

УДК: 616.379-018.1-092.9

*О.В. Ганчева*Запорізький державний медичний
університетСТРЕПТОЗОТОЦИНОВИЙ ТЕСТ
РЕЗИСТЕНТНОСТІ БЕТА-КЛІТИН ЯК
ОБ'ЄКТИВНИЙ ПОКАЗНИК
АДАПТАЦІЙНИХ МОЖЛИВОСТЕЙ
ІНСУЛІНОЦИТІВ В ЕКСПЕРИМЕНТІ**Ключові слова:** резистентність,
панкреатичні островці, бета-
клітини, стрептозотоцин, щури.**Резюме.** *Останнім часом головним завданням досліджень стає перехід від діагностики діабету до його попередження та раннього виявлення. Для цього необхідна розробка не тільки нових ефективних препаратів, що гальмують деструкцію бета-клітин, збільшують утилізацію глюкози тканинами й стимулюють секрецію інсуліну, але й нових діагностичних тест-систем, що дозволяють здійснити ранню діагностику патологічного процесу. Метою дослідження було дослідити статеву залежність та патогенетичну значущість стрептозотоцинового тесту для визначення ступеня резистентності та адаптаційних можливостей бета-клітин підшлункової залози в щурів самців та самиць лінії Wistar. Дослідження проведено на 60 самцях та самок щурів лінії Wistar по 30 тварин у групі, віком 6-11 місяців, вагою 240-270 г. За результатами проведеного стрептозотоцинового тесту встановлені діагностичні критерії та розподілені групи тварин за ступенем резистентності бета-клітин панкреатичних островців до пошкоджуючого впливу стрептозотоцину. За результатами проведеного дослідження можна зробити наступні висновки: 1. Серед щурів лінії Вістар відмічається неоднорідна резистентність до бета-тропного пошкоджуючого фактора стрептозотоцину, відповідно всіх тварин можна розподілити на три групи: високо-, середньо- та низько-резистентні. 2. Вища резистентність бета-клітин панкреатичних островців виявлена в самиць. 3. Більш низька резистентність до стрептозотоцину в самців, ймовірно, пов'язана з особливостями гормонального статусу та реактивністю імунної системи.***Вступ**

У світі більш 100 млн. людей страждає на цукровий діабет (ЦД). Їх кількість збільшується кожні 10-15 років в усіх країнах світу майже у два рази. Найбільшому ризику захворювання піддається населення країн, що розвиваються, та групи малозабезпечених осіб в індустріально розвинених країнах [1]. Перебіг цукрового діабету тяжкий, тому при недостатньому лікарському контролі нерідкі гострі ускладнення [2]. Унаслідок його високої поширеності, ранньої інвалідизації й зменшення тривалості життя хворих це захворювання є однією з найважливіших медико-соціальних проблем. Тому вивчення механізмів інсулінової регуляції, етіології й патогенезу ЦД, пошук нових методів лікування проводяться у світі дуже широко та інтенсивно. Останнім часом головним завданням досліджень стає перехід від діагностики ЦД до його попередження та раннього виявлення. Для цього необхідна розробка не тільки нових ефективних препаратів, що гальмують деструкцію бета-клітин, збільшують

утилізацію глюкози тканинами й стимулюють секрецію інсуліну, але й нових діагностичних тест-систем, що дозволяють здійснити ранню діагностику патологічного процесу, який формується у панкреатичних островцях. Для цього необхідно враховувати особливості впливу речовин, що розробляються, безпосередньо на бета-клітини, оцінювати їхню можливість підвищувати резистентність інсуліноцитів до факторів, які їх пошкоджують.

Мета дослідження

Дослідити статеву залежність та патогенетичну значущість стрептозотоцинового тесту для визначення ступеня резистентності та адаптаційних можливостей бета-клітин підшлункової залози у щурів самців та самиць лінії Wistar.

Матеріали та методи

Дослідження проведено на 60 щурах самцях та самок лінії Wistar по 30 тварин в групі, віком 6-11 місяців, масою 240-270 г. До початку експе-

рименту кожну тварину зважували та вимірювали глюкооксидазним методом рівень глюкози в крові хвостової вени, який у середньому становив $4,2 \pm 0,25$ мМоль/л. Імуноферментним методом визначали рівень інсуліну в плазмі крові, в середньому він становив $4,01 \pm 0,13$ мкОд/мл. У перший день дослідження о восьмій годині ранку, після 12-годинного голодування шурам одно-разово, внутрішньочеревно вводили стрептозототин в дозі 55 мг/кг маси, розведеного *ex tempore* в 1 мл 0,1М цитратного буферу рН 4,5. Після введення стрептозототину щурів розміщували по одному в клітках при вільному доступі до води та їжі. У кожній клітці була індивідуальна мірна "поїлка" та кормушка для щодобового урахування спожитої води та їжі [3].

Усі дані, отримані протягом експерименту, обробляли на персональному комп'ютері пакетом прикладних та статистичних програм MS Office 2007 (Microsoft Corp., США), пакета STATISTICA 6.0 (Stat-Soft, 2001). Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії та помилки середньої

(m). Для виявлення достовірності відмінностей результатів дослідження в дослідних і контрольних групах тварин визначали коефіцієнт Ст'юдента (St), після чого визначали вірогідність відмінності вибірок (p) і довірчий інтервал середньої за таблицями розподілу Ст'юдента. Достовірними вважали значення, для яких $pSt < 0,05$ [8].

Обговорення результатів дослідження

За результатами проведеного стрептозототинного тесту були встановлені діагностичні критерії та розподілені групи тварин за ступенем резистентності бета-клітин панкреатичних острівців до пошкоджуючого впливу стрептозототину. Першу групу серед самиць (8 самиць-щурів - 26,6 %) та самців (6 самців-щурів - 20 %) склали тварини з високою резистентністю бета-клітин до стрептозототину (рис.). У тварин цієї групи концентрація глюкози становила $8,2 \pm 0,14$ мМоль/л, концентрація інсуліну $3,75 \pm 0,2$ мкОд/мл, маса тварин знижувалася на 10-15 %, загальний об'єм спожитої води збільшувався на 10-15 %, об'єм спожитої їжі знижувався на 10-15 %. У тва-

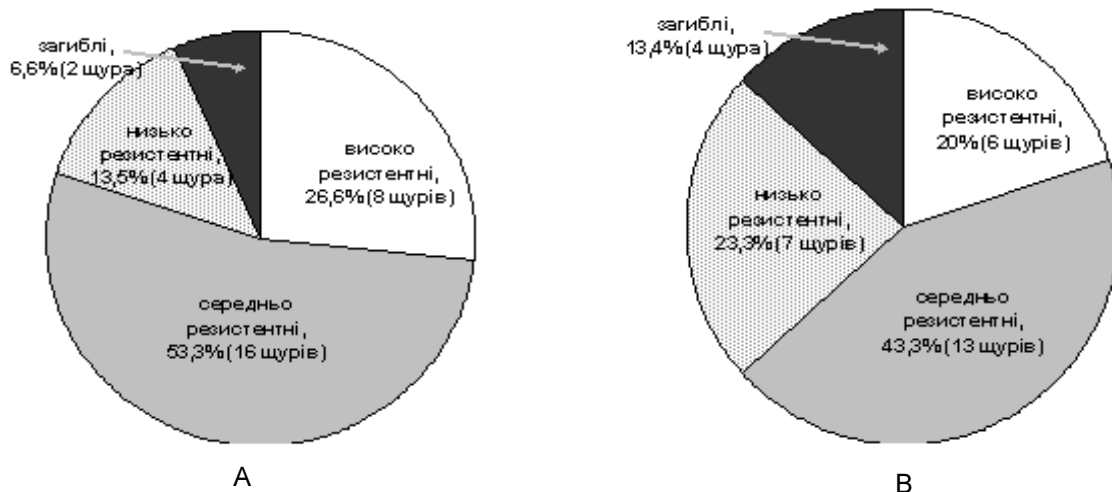


Рис. Розподіл самців (А) та самиць (В) щурів лінії Вістар за ступенем резистентності бета-клітин панкреатичних острівців до стрептозототину

рин другої групи - із середньою резистентністю, яка спостерігалася у 16 (53,3 %) самок-щурів та 13 (43,3 %) самців-щурів, концентрація глюкози була $13,48 \pm 0,86$ мМоль/л, концентрація інсуліну - $2,24 \pm 0,18$ мкОд/мл, маса знижувалася на 15-25 %, загальний об'єм спожитої води збільшувався на 15-25 %, об'єм спожитої їжі знижувався на 15-25 %. Низьку резистентність до стрептозототину показали 4 (13,5 %) самки та 7 (23,3 %) самців, в яких концентрація глюкози становила $17,36 \pm 0,56$ мМоль/л, концентрація інсуліну - $1,55 \pm 0,08$ мкОд/мл, маса тварин знижувалася більше, ніж на 25 %, загальний об'єм спожитої води збільшувався більш, ніж на 25 %, а об'єм їжі знижувався на 25 % і більше.

Встановлений нами факт неоднорідності резистентності бета-клітин панкреатичних острівців до ушкоджуючої дії стрептозототину ще раз підтверджує дані численних популяційних і експериментальних досліджень про наявність груп ризику за цукровим діабетом та ожирінням серед населення різних країн [4, 5]. Вважають, що схильність до цих захворювань залежить від генетичних факторів, гормонально-цитокінового статусу, резервно-адаптаційних можливостей організму [6-8]. Відомо, що схильність до ЦД 1 типу поєднується з генами комплексу HLA DR3, DR4 або DR3/DR4 і певними генами локусу HLA DQ (DQA і DQB, DRB гени). Певні алелі генів HLA-DR/DQ можуть опосередкувати схильність

до розвитку ЦД або здійснювати протективну дію [5]. Ряд дослідників розглядає негативні пренатальні чинники, такі як голодування або переїдання матері [9], пренатальний стрес плода [8] як фактори, що знижують резистентність інсуліноцитів, а в якості тригерів захворювань, що запускають каскад патогенетичних зрушень, різного роду пошкоджуючі впливи (віруси, токсини, хімічні сполуки) на бета-клітини підшлункової залози [9].

Слід також відмітити встановлену статеву залежність ступеня резистентності бета-клітин до стрептозоточину в експериментальних групах. Так, серед самиць у кількісному та відсотковому еквіваленті було більше високо- та середньорезистентних тварин. Причому низькорезистентні та загиблі самиці становили менш, ніж 20 %, у той час як серед самців їх було більше 35 %. Отримані на теперішній момент наукові дані та результати багатоцентрових досліджень свідчать, що в жінок молодого і середнього віку дещо рідше зустрічаються порушення вуглеводного обміну, ніж у чоловіків. Однак пізніше ця залежність змінюється аж до реверсії [5, 6].

Висновки

1. Серед шурів лінії Вістар має місце неоднорідна резистентність до бета-тропного пошкоджуючого чинника стрептозоточину, за чутливістю всіх тварин можна розподілити на три групи: високо-, середньо- та низькорезистентні.

2. Найвища резистентність бета-клітин панкреатичних острівців спостерігається в самиць.

3. Нижча резистентність до стрептозоточину в самців, ймовірно, пов'язана з особливостями їх гормонального статусу та реактивністю імунної системи.

Перспективи подальших досліджень

Планується вивчення резистентності бета-клітин підшлункової залози шурів, що піддавалися впливу внутрішньоутробної хронічної гіперглікемії.

Література. 1. Secular changes in U.S. prediabetes prevalence defined by Hemoglobin A1c and fasting plasma glucose / K. Bullard, S. Aydah, G. Imperatore [et al.] // *Diabetes Care*. - 2013. - Vol. 36. - P. 2286-2293. 2. Reaven G.M. Relationships among insulin resistance, type 2 diabetes, essential hypertension, and cardiovascular disease: similarities and differences / G.M. Reaven // *J Clin Hypertens (Greenwich)*. - 2011. - Vol. 13(4). - P. 238-243. 3. Пат. 53327 Україна, МПК G09B 23/00. Спосіб визначення резистентності бета-клітин панкреатичних острівців підшлункової залози в експерименті / Колесник Ю. М., Абрамов А. В., Ганчева О. В., Іваненко Т. В.; заявник та патентовласник ЗДМУ й автори. - № u 2010 00744; заявл. 26.01.10; опубл. 11.10.10, Бюл. № 9. 4. Ефимов А. С. Влияние сахарного диабета на течение ишемической болезни сердца / А. С. Ефимов, Л. К. Соколова, М. Ю. Соколов // *Журнал АМН Украины*. - 2002. - Т. 8, № 2. - С. 355-365. 5. Consensus Statement Updated on Management of Hyperglycemia in Type

2 Diabetes // *Diabetes Care*. - 2008. - № 31. - P. 1-11. 6. Кравченко В. І. Системний та епідеміологічний аналіз даних державного реєстру хворих на цукровий діабет 1 типу в Україні / В. І. Кравченко // *Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю*. - Харків, 2010. - С. 57-59. 7. Рекомендації української асоціації кардіологів з профілактики та лікування артеріальної гіпертензії / *Посібник до Національної програми профілактики і лікування артеріальної гіпертензії* - Київ, 2008. - 79 с. 8. Резников А. Г. Перинатальна модифікація розвитку нейроендокринної системи: феномени та механізми / А. Г. Резников // *Проблеми ендокринології*. - 2004. - Т. 50, № 4. - С. 42-48. 9. Kim C. Gestational diabetes mellitus and risk of future maternal cardiovascular disease / C. Kim // *Expert. Rev. Cardiovasc. Ther.* - 2010. - Vol. 8, № 12. - P. 1639-1641.

СТРЕПТОЗОТОЦИНОВЫЙ ТЕСТ РЕЗИСТЕНТНОСТИ БЕТА-КЛЕТОК, КАК ОБЪЕКТИВНЫЙ ПОКАЗАТЕЛЬ АДАПТАЦИОННЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ИНСУЛИНОЦИТОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

О.В. Ганчева

Резюме. В последнее время главной задачей исследований становится переход от диагностики диабета к его предупреждению и раннему выявлению. Для этого необходима разработка не только новых эффективных препаратов, тормозящих деструкцию бета-клеток, увеличивающих утилизацию глюкозы тканями и стимулирующих секрецию инсулина, но и новых диагностических тест-систем, позволяющих осуществить раннюю диагностику патологического процесса. Поэтому целью исследования было изучить половую зависимость и патогенетическую значимость стрептозоточинового теста для определения степени резистентности и адаптационных возможностей бета-клеток поджелудочной железы у самцов и самок крыс линии Wistar. Исследование проведено на 60 крысах самцах и самках линии Wistar, по 30 животных в группе, возрастом 6-11 месяцев, весом 240-270 г. По результатам стрептозоточинового теста установлены диагностические критерии и распределены группы животных по степени резистентности их бета-клеток панкреатических островков к повреждающему фактору стрептозоточину. По результатам исследования можно сделать следующие выводы: 1. Среди крыс линии Вистар отмечается неоднородная резистентность к бета-тропному повреждающему фактору стрептозоточину, соответственно всех животных можно разделить на три группы: высоко-, средне- и низкорезистентные. 2. Более высокая резистентность бета-клеток панкреатических островков наблюдается у самок. 3. Более низкая резистентность к стрептозоточину у самцов, вероятно, обусловлена особенностями их гормонального статуса и реактивностью иммунной системы.

Ключевые слова: резистентность, панкреатические островки, бета-клетки, стрептозоточин, крысы.

STREPTOZOTOCIN TEST OF BETA CELLS' RESISTANCE AS OBJECTIVE INDEX OF THE ADAPTIVE ABILITIES OF INSULIN-PRODUCING CELLS IN EXPERIMENT

O.V. Hantscheva

Abstract. Recently there is a shift of main issue of research from diabetes mellitus diagnostics to its prevention have been noted. Due to this option not only the development of new effective drugs with abilities to prevent the destruction of beta cells, increase the cells' glucose utilization and stimulate the insulin secretion are needed, but new test-systems that will allow to maintain the early diagnostics of pathological process formation in pancreatic islets should be invented. In this case it's very important to consider the influence of developed substances

to beta cells, evaluate their abilities to increase the beta cells' resistance to injuring factors.

The purpose was to prove the sexual dependence and pathogenetical significance of streptozotocin test for measuring of the level of resistance and adoptive abilities of pancreatic beta cells in male and female Wistar rats.

Materials and methods. The study was carried out on 60 Wistar male and female rats divided into two groups of 30 animals in each, in age of 6-11 month with 240-270 gram weight. Before the experiment each rat was weighted, and the glucose level in tail vein was measured with glucose-oxidase method and was $4,2 \pm 0,25$ mmol/l in average. The insulin plasma level was measured with immunofluorescent method and was $4,01 \pm 0,13$ mкE/ml in average. In the first day of experiment at 8 o'clock in the morning after 12 hours of starvation each rat was intraperitoneally injected with streptozotocin ex tempore diluted in 1 ml of 0.1M citric buffer with 4,5 pH level in 55 mg/kg dose.

Results and discussion. In result of streptozotocin test there were diagnostic criteria established and rats were divided into groups according to their level of pancreatic beta cells' resistance ability. In first group among female rats there were placed 8 animals - 26,6% and among males there were 6 rats - 20%. There were animals with high resistance to injuring factor. In this group the glucose concentration was $8,2 \pm 0,14$ mmol/l, insulin concentration was $3,75 \pm 0,2$ mкE/ml, the weight and amount of food intake was decreased by 10-15% and amount of water intake was increased by 10-15%. In second group with

middle resistance, that was observed in 16 (53,3%) female and 13 (43,3%) male rats, the glucose concentration was $13,48 \pm 0,86$ mmol/l, the insulin concentration was $2,24 \pm 0,18$ mкE/l, the weight and food intake was decreased by 15-25% and water intake was increased by 15-25%. 4 female (13,5%) and 7 (23,3%) male rats have showed the low streptozotocin resistance. In this group the glucose concentration was $17,36 \pm 0,56$ mmol/l, the insulin concentration was $1,55 \pm 0,08$ mкE/ml, the weight and food intake was decreased more than 25% and water intake was increased over than 25%.

Thus according to results of the study, we can make such conclusions: 1. there is an ununiformed resistance to beta cells' specific injury factor of streptozotocin among Wistar rats, and they were divided into three groups with high, middle and low resistance ability respectively. The highest pancreatic beta cells resistance was observed in female animals. 3. The higher resistance ability of female rats, probably, is due to their peculiarities of hormonal status and reactivity of immune system.

Key words: resistance, pancreatic islets, beta cells, streptozotocin, rats.

Zaporozhye state medical university

Clin. and experim. pathol. - 2015. - Vol.14, №2 (52). - P.69-72.

Надійшла до редакції 14.05.2015

Рецензент – проф. С.С. Ткачук

© О.В. Ганчева, 2015