



О. В. Ганчева, Ю. М. Колесник, Ю. І. Воробецьва

Патогенетичний зв'язок дисбалансу ізоформ синтази оксиду азоту в панкреатичних острівцях підшлункової залози із хронічною пренатальною гіперглікемією

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: ізоформи синтази оксиду азоту, панкреатичні острівці, гестаційний діабет, експресія.

Мета роботи – вивчити патерн експресії ендотеліальної, індукцибельної та нейрональної NO-синтаз у панкреатичних острівцях підшлункової залози нащадків самок з експериментальним гестаційним діабетом (ЕГД) у препубертатному періоді (вік – 3 місяці). Дослідження здійснені на 10 самцях щурів – нащадків самок із нормальною вагітністю та 10 нащадках самок з ЕГД. Для аналізу стану системи монооксиду азоту в гістологічних зрізах панкреатичних острівців досліджували експресію нейрональної, індукцибельної та ендотеліальної ізоформ синтази оксиду азоту. У ході дослідження встановили, що в контрольних щурів найбільша площа ферменту була характерною для ендотеліальної ізоформи, водночас як вміст імунореактивного матеріалу до ферменту (ІРМ) був найбільшим для індукцибельної. Хронічна гіперглікемія плода призводить до зміни характеру експресії ізоформ і характеризується більшим вмістом ІРМ до nNOS, площі ІРМ до iNOS і максимальними, порівнюючи зі всіма показниками експресії ізоформ, значеннями площі та вмісту ІРМ до eNOS. На нашу думку, порушення гомеостазу глюкози у плода в останньому триместрі вагітності змінює співвідношення патернів експресії ізоформ NOS у ПО підшлункової залози, що може стати ймовірною причиною формування цукрового діабету у зрілому віці.

Патогенетическая связь дисбаланса изоформ синтазы оксида азота в панкреатических островках поджелудочной железы с хронической пренатальной гипергликемией

О. В. Ганчева, Ю. М. Колесник, Ю. И. Воробецьва

Цель работы – изучить паттерн экспрессии эндотелиальной, индуцибельной и нейрональной NO-синтаз в панкреатических островках поджелудочной железы потомков самок с экспериментальным гестационным диабетом (ЭГД) в препубертатном периоде (возраст – 3 месяца). Исследования проведены на 10 самцах крыс – потомков самок с нормальной беременностью и 10 потомках самок с ЭГД. Для анализа состояния системы монооксида азота в гистологических срезах панкреатических островков исследовали экспрессию нейрональной, индуцибельной и эндотелиальной изоформ синтазы оксида азота. В ходе исследования установлено, что у контрольных крыс наибольшая площадь фермента была характерной для эндотелиальной изоформы, в то время как содержание иммунореактивного материала фермента (ИРМ) было максимальным для индуцибельной. Хроническая гипергликемия плода приводит к изменению распределения изоформ в панкреатических островках, отмечается большее содержание ИРМ к nNOS, увеличение площади ИРМ к iNOS и максимальные, по сравнению со всеми показателями экспрессии изоформ, значения площади и содержания ИРМ к eNOS. По нашему мнению, нарушение гомеостаза глюкозы у плода в последнем триместре беременности меняет соотношение паттернов экспрессии изоформ NOS в ПО поджелудочной железы, что может стать вероятной причиной формирования сахарного диабета в зрелом возрасте.

Ключевые слова: изоформы синтазы оксида азота, панкреатические островки, гестационный диабет, экспрессия.

Запорожский медицинский журнал. – 2016. – №1 (94). – С. 35–39

Pathogenetical linkage of the Nitric oxide synthase isoforms disbalance in pancreatic islets with chronic prenatal hyperglycemia

O. V. Gancheva, Yu. M. Kolesnyk, Yu. I. Vorobeeva

The aim was to study patterns of the nNOS, iNOS and eNOS expression in pancreatic islets in prepubescent male offsprings of female rats with experimental gestational diabetes mellitus.

Materials and methods. The study was carried out in 10 prepubescent male offsprings of female rats with normal pregnancy and in 10 prepubescent male offsprings of female rats with experimental gestational diabetes mellitus. The expression of nNOS, iNOS and eNOS was evaluated in histological slices of pancreatic islets.

Results. It was found that the largest area of enzyme expression of eNOS was detected in control animals. On the other hand the immunoreactive material enzyme was maximal for iNOS. Chronic fetal hyperglycaemia affects the allocation of NOS isoforms in pancreatic islets. Higher immunoreactive material enzyme and nNOS contain, increase of iNOS area and the most significant increase of contain and area of fluorescence of eNOS compared with other expression indexes were detected. We believe the affection of glucose homeostasis in fetus during the last trimester of the pregnancy changes the relation of patterns of the expression of NOS isoforms, and it can lead to the formation of metabolic violation in adults.

Key words: NOS isoforms, Pancreatic Islets, Gestational Diabetes Mellitus, Expression.

Запорожський медичний журнал 2016; №1 (94): 35–39

Нашими попередніми дослідженнями встановлено: хронічна гіперглікемія плода, що змодельована за допомогою експериментального гестаційного діабету (ЕГД) у самиць щурів, призводить у їхніх статевозрілих нащадків до формування гіперліпідемії, гіперхолестеринемії, гіпертригліцеридемії, гіперглікемії, гіперінсулінемії, порушення тесту толерантності до глюкози за діабетичним типом, змін у цитоархітектоніці панкреатичних острівців (ПО)

зі зменшенням у них чисельності бета-клітин, зниженням концентрації та вмісту інсуліну [1,2]. Описані порушення глюкозного гомеостазу у тварин прогресували з віком і були подібні до лабораторних показників і клінічних симптомів цукрового діабету 2 типу людини [3]. Імовірно, вплив несприятливих пренатальних факторів на плід [4,5], зокрема надлишок нутрієнту глюкози, викликає порушення нормального морфогенезу ПО, синтетичної та секреторної ак-



тивності β -клітин інсулярного апарату підшлункової залози із розвитком стійких перебудов у глюкозному гомеостазі.

Відомо, що підтримання нормального глюкозного гомеостазу залежить передусім від трьох основних процесів: синтезу і секреції інсуліну β -клітинами, засвоєння глюкози периферичними тканинами, синтезу глюкози печінкою. До порушення синтезу й секреції інсуліну β -клітинами призводять дефекти внутрішньоострівцевих взаємин ендокриноцитів, зміни на рівні β -клітин ПО, інсулінового рецептору або внутрішньоклітинних вторинних месенджерів [6,7]. Серед відомих дефектів β -клітин, що можуть призводити до перебудов глюкозного гомеостазу, слід відзначити порушення кінетики виділення інсуліну та внутрішньоострівцевих паракринних взаємин, зниження інсулінової відповіді на глюкозне навантаження, зменшення популяції β -клітин у ПО. При цьому, незалежно від механізму формування дефекту, спостерігатиметься порушення толерантності до глюкози, розвиток інсулінорезистентності та, як наслідок, стійка гіперглікемія натще [8].

У процесі пошуку можливого «претендента» на роль ключового патогенетичного регулятора паракринних взаємин, котрий бере участь як у фізіологічних, так і патологічних процесах, ми звернули увагу на систему монооксиду азоту (NO). Інтерес до її вивчення зумовлений тим, що широкий спектр загальнобіологічної дії NO включає в себе не тільки регуляторну й захисну дію, але і цілий спектр патологічних реакцій. Нині вже доведено, що з порушенням біосинтезу та метаболізму NO пов'язані такі захворювання, як ішемічна хвороба серця, інфаркт міокарда, артеріальна гіпертензія, бронхіальна астма, нейродегенеративні захворювання (хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона), цукровий діабет, метаболічний X-синдром [9,10]. Той безперечний факт, що при цілому ряді захворювань, у патогенезі розвитку котрих наявні порушення вуглеводного та жирового обмінів, виявлені зміни в системі монооксиду азоту [11], безпосередньо балансу та активності ізоформ ферменту синтази оксиду азоту (NOS), що беруть участь в його утворенні, служить для нас ще одним підтвердженням правильності напряму в дослідженнях.

Мета роботи

Вивчити патерн експресії ендотеліальної, індукційної та нейрональної NO-синтаз у панкреатичних острівцях підшлункової залози нащадків самок з ЕГД у препубертатному періоді.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження здійснили на 20 самцях щурів лінії Wistar віком 3 місяці, яких поділили на дві групи. До першої групи ввійшли 10 самців щурів, нащадків самиць із нормальною вагітністю, до другої – 10 нащадків самиць із ЕГД [12]. Експериментальну частину дослідження виконували в суворій відповідності з національними «Спільними етичними принципами експериментів на тваринах» (Україна, 2001), котрі узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985) і «Положенням про використання тварин у біомедичних дослідженнях».

Для аналізу стану системи NO в гістологічних зрізах панкреатичних острівців здійснили комплекс гісто- та імунохімічних досліджень. З метою дослідження патернів експресії ізоформ NOS гістологічні зрізи розподілили на 3 групи: першу групу зрізів інкубували з кролячими IgG до нейрональної NOS (nNOS) (Santa Cruz Biotechnology, USA) у розведенні 1:200; другу групу зрізів інкубували з кролячими IgG до ендотеліальної NOS (eNOS) (Santa Cruz Biotechnology, USA) у розведенні 1:200; третю групу зрізів інкубували з мишачими IgG до індукційної NOS (iNOS), кон'югованої з FITC (Santa Cruz Biotechnology, USA) у розведенні 1:200.

Скельця з нанесеними первинними антитілами тримали в полімерних фіксаторах при ($T=+4^{\circ}\text{C}$, 24 години). Потім тричі по 10 хв відмивали фосфатним буфером 0,1 М (pH 7,2). На другому етапі на скельця першої та другої груп наносили вторинні мишачі IgG до повної молекули IgG кроля, кон'юговані з FITC (Santa Cruz Biotechnology, USA) у розведенні 1:200 і тримали при ($T=+37^{\circ}\text{C}$, 45 хв), промивали тричі по 10 хв фосфатним буфером й укладали в суміш гліцерин/фосфатний буфер (9:1). Скельця з третьої групи після триразового промивання у фосфатному буфері укладали в суміш гліцерин/фосфатний буфер (9:1).

Для окремої ідентифікації панкреатичних острівців відмиті від вторинних антитіл зрізи підшлункової залози підфарбовували гематоксилином (рис. 1А).

Вивчення зрізів, що пофарбовані на ізоформи NOS, здійснювали в ультрафіолетовому спектрі збудження 390 нм за допомогою світлофільтра 38HE з високою емісією (Carl Zeiss, ФРН) на мікроскопі AxioImager-M2 (Carl Zeiss, ФРН). Зображення, що отримували за допомогою 8-бітної відеокамери AxioCam-ERc 5s (Carl Zeiss, ФРН), записували у вигляді комп'ютерного файлу. Аналіз зображення здійснювався в напівавтоматичному режимі за допомогою програмного забезпечення з відкритим кодом ImageJ (National Institutes of Health, USA). У мікрозображеннях, котрі отримали при дослідженні ПО, в інтерактивному режимі визначали зони значущої флуоресценції, на яку накладалася «маска». У нашому випадку це дало можливість виключити області екзокринної тканини підшлункової залози та великі судини (рис. 1Б). У ході автоматичного цифрового аналізу зображення ПО визначали:

1. Питому площу імунореактивного матеріалу (IPM) до досліджуваної ізоформи NOS (S_{IM} , %), котру розраховували за формулою:

$$S_{\text{IM}} = (aS_{\text{IM}} \cdot 100\%) / S_{\text{M}}$$

де aS_{IM} – абсолютна площа флуоресценції, імунореактивної до ізоформи ферменту NOS, мкм²;

$$S_{\text{M}} \text{ – абсолютна площа «маски», мкм}^2.$$

2. Сумарний вміст імунореактивного матеріалу до ізоформи ферменту у площі «маски» з урахуванням фонового світіння (B_{IM} , Одіф), який розраховували за формулою:

$$B_{\text{IM}} = sB_{\text{IM}} - (Ff \cdot S_{\text{M}}),$$

де sB_{IM} – сумарний вміст флуоресценції в площі «маски», Одіф;

$$Ff \text{ – середня фонова флуоресценція, Одіф/мкм}^2;$$

$$S_{\text{M}} \text{ – абсолютна площа «маски», мкм}^2.$$

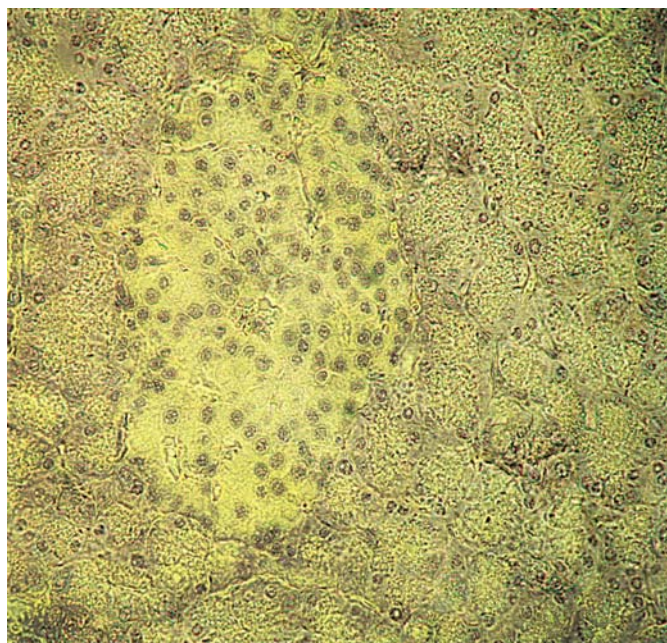


Рис. 1А. Панкреатичний острівцев підшлункової залози щура, підфарбований гематоксином.

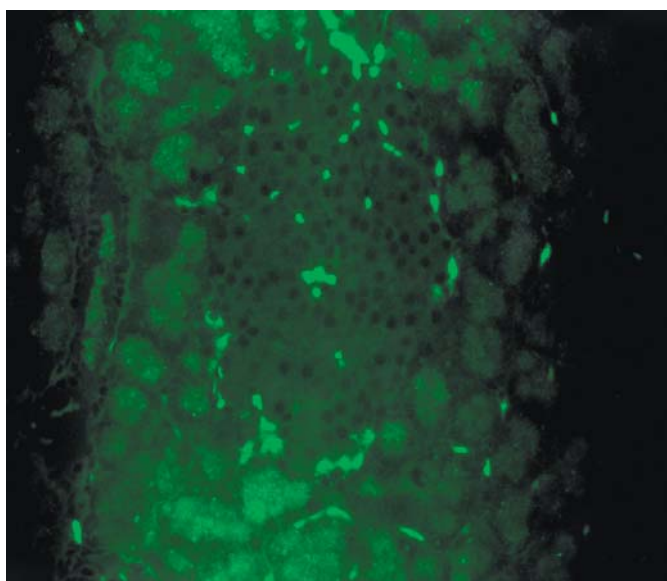


Рис. 1В. Реакція непрямой імунофлуоресценції з антитілами до eNOS. x400.

На підставі цих показників судили про патерн експресії ізоформи NOS, її локалізацію у структурах ПО, визначали сумарний вміст ферменту у площі зрізу ПО та відносну площу IPM.

Статистично опрацювали результати методом варіаційної статистики «Statistica 11.0» (StatSoft Inc, США) за загальноприйнятною методикою. Характер розподілу показників перевіряли з використанням критерію Шапіро-Уїлка. Для порівняння груп із нормальним розподілом даних використовували t-критерій Стьюдента. Дані представлені у вигляді середнього арифметичного та стандартної похибки репрезентативності середнього значення. Статистично значущими вважали відмінності при $p_{st} < 0,05$.

Результати та їх обговорення

У ході дослідження розподілу експресії ізоформ NOS в ПО у щурів першої контрольної групи встановили, що максимальна відносна площа IPM була притаманною для eNOS, водночас як найбільший вміст ферменту був характерним для iNOS (табл. 1).

Аналіз розподілу експресії ізоформ ферменту NOS у щурів другої групи – нащадків самиць із ЕГД препубертатного віку дав змогу встановити багато відмінностей. Так, патерн експресії nNOS відрізнявся вірогідно більшим вмістом ферменту в ПО на 77% ($p_{st} < 0,05$), у той час як відносна площа IPM до nNOS вірогідно не відрізнялась від показників контрольної групи (табл. 1).

Патерн експресії eNOS у щурів – нащадків самиць із ЕГД, мав найбільші відмінності та характеризувався суттєвим збільшенням обох досліджуваних показників. При цьому відносна площа експресії eNOS та її вміст на 38% ($p_{st} < 0,05$) і 90% ($p_{st} < 0,05$), відповідно перевищували показники контрольної групи (табл. 1).

Експресія iNOS форми ферменту в щурів другої групи відрізнялась вірогідним, у порівнянні із показником контролю, збільшенням площі IPM до iNOS на 45% ($p_{st} < 0,05$), у той час як вміст ферменту відповідав показнику контролю.

Порівняльний аналіз розподілу усіх трьох ізоформ NOS в ПО засвідчив: у контрольних щурів найбільша площа ферменту була характерна для eNOS, у той час як вміст IPM був найбільшим для iNOS. На відміну від контролю, хронічна гіперглікемія плода призводить до зміни характеру експресії ферментів і характеризується більшим вмістом IPM до nNOS, площі IPM – до iNOS та максимальними, порівнюючи зі всіма показниками експресії ізоформ, значеннями площі та вмісту IPM до eNOS (табл. 1).

Таблиця 1

Експресія ізоформ NOS у панкреатичних острівцях підшлункової залози щурів ($M \pm m$)

Тип ізоформи	Контрольні щури 1 групи, n=10		Нашадки самиць із ЕГД, 2 група, n=10	
	Відносна площа IPM, %	Вміст IPM, Од _ф	Відносна площа IPM, %	Вміст IPM, Од _ф
nNOS	3,05±0,68	21,10±4,9	4,29±0,51	37,43±4,86 ¹
eNOS	5,82±0,45 ²	28,87±3,65	8,03±0,67 ^{1, 2}	54,83±5,31 ^{1, 2}
iNOS	4,05±0,31 ³	34,05±3,35 ²	5,87±0,49 ^{1, 2, 3}	37,74±3,45 ³

Примітки: ¹ – вірогідна ($p_{st} < 0,05$) різниця в порівнянні з відповідним показником контрольної групи;

² – вірогідна ($p_{st} < 0,05$) різниця в порівнянні з відповідним показником nNOS;

³ – вірогідна ($p_{st} < 0,05$) різниця в порівнянні з відповідним показником eNOS.



Такі високі показники експресії саме ендотеліальної форми ферменту NOS у нащадків самок з ЕГД, на нашу думку, пов'язані із значною синтетичною та секреторною активністю бета-клітин і відповідному до підвищених потреб збільшенню кровопостачання ПО. Підтвердження цього факту є результати попереднього дослідження [1,2], в котрому встановили, що у нащадків самок з ЕГД у різні вікові періоди спочатку на тлі еуглікемії розвивається гіперінсулінемія, підвищення рівня С-пептиду із порушенням толерантності до глюкози, а надалі – гіперглікемія натше на тлі швидкого та надмірного збільшення загальної маси щурів. Слід також відзначити, що віковий морфогенез ПО у тварин у пубертатному періоді (4-місячний вік) характеризувався вищими показниками площі ПО та вмісту в ньому інсуліну [1,2].

У ході численних експериментальних та епідеміологічних досліджень, котрі здійснені іншими науковцями, виявлений зв'язок між захворюваністю на цукровий діабет 2 типу, ожирінням, метаболічним синдромом у дорослому житті та патологією внутрішньоутробного періоду розвитку [4,5]. Це пояснюється тим, що організм плода у пренатальному періоді є дуже чутливим до дії факторів як внутрішнього, так і зовнішнього середовища. Різного роду зовнішні впливи на плід, такі як гіпо- або гіперглікемія, білкова недостатність, пренатальний стрес, можуть призводити до нейроендокринних змін дизрегуляторного характеру і надалі – до порушення контролю гомеостазу глюкози на рівні

β-клітин панкреатичних острівців [4,5]. При цьому прояв захворювань може спостерігатися не тільки відразу після народження або в перші роки життя, але і в зрілому віці на тлі стресу, адинамії, переїдання, ендокринних патологій.

Імовірно, порушення харчування плода в останньому триместрі вагітності порушує не тільки нормальне програмування функції β-клітин, але й змінює баланс експресії ізоформ NOS у ПО підшлункової залози, що, на нашу думку, на початку життя має компенсаторний характер, але згодом може стати причиною формування цукрового діабету у зрілому віці.

Висновки

Хронічна гіперглікемія плода внаслідок гестаційного діабету матері призводить до порушення співвідношення патернів експресії нейрональної, ендотеліальної та індукцйбельної ізоформ NOS у панкреатичних острівцях підшлункової залози, характеризується підвищеним вмістом IPM до pNOS, збільшенням площі IPM до iNOS та максимальними, порівнюючи зі всіма показниками експресії ізоформ, значеннями площі та вмісту IPM до eNOS.

Перспективи подальших досліджень полягають у тому, що встановлений взаємозв'язок дисбалансу експресії ізоформ синтази монооксиду азоту в ПО з пренатальною гіперглікемією та порушенням функції інсуліноцитів у препубертатному віці вимагає вивчення розподілу експресії ферменту в більш віддалені вікові періоди та на тлі сформованої ендокринної патології.

Список літератури

1. Колесник Ю.М. Роль гестаційного діабета у крыс лінії Вистар в метаболічних порушеннях у потомства / Ю.М. Колесник, О.В. Ганчева, А.М. Камышный // Запорожский медицинский журнал. – 2005. – Т. 30. – №3. – С. 107.
2. Грекова Т.А. Влияние пренатальной гипергликемии на состояние альфа-, бета-, дельта- и амилинсинтезирующих клеток островков Лангерганса самцов крыс в возрастной динамике / Т.А. Грекова, Ю.М. Колесник, О.В. Ганчева // Фундаментальна та клінічна ендокринологія: проблеми, здобутки, перспективи (Дев'яті Данилевські читання) : матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю. – Харків, 2010. – С. 31–32.
3. Consensus Statement Updated on Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes // Diabetes Care. – 2008. – №31. – P. 1–11.
4. Абрамов А.В. Особенности влияния хронического пренатального стресса на структурно-функциональную организацию бета-эндокриноцитов / А.В. Абрамов, М.А. Тихоновская, Ю.М. Колесник // Клінічна та експериментальна патологія. – 2004. – Т. 3. – №2. – С. 176–179.
5. Macrosomia despite good glycemic control in type I diabetic pregnancy; results of a nationwide study in The Netherlands / I.M. Evers, H.W. Valk, B.W.L. Mol et al. // Diabetologia. – 2002. – Vol. 45. – №3. – P. 1484–1489.
6. Ozanne S.E. Metabolic programming in animals / S.E. Ozanne // Brit. Med. Bull. – 2001. – Vol. 60. – P. 143–152.
7. Birth weight, type 2 diabetes, and insulin resistance in Pima Indian children and young adults / D. Dabella, R.L. Hanson, G. Imperatore et al. // Diabetes Care. – 1999. – Vol. 22. – №6. – P. 944–950.
8. Development of β-cell mass in fetuses of rats deprived of protein and/of energy in last trimester of pregnancy / E. Bertin, M. Gangnerau, G. Bellon et al. // Amer. J. Physiol. – 2002. – Vol. 283. – №3. – R623–R630.
9. Effect of magnesium on vascular reactivity in NOS inhibition-induced hypertension / F. Basral, Ü.S. Nasırcılar, G. Koçer et al. // Magnes Res. – 2015. – Vol. 28. – №2. – P. 64–74.
10. Nitric oxide synthase in diabetic rat testicular tissue and the effects of pentoxifylline therapy / M.F. Sönmez, E. Kılıç, D. Karabulut et al. // Syst Biol Reprod Med. – 2016. – Vol. 62. – №1. – P. 22–30.
11. Heterozygous eNOS deficiency is associated with oxidative stress and endothelial dysfunction in diet-induced obesity / M.I. Ali, X. Chen, S.P. Didion // Physiol Rep. – 2015. – Vol. 3. – №12. – e12630.
12. Патент 17281 Україна, МПК G09 №23/28. Спосіб моделювання гестаційного діабету у щурів лінії Вистар для вивчення його наслідків для нащадків / Ю.М. Колесник, І.Ф. Беленічев, А.В. Абрамов та ін. – № у 2006 03504; заявл. 31.03.06 ; опубл. 15.09.06. Бюл. №9.

References

1. Kolesnik, Yu. M., Gancheva, O. V., & Kamyshnyj, A. M. (2005). Rol' gestacionnogo diabeta u krys linii Vistar v metabolicheskikh narusheniyakh u potomstva [The role of gestational diabetes in Wistar rats in metabolic disorders of offsprings]. *Zaporozhskij medicinskij zhurnal*, 30(3), 107. [in Ukrainian].
2. Grekova, T. A., Kolesnik, Yu. M., & Gancheva, O. V. (2010). Vliyaniye prenatalnoy giperqlikemii na sostoyaniye alfa-, beta-, del'ta- i amilinsinteziruyuschikh kletok ostrovkov Langergansa samcov krys v vozrastnoj dinamike [The Influence of hyperglycaemia on prenatal condition of alpha-, beta-, delta- and amylin synthesizing islet cells in male rats in the age dynamics]. *Fundamentalnaya ta klinichna endokrynolohiia: problemy, zdobutky, perspektivy (Deviati Danylevski chytannia)* Proceedings of the Scientific and Practical Conference with international participation (pp. 31–32). Kharkiv. [in Ukrainian].
3. (2008) Consensus Statement Updated on Management of Hyper-



- glycemia in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care.*, 31, 1–11.
4. Abramov, A. V., Tikhonovskaya, M. A., & Kolesnik, Yu. M. (2004). Osobennosti vliyaniya khronicheskogo prenatal'nogo stressa na strukturno-funkcional'nuyu organizatsiyu beta-e'ndokrinocitov [Features of the chronic influence of prenatal stress on the structural and functional organization of the beta endocrinocytes]. *Klinichna ta eksperimentalna patolokhiia*, 3(2), 176–179. [in Ukrainian].
 5. Evers, I. M., Valk, H. W., & Mol, B.W.L. (2002). Macrosomia despite good glycemic control in type I diabetic pregnancy; results of a nationwide study in The Netherlands. *Diabetologia*, 45(3), 1484–1489.
 6. Ozanne, S. E. (2001). Metabolic programming in animals. *British Medical Bulletin*, 60(1), 143–152. doi: 10.1093/bmb/60.1.143.
 7. Dabelea, D., Pettitt, D., Hanson, R., Imperatore, G., Bennett, P., & Knowler, W. (1999). Birth weight, type 2 diabetes, and insulin resistance in Pima Indian children and young adults. *Diabetes Care*, 22(6), 944–950.
 8. Bertin, E., Gangnerau, M., Bellon, G., Bailbé, D., Arbelot De Vacqueur, A., & Portha, B. (2002). Development of β -cell mass in fetuses of rats deprived of protein and/or energy in last trimester of pregnancy. *American Journal Of Physiology - Regulatory, Integrative And Comparative Physiology*, 283(3), R623-R630. doi: 10.1152/ajpregu.00037.2002.
 9. Basralı, F., Nasırcılar Ülker S., Koçer, G., Ülker Karadamar, P., Özyurt, D., Cengiz, M., & Kemal Şentürk, Ü. (2015). Effect of magnesium on vascular reactivity in NOS inhibition-induced hypertension. *Magnes Res*, 28(2), 64–74. doi: 10.1684/mrh.2015.0383.
 10. Sönmez, M., Kılıç, E., Karabulut, D., Çilenk, K., Deligönül, E., & Dündar, M. (2016). Nitric oxide synthase in diabetic rat testicular tissue and the effects of pentoxifylline therapy. *Systems Biology In Reproductive Medicine*, 62(1), 22–30. doi: 10.3109/19396368.2015.1085605.
 11. Ali, M., Chen, X., & Didion, S. (2015). Heterozygous eNOS deficiency is associated with oxidative stress and endothelial dysfunction in diet-induced obesity. *Physiol Rep.*, 3(12), e12630. doi: 10.14814/phy2.12630.
 12. Kolesnyk, Yu. M., Bieliienichev, I. F., Abramov, A. V., Gancheva, O. V., Kamyshnyi, A. M., & Grekova, T. A. (patentee) (2006) Patent 17281 Ukraina МПК G09 №23/28. Sposib modeliuvannia hestatsiinoho diabetu u shchuriv linii Vistar dlia vyvchennia yoho naslidkiv dlia nashchadkiv [Patent 17281 of Ukraine МПК G09 №23/28. Method of Modeling of Gestational Diabetes in Wistar Rats to Study Its Effects on Offsprings]. *Biull.*, 9. [in Ukrainian].

Відомості про авторів:

Ганчева О. В., д. мед. н., професор каф. патологічної фізіології, Запорізький державний медичний університет, E-mail: gancheva_olga@mail.ru.

Колесник Ю. М., д. мед. н., професор, зав. каф. патологічної фізіології, ректор Запорізького державного медичного університету.

Вородеєва Ю. І., асистент каф. терапевтичної, ортопедичної та дитячої стоматології, Запорізький державний медичний університет.

Сведения об авторах:

Ганчева О. В., д. мед. н., профессор каф. патологической физиологии, Запорожский государственный медицинский университет,

E-mail: gancheva_olga@mail.ru.

Колесник Ю. М., д. мед. н., профессор, зав. каф. патологической физиологии, ректор Запорожского государственного медицинского университета.

Вородеева Ю. И., ассистент каф. терапевтической, ортопедической и детской стоматологии, Запорожский государственный медицинский университет.

Information about authors:

Gancheva O. V., Ph.D., M.D., Professor, Department of Pathological Physiology, Zaporizhzhia State Medical University, E-mail: gancheva_olga@mail.ru.

Kolesnyk Yu. M., Ph.D., M.D., Professor, Head of the Department of Pathological Physiology, Rector of Zaporizhzhia State Medical University.

Vorodeeva Yu. I., Assistant, Department of Therapeutic, Orthopedic and Pediatric Dentistry, Zaporizhzhia State Medical University.

Поступила в редакцию 12.01.2016 г.