

- Гоженко А.И. Нефротропные эффекты при активации аденозинтрифосфатчувствительных калиевых каналов в зависимости от функционального состояния почек крыс /А.И.Гоженко, Н.Д.Филипец //Нефрология.- 2013.- Т.17, №2.- С.87-90.
- Гоженко А.И. Патогенез токсических нефропатий /А.И.Гоженко //Акт. пробл. транспортной мед.- 2006.- №2(4).- С.9-13.
- Гоженко А.И. Энергетическое обеспечение основных почечных функций и процессов в норме и при повреждении почек: автореф. дис. на соиск. учен. степ. докт. мед. наук: спец. 14.00.16 "Патологическая физиология" /А.И.Гоженко.- Киев, 1987.- 37с.
- Михеева А.И. Сульфосалициловый метод определения белка в моче /А.И.Михеева, И.А.Богодарова //Лаб. дело.- 1969.- №7.- С.441-442.
- Методи експериментального моделювання ураження нирок для фармакологічних досліджень: [метод. рек.ком.] /А.І.Гоженко, С.Ю.Штриголь, В.М.Лісовий [та ін.]- К., 2009.- 47с.
- Нові фторвмісні активатори аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів флокалін і тіофлокалін пригнічують кальційіндуковане відкриття мітохондріальної пори у серці щурів /Н.А.Струтинська, Р.Б.Струтинський, С.В.Чорна [та ін.] //Фізіол. журнал.- 2013.- Т.59, №6.- С.3-9.
- Путилина Ф.Е. Влияние гипоксии и 2,4-динитрофенола на лактатдегидрогеназную реакцию в мозгу, печени, в почках /Ф.Е.Путилина, Н.Д.Ещенко //Вопр. мед. химии.- 1971.- Т.17, №2.- С.161-165.
- Філіпец Н.Д. Морфологічні зміни тканин нирок щурів за умов поєднаного застосування нітриту натрію та 2,4-динітрофенолу /Н.Д.Філіпец, А.И.Гоженко, І.С.Давиденко //Вісник морфології.- 2013.- Т.19, №2.- С.268-271.
- Филипец Н.Д. Сравнительное изучение нефропротекторных свойств модуляторов калиевых и кальциевых каналов при экспериментальном поражении почек /Н.Д.Филипец, А.И.Гоженко //Эксперим. и клин. фармакол.- 2014.- Т.77, №1.- С.10-12.
- Gozhenko A. Flokaline and diltiazem renoprotector properties in chronization hypoxic nephropathy /A.Gozhenko, N.Filipets, W.Zukow //J. of Health Science.- 2013.- Vol.3(12).- С.389-398.

Гоженко А.И., Филипец Н.Д., Давиденко И.С.

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПОЧЕК ПОСЛЕ МОДУЛЯЦИИ ИОННЫХ КАНАЛОВ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЗАЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЭКЗОТОКСИЧЕСКИХ НЕФРОПАТИЙ

Резюме. В экспериментах на лабораторных белых крысах показано, что под влиянием активатора аденозинтрифосфат-зависимых калиевых каналов флокалина в условиях хронизации гистогемической и сулемовой нефропатий позитивная динамика морфологических изменений отображалась улучшением клубочковых и канальцевых процессов. В результате применения блокатора кальциевых каналов дилтиазема после аналогичных экзотоксических повреждений структурные изменения почки были выражены в меньшей мере, и только у крыс с сулемовой нефропатией повышалась функциональная способность проксимальных канальцев. Оценка влияния модуляторов ионных каналов на структурно-функциональное состояние почек в условиях хронизации экзотоксических нефропатий показала преимущественные нефропротекторные свойства флокалина по сравнению с дилтиаземом.

Ключевые слова: экзотоксическая нефропатия, структурно-функциональные изменения, флокалин, дилтиазем.

Gozhenko A.I., Filipets N.D., Davydenko I.S.

PECULIARITIES OF STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHANGES OF KIDNEYS AFTER MODULATION OF ION CHANNELS UNDER THE CONDITIONS OF CHRONIZATION OF EXPERIMENTAL EXOTOXIC NEPHROPATHIES

Summary. In experiments on laboratory white rats it has been shown that administration of adenosine triphosphate-sensitive potassium channel activator floccalin resulted in positive dynamics of morphological changes (improvement of glomerular and tubular processes) under the conditions of chronization of histohemic hypoxic and sublimate nephropathies. Administration of calcium channel blocker diltiazem after the analogous exotoxic injury has lead to less pronounced structural changes of kidney, and the functional ability of proximal tubules increased only in rats with sublimate nephropathy. Assessment of the effect of ion channels modulators on structural and functional state of kidneys under the conditions of chronization of exotoxic nephropathies has shown the predominant nephroprotective properties of floccalin in comparison to diltiazem.

Key words: exotoxic nephropathy, structural and functional changes of kidneys, floccalin, diltiazem.

Стаття надійшла до редакції 21.04.2014 р.

Гоженко Анатолій Іванович - д. мед. н., професор, заслуж. діяч науки і техніки України, директор ДП "Український науково-дослідний інститут медицини транспорту"; +38 048 722-53-64, +38 048 728-14-52; medtrans2@rambler.ru; unii_mt@mail.ru
Філіпец Наталія Дмитрівна - к. мед. н., доцент кафедри фармакології Буковинського державного медичного університету; +38 0372 23-52-62, +38 050 608-04-96; natalya.dmi@gmail.com
Давиденко Ігор Святославович - д. мед. н., професор, завідувач кафедри патоморфології Буковинського державного медичного університету; +38 0372 51-47-57; davydenko.igor@bsmu.edu.ua

© Зяблицев С.В., Ролінська Л.М.

УДК: 616.379-008.64+615.33]-028.77:59

Зяблицев С.В., Ролінська Л.М.

Донецький національний університет імені М.Горького МОЗ України, кафедра патологічної фізіології (пр-т Ілліча, 16, м.Донецьк, 83003, Україна)

МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО ДІАБЕТУ

Резюме. Пошкодження інсулярного апарату підшлункової залози після дії STZ (введення 25 мг/кг триразово з інтервалом у 5 діб) були наявні три стадії. 1 стадія починалася після першого введення STZ та продовжувалася до 21-30 доби

спостереження. У цей час повільно зростав рівень глюкози та зменшувалися рівні інсуліну та С-пептиду. Вочевидь ці зміни були обумовлені некрозом бета-клітин підшлункової залози, та супроводжувалися розвитком неспецифічного запалення (інсулітом). Однак, секреція інсуліну у цей період знижувалася не катастрофічно, а повільно (на 30-45 добу мінімальні величини для інсуліну зіставили від 20% до 25% від контрольних значень, а для С-пептиду 40-45%). Згодом було відмічено розвиток 2 стадії STZ-діабету - стадії "плато", коли показники не змінювалися - це періоди спостереження 30 та 45 діб. Розвиток 3 стадії мав був пов'язаний зі зривом компенсаторних механізмів. Через розвиток автоімунних механізмів пошкодження та масову загибель бета-клітин ще більшою мірою активувався процес запалення, що обумовлювало повторне різке зниження рівню інсуліну та С-пептиду на 60 добу.

Ключові слова: експериментальний діабет, стрептозотцин, інсулін, С-пептид, глюкагон.

Вступ

Цукровий діабет 1 типу - захворювання, автоімунні механізми якого активно вивчаються останнім часом. В їх основі лежить пошкодження інсуліноклітинного апарату підшлункової залози (ІАПЖ). При цьому основна роль належить широкому спектру антитіл до інсуліну і тканин ПЖ [Vega-Anaya et al., 2009]. Істотне значення має і прогресуюча інфільтрація тканини залози клітками імунної системи, що супроводжується руйнуванням острівкового апарату [Peakman, 2008; Novak, Lehuen, 2011]. Експериментальні і клінічні дослідження показали, що пошкодження ІАПЖ є клітинно-опосередкованим і органоспецифічним, запускається макрофагами і CD4+ і CD8+ Т-лімфоцитами [Pietropaolo et al., 2012]. Клінічна маніфестація діабету настає після пошкодження більш ніж 90% інсуліноцитів [Орловский, 2006]. Деструктивний процес запускають Т-лімфоцити, які завдяки синтезу цитокинів, а також взаємодії за допомогою рецепторів клітинної поверхні, активують В-лімфоцити і антигенпрезентуючі макрофаги. Починаючись в одному місці, патологічний процес швидко розповсюджується в органі.

Активовані макрофаги є джерелом оксиду азоту і кисневих вільних радикалів, прозапальних цитокинів, що призводить до активації процесу асептичного запалення в острівцях ПЖ [Lebastchi, Herold, 2012; Pietropaolo, 2012]. Найважливішим механізмом пошкодження бета-клітин є апоптоз, який також запускається ефекторними Т-лімфоцитами. Це реалізується шляхом активації каспазного механізму, що включає активацію Fas-рецепторів Fas-лигандом, активації системи оксиду азоту і вільно-радикального окислення [Орловский, 2006].

Для вивчення цих механізмів в експерименті необхідна адекватна модель, яка б дозволила відтворити модель автоімунного пошкодження ІАПЖ з вираженою інсуліновою недостатністю і гіперглікемією. Мета дослідження: розробити модель і вивчити механізми та стадії розвитку цукрового діабету-1.

Матеріали та методи

Експерименти проведено на білих безпородних щурах-самцях, яких було розведено та вирощено в умовах віварію Донецького національного медичного університету ім. М.Горького спеціально для експериментальних цілей. У 1 серії у 15 тварин моделювали STZ-діабет, для чого використовували малотоксичні дози STZ (Sigma, США). STZ розчиняли у свіжовиготовлено-

му 0,1M буфері цитрату натрію (рН 6,3) і вводили внутріочеревинно у дозі 25 мг/кг триразово з інтервалом у 5 діб (0,5 мл розчину). Загальний строк моделювання STZ-діабету склав 10 суток.

При моделюванні STZ-діабету у тварин цієї серії триразово вимірювали у краплі крові з хвоста за допомогою тест-смужок рівень глюкози: до початку експерименту (безпосередньо перед першим введенням STZ), перед другим та третім введеннями. На 7, 21, 30 та 45 добу після закінчення моделювання у кожній тварини під легким ефірним знеболюванням брали 0,2-0,3мл крові з ясен між верхніми різцями. За 12 годин до забору крові їжу з кліток відбирали, а після забору - додавали звичайну кількість. У цій крові визначали вміст глюкози, ФА, НbА1с. Контроль для цієї серії склали 5 тварин, яким проводили ті ж самі маніпуляції, але замість STZ вводили аналогічні обсяги цитратного буферу. В 1 добу моделювання STZ-діабету та на 60 добу спостереження тварин зважували та фіксували масу тіла. На 60 добу тварин після чергового забору крові виводили з експерименту шляхом декапітації з використанням ефірного знеболювання. В 2 серії проводили визначення стану секреторної активності ІАПЖ у 35 тварин, яких виводили з експерименту шляхом декапітації під ефірним знеболюванням, відповідно, на 7, 21, 30, 45 та 60 добу у кількості 7 на кожний строк. Декапітаційну кров збирали у пробірку для подальшого визначення гормонів та метаболітів. Вміст у крові глюкози проводили стандартними спектрометричними методами за допомогою наборів реактивів фірми "La Chema" (Чеська республіка) на спектрофотометрі СФ-46 (Росія). Вміст глюкози - у ммоль/л. Визначення вмісту гормонів проводили імуноферментним методом з використанням стандартних комерційних наборів DSL (США). Інтенсивність забарвлення продукту ферментативної реакції кількісно оцінювали на ридері PR2100 SANOFI DIAGNOSTIC PASTEUR (Франція). Кількісне визначення у крові ФА проводили за використанням реактивів фірми Audit Diagnostics (Ірландія). Принцип методу полягає у тому, що кетаміни у лужному середовищі редукують блакитний нітратетрозолін, а інтенсивність фіолетового кольору, що продукується прямо пропорційна концентрації ФА у зразці.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили із застосуванням ліцензійних пакетів Statistica 5.5 (Stat Soft Rus), Statistica Neural Networks (Statsoft Inc.) і Stadia 6.1.

Результати. Обговорення

Згідно до численних літературних даних та наших попередніх досліджень після введення експериментальним щурам STZ у дозі 50 мг/кг та вище відмічається первинна гіперглікемія, яка пов'язана з різким зниженням рівня у крові інсуліну та розвивається вже через 12 годин [Орловский, 2006]. В даному дослідженні була обрана модель триразового послідовного введення STZ у дозі по 25 мг/кг для можливості розвитку імунопатологічного компоненту пошкодження ІАПЗ. При цьому тварини виявили різний ступень реактивності по відношенню до STZ. Так, у 8 тварин вже перше введення STZ супроводжувалося гіперглікемією (рівень глюкози від 6,05ммоль/л до 8,20ммоль/л; у середньому 7,16±0,25 ммоль/л). У тварин, які лишилися, рівень глюкози не перевищував норму та склав від 4,13 ммоль/л до 5,45 ммоль/л; у середньому 4,42±0,19 ммоль/л.

Таким чином, більш половини тварин (53,3%) відреагували вже на перше введення STZ гіперглікемією, при цьому рівень глюкози в них був у 1,6 разів вищим, що було статистично значущим ($p < 0,05$).

На другу добу моделювання (перед третім введенням STZ) у всіх тварин рівень глюкози був підвищеним і склав від 6,33 ммоль/л до 9,46 ммоль/л, у середньому 8,05±0,24 ммоль/л. У 8 тварин, які швидко реагували на введення STZ, рівень глюкози підвищувався більшою мірою, ніж у тих, які мали нормальний рівень глюкози на 1-у добу моделювання STZ-діабету. Рівень глюкози у першому випадку склав 8,86±0,19 ммоль/л, а у другому - 7,23±0,19 ммоль/л ($p < 0,05$).

У 1 експериментальній серії у тварин після моделювання STZ-діабету в динаміці спостереження досліджували показники вмісту у крові глюкози, ФА та HbA1c. Ці результати наведені у таблиці 1. Рівень глюкози у крові вже на 7 добу перевищив контрольне значення у 1,9 рази, на На 21 - у 3,8 рази, а потім - вийшов на стабільно високий рівень і у 4,0-4,8 рази перевищував контроль ($p < 0,05$ у всіх випадках).

Рівень ФА відповідно до рівня глюкози у крові підвищувався починаючи з 21 доби спостереження, а з 30 доби він був стабільно високим і перевищував контрольні значення у 1,7-1,9 рази. Це також, як і гіперглікемія, показало адекватність обраної моделі і розвиток

ЦД І у піддослідних тварин.

Рівень HbA1c показує стан вуглеводного обміну за 3 попередні місяці [Lebastchi, Herold, 2012]. В наших дослідженнях при STZ-діабеті рівень HbA1c статистично значуще підвищувався починаючи з 30 доби спостереження - в 1,7 рази. У подальшому рівень HbA1c зростав до стабільного рівня і перевищував контроль у 1,8 рази як через 45, так і через 60 дб ($p < 0,05$ у всіх випадках).

Крім того, на 60 добу було проведено контрольне вимірювання ваги тварин. Маса тіла була перевищена у всіх тварини в середньому у 2,1 рази ($p < 0,05$) і зістала на початку експерименту (1 доба моделювання) 181,0±1,9г, а на 60 добу - 381,0±6,68 г. Це вказувало на глибокі порушення обміну речовин, насамперед - вуглеводного та жирового.

Таким чином, у ході динамічного спостереження за тваринами 1 експериментальної серії була встановлена адекватність використаної моделі STZ-діабету загальним характеристикам ЦДІ: мала місце стійка гіперглікемія, на 14 добу підвищувався рівень ФА, а на 30 - рівень HbA1c. Ці показники весь час спостереження були стабільно високими, що вказувало на стійкий характер гіперглікемії.

Для оцінки гормональної регуляції вуглеводного обміну було проведено вивчення динаміки гормонів ПЗ. Результати наведені у таблиці 2.

Динаміка вмісту у крові ІН характеризувалась зниженням у 2,4 рази вже на 7 добу спостереження і у 3,3 рази на 21 добу. Після цього (на 30-60 доби спостереження) рівень ІН лишився стабільно зниженим у 4,5-5,5 рази ($p < 0,05$ у всіх випадках). Такі дані показували, що в результаті загибелі ІАПЗ секреція ІН суттєво знижувалася.

Порівняння даних на 60 добу з попередніми величинами показало, що рівень ІН у цей строк суттєво знижувався. Так, він був нижчим за рівень 7 доби у 2,6 рази, за рівень 30 доби - у 1,4 рази, та у 1,3 рази за рівень 45 доби ($p < 0,05$ у всіх випадках). Це вказувало на розвиток повторного пригнічення секреторної функції ІАПЗ. Перша стадія була відмічена після введення STZ і тривала до 30 доби, потім була відмічена 2 стадія - стабільно низки значення ІН (30-40 доба), а на 60 добу - 3 стадія (повторне зниження рівня гормону у

Таблиця 1. Показники вуглеводного обміну ($M \pm m$).

Показник		Доба спостереження				
		7	21	30	45	60
Глюкоза, ммоль/л	1 серія	8,12±1,16 *	17,03±2,43 *	19,22±1,76 *	21,94±3,05 *	20,48±1,77*
	контроль	4,62±0,34	4,53±0,37	4,75±0,33	4,55±0,32	4,60±0,34
ФА, мкмоль/л	1 серія	420,7±36,0	615,3±46,2*	682,8±59,0*	708,1±68,9*	694,4±71,3*
	контроль	386,1±24,7	395,2±28,3	391,5±30,0	381,3±27,4	397,2±29,1
HbA1c, %	1 серія	4,67±0,48	5,18±0,63	6,92±0,47*	7,36±0,80 *	7,61±0,81*
	контроль	4,24±0,32	4,02±0,33	4,13±0,22	4,15±0,28	4,20±0,24

Примітка: * - $p < 0,05$ при порівнянні середніх величин з контрольною групою.

Таблиця 2. Показники вуглеводного обміну, $M \pm m$.

Показник		Доба спостереження				
		7	21	30	45	60
ІН, мкМЕ/мл	1 серія	7,31±0,48*	4,75±0,38*	3,94±0,28 *	3,70±0,24 *	2,86±0,21 *
	контроль	17,27±2,11	15,44±1,47	16,37±1,79	16,83±1,44	15,91±1,60
С-пептид, нг/мл	1 серія	1,42±0,15*	1,03±0,09*	0,98±0,07 *	0,97±0,08 *	0,74±0,06 *
	контроль	2,14±0,27	2,20±0,23	2,15±0,27	2,13±0,24	2,20±0,21
Глюкагон, пг/мл	1 серія	248,7±23,5*	425,6±57,3*	704,8±76,6*	512,1±47,3*	359,4±33,6*
	контроль	78,5±7,0	81,3±7,7	82,4±7,9	77,5±8,2	79,8±8,0

Примітка: * - $p < 0,05$ при порівнянні середніх величин з контрольною групою.

крові). Останнє, можливо, було пов'язано з патологічними процесами, що розвивалися вторинно. Перше зниження, на наш погляд, було обумовлено токсичною дією STZ, тоді як повторне - імунопатологічними процесами, які мали вторинний характер.

Відомо, що в еквімолярної кількості з ІН у кров видається С-пептид; по суті секритується одна молекула проінсуліну, яка після попадання у кров під дією протеолітичних ферментів розпадається на дві молекули: ІН та С-пептид. Дійсно, якби ілюструючи це положення, динаміка С-пептиду була цілком аналогічною динаміці ІН. Рівень С-пептиду знижувався у 1,5 разів на 7, у 2,1 рази на 21 та у 2,2-3,0 рази на 30-60 добу спостереження. Цей факт прямо вказував на недостатність секреторної функції ІАПЗ. Також, як і ІН, С-пептид мав повторне зниження на 60 добу спостереження, коли його рівень був нижчим за рівень 7 доби у 1,9 рази, а за рівень 30 та 45 доби у 1,3 рази ($p < 0,05$ у всіх випадках). Це підтверджувало стадійність пошкодження ІАПЗ при введенні діабетогенної дози STZ.

Як відомо [Орловский, 2006], внаслідок зниження концентрації ІН та гама-аміномасляної кислоти в островах активується секреція глюкагону. В наших дослідженнях (див. табл. 2) рівень цього гормону вже на 7 добу спостереження був підвищений у 3,2 рази, на 21 добу - у 5,2 рази і на 30 добу досягав свого піку - перевищував контрольне значення у 8,6 рази ($p < 0,05$ у всіх випадках). На 45 та 60 добу рівень глюкагону статистично значуще знижувався, але все ж перевищував контроль, відповідно, у 6,6 та 4,5 рази ($p < 0,05$ в обох випадках).

Аналізуючи взаємовідношення ІН та глюкагону можна підтвердити, що саме 30 доба була переломною для формування імунопатологічного етапу пошкодження ПЗ, після якого розвивалися незворотні патологічні процеси її руйнування. Ймовірно, відмічене зниження секреції глюкагону після 30 доби відображало початок розвитку склеротичного пошкодження панкреатичних островків Лангерганса.

Таким чином, у динаміці функціональної активності ІАПЗ після дії STZ були наявні три стадії. 1 стадія почалася після першого введення STZ та продовжувалася до 21 - 30 доби спостереження. У цей час повільно зростав рівень глюкози та зменшувалися рівні ІН та С-

пептиду. Вочевидь ці зміни були обумовлені некрозом бета-клітин ПЗ, та згідно за даним [Vega-Anaya et al., 2009] супроводжувалися розвитком неспецифічного запалення у тканинах ПЖ (інсулітом) з активацією макрофагальної реакції та лимфоїдною інфільтрацією. Паралельно мав місце розвиток аутоімунної реакції у відповідь на контакт імунної системи з антигенами ІАПЗ, що попадали у тканини ПЖ (процесінг антигенів макрофагами) та у кров (активація Т-лц) з некротизованих бета-клітин [Pietropaolo et al., 2012]. Однак, у результаті компенсаторної гіперплазії бета-клітин, яка запускається у відповідь на стійку гіперглікемію (рівень глюкози вищий за 6 ммоль/л) [Орловский, 2006], секреція проінсуліну у цей період знижувалася не катастрофічно, а повільно. Так у період від 30 до 45 доби мінімальні величини для ІН зіставили 20-25% від контрольних значень, а для С-пептиду 40-45%.

Згодом було відмічено розвиток 2 стадії STZ-діабету - стадії "плато", коли показники не змінювалися - це періоди спостереження 30 та 45 дб. На нашу думку, у даний час компенсаторна гіперплазія ІАПЗ врівноважувала процеси запальної аутоімунної деструкції, до яких у цей час відносять надмірну активацію вільно-радикального окиснення, відтворення пероксинітриду, тканинну гіпоксію та метаболічний ацидоз [Lebastchi, Herold, 2012], а також подальшу активацію аутоімунних процесів (макрофагальна реакція, антигенобумовлена лімфоцитотоксичність, появлення антитіл до антигенів ІАПЗ та до ІН) [Pietropaolo et al., 2012].

Розвиток 3 стадії, на нашу думку, був пов'язаний зі зривом компенсаторних механізмів ІАПЗ. Внаслідок імунологічних механізмів до некрозу бета-клітин приєднався їх апоптоз [Орловский, 2006]. Через масову загибель бета-клітин ще більшою мірою активувався процес запалення, що призводило до загибелі островків, їх фіброзу та склерозу. Це могло обумовлювати повторне зниження рівню ІН та С-пептиду на 60 добу. В подальшому тварини з некомпенсованим STZ-діабетом гинуть внаслідок розвитку діабетичної гіперглікемічної коми з вираженим кетоацидозом.

У таблиці 3 наведено співвідношення строків та патологічних процесів при розвитку експериментального STZ-діабету.

Таблиця 3. Співвідношення стадій, строків та патологічних процесів при розвитку STZ-діабету.

Стадії	Строки	Патологічні процеси
1	від першого введення до 21 доби	токсичний некроз бета-клітин та вогнищеве запалення у зоні островків Лангерганса; компенсаторна гіперплазія бета-клітин
2	від 21 до 45 доби	імунопатологічні процеси, аутоімунний інсуліт
3	від 45 до 60 доби	вторинний некроз та апоптоз бета-клітин, склероз та некроз островків Лангерганса

Узагальнюючи отримані та літературні дані, можна встановити, що безпосередньо після введення STZ і до 21-го дня спостереження розвивався токсичний некроз та вогнищеве запалення, що супроводжувалося активацією макрофагальної реакції, вираженою лімфоїдною інфільтрацією. Компенсаторна реакція проявлялася у вигляді проліферації бета-клітин. Поряд із цим запускалися імунопатологічні процеси - реакції клітинного та гуморального імунітету, які мали аутоімунну спрямованість по відношенню до антигенів ІАПЗ та ІН. У цей час повільно наростає рівень глюкози (гіперглікемія), прогресуюче зменшувалися рівні ІН, С-пептиду та підвищувався рівень глюкагону. На деякий час за рахунок

гіперплазії бета-клітин наступала рівновага процесів компенсації та пошкодження - це 2 стадія, коли рівні глюкози, ІН та С-пептиду лишалися не змінними (знаходилися на "плато"). В даному дослідженні ця стадія тривала з 21 до 45 доби спостереження. Надалі, за рахунок підключення вторинних імунопатологічних процесів формувалася аутоімунний інсуліт і з 60 доби мало місце вторинне підвищення глікемії та зниження рівня у крові ІН та С-пептиду. Порушення функції ПЗ підтверджувало зниження у крові глюкагону, що відображає склеротичні процеси у островках Лангерганса. Необхідно відмітити, що стадії переходили друг у друга не раптово, а повільно змінюючи одна одну.

Висновки та перспективність подальших розробок

Таким чином, в рамках даного дослідження при даній моделі встановлено стадії та основні часові орієнтири для оцінки перебігу експериментального STZ-діабету.

Це дозволяє у подальшому перейти до наступного етапу дослідження - оцінити характер та роль імунопатологічних процесів, а саме реакцій клітинного та гуморального імунітету.

Список літератури

- Орловский М.А. Экспериментальные исследования сахарного диабета 1 типа: причины меж- и внутривидовых различий резистентности к диабетогенным факторам [обзор литературы и собственных исследований] /М.А. Орловский //Журнал АМН Украины. - 2006. - Т.12, №2. - С.255-268.
- Lebastchi J. Immunologic and metabolic biomarkers of β -cell destruction in the diagnosis of type 1 diabetes / J.Lebastchi, K.C.Herold //Cold Spring Harb Perspect Med. - 2012. - Vol. 2(6):a007708. Doi: 10.1101/cshperspect.a007708.
- Novak J. Mechanism of regulation of autoimmunity by iNKT cells / J.Novak, A.Lehuen //Cytokine.- 2011.- Vol.53(3). - P.263-270. doi: 10.1016/j.cyto.2010.11.001. Epub 2010 Dec 23.
- Peakman M. CD8 and cytotoxic T cells in type 1 diabetes /M.Peakman //Novartis Found Symp. CD8 and cytotoxic T cells in type 1 diabetes.- 2008.- Vol.292.- P.113-119.
- Pietropaolo M. Humoral autoimmunity in type 1 diabetes: prediction, significance, and detection of distinct disease subtypes / M.Pietropaolo, R.Towns, G.S.Eisenbarth //Cold Spring Harb Perspect Med.- 2012.- Vol.2(10). pii: a012831. doi: 10.1101 //cshperspect.a012831.
- Vega-Anaya G.C. Mechanism of immunological injury in type 1 diabetes. [Article in Spanish] / G.C.Vega-Anaya, A.Hernández-Lomelí, H.L.Hernández-Montiel //Rev. Med. Inst. Mex. Seguro Soc.- 2009.- Vol.47(5).- P.515-522.

Зяблицев С.В., Ролинская Л.М.

МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО ДИАБЕТА

Резюме. Повреждения инсулярного аппарата поджелудочной железы после действия STZ (введение 25 мг/кг трехкратно с интервалом в 5 суток) протекали в три стадии. 1-я начиналась после первого введения STZ и продолжалась до 21-30-х суток наблюдения. В это время медленно рос уровень глюкозы и уменьшались уровни инсулина и С-пептида. Очевидно эти изменения были обусловлены некрозом бета-клеток поджелудочной железы, и сопровождалась развитием неспецифического воспаления (инсулитом). Однако, секреция инсулина в этот период снижалась не катастрофически, а медленно (на 30-45 сутки минимальные величины для инсулина составили 20-25% от контрольных значений, а для С-пептида 40-45%). Впоследствии было отмечено развитие 2 стадии STZ-диабета - стадии "плато", когда показатели не изменялись - это периоды наблюдения 30 и 45 суток. Развитие 3-й стадии было связано со срывом компенсаторных механизмов. Развивались аутоиммунные механизмы повреждения и массовая гибель бета-клеток, еще в большей степени активировался процесс воспаления, которое обуславливало повторное резкое снижение уровня инсулина и С-пептида на 60 сутки.

Ключевые слова: экспериментальный диабет, стрептозотоксин, инсулин, С-пептид, глюкагон.

Zyablitsev S.V., Rolinska L.M.

MECHANISMS OF EXPERIMENTAL STREPTOZOTOCIN DIABETES DEVELOPMENT

Summary. The damages of pancreas insulin apparatus after the STZ influence (injection 25 mg/kg triply with an interval in 5 days) were present three stages. 1th began after the first STZ injection and proceeded to 21st-30th days of observation. In this time the level of glucose increased slowly and insulin and C-peptide levels diminished. Obviously these changes were conditioned a pancreas beta-cells necrosis, and accompanied heterospecific inflammation development (insulite). However, the secretion of insulin in this period decreased not catastrophically, but slowly (on 30th-45th days minimum count for insulin was 20-25% from control count, and for a C-peptide 40-45%). Development of the 2nd-stage of STZ-diabetes - stages of "plateau" was afterwards marked, when indexes did not change are the periods of observation 30 and 45 days. Development of the 3rd stage was related to compensatory mechanisms

break off. Autoimmune damage mechanisms and beta-cells necrosis developed. The process of inflammation caused decreasing of Insulin and C-peptide levels on 60th days.

Key words: *experimental diabetes, Streptozotocin, Insulin, C-peptide, Glucagon.*

Стаття надійшла до редакції 25.04.2014 р.

Зяблицев Сергій Володимирович - професор кафедри патологічної фізіології ДонНМУ ім. М. Горького, завідувач відділом молекулярно-генетичних досліджень ЦНДЛ, доктор медичних наук; +38 062 295-03-26
Ролінська Лариса Михайлівна - лікар Донецької обласної клінічної лікарні.

© Колесник Ю.М., Абрамов А.В., Іваненко Т.В., Жулінський В.О.

УДК: 616-008.922.1"735"

Колесник Ю.М., Абрамов А.В., Іваненко Т.В., Жулінський В.О.

Запорізький державний медичний університет, кафедра патофізіології (м.Запоріжжя, просп. Маяковського, 26, 69035, Україна)

ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ БІЛКІВ VCL-2, P53 ТА ПРОЛІФЕРАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ В ПАНКРЕАТИЧНИХ ОСТРІВЦЯХ ПІД ВПЛИВОМ ПЕРЕРИВЧАСТОЇ ГІПОКСІЇ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТУ

Резюме. *В останній час зберігається цікавість до використання немедикаментозних методів профілактики і лікування хвороб. До них відноситься, в тому числі, і переривчаста гіпоксія як природний стимул неспецифічної резистентності організму людини. Одним із примітних, але мало вивчених ефектів дозованої гіпоксії, є її вплив на ендокринний апарат підшлункової залози. У статті проводиться аналіз експресії маркерів апоптоза і проліферативної активності бета-клітин у щурів після багатоденних гіпоксичних тренувань. Отримані результати свідчать про стимулюючу дію переривчастої гіпоксії на деякі молекулярні механізми бета-ендокриноцитів.*

Ключові слова: *переривчаста гіпоксія, апоптоз, проліферативна активність, бета-клітини підшлункової залози.*

Вступ

В останній час зберігається цікавість до використання немедикаментозних методів профілактики і лікування хвороб. До них можна віднести фітотерапію, лікувальне голодування, детоксикацію, магнітно-лазеротерапію, галотерапію в соляних печерах, ряд інших методів і підходів. У це коло вписується і переривчаста гіпоксія (ПГ) як природний стимул неспецифічної резистентності організму людини. На сьогоднішній день відомо, що наслідком дозованого впливу гіпоксичного фактора є не тільки розвиток типового патологічного процесу, скільки прояв саногенних ефектів [Холден, Пристли, 1935, Караш і др., 1988, Belaidi et al., 2009, Katayama et al., 2009]. На практиці дозувати дію гіпоксії можливо не тільки в умовах середньогір'я, але і шляхом моделювання високогірних умов у барокамерах. За допомогою такого роду технічних пристроїв, представляється можливим використання штучно створеної переривчастої гіпоксії.

Переривчаста гіпоксія - це немедикаментозний метод підвищення неспецифічної резистентності організму до пошкоджень чинників зовнішнього та внутрішнього середовища, який забезпечує розвиток в організмі дозованої за глибиною і часом гіпоксії. Досягнення ефекту гіпоксичного впливу визначається сумарною тривалістю сеансу, величиною і швидкістю зниження парціального тиску кисню у вдихуваному повітрі. Важливо, що при різкому падінні pO_2 , виникає гострий розвиток важких гіпоксичних станів, тоді як при повільному падінні pO_2 ефект переривчастої гіпоксії і компенсація гіпоксичного стану поширюються не тільки на мо-

мент сеансу гіпоксичних тренувань (у нашому випадку це 6 годин), але і в постгіпоксичний період, котрий у нашому випадку є періодом повної відсутності гіпоксичних впливів.

Висока ефективність ПГ обумовлена оптимальним поєднанням безпосередніх реакцій основних систем організму на дозовану гіпоксію з довготривалою адаптацією. Гіпоксичний вплив при цьому не виходить за рамки фізіологічного, а механізм реалізації підвищення енергозабезпечення організму має генетично обумовлений характер. ПГ не вступає в протиріччя з іншими способами профілактики і лікування, включаючи медикаментозні, хірургічні тощо. Більш того, має здатність нейтралізувати побічні ефекти останніх. Вивчення побічних ефектів показало, що в основі саногенної дії ПГ лежить стимуляція функціонального стану органів і систем, відповідальних за транспорт і утилізацію кисню в організмі, тобто серцево-судинну та дихальну системи, еритроцити. Поряд із цим ПГ активує функціональний стан нейроендокринної системи, формуючи необхідний гормональний базис розвитку адаптаційних процесів в організмі [Колесник, Абрамов, 1992, 1993, Колесник і др., 2004].

Одним із примітних, але мало вивчених ефектів ПГ є її вплив на ендокринний апарат підшлункової залози [Колесник, Абрамов, 1992, 1993, Абрамов, 1997, Колесник і др., 2010]. Раніше було показано, що ПГ призводить до збільшення питомої чисельності інсулін-позитивних клітин на 68% у співвідношенні з інтактними щурами [Іваненко, 2011, Іваненко, Кузьо, 2011, Абра-