \div 17)} \#$	$\frac{18,9 \pm 0,2}{52,0 \pm 0,6} *$
Маленькі, площею <1500 мкм ²	$\frac{98 (75 \div 131)}{88 (66 \div 102)}$	$\frac{556 (502 \div 837)}{380 (296 \div 445)} \#$	$\frac{534,3 \pm 2,7}{459,5 \pm 2,2} *$
Середні, площею 1500 - 3500 мкм ²	$\frac{67 (61 \div 76)}{11 (7 \div 15)} \#$	$\frac{563 (450 \div 664)}{196 (155 \div 216)} \#$	$\frac{3211,7 \pm 7,0}{1032,1 \pm 0,7} *$
Великі, площею 3500 – 7500 мкм ²	$\frac{31 (21 \div 38)}{3 (1 \div 6)} \#$	$\frac{2281 (1382 \div 2919)}{238 (199 \div 282)} \#$	$\frac{194,3 \pm 5,2}{25,7 \pm 5,1} *$
Гігантські, площею >7500 мкм ²	$\frac{22 (14 \div 32)}{0}$	$\frac{2790 (1144 \div 5224)}{0}$	$\frac{283,3 \pm 21,5}{0}$
Всього (M±m)	$\frac{231 \pm 3}{112 \pm 1} \#$	$\frac{6738 \pm 174}{833 \pm 8} \#$	$\frac{4242,5 \pm 4,1}{1537,9 \pm 1,2} *$

Примітка. Достовірність відмінностей $p < 0,05$ для t-критерію Стьюдента (*), для U-критерію Манна-Уїтні (#).

У підшлунковій залозі щурів лінії SHR виявлялося велика кількість поодиноких бета-клітин (9,7±1,1 % проти 0,04±0,006 % у щурів лінії Wistar) і повністю були відсутні острівці площею більше 7500 мкм².

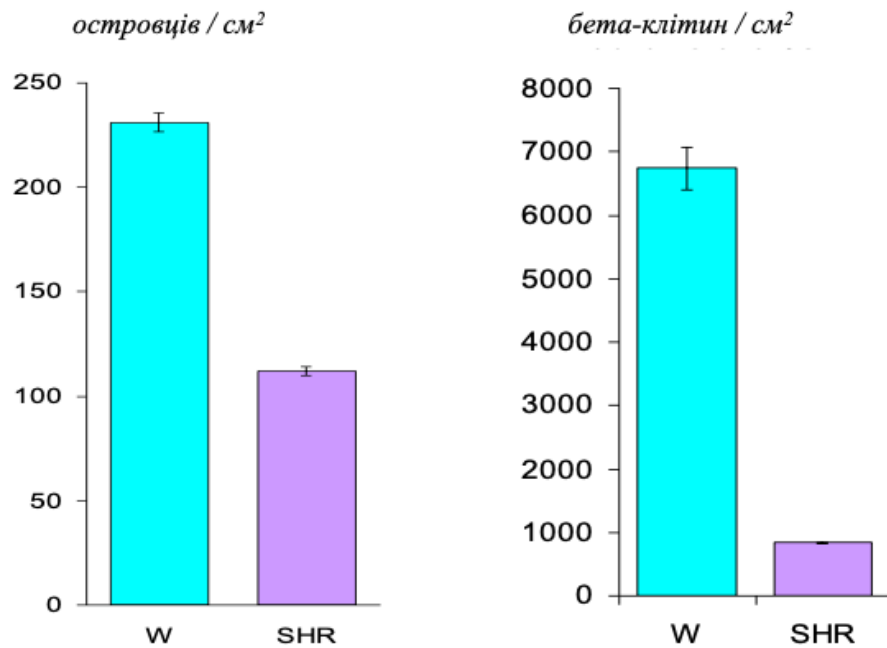


Рисунок 3.3 - Загальна кількість островців і бета-клітин в підшлунковій залозі у щурів лінії Wistar (W) і SHR.

Аналіз щільності розподілу бета-клітин в підшлунковій залозі показав, що у щурів лінії SHR частка інсулін-синтезуючих ендокриноцитів становила близько 12 % від чисельності популяції у нормотензивних щурів лінії Wistar (див. табл. 3.2, рис. 3.3).

Відмінною особливістю щурів лінії SHR було зменшення кількості бета-клітин в площині перетину панкреатичних островців усіх типів. Найбільш чітко це простежувалося в маленьких островцях, де кількість бета-клітин було на 1/3 менше, ніж у щурів лінії Wistar, і в великих островцях, де чисельність ендокриноцитів була знижена в 2 рази (табл. 3.3, рис. 3.4).

Особливості частотного розподілу панкреатичних островців різного типу і зменшення кількості бета-клітин в них призводило до того, що чисельність бета-ендокриноцитів в підшлунковій залозі у щурів лінії SHR становила $12,4 \pm 0,1$ % від кількості бета-клітин у щурів лінії Wistar. При цьому бета-клітини великих островців у щурів лінії SHR були більші ($p < 0,001$), а концентрація імунореактивного інсуліну в них в 2,2 раза вище, ніж у щурів лінії Wistar (табл. 3.3, рис. 3.5).

Таблиця 3.3 - Характеристика бета-клітин підшлункової залози у щурів лінії Wistar (чисельник) і лінії SHR (знаменник)

Тип острівців	Кількість бета-клітин в площині перетину острівця, Me (Q1 ÷ Q3)	Площа бета-клітини, мкм ² , M±m	Концентрація інсуліну в бета-клітині, мОІФ, M±m
Поодинокі бета-клітини	<u>1 (1÷1)</u> 1 (1÷1)	<u>84,4±2,9</u> 84,6±3,6	<u>59,62±1,72</u> 66,39±4,12
Маленькі, площею <1500 мкм ²	<u>6 (3÷9)</u> 4 (2÷5) #	<u>91,6±0,9</u> 106,8±7,8 *	<u>18,62±0,78</u> 23,85±1,04 *
Середні, площею 1500 - 3500 мкм ²	<u>22 (19÷24)</u> 18 (14÷23) #	<u>105,6±1,8</u> 112,4±8,8	<u>4,68±0,13</u> 5,67±0,67
Великі, площею 3500 – 7500 мкм ²	<u>81 (53÷83)</u> 42 (34÷48) #	<u>88,2±1,9</u> 123,4±6,8 *	<u>1,77±0,12</u> 4,08±0,16 *
Гігантські, площею >7500 мкм ²	<u>136 (89÷183)</u> 0	<u>92,2±1,6</u> -	<u>1,40±0,01</u> -

Примітка. Достовірність відмінностей $p < 0,05$ для t-критерію Стьюдента (*), для U-критерію Манна-Уїтні (#).

Отримані дані свідчать про те, що формування спадкової артеріальної гіпертензії у щурів лінії SHR супроводжується ремоделюванням інсулярного апарату підшлункової залози з домінуванням маленьких і середніх острівців, зниженням як кількості панкреатичних острівців, так і зменшенням чисельності бета-клітин.

Слід зауважити, що не дивлячись на те, що у нормоглікемічних гіпертензивних щурів лінії SHR відзначається помірна гіпертрофія бета-клітин з підвищенням концентрації в них інсуліну, однак за рахунок зниження пулу ендокриноцитів питомий вміст інсуліну у підшлунковій залозі істотно зменшувався (практично у 3 рази), у порівнянні з показником у нормотензивних щурів лінії Wistar.

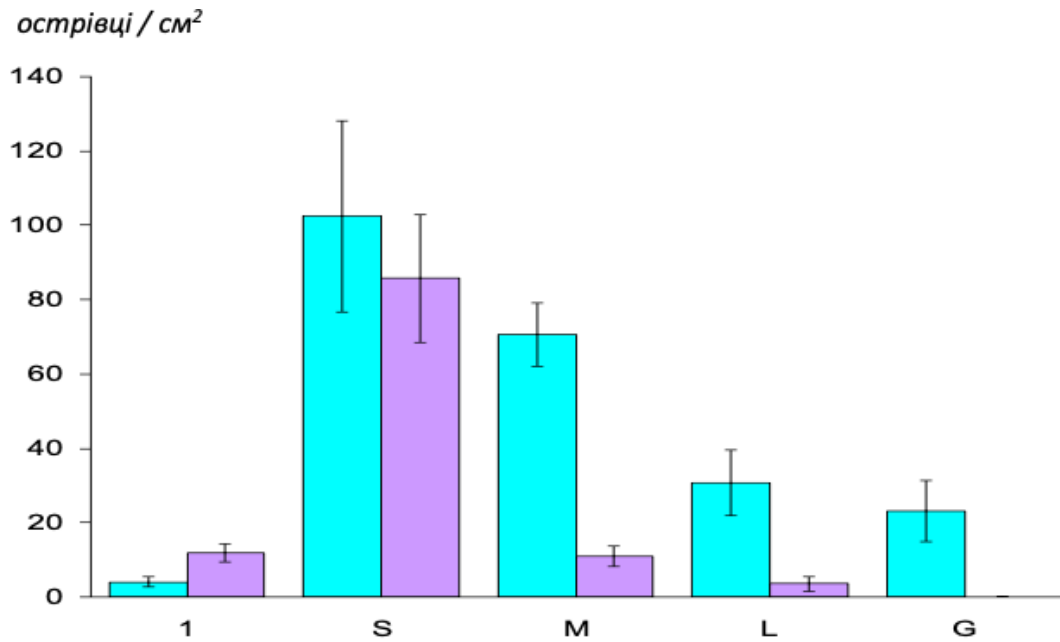


Рисунок 3.4 - Розподіл малих (S), середніх (M), великих (L) і гігантських (G) острівців з бета-ендокриноцитами, а також поодиноких бета-клітин (1) в підшлунковій залозі у щурів лінії Wistar (блакитний колір) і SHR (бузковий колір).

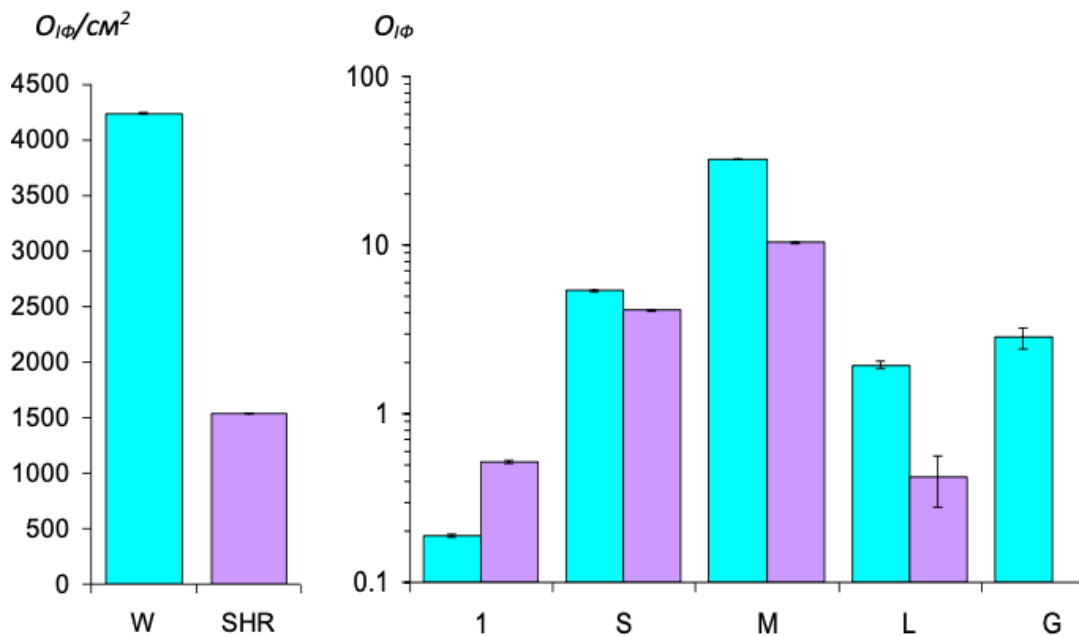


Рисунок 3.5 - Вміст інсуліну (А) в підшлунковій залозі і його концентрація (Б) в малих (S), середніх (M), великих (L) і гігантських (G) панкреатичних острівцях, а також у поодиноких бета-ендокриноцитах (1) у щурів лінії Wistar (блакитний колір) і SHR (бузковий колір).

Характер розподілу панкреатичних острівців у дорослих щурів лінії SHR в значній мірі відповідав картині, яка спостерігалася у 1 місячних щурів лінії Wistar з фізіологічною гестацією [212] - в цей період у тварин ембріональний тип бета-клітин змінюється на дорослий тип [219],- а також відзначався у статевозрілих щурів лінії Wistar, які зазнали хронічний пренатальний стрес [212].

3.3 Особливості організації популяції альфа-клітин в підшлунковій залозі у щурів лінії SHR зі спонтанною гіпертензією

Альфа-клітини панкреатичних острівців становлять другу за чисельністю (15-20 %), після інсулін-синтезуючих бета-клітин, популяцію ендокриноцитів підшлункової залози [23, 76]. Глюкагон який синтезується в альфа-клітинах грає важливу роль в регуляції гомеостазу глюкози, активуючи в печінці глюконеогенез і підвищуючи тим самим рівень глікемії. Більш ніж 40 років тому Unger і Orci [78], запропонували бігормональну гіпотезу патогенезу цукрового діабету, розглядали інсулін і глюкагон як ключові і рівнозначні регулятори гомеостазу глюкози. В даний час все більше дослідників, в тому числі і сам R.H.Unger, схиляються до глюкагоноцентричної теорії патогенезу діабету (див. огляд [78]), визначаючи глюкагон-супресивну терапію як головне стратегічне джерело успіху в лікуванні пацієнтів з цукровим діабетом 2-го типу [92-93]. У зв'язку з цим зрозумілий зростаючий інтерес до фізіології і патофізіології альфа-ендокриноцитів не тільки в нормі або при експериментальної і клінічної ендокринної патології [95, 220], але і в разі розвитку неендокринних захворювань.

Постановка реакції непрямой імунофлюоресценції з поліклональними антитілами до глюкагону і подальша інкубація вторинними, кон'югованими з FITC або TR, показали, що в підшлунковій залозі нормотензивних щурів лінії Wistar і у гіпертензивних щурів лінії SHR глюкагон-секретуючі ендокриноцити виявлялися в острівцях різних типів (рис. 3.6, 3.7).

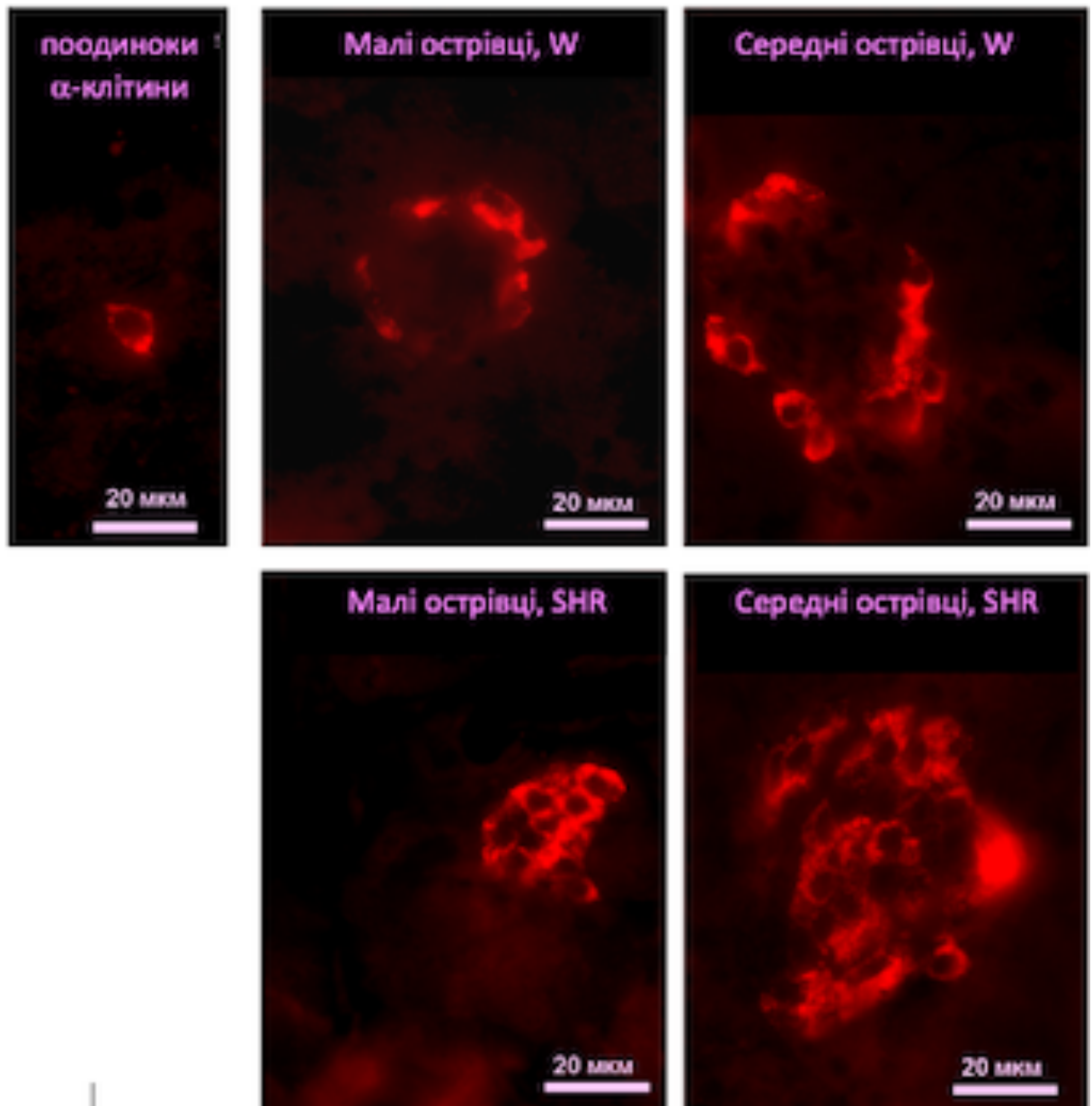


Рисунок 3.6 - Поодинокі альфа-клітини в підшлунковій залозі, а також малі та великі панкреатичні острівці у щурів лінії Wistar (W) і SHR. Реакція непрямой імуофлюоресценції з поліклональними антитілами до глюкагону і вторинними антитілами, кон'югованими з TR.

При оглядовому вивченні імуофлюоресцентної картини звертало на себе увагу те, що якщо у щурів лінії Wistar альфа-ендокриноцити розташовувалися переважно по периферії панкреатичних острівців, і як правило, в один шар клітин, то у гіпертензивних щурів лінії SHR в панкреатичних острівцях периферичну зону острівців становив подвійний шар альфа-клітин. Крім того, у гіпертензивних щурів лінії SHR альфа-клітини в

значній кількості ідентифікувалися і в центральній зоні панкреатичних острівців. Примітно, що серед панкреатичних острівців малої і середньої величини зустрічалися окремі острівці, які були повністю складені з альфа-клітин, і в площині зрізу яких бета-ендокриноцити не ідентифіковані.

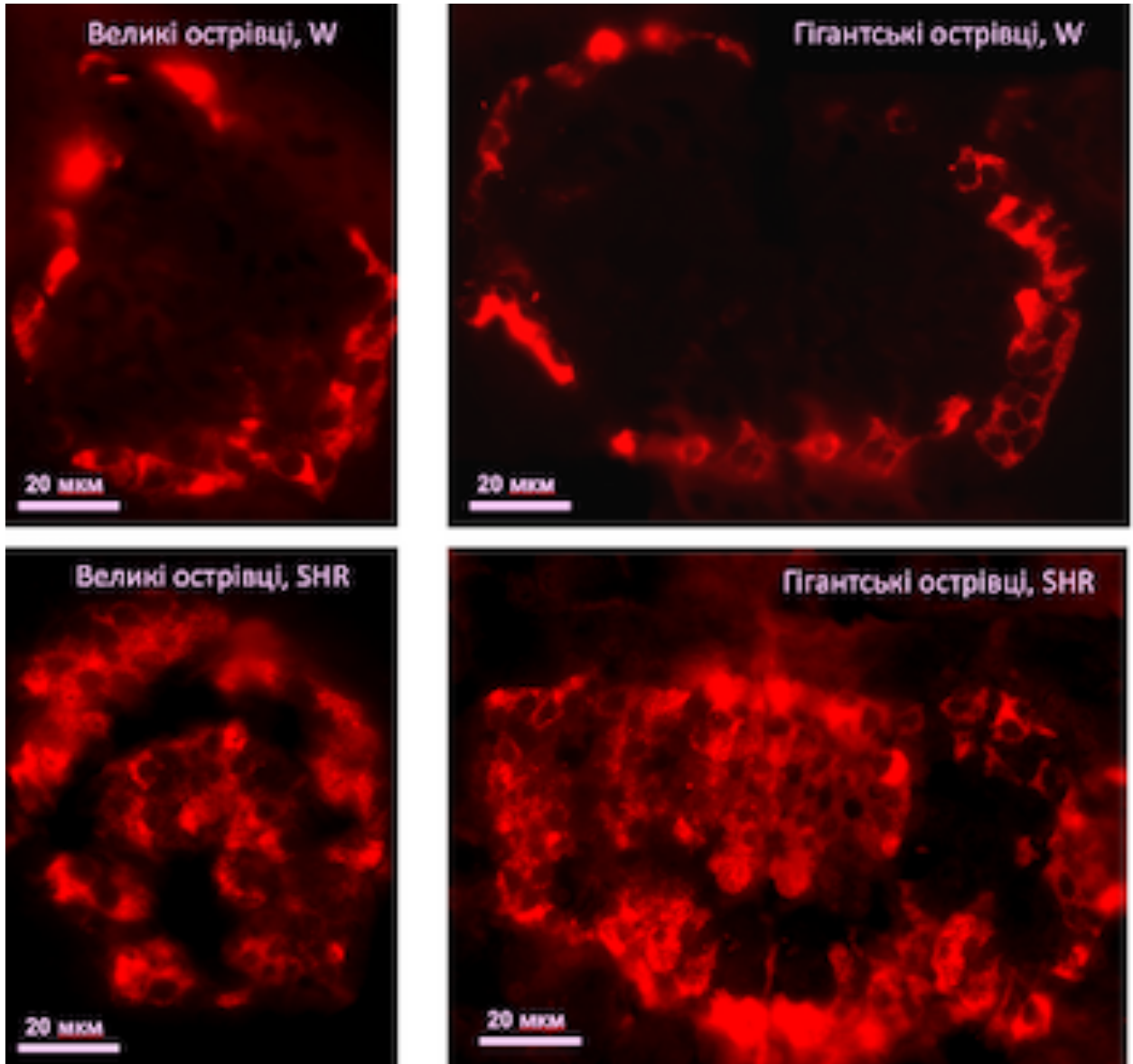


Рисунок 3.7 - Великі і гігантські панкреатичні острівці різних типів у щурів лінії Wistar (W) і SHR. Реакція непрямой імуофлюоресценції з поліклональними антитілами до глюкагону і вторинними антитілами, кон'югованими з TR.

Порівняльний аналіз розподілу панкреатичних острівців у підшлунковій залозі показав, що кількість острівців, що містять глюкагон-синтезуючи

альфа-клітини, у гіпертензивних щурів лінії SHR було на 10 % більше ($p < 0,05$), ніж у нормотензивних щурів лінії Wistar (табл. 3.4, рис. 3.8).

Таблиця 3.4 - Параметри розподілу панкреатичних острівців, що містять альфа-клітини, в підшлунковій залозі (на 1 см² площі зрізу) щурів лінії Wistar (чисельник) і лінії SHR (знаменник)

Тип острівців	Кількість острівців, Me (Q1 ÷ Q3)	Кількість альфа-клітин, Me (Q1 ÷ Q3)	Вміст глюкагону, O _{1Ф} /см ² , M±m
Поодинокі альфа-клітини	$\frac{1}{2}$ (1÷3)	$\frac{1}{2}$ (1÷3)	$\frac{8,6 \pm 1,5}{6,4 \pm 0,9}$
Маленькі, площею <1500 мкм ²	$\frac{12}{15}$ (9÷17) (8÷18)	$\frac{107}{109}$ (75÷116) (68÷126)	$\frac{409 \pm 24}{368 \pm 46}$
Середні, площею 1500 - 3500 мкм ²	$\frac{15}{12}$ (14÷18) (8÷17)	$\frac{211}{145}$ (141÷272) (105÷188)	$\frac{784 \pm 45}{681 \pm 56}$
Великі, площею 3500 – 7500 мкм ²	$\frac{9}{21}$ (6÷17) (19÷24) #	$\frac{257}{766}$ (121÷397) (729÷911) #	$\frac{1125 \pm 54}{4102 \pm 118}$ *
Гігантські, площею >7500 мкм ²	$\frac{9}{8}$ (9÷9) (6÷16)	$\frac{507}{639}$ (312÷543) (440÷1415)	$\frac{2103 \pm 148}{3802 \pm 132}$ *
Всього (M±m)	$\frac{53 \pm 1}{59 \pm 1}$ *#	$\frac{1051 \pm 23}{1951 \pm 50}$ *#	$\frac{4428 \pm 30}{8959 \pm 39}$ *

Примітка. Достовірність відмінностей $p < 0,05$ для t-критерію Стьюдента (*), для U-критерію Манна-Уїтні (#).

При цьому достовірні відмінності в характері розподілу острівців різного типу відзначалися тільки з боку великих острівців (площею 3500-7500 мкм²), кількість яких в підшлунковій залозі було на 65 % більше у щурів лінії SHR (рис. 3.9).

Примітним було те, що в тканини підшлункової залози у щурів обох ліній зустрічалися поодинокі альфа-ендокриноцити, що не формують окремі острівці. Поодинокі альфа-клітини нормотензивних щурів відрізнялися від

ендокриноцитів сформованих острівців на 12-13 % меншою площею ($p < 0,05$) з більш високою (на 13-36 %, $p < 0,01$) концентрацією глюкагону в цитоплазмі (табл. 3.5, рис. 3.10).

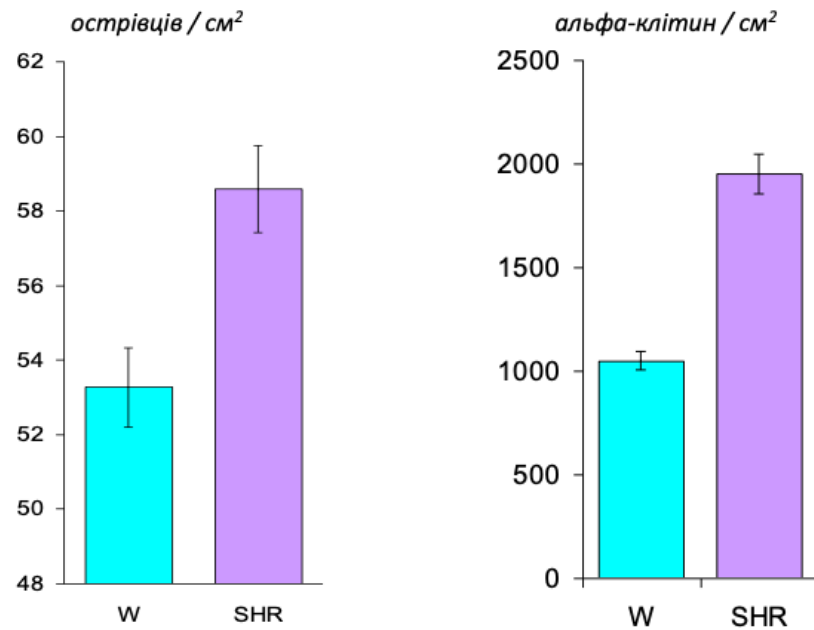


Рисунок 3.8 - Загальна кількість острівців і альфа-клітин в підшлунковій залозі у щурів лінії Wistar (W) і SHR.

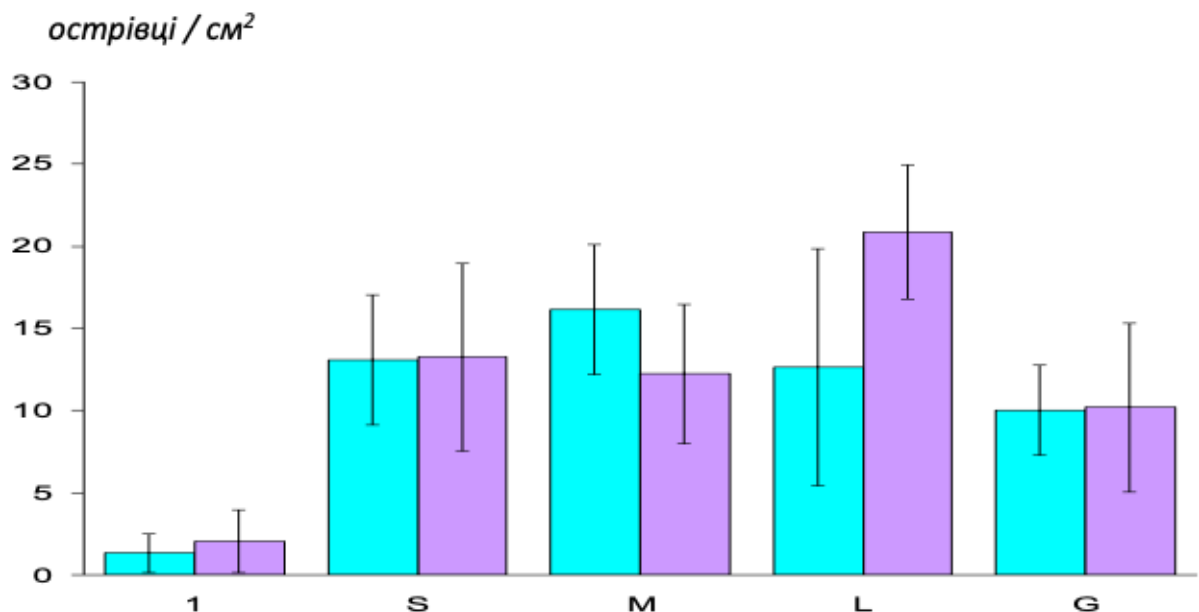


Рисунок 3.9 - Розподіл малих (S), середніх (M), великих (L) і гігантських (G) острівців з альфа-ендокриноцитами, а також поодиноких альфа-клітин (1) у щурів лінії Wistar (блакитний колір) і SHR (бузковий колір).

Таблиця 3.5 - Характеристика альфа-клітин підшлункової залози у щурів лінії Wistar (чисельник) і лінії SHR (знаменник)

Тип острівців	Кількість альфа-клітин в площині перетину острівця, Me (Q1 ÷ Q3)	Площа альфа-клітини, мкм ² , M±m	Концентрація глюкагону в альфа-клітині, мЕлФ, M±m
Поодинокі альфа-клітини	$\frac{1}{1}$	$\frac{52,0 \pm 2,2}{46,7 \pm 2,8}$	$\frac{90,0 \pm 16,7}{49,9 \pm 2,3}$
Маленькі, площею <1500 мкм ²	$\frac{6 (4 \div 11)}{6 (4 \div 9)}$	$\frac{59,3 \pm 0,7}{60,6 \pm 1,2}$	$\frac{73,5 \pm 3,7}{58,0 \pm 0,4}^*$
Середні, площею 1500 - 3500 мкм ²	$\frac{11 (8 \div 14)}{12 (8 \div 20)}$	$\frac{60,0 \pm 0,5}{60,0 \pm 0,4}$	$\frac{65,5 \pm 2,7}{58,3 \pm 2,1}^*$
Великі, площею 3500 – 7500 мкм ²	$\frac{20 (16 \div 27)}{44 (37 \div 52)}^\#$	$\frac{60,2 \pm 0,2}{60,2 \pm 1,0}$	$\frac{66,2 \pm 1,7}{71,8 \pm 3,5}$
Гігантські, площею >7500 мкм ²	$\frac{42 (33 \div 57)}{75 (70 \div 94)}^\#$	$\frac{60,2 \pm 0,6}{60,0 \pm 0,05}$	$\frac{69,6 \pm 2,8}{73,8 \pm 2,8}$

Примітка. Достовірність відмінностей $p < 0,05$ для t-критерію Стьюдента (*), для U-критерію Манна-Уїтні (#).

У гіпертензивних щурів площа поодиноких альфа-клітин була також менше, ніж ендокриноцитів сформованих острівців (на 20-22 %, $p < 0,05$), однак і концентрація глюкагону в них була на 13-32 % нижче ($p < 0,05$).

У той же час, якщо показники площі альфа-клітин сформованих острівців у тварин обох ліній не відрізнялися, то концентрація глюкагону в маленьких і середніх острівцях у щурів лінії SHR була менше на 21 % і 11 %, відповідно ($p < 0,05$).

Слід зазначити, що у гіпертензивних щурів лінії SHR в гігантських острівцях (площею більше 7500 мкм²) налічувалося на 72 % більше альфа-ендокриноцитів, ніж у щурів лінії Wistar, а в великих острівцях ця різниця була дворазова (див. табл. 3.4, рис. 3.9).

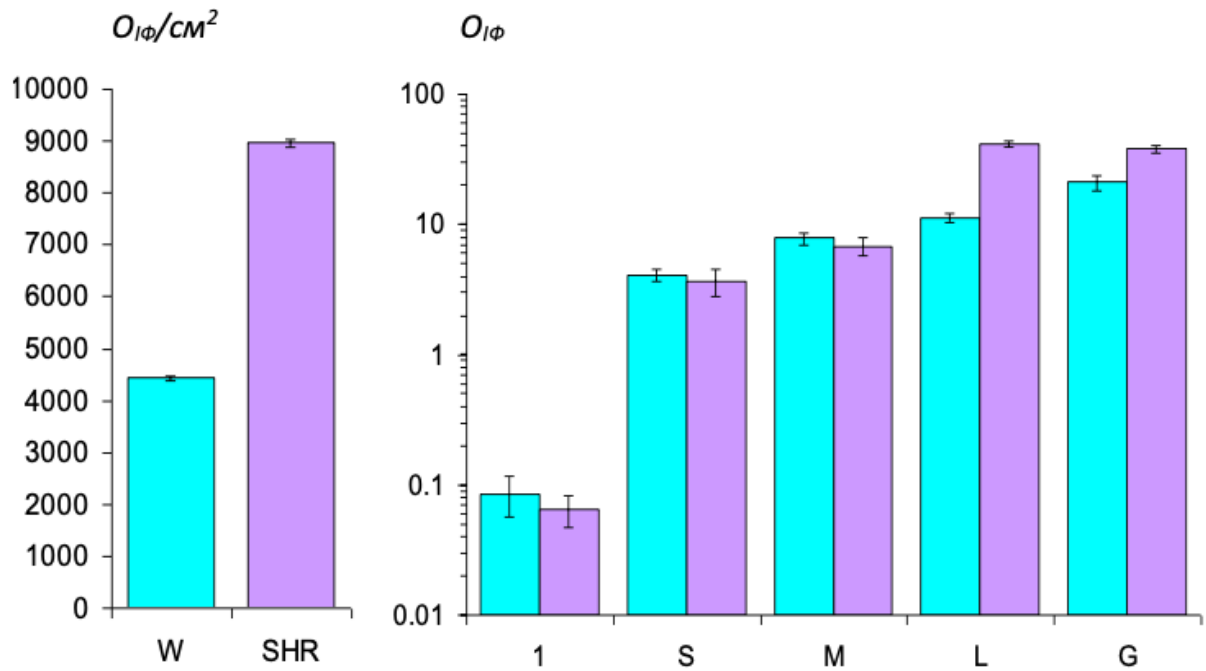


Рисунок 3.10 - Вміст глюкагону (А) в підшлунковій залозі і його концентрація (Б) в малих (S), середніх (M), великих (L) і гігантських (G) панкреатичних острівцях, а також у поодиноких альфа-ендокриноцитах (1) у щурів лінії Wistar (блакитний колір) і SHR (бузковий колір).

Відповідно, альфа-клітини цих острівців вносили суттєвий внесок в більш високі показники вмісту глюкагону в підшлунковій залозі гіпертензивних щурів: в гігантських острівцях кількість гормону було на 80 %, а в великих острівцях - в 3,6 раза вище, ніж у нормотензивних щурів.

При цьому питомий вміст глюкагону в підшлунковій залозі у щурів лінії SHR в 2 рази перевищувало аналогічний показник щурів лінії Wistar, так само як і питомий показник чисельності альфа-ендокриноцитів був в 1,9 раза більше у гіпертензивних тварин (див. табл. 3.5).

Таким чином, проведені дослідження показали, що панкреатичні острівці нормоглікемічних гіпертензивних щурів лінії SHR характеризуються збільшенням пулу альфа-ендокриноцитів в поєднанні зі збільшенням питомого вмісту глюкагону в підшлунковій залозі в порівнянні з нормотензивними щурами лінії Wistar.

3.4 Особливості організації популяції дельта-клітин в підшлунковій залозі у щурів лінії SHR зі спонтанною гіпертензією

Одним з класичних ендокриноцитів панкреатичних острівців є соматостатин-сінтезуючі клітини. Постановка реакції непрямой імуофлюоресценції з моноклональними антитілами до соматостатину і подальша інкубація вторинними антитілами, кон'югованими з FITC, показали, що в підшлунковій залозі нормотензивних щурів лінії Wistar і у гіпертензивних щурів лінії SHR соматостатин-секретуючі дельта-клітини виявлялися в острівцях різних типів (рис. 3.11).

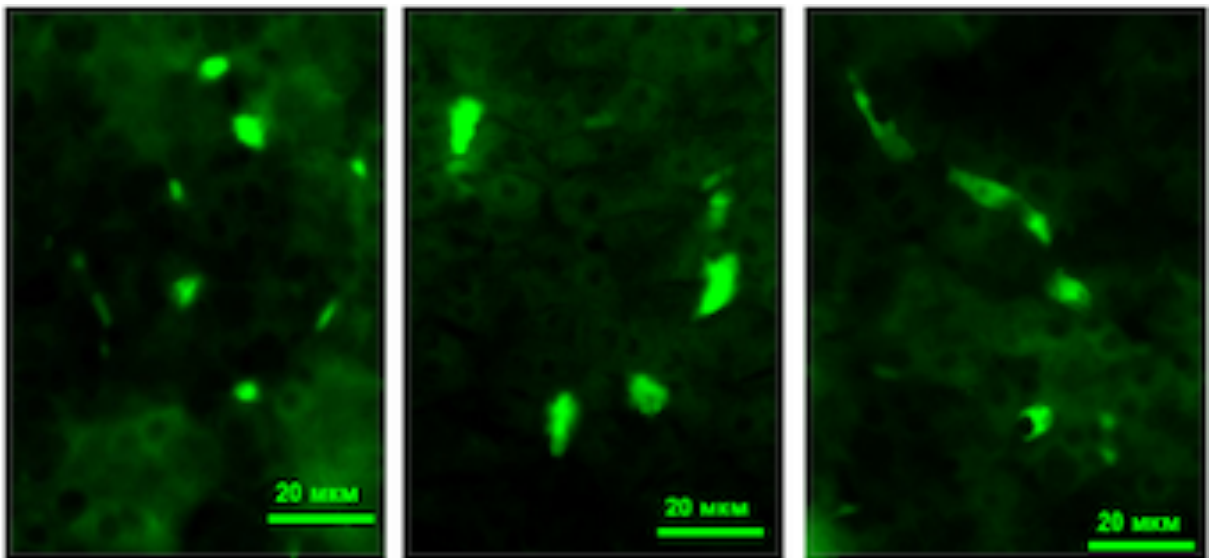


Рисунок 3.11 - Дельта-ендокриноцити в панкреатичних острівцях. Реакція непрямой імуофлюоресценції з моноклональними антитілами до соматостатину і вторинними антитілами, кон'югованими з FITC.

Слід зазначити, що одиничних дельта-клітин, які не формують окремих острівців, в тканини підшлункової залози не виявлялося як у щурів лінії Wistar, так і у тварин лінії SHR. Аналіз розподілу дельта-клітин в панкреатичних острівцях показав, що у нормотензивних щурів лінії Wistar в маленьких острівцях соматостатин-імунопозитивні ендокриноцити не ідентифікувались (табл. 3.6).

Таблиця 3.6 - Параметри розподілу панкреатичних острівців, що містять дельта-клітини, в підшлунковій залозі (на 1 см² площі зрізу) щурів лінії Wistar (чисельник) і лінії SHR (знаменник)

Тип острівців	Кількість острівців, Me (Q1 ÷ Q3)	Кількість дельта-клітин, Me (Q1 ÷ Q3)	Вміст соматостатина, O _{1Ф} /см ² , M±m
Маленькі, площею <1500 мкм ²	$\frac{0}{3 (2\div 3)}$	$\frac{0}{3 (2\div 3)}$	$\frac{0}{0,123\pm 0,003}$
Середні, площею 1500 - 3500 мкм ²	$\frac{11 (5\div 12)}{3 (2\div 4) \#}$	$\frac{12 (8\div 13)}{3 (2\div 4) \#}$	$\frac{0,417\pm 0,058}{0,089\pm 0,003 *}$
Великі, площею 3500 – 7500 мкм ²	$\frac{12 (12\div 13)}{20 (19\div 23) \#}$	$\frac{24 (20\div 26)}{53 (39\div 66) \#}$	$\frac{0,825\pm 0,096}{0,996\pm 0,075}$
Гігантські, площею >7500 мкм ²	$\frac{11 (9\div 19)}{10 (7\div 12)}$	$\frac{23 (21\div 52)}{30 (21\div 36)}$	$\frac{1,330\pm 0,135}{0,662\pm 0,078 *}$
Всього (M±m)	$\frac{38\pm 1}{36\pm 1 \#}$	$\frac{77\pm 2}{90\pm 1 \#}$	$\frac{2,57\pm 0,03}{1,87\pm 0,02 *}$

Примітка. Достовірність відмінностей $p < 0,05$ для t-критерію Стьюдента (*), для U-критерію Манна-Уїтні (#).

У великих і гігантських панкреатичних острівцях дельта-клітин була приблизно однакова кількість, і за чисельністю їх кількість в 2 рази була вище, ніж в середніх острівцях. При цьому кількість панкреатичних острівців, що містять дельта-клітини, у нормотензивних щурів лінії Wistar було приблизно рівну кількість (див. табл. 3.6, рис. 3.12).

Характер розподілу острівців, що містять дельта-клітини, в тканини підшлункової залози гіпертензивних щурів лінії SHR відрізнявся наявністю соматостатин-імунопозитивних ендокриноцитів в маленьких панкреатичних острівцях. При цьому більшість панкреатичних острівців, що містять дельта-клітини, були великими за площею (3500-7500 мкм²). Хоча чисельність панкреатичних острівців, що містять дельта-клітини, у щурів лінії SHR була

на 3,2 % менше ($p=0,032$), ніж у щурів лінії Wistar, питома чисельність дельта-ендокриноцитів у щурів лінії SHR на 18 % перевищувала даний показник у щурів лінії Wistar.

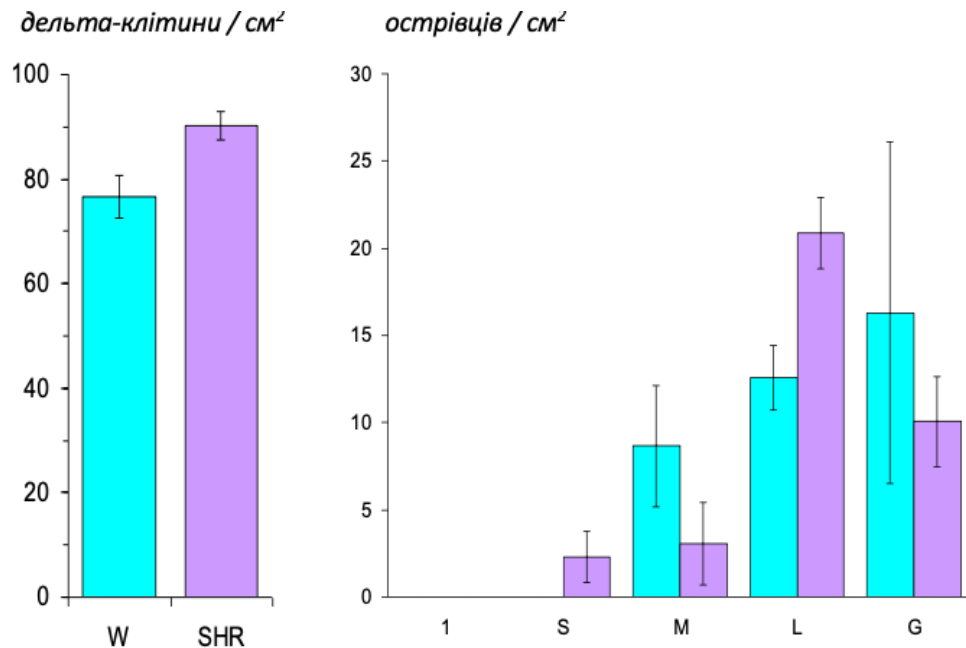


Рисунок 3.12 - Загальна кількість дельта-клітин в підшлунковій залозі у щурів лінії Wistar (W) і SHR, а також розподіл малих (S), середніх (M), великих (L) і гігантських (G) острівців з дельта-ендокриноцитами в підшлунковій залозі (см^{-2}) у щурів лінії Wistar (блакитний колір) і SHR (бузковий колір).

Слід зазначити, що у експериментальних тварин обох ліній чисельність дельта-ендокриноцитів в панкреатичних острівцях була невисокою - від 1 дельта-клітини в площині перетину маленького острівця, до 4 клітин в площині перетину гігантського острівця (табл. 3.7).

Дельта-клітини маленьких острівців характеризувалися найбільшою концентрацією імунореактивного соматостатина, тоді як дельта-ендокриноцити острівців інших типів мали приблизно рівну. Але більш низьку концентрацію гормону в цитоплазмі. Проте, характер розподілу панкреатичних острівців у підшлунковій залозі, чисельність дельта-ендокриноцитів і особливості концентрації гормону в клітинах приводили до

того, що питомий вміст соматостатину на одиницю площі підшлункової залози у гіпертензивних щурів лінії SHR було на 23,3 % менше, ніж у нормотензивних щурів лінії Wistar (див. табл. 3.7. рис. 3.13).

Таблиця 3.7 - Характеристика дельта клітин підшлункової залози у щурів лінії Wistar (чисельник) і лінії SHR (знаменник)

Тип острівців	Кількість дельта-клітин в площині перетину острівця, Me (Q1 ÷ Q3)	Площа дельта-клітини, мкм ² , M±m	Концентрація соматостатину в дельта-клітині, мОІФ, M±m
Маленькі, площею <1500 мкм ²	$\frac{0}{1 (1\div 1)}$	$\frac{-}{41,4\pm 0,6}$	$\frac{-}{1288\pm 376}$
Середні, площею 1500 - 3500 мкм ²	$\frac{1 (1\div 1)}{1 (1\div 1)}$	$\frac{51,7\pm 2,0}{55,2\pm 1,2}$	$\frac{730\pm 117}{525\pm 196}$
Великі, площею 3500 – 7500 мкм ²	$\frac{1 (1\div 2)}{2 (2\div 3)}$	$\frac{63,9\pm 3,7}{47,7\pm 2,3 *}$	$\frac{799\pm 90}{578\pm 47 *}$
Гігантські, площею >7500 мкм ²	$\frac{2 (2\div 3)}{2 (2\div 4)}$	$\frac{54,8\pm 1,0}{51,9\pm 0,7 *}$	$\frac{556\pm 45}{450\pm 41}$
Всього (M±m)	$\frac{0}{1 (1\div 1)}$	$\frac{-}{41,4\pm 0,6}$	$\frac{-}{1288\pm 376}$

Примітка. Достовірність відмінностей $p < 0,05$ для t-критерію Стьюдента (*), для U-критерію Манна-Уїтні (#).

Проведені дослідження показали, що у нормоглікемічних гіпертензивних щурів лінії SHR незважаючи на незначну перевагу за чисельністю пулу дельта ендокриноцитів в підшлунковій залозі, питомий вміст соматостатину достовірно нижче, в порівнянні з нормотензивними щурами лінії Wistar.

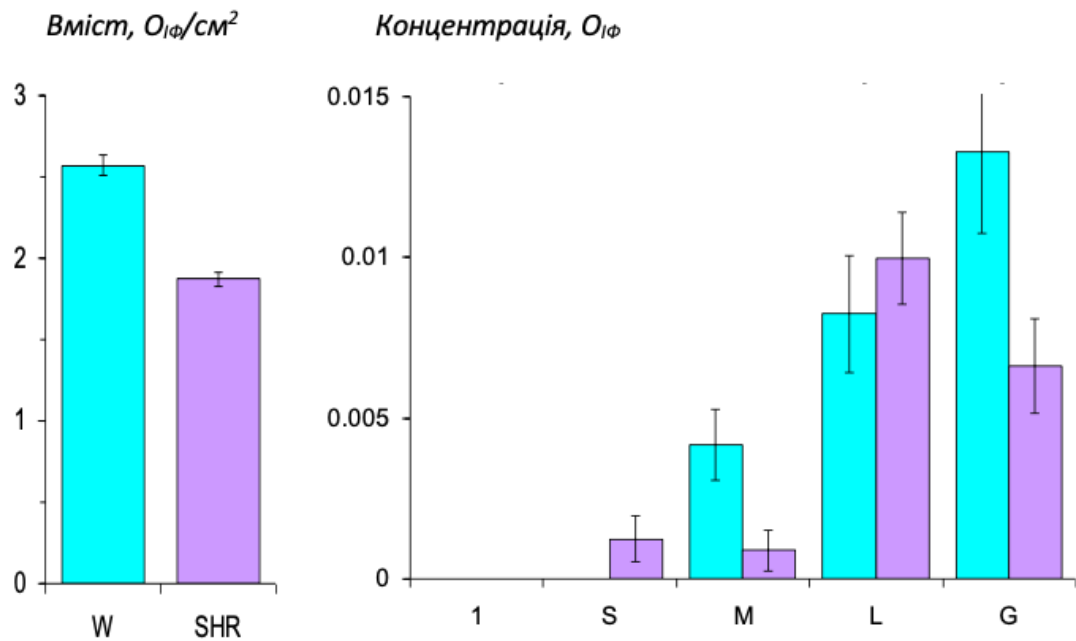


Рисунок 3.13 - Вміст соматостатина в підшлунковій залозі і його концентрація в малих (S), середніх (M), великих (L) і гігантських (G) панкреатичних острівцях у щурів лінії Wistar (блакитний колір) і SHR (бузковий колір).

3.5 Особливості синтезу білків Bcl2 і p53 у панкреатичних острівцях нормотензивних і гіпертензивних щурів

Результати проведених досліджень по вивченню цитоархітекτονіки панкреатичних острівців нормоглікемічних нормотензивних щурів лінії Wistar і гіпертензивних щурів лінії SHR показав характерні аспекти ремоделювання ендокринного апарату підшлункової залози при артеріальній гіпертензії. Ми вважаємо, що на чисельність ендокриноцитів в підшлунковій залозі в нормі і при патології можуть впливати не тільки бета-цитопатичні чинники, такі як стрептозотонин, антитіла до внутрішньоострівцевих антигенів, гіпоксія, а й рівень внутрішньоклітинної експресії проапоптотичних і антиапоптотичних факторів, таких як білки p53 і Bcl2.

Відомо, що внутрішньоклітинний білок Bcl-2, виступаючи в ролі регулятора апоптозу, пригнічує каспаз за рахунок запобігання виходу цитохрому C з мітохондрій і/або за рахунок зв'язування фактора, що активує апоптоз - APAF1 [106]. У зв'язку з цим білок Bcl-2 проявляє антиапоптотичну

функцію, пригнічуючи апоптоз у багатьох клітинних системах, включаючи і ендокриноцити підшлункової залози. Продукція іншого клітинного білка - p53, стимулюється при пошкодженнях генетичного апарату клітини, а також при будь-яких стимулах, які можуть привести до подібних пошкоджень або є сигналом про несприятливий стан клітин [148]. Білок p53 є проапоптотичним і його функція полягає у видаленні з пулу репліцируючих клітин тих, які пошкоджені або є потенційно небезпечними для організму.

Постановка реакції непрямой імуофлюоресценції з моноклональними антитілами до білків Bcl2 та p53, і подальша інкубація вторинними антитілами, кон'югованими з FITC або TR (рис. 3.14), показали, що в підшлунковій залозі нормотензивних щурів лінії Wistar і у гіпертензивних щурів лінії SHR в панкреатичних острівцях різних типів ідентифікувалися ендокриноцити, які експресують антиапоптотичний білок Bcl2 (рис. 3.14-А) і проапоптотичний білок p53 (рис. 3.14-Б). Кількісні параметри експресії білків апоптоза, які оцінюються за величиною площі імуофлюоресценції до площі панкреатичного острівця, показали, що в панкреатичних острівцях у гіпертензивних щурів площа відносної імуофлюоресценції до білка Bcl2 була в 2 рази менше, ніж у нормотензивних тварин. Відносно показників експресії проапоптотичного білка p53 статистичної різниці відносної площі імуореактивності у нормотензивних і гіпертензивних щурів не спостерігалось (табл. 3.8, рис. 3.15). Разом з тим, показник співвідношення відносних площ експресії білків Bcl2 і p53 в панкреатичних острівцях свідчив про 2-кратне перевищення інтенсивності синтезу антиапоптотичного білка Bcl2 у нормотензивних щурів лінії Wistar.

Незважаючи на те, що показники концентрації білків Bcl2 або p53 клітинах у нормотензивних і гіпертензивних щурів статистично не розрізнялися, проте співвідношення цих показників свідчило про більш високі показники експресії антиапоптотичного білка Bcl2 в ендокриноцитах експериментальних тварин (див. табл. 3.8). При цьому розрахунок вмісту білка Bcl2 в панкреатичних острівцях показав його 3 кратне зниження у

гіпертензивних щурів у порівнянні з нормотензивними тваринами (рис. 3.15). При цьому вміст білка p53 в острівцях у обох ліній тварин статистично не відрізнявся (рис. 3.16).

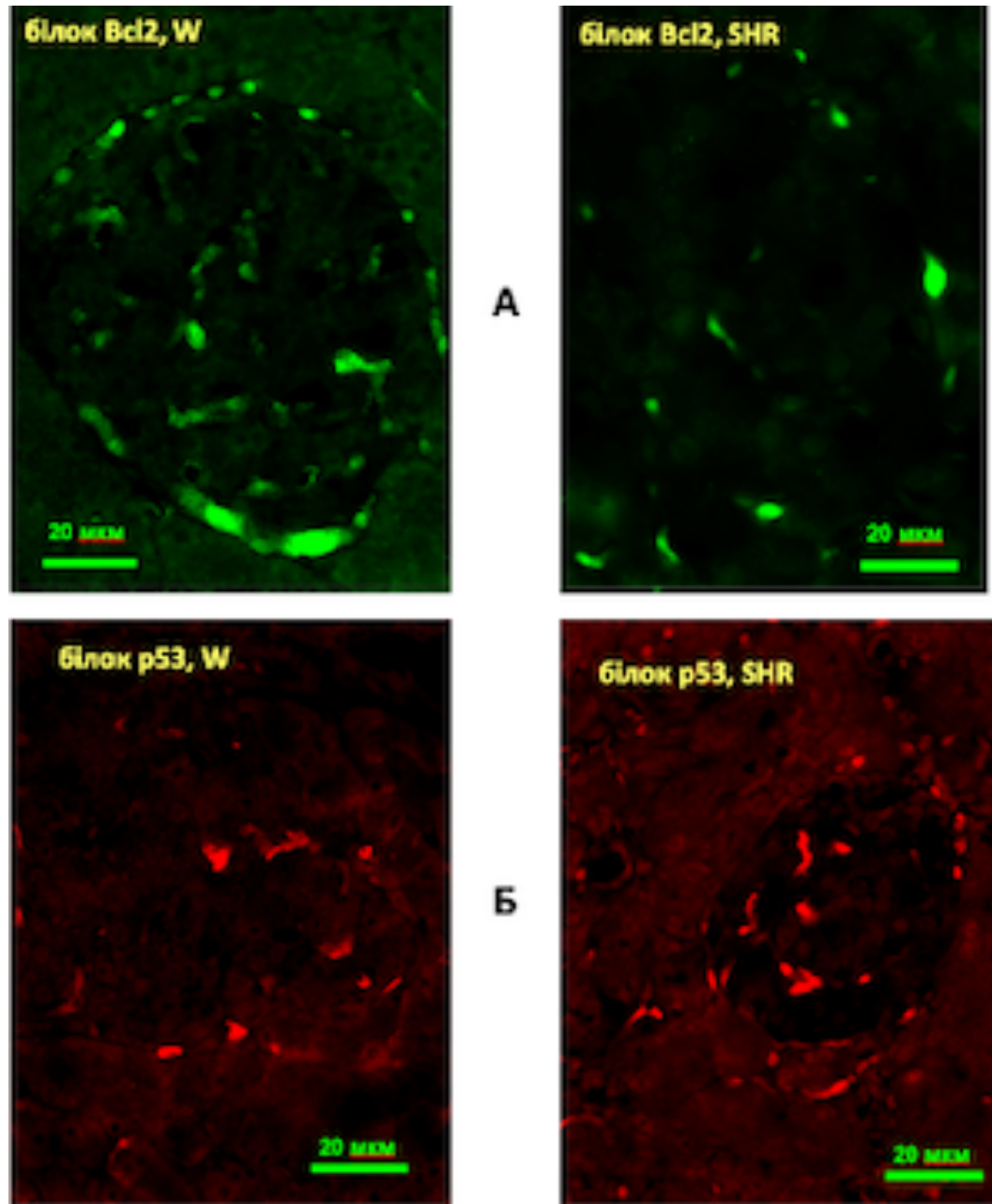


Рисунок 3.14 – Ендокриноцити, які синтезують антиапоптотичний білок Bcl2 (А) і проапоптотичний білок p53 (Б) в панкреатичних острівцях щурів лінії Wistar (W) і лінії SHR. Реакція непрямой імунофлюоресценції з моноклональними антитілами до білка Bcl2 і вторинними антитілами, кон'югованими з FITC (А) і TR (Б).

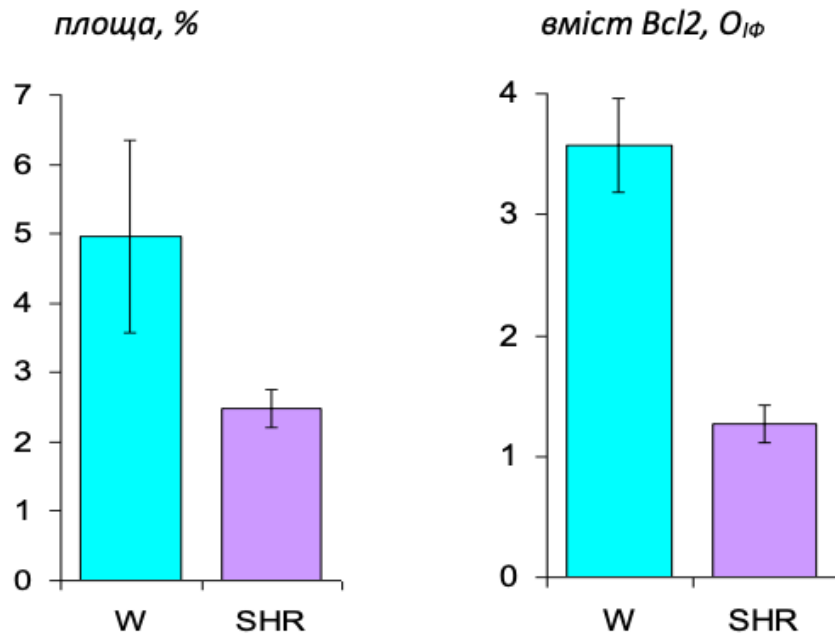


Рисунок 3.15 - Відносна площа імунореактивності (%) до білка Bcl2 (А) і його вміст (Б) в панкреатичних острівцях у щурів лінії Wistar (блакитний колір) і SHR (бузковий колір).

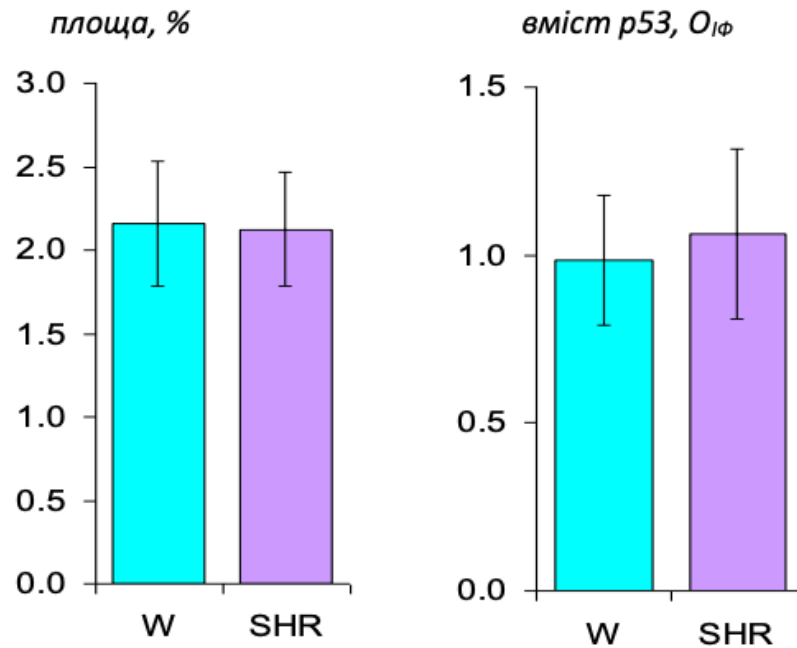


Рисунок 3.16 - Відносна площа імунореактивності (%) до білка p53 (А) і його вміст (Б) в панкреатичних острівцях у щурів лінії Wistar (блакитний колір) і SHR (бузковий колір).

Таблиця 3.8 - Параметри експресії білків Bcl2 p53 в панкреатичних острівцях у щурів лінії Wistar (чисельник) і лінії SHR (знаменник) ($M \pm m$)

	Відносна площа (%) імунопозитивного матеріалу в острівцях	Концентрація білків (O _{IФ}) в ендокриноцитах	Вміст білків (O _{IФ} /cm ²) в панкреатичних острівцях
Bcl2	$\frac{4,966 \pm 0,728}{2,475 \pm 0,144} *$	$\frac{0,611 \pm 0,079}{0,514 \pm 0,011}$	$\frac{3,570 \pm 0,203}{1,271 \pm 0,079} *$
p53	$\frac{2,157 \pm 0,195}{2,123 \pm 0,180}$	$\frac{0,449 \pm 0,017}{0,448 \pm 0,021}$	$\frac{0,984 \pm 0,102}{1,063 \pm 0,133}$
Bcl2 / p53	$\frac{2,302 \pm 0,083}{1,165 \pm 0,096} *$	$\frac{1,360 \pm 0,050}{1,147 \pm 0,020} *$	$\frac{3,628 \pm 0,059}{1,194 \pm 0,026} *$
індекс апоптозу p53 / Bcl2			$\frac{0,275 \pm 0,059}{0,836 \pm 0,026} *$

Примітка. Достовірність відмінностей $p < 0,05$ для t-критерію Стьюдента (*), для U-критерію Манна-Уїтні (#).

Таким чином, розрахунковий індекс апоптозу ендокриноцитів в підшлунковій залозі, що оцінюється за величиною вмісту білків p53 і Bcl2 в панкреатичних острівцях, показав його 3-кратне зростання у гіпертензивних щурів лінії SHR (див. табл. 3.9). Можливо, що низькі показники експресії антиапоптотичного білка Bcl2 в ендокриноцити підшлункової залози у гіпертензивних щурів лінії SHR, є однією з причин зменшення чисельності популяції бета-клітин у цих тварин.

Висновок

Проведені дослідження, описані в цьому розділі, виявили істотні відмінності організації та морфофункціонального стану панкреатичних острівців між нормотензивними щурами лінії Wistar і нормоглікемічними щурами лінії SHR зі спадковою артеріальною гіпертензією. Так, гіпертензивні щури лінії SHR характеризуються порушенням показників вуглеводного гомеостазу, характерних для цукрового діабету 2-го типу. При цьому формування спадкової артеріальної гіпертензії у щурів лінії SHR супроводжується ремоделюванням інсулярного апарату підшлункової залози з домінуванням маленьких і середніх острівців, зниженням кількості панкреатичних острівців в 2 рази і зменшенням чисельності бета-клітин в 8 разів. У нормоглікемічних гіпертензивних щурів лінії SHR відзначається помірна гіпертрофія бета-клітин і підвищення концентрації в них інсуліну. При цьому за рахунок зниження пулу ендокриноцитів питомий вміст інсуліну приблизно в 3 рази менше, ніж у нормотензивних щурів лінії Wistar. Панкреатичні острівці нормоглікемічних гіпертензивних щурів лінії SHR характеризуються збільшенням пулу альфа-ендокриноцитів, чисельність яких в 1,9 рази більше, ніж у нормотензивних щурів лінії Wistar. У щурів лінії SHR в підшлунковій залозі спостерігається збільшення питомої вмісту глюкагону, кількість якого в 2 рази перевищує показники у нормотензивних щурів лінії Wistar. У нормоглікемічних гіпертензивних щурів лінії SHR незважаючи ні на незначну перевагу за чисельністю пулу дельта ендокриноцитів в підшлунковій залозі, питомий вміст соматостатину достовірно нижче, в порівнянні з нормотензивними щурами лінії Wistar. Для ендокриноцитів панкреатичних острівців нормотензивних щурів лінії Wistar характерний більш високий рівень синтезу антиапоптотичного білка Bcl2, ніж у гіпертензивних щурів лінії SHR, при однаковому рівні експресії проапоптотичного білка p53. У панкреатичних острівцях гіпертензивних щурів лінії SHR розвиток діабету супроводжується 2-кратним наростанням питомої вмісту проапоптотичного білка p53 без редукції синтезу антиапоптотичного білка Bcl2. При цьому

величина індексу апоптозу p53/Bcl2 у щурів лінії SHR зберігає статистично більш високі значення, ніж у щурів лінії Wistar.

Таким чином, комплексне оцінювання отриманих даних свідчать про ремоделювання ендокринного апарату підшлункової залози у щурів лінії SHR в результаті формування артеріальної гіпертензії.

Результати досліджень, наведені в цьому розділі, опубліковані в роботах [201, 221-230].

РОЗДІЛ 4

РЕАКТИВНІ ЗМІНИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ПАНКРЕАТИЧНИХ ОСТРІВЦІВ У ЩУРІВ ЛІНІЇ SHR ЗІ СПОНТАННОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ ПІСЛЯ ОДНОРАЗОВОГО ВВЕДЕННЯ СТРЕПРОЗОТОЦИНУ

У попередньому розділі були представлені дані, які доводять той факт, що формування спадкової гіпертензії у щурів лінії SHR призводить до ремоделювання панкреатичних острівців. Критерії ремоделювання острівців проявляються зміною цитоархітекtonіки і порушенням балансу пулу ендокриноцитів окремих типів, характеризуються зміною вмісту острівцевих гормонів у підшлунковій залозі. Ми вважаємо, що подібні зміни острівцевого апарату можуть змінювати реактивність ендокриноцитів і впливати на їх резистентність до дії патогенних факторів. Одним з таких факторів є бета-цитотоксичний антибіотик стрептозотонин, який використовується в експериментальній патофізіології для моделювання цукрового діабету.

4.1 Гормонально-метаболичні показники у щурів лінії SHR зі спонтанною гіпертензією після введення стрептозотонину

Визначення рівня глікемії натще у тварин з 28-денним перебігом стрептозотонин-індукованого цукрового діабету показали класичне для даної експериментальної патології підвищення рівня глюкози у периферичній крові в 4,5 раза у щурів лінії Wistar і в 2,4 раза у щурів лінії SHR (табл. 4.1, рис. 4.1). При цьому рівень глікемії у щурів лінії SHR з діабетом був на 35 % нижче, ніж у щурів лінії Wistar з діабетом.

Розвиток діабету у експериментальних тварин призводило до зменшення концентрації імунореактивного інсуліну в крові на 30 % у щурів лінії Wistar і на 43 % у щурів лінії SHR. При цьому в абсолютних значеннях дані величини статистично не відрізнялися ($p=0,65$).

Таблиця 4.1 - Показники артеріального тиску і біохімічна характеристика діабету у експериментальних тварин натще ($M \pm m$)

Група тварин	Wistar, контроль ⁽¹⁾	Wistar, діабет ⁽²⁾	SHR, контроль ⁽³⁾	SHR, діабет ⁽⁴⁾
Систолічний АТ, мм рт. ст	105,0±1,1 ^{3,4}	108,0±1,5 ^{3,4}	155,7±0,9 ^{1,2,4}	140,4±1,1 ^{1,2,3}
Глюкоза крові, ммоль/л	3,94±0,09 ^{2,3,4}	17,69±1,11 ^{1,3,4}	4,73±0,10 ^{1,2,4}	11,45±0,89 ^{1,2,3}
Інсулін крові, мкМО/мл	8,61±0,41 ^{2,3,4}	5,99±0,34 ^{1,3}	10,99±0,37 ^{1,2,4}	6,25±0,46 ^{1,3}
Індекс НОМА	1,43±0,08 ^{2,3,4}	2,74±0,14 ^{1,3}	3,41±0,21 ^{1,2}	3,60±0,48 ¹

Примітка. Достовірність відмінностей $p < 0,05$ у порівнянні з контрольними (1) щурами лінії Wistar і тваринами з діабетом (2), контрольними (3) щурами лінії SHR і тваринами з діабетом (4).

Розвиток діабету супроводжувалося підвищенням індексу НОМА щурів лінії Wistar практично в 2 рази, на відміну від тварин лінії SHR, у яких індекс НОМА практично не змінювався. При цьому його величина все одно залишалася вищою за три одиниці і на 31,5 % вище ($p < 0,005$), ніж у щурів лінії Wistar з діабетом.

Розвиток цукрового діабету у щурів лінії Wistar не впливало на величину систолічного артеріального тиску, але у гіпертензивних щурів SHR призводило до незначного, на 15 мм рт. ст., але тим не менш достовірного ($p < 0,001$) зниження артеріального тиску. При цьому показник систолічного артеріального тиску і раніше перевищував 140 мм рт. ст. (рис. 4.2).

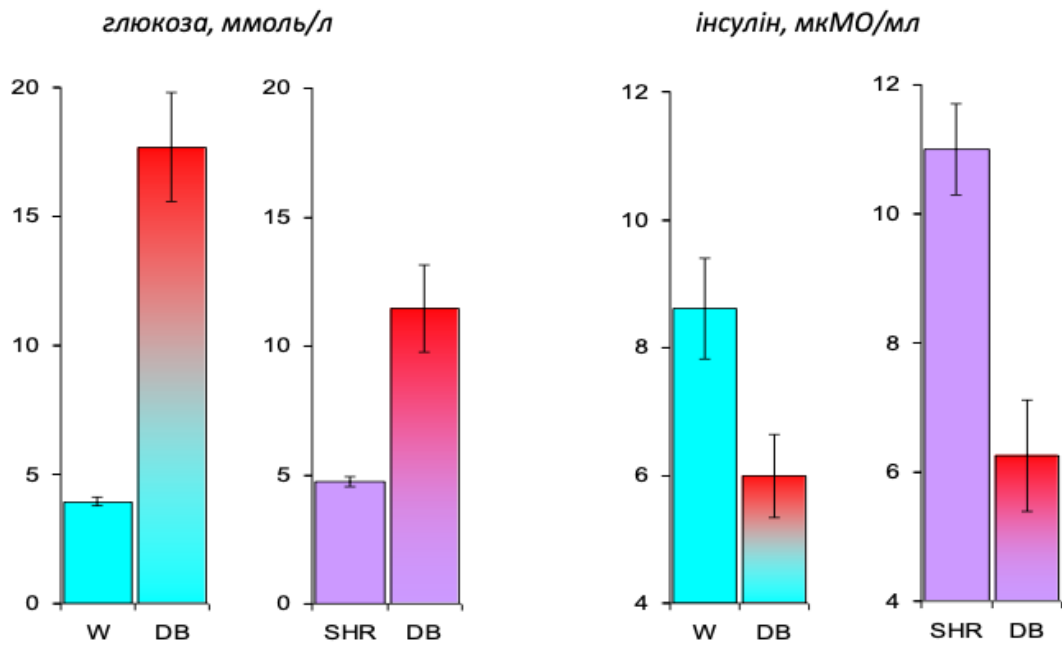


Рисунок 4.1 - Концентрація глюкози і інсуліну в крові у інтактних щурів лінії Wistar (блакитний колір) і SHR (бузковий колір), і після введення стрептозотоцину (DB).

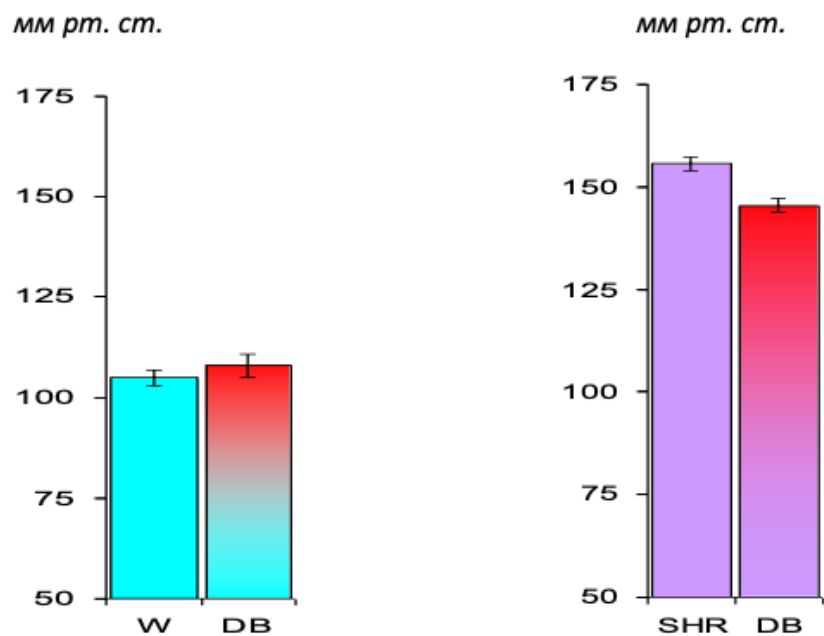


Рисунок 4.2 - Систолічний артеріальний тиск (мм рт. ст.) у інтактних щурів лінії Wistar (блакитний колір) і SHR (бузковий колір), і після введення стрептозотоцину (DB).

4.2 Особливості організації популяції бета-клітин в підшлунковій залозі у щурів лінії SHR зі спонтанною гіпертензією після введення стрептозотоцину

Розвиток діабету у щурів лінії Wistar закономірно приводило до деструкції бета-клітин і ремоделюванню самих острівців (табл. 4.2).

Таблиця 4.2 -Параметри розподілу панкреатичних острівців на 1 см² площі зрізу підшлункової залози у експериментальних тварин, Ме (Q1 ÷ Q3)

Тип остраівців	Wistar, контроль (1)	Wistar, діабет (2)	SHR, контроль (3)	SHR, діабет (4)
Поодинокі бета-клітини	3 (3÷5) ^{2,3,4}	12 (6÷17) ^{1,3,4}	14 (7÷15) ^{1,2,4}	19 (11÷26) ^{1,2,3}
Маленькі, площею <1500 мкм ²	98 (75÷131)	75 (69÷85)	88 (66÷102)	69 (45÷93)
Середні, площею 1500 - 3500 мкм ²	67 (61÷76) ^{2,3,4}	23 (20÷27) ^{1,3,4}	11 (7÷15) ^{1,2,4}	7 (5÷8) ^{1,2,3}
Великі, площею 3500 – 7500 мкм ²	31 (21÷38) ^{2,3,4}	12 (11÷13) ^{1,3,4}	3 (1÷6) ^{1,2}	4 (1÷7) ^{1,2}
Гігантські, площею >7500 мкм ²	22 (14÷32) ²	7 (5÷9) ¹	0	0
Всього (M±m)	231±3 ^{2,3,4}	132±1 ^{1,3,4}	112±1 ^{1,2,4}	98±2 ^{1,2,3}

Примітка. Достовірність відмінностей $p < 0,05$ у порівнянні з контрольними (1) щурами лінії Wistar і тваринами з діабетом (2), контрольними (3) щурами лінії SHR і тваринами з діабетом (4).

У щурів лінії Wistar при розвитку діабету питома кількість панкреатичних острівців зменшувалася практично в 2 рази за рахунок зниження частки острівців площею перетину менше ніж 1500 мкм^2 . При цьому частка поодиноких бета-ендокриноцитів в підшлунковій залозі збільшувалася в 2,8 рази. Порівняльний аналіз розподілу панкреатичних острівців у підшлунковій залозі у статевозрілих 6-місячних тварин лінії Wistar і SHR детально був проаналізований у попередньому розділі і свідчив про те, що кількість острівців у гіпертензивних щурів лінії SHR у 2 рази менше, ніж у нормотензивних щурів лінії Wistar, а в тканині залози зникали гігантські острівці площею перетину більше 7500 мкм^2 . У той же час, розвиток діабету у гіпертензивних щурів лінії SHR викликало лише незначне, на 12 % ($p < 0,001$), зниження питомої чисельності острівців без істотної зміни структури їх розподілу по площі (рис. 4.3).

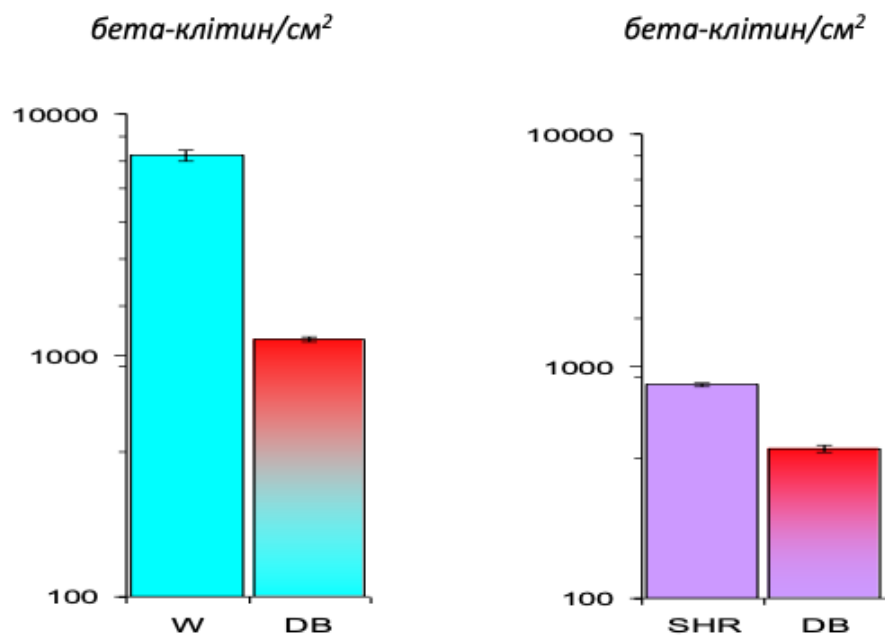


Рисунок 4.3 - Кількість бета-клітин (клітин/см²) в підшлунковій залозі у інтактних щурів лінії Wistar (блакитний колір) і SHR (бузковий колір), і після введення стрептозотоцину (DB).

Експериментальний діабет призводив до зниження питомої кількості бета-клітин в підшлунковій залозі щурів лінії Wistar на 83 % ($p < 0,001$) за рахунок переважної деструкції великих і гігантських панкреатичних острівців (табл. 4.3, рис. 4.3).

Таблиця 4.3 - Щільність розподілу бета-клітин на 1 см² площі зрізу підшлункової залози у експериментальних тварин, Ме (Q1 ÷ Q3)

Тип острівців	Wistar, контроль (1)	Wistar, діабет (2)	SHR, контроль (3)	SHR, діабет (4)
Поодинокі бета-клітини	5 (4÷7) ^{2,3,4}	12 (6÷19) ¹	15 (10÷17) ¹	22 (12÷32) ¹
Маленькі, площею <1500 мкм ²	556 (502÷837) ^{2,3,4}	294 (256÷354) ^{1,3}	380 (296÷445) ^{1,2,4}	239 (181÷297) ^{1,3}
Середні, площею 1500 - 3500 мкм ²	563 (450÷664) ^{2,3,4}	261 (254÷312) _{1,3,4}	196 (155÷216) ^{1,2,4}	95 (60÷128) ^{1,2,3}
Великі, площею 3500 – 7500 мкм ²	2281 (1382÷2919) _{2,3,4}	298 (214÷361) ^{1,4}	238 (199÷282) ^{1,4}	88 (69÷107) ^{1,2,3}
Гігантські, площею >7500 мкм ²	2790 (1144÷5224) ²	316 (228÷325) ¹	0	0
Всього (M±m)	6738±174 ^{2,3,4}	1166±11 ^{1,3,4}	833±8 ^{1,2,4}	443±8 ^{1,2,3}

Примітка. Достовірність відмінностей $p < 0,05$ у порівнянні з контрольними (1) щурами лінії Wistar і тваринами з діабетом (2), контрольними (3) щурами лінії SHR і тваринами з діабетом (4).

При цьому в залозі в 2,3 раза зростала щільність популяції поодиноких бета-ендокриноцитів. Особливості ремоделювання інсулярного апарату у

щурів лінії SHR приводили до того, що чисельність бета-ендокриноцитів в підшлунковій залозі у щурів лінії SHR становила лише $12,4 \pm 0,1$ % від кількості бета-клітин у контрольних щурів лінії Wistar, або на 29 % нижче ($p < 0,001$), ніж у щурів лінії Wistar з діабетом.

Формування стрептозотоцинового діабету у гіпертензивних щурів супроводжувалося подальшим скороченням популяції бета-клітин в підшлунковій залозі, чисельність яких знижувалася на 47 % ($p < 0,001$) в порівнянні з контрольними щурами лінії SHR.

Визначення вмісту імунореактивного інсуліну в тканині підшлункової залози дозволило оцінити функціональний резерв інсулін-синтезуючої залози. Було відзначено, що зменшення популяції бета-ендокриноцитів при діабеті у щурів лінії Wistar супроводжувалося зниженням вмісту інсуліну в підшлунковій залозі на 43 % ($p < 0,001$) в поєднанні зі зменшенням концентрації гормону в крові на 30 % ($p < 0,001$) (табл. 4.4, рис. 4.4, 4.5).

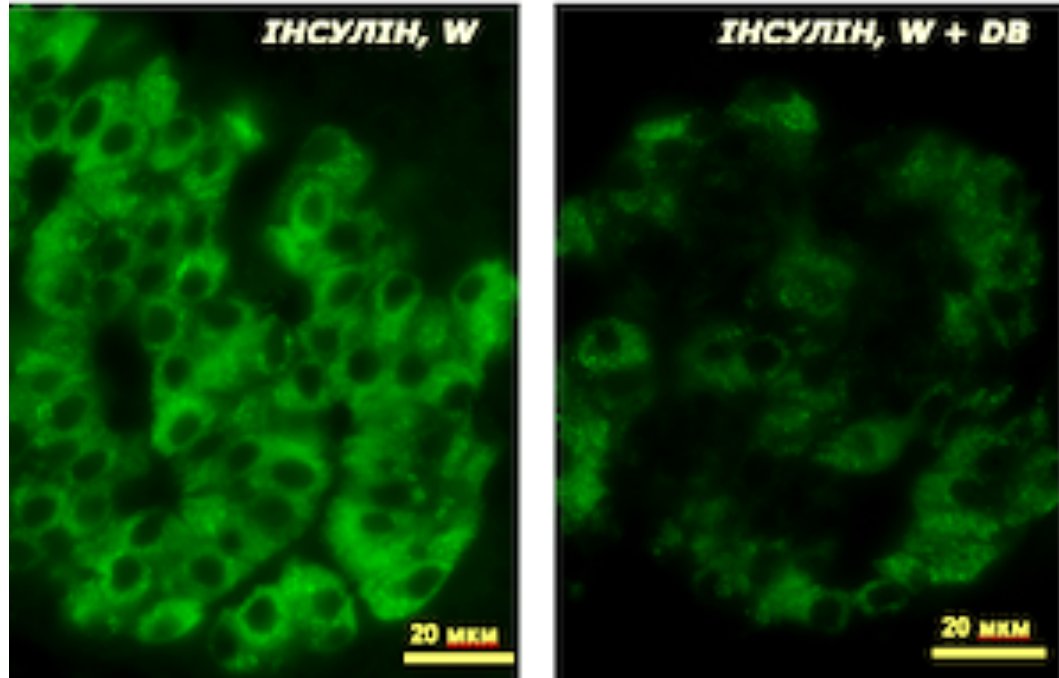


Рисунок 4.4 - Панкреатичні острівці у інтактних щурів лінії Wistar (W) і після введення стрептозотоцину (W+DB). Реакція непрямой імуофлюоресценції з поліклональними антитілами до інсуліну і вторинними антитілами, кон'югованими з FITC.

Таблиця 4.4 - Вміст імунореактивного інсуліну (O_{IF} / cm^2) у підшлунковій залозі в експериментальних тварин ($M \pm m$)

Тип острівців	Wistar, контроль (1)	Wistar, діабет (2)	SHR, контроль (3)	SHR, діабет (4)
Поодинокі бета-клітини	18,9±0,2 ^{2,3,4}	71,7±1,4 ^{1,3,4}	52,0±0,6 ^{1,2,4}	110,1±5,6 ^{1,2,3}
Маленькі, площею <1500 μm^2	534,3±2,7 ^{2,3,4}	461,6±3,2 ^{1,3,4}	411,5±1,8 ^{1,2}	423,5±5,9 ^{1,2}
Середні, площею 1500 - 3500 μm^2	3211,7±7,0 ^{2,3,4}	1685,2±6,0 ^{1,3,4}	1032,1±0,7 ^{1,2,4}	500,2±0,5 ^{1,2,3}
Великі, площею 3500 – 7500 μm^2	194,3±5,2 ^{2,3,4}	94,2±9,9 ^{1,3,4}	42,3±7,5 ^{1,2,4}	21,7±0,1 ^{1,2,3}
Гігантські, площею >7500 μm^2	283,3±21,5 ²	110,6±7,8 ¹	0	0
Всього ($M \pm m$)	4242,5±4,1 ^{2,3,4}	2423,3±3,2 ^{1,3,4}	1537,9±1,2 ^{1,2,4}	1055,5±1,3 ^{1,2,3}

Примітка. Достовірність відмінностей $p < 0,05$ у порівнянні з контрольними (1) щурами лінії Wistar і тваринами з діабетом (2), контрольними (3) щурами лінії SHR і тваринами з діабетом (4).

Кількість інсуліну знижувалася у всіх функціонуючих острівцях, і тільки за рахунок росту популяції одиничних інсулін-імунопозитивних клітин кількість синтезованого ними інсуліну збільшувалася в 3,8 рази. У гіпертензивних щурів лінії SHR за рахунок зниження пулу бета-ендокриноцитів питомий вміст інсуліну в залозі було приблизно в 3 рази менше, ніж у нормотензивних щурів лінії Wistar, хоча рівень гомону в крові був на 28 % вище ($p < 0,01$), ніж у щурів лінії Wistar.

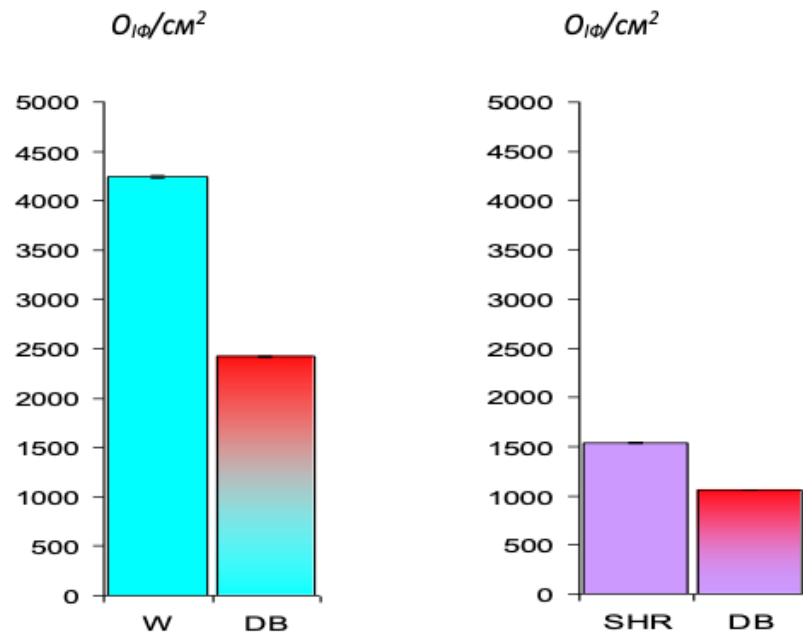


Рисунок 4.5 - Вміст інсуліну ($O_{I\Phi}/CM^2$) в підшлунковій залозі у інтактних щурів лінії Wistar (блакитний колір) і SHR (бузковий колір), і після введення стрептозотоцину (DB).

При цьому слід зазначити, що у контрольних тварин лінії SHR вміст імунореактивного інсуліну в залозі був всього лише на 36 % більше ($p < 0,001$), ніж у щурів лінії Wistar з діабетом. Розвиток стрептозотоцин-індукованого діабету у гіпертензивних щурів лінії SHR характеризувалося подальшим виснаженням резерву інсуліну в організмі, вміст якого в підшлунковій залозі зменшувалася на 32 %, а концентрація гормону в крові на 43 % у порівнянні з контрольною групою тварин лінії SHR.

4.3 Особливості організації популяції альфа-клітин в підшлунковій залозі у щурів лінії SHR зі спонтанною гіпертензією після введення стрептозотоцину

У більш ранніх дослідженнях, проведених під керівництвом проф. Ю. М. Колесника, було показано, що розвиток експериментального цукрового діабету у щурів супроводжується збільшенням долі альфа-ендокриноцитів в панкреатичних острівцях в порівнянні з контрольними щурами лінії Wistar [231, 233]. Проведені нами дослідження також

підтверджують факт збільшення чисельності альфа-ендокриноцитів при формуванні експериментального діабету у щурів лінії Wistar (рис. 4.6).

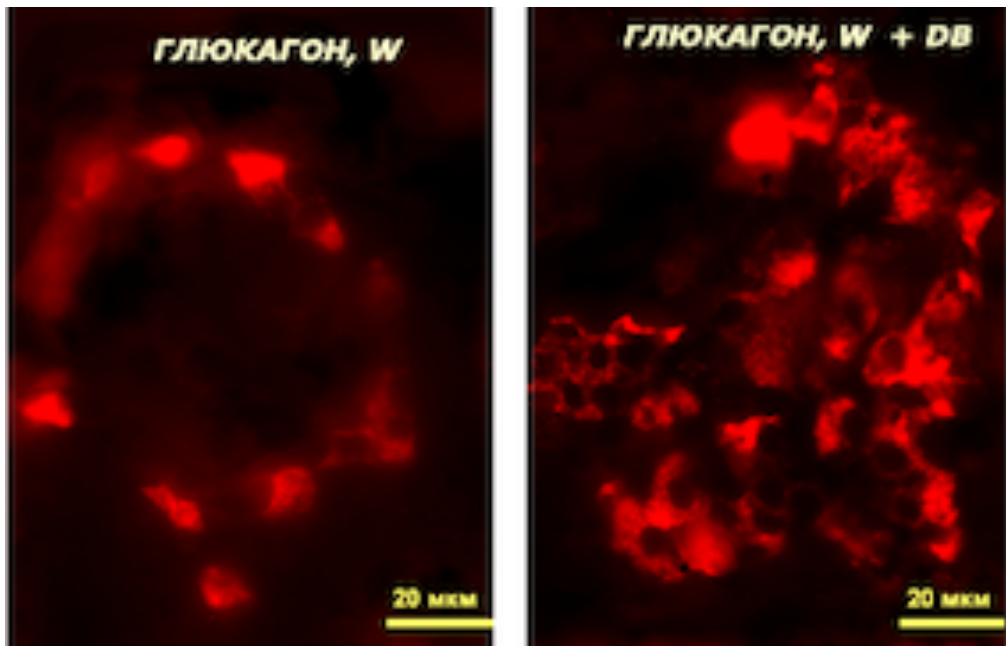


Рисунок 4.6 - Панкреатичні острівці у інтактних щурів лінії Wistar (W) і після введення стрептозотоцину (W+DB). Реакція непрямой імуофлюоресценції з поліклональними антитілами до глюкагону і вторинними антитілами, кон'югованими з TR.

Розвиток експериментального діабету у щурів лінії Wistar призводило до збільшення чисельності панкреатичних острівців, що містять альфа-клітини, на 80,5 % (табл. 4.5). У структурі підшлункової залози відзначалося збільшення маленьких, великих і гігантських по площі панкреатичних острівців більш ніж в 2 рази. На відміну від щурів лінії Wistar у гіпертензивних щурів лінії SHR розвиток діабету призводив до збільшення чисельності панкреатичних острівців в меншій мірі - на 46,7 %, що було статистично менше, ніж у нормотензивних щурів лінії Wistar. Основний приріст чисельності панкреатичних острівців у щурів лінії SHR при діабеті досягав збільшення кількості великих за площею острівців більш ніж в 2 рази.

Таблиця 4.5 - Параметри розподілу панкреатичних острівців з альфа-клітинами на 1 см² площі зрізу підшлункової залози у експериментальних тварин, Ме (Q1 ÷ Q3)

Тип острівців	Wistar, контроль (1)	Wistar, діабет (2)	SHR, контроль (3)	SHR, діабет (4)
Поодинокі альфа-клітини	1 (1÷3) ⁴	3 (0÷3)	2 (1÷3)	3 (3÷3) ¹
Маленькі, площею <1500 мкм ²	12 (9÷17) ²	31 (15÷34) ^{1,3,4}	15 (8÷18) ^{2,4}	6 (3÷18) ^{2,3}
Середні, площею 1500 - 3500 мкм ²	15 (14÷18)	21 (21÷28)	12 (8÷17)	18 (12÷24)
Великі, площею 3500 – 7500 мкм ²	9 (6÷17) ^{2,4}	24 (21÷28) ^{1,4}	21 (19÷24) ^{1,4}	37 (30÷61) ^{1,2,3}
Гігантські, площею >7500 мкм ²	9 (9÷9) ²	18 (15÷31) ^{1,3,4}	8 (6÷16) ²	6 (3÷9) ²
Всього (M±m)	53±1 ^{2,3,4}	96±1 ^{1,3,4}	59±1 ^{1,2,4}	86±2 ^{1,2,3}

Примітка. Достовірність відмінностей $p < 0,05$ у порівнянні з контрольними (1) щурами лінії Wistar і тваринами з діабетом (2), контрольними (3) щурами лінії SHR і тваринами з діабетом (4).

Розвиток діабету у нормотензивних щурів лінії Wistar супроводжувався збільшенням чисельності альфа-ендокриноцитів у підшлунковій залозі на 92 % (табл. 4.6, рис. 4.7). При цьому найбільше збільшення популяції альфа-клітин відбувалося за рахунок кількості ендокриноцитів у маленьких, великих

і гігантських острівцях. На відміну від щурів лінії Wistar у гіпертензивних щурів лінії SHR розвиток діабету призводило навпаки, до зменшення на 76 % кількості альфа-ендокриноцитів в підшлунковій залозі.

Таблиця 4.6 - Щільність розподілу альфа-клітин на 1 см² площі зрізу підшлункової залози у експериментальних тварин, Ме (Q1 ÷ Q3)

Тип острівців	Wistar, контроль (1)	Wistar, діабет (2)	SHR, контроль (3)	SHR, діабет (4)
Поодинокі альфа-клітини	1 (1÷3) ⁴	3 (0÷3) ⁴	2 (1÷3)	6 (6÷6) ^{1,2}
Маленькі, площею <1500 мкм ²	107 (75÷116) ^{2,4}	220 (73÷226) ^{1,3,4}	109 (68÷126) ^{2,4}	18 (9÷24) ^{1,2,3}
Середні, площею 1500 - 3500 мкм ²	211 (141÷272) ^{2,3,4}	229 (150÷296) ^{3,4}	145 (105÷188) ^{2,4}	52 (29÷79) ^{1,2,3}
Великі, площею 3500 – 7500 мкм ²	257 (121÷397) ^{2,3,4}	480 (455÷657) ^{1,3,4}	766 (729÷911) ^{1,2,4}	63 (49÷115) ^{1,2,3}
Гігантські, площею >7500 мкм ²	507 (312÷543) ²	1012 (657÷1418) ^{1,4}	639 (440÷1415) ^{2,4}	309 (241÷342) ²
Всього (M±m)	1051±23 ^{2,3,4}	2026±30 ^{1,3,4}	1951±50 ^{1,2,4}	468±3 ^{1,2,3}

Примітка. Достовірність відмінностей $p < 0,05$ у порівнянні з контрольними (1) щурами лінії Wistar і тваринами з діабетом (2), контрольними (3) щурами лінії SHR і тваринами з діабетом (4).

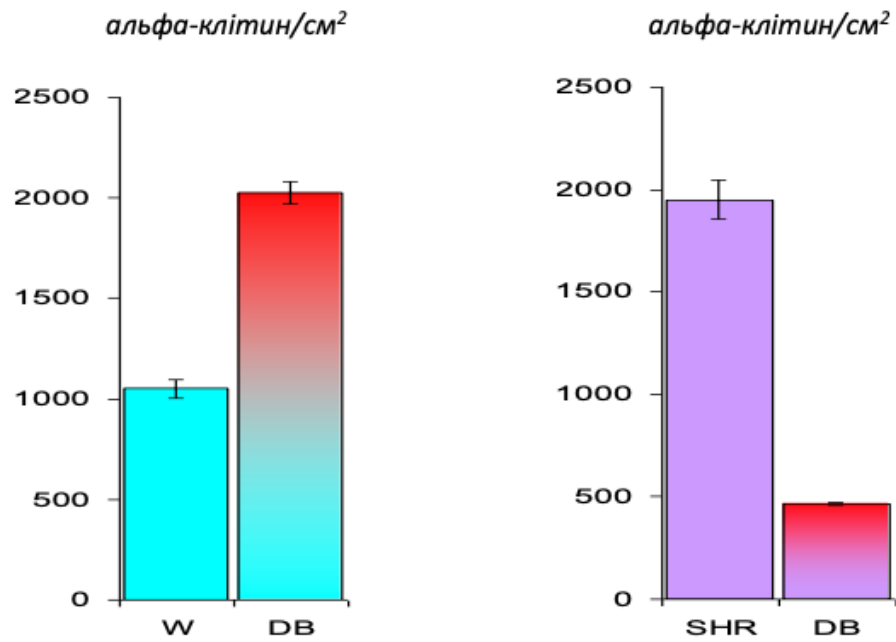


Рисунок 4.7 - Кількість альфа-клетин (клетин/см²) в підшлунковій залозі у інтактних щурів лінії Wistar (блакитний колір) і SHR (бузковий колір), і після введення стрептозотоцину (DB).

При цьому зниження популяції альфа-клетин при діабеті відбувалося за рахунок зменшення кількості ендокриноцитів гігантських острівців (в 2 рази), малих острівців (в 3 рази) і великих острівців (в 12,5 рази).

Розвиток експериментального діабету у щурів характеризувався збільшенням вмісту глюкагону в підшлунковій залозі (табл. 4.7, рис. 4.8). Питомий вміст глюкагону в підшлунковій залозі при розвитку діабету у щурів лінії Wistar збільшувався в 2,7 рази, а у гіпертензивних щурів лінії SHR тільки на 34,7%. Проте, у порівнюваних груп тварин питомий вміст глюкагону в підшлунковій залозі статистично не відрізнявся ($p > 0,05$). Основний приріст вмісту глюкагону при діабеті у щурів лінії Wistar відбувався за рахунок зростання пулу альфа-клетин в острівцях всіх типів в 2-4 рази, а у гіпертензивних щурів лінії SHR за рахунок 7-кратного наростання чисельності одиночних альфа-ендокриноцитів, 3-кратного збільшення кількості альфа-клетин в середніх за площею острівцях, а також за рахунок помірного приросту ендокриноцитів в малих і великих панкреатичних острівцях.

Таблиця 4.7 -Вміст імунореактивного глюкагону ($O_{I\Phi}$) на 1 см^2 площі зрізу підшлункової залози у експериментальних тварин ($M \pm m$)

Тип острівців	Wistar, контроль (1)	Wistar, діабет (2)	SHR, контроль (3)	SHR, діабет (4)
Поодинокі альфа- клітини	$8,6 \pm 1,5^4$	$13,1 \pm 1,9^{3,4}$	$6,4 \pm 0,9^{2,4}$	$42,6 \pm 4,9^{1,2,3}$
Маленькі, площею <1500 мкм^2	$409 \pm 24^{2,3,4}$	$1041 \pm 35^{1,3,4}$	$368 \pm 46^{2,4}$	$414 \pm 26^{2,3}$
Середні, площею 1500 - 3500 мкм^2	$784 \pm 45^{2,4}$	$1222 \pm 39^{1,3,4}$	$681 \pm 56^{2,4}$	$2138 \pm 71^{1,2,3}$
Великі, площею 3500 – 7500 мкм^2	$1125 \pm 54^{2,3,4}$	$3524 \pm 58^{1,3,4}$	$4102 \pm 118^{1,2,4}$	$6510 \pm 178^{1,2,3}$
Гігантські, площею >7500 мкм^2	$2103 \pm 148^{2,3,4}$	$6217 \pm 133^{1,3,4}$	$3802 \pm 132^{1,2,4}$	$2963 \pm 105^{1,2,3}$
Всього ($M \pm m$)	$4428 \pm 30^{2,3,4}$	$12017 \pm 30^{1,3}$	$8959 \pm 39^{1,2,4}$	$12068 \pm 43^{1,3}$

Примітка. Достовірність відмінностей $p < 0,05$ у порівнянні з контрольними (1) щурами лінії Wistar і тваринами з діабетом (2), контрольними (3) щурами лінії SHR і тваринами з діабетом (4).

Порівнюючи співвідношення чисельності бета-клітин до кількості альфа-ендокриноцитів у підшлунковій залозі, слід зазначити, що якщо у нормотензивних щурів лінії Wistar даний показник становив 7:1, то у гіпертензивних щурів лінії SHR показник становив 1:2 (табл. 4.8, рис. 4.9).

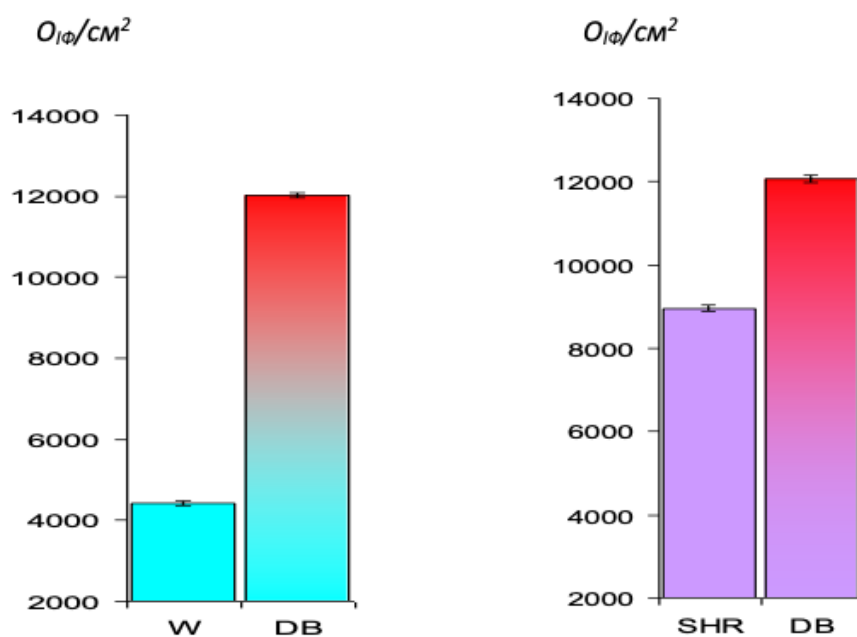


Рисунок 4.8 - Вміст глюкагону ($O_{I\Phi}/\text{cm}^2$) в підшлунковій залозі у інтактних щурів лінії Wistar (блакитний колір) і щурів лінії SHR (бузковий колір), і після введення стрептозотоцину (DB).

Таблиця 4.8 - Співвідношення питомої чисельності ендокриноцитів різних типів у підшлунковій залозі у експериментальних тварин

Тип клітин	Wistar, контроль ⁽¹⁾	Wistar, діабет ⁽²⁾	SHR, контроль ⁽³⁾	SHR, діабет ⁽⁴⁾
Бета-клітини	6738±174 ^{2,3,4}	1166±11 ^{1,3,4}	833±8 ^{1,2,4}	443±8 ^{1,2,3}
Альфа-клітини	1051±23 ^{2,3,4}	2026±30 ^{1,3,4}	1951±50 ^{1,2,4}	468±3 ^{1,2,3}
Бета-/Альфа-клітини	7 : 1	1 : 2	1 : 2	1 : 1

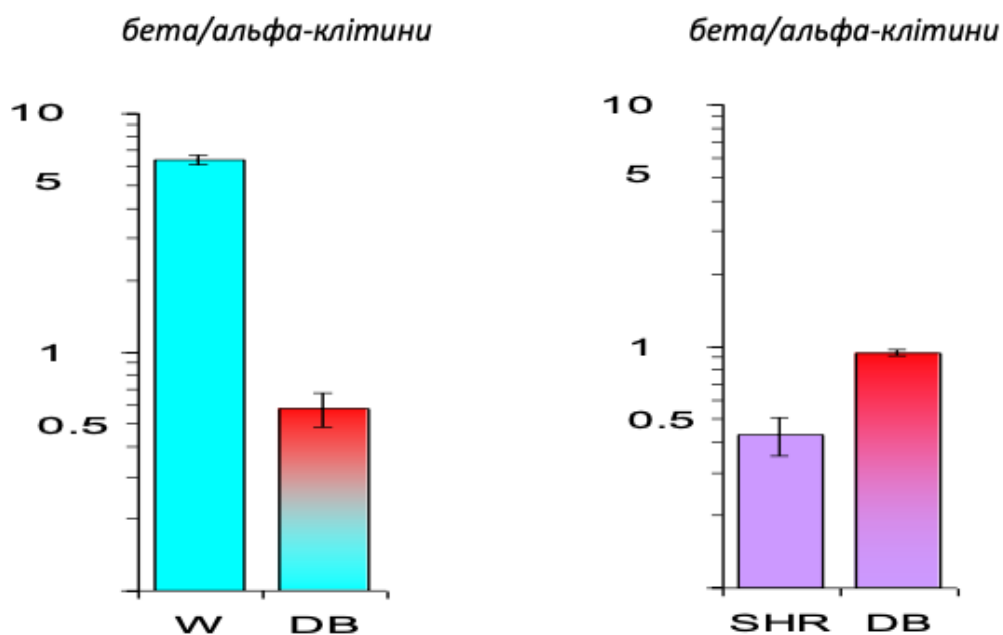


Рисунок 4.9 - Співвідношення чисельності бета- і альфа-ендокриноцитів у підшлунковій залозі в інтактних щурів лінії Wistar (блакитний колір) і SHR (бузковий колір), і після введення стрептозотоцину (DB).

У той же час, розвиток експериментального діабету у нормотензивних щурів лінії Wistar за рахунок редукції пулу бета-ендокриноцитів і збільшення чисельності альфа-клітин змінювало співвідношення кількості бета-клітин до кількості альфа-клітин з 7:1 до 1:2, тобто, до показника інтактних гіпертензивних щурів лінії SHR. Особливістю реакції пулу ендокриноцитів у щурів лінії SHR на розвиток експериментального діабету була зміна співвідношення чисельності бета-клітин до кількості альфа-клітин з 1:2 до 1:1. Це відбувалося за рахунок більш інтенсивної редукції пулу альфа-клітин (більш ніж в 4 рази) в порівнянні з величиною зниження чисельності бета-клітин (у 2 рази).

4.4 Особливості організації популяції дельта-клітин в підшлунковій залозі у щурів лінії SHR зі спонтанною гіпертензією після введення стрептозотоцину

Як було показано в попередньому розділі, чисельність дельта-клітин в підшлунковій залозі у щурів лінії Wistar становило 1,14 % від кількості бета-клітин, і 7,3 % від чисельності альфа-клітин, а кількість острівців, що містять дельта-ендокриноцити, становило 16,5 % від загальної чисельності острівців в залозі. Розвиток цукрового діабету у щурів лінії Wistar призводив до підвищення кількості острівців, що містять дельта-клітини, на 55,2 % і збільшення чисельності дельта-ендокриноцитів на 82,0 %. При цьому питомий вміст соматостатину в підшлунковій залозі у щурів лінії Wistar з діабетом збільшувалася в 8,3 раза в порівнянні з контрольними тваринами (табл. 4.9, рис. 4.10).

Таблиця 4.9 - Розподіл дельта-клітин на 1 см² площі зрізу підшлункової залози у експериментальних тварин (M±m)

Тип острівців	Wistar, контроль (1)	Wistar, діабет (2)	SHR, контроль (3)	SHR, діабет (4)
Кількість острівців з дельта-клітинами	38±1 ^{2,3,4}	58±1 ^{1,3,4}	36±1 ^{1,2,4}	30±1 ^{1,2,3}
Кількість дельта-клітин	77±2 ^{2,3,4}	139±3 ^{1,3,4}	90±1 ^{1,2}	94±3 ^{1,2}
Вміст соматостатину, ОіФ	2,57±0,03 ^{2,3,4}	21,46±1,68 ^{1,3,4}	1,87±0,02 ^{1,2,4}	2,02±0,02 ^{1,2,3}

Примітка. Достовірність відмінностей $p < 0,05$ у порівнянні з контрольними (1) щурами лінії Wistar і тваринами з діабетом (2), контрольними (3) щурами лінії SHR і тваринами з діабетом (4).

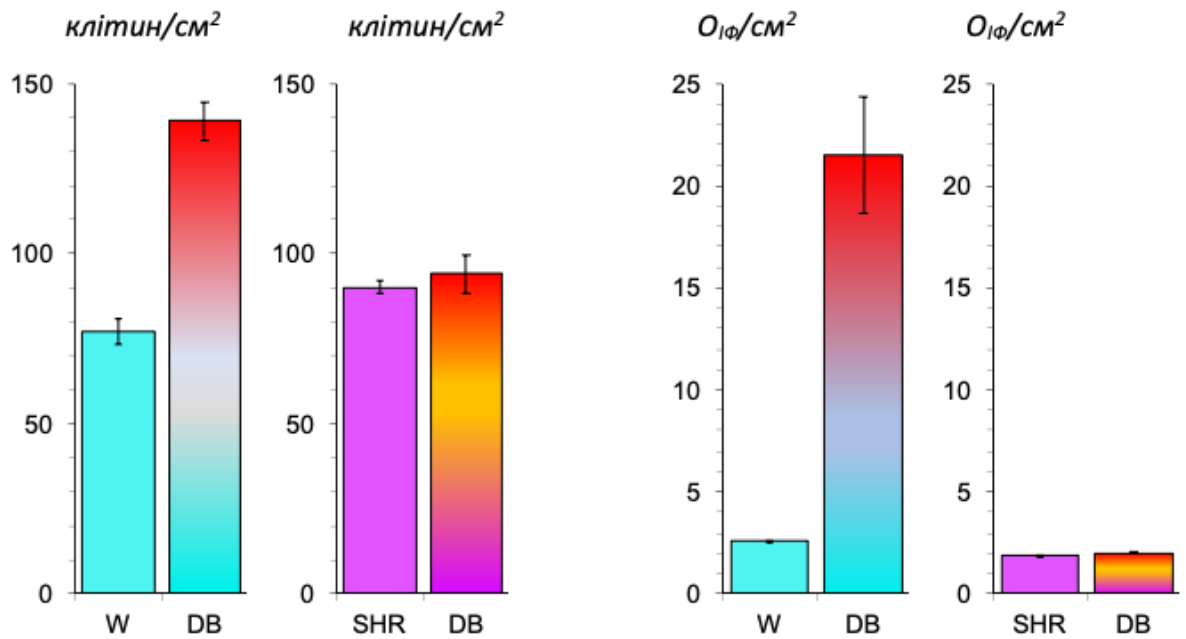


Рисунок 4.10 – Загальна кількість дельта-клітин (см²) та вміст соматостатину (O_{1φ}/см²) в підшлунковій залозі у щурів лінії Wistar (W) і SHR за початкових умов та після моделювання цукрового діабету (DB).

Таблиця 4.10 - Співвідношення питомої чисельності ендокриноцитів різних типів в підшлунковій залозі у експериментальних тварин

Експериментальні групи	бета-/ дельта клітини	альфа-/ дельта клітини
Щури лінії Wistar	88 : 1	14 : 1
Щури лінії Wistar з діабетом	9 : 1	15 : 1
Щури лінії SHR	9 : 1	22 : 1
Щури лінії SHR з діабетом	5 : 1	5 : 1

При дослідженні підшлункової залози контрольних щурів лінії SHR було встановлено, що кількість острівців, що містять дельта-клітини, було на 3,2 % менше ($p < 0,05$), ніж у нормотензивних щурів лінії Wistar. Однак чисельність дельта-ендокриноцитів в підшлунковій залозі у щурів лінії SHR

була на 17,9 % вище. При цьому питомий вміст соматостатину в підшлунковій залозі становило лише 72,7 % від величини даного показника щурів лінії Wistar. Розвиток цукрового діабету у щурів лінії SHR призводив до зменшення кількості панкреатичних острівців, що містять дельта-клітини, на 17,0 %, і незначного, на 8,0 % ($p < 0,05$), наростання питомого вмісту соматостатину в підшлунковій залозі. При цьому формування цукрового діабету у щурів лінії SHR не впливало на зміну чисельності дельта-ендокриноцитів в підшлунковій залозі.

Аналізуючи співвідношення чисельності пулу ендокриноцитів різного типу в підшлунковій залозі при розвитку діабету, звертало увагу те, що розвиток цукрового діабету призводило до зменшення показника співвідношення бета-клітин до кількості дельта-клітин у щурів лінії Wistar практично в 10 разів, тоді як у гіпертензивних щурів лінії SHR величина даного показника знижувалася приблизно в 2 рази (табл. 4.10).

У той же час, розвиток діабету у щурів лінії Wistar не приводила до істотної зміни співвідношення чисельності альфа-клітин до дельта-ендокриноцитів на відміну від гіпертензивних щурів лінії SHR, у яких при розвитку діабету даний показник знижувався в 4,5 рази в порівнянні з контрольною групою тварин.

4.5 Особливості синтезу білків Bcl2 і p53 у панкреатичних острівцях нормотензивних і гіпертензивних щурів після введення стрептозотоцину

Як уже згадувалося в попередньому розділі, в панкреатичних острівцях у щурів лінії SHR площа відносної імунофлюоресценції до білка Bcl2 була в 2 рази менше, ніж у щурів лінії Wistar, при однакових показниках площі імунопозитивного матеріалу до білка p53. Розвиток експериментального діабету призводив до 2-кратного зниження площі Bcl2 імунопозитивного матеріалу в панкреатичних острівцях у нормотензивних щурів лінії Wistar в поєднанні з наростанням площі імунореактивності до білка p53 на 55 % (табл. 4.11).

Таблиця 4.11 - Відносна площа (%) імунопозитивного матеріалу в острівцях (M±m)

Показники	Wistar, контроль (1)	Wistar, діабет (2)	SHR, контроль (3)	SHR, діабет (4)
Bcl2	4,966±0,728 ^{2,3}	2,798±0,184 ^{1,4}	2,475±0,144 ^{1,4}	3,771±0,597 ^{2,3}
p53	2,157±0,195 ^{2,4}	3,344±0,258 ^{1,3}	2,123±0,180 ^{1,4}	3,209±0,225 ^{1,3}
Bcl2 / p53	2,302±0,083 ^{2,3,4}	0,836±0,074 ^{1,3,4}	1,165±0,096 ^{1,2}	1,175±0,095 ^{1,2}

Примітка. Достовірність відмінностей $p < 0,05$ (t-критерій Стьюдента) у порівнянні з контрольними (1) щурами лінії Wistar і тваринами з діабетом (2), контрольними (3) щурами лінії SHR і тваринами з діабетом (4).

При цьому, якщо у контрольних щурів лінії Wistar переважно в панкреатичних острівцях була імунореактивність до антиапоптотичного білку Bcl2, то при діабеті домінуючою ставала імунореактивність до проапоптотичного білку p53.

На відміну від нормотензивних щурів лінії Wistar, в панкреатичних острівцях гіпертензивних тварин лінії SHR спостерігалось зростання імунореактивності до обох білків Bcl2 і p53 більш ніж на 50 %, що не приводило до домінування імунореактивності певного виду апоптотичної активності.

Незважаючи на те, що показники концентрації білків клітин у нормо-і гіпертензивних щурів статистично не розрізнялися, проте співвідношення цих показників свідчило про переважання експресії проапоптотичного білка p53 в ендокриноцити у щурів лінії SHR (табл. 4.12).

Розвиток діабету призводило до наростання концентрації білка p53 в ендокриноцитах у нормотензивних і у гіпертензивних щурів на 24 % і 31 %, відповідно. У той же час, у нормотензивних тварин лінії Wistar формування

діабету не впливало на показники концентрації білка Bcl2 в клітинах, в той час як у гіпертензивних тварин лінії SHR спостерігалось зниження концентрації білка Bcl2 на 33 % (табл. 4.12, рис. 4.11, 4.12).

Таблиця 4.12 - Концентрація білків (O_{1Ф}) в ендокриноцитах (M±m)

Показники	Wistar, контроль (1)	Wistar, діабет (2)	SHR, контроль (3)	SHR, діабет (4)
Bcl2	0,611±0,079 4	0,664±0,040 3,4	0,514±0,011 2,4	0,397±0,019 1,2,3
p53	0,449±0,017 2,4	0,556±0,042 1,3	0,448±0,021 2,4	0,587±0,030 1,3
Bcl2 / p53	1,360±0,050 2,3,4	1,194±0,048 1,4	1,147±0,020 1,4	0,676±0,052 1,2,3

Примітка. Достовірність відмінностей $p < 0,05$ (t-критерій Стьюдента) у порівнянні з контрольними (1) щурами лінії Wistar і тваринами з діабетом (2), контрольними (3) щурами лінії SHR і тваринами з діабетом (4).

Це призводило до того, що коефіцієнт відношення концентрацій Bcl2/p53 в ендокриноцити у нормотензивних тварин при діабеті знижувався тільки на 12 % ($p < 0,02$), а у гіпертензивних щурів лінії SHR - на 40 % ($p < 0,001$).

Розрахунок вмісту білка Bcl2 в панкреатичних острівцях показав його 3 кратне зниження у гіпертензивних щурів лінії SHR в порівнянні з нормотензивними тваринами лінії Wistar (табл. 4.13). При цьому вміст білка p53 в острівцях у обох ліній тварин статистично не відрізнялися. Можливо, що низькі показники експресії антиапоптотичного білка Bcl2 в ендокриноцити підшлункової залози у щурів лінії SHR, є однією з причин зменшення чисельності популяції бета-ендокриноцитів у цих тварин.

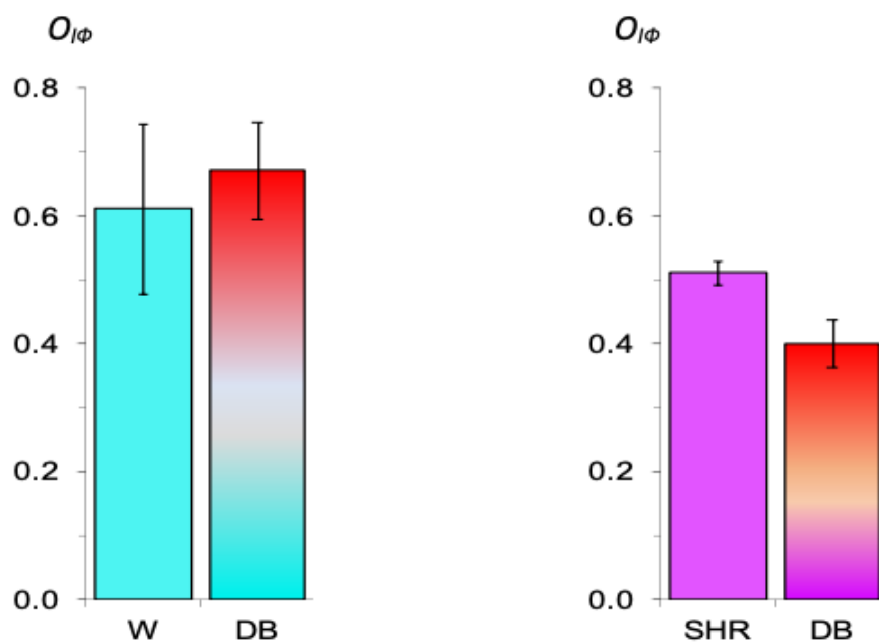


Рисунок 4.11 - Концентрація білка Bcl2 в ендокриноцитах у інтактних щурів лінії Wistar (блакитний колір) і SHR (бузковий колір) і після введення стрептозотоцину (DB).

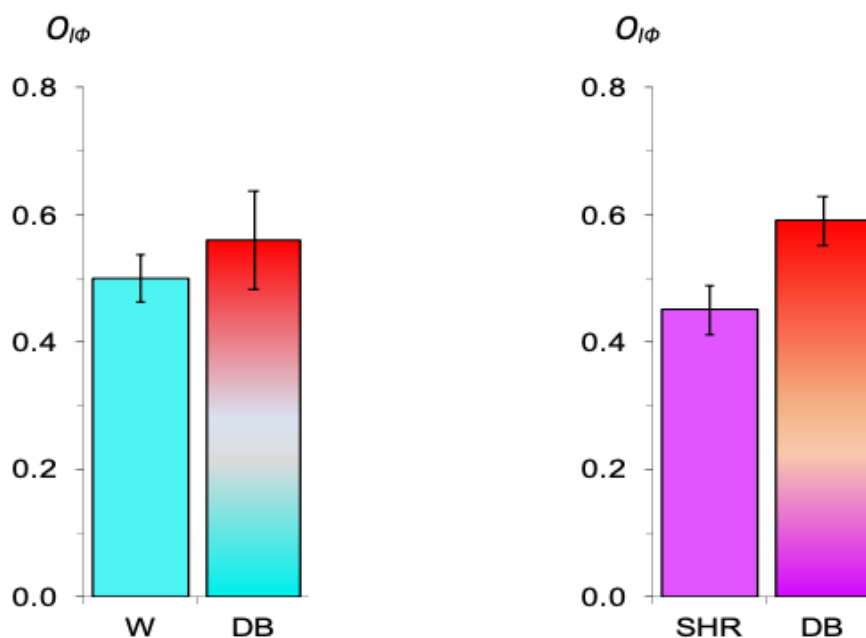


Рисунок 4.12 - Концентрація білка p53 в ендокриноцитах у інтактних щурів лінії Wistar (блакитний колір) і SHR (бузковий колір) і після введення стрептозотоцину (DB).

Зміна параметрів розподілу імунореактивності і концентрації білків Bcl2 і p53 при формуванні діабету у нормотензивних щурів лінії Wistar призводило зниження питомої вмісту антиапоптотичного білка Bcl2 в панкреатичних острівцях на 40 % в поєднанні з наростанням питомого вмісту проапоптотичного білка p53 в 2,3 рази (табл. 4.13, рис. 4.14, 4.15).

Таблиця 4.13 - Вміст білків ($O_{1\Phi}$ / cm^2) в панкреатичних острівцях ($M \pm m$)

Показники	Wistar, контроль (1)	Wistar, діабет (2)	SHR, контроль (3)	SHR, діабет (4)
Bcl2	3,570±0,203 2,3,4	2,118±0,265 1,3	1,271±0,079 1,2	1,549±0,232 1
p53	0,984±0,102 2,4	2,242±0,372 1,3	1,063±0,133 1,4	2,104±0,252 1,3
індекс апоптозу p53 / Bcl2	0,275±0,059 2,3,4	1,058±0,077 1,3,4	0,836±0,026 1,2,4	1,358±0,065 1,2,3

Примітка. Достовірність відмінностей $p < 0,05$ (t-критерій Стюдента) в порівнянні з контрольними (1) щурами лінії Wistar і тваринами з діабетом (2), контрольними (3) щурами лінії SHR і тваринами з діабетом (4).

При цьому в панкреатичних острівцях гіпертензивних щурів лінії SHR розвиток діабету приводив тільки до збільшення питомої вмісту білка p53 в 2 рази в порівнянні з контрольною групою). Разом з тим, якщо формування діабету у нормотензивних тварин лінії Wistar призводило до збільшення індексу апоптозу в 3,84 рази, то у гіпертензивних щурів лінії SHR даний показник підвищувався тільки в 1,62 рази. При цьому у гіпертензивних тварин лінії SHR індекс апоптозу в панкреатичних острівцях все одно був достовірно вище ($p < 0,05$), ніж у нормотензивних щурів.

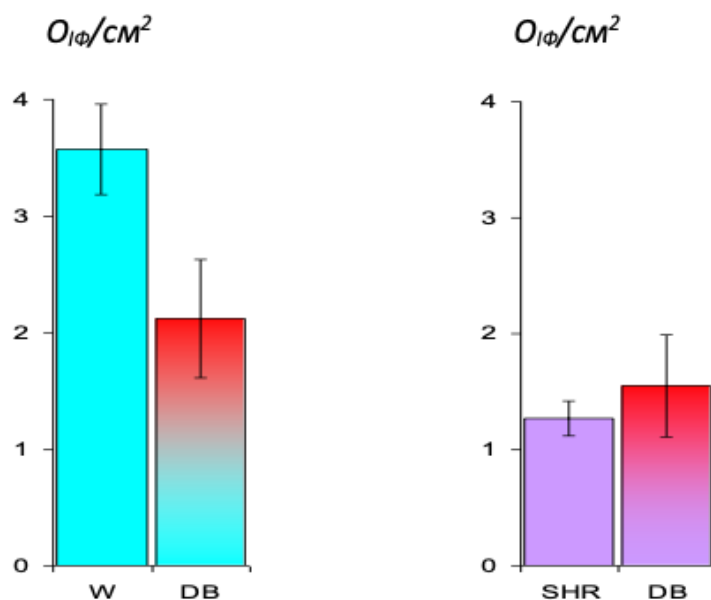


Рисунок 4.13 - Вміст білка Bcl2 в панкреатичних острівцях у інтактних щурів лінії Wistar (блакитний колір) і SHR (бузковий колір) і після введення стрептозотоцину (DB).

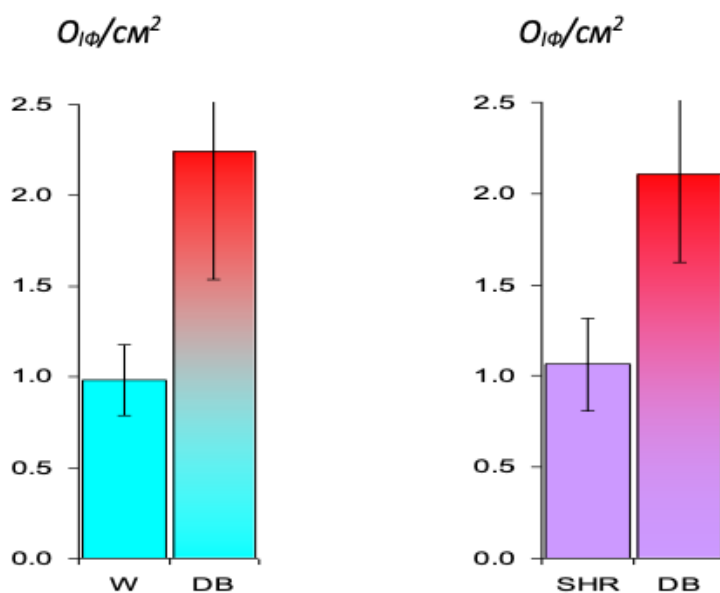


Рисунок 4.14 - Вміст білка p53 в панкреатичних острівцях у інтактних щурів лінії Wistar (блакитний колір) і SHR (бузковий колір) і після введення стрептозотоцину (DB).

Висновок

Проведені дослідження, описані в цьому розділі, виявили ряд нових фактів ремоделювання панкреатичних острівців у нормотензивних тварин лінії Wistar і гіпертензивних щурів лінії SHR внаслідок одноразового введення

бета-цитотоксичного антибіотика стрептозотоцину, який застосовується для експериментального моделювання цукрового діабету. Так було встановлено, що розвиток стрептозотоцинового діабету у щурів лінії SHR посилює ремоделювання інсулярного апарату і призводить до подальшого виснаження пулу бета-ендокриноцитів і синтезованого ними інсуліну в підшлунковій залозі і зниження концентрації гормону в периферичній крові. При цьому слід зазначити, що розвиток діабету у щурів лінії SHR призводить до меншої редукції пулу бета-ендокриноцитів в залозі і зниження популяції альфа-клітин, на відміну від реакції панкреатичних острівців на розвиток діабету у щурів лінії Wistar. В наслідок розвитку діабету зазначалося зміна співвідношення чисельності пулу ендокриноцитів різного типу в підшлунковій залозі експериментальних тварин. Характерним було те, що розвиток цукрового діабету призводив до зменшення показника співвідношення бета-клітин до кількості дельта-клітин у щурів лінії Wistar практично в 10 разів, тоді як у гіпертензивних щурів лінії SHR величина даного показника знижувалася тільки в 2 рази.

Були встановлені нові факти про експресії сімейства апоптотичних білків Bcl2 і p53 в панкреатичних острівцях при розвитку експериментального діабету. Так, у нормотензивних щурів лінії Wistar розвиток діабету супроводжується зменшенням експресії білка Bcl2 в панкреатичних острівцях приблизно в 2 рази на тлі істотного наростання питомого вмісту білка p53 і збільшення індексу апоптозу p53/Bcl2 в 3,8 раза. У панкреатичних острівцях гіпертензивних щурів лінії SHR розвиток діабету супроводжується 2-кратним наростанням питомого вмісту проапоптотичного білка p53 без редукції синтезу антиапоптотичного білка Bcl2. При цьому величина індексу апоптозу p53/Bcl2 у щурів лінії SHR зберігає статистично більш високі значення, ніж у щурів лінії Wistar.

Результати досліджень, наведені в цьому розділі, опубліковані в роботах [223-224, 227, 234-238].

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Результати проведених досліджень показали, що наявність підвищеного до $155,7 \pm 0,9$ мм рт. ст. систолічного артеріального тиску (сАТ) у щурів лінії SHR поєднувалося з нормоглікемією натщесерце на рівні $4,73 \pm 0,10$ ммоль/л. Незважаючи на те, що рівень глікемії натщесерце у щурів лінії SHR на 20 % перевищував показники нормотензивних (сАТ = $105,0 \pm 1,1$ мм рт. ст.) щурів лінії Wistar, проведення тесту толерантності до глюкози у цих тварин показало істотну його зміну в порівнянні з нормотензивними тваринами. Так, пік глікемії досягався пізніше, на 30-й хвилині до $12,67 \pm 0,49$ ммоль/л, і значно перевищував поріг ниркової реабсорбції, а на 90-й хвилині тесту показники глікемії не досягали нормоглікемічного діапазону і відповідали $6,93 \pm 0,11$ ммоль/л. Отже, еуглікемічні показники глюкози натще у щурів лінії SHR можна розглядати як показник фізіологічного стану вуглеводного гомеостазу. Крім того, концентрація інсуліну в крові у нормоглікемічних щурів лінії SHR була на 27,7 % вище, ніж у нормотензивних щурів лінії Wistar, і це призводило до підвищення у них індексу інсулінорезистентності НОМА до $3,42 \pm 0,21$, що дещо перевищувало верхню межу норми, прийняту за 2,7 одиниць. В інших дослідженнях, паралельно проведених на кафедрі патофізіології ЗДМУ, було встановлено, що у нормоглікемічних щурів лінії SHR відзначалися більш високі показники концентрації в крові ліпідів, тригліцеридів і холестерину, що в певній мірі відображає наявність метаболічних порушень. На додаток до цих даних, порушення толерантності до глюкози і підвищення концентрації інсуліну, лептину і індексу НОМА свідчило про формування первинної інсулінорезистентності у гіпертензивних щурів [217-218, 239]. Раніше у цих тварин також були виявлені порушення гормонально-цитокінового балансу, що характеризуються високим рівнем в крові кортикостероїдів і прозапальних цитокінів-інтерлейкіну-6 та фактору

некрозу пухлин альфа [136]. Було також показано формування дизрегуляторних порушень в нейроендокринній регуляції гіпоталамічних харчових центрів у щурів лінії SHR, які відбувалися на тлі прогресуючого збільшення маси тіла тварин на 62-75 % [204]. Ці дані корелювали з підвищенням концентрації в крові ліпідів, тригліцеридів і холестерину [204]. Подібні порушення нейроендокринного, гормонально-цитокінового, вуглеводного і ліпідного гомеостазу, виявлені у гіпертензивних щурів лінії SHR, однозначно демонструють типові ознаки формування метаболічних порушень по діабетичного типу і, на нашу думку, дозволяють розглядати гіпертонічну хворобу як предиктор розвитку цукрового діабету 2-го типу.

У цьому дослідженні нами було встановлено, що формування спадкової артеріальної гіпертензії у щурів лінії SHR супроводжується ремоделюванням інсулярного апарату підшлункової залози, яке проявляється зниженням кількості панкреатичних острівців в 2 рази, в порівнянні з нормотензивними щурами лінії Wistar. У гіпертензивних тварин також змінювалося частотний розподіл панкреатичних острівців, пов'язане з величиною їх поперечного перерізу. Так, якщо у щурів лінії Wistar панкреатичні острівці представлені повним спектром розмірів, то у гіпертензивних щурів лінії SHR домінували маленькі острівці з площею поперечного перерізу до 1500 мкм², і поодинокі бета-ендокриноцити, що не формують острівці. При цьому гігантські панкреатичні острівці з бета-клітинами, площею поперечного перерізу більше 7500 мкм², в підшлунковій залозі у щурів лінії SHR не ідентифікувались. Подібний характер розподілу панкреатичних острівців у дорослих щурів лінії SHR в значній мірі відповідав гістологічній картині, яка спостерігалася у 1 місячних щурів лінії Wistar з фізіологічною гестацією [212], коли в цей період у тварин ембріональний тип бета-клітин змінюється на дорослий тип [211], а також відзначалася у статевозрілих щурів лінії Wistar, які зазнали хронічний пренатальний стрес [212].

Ремоделювання інсулярного апарату підшлункової залози у гіпертензивних щурів лінії SHR супроводжувалося зменшенням чисельності

бета-клітин в підшлунковій залозі в 8 разів, у порівнянні з нормотензивними щурами лінії Wistar. У ряді досліджень зазначалося, що у потомства самок щурів з гестаційним діабетом теж відзначається виснаження пулу бета-клітин, прогресуюче з віком [240]. Зниження чисельності бета-клітин зазначалося і у гіпертензивних щурів лінії SHR в динаміці першого півріччя життя [204]. Це відрізнялося від змін інсулярного апарату підшлункової залози у нормотензивних щурів лінії Wistar, у яких істотне скорочення пулу бета-ендокриноцитів починалося з віку старше 18 місяців, тобто у старіючих осіб [213, 241]. Вважають, що подібне вікове зниження маси бета-клітин в підшлунковій залозі у нормотензивних щурів лінії Wistar може бути обумовлено ослабленням активності регуляторних факторів, що контролюють масу бета-клітин. До важливих регуляторам проліферації бета-клітин відносять фактор росту сполучної тканини (connective tissue growth factor, CTGF), білок з сімейства паратиреоїдних гормонів (parathyroid hormone-related protein, PTHrP) і глюкагоноподібний пептид-1 (glucagon-like peptide-1 GLP-1) [42, 242]. Зниження їх утворення в дорослому організмі або в умовах патології може зменшити ступінь відновлення пулу бета-клітин.

В якості патогенних факторів, що гальмують проліферацію бета-клітин, може виступати порушення регіонального кровотоку і мікроциркуляції в панкреатичних острівцях у щурів лінії SHR [196], а також зміна симпатичної іннервації острівців [243-245], яке може сформуватися в умовах загальної нервової дизрегуляції при артеріальній гіпертензії [246]. Посилення активності симпатичної нервової системи у гіпертензивних щурів лінії SHR може призводити до гальмування проліферації бета-клітин [247] і, як наслідок, до зниження їх загальної маси в підшлунковій залозі. В основі зниження маси бета-клітин в підшлунковій залозі можуть лежати епігенетичні механізми: показано, що з віком скорочується синтез білка *Vmi1*, який гальмує активність генного локусу *Ink/Arf*, що і призводить до збільшення утворювання інгібітора поділу бета-ендокриноцитів - білка $p16^{Ink4a}$ [94].

Раніше згадувалося, що у гіпертензивних щурів лінії SHR на тлі нормоглікемії натще спостерігається підвищений індекс НОМА, а крива глікемії в тесті толерантності до глюкози змінюється по діабетичному типу, що, в цілому, можна охарактеризувати як формування інсулінорезистентності. При цьому зменшення пулу бета-ендокриноцитів у щурів лінії SHR має схожі риси зі зменшенням чисельності бета-клітин у мишей лінії db/db з 2-м типом діабету, у яких відзначається редукція синтезу мРНК до ключових регуляторам диференціювання бета-ендокриноцитів - Nkx6.1, NeuroD1/B2, Pdx1 [248].

Разом з тим, як показали наші дослідження, зменшення чисельності бета-клітин в підшлунковій залозі у гіпертензивних щурів лінії SHR в значній мірі компенсувалося їх гіпертрофією і більш високою концентрацією імунореактивного інсуліну в ендокриноцитах, що, ймовірно, забезпечувало збереження достатнього рівня імунореактивного інсуліну в периферичній крові ($10,99 \pm 0,37$ мкМО/мл проти $8,61 \pm 0,41$ мкМО/мл у щурів лінії Wistar) і, як результат, збереження еуглікемічних показників натще. Слід звернути увагу на те, що підтримка достатньої концентрації інсуліну в крові у щурів лінії SHR проходило на тлі в 3 рази знижених показників питомого вмісту імунореактивного інсуліну в підшлунковій залозі. Ці результати на наш погляд не є суперечливими, а швидше за все свідчить про високу інтенсивність процесів синтезу інсуліну в бета-клітинах і подальшої секреції гормону до периферичного кровотоку. З одного боку, це характеризує високий рівень компенсаторних можливостей бета-ендокриноцитів в умовах зменшення їх пулу в підшлунковій залозі у щурів лінії SHR, а з іншого боку,- може стати причиною виснаження бета-клітин внаслідок тривалого періоду їх високого функціонального навантаження. З огляду на більш високі показники концентрації ліпідів, тригліцеридів і холестерину в крові у щурів лінії SHR, в порівнянні з щурами лінії Wistar [201, 239], слід вважати, що нормоглікемічний статус у гіпертензивних щурів не слід розглядати як показник фізіологічного стану вуглеводного гомеостазу у цих тварин, оскільки

наявність метаболічних порушень ліпідного обміну в наслідку може сприяти порушенню толерантності до глюкози і формуванню метаболічного синдрому.

Раніше ми вказували, що зміна цитоархітектоніки панкреатичних острівців у гіпертензивних щурів лінії SHR супроводжувалося зникненням гігантських острівців, що містять бета-ендокриноцити. При цьому слід зауважити, що даний тип острівців все ж був присутній в структурі підшлункової залози у гіпертензивних щурів лінії SHR, тільки складалися вони переважно з альфа-клітин. В цілому, у цих тварин кількість панкреатичних острівців, що містять альфа-клітини, було на 10 % більше ($p < 0,05$), ніж у нормотензивних щурів лінії Wistar. При цьому, якщо у щурів лінії Wistar співвідношення чисельності пулу бета- і альфа-клітин становило 7:1, то у гіпертензивних щурів лінії SHR даний показник становив 1:2 на користь альфа-ендокриноцитів. Цікавим фактом було і те, що на відміну від нормотензивних щурів лінії Wistar, у гіпертензивних щурів лінії SHR нормоглікемія спостерігалася на тлі більш високої кількості альфа-ендокриноцитів (практично в 2 рази більше) і підвищеного вмісту глюкагону (в 2 рази вище) в підшлунковій залозі. Остання має на увазі і більш високі значення концентрації глюкагону в крові в цих тварин, яка, як ми раніше вказували, поєднувалася з більш високим рівнем інсуліну в крові, в порівнянні з щурами лінії Wistar. Очевидно, що в даному випадку у гіпертензивних щурів слабо виражений або скорочений паракринний ефект інсуліну, який повинен пригнічувати секрецію глюкагону в панкреатичних острівцях не тільки в нормі, але і при екзогенному введенні інсуліну тваринам з алоксановим або стрептозотоцин-індукованим на цукровий діабет [77, 93]. Збільшення пулу альфа-ендокриноцитів і підвищення синтезу глюкагону в підшлунковій залозі в певній мірі пояснює раніше виявлені порушення ліпідного обміну у щурів лінії SHR [77], і які, можливо, є наслідком посилення ліполізу в умовах гіперглюкагонемії.

Разом з тим, причина, по якій у гіпертензивних щурів лінії SHR спостерігається збільшення пулу альфа-ендокриноцитів залишається не цілком зрозумілою. Можливо, генетично детермінований розвиток гіпертензії у щурів лінії SHR поєднується з порушенням модуляції транскрипційного фактора NeuroD1/B2, що реалізує стратегію диференціювання ембріональних ендокриноцитів в окремі лінії альфа- і бета-клітин [249], і/або більш активною експресією гена глюкагону в ембріональних ендокриноцитах під впливом транскрипційних факторів Brn-4 [250] і/або Arx [93], що призводить до переважання альфа-клітинного фенотипу в острівцях. Раніше ми обговорювали можливі механізми, що приводять до зменшення пулу бета-ендокриноцитів в підшлунковій залозі у гіпертензивних щурів лінії SHR, і в якості можливих генетично детермінованих механізмів припускали ймовірне зменшення утворення ряду ключових регуляторів диференціювання бета-ендокриноцитів, таких як Nkx6.1, NeuroD1/B2 і Pdx1. При цьому було відзначено, що зниження експресії гена інсуліну і пов'язаних з ним транскрипційних факторів призводить до посилення експресії транскрипційних факторів, що активують ген глюкагону - Pax6, Foxa1 і Foxa2 [80]. Можливо, що даний механізм може лежати в основі збільшення пулу альфа-клітин у гіпертензивних щурів лінії SHR і відображає контраверсійну реакцію з боку альфа-ендокриноцитів у відповідь на редукцію пулу бета-клітин.

Інше можливе пояснення збільшення маси альфа-ендокриноцитів і вмісту глюкагону в підшлунковій залозі у гіпертензивних щурів лінії SHR може бути пов'язано з особливістю симпатичної і парасимпатичної іннервації панкреатичних острівців, що грає важливу роль в індукції секреції глюкагону. Досить добре відомо, що симпатична іннервація є найбільш сильним стимулятором секреції глюкагону в підшлунковій залозі [57, 220, 251 - 253]. При цьому питання про те, що має більший пріоритет в забезпеченні глюкагон-опосередкованого контролю рівня глікемії - центральні механізми, які визначаються активністю нейронів вентромедіального ядра гіпоталамуса,

що є «мозковим сенсором глюкози», та дорзальним комплексом блукаючого нерву (dorsal complex of n.vagus, DVC), або активністю автономної нервової системи - до справжнього часу є предметом дискусії [220, 251, 254–256]. У той же час, нейрогенні механізми патогенезу гіпертонічної хвороби у людини добре вивчені і є однією з мішеней фармакотерапії, так само як і в експериментальній медицині нейрогенні механізми моделювання гіпертензії у лабораторних тварин використовуються і до теперішнього часу [159]. Отже, більш високий рівень активності симпатичного відділу автономної нервової системи у гіпертензивних щурів лінії SHR може надавати стимулюючий ефект на секрецію глюкагону альфа-клітинами панкреатичних острівців.

Одним з важливих ендокринних компонентів панкреатичних острівців є соматостатин-синтезуючі дельта-клітини, які беруть участь в паракринній регуляції острівцевих ендокриноцитів. При цьому, бета- і альфа-клітини надають стимулюючий ефект на дельта-ендокриноцити, а самі соматостатин-синтезуючі клітини гальмують секреторну активність інсуліну і глюкагон-синтезуючих ендокриноцитів [26, 52, 96, 98, 257]. Нами було показано, що у гіпертензивних щурів лінії SHR чисельність дельта-клітин на 18 % перевищувала ($p < 0,05$) даний показник у щурів лінії Wistar, хоча питомий вміст соматостатину на одиницю площі підшлункової залози у гіпертензивних щурів лінії SHR було на 23,3 % менше ($p < 0,05$), ніж у нормотензивних щурів лінії Wistar. Подібні зміни в підшлунковій залозі відзначали раніше у пацієнтів і у експериментальних тварин з діабетом 2-го типу [258-259]. Однак, найбільш цікавим свідченням ремоделювання панкреатичних острівців у гіпертензивних щурів лінії SHR було зміна співвідношення чисельності пулу бета-клітин до кількості дельта-клітин до показника 9:1 проти показника 88:1, характерного для нормотензивних щурів лінії Wistar. Тобто, якщо у щурів лінії Wistar паракринна функціональна регуляція соматостатин-синтезуючої дельта-клітини поширювалася на 88 бета-ендокриноцитів, то у гіпертензивних щурів лінії SHR - тільки на 9 інсулін-синтезуючих клітин, що навіть за умови зниження вмісту соматостатина в підшлунковій залозі дозволяє соматостатину

надавати більш виражений гальмівний ефект на бета-клітини [96, 98, 257]. Дана обставина може бути ще одним поясненням зменшення вмісту інсуліну в підшлунковій залозі у гіпертензивних щурів лінії SHR. Подібну картину зміни пулу дельта-ендокриноцитів відзначали у пацієнтів з діабетом 1-го і 2-го типу [260-261], а також у тварин з експериментальним або генетично детермінованим діабетом 2-го типу [258-259, 261].

Слід звернути увагу на те, що, по-видимому, паракринні взаємини дельта-ендокриноцитів з альфа-клітинами у гіпертензивних щурів лінії SHR носили повністю протилежний характер. Так, якщо у щурів лінії Wistar на одну дельта-клітку доводилося 14 альфа-ендокриноцитів, то у щурів лінії SHR паракринний контроль з боку соматостатин-синтезуючого ендокриноцита поширювався на 22 глюкагон-синтезуючі клітини. Тобто, гальмівний паракринний контроль альфа-клітин з боку дельта-клітин істотно послаблювався [52, 96, 98]. Дана обставина теж є одним з аргументів, що пояснюють причину наростання вмісту контрінсулярного гормону глюкагону в підшлунковій залозі у гіпертензивних щурів лінії SHR.

Таким чином, в результаті поєднання певних генетичних факторів і дії епігеномних механізмів у підшлунковій залозі щурів лінії SHR формуються такі умови проліферації і диференціювання ендокриноцитів, які призводять до переваги альфа-клітинного фенотипу у дорослих осіб.

Ми вважаємо, що на чисельність ендокриноцитів в підшлунковій залозі може впливати на рівень внутрішньоклітинної експресії проапоптотичних і антиапоптотичних факторів, таких як білки p53 і Bcl2.

Відомо, що серед білків сімейства Bcl-2 виділяється група як з антиапоптотичною, так і з проапоптотичною активністю. Для таких білків як Bcl2-protein (Bcl2), B-cell lymphoma-extra-large (Bcl-xL), Bcl-2-like protein 2 (Bcl-w), Bcl-2-like protein 10 (Bcl-B), myeloid cell leukemia 1 (MCL-1), та Bcl-2-related gene A1 (A1) притаманна антиапоптотична дія [146]. Свій антиапоптотичний ефект вони реалізують на мітохондріальному рівні, а також блокують активність каспаз і проапоптотичних білків членів сімейства Bcl-2 в

бета-клітинах [143]. Інші білки сімейства Bcl-2, такі як Bcl-2-associated X protein (Bax) і Bcl-2 antagonist killer 1 (Bak), навпаки, мають проапоптотичну дію [146, 209]. Вважається, що баланс між про- та антиапоптотичними білками сімейства Bcl-2 є ключовим параметром, що визначає для клітини вибір між життям і смертю [262].

Поряд з білками сімейства Bcl-2 важливим регулятором апоптозу бета-клітин є білок p53, продукт активності гена TP53 (tumor suppressor gene) [143]. Будучи своєрідним геномним щитом («guardian of the genome»), білок p53 ініціює апоптоз при пошкодженні ДНК, викликаним радіацією, хімічними агентами, активними формами кисню, гіпоксією та іншими пошкоджуючими факторами. При цьому свій проапоптотичний потенціал білок p53 реалізує шляхом індукції проапоптотичних білків сімейства Bcl-2: Bax, PUMA (p53-upregulated modulator of apoptosis) і Noxa (phorbol-12-myristate-13-acetate-induced protein 1) [262-263]. Доведено, що білок p53 може виступати тригером дисфункції бета-клітин і пригнічувати в них секрецію інсуліну [263]. Разом з тим показано, що блокування білка p53 або нокаут гена *TP53* у мишей перешкоджає апоптозу бета-ендокриноцитів і унеможлиблює розвиток інсулінорезистентності адипоцитів [263].

У цьому дослідженні ми встановили, що для ендокриноцитів панкреатичних острівців нормотензивних щурів лінії Wistar характерний більш високий рівень синтезу антиапоптотичного білка Bcl2, ніж у гіпертензивних щурів лінії SHR, при однаковому рівні експресії проапоптотичного білка p53. Таким чином, у гіпертензивних щурів лінії SHR можна констатувати формування дефіциту антиапоптотичного потенціалу і підвищення індексу апоптозу ендокриноцитів. Раніше ми згадували про те, що в панкреатичних острівцях гіпертензивних щурів лінії SHR збільшується співвідношення дельта-клітин до чисельності бета-клітин. В цьому випадку може посилюватися ефект соматостатина як паракринного активатора синтезу білків клітинного стресу (Hspa1a і Ddit3) і стимуляції апоптозу бета-клітин у

відповідь на дію ліпотоксичних факторів і прозапальних цитокінів ($IL1\beta$ і $TNF\alpha$), що може сприяти розвитку діабету 2 типу [257].

Все вищесказане в певній мірі пояснює низькі показники питомої щільності популяції бета-ендокриноцитів у гіпертензивних щурів лінії SHR в порівнянні з нормотензивними тваринами лінії Wistar.

Таким чином, комплексне вивчення функціонального стану ендокринного апарату підшлункової залози показало, що розвиток спадкової артеріальної гіпертензії у щурів лінії SHR призводить до ремоделювання інсулярного апарату підшлункової залози і проявляється зміною цитоархітекtonіки панкреатичних острівців, виснаженням пулу бета-ендокриноцитів і резерву імунореактивного інсуліну в підшлунковій залозі. Встановлено, що ремоделювання інсулярного апарату підшлункової залози у гіпертензивних щурів лінії SHR поєднується з ремоделюванням глюкагон-синтезуючої частини панкреатичних острівців у вигляді збільшення пулу альфа-ендокриноцитів і підвищення утворення глюкагону в залозі. На додаток до цього, ремоделювання панкреатичних острівців відбувається на тлі помірного підвищення чисельності пулу соматостатин-синтезуючих дельта-ендокриноцитів, в результаті чого, мабуть, змінюється характер паракринної регуляції острівцевих ендокриноцитів: з боку соматостатин-синтезуючих ендокриноцитів посилюється гальмівний паракринний ефект по відношенню бета-клітин і послаблюється по відношенню до альфа-клітин. Системний аналіз можливих причин ремоделювання ендокринного апарату підшлункової залози при артеріальній гіпертензії, заснований на власних дослідженнях і опублікованих даних інших дослідників, дозволяє виділити ймовірні етіологічні аспекти та патогенетичні механізми ремоделювання панкреатичних острівців (рис. 5.1):

1) Патофізіологічні механізми:

а) зміна характеру нейрогенної регуляції панкреатичних острівців при гіпертензії, а саме посилення їх симпатичної іннервації, що стимулює проліферацію альфа-клітин і послаблює проліферацію бета-ендокриноцитів;

б) зниження трофічного забезпечення функції панкреатичних острівців, викликане ослабленням регіонарного кровотоку і мікроциркуляції при розвитку гіпокінетичної фази перебігу артеріальної гіпертензії;

в) зміна паракринних взаємовідношень в панкреатичних острівцях, обумовлених зменшенням пулу бета-ендокриноцитів і зростання чисельності альфа-клітин і дельта-ендокриноцитів;



Рисунок 5.1 – Патогенетичні механізми ремоделювання панкреатичних острівців при артеріальній гіпертензії.

2). Епігенетичні механізми:

а) зниження утворення стимуляторів проліферації бета-клітин GLP-1, CTGF, PTHrP;

б) зниження активності регуляторів диференціювання бета-ендокриноцитів з прогеніторних клітин - Nkx6.1, NeuroD1/B2, Pdx1;

в) посилення утворення інгібіторів проліферації бета-клітин Bmi1, p16^{Ink4a};

г) посилення утворення регуляторів диференціювання альфа-ендокриноцитів з прогеніторних клітин - Pax6, Foxa1, Foxa2.

В результаті ремоделювання панкреатичних острівців при артеріальній гіпертензії на тлі нормоглікемії спостерігається компенсаторна гіперінсулінемія, порушення паракринної регуляції острівцевих ендокриноцитів і відповіді на екзогенне введення інсуліну, а також формування інсулінорезистентності. Отже, наслідки ремоделювання панкреатичних острівців у щурів лінії SHR проявляються дещо іншою реакцією ендокринного апарату підшлункової залози на розвиток стрептозотоцин-індукованого діабету на відміну від нормотензивних щурів лінії Wistar.

Так, 3-тижневий розвиток експериментального діабету у нормотензивних і у гіпертензивних щурів закономірно призводить до формування стійкої гіперглікемії, зниження пулу бета-ендокриноцитів. Однак, якщо у щурів лінії Wistar на введення стрептозотоцину зазначалося 6-кратне зниження чисельності бета-ендокриноцитів і 2-кратне зменшення вмісту інсуліну в підшлунковій залозі, то у гіпертензивних щурів лінії SHR спостерігалися менш інтенсивні ознаки деструкції бета-клітин: чисельність пулу ендокриноцитів зменшувалася тільки лише в 2 рази, а питомий вміст інсуліну в залозі тільки на 30 %.

Однак, більш істотні відмінності між реакцією нормотензивних і гіпертензивних щурів на введення стрептозотоцину відзначалися з боку пулу альфа-ендокриноцитів: якщо у щурів лінії Wistar спостерігалось 2-кратне

підвищення чисельності глюкагон-синтезуючих ендокриноцитів, то у гіпертензивних щурів лінії SHR відзначалася 4-кратна редукція пулу альфа-клітин. Незважаючи на це, вміст глюкагону в підшлунковій залозі тварин порівнюваних ліній підвищувався і досягало однаково рівня в порівнюваних групах. При цьому приріст вмісту глюкагону у гіпертензивних щурів був менш виражений, що, можливо, і було причиною менш інтенсивного наростання рівня глікемії у цих щурів при діабеті. Ми вважаємо, що на чисельність ендокриноцитів в підшлунковій залозі в нормі і при розвитку експериментального діабету можуть впливати не тільки бета-цитопатичні чинники, такі як стрептозотоцин, антитіла до внутрішньоострівцевих антигенів, гіпоксія, а й рівень внутрішньоклітинної експресії проапоптотичних і антиапоптотичних факторів, таких як білки p53 і Bcl2.

Так було показано, що при діабеті 1-го і 2-го типів поряд з іншими молекулярними регуляторами апоптозу, в бета-клітинах зростає продукція Bcl2 [143], що може мати захисне значення і в якійсь мірі відобразити компенсаторні можливості бета-ендокриноцитів при діабеті. При цьому зазначено, що апоптоз бета-клітин, викликаний гіперпродукцією прозапальних цитокінів та зниженням мітохондріального трансмембранного потенціалу в ендокриноцитах при діабеті, гальмується при стимуляції експресії Bcl2 [264]. Таким чином, визначення балансу між синтезом анти- і проапоптотичних факторів в ендокриноцитах підшлункової залози може бути прогностичним фактором для оцінки резистентності бета-ендокриноцитів до дії патогенних факторів, а також при оцінці ризику розвитку цукрового діабету. У цьому дослідженні ми виявили дефіцит антиапоптотичного потенціалу, викликаного зниженням синтезу в панкреатичних острівцях білка Bcl2, що призводило до наростання індексу апоптозу ендокриноцитів у нормоглікемічних гіпертензивних щурів лінії SHR до рівня, характерного для нормотензивних щурів лінії Wistar зі стрептозотоциновим діабетом. Крім того, розвиток діабету у гіпертензивних щурів лінії SHR супроводжувалося 2-кратним наростанням питомого вмісту проапоптотичного білка p53 в

панкреатичних острівцях без редукції синтезу антиапоптотичного білка Bcl2. При цьому величина індексу апоптозу p53/Bcl2 у щурів лінії SHR зберігала статистично більш високі значення, ніж у щурів лінії Wistar. Даний факт певною мірою пояснює низькі показники питомої щільності популяції бета-ендокриноцитів у гіпертензивних щурів лінії SHR в порівнянні з нормотензивними тваринами лінії Wistar [221-222]. При цьому примітним є той факт, що адаптивні гіпобаричні гіпоксичні тренування щурів лінії Wistar зі стрептозотоцин-індукованим діабетом підвищують антиапоптотичний потенціал бета-клітин і знижують індекс апоптозу, що, в кінцевому рахунку, призводить до наростання пулу бета-ендокриноцитів, збільшення в них синтезу інсуліну і зниження рівня глікемії [227, 265].

ВИСНОВКИ

Незважаючи на широку поширеність гіпертонічної хвороби та цукрового діабету, прямий патогенетичний взаємозв'язок між ними досі недостатньо обґрунтований, хоча високий ступінь коморбідності даних патологій є цілком очевидним. У дисертації наведено теоретичне обґрунтування і експериментальне вирішення актуальної наукової задачі, яка полягає у встановленні механізмів ремоделювання панкреатичних острівців при розвитку експериментального цукрового діабету у нормотензивних щурів лінії Wistar та спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR.

1. Для гіпертензивних щурів лінії SHR характерна нормоглікемія натще в поєднанні з конфігурацією глікемічного профілю за діабетичним типом в тесті толерантності до глюкози. Формування артеріальної гіпертензії у щурів лінії SHR супроводжується ремоделюванням інсулярного апарату підшлункової залози зі зниженням кількості панкреатичних острівців у 2 рази, домінуванням серед них острівців площею поперечного перетину менше 1500 мкм^2 і зменшенням чисельності бета-клітин у 8 разів. При цьому, незважаючи на помірну гіпертрофію бета-ендокриноцитів і підвищення в них концентрації інсуліну, питомий вміст гормону в підшлунковій залозі приблизно в 3 рази менший, ніж у нормотензивних щурів лінії Wistar.

2. Розвиток стрептозотоцинового діабету у гіпертензивних щурів лінії SHR прискорює ремоделювання інсулярного апарату і призводить до виснаження пулу бета-ендокриноцитів, що супроводжується двократним зменшенням їх чисельності в підшлунковій залозі, зниженням на 30 % синтезованого інсуліну, зниженням концентрації гормону в периферичній крові на 43 % та зростанням рівня глікемії до $11,5 \pm 0,9$ ммоль/л. Разом з тим, параметри бета-цитотоксичної дії стрептозотоцину в гіпертензивних щурів лінії SHR виражені меншою мірою, на відміну від реакції пулу бета-клітин у нормотензивних щурів лінії Wistar.

3. Панкреатичні острівці гіпертензивних щурів лінії SHR характеризуються двократним збільшенням пулу альфа-ендокриноцитів і двократним зростанням питомого вмісту глюкагону в підшлунковій залозі у порівнянні з нормотензивними щурами лінії Wistar. Формування діабету у гіпертензивних щурів лінії SHR призводить до чотирикратного зниження чисельності популяції альфа-клітин, на відміну від нормотензивних щурів лінії Wistar, в яких пул альфа-ендокриноцитів збільшується у 2 рази. При цьому питомий вміст глюкагону в підшлунковій залозі гіпертензивних щурів лінії SHR зростає в 1,5 раза і в абсолютних значеннях сягає показників нормотензивних щурів лінії Wistar.

4. У підшлунковій залозі гіпертензивних щурів лінії SHR чисельність дельта-ендокриноцитів на 18 % більша, ніж у нормотензивних щурів лінії Wistar, однак питомий вміст соматостатину становить тільки 73 % від величини даного показника щурів лінії Wistar. Реакція соматостатин-синтезуючих ендокриноцитів на розвиток експериментального діабету характеризується істотним, на 80 %, збільшенням чисельності дельта-клітин і восьмикратним зростанням питомого вмісту гормону в підшлунковій залозі у нормотензивних щурів лінії Wistar при відсутності статистично значущих змін у гіпертензивних щурів лінії SHR.

5. В ендокриноцитах панкреатичних острівців гіпертензивних щурів лінії SHR площа матеріалу, імунореактивного до білка Bcl2, в 2 рази менша, а відносний вміст самого білка в 3 рази менший, ніж у нормотензивних щурів лінії Wistar. При цьому істотних відмінностей в показниках експресії білка p53 в ендокриноцитах нормо- і гіпертензивних щурів не спостерігається. При розвитку експериментального діабету питомий вміст антиапоптотичного білка Bcl2 в панкреатичних острівцях зменшується тільки у нормотензивних щурів лінії Wistar (в 1,5 раза). У той же час, у нормотензивних і у гіпертензивних щурів розвиток діабету призводить до однакового зростання концентрації проапоптотичного білка p53 в ендокриноцитах та підвищенню його питомого вмісту в підшлунковій залозі.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Global Disparities of Hypertension Prevalence and Control: A Systematic Analysis of Population-Based Studies From 90 Countries / K. T. Mills, J. D. Bundy, T. N. Kelly et al. *Circulation*. 2016. Vol. 134 (6). P. 441–450.
2. European cardiovascular disease statistics 2008 / Health Economic Research Group, Department of Public Health, University of Oxford ; S. Allender, P. Scarborough, V. Peto et al. URL : <http://www.heartstats.org>
3. Davy K. P., Hall J. E. Obesity and hypertension: two epidemic sorone? *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2004. Vol. 286. P. R803– 813.
4. Deedwania P. Hypertension, dyslipidemia, and insulin resistance in patients with diabetes mellitus or the cardiometabolic syndrome: benefits of vasodilating beta-blockers. *J. Clin. Hypertens.* 2011. Vol. 13. P. 52–59.
5. Оцінка ефективності «Програми профілактики і лікування артеріальної гіпертензії в Україні» за даними епідеміологічних досліджень / І. М. Горбась, О. О. Смирнова, І. П. Кваша, А. П. Дорогой. *Артериальная гипертензия*. 2010. № 6 (14). С. 51–67.
6. Hypertension and diabetes mellitus / M. N. Mugo, C. S. Stump, P. G. Rao et al. *Hypertension: A Companion to Braunwald's Heart Disease* / eds : H. R. Black, W. J. Elliott. Elsevier, 2007. 409 p.
7. International Diabetes Federation. Diabetes atlas. 2007. N 3. URL : <http://www.eatlas.idf.org/>
8. Diabetes facts / World Health Organization. URL : <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>.
9. Global report on diabetes / World Health Organization. URL : <https://www.who.int/diabetes/global-report/en/>
10. Type 2 diabetes mellitus and heart failure: a position statement from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology / P. M. Seferovic,

M. C. Petrie, G. S. Filippatos et al. *Eur. J. Heart Failure*. 2018. Vol. 20. P. 853–872. DOI : 10.1002/ejhf.1170.

11. Cheung B. M. Y., Li C. Diabetes and Hypertension: Is There a Common Metabolic Pathway? *Curr. Atheroscler. Rep.* 2012. Vol. 14. P. 160–166. DOI : 10.1007/s11883-012-0227-2.

12. Roglic G., Unwin N. Mortality attributable to diabetes: estimates for the year 2010. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2010. Vol. 87, N 1. P. 15–19.

13. Cheung B. M. The hypertension-diabetes continuum. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2010. Vol. 55. P. 333–339.

14. Landsberg L., Molitch M. Diabetes and hypertension: pathogenesis, prevention and treatment. *Clin. Exp. Hypertens.* 2004. Vol. 26. P. 621–628.

15. Kelly C., McClenaghan N. H., Flatt P. R. Role of islet structure and cellular interactions in the control of insulin secretion. *Islets*. 2011. Vol. 3, N 2. P. 41–47.

16. β -cell mass dynamics and islet cell plasticity in human type 2 diabetes / S. C. Hanley, E. Austin, B. Assouline-Thomas et al. *Endocrinology*. 2010. Vol. 151. P. 1462–1472. DOI : 10.1210/en.2009-1277

17. Meier J. J. The contribution of incretin hormones to the pathogenesis of type 2 diabetes. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 2009. Vol. 23. P. 433–441. DOI : 10.1016/j.beem.2009.03.007.

18. Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases: executive summary. The task force on diabetes and cardiovascular diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Association for the study of diabetes (EASD) / L. Rydén, E. Standl, M. Bartnik et al. *Eur. Heart J.* 2007. Vol. 28 (1). P. 88–136.

19. Писарук А. В., Кошель Н. М., Войтенко В. П. Смертность от сердечно-сосудистых заболеваний и образ жизни в странах Европы (медико-демографическое исследование). *Кровообіг та гемостаз*. 2014. № 1-2. С. 43–51.

20. Дудник С. Сердечно-сосудистые заболевания в Украине: прогнозы -

неутешительны. *Ваше здоров'я*. 2015. URL : <https://www.vz.kiev.ua/ru/sercevo-sudinni-zaxvoryuvannya-v-ukrayini-prognozi-nevtishni/>.

21. DaSilva X. G. The Cells of the Islets of Langerhans. *J. Clin. Med.* 2018. Vol. 7 (3). Pii: E54. DOI : 10.3390/jcm7030054.

22. Ahren B. Autonomic regulation of islet hormone secretion - Implications for health and disease. *Diabetologia*. 2000. Vol. 43. P. 393–410

23. Assessment of Human Pancreatic Islet Architecture and Composition by Laser Scanning Confocal Microscopy / M. Brissova, M. Fowler, W. Nicholson et al. *J. Histochem. Cytochem.* 2005. Vol. 53, N 9. P. 1087–1097.

24. Induction of hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) and its target genes following focal ischaemia in rat brain / M. Bergeron, A. Y. Yu, K. E. Solway et al. *Eur J. Neurosci.* 1999. Vol. 11. 4159–4170.

25. Yovos J. G. The role of α -, δ - and F cells in insulin secretion and action. *Diabet. Res. Clin. Pract.* 2011. Vol. 93S. P. S25–S26.

26. Балаболкин М. И. Диабетология. М. : Медицина, 2000. 672 с.

27. Islet architecture: A comparative study / A. Kim, K. Miller, J. Jo et al. *Islets*. 2009. Vol. 1. P. 129–136. DOI : 10.4161/isl.1.2.9480.

28. Pancreatic islet plasticity: Interspecies comparison of islet architecture and composition / D. J. Steiner, A. Kim, K. Miller, M. Hara. *Islets*. 2010. Vol. 2. P. 135–145. DOI : 10.4161/isl.2.3.11815.

29. A 3D map of the islet routes throughout the healthy human pancreas / C. Ionescu-Tirgoviste, P. A. Gagniuc, E. Gubceac et al. *Sci. Rep.* 2015, Vol. 5. P. 14634. DOI : 10.1038/srep14634.

30. Saito K., Iwama N., Takahashi T. Morphometrical analysis on topographical difference in size distribution, number and volume of islets in the human pancreas. *Tohoku J. Exp. Med.* 1978. Vol. 124. P. 177–186. DOI : 10.1620/tjem.124.177.

31. The unique cyto architecture of human pancreatic islets has implications for islet cell function / O. Cabrera, D. Berman, N. Kenyon et. al. *PNAS*. 2006. Vol. 103, N. 7. P. 2334–2339.

32. Cellular Interaction Between Mouse Pancreatic α -Cell and β -Cell Lines: Possible Contact-Dependent Inhibition of Insulin Secretion / K. Hamaguchi, N. Utsunomiya, R. Takaki et al. *Exp. Biol.* 2003. Vol. 228. P. 1227–1233.
33. Ghrelin cells replace insulin-producing ϵ -cells in two mouse models of pancreas development / C. L. Prado, A. E. Pugh-Bernard, L. Elghazi et al. *PNAS*. 2004. Vol. 101, N 9. P. 2924–2929.
34. Samols E., Bonner-Weir S., Weir G. C. Intra-islet insulin-glucagon-somatostatin relationships. *Clin. Endocrinol. Metab.* 1986. Vol. 15. P. 33–58. DOI : 10.1016/S0300-595X(86)80041-X.
35. Elayat A., El-N. M., Tahir M. J. An immunocytochemical and morphometric study of the rat pancreatic islets. *Anat.* 1995. Vol. 186. P. 629–637.
36. Rutter G. A., Hodson D. J. Minireview: Intra-islet regulation of insulin secretion in humans. *Mol. Endocrinol.* 2013; Vol. 27:1984–1995. doi: 10.1210/me.2013-1278
37. Pancreatic β -cell identity, glucose sensing and the control of insulin secretion / G. A. Rutter, T. J. Pullen, D. J. Hodson, A. Martinez-Sanchez. *Biochem. J.* 2015. Vol. 466. P. 203–218. DOI : 10.1042/BJ20141384.
38. Potential role of resident islet macrophage activation in the initiation of autoimmune diabetes / M. Arnush, A. L. Scarim, M. R. Heitmeier et al. *J. Immunol.* 1998. Vol. 160. P. 2684–2691.
39. Arnush M., Heitmeier M. R., Scarim A. L. IL-1 Produced and Released Endogenously within Human Islets Inhibits β -Cell Function. *J. Clin. Invest.* 1998. Vol. 102, N 3. P. 516–526.
40. Lacy P. E., E. H. Finke. Activation of Intra-islet Lymphoid Cells Causes Destruction of Islet Cells. *Am. J. Pathol.* 1991. Vol. 138, N 5. P. 1183–1190.
41. Sympathetic innervation during development is necessary for pancreatic islet architecture and functional maturation / P. Borden, J. Houtz, S. D. Leach, R. Kuruvilla. *Cell Rep.* 2013. Vol. 4. P. 287–301. DOI : 10.1016/j.celrep.2013.06.019.
42. Review: pancreatic β -cell neogenesis revisited / M. Paris, C. Turrel-Cuzin, C. Plachot, A. Ktorza. *Exp. Diabetes Res.* 2004. Vol. 5 (2). P. 111–121.

43. Adult pancreatic beta-cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation / Y. Dor, J. Brown, O. I. Martinez, D. A. Melton. *Nature*. 2004. Vol. 429. P. 41–46. DOI : 10.1038/nature02520.

44. Regulated beta-cell regeneration in the adult mouse pancreas / D. A. Cano, I. C. Rulifson, P. W. Heiser et al. *Diabetes*. 2008. Vol. 57. P. 958–966. DOI : 10.2337/db07-0913.

45. Conversion of adult pancreatic alpha-cells to beta-cells after extreme beta-cell loss / F. Thorel, V. Nepote, I. Avril et al. *Nature*. 2010. Vol. 464. P. 1149–1154. DOI : 10.1038/nature08894.

46. Diabetes recovery by age-dependent conversion of pancreatic delta-cells into insulin producers / S. Chera, D. Baronnier, L. Ghila et al. *Nature*. 2014. Vol. 514. P. 503–507. DOI : 10.1038/nature13633.

47. Lukinius A., Jansson L., Korsgren O. Ultrastructural Evidence for Blood Microvessels Devoid of an Endothelial Cell Lining in Transplanted Pancreatic Islets. *Am. J. Pathol.* 1995. Vol. 146. P. 429–435.

48. Murakami T., Fujita T. Microcirculation of the rat pancreas, with special reference to the insulo-acinar portal and insulo-venous drainage systems: a further scanning electron microscope study of corrosion casts. *Arch. Histol. Cytol.* – 1992. – Vol. 55, N 5. P. 453–476.

49. Lammert E., Cleaver O., Melton D. Induction of pancreatic differentiation by signals from blood vessels. *Science*. 2001. Vol. 19. P. 564–567.

50. Lammert E. Cleaver O., Melton D. Role of endothelial cells in early pancreas and liver development. *Mech. Dev.* 2003. Vol. 120. P. 59–64.

51. Ballian N., Brunnicardi F. Islet Vasculature as a Regulator of Endocrine Pancreas Function. *World J. Surg.* 2007. Vol. 31. P. 705–714.

52. Samols E., Stagner J. I. Intra-islet regulation. *Am. J. Med.* 1988. Vol. 28, N 85, (suppl. 5A). P. 31–35.

53. The Order of Islet Microvascular Cellular Perfusion Is B - A - D in the Perfused Rat Pancreas / E. Samols, J. Stagner, R. Ewart et al. *J. Clin. Invest.* 1988. Vol. 82. P. 350–353.

54. Dynamic in vivo observation of rat islet microcirculation / Y. M. Liu, P. H. Guth, K. Kaneko et al. *Pancreas*. 1993. Vol. 8, N 1. P. 15–21.
55. Burris R. E., Hebrok M. Pancreatic innervation in mouse development and β -cell regeneration. *Neurosci*. 2007. Vol. 12, N 150. P. 592–602.
56. Increased islet blood flow in obese rats. Role of the autonomic nervous system / N. Atef, A. Ktorza, L. Picon et al. *Am. J. Physiol*. 1992. Vol. 262. P. 736–740.
57. Ahrén B., Veith R., Taborsky G. Sympathetic Nerve Stimulation Versus Pancreatic Norepinephrine Infusion in the Dog: 1) Effect on Basal Release of Insulin and Glucagon. *Endocrinology*. 1987. Vol. 121 (1). P. 323–331. DOI : 10.1210/endo-121-1-323.
58. Murphy B. J. Regulation of malignant progression by the hypoxia sensitive transcription factors HIF1- α and MTF 1. *Comp. Biochem. Physiol*. 2004 Vol. 139, N 3. P. 495–507.
59. Rorsman P., Renstrom E. Insulin granule dynamics in pancreatic beta cells. *Diabetologia*. 2003. Vol. 46. P. 1029–1045. DOI : 10.1007/s00125-003-1153-1.
60. Irwin N., Flatt P. R. Enteroendocrine hormone mimetics for the treatment of obesity and diabetes. *Curr. Opin. Pharmacol*. 2013. Vol. 13. P. 989–995. DOI : 10.1016/j.coph.2013.09.009.
61. Circulating prosomatostatin-derived peptides. Differential responses to food ingestion / J. W. Ensink, E. C. Laschansky, R. E. Vogel et al. *J. Clin. Investig*. 1989. Vol. 83. P. 1580–1589. DOI : 10.1172/JCI114055.
62. Differential effects of beta-adrenergic agonists on insulin secretion from pancreatic islets isolated from rat and man / R. J. Lacey, N. S. Berrow, N. J. London et al. *J. Mol. Endocrinol*. 1990. Vol. 5. P. 49–54. DOI : 10.1677/jme.0.0050049.
63. SSTR2 is the functionally dominant somatostatin receptor in human pancreatic beta- and alpha-cells / B. Kailey, M. van de Bunt, S. Cheley et al. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*. 2012. Vol. 303. P. E1107–E1116. DOI : 10.1152/ajpendo.00207.2012.

64. Neurotransmitter-induced inhibition of exocytosis in insulin-secreting beta cells by activation of calcineurin / E. Renstrom, W. G. Ding, K. Bokvist, P. Rorsman. *Neuron*. 1996. Vol. 17. P. 513–522. DOI : 10.1016/S0896-6273(00)80183-X.

65. Wierup N., Sundler F., Heller R. S. The islet ghrelin cell. *J. Mol. Endocrinol.* 2014. Vol. 52. P. R35–R49. DOI : 10.1530/JME-13-0122.

66. Leptin suppression of insulin secretion and gene expression in human pancreatic islets: Implications for the development of adipogenic diabetes mellitus / J. Seufert, T. J. Kieffer, C. A. Leech et al. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1999. Vol. 84. P. 670–676. DOI : 10.1210/jc.84.2.670.

67. Effects of Zn²⁺ on glucose-induced electrical activity and insulin release from mouse pancreatic islets / R. Ferrer, B. Soria, C. M. Dawson et al. *Am. J. Physiol.* 1984. Vol. 246. P. C520–C527. DOI : 10.1152/ajpcell.1984.246.5.C520.

68. Zinc, non insulin, regulates the rate alpha-cell response to hypoglycemia in vivo / H. Zhou, T. Zhang, J. S. Harmon et al. *Diabetes*. 2007. Vol. 56. P. 1107–1112. DOI : 10.2337/db06-1454.

69. Long-term recovery of beta-cell function after partial pancreatectomy in humans / B. A. Menge, T. G. Breuer, P. R. Ritter et al. *Metabolism*. 2012. Vol. 61. P. 620–624. DOI : 10.1016/j.metabol.2011.09.019.

70. Partial pancreatectomy in adult humans does not provoke beta-cell regeneration / B. A. Menge, A. Tannapfel, O. Belyaev et al. *Diabetes*. 2008. Vol. 57. P. 142–149. DOI : 10.2337/db07-1294.

71. Metabolic consequences of a 50 % partial pancreatectomy in humans / B. A. Menge, H. Schrader, T. G. Breuer et al. *Diabetologia*. 2009. Vol. 52. P. 306–317. DOI : 10.1007/s00125-008-1219-1.

72. Increased neuronal nitric oxide synthase dimerisation is involved in rat and human pancreatic beta cell hyperactivity in obesity / K. Mezghenna, P. Pomies, A. Chalancon et al. *Diabetologia*. 2011; Vol. 54. P. 2856–2866. DOI : 10.1007/s00125-011-2264-8.

73. Insulin-like Signaling Determines Survival during Stress via

Posttranscriptional Mechanisms in *C. elegans* / G. McColl, A. N. Rogers, S. Alavez et al. *Cell Metabol.* 2010. Vol. 12, issue 3. P. 260–272.

74. Comparative Study of Low Doses of Rosuvastatin and Atorvastatin on Lipid and Glycemic Control in Patients with Metabolic Syndrome and Hypercholesterolemia / J.-S. Park, Y.-J. Kim, Ji-Y. Choi et al. *Korean J. Intern. Med.* 2010. Vol. 25, N 1. P. 27–35.

75. Доборджинидзе Л. М., Грацианский Н. А. Роль статинов в коррекции диабетической дислипидемии. *Сахарный диабет.* 2001. № 2. С. 41–47.

76. Physiology of the pancreatic α -cell and glucagon secretion: role in glucose homeostasis and diabetes / I. Quesada, Tuduri E., C. Ripoll, A. Nadal. *J. Endocrinol.* 2008. Vol. 199 (1). P. 5–19. DOI : 10.1677/joe-08-0290.

77. Gromada J., Franklin I., Wollheim C. α -Cells of the Endocrine Pancreas: 35 Years of Research but the Enigma Remains. *Endocr. Rev.* 2007. Vol. 28, N 1. P. 84–116.

78. Unger, R., Orci L. The essential role of glucagon in the pathogenesis of diabetes mellitus. *Lancet.* 1975. Vol. 305 (7897). P. 14–16. DOI : 10.1016/s0140-6736(75)92375-2.

79. Dunning B. E., Gerich J. E. The Role of α -Cell Dysregulation in Fasting and Postprandial Hyperglycemia in Type 2 Diabetes and Therapeutic Implications. *Endocr. Rev.* 2007. Vol. 28. P. 253–283. DOI : 10.1210/er.2006-0026.

80. Gosmain Y., Masson M., Philippe J. Glucagon: The renewal of an old hormone in the pathophysiology of diabetes. *J. Diabetes.* 2013. Vol. 5 (2). P. 102–109. DOI : 10.1111/1753-0407.12022.

81. Gylfe E. Glucose control of glucagon secretion - 'There's a brand-new gimmick every year'. *Ups. J. Med. Sci.* 2016. Vol. 121. P. 120–132. DOI : 10.3109/03009734.2016.1154905.

82. Islet beta-cell secretion determines glucagon release from neighbouring alpha-cells / H. Ishihara, P. Maechler, A. Gjinovci et al. *Nat. Cell Biol.* 2003. Vol. 5. P. 330–335. DOI : 10.1038/ncb951.

83. Regulation of glucagon secretion by glucose: Paracrine, intrinsic or both? / J. N. Walker, R. Ramracheya, Q. Zhang et al. *Diabetes Obes. Metab.* 2011. Vol. 13 (suppl. 1). P. 95–105. DOI : 10.1111/j.1463-1326.2011.01450.x.

84. In appropriate suppression of glucagon during OGTT but not during isoglycemic. V. Glucose infusion contributes to there duce incretin effect in type 2 diabetes mellitus / F. K. Knop, T. Vilsboll, S. Madsbad et al. *Diabetologia.* 2007; Vol. 50:797–805. DOI : 10.1007/s00125-006-0566-z.

85. Insulin storage and glucose homeostasis in mice null for the granule zinc transporter *znt8* and studies of the type 2 diabetes-associated variants / T. J. Nicolson, E. A. Bellomo, N. Wijesekara et al. *Diabetes.* 2009. Vol. 58. P. 2070–2083. DOI : 10.2337/db09-0551.

86. Ravier M. A., Rutter G. A. Glucose or insulin, but not zinc ions, inhibit glucagon secretion from mouse pancreatic alpha-cells. *Diabetes.* 2005. Vol. 54. P. 1789–1797. DOI : 10.2337/diabetes.54.6.1789.

87. The separate and combined impact of the intestinal hormones, GIP, GLP-1, and GLP-2, on glucagon secretion in type 2 diabetes / A. Lund, T. Vilsboll, J. I. Bagger et al. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2011. Vol. 300. P. E1038–E1046. DOI : 10.1152/ajpendo.00665.2010.

88. GLP-1 inhibits and adrenaline stimulates glucagon release by differential modulation of N- and L-type Ca²⁺ channel-dependent exocytosis / Y. Z. DeMarinis, A. Salehi, C. E. Ward et al. *Cell Metab.* 2010. Vol. 11. P. 543–553. DOI : 10.1016/j.cmet.2010.04.007.

89. Glucagon-like peptide-1, but Not Glucose-Dependent Insulinotropic Peptide, Inhibits Glucagon Secretion via Somatostatin (Receptor Subtype 2) in the Perfused Rat Pancreas / J. De Heer, C. Rasmussen, D. H. Coy, J. J. Holst. *Diabetologia.* 2008. Vol. 51. P. 2263–2270. DOI : 10.1007/s00125-008-1149-y.

90. Klaff L. J., Taborsky G. J. Jr. Pancreatic somatostatin is a mediator of glucagon inhibition by hyperglycemia. *Diabetes.* 1987. Vol. 36. P. 592–596. DOI : 10.2337/diab.36.5.592.

91. Delta cell death in the islet of langerhans and the progression from normal glucose tolerance to type 2 diabetes in non-human primates (baboon, *papio hamadryas*) / M. R. Guardado, C. Perego, G. Finzi et al. *Diabetologia*. 2015. Vol. 58. P. 1814–1826. DOI : 10.1007/s00125-015-3625-5.
92. The Alpha-Cell as Target for Type 2 Diabetes Therapy / M. Christensen, J. Bagger, T. Vilsboll, F. Knop. *Rev. Diabet. Studies*. 2011. Vol. 8 (3). P. 369–381. DOI : 10.1900/rds.2011.8.369.
93. Unger R., Cherrington A. Glucagonocentric restructuring of diabetes: a pathophysiologic and therapeutic makeover. *J. Clin. Invest.* 2012. Vol. 122 (1). P. 4–12. DOI : 10.1172/jci60016.
94. Avrahami D., Kaestner K. H. Epigenetic regulation of pancreas development and function. *Semin. Cell Dev. Biol.* 2012 Vol. 23 (6). P. 693–700. DOI : 10.1016/j.semcdb.2012.06.002.
95. Valverde I. An overview of glucagon research. *Diabetologia*. 2016. Vol. 59 (7). P. 1364–1366. DOI : 10.1007/s00125-016-3946-z.
96. Rorsman P., Huising M. O. The somatostatin-secreting pancreatic delta-cell in health and disease. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2018. Vol. 14. P. 404–414. DOI : doi.org/10.1038/ s41574-018-0020-6.
97. Somatostatin secreted by islet delta-cells fulfills multiple roles as a paracrine regulator of islet function / A. C. Hauge-Evans, A. J. King, D. Carmignac et al. *Diabetes*. 2009. Vol. 58. P. 403–411. DOI : 10.2337/db08-0792.
98. Stengel A., Taché Y. Central somatostatin signaling and regulation of food intake. *Ann N-Y Acad Sci.* 2019. Vol. 1455 (1). P. 98-104. DOI : 10.1111/nyas.14178.
99. Specifying pancreatic endocrine cell fates / P. Collombat, J. Hecksher-Sorensen, P. Serup, A. Mansouri. *Mech. Dev.* 2006. Vol. 123. P. 501–512. DOI : 10.1016/j.mod.2006.05.006.
100. Pax4 acts as a key player in pancreas development and plasticity / T. Napolitano, F. Avolio, M. Courtney et al. *Semin Cell Dev. Biol.* 2015. Vol. 44. P. 107–114. DOI : 10.1016/j.semcdb.2015.08.013.

101. The diabetes gene Hhex maintains delta-cell differentiation and islet function / J. Zhang, L. B. McKenna, C. W. Bogue, K. H. Kaestner. *Genes Dev.* 2014. Vol. 28. P. 829–834. DOI : 10.1101/gad.235499.113.

102. Грекова Т. А. Стан ендокриноцитів панкреатичних острівців в експериментальних тварин при гіперглікемії різної етіології та патогенезу: дис. ... канд.. мед. наук. К., 2011. 161 с.

103. Bailey C. J., Flatt P. R. Islet defects and insulin resistance in models of obese non-insulin-dependent diabetes. *Diabetes Metab Rev.* 1993. Vol. 9 Suppl 1. P. 43S-50S. DOI : 10.1002/dmr.5610090508.

104. Abnormalities of glucose tolerance following gestational diabetes / A. Domhorst, P. C. Bailey, V. Anyaoku et al. *Q. J. Med.* 1990. Vol. 284 (new series 77). P. 1219–1228.

105. Nelson-Piercy C., Gale E. A. Do we know how to screen for gestational diabetes? Current practice in one regional health authority. *Diabetic Med.* 1994. Vol. 11. P. 493–498.

106. GD and insulin resistance: role in short- and long-term implications for mother and fetus / P. M. Catalano, J. P. Kirwan, S. Haugel-deMouzon et al. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 1993. Vol. 264. P. 60–67.

107. Carbohydrate metabolism during pregnancy in control subjects and women with gestational diabetes / P. M. Catalano, E. D. Tyzbir, R. R. Wolfe et al. *Am. J. Physiol.* 1993. Vol. 264 (1, pt 1). P. E60–E67.

108. Aerts L., Vercruysse L., Van Assche F. A. The endocrine pancreas in virgin and pregnant offspring of diabetic pregnant rats. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 1997. Vol. 38, N 1. P. 9–19.

109. Cheung N. W. The management of gestational diabetes. *Vasc. Health Risk Manag.* 2009. Vol. 5. P. 153–164

110. Резников А. Г. Эндокринологические аспекты стресса. *Международ. эндокринологич. журн.* 2007. № 4 (10). URL : http://www.mif-ua.com/archive/article_print/2896

111. Пренатальный стресс и нейроэндокринная патология / А. Г. Резников, В. П. Пишак, Н. Д. Носенко и др. Черновцы : Медакадемия, 2004. 320 с.
112. Long-term consequences for offspring of diabetes during pregnancy / A. Frans, F. A. Van Assche, K. Holemans et al. *Br. Med. Bull.* 2001. Vol. 60. P. 173–182.
113. Porter J. R., Barrett T. G. Monogenic syndromes of abnormal glucose homeostasis: clinical review and relevance to the understanding of the pathology of insulin resistance and beta cell failure. *J. Med. Genet.* 2005. Vol. 42. P. 893–902.
114. Activation of metallothionein gene expression by hypoxia involves metal response elements and metal transcription factor-1 / B. J. Murphy, G. K. Andrews, D. Bittel et al. *Cancer Res.* 1999. Vol. 59 (6). P. 1315–1322.
115. Носиков В. В., Серегин Ю. А. Молекулярная генетика сахарного диабета типа 1: достижения и перспективы. *Ліки України.* 2010. № 1 (137). С. 42–51.
116. Михайлов В. В., Сагалович Б. М. Основы патологической физиологии : руководство для врачей. М. : Медицина, 2001. 704 с.
117. Selective beta-Cell Loss and alpha-Cell Expansion in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus / K. H. Yoon, S. H. Ko, J. H. Cho et al. *Korea J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 2003. Vol. 88, N 5. P. 2300–2308.
118. The vicious cycle of apoptotic beta-cell death in type 1 diabetes Immunol / A. Kaminitz, J. Stein, I. Yaniv et al. *Cell. Biol.* 2007. Vol. 85. P. 582–589.
119. Unger R. H., Orci L. N. Glucagon and the A cell: physiology and pathophysiology (first two parts). *Engl. J. Med.* 1981. Vol. 18, N 304, (suppl. 25). P. 1518–1524.
120. Балаболкин М. И. Эндокринология. М. : Медицина, 1999. 533 с.
121. Экспериментальный сахарный диабет: Роль в клинической диабетологии / В. Г. Баранов, И. М. Соколоверова, Э. Г. Гаспарян и др. Л. : Наука, 1983. 238 с.

122. Chan C. B., Surette J. J. Glucose refractoriness of beta-cells from fed fa/fa rats is ameliorated by nonesterified fatty acids. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1999. Vol. 77. P. 934–942.

123. Superoxide, nitric oxide, peroxyxynitrite and cytokine combinations all cause functional impairment and morphological changes in rat islets of Langerhans and insulin secreting cell lines, but dictate cell death by different mechanisms / M. A. Di Matteo, A. C. Loweth, S. Thomas et al. *Apoptosis*. 1997. Vol. 2. P. 164–177.

124. Ezenwaka C. E., Offiah N. V., Davis G. Early metabolic defects for developing diabetes mellitus among offspring of patients with type 2 diabetes are independent of gender. *West Indian Med. J.* 2000. Vol. 49, N 4. P. 276–280.

125. Obesity and its associations with hypertension and type 2 diabetes among Chinese adults age 40 years and over / Y. H. He, G. X. Jiang, Y. Yang et al. *Nutrition*. 2009. Vol. 25. P. 1143–1149.

126. Metzger B. E. Accomplishments of the last decade-challenges for the future. *Diabetes*. 1991. Vol. 40 (suppl. 2). P. 1–2.

127. Metzger B. E. Summary and recommendations of the Fourth International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. *Diab. Care*. 2000. Vol. 23 (suppl. 3). P. 161–167.

128. Holemans K., Aerts L., VanAssche F. A. Lifetime consequences of abnormal fetal pancreatic development. *J. Physiol.* 2003. Vol. 547, N 1. P. 11–20.

129. Intrauterine Exposure to Diabetes Conveys Risks for Type 2 Diabetes and Obesity: A Study of Discordant Sibships / D. Dabelea, R. L. Hanson, R. S. Lindsay et al. *Diabetes*. 2000. Vol. 49. P. 2208–2211.

130. Impaired insulin response and action in offspring of severely diabetes rats. / L. Aerts, K. Holemans, F. A. VanAssche et al. *Diabetes Metab. Rev.* 1990. Vol. 6, N 3. P. 147–167.

131. Lifelong enhanced diabetes susceptibility and obesity after temporary intrahypothalamic hyperinsulinism during brain organization / A. Plagemann, I. Heidrich, F. Götz et al. *Exp. Clin. Endocrinol.* 1992. Vol. 99. P. 91–95.

132. Wentzel P., U. J. Eriksson. A diabetes-like environment increases malformation rate and diminishes prostaglandin E2 in rat embryos: reversal by administration of vitamin E and folic acid. *Res. A. Clin. Mol. Teratol.* 2005. Vol. 73 (suppl. 7). P. 506–511.

133. Amylin peptide levels are raised in infants of diabetic mothers / Ch. V. Kairamkonda, A. Deorukhkar, R. Coombs et al. *Arch. Dis.* 2005. Vol. 90. P. 1279–1282.

134. Linear correlation, between beta-cell mass and body weight throughout the lifespan in Lewis rats: role of beta-cell hyperplasia and hypertrophy / E. Montanya, V. Nacher, M. Biarnes et al. *J. Diabetes.* 2000. Vol. 49. P. 1341–1346.

135. Structural and Functional Abnormalities in the Islets Isolated From Type 2 Diabetic Subjects / Sh. Deng, M. Vatamaniuk, X. Huang et al. *Diabetes.* 2004. Vol. 53, N 3. P. 624–632.

136. Ганчева О. В. Гипоталамические механизмы формирования метаболических нарушений у крыс : дис. ... д-ра мед. наук. Луганск, 2011. 349 с.

137. Insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of Korean type 2 diabetes mellitus / D. J. Kim, M. S. Lee, K. W. Kim et al. *Metabolism.* 2001. Vol. 50. P. 590–593.

138. Importance of hyperglycemia on the primary function of allogeneic islet transplants / L. Makhlof, V. F. Duvivier-Kali, S. Bonner-Weir et al. *Transplantation.* 2003. Vol. 76. P. 657–664.

139. Purification and characterization of a peptide from amyloid-rich pancreases of type 2 diabetic patients / G. J. Cooper, A. C. Willis, A. Clark et al. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1987. Vol. 84, N 23. P. 8628–8632.

140. Intra- and extracellular amyloid fibrils are formed in cultured pancreatic islets of transgenic mice expressing human islet amyloid polypeptide (non-insulin-dependent diabetes mellitus) / E. J. deKoning, E. R. Morris, F. M. Hofhuis, G. Posthuma et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1994. Vol. 91. P. 8467–8471.

141. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA / P. Taberlet, L. Gielly, G. Pautou, J. Bouvet. *PlantMol. Biol.* 1991. Vol. 17. P. 1105–1109.
142. Arends M. J., Wyllie A. H. Apoptosis. Mechanism and role in pathology. *Intern. Rev. Exp. Pathol.* 1991. Vol. 32. P. 223–254.
143. Lee S. C., Pervaiz S. Apoptosis in the pathophysiology of diabetes mellitus. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2007. Vol. 39. P. 497–504. DOI : 10.1016/j.biocel.2006.09.007.
144. Abastado J. P. Apoptosis: function and regulation of cell death. *Res. Immunol.* 1996. Vol. 147. P. 443–456.
145. Edlich F. BCL-2 proteins and apoptosis: Recent insights and unknowns. *Biochem. Biophysic. Res. Communicat.* 2018. Vol. 500 (1). P. 26–34. DOI : 10.1016/j.bbrc.2017.06.190.
146. Stevens M., Oltean S. Modulation of the apoptosis gene Bcl-x function through alternative splicing. *Front Genet.* 2019. Vol. 6 (10). Art. 804. P. 1-9. DOI : 10.3389/fgene.2019.00804. eCollection 2019.
147. Chao D. T., Korsmeyer S. J. BCL-2 family: regulators of cell death. *Annu. Rev. Immunol.* 1998. Vol. 16. P. 395–419.
148. p53 isoforms can regulate p53 transcriptional activity / J.-C. Bourdon, K. Fernandes, F. Murray-Zmijewski et al. *Genes Dev.* 2005. Vol. 19. P. 2122–2137.
149. Чумаков П. М. Функция гена p53: выбор между жизнью и смертью. *Биохимия.* 2000. Т. 65, вып. 1. С. 34–47.
150. The prolyl isomerase Pin1 reveals a mechanism to control p53 functions after genotoxic insults / P. Zacchi, M. Gostissa, T. Uchida et al. *Nature.* 2002. Vol. 419. P. 853–857.
151. The prolyl isomerase Pin1 is a regulator of p53 in genotoxic response / H. Zheng, H. You, X. Z. Zhou et al. *Nature.* 2002. Vol. 419. P. 849–853.
152. Stabilization of wild-type p53 by hypoxia-inducible factor 1 alpha / W. G. An, M. Kanekal, M. C. Simon et al. *Nature.* 1998. Vol. 392. P. 405–408.

153. Interaction of human NAD(P)H: quinon eoxidoreductase 1 (NQO1) with the tumor suppressor protein p53 in cells and cell-free systems / A. Anwar, D. Dehn, D. Siegel et al. *J. Biol. Chem.* 2003. Vol. 278. P. 10368–10373.

154. Chang N. S. A potential role of p53 and WOX1 in mitochondrial apoptosis (review). *Int. J. Mol. Med.* 2002. Vol. 9. P. 19–24.

155. Corcoran C. A., He Q., Huang Y. Cyclooxygenase-2 interacts with p53 and interferes with p53-dependent transcription and apoptosis. *Oncogene.* 2005. Vol. 24. P. 1634–1640.

156. Identification of redox/repair protein Ref-1 as a potent activator of p53 / L. Jayaraman, K. G. Murthy, C. Zhu et al. *Genes Dev.* 1997. Vol. 11 (5). P. 558–570.

157. Thioredoxin-dependent redox regulation of p53-mediated p21 activation / M. Ueno, H. Masutani, R. J. Arai et al. *J. Biol. Chem.* 1999. Vol. 274 (50). P. 35809–35815.

158. Vasoactive intestinal peptide is a physiological mediator of prolactin release in rat / H. Abe, D. Engler, M. E. Molitch et al. *Endocrinology.* 1985. Vol. 116. P. 1383–1390.

159. Animal models of hypertension: An overview / L. Lerman, A. Chade, V. Sica, C. Napoli. *J. Lab. Clin. Med.* 2005. Vol. 146 (3). P. 160–173. DOI : 10.1016/j.lab.2005.05.005.

160. Henning E. C., Warach S., Spatz M. Hypertension-induced vascular remodeling contributes to reduced cerebral perfusion and the development of spontaneous stroke in aged SHRSP rats. *J. Cerebr. Blood F. Met.* 2017. Vol. 30. P. 827–836.

161. Okamoto K., Aoki K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn. Circ. J.* 1963. Vol. 27. P. 282–293.

162. Engelmann G. L., Vitullo J. C., Gerrity R. G. Morphometric analysis of cardiac hypertrophy during development, maturation, and senescence in spontaneously hypertensive rats. *Circ. Res.* 1987. Vol. 60. P. 487–494.

163. Pathogenetic similarity of strokes in stroke-prone spontaneously hypertensive rats and humans / Y. Yamori, R. Horie, H. Handa et al. *Stroke* 1976. Vol. 7. P. 46–55.
164. Okamoto K., Yamori Y., Nagaoka A. Establishment of stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHR). *Circ. Res.* 1974. Vol. 34/35. P. 143–153.
165. Hypertension and anti hypertensive therapy as risk factors for type 2 diabetes mellitus. Atherosclerosis Risk in Communities Study / T. W. Gress, F. J. Nieto, E. Shahar et al. *N Engl J Med.* 2000. Vol. 342. P. 905–912.
166. Association between raised blood pressure and dysglycemia in Hong Kong Chinese / B. M. Cheung, N. M. Wat, A. W. Tso et al. *Diabetes Care.* 2008. Vol. 31. P. 1889–1891.
167. Genetic variants associated with persistent central obesity and the metabolic syndrome in a 12-year longitudinal study / C. Y. Cheung, A. W. Tso, B. M. Cheung et al. *Eur. J. Endocrinol.* 2011. Vol. 164. P. 381–388.
168. A genetic variant in the gene encoding adrenomedullin predicts the development of dysglycemia over 6.4 years in Chinese. / K. L. Ong, A. W. Tso, R. Y. Leung et al. *Clin. Chim. Acta.* 2011. Vol. 412. P. 353–357.
169. Association of a genetic variant in the apolipoprotein A5 gene with the metabolic syndrome in Chinese / K. L. Ong, C. Q. Jiang, B. Liu et al. *Clin. Endocrinol.* 2011. Vol. 74. P. 206–213.
170. Birth weight, family history of diabetes, and metabolic syndrome in children and adolescents / F. Guerrero-Romero, C. Aradillas-Garcia, L. E. Simental-Mendia et al. *J. Pediatr.* 2010. Vol. 156. P. 719–723.
171. Xita N., Tsatsoulis A. Fetal origins of the metabolic syndrome. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2010. Vol. 1205. P. 148–155.
172. Sowers J. R. Insulin resistance and hypertension. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2004. Vol. 286. P. H1597–1602.
173. Stump C. S., Clark S. E., Sowers J. R. Oxidative stress in insulin-resistant conditions: cardiovascular implications. *Treat. Endocrinol.* 2005. Vol. 4. P. 343–351.

174. Reaven G. M. Relationships among insulin resistance, type 2 diabetes, essential hypertension, and cardiovascular disease: similarities and differences. *J. Clin. Hypertens.* 2011. Vol. 13. P. 238–243.
175. Savoia C., Schiffrin E. L. Vascular inflammation in hypertension and diabetes: molecular mechanisms and therapeutic interventions. *Clin. Sci.* 2007. Vol. 112. P. 375–384.
176. Tracy R. P. Inflammation, the metabolic syndrome and cardiovascular risk. *Int. J. Clin. Pract. Suppl.* 2003. Vol. 134. P. 10–17.
177. Blood pressure, C-reactive protein, and risk of future cardiovascular events / G. J. Blake, N. Rifai, J. E. Buring et al. *Circulation.* 2003. Vol. 108. P. 2993–2999.
178. Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells / K. K. Griendling, C. A. Minieri, J. D. Ollerenshaw et al. *Circ. Res.* 1994. Vol. 74. P. 1141–1148.
179. p38 Mitogen-activated protein kinase is a critical component of the redox-sensitive signaling pathways activated by angiotensin II. Role in vascular smooth muscle cell hypertrophy / M. Ushio-Fukai, R. W. Alexander, M. Akers et al. *J BiolChem.* 1998. Vol. 273. P. 15022–15029.
180. Angiotensin-converting enzyme inhibition prevents arterial nuclear factor-kappa B activation, monocyte chemoattractant protein-1 expression, and macrophage infiltration in a rabbit model of early accelerated atherosclerosis / M. Hernandez-Presa, C. Bustos, M. Ortego et al. *Circulation.* 1997. Vol. 95. P. 1532–1541.
181. Additive beneficial effects of losartan combined with simvastatin in the treatment of hypercholesterolemic, hypertensive patients / K. K. Koh, M. J. Quon, S. H. Han et al. *Circulation.* 2004. Vol. 110. P. 3687–3692.
182. Soucek M., Kara T. Stress-induced hypertension and diabetes mellitus. *Vnitr. Lek.* 2001. Vol. 47. P. 315–319.

183. Effects of mental stress on insulin-mediated glucose metabolism and energy expenditure in lean and obese women / G. Seematter, E. Guenat, P. Schneiter et al. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2000. Vol. 279. P. E799–805.

184. Mental stress induces sustained elevation of blood pressure and lipid peroxidation in postmenopausal women / K. Morimoto, M. Morikawa, H. Kimura et al. *Life Sci.* 2008. Vol. 82. P. 99–107.

185. Bjorntorp P., Rosmond R. Neuroendocrine abnormalities in visceral obesity. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 2000. Vol. 24, suppl 2. P. S80–85.

186. Нейро-иммунно-эндокринные механизмы регуляции эндокринной функции панкреатических островков / Ю. М. Колесник, А. В. Абрамов, О. В. Ганчева и др. *Загальна патологія і клінічна патофізіологія.* 2010. Т. 5, № 3. С. 16–20.

187. Колесник Ю. М., Абрамов А. В., Ганчева О. В. Участие окситоцин-синтезирующей системы гипоталамуса в регуляции функции бета-клеток поджелудочной железы. *Арх. клинич. и эксперим. медицины.* 2001. Т. 10, № 2. С. 165.

188. Changes in the cholecystokinin-synthesizing system of the hypothalamus in experimental diabetes mellitus in rats / A. V. Abramov, Yu. M. Kolesnik, S. D. Trzhetsinskii, M. A. Orlovskii. *Neurosci. Behav. Physiol.* 1999. Vol. 29, N 6. P. 621–624

189. Kolesnik Yu. M., Orestenko Yu. N., Abramov A. V. State of the vasopressin-, oxytocin-, and corticoliberin-synthesizing structures of the hypothalamus in experimental diabetes in rats of both sexes. *Neurosci. Behav. Physiol.* 1994. Vol. 24, N 2. P. 163–166.

190. Kolesnik Yu. M., Abramov A. V.; Melnikova O. V. Interaction of the hypothalamo-hypophyseal-adrenal and peptidergic systems of the hypothalamus in animals with experimental diabetes mellitus. *Neurosci. Behav. Physiol.* 1997. Vol. 27, N 1. P. 92–99.

191. Participation of various divisions of the hypothalamus in the pathogenesis of experimental diabetes in rats / Yu. M. Kolesnik, A. V. Abramov, G.

V. Vasilenko, V. A. Zhulinskii. *Neurosci. Behav. Physiol.* 1996. Vol. 26, N 4. P. 365–370.

192. Possibility influences of hypothalamic neuropeptide Y synthesizing system of the functional status of the beta and alfa pancreatic cells 5 / Y. M. Kolesnik, A. Trailin, A. Abramov et al. *Eur. congress. of endocrinology*. Turin, Italy, 9-13 June 2001. Turin, 2001. P. 460.

193. Колесник Ю. М., Абрамов А. В. Нейроэндокринные и иммунные механизмы развития сахарного диабета. *Патология*. 2005. Т. 2. № 3. С. 20–23.

194. Колесник Ю. М., Орестенко Ю. Н., Абрамов А. В. Состояние вазопрессин-, окситоцин- и кортиколиберин синтезирующих структур гипоталамуса при экспериментальном сахарном диабете у крыс разного пола. *Пробл. эндокринологии*. 1993. Т. 39, № 1. С. 45–48.

195. Участие различных отделов гипоталамуса в патогенезе экспериментального сахарного диабета у крыс / Ю. М. Колесник, А. В. Абрамов, Г. В. Василенко, В. А. Жулинский. *Пробл. эндокринологии*. 1995. Т. 39, № 5. С. 34–37.

196. The pancreatic islets in spontaneously hypertensive rats: islet blood flow and insulin production / M. Iwase, S. Sandler, P.-O. Carlsson et al. *Eur. J. Endocrinol.* 2001. Vol. 144. P. 169–178.

197. Nilsson P. M. Target blood pressure in diabetes patients with hypertension - What is the accumulate devidence in 2011?. *J. Zhejiang. Univ.-Sci. B (Biomed. Biotechnol)*. 2011. Vol. 12 (8). P. 611–623. DOI : 10.1631/jzus.B1101001.

198. Mechanism of compensatory hyperinsulinemia in normoglycemic insulin resistant spontaneously hypertensive rats. Augmented enzymatic activity of glucokinase in b-cells. / C. Chen, H. Hosokawa, L. M. Bumbalo, J. L. Leahy. *J. Clin. Investig.* 1994. Vol. 94. P. 399–404.

199. Carlsson P.-O., Berne C., Jansson L. Angiotensin II and the endocrine pancreas. Effects on islet blood flow and insulin secretion in rats. *Diabetologia*. 1998. Vol. 41. P. 127–133.

200. Styrod J., Eriksson U. J., Jansson L. A continuous 48-h glucose infusion in rats causes both an acute and a persistent redistribution of the blood flow within the pancreas. *Endocrinology*. 1992. Vol. 130. P. 2692–2696.

201. Metabolic disturbances in hypertensive SHR rats / O. V. Gancheva, Yu. M. Kolesnik, T. V. Abramova et al. *Клінічна фармація*. 2013. Т. 17, № 4. С. 56–58.

202. Kolesnik Yu., Abramov A. Hypoxia stimulates an appearance of new beta-cells in intact and STZ-diabetic Wistar rats. *Eur. J. Physiol. (Pflugers Archiv)*. 1995. Vol. 430, N 4, suppl. P. R91.

203. Ганчева О. В. Особенности гормонального статуса у самцов крыс линии SHR в зависимости от уровня базальной гликемии. *Клінічна та експерим. патологія*. 2010. Т. 9, № 2 (32). С. 5–8.

204. Нейроэндокринные и метаболические нарушения у крыс с генетически детерминированной гипертензией / О. В. Ганчева, Ю. М. Колесник, О. В. Мельникова и др. *Патологія*. 2011. Т. 8, № 2. С. 15–17.

205. Like A. A., Rossini A. A. Streptozotocin-induced pancreatic insulinitis: new model of diabetes mellitus. *Science*. 1976. Vol. 193. P. 416–417.

206. Szkudelski T. Streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. *Exp. Biol. Med.* 2012. Vol. 237 (5). P. 481–490.

207. Поленов А. Л., Беленький М. А., Кузик В. В. О реальности парааденогипофизарного пути гипоталамической нейрогормональной регуляции функций периферических эндокринных желез у Anamnia : Тез. докл. III Всес. конф. по нейроэндокринологии. Харьков, 3-5 окт. 1988. Л., 1988. С. 186.

208. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol. Res.* 2001. Vol. 50 (6). P. 537–546.

209. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*. 2008. Vol. 51 (2). P. 216–226.

210. Полтораки В. В., Блох К. О. Стрептозотоциновый и вирусный инсулин-зависимый сахарный диабет (аутоимунные аспекты). *Пробл. эндокринологии*. 1989. Т. 35, № 3. С. 81–88.
211. Furman B. L. Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats. *Curr. Protoc. Pharmacol.* 2015. Vol. 70, issue 1. P. 5.47.1–5.47.20.
212. Абрамов А. В., Тихоновская М. А., Колесник Ю. М. Особенности влияния хронического пренатального стресса на структурно-функциональную организацию бета-эндокриноцитов. *Клінічна та експерим. патологія*. 2004. № 2, ч. 1. С. 176–179.
213. Особенности постнатального морфогенеза инсулярного аппарата поджелудочной железы самцов крыс / Ю. М. Колесник, Т. А. Грекова, А. В. Абрамов, М. А. Тихоновская. *Патологія*. 2009. Т. 6, № 3. С. 67–68.
214. Гайдышев И. П. Решение научных и инженерных задач средствами Excel, VBA и C/C++. СПб. : БХВ-Петербург, 2004. 504 с.
215. Закс Л. Статистическое оценивание. Пер. с нем. М. : Статистика, 1976. 598 с.
216. Current methods of studying of the proliferative activity in experiment / Т. V. Ivanenko, Т. V. Abramova, N. V. Kuzo, S. V. Tyshchenko. *Патологія*. 2014. № 1 (30). С. 4–7.
217. Abrogated leptin-induced cardiac contractile response in ventricular myocytes under spontaneous hypertension: role of Jak/STAT pathway / L. E. Wold, D. P. Retting, J. Duan et al. *Hypertension*. 2002. Vol. 39, N 1. P. 69–74.
218. Chiappe de Cingolani G. E. Adipocyte responsiveness to norepinephrine in spontaneously hypertensive rats. *Metabolism*. 1988. Vol. 37, N 4. P. 318–322.
219. Finegood D., Scaglia L., Bonner-Weir S. Dynamics of beta-cell mass in the growing rat pancreas. Estimation with a simple mathematical model. *Diabetes*. 1995. Vol. 44. P. 249–256.
220. Ahrén B. Glucagon-Early breakthroughs and recent discoveries. *Peptides*. 2015. Vol. 67. P. 74–81. DOI : 10.1016/j.peptides.2015.03.011.

221. Abramova T. V. The distribution of the islets of Langerhans in pancreas of euglycemic spontaneously hypertensive rats. *Патологія*. 2016. № 1 (36). P. 19–21. DOI : 10.14739/2310-1237.2016.1.72359.

222. Abramova T., Kolesnyk Y. The features of beta-cells organization in the pancreas of spontaneously hypertensive rat (SHR) *Патологія*. 2016. № 3 (38). С. 4–8.

223. Abramova T. V., Ivanenko T. V., Melnikova O. V. Features of Bcl2 and p53 proteins synthesis in pancreatic islets of normotensive and hypertensive rats with streptozotocin-induced diabetes. *Патологія*. 2019. № 3 (47). С. 350–354.

224. Абрамова Т. В., Колесник Ю. М. Особенности организации популяции альфа клеток в поджелудочной железе у крыс со спонтанной гипертензией (SHR). *Патологія*. 2017. № 2 (40). С. 124–128. DOI : 10.14739/2310-1237.2017.2.109249.

225. Абрамова Т. В. Особливості структури панкреатичних острівців за умов спадкової артеріальної гіпертензії у щурів лінії SHR. *Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм* : VIII наук.-практ. конф. м. Тернопіль, 1-2 жовт. 2015 р. Тернопіль, 2015. С. 3.

226. Морфофункциональное состояние инсулярного аппарата при спонтанной гипертензии у крыс / Т. В. Абрамова, Ю. М. Колесник, Т. В. Иваненко, О. В. Ганчева. *Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології (14-ті Данилевські читання)* : наук.-практ. конф. м. Харків, 2-3 бер. 2015 р. Х., 2015. С. 21.

227. Іваненко Т. В., Колесник Ю. М., Абрамова Т. В. Аналіз ендокринного статусу та рівня експресії білків апоптозу і проліферації в панкреатичних острівцях щурів з експериментальним цукровим діабетом після закінчення переривчастих гіпоксичних тренувань. *Патологія, реабілітація, адаптація*. 2017. Т. 15, № 2. С. 17–20.

228. Спадкова залежність формування метаболічних порушень у щурів лінії SHR на тлі артеріальної гіпертензії / Ю. М. Колесник, Т. В. Абрамова, Н.

Ю. Самойленко, С. В. Тіщенко. *Здобутки клінічної та експерим. медицини*. 2013. № 2. С. 251–252.

229. Колесник Ю. М., Абрамова Т. В. Организация инсулярного аппарата панкреатических островков у крыс гипертензивных крыс линии SHR. *Патологія*. 2015. Т. 1 (додаток) : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 50-річчю кафедри патологічної анатомії та кафедри патофізіології ЗДМУ «Актуальні проблеми сучасної патоморфології та патофізіології», 28-29 трав. 2015 р. С. 55–56.

230. Колесник Ю. М., Абрамова Т. В., Грекова Т. А. Особенности организации панкреатических островков у гипертензивных крыс линии SHR. *Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції* : матеріали VII Нац. з'їзду патофізіологів України, м. Харків 5-7 жовт. 2016 р. Х., 2016. С. 106.

231. Колесник Ю. М., Абрамов А. В., Василенко Г. В. Состояние островкового аппарата поджелудочной железы при экспериментальном сахарном диабете различной степени тяжести. *Арх. патологии*. 1992. Т. 54, № 12. С. 24–27.

232. Колесник Ю. М., Абрамов А. В. Вплив гіпоксичної гіпоксії на стан ендокринної функції підшлункової залози щурів. *Фізіол. журн*. 1992. Т. 38, № 3. С. 60–63.

233. Колесник Ю. М., Абрамов А.В., Василенко Г. В. Изменения эндокринной части поджелудочной железы белых лабораторных крыс при сахарном диабете, адаптации к гипоксии и их сочетании (иммуноцитохимическое исследование). *Морфология*. 1996. № 1. С. 91–94.

234. Абрамова Т. В., Колесник Ю. М., Иваненко Т. В. Количественные изменения популяции эндокриноцитов поджелудочной железы у крыс линии SHR на фоне развития стрептозотоцин-индуцированного диабета. *Клінічна та експерим. патологія*. 2018. Т. 17, № 4 (66). С. 8–14. DOI : 10.24061/1727-4338XVE466.2018.181.

235. Абрамова Т. В., Иваненко Т. В., Мельникова О. В. Експресія білків апоптозу в ендокриноцитах підшлункової залози у щурів зі стрептозотоцин-

індукованим діабетом за умов нормального та підвищеного артеріального тиску. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція* : матеріали II наук.-практ. internet-конф. з міжнар. участю, м. Харків, НФУ, 21 листоп. 2019 р. X., 2019. С. 56–57.

236. Характеристика популяції бета-клітин у підшлунковій залозі щурів лінії shr за умов розвитку стрептозотоцинового діабету / Ю. М. Колесник, Т. В. Абрамова, Т. В. Іваненко, М. М. Ковальов. *Фізіологія і патологія нейроімуноендокринної регуляції* : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 105-річчю від дня народж. проф. Я.Д. Кіршенבלата, м. Чернівці, 5-6 жовт. 2017 р. Чернівці, 2017. С. 53.

237. Порівняльна характеристика популяції ендокриноцитів підшлункової залози у щурів лінії wistar і shr зі стрептозотоксичним індукованим діабетом / Ю. М. Колесник, Т. В. Абрамова, Т. В. Іваненко, А. В. Абрамов. *Інтегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики* : матеріали VII Пленуму Укр. наук. товариства патофізіологів та наук.-практ. конф., присвяч. 110-річчю з дня народж. чл.-кор. АМН СРСР, проф. М.Н. Зайка», м. Полтава, 11-12 жовт. 2018 р. Полтава, 2018. С. 44–45.

238. Особливості організації популяції ендокриноцитів підшлункової залози у щурів лінії SHR та їх реакція на розвиток стрептозотоксично-індукованого діабету / Ю. М. Колесник, Т. В. Абрамова, Т. В. Іваненко та ін. *Фізіол. журн.* 2019. Т. 65, № 3 (додаток) : матеріали XX-го з'їзду Укр. фізіологіч. товариства ім.П.Г. Костюка з міжнар. участю, присвяч. 95-річчю від дня народж. акад. П.Г. Костюка, м. Київ 28-30 трав. 2019 р. С. 22–23.

239. Колесник Ю. М., Ганчева О. В., Абрамов А. В. Крысы линии SHR со спонтанной гипертензией, как модель для изучения метаболических нарушений. *Запорож. мед. журн.* 2007. № 1. С. 5–9.

240. Грекова Т. А. Влияние пренатальной гипергликемии на морфофункциональное состояние эндокринного аппарата поджелудочной

железы самців крыс в возрастній динаміці. *Запоріж. мед. журн.* 2010. № 4. С. 12–15.

241. Чумасов Е. И., Петрова Е. С., Коржевский Д. Э. Изменения островков и нервных элементов в поджелудочной железе у крысы при старении (иммуногистохимическое исследование). *Морфология.* 2015. Т. 148. № 6. С. 64–69.

242. Differential regulation of embryonic and adult β cell replication / U. Gunasekaran, C. W. Hudgens, B. T. Wright et al. *Cell Cycle.* 2012. Vol. 11 (13). P. 2431–2442. DOI : 10.4161/cc.20545.

243. Functional status of microvascular vasomotion is impaired in spontaneously hypertensive rat / M. Liu, X. Zhang, B. Wang, et al. *Scientific reports.* 2017. Vol. 7, N 17080. P.1-14. DOI : 10.1038/s41598-017-17013-w.

244. Remodelling sympathetic innervation in rat pancreatic islets ontogeny / S. Cabrera-Vásquez, V. Navarro-Tableros, C. Sánchez-Soto et al. *BMC Develop. Biol.* 2009. Vol. 9, N 34. P. 1–11.

245. Wang N. N. J., Miyatsuka T., German M. S. Signals from the neural crest regulate beta-cell mass in the pancreas. *Development.* 2008. Vol. 135. P. 2151–2160.

246. Zemancíková A., Török J. Comparison Of Cardiovascular Characteristics In Normotensive And Hypertensive Rat Strains Indian. *J. Physiol. Pharmacol.* 2015 Vol. 59 (4). P. 361–368.

247. Signals from the neural crest regulate beta-cell mass in the pancreas / N. Nekrep, J. Wang, T. Miyatsuka, M. German. *Development.* 2008. Vol. 135, N 12. P. 2151–2160.

248. Chronic Hyperglycemia, Independent of Plasma Lipid Levels, Is Sufficient for the Loss of β -Cell Differentiation and Secretory Function in the db/db Mouse Model of Diabetes / C. Kjørholt, M. Akerfeldt, T. Biden, D. Laybutt. *Diabetes.* 2005. Vol. 54 (9). P. 2755–2763. DOI : 10.2337/diabetes.54.9.2755

249. Diabetes, defective pancreatic morphogenesis, and abnormal enteroendocrine differentiation in BETA2/NeuroD-deficient mice / F. Naya, H.

Huang, Y. Qiu et al. *Genes Develop.* 1997. Vol. 11 (18). P. 2323–2334. DOI : 10.1101/gad.11.18.2323

250. Hussain M. Brn-4 Transcription Factor Expression Targeted to the Early Developing Mouse Pancreas Induces Ectopic Glucagon Gene Expression in Insulin-producing beta Cells. *J. Biol. Chem.* 2002, Vol. 277 (18). P. 16028–16032. DOI : 10.1074/jbc.m107124200.

251. Skoglund G., Lundquist I., Ahrén B. Alpha 1- and alpha 2-adrenoceptor activation increases plasma glucagon levels in the mouse. *Eur. J. Pharmacol.* 1987. Vol. 143 (1). P. 83–88. DOI : 10.1016/0014-2999(87)90737-0.

252. Taborsky G. The Physiology of Glucagon. *J. Diabet. Sci. Technol.* 2010. Vol. 4 (6). P. 1338–1344. DOI : 10.1177/193229681000400607.

253. Sympathetic nerve stimulation versus pancreatic norepinephrine infusion in the dog: 2). Effects on basal release of somatostatin and pancreatic polypeptide / B. Ahrén, R. C. Veith, T. L. Paquette, G. J. Jr. Taborsky. *Endocrinology.* 1987. Vol. 121 (1). P. 332–339. DOI : 10.1210/endo-121-1-332.

254. Abraham M. F., Lam T. K. T. Glucagon action in the brain. *Diabetologia.* 2016. Vol. 59 (7). P. 1367–1371. DOI : 10.1007/s00125-016-3950-3.

255. Hypothalamic CaMKK β mediates glucagon anorectic effect and its diet-induced resistance / M. Quiñones, O. Al-Massadi, R. Gallego et al. *Mol. Metab.* 2015. Vol. 4 (12). P. 961–970. DOI : 10.1016/j.molmet.2015.09.014.

256. Insulin action in the hypothalamus and dorsal vagal complex / M. A. Abraham, B. M. Filippi, G. M. Kang et al. *Exp. Physiol.* 2014. Vol. 99 (9). P. 1104–1109. DOI : 10.1113/expphysiol.2014.079962.

257. A Novel Role for Somatostatin in the Survival of Mouse Pancreatic Beta Cells Cell / E. L. Damsteegt, Z. Hassan, N. V. Hewawasam et al. *Physiol. Biochem.* 2019. Vol. 52. P. 486–502. DOI: 10.33594/000000035.

258. Decreased pancreatic somatostatin (SRIF) concentration in spontaneously diabetic mice / Y. C. Patel, L. Orci, A. Bankier, D. P. Cameron. *Endocrinology.* 1976. Vol. 99. P. 1415–1418.

259. Iki K., Pour P. M. Distribution of Pancreatic Endocrine Cells Including IAPP-expressing Cells in Non-diabetic and Type 2 Diabetic Cases. *J. Histochem. Cytochem.* 2007. Vol. 55 (2). P. 111–118. DOI: 10.1369/jhc.6A7024.2006.

260. Hypertrophy and hyperplasia of somatostatin-containing D-cells in diabetes / L. Orci, D. Baetens, C. Rufener et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1976. Vol. 73. P. 1338–1342.

261. Rahier J., Goebbels R. M., Henquin J. C. Cellular composition of the human diabetic pancreas. *Diabetologia.* 1983. Vol. 24. P. 366–371.

262. Cell Death in Disease: Mechanisms and Emerging Therapeutic Concepts. / R. S. Hotchkiss, A. Strasser, J. E. McDunn, P. E. Swanson. *N. Engl. J. Med.* 2009. Vol. 361 (16). P. 1570–1583. DOI : 10.1056/NEJMra0901217.

263. Kung C. P., Murphy M. E. The role of the p53 tumor suppressor in metabolism and diabetes. *J. Endocrinol.* 2016. Vol. 231 (2). P. R61–R75. DOI : 10.1530/JOE-16-0324.

264. Saldeen J. Cytokines induce both necrosis and apoptosis via a common Bcl-2-inhibitable pathway in rat insulin-producing cells. *Endocrinology.* 2000. Vol. 141 (6). P. 2003-10. DOI : 10.1210/endo.141.6.7523

265. Эндокринный статус и уровень экспрессии белков Bcl-2 и p53 в панкреатических островках у крыс с экспериментальным сахарным диабетом / Т. В. Иваненко, А. В. Абрамов, Ю. М. Колесник, Г. В. Василенко. *Патологія.* 2011. № 2. С. 18–20.

ДОДАТОК А1



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції: Морфологічна організація та функціональний стан інсулін-синтезуючих клітин панкреатичних острівців за умов спадкової артеріальної гіпертензії.
2. Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса: Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Мажковського, 26.
3. Джерело інформації:
 1. Abramova T.V. The distribution of the islets of Langerhans in pancreas of euglycemic spontaneously hypertensive rats // Патологія. – 2016. – №1 (36). – С. 19–21.
 2. Abramova T.V., Kolesnyk Yu. M. The features of beta-cells organization in the pancreas of spontaneously hypertensive rat (SHR) // Патологія. – 2016. – №3 (38). – С. 4–8.
 3. Абрамова Т.В., Колесник Ю.М., Іваненко Т.В. Функциональное состояние β -клеток поджелудочной железы у крыс со спонтанной гипертензией (SHR) при экспериментальном диабете // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2017. – Т. 17, вип. 4 (60), ч. 2. – С. 8-12.
 4. Колесник Ю.М. Характеристика популяції бета-клітин у підшлунковій залозі щурів лінії SHR за умов розвитку стрептозотоцинового діабету / Колесник Ю.М., Абрамова Т.В., Іваненко Т.В., Ковальов М.М. // «Фізіологія і патологія нейроімуноендокринної регуляції»: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 105-річчю від дня народження професора Я.Д. Кіршенблата, Чернівці – 2017, 5-6 жовтня 2017 р.
4. Базова установа, яка проводить впровадження: ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», кафедра патологічної фізіології (протокол № 17 від 5.04. 2018 р.).
5. Термін впровадження: 2017 – 2018 навчальний рік.
6. Форма впровадження: матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри - лекційному курсі та практичних заняттях із патофізіології за темою «Патофізіологія вуглеводного обміну. Цукровий діабет» і «Патофізіологія кровоносних судин. Артеріальна гіпертензія».
7. Зауваження і пропозиції: Не вносилися.

Відповідальний за впровадження:

Професор кафедри патологічної фізіології
ВДНЗ України «Буковинський державний
медичний університет»
д.біол.н., професор

Мислицький В.Ф.

ДОДАТОК А2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Т.в.о. проректора з науково-педагогічної
 роботи Одеського національного
 медичного університету МОЗ України
 д.мед.н., професор
 Марічереда В.Г.
 «_____» _____ 2018 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозицій: Функціональний стан ендокринного апарату підшлункової залози за умов спадкової артеріальної гіпертензії.
2. Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса: Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26.
3. Джерело інформації:
 1. Abramova T.V., Kolesnyk Yu. M. The features of beta-cells organization in the pancreas of spontaneously hypertensive rat (SHR) // Патологія. – 2016. – №3 (38). – С. 4–8.
 2. Іваненко Т.В., Колесник Ю.М., Абрамова Т.В. Аналіз ендокринного статусу та рівня експресії білків апоптозу і проліферації в панкреатичних острівцях щурів з експериментальним цукровим діабетом після закінчення переривчастих гіпоксичних тренувань // Патологія, реабілітація, адаптація. - 2017.- Т. 15, №2.- С. 17-20.
 3. Абрамова Т.В., Колесник Ю.М. Особливості організації популяції альфа кліток в підшлунковій залозі у крыс со спонтанной гіпертензій (SHR) // Патологія. – 2017. – №2 (40). – С. 124–128.
4. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра загальної та клінічної патофізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету МОЗ України.
5. Термін впровадження: 2017 – 2018 навчальний рік.
6. Форма впровадження: матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри - лекційному курсі та практичних заняттях з патофізіології за темою «Патофізіологія вуглеводного обміну. Цукровий діабет» і «Патофізіологія кровоносних судин. Артеріальна гіпертензія».
7. Зауваження і пропозиції: Не вносилися. Обговорено та затверджено на методичному засіданні кафедри загальної та клінічної патофізіології, протокол № 10 від 23 травня 2018 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри загальної та клінічної
 патофізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського
 національного медичного університету МОЗ України
 д.мед.н., професор


 Вастьянов Р.С.

ДОДАТОК АЗ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Проректор з наукової роботи
 Запорізького державного
 медичного університету

Туманський В.О.
 03 _____ 2019 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції:** Функціональний стан інсулярного апарату панкреатичних ostrivciv за умов розвитку діабету на тлі спадкової артеріальної гіпертензії.
2. **Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса:** Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26.
3. **Джерело інформації:**
 1. Абрамова Т.В., Колесник Ю.М., Іваненко Т.В. Функціональное состояние β -клеток поджелудочной железы у крыс со спонтанной гипертензией (SHR) при экспериментальном диабете // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2017. – Т. 17, вип. 4 (60), ч. 2. – С. 8-12.
 2. Абрамова Т.В., Колесник Ю.М., Іваненко Т.В. Количественные изменения популяции эндокринцитов поджелудочной железы у крыс линии SHR на фоне развития стрептозотодии-индуцированного диабета // Клінічна та експериментальна патологія. 2018.- Т. 17, № 4 (66).- С. 8-14
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Запорізький державний медичний університет, кафедра патологічної фізіології (протокол №9 від 12.03.2019 р).
5. **Термін впровадження:** 2018 – 2019 навчальний рік.
6. **Форма впровадження:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри - лекційному курсі та практичних заняттях з патофізіології за темою «Патофізіологія вуглеводного обміну. Цукровий діабет» і «Патофізіологія кровоносних судин. Артеріальна гіпертензія».
7. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної фізіології
 Запорізького державного
 медичного університету
 д.мед.н., професор



Ганчева О. В.

ДОДАТОК А4

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. **Назва пропозиції:** Морфологічна організація та функціональний стан інсулін-синтезуючих клітин піджелудочних ostrivciv за умов спадкової артеріальної гіпертензії.
2. **Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса:** Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26.
3. **Джерело інформації:**
 1. Abramova T.V. The distribution of the islets of Langerhans in pancreas of euglycemic spontaneously hypertensive rats // Патологія. – 2016. – №1 (36). – С. 19–21.
 2. Abramova T.V., Kolesnyk Yu. M. The features of beta-cells organization in the pancreas of spontaneously hypertensive rat (SHR) // Патологія. – 2016. – №3 (38). – С. 4–8.
 3. Абрамова Т.В., Колесник Ю.М., Іваненко Т.В. Функциональное состояние β -клеток поджелудочной железы у крыс со спонтанной гипертензией (SHR) при экспериментальном диабете // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2017. – Т. 17, вип. 4 (60), ч. 2. – С. 8-12.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, кафедра патологічної фізіології (протокол №27 від «26» березня 2019 р.).
5. **Термін впровадження:** 2018 – 2019 навчальний рік.
6. **Форма впровадження:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри - лекційному курсі та практичних заняттях з патофізіології за темою «Патофізіологія вуглеводного обміну. Цукровий діабет» і «Патофізіологія кровоносних судин. Артеріальна гіпертензія».
7. **Зауваження і пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження:

Професор кафедри патологічної фізіології
 Національного медичного
 університету імені О.О. Богомольця
 д.мед.н., професор

С.В. Зяблицев

ДОДАТОК Б
СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ НА ТЕМУ
ДИСЕРТАЦІЇ

1. Gancheva O.V., Kolesnik Yu.M., Abramova T.V., Samoylenko N.Yu., Abramov A.V. Metabolic disturbances in hypertensive SHR rats. *Clinical Pharmacy (Клінічна фармація)*. 2013. Т. 17, №4. С. 56-58. (Дисертант виконав набір матеріалу, біохімічні дослідження та статистичну обробку результатів).
2. Ivanenko T.V., Abramova T.V., Kuzo N.V., Tyshchenko S.V. Current methods of studying of the proliferative activity in experiment. *Патологія*. 2014. Т. 11, №1 (30). С. 4-7. (Дисертант виконав набір та аналіз літературного матеріалу).
3. Abramova T.V. The distribution of the islets of Langerhans in pancreas of euglycemic spontaneously hypertensive rats. *Патологія*. 2016. Т. 13, №1 (36). – С. 19–21. DOI: 10.14739/2310-1237.2016.1.72359 (Дисертант виконав набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів).
4. Abramova T.V., Kolesnyk Yu.M. The features of beta-cells organization in the pancreas of spontaneously hypertensive rat (SHR). *Патологія*. 2016. Т. 13, №3 (38). С. 4–8. DOI: 10.14739/2310-1237.2016.3.86931 (Дисертант виконав набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів).
5. Іваненко Т.В., Колесник Ю.М., Абрамова Т.В. Аналіз ендокринного статусу та рівня експресії білків апоптозу і проліферації в панкреатичних острівцях щурів з експериментальним цукровим діабетом після закінчення переривчастих гіпоксичних тренувань. *Патологія, реабілітація, адаптація (Pathology, rehabilitation, adaptation)*. 2017. Т. 15, №2.- С. 17-20 (Дисертант виконав набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів).
6. Абрамова Т.В., Колесник Ю.М. Особенности организации популяции альфа клеток в поджелудочной железе у крыс со спонтанной

гіпертензій (SHR). *Патологія*. 2017. Т. 14, №2 (40). С. 124–128. DOI: 10.14739/2310-1237.2017.2.109249 (Дисертант виконав набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів).

7. Абрамова Т.В., Колесник Ю.М., Иваненко Т.В. Функциональное состояние β -клеток поджелудочной железы у крыс со спонтанной гипертензией (SHR) при экспериментальном диабете. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2017. Т. 17, вип. 4 (60), ч. 2. С. 8-12. (Дисертант виконав моделювання діабету, набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів).

8. Абрамова Т.В., Колесник Ю.М., Иваненко Т.В. Количественные изменения популяции эндокриноцитов поджелудочной железы у крыс линии SHR на фоне развития стрептозоточин-индуцированного диабета. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2018. Т. 17, № 4 (66). С. 8-14. DOI: 10.24061/1727-4338XVE466.2018.181 (Дисертант виконав моделювання діабету, набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів).

9. Abramova T.V., Ivanenko T.V., Melnikova O.V. Features of Bcl2 and p53 proteins synthesis in pancreatic islets of normotensive and hypertensive rats with streptozotocin-induced diabetes. *Патологія*. 2019. Т. 16, №3 (47). С. 350-354. DOI: 10.14739/2310-1237.2019.3.188846 (Дисертант виконав моделювання діабету, набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів).

10. Колесник Ю.М., Абрамова Т.В., Самойленко Н.Ю., Тіщенко С.В. Спадкова залежність формування метаболічних порушень у щурів лінії SHR на тлі артеріальної гіпертензії. *Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів: матеріали VI науково-практична конф. (Тернопіль, ТДМУ.- 31 жовтня – 1 листопада 2013 р.)*. Здобутки клінічної та

експериментальної медицини. 2013. №2. С. 251-252. (Дисертант виконав набір матеріалу, біохімічні дослідження та статистичну обробку результатів).

11. Абрамова Т.В., Колесник Ю.М., Иваненко Т.В., Ганчева О.В. Морфофункціональне состояние інсулярного апарату при спонтанній гіпертензії у крыс. *Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології: матеріали науково-практичної конференції 14-ті Данилевські читання (Харків, 2-3 березня 2015). Харків, 2015. С. 21. (Дисертант виконав набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів).*

12. Колесник Ю.М., Абрамова Т.В. Организация інсулярного апарату панкреатических островков у крыс гипертензивных крыс линии SHR. *Актуальні проблеми сучасної патоморфології та патофізіології: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 50-річчю кафедри патологічної анатомії та кафедри патофізіології ЗДМУ (Запоріжжя, 28-29 травня 2015). Патологія. 2015. Т. 1 (додаток). С. 55-56. (Дисертант виконав набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів).*

13. Абрамова Т.В. Особливості структури панкреатичних острівців за умов спадкової артеріальної гіпертензії у щурів лінії SHR. *Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм: матеріали VIII науково-практичної конференції (Тернопіль, 1-2 жовтня 2015 р.). Тернопіль: ТДМА, 2015. С. 3. (Дисертант виконав набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів).*

14. Колесник Ю.М., Абрамова Т.В., Грекова Т.А. Особенности организации панкреатических островков у гипертензивных крыс линии SHR. *Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції: матеріали VII Національного з'їзду патофізіологів України (Харків 5-7 жовтня 2016 р.). Харків, 2016. С. 106. (Дисертант виконав набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів).*

15. Колесник Ю.М., Абрамова Т.В., Іваненко Т.В., Ковальов М.М. Характеристика популяції бета-клітин у підшлункової залозі щурів лінії SHR за умов розвитку стрептозотоцинового діабету. *Фізіологія і патологія нейроімуноендокринної регуляції: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 105-річчю від дня народження професора Я.Д. Кіршенבלата (Чернівці, 5-6 жовтня 2017 р.). Клінічна та експериментальна патологія*. Т. 16, № 3 (61), ч. 2. С. 53. *(Дисертант виконав моделювання діабету, набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів)*.

16. Колесник Ю.М., Абрамова Т.В., Іваненко Т.В., Абрамов А.В. Порівняльна характеристика популяції ендокриноцитів підшлункової залози у щурів лінії Wistar і SHR зі стрептозотин-індукованим діабетом. *Інтегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики: матеріали VII Пленуму Українського наукового товариства патофізіологів та науково-практичної конференції, присвячених 110-річчю з дня народження члена-кореспондента АМН СРСР, професора М.Н. Зайка (Полтава, 11-12 жовтня 2018 р.). Полтава, 2018. С. 44-45. (Дисертант виконав моделювання діабету, набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів)*.

17. Колесник Ю.М., Абрамова Т.В., Іваненко Т.В., Абрамов А.В., Жулинський В.О. Особливості організації популяції ендокриноцитів підшлункової залози у щурів лінії SHR та їх реакція на розвиток стрептозотин-індукованого діабету: матеріали XX-го з'їзду Українського фізіологічного товариства ім. П.Г. Костюка з міжнародною участю, присвяченого 95-річчю від дня народження академіка П.Г. Костюка (Київ, 28-30 травня 2019 р.). *Фізіол. журн.* 2019. Т.65, №3 (додаток). С. 22-23. *(Дисертант виконав моделювання діабету, набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів)*.

18. Абрамова Т.В., Іваненко Т.В., Мельникова О.В. Експресія білків апоптозу в ендокриноцитах підшлункової залози у щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом за умов нормального та підвищеного артеріального тиску. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: матеріали II Науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю (Харків, 21 листопада 2019 р.). Харків: НФУ, 2019. С. 56-57. (Дисертант виконав моделювання діабету, набір матеріалу, імунофлюоресцентні, денситометричні дослідження та статистичну обробку результатів).*

ДОДАТОК В

ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. VI науково-практична конференція «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів» (Тернопіль, 2013) – публікація тез.
2. Всеукраїнська науково-практична конференція «Сучасні проблеми біологічної хімії» (Харків, 2013) – публікація статті.
3. Науково-практична конференція «Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології»: 14-ті Данилевські читання (Харків, 2015) – публікація тез, усна доповідь.
4. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні проблеми сучасної патоморфології та патофізіології» (Запоріжжя, 2015) – публікація тез, усна доповідь.
5. VIII науково-практична конференція «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, 2015) – публікація тез.
6. VII Національний з'їзд патофізіологів України «Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції» (Харків, 2016) – публікація тез, усна доповідь.
7. Наукова конференція, присвячена 120-річчю від дня народження та 40-річчю від дня смерті акад. М.М. Сиротиніна. (Київ, 2017) – публікація статті, усна доповідь.
8. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 105-річчю від дня народження професора Я.Д. Кіршенבלата, «Фізіологія і патологія нейроімуноендокринної регуляції» (Чернівці, 2017) – публікація тез, усна доповідь.
9. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих учених «Медична наука в практику охорони здоров'я» (Полтава, 2017) – публікація статті.
10. VII Пленум Українського наукового товариства патофізіологів та науково-практична конференція, присвячені 110-річчю з дня народження

члена-кореспондента АМН СРСР, професора М.Н. Зайка: «Інтегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики» (Полтава, 2018) – публікація тез, усна доповідь.

11. XX з'їзд Українського фізіологічного товариства ім. П.Г. Костюка з міжнародною участю, присвяченого 95-річчю від дня народження академіка П.Г. Костюка (Київ, 2019) – публікація тез, усна доповідь.

12. II науково-практична internet-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (Харків, 2019) – публікація тез, усна доповідь.