

**ЕКСПРЕСІЯ БІЛКІВ АПОПТОЗУ В ЕНДОКРИНОЦИТАХ
ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ У ЩУРІВ ЗІ СТРЕПТОЗОТОЦИН-
ІНДУКОВАНИМ ДІАБЕТОМ ЗА УМОВ НОРМАЛЬНОГО ТА
ПІДВИЩЕНОГО АРТЕРІАЛЬНОГО ТИСКУ**

Абрамова Т. В., Іваненко Т. В., Мельнікова О. В.

Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, Україна

abramov@zsmu.pp.ua

У попередніх наших дослідженнях було встановлено, що у гіпертензивних щурів лінії SHR формується ремоделювання панкреатичних острівців зі зменшенням щільності популяції бета-клітин (Абрамова Т.В., Колесник Ю.М., 2016-2018). Однією з можливих причин порушення формування популяції ендокриноцитів підшлункової залози може бути дисбаланс між синтезом проапоптотичних та антиапоптотичних факторів.

Метою дослідження було вивчити параметри синтезу білків Bcl2 і p53 у панкреатичних острівцях у нормотензивних і гіпертензивних щурів при розвитку стрептозотоксично-індукованого цукрового діабету.

Матеріали та методи. Дослідження проведено на 30 самцях щурів лінії Wistar і 25 щурах лінії SHR зі спадковою гіпертензією. Цукровий діабет моделювали одноразовим введенням стрептозотоксину (SIGMA Chemical, США) внутрішньоочеревинно у дозі 50 мг/кг, розчиненого в 0,5 мл 0,1 М цитратного буфера (рН=4,5). Через 3 тижні у тварин визначали концентрацію глюкози в крові за допомогою глюкометра GlucoCard-II (Японія), і вимірювали систолічний артеріальний тиск (сАТ) за допомогою системи неінвазивного контролю тиску BP-2000 (Visitech Systems, США). Підшлункову залозу фіксували в рідині Буена і після стандартної гістологічної обробки заливали в парапласт. Ідентифікацію білків Bcl2 і p53 проводили імунофлюоресцентним методом за допомогою моноклональних антитіл (Santa Cruz Biotechnology, США), де предметом дослідження були 5-мікронні гістологічні зрізи підшлункової залози, а саме ділянки панкреатичних острівців. Кількісний аналіз імунофлюоресцентної реакції проводили за допомогою системи цифрового аналізу зображення AxioVision-4.8.2 (Carl Zeiss, Німеччина). Аналізували відносну площу Bcl2- і p53-імунопозитивного матеріалу в острівцях, концентрацію білків в ендокриноцитах, їх вміст в острівцях і індекс апоптозу p53/Bcl2. Результати обробляли методами параметричної статистики.

Результати. У щурів лінії Wistar спостерігали сАТ=105,0±1,1 мм рт. ст. та рівень глікемії натще 3,94±0,09 ммоль/л, а у щурів лінії SHR зі спадковою гіпертензією сАТ=155,7±0,9 мм рт. ст. та концентрацію глюкози 4,73±0,10 ммоль/л. У панкреатичних острівцях гіпертензивних щурів лінії SHR площа відносної імунофлюоресценції до білка Bcl2 була в 2 рази менше (2,47±0,14 % проти 4,97±0,03 %, p<0,05), а вміст білка в 3 рази нижче (1,27±0,08 ум. Од. проти 3,57±0,20 ум. Од., p<0,05), ніж у нормотензивних тварин лінії Wistar. При цьому статистичних відмінностей площі імунопозитивного матеріалу до білка p53 і його вмісту в острівцях між експериментальними групами не виявлялося.

Розвиток стрептозотоцинового діабету призводив до формування гіперглікемії як у нормотензивних щурів лінії Wistar ($17,69 \pm 1,10$ ммоль/л), так і у щурів лінії SHR зі спадковою гіпертензією ($11,45 \pm 0,89$ ммоль/л). За умов сформованого діабету спостерігалось 2-кратне зниження площі Bcl2 імунопозитивного матеріалу в панкреатичних острівцях у нормотензивних щурів в поєднанні з наростанням площі імунореактивності до білка p53 на 55 %. На відміну від цього, в панкреатичних острівцях гіпертензивних тварин спостерігалось зростання імунореактивності до обох білків Bcl2 і p53 більш ніж на 50 %. Розвиток діабету приводив до наростання концентрації білка p53 в ендокриноцитах нормотензивних та гіпертензивних щурів на 24 % і 31 %, відповідно. У той же час, у нормотензивних тварин формування діабету не впливало на показники концентрації білка Bcl2 в клітинах, в той час як у гіпертензивних тварин спостерігалось зниження концентрації білка Bcl2 на 33 %. Це призводило до того, що коефіцієнт відношення концентрацій Bcl2 / p53 в ендокриноцитах нормотензивних тварин при діабеті знижувався тільки на 12 % ($p < 0,02$), а у гіпертензивних щурів - на 40 % ($p < 0,001$).

Зміна параметрів розподілу імунореактивності і концентрації білків Bcl2 і p53 при формуванні діабету у нормотензивних щурів призводила до зниження питомої ваги антиапоптотичного білка Bcl2 в панкреатичних острівцях на 40 % у поєднанні з наростанням питомої ваги проапоптотичного білка p53 в 2,3 рази. При цьому в панкреатичних острівцях гіпертензивних щурів розвиток діабету сприяв тільки до збільшення питомої ваги білка p53 в 2 рази в порівнянні з контрольною групою. Разом з тим, якщо формування діабету у нормотензивних тварин призводило до збільшення індексу апоптозу в 3,84 рази, то у гіпертензивних щурів даний показник підвищувався тільки в 1,62 рази. Однак, у гіпертензивних тварин індекс апоптозу в панкреатичних острівцях все одно був достовірно вище ($p < 0,05$), ніж у нормотензивних щурів.

Ми вважаємо, що визначення балансу між синтезом антиапоптотичних та 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. Так, дефіцит антиапоптотичного потенціалу, викликаного зниженням синтезу в панкреатичних острівцях у щурів лінії SHR білка Bcl2, ймовірно призводив до наростання індексу апоптозу ендокриноцитів, що певною мірою пояснює низькі показники питомої щільності популяції бета-клітин у щурів лінії SHR в порівнянні з нормотензивними тваринами лінії Wistar (Абрамова Т.В., Колесник Ю.М., 2016, 2017).

Висновки. Для ендокриноцитів панкреатичних острівців щурів лінії SHR характерне переважання експресії проапоптотичного білка p53 в порівнянні з нормотензивними щурами лінії Wistar. Розвиток стрептозотоцинового діабету у щурів лінії Wistar призводить до суттєвого обмеження кількості ендокриноцитів, що синтезують антиапоптотичний білок Bcl2. При цьому наростання синтезу проапоптотичного білка p53 в ендокриноцитах при діабеті відзначається як у нормотензивних, так і у гіпертензивних щурів.