

მიმართულება: კლინიკური და ტრანსლაციური მედიცინა

დოქტორანტი: სოფიკო კანდელაკი

სადოქტორო ნაშრომი მედიცინის აკადემიური დოქტორის ხარისხის მოსაპოვებლად

## ანდროგენების როლი შაქრიანი დიაბეტით გამოწვეული მეტაბოლური დარღვევების კორექციაში.

(ექსპერიმენტული კვლევა)

ხელმძღვანელები:

ნელი დიდებულიძე - ბიოლოგიურ მეცნიერებათა კანდიდატი.

დიმიტრი კორძაია - პროფ. მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი.

თბილისი, 2017

## სარჩევი

<b>I. შესავალი</b> .....	3
აქტუალობა .....	3
<i>შაქრიანი დიაბეტი, როგორც მსოფლიო ჯანდაცვის პრობლემა</i> .....	3
<i>შაქრიანი დიაბეტის მკურნალობის თავისებურებანი</i> .....	7
<i>ანდროგენები შაქრიანი დიაბეტის მკურნალობაში</i> .....	9
კვლევის ჰიპოთეზა .....	12
კვლევის მიზანი .....	12
კვლევის ამოცანები .....	12
მეცნიერული სიახლე .....	13
დასაცავად გამოსატანი დებულებები .....	14
პრაქტიკული რეკომენდაციები .....	14
<b>II. ლიტერატურის მიმოხილვა</b> .....	15
დიაბეტი, როგორც სამედიცინო, ბიოლოგიური, ჯანდაცვითი და სოციალურ-ეკონომიკური პრობლემა .....	15
შაქრიან დიაბეტთან და მის გართულებებთან დაკავშირებული სოციალურ-ეკონომიკური პრობლემები .....	21
ტესტოსტერონის როლი შაქრიანი დიაბეტის მართვაში .....	25
შაქრიანი დიაბეტის პათოგენეზისა და სანოგენეზის მექანიზმების თაობაზე .....	41
სასქესო სტეროიდული ჰორმონების რეცეპტორები და მათი გამოკვლევის მეთოდები .....	49
ანდროგენ-რეცეპტორების რაოდენობრივი შეფასებისათვის სამიზნე ორგანოს იმუნოჰისტოქიმიური კვლევა .....	52
<b>III. მასალა და მეთოდები</b> .....	55
<b>IV. შედეგები და განსჯა</b> .....	64
პანკრეასისა და ღვიძლის ქსოვილის მორფოლოგიური ცვლილებები ალოქსანური დიაბეტის დინამიკაში და მისი მეთილტრიენოლონით	

მკურნალობის შემდეგ .....	66
ბიოქიმიური და მოლეკულურ-ბიოლოგიური ცვლილებები ალოქსანური დიაბეტის დინამიკაში და მისი მეთილტრიენოლონით მკურნალობის შემდეგ .....	75
V. შეჯამება .....	88
VI. დასკვნები .....	96
დანართი .....	98
რეზიუმე ინგლისურ ენაზე .....	99
გამოყენებული ლიტერატურა .....	115

## შესავალი

### აქტუალურობა

#### შაქრიანი დიაბეტი, როგორც მსოფლიო ჯანდაცვის პრობლემა

შაქრიანი დიაბეტი ინსულინის აბსოლუტური დეფიციტით ან ინსულინის მიმართ რეზისტენტობით გამოწვეული ქრონიკული დაავადებაა, რომელიც ორგანიზმში მთელ რიგ მეტაბოლურ ძვრებს იწვევს. მისთვის დამახასიათებელია ქრონიკული ჰიპერგლიკემია, რომელსაც ნახშირწყლების, ცხიმის და პროტეინების დისმეტაბოლიზმი ერწყმის. დაავადება ადრეულ სტადიაზე, ხშირად, გლუკოზისადმი ტოლერანტობის დარღვევით ვლინდება, მოგვიანებით კი ვითარდება სხვადასხვა ორგანოს შეუქცევადი ქრონიკული დაზიანებები. შაქრიანი დიაბეტის მიმართ განსაკუთრებით მგძნობიარეა თირკმელი, თვალი, გული და სისხლძარღვები, ღვიძლი (Haligur et al., 2012). ამ ორგანოთა დაზიანება კი, თავის მხრივ, ისეთი გართულებების მიზეზი ხდება, როგორცაა, მაგალითად, გულის იშემიური დაავადება, თავის ტვინის ინსულტი, კიდურების განგრენა, სქესობრივი (ერექციული) დისფუნქცია და სხვა (Kaul et al., 2013; Peters et al., 2014; Peters et al., 2014; Maiorino et al., 2014; Bowling et al., 2015).

დღეისათვის განიხილავენ შაქრიანი დიაბეტის ორ ფორმას: „შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1“ და „შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2“. პირველი მათგანი ვითარდება β-უჯრედების აუტოიმუნური დაზიანების გამო, რაც, როგორც წესი, იწვევს ინსულინის აბსოლუტურ დეფიციტს; შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2 კი ხასიათდება β-უჯრედების მიერ ინსულინის სეკრეციის პროგრესული კლებით, რაც ხშირად ვითარდება ინსულინრეზისტენტობის ფონზე (Standards of Medical Care in Diabetes – 2017 – American Diabetes Association).

ბოლო ოთხი ათწლეულის მანძილზე შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის გავრცელებამ მკვეთრად იმატა (Steinbrook R., 2006). ნავარაუდებია, რომ 2030

წლისთვის დიაბეტით დაავადებულთა რაოდენობა 500 მილიონს გადააჭარბებს (Vetere et al., 2014).

შაქრიანი დიაბეტით ავადობის ტენდენცია განუხრელად იზრდება საქართველოშიც. ასე, მაგალითად, დაავადებათა კონტროლის ეროვნული ცენტრის მონაცემებით, 2014 წელს ინცინდენტობის მაჩვენებელი 1000 მოსახლეზე წინა წელთან შედარებით 1,4-ჯერ იყო მომატებული და 586,5-ს შეადგენდა.

მიჩნეულია, რომ შაქრიანი დიაბეტის სიხშირის მკვეთრი მატება არის ბოლო 5 ათწლეულის განმავლობაში ჭარბი წონისა და სიმსუქნის მკვეთრი მატების პირდაპირი შედეგი (Parikh et al., 2007). ამერიკის შეერთებულ შტატებში შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2 აღენიშნება 65 წლის ზემოთ მამაკაცთა ერთ მესამედს (Cowie et al., 2010). შაქრიანი დიაბეტის გავრცელების სიხშირე ამერიკასა და ევროპის ქვეყნებში მეტ-ნაკლებად თანაბარია და შეადგენს 6,6-6,9%-ს (Shaw et al., 2010). შემდეგი 20 წლის განმავლობაში, მიუხედავად არსებული და დაგეგმილი „ანტიდიაბეტური“ პროგრამებისა, ამ ქვეყნებში ნავარაუდებია შაქრიანი დიაბეტის შემთხვევათა 20%-ით მატება; განვითარებად ქვეყნებში კი შაქრიანი დიაბეტის შემთხვევათა მატებას 69%-ით ვარაუდობენ (Shaw et al., 2010).

მსოფლიოს სხვადასხვა ქვეყნის პოპულაციებში შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის პროცენტული ზრდა შესაბამისად იწვევს როგორც თვით ამ პათოლოგიის, ასევე ამ პათოლოგიით გამოწვეული გართულებების მკურნალობის ხარჯების ზრდასაც. ამიტომ დღეისათვის შაქრიანი დიაბეტი განიხილება არა როგორც მხოლოდ სამედიცინო-ბიოლოგიური, არამედ როგორც სოციალურ-ეკონომიკური პრობლემაც (Standards of Medical Care in Diabetes – 2017 –American Diabetes Association).

მიუხედავად იმისა, რომ შაქრიანი დიაბეტი წარმოადგენს მსოფლიოში ავადობისა და სიკვდილობის ერთ-ერთ მთავარ მიზეზს, მიჩნეულია, რომ მისი

„ტვირთის“ მატება არ არის თანხვედნილი მისი მკურნალობისადმი მიმართული ადეკვატური (ტოლფარდი) ძალისხმევით (Vetere et al., 2014).

შაქრიანი დიაბეტი მჭიდრო კავშირშია მეტაბოლურ სინდრომთან. შემცირებული ფიზიკური აქტივობა და არასწორი (დაუბალანსებელი) კვება სიმსუქნის ხელშემწყობი ფაქტორია. მომატებული ცხიმი, განსაკუთრებით კი ვისცერალური ცხიმის გაზრდილი მასა, მიჩნეულია შაქრიანი დიაბეტის განვითარების მნიშვნელოვან რისკ-ფაქტორად. სიმსუქნე ეპიდემიასავით ვრცელდება მთელს მსოფლიოში. ამერიკის შეერთებულ შტატებში მამაკაცების 63% და ქალების 55% ჭარბწონიანად ითვლება. ჭარბწონიანთა 22%-ის სხეულის მასის ინდექსი 30 კგ/მ<sup>2</sup>-ზე მეტია, ამასთანავე, და რაც განსაკუთრებით საგანგაშოა, ხასიათდება სწრაფი მატების ტენდენციით (Ogden et al., 2006).

შემაშფოთებელია ის ფაქტი, რომ მეტაბოლური სინდრომი, რომლის ძირითად კომპონენტს ინსულინრეზისტენტობა წარმოადგენს, უკვე აღენიშნება მოზარდების 4,5%-ს (Ford et al., 2008).

ჭარბი წონა, შაქრიანი დიაბეტის გარდა, იწვევს და/ან ხელს უწყობს ისეთი დაავადებების განვითარებას, როგორცაა არტერიული ჰიპერტენზია, გულ-სისხლძარღვთა დაავადება, ნაღვლის ბუშტის დაზიანება, ავთვისებიანი სიმსივნეები, საყრდენ-მამოძრავებელი სისტემის დაავადება (ართრიტი). ზრდასრულ ჭარბწონიანთა 80%-ს აღენიშნება ჭარბ წონასთან დაკავშირებული ერთი დაავადება მაინც, ხოლო 40%-ს ორი ან მეტი დაავადება (Janssen et al., 2007).

შაქრიანი დიაბეტის განვითარება ასევე კავშირშია სასქესო და გონადოტროპული ჰორმონების პროდუქციასა და მეტაბოლიზმთან, აგრეთვე იმ სამკურნალწამლო საშუალებებთან, რომლებიც აძლიერებენ ან თრგუნავენ სასქესო ჰორმონების მოქმედებას. ამის გათვალისწინება აუცილებელია იმ სამედიცინო პერსონალისთვის, რომელიც ნიშნავს ჰორმონების გამოყენებას კონტრაცეპციისთვის ან ჩანაცვლებითი თერაპიის მიზნით (Mauvais-Jarvis F., 2011).

შაქრიანი დიაბეტის განვითარების დამატებითი რისკ-ფაქტორია ხანდაზმული ასაკიც (Chew et al., 2013).

მსოფლიოში მატულობს შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1-ის სიხშირეც (Dabelea et al., 2014; Atkinson et al., 2014). ამის ერთ-ერთ მიზეზად, შეიძლება მიჩნეული იყოს გარემო ტოქსინები (მძიმე მეტალები, სხვადასხვა წარმოებასთან დაკავშირებული ქიმიური ნივთიერებები), ასევე, აუტოიმუნური პათოლოგიები, წამლისმიერი გართულებები (Bodin et al., 2015; Rewers et al., 2016; Standards of Medical Care in Diabetes – 2017 –American Diabetes Association), რომლებიც იწვევს პანკრეასის კუნძულების  $\beta$ -უჯრედების დაზიანებას (ნეკროზს და/ან აპოპტოზს) და შესაბამისად, ინსულინის დეფიციტისა და ჰიპერგლიკემიის განვითარებას (Rewers et al., 2016). აღნიშნული მიზეზის გამო ბევრი მკვლევარი აწარმოებს დიაბეტი ტიპი 1-ის დროს  $\beta$ -უჯრედების დაცვისა და/ან რეგენერაციის შესაძლებლობების კვლევას (Karaca et al., 2010; Sun et al., 2012; Vetere and et al., 2014). ამასთანავე, გასათვალისწინებელია, რომ დიაბეტი ტიპი 1-საც ახლავს სხვადასხვა ხარისხით გამოხატული საერთო დისმეტაბოლიზმი, რაც განაპირობებს სხვადასხვა სისტემებში და ორგანოებში პათოლოგიური ცვლილებების განვითარებას და საერთო კლინიკური სურათის დამძიმებას (Forbes et al., 2013; Duran-Salgado et al., 2014; Boer et al., 2014; Simo et al., 2014; Atkinson et al., 2015).

რადგანაც პანკრეასის  $\beta$ -უჯრედები წარმოადგენს ორივე ტიპის შაქრიანი დიაბეტის პათოგენეზის ცენტრალურ კომპონენტს, გლუკოზის ჰომეოსტაზის კორექცია  $\beta$ -უჯრედების დაცვისა და ფუნქციის შენარჩუნების (გაუმჯობესების) გზით დიაბეტის მართვის ოპტიმიზაციისაკენ მიმართული კვლევების სტრატეგიულ ამოცანად მიიჩნევა (Vetere et al., 2014).

პანკრეასის  $\beta$ -უჯრედების დაზიანების პრევენციისა და რეგენერაციის შესაძლებლობების, ისევე, როგორც შაქრიანი დიაბეტის რისკ-ფაქტორების

პრევენციისა და კორექციის შესაძლებლობების, მაქსიმალურად გამოვლენა მნიშვნელოვანია შაქრიანი დიაბეტის წინააღმდეგ ბრძოლის კომპლექსური, ინტეგრირებული სტრატეგიის შემუშავებისათვის, რაც ამ დაავადების სიხშირიდან და სიმძიმიდან გამომდინარე, მთელი მსოფლიოსათვის ფრიად აქტუალური პრობლემაა.

### შაქრიანი დიაბეტის მკურნალობის თავისებურებანი

კლინიკური და ექსპერიმენტული შაქრიანი დიაბეტის კვლევის შედეგების გაანალიზების საფუძველზე, დღეს შაქრიანი დიაბეტის სამკურნალოდ გამოყენებული მიდგომები შეიძლება 4 ძირითად ჯგუფად დაიყოს:

ა) ჩანაცვლებითი თერაპია, რაც გულისხმობს ინსულინის დეფიციტის შევსებას ამ ჰორმონის ან მისი ანალოგების დამატებით. ინიშნება როგორც შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1, ისე შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის დროს (Vetere et al., 2014; Bocci et al., 2014; Approaches to glycemic treatment-2015-ADA; Standards of Medical Care in Diabetes-2017-American Diabetes Association).

ბ) აღდგენითი თერაპია, რაც გულისხმობს დაზიანებული  $\beta$ -უჯრედების რეგენერაციის ხელშეწყობას სხვადასხვა სამკურნალწამლო საშუალებებით და ინგრედიენტებით ან ქირურგიული ზემოქმედებით.

აღსანიშნავია, რომ ამ მიმართულებით კვლევები ძირითადად ექსპერიმენტულია ან პრეკლინიკურ სტადიაზე იმყოფება და განსხვავებული წარმატებით ხასიათდება სხვადასხვა ექსპერიმენტულ მოდელებში. ასე მაგალითად,  $\beta$ -უჯრედების რეგენერაცია უფრო წარმატებით ხორციელდება ვირთაგვებში, ვიდრე პრიმატებში. ვირთაგვებში პანკრეასის კუდის ნაწილის რეზექციის შემდეგ ნაჩვენებია პანკრეასის თავსა და სხეულში პანკრეასის კუნძულების გაჩენა; მსგავსი მოდელის მიღება პრიმატებში ვერ ხერხდება. უარყოფით დასკვნას იძლევა აგრეთვე იმ ადამიანების (მათ შორის ბავშვების)



გვამებიდან აღებული პანკრეასის ჰისტოლოგიური გამოკვლევაც, რომელთაც ამა თუ იმ მიზეზით (სპლენექტომიის დროს) ჩატარებული ჰქონდათ პანკრეასის კუდის რეზექცია (Bjoern et al., 2008; Saisho et al., 2011). განსხვავებულ მონაცემებს იძლევა ზოგიერთი კვლევა, რომელიც ადასტურებს სხვადასხვა ნივთიერებებით (მათ შორის, მცენარეული ექსტრაქტებით) ზემოქმედების პირობებში პანკრეასის β-უჯრედების დაზიანების პროფილაქტიკის ან მათი რეგენერაციის შესაძლებლობას შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1-ის დროს (Karaca et al., 2010; Chong-De Sun et al., 2012; Vetere et al., 2014).

გ) ბიოტექნოლოგიური მიდგომები, რაც გულისხმობს β-უჯრედების (პანკრეასის კუნძულების) იმპლანტაციას ინტრაპერიტონეული და/ან ინტრაპორტული ინიექციით, ან წვრილი ნაწლავის ან ვენის იზოლირებული სეგმენტით შექმნილ ბიოკონტეინერებში ტრანსპლანტაციას (Kakabadze et al., 2011; Kakabadze et al., 2012; Berney et al., 2015). ასევე აქტიურად მუშავდება β-უჯრედების მიღება პანკრეასის აცინუსის ღეროვანი უჯრედებისგან, ასევე ნაღვლის სადინარების პროგენიტორებისაგან, სხვადასხვა ფაქტორების დამატებით, როგორც in vitro ასევე in vivo მოდელებში (Ramiya et al., 2000; Rajagopal et al., 2003; Cardinale et al., 2015).

დ) მეოთხე მიმართულება, რომელსაც პირობითად შეიძლება ეწოდოს სინერგიზმული თერაპია, მდგომარეობს შემდეგში: შაქრიანი დიაბეტის დროს ინიშნება სამკურნალწამლო საშუალებები და/ან ინგრედიენტები, რომლებიც ახდენს ინსულინრეზისტენტობის დაქვეითებას და გლუკოზის მეტაბოლიზმის კორექციას ინსულინური გზისაგან დამოუკიდებელი მექანიზმებით. ასე, მაგალითად, ნაჩვენებია ბიგუანიდების (Rojas et al., 2013), სულფანილზარდოვანას (Turner et al., 1999), თიაზოლიდინდიონის (Soccio et al., 2014) დადებითი ეფექტი შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის დროს, ასევე ინსულინის ანალოგების (Atkinson et al., 2014; Stephens et al., 2015), პრამლინტიდის (Vetere et al., 2014), პლაფერონის

(Latsabidze et al., 2011) დადებითი ეფექტი შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1-ის პირობებში.

სინერგიზმული თერაპიისათვის აქტიურად განიხილება მამაკაცის სასქესო ჰორმონების - ანდროგენების - გამოყენება, რომელთა დადებითი ზემოქმედებაც შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის დროს ინტენსიურად შეისწავლება (Kalyani et al., 2007; Stanworth et al., 2009; Grossmann et al., 2010; Jones et al., 2010; Muraleedharan et al., 2010; Corona et al., 2011; Gianatti et al., 2014).

### ანდროგენები შაქრიანი დიაბეტის მკურნალობაში

მამაკაცებში აღინიშნება უკუკავშირი ტესტოსტერონის დონესა და შაქრიანი დიაბეტის სიმძიმეს შორის (Saad et al., 2009). შაქრიანი დიაბეტით დაავადებულ მამაკაცებს სისხლში აღენიშნებათ ტესტოსტერონის კონცენტრაციის უფრო დაბალი მაჩვენებელი, იმ მამაკაცებთან შედარებით, რომელთაც არ აქვთ შაქრიანი დიაბეტი (Stanworth R.D. and Jones T.H., 2009; Stanworth, Kapoor, et al., 2009); ასევე, დადასტურებულია უკუკავშირი ტესტოსტერონსა და გლიკოზირებულ ჰემოგლობინს შორის (Stamler et al., 1976).

ჯვარედინი (გამჭოლი) კვლევების მეტა-ანალიზმა აჩვენა, რომ ტესტოსტერონის დონე შესამჩნევად დაბალია შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის მქონე მამაკაცებში; სისხლში ტესტოსტერონის დაბალი კონცენტრაციის მქონე მამაკაცებში კი შაქრიანი დიაბეტის განვითარების ალბათობა მომატებულია (Chubb et al., 2008); მეტიც, ზოგიერთი კვლევა ადასტურებს, რომ ტესტოსტერონის დაბალი დონე მამაკაცებში შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის განვითარების წინაპირობაც კი შეიძლება იყოს (Rebuffescribe et al., 1991); და პირიქით, ტესტოსტერონის კონცენტრაციის მაღალი მაჩვენებლის მქონე მამაკაცებში შაქრიანი დიაბეტის განვითარების რისკი 42%-ით უფრო დაბალია

ტესტოსტერონის კონცენტრაციის დაბალი მაჩვენებლის მქონე მამაკაცებთან შედარებით (Ding et al., 2006).

არსებობს დამაჯერებელი ეპიდემიოლოგიური მტკიცებულებები, რომლის თანახმადაც ხანდაზმულ ასაკში ტესტოსტერონის დაბალი დონე წარმოადგენს დამოუკიდებელ რისკ-ფაქტორს როგორც მეტაბოლური სინდრომისა და შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის (Stanworth et al., 2009; Traish et al., 2009,II), ისე მათი გართულებების - ინსულტისა და გარდამავალი იშემიის განვითარებისათვისაც (Yeap, Hyde, et al., 2009).

MMAS - The Massachusetts Male Aging Study (Stellato et al., 2000) და MRFIT- Multiple Risk Factor Intervention Trial (Haffner et al., 1996) კვლევებმა აჩვენა, რომ როგორც საერთო ტესტოსტერონის დაბალი მაჩვენებელი, ისე სექს-ჰორმონ შემაკავშირებელი გლობულინის (Sex hormone binding globulin - SHBG) დაბალი მაჩვენებელი (რომელიც ასოცირდება ინსულინრეზისტენტობასთან), შუა ხნის მამაკაცებში წარმოადგენს დიაბეტის განვითარების დამოუკიდებელ რისკ-ფაქტორს.

კლინიკური კვლევების ერთი ჯგუფი ადასტურებს, რომ შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის დროს ტესტოსტერონის დანიშვნა ამცირებს ინსულინრეზისტენტობას, სისხლში გლუკოზის შემცველობას, ლიპიდების დისმეტაბოლიზმს და დადებითად მოქმედებს შაქრიანი დიაბეტის კლინიკურ სურათზე (Boyanov et al., 2003; Heufelder et al., 2009; Jones et al., 2010; Gianatti et al., 2014). თუმცა, სხვა კვლევები მიუთითებს, რომ სტატისტიკურად სარწმუნო განსხვავება მეტაბოლური სინდრომისა და შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის განვითარებაში არ დასტურდება ტესტოსტერონით ნამკურნალევ და მის გარეშე პაციენტთა ჯგუფებში (Chen et al., 2006). ეს განსხვავებული მონაცემები მიუთითებს ამ მიმართულებით გამოკვლევების გაგრძელების აუცილებლობას.

აღსანიშნავია, რომ კლინიკური კვლევების აბსოლუტური უმრავლესობა სწავლობს ანდროგენების ეფექტს შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის პირობებში. ამასთანავე, შაქრიანი დიაბეტის ექსპერიმენტულ მოდელებზე (ალოქსანით, სტრეპტოზოტოცინით გამოწვეული შაქრიანი დიაბეტი თეთრ ვირთაგვებში) ჩატარებული კვლევები ასევე მიუთითებს ანდროგენების დადებით ეფექტს (Gibb et al., 2014; Didebulidze et al., 2015). იმის გათვალისწინებით, რომ ექსპერიმენტული შაქრიანი დიაბეტი მეტად შეესაბამება შაქრიან დიაბეტ ტიპ 1-ს, შეიძლება დავასკვნათ, რომ მამაკაცის სასქესო ჰორმონი დადებითად მოქმედებს არა მხოლოდ შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ზე, არამედ, შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1-ზეც.

გამოჩნდა პირველი დადებითი კლინიკური დაკვირვებებიც, რომლებიც მიუთითებს ანდროგენების დადებით ეფექტზე შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1-ის დროს და ადასტურებს ამ მიმართულებით შემდგომი კვლევების მიზანშეწონილობას (Saad et al., 2015).

იმ კვლევების ანალიზი, რომლებიც შეისწავლის ანდროგენების მოქმედების მექანიზმებს ორივე ტიპის შაქრიანი დიაბეტის დროს, იძლევა საფუძველს ვივარაუდოთ, რომ ანდროგენების დამატება შეიძლება სხვადასხვა გზით ახდენდეს გავლენას შაქრიანი დიაბეტის დროს წარმოშობილ სხვადასხვა დარღვევაზე. ერთ-ერთ სავარაუდო მექანიზმად განიხილება ანდროგენების ზემოქმედება ანდროგენ-რეცეპტორებზე, რომელთა არა მარტო არსებობაა დადასტურებული სხვადასხვა ორგანოთა უჯრედებში (გული, ღვიძლი, პანკრეასი, პროსტატა, ძუძუ და ა.შ.), არამედ დადასტურებულია მათი აქტიური მონაწილეობა სხვადასხვა დაავადების, მათ შორის სიმსივნეების და დიაბეტის პათო- და სანოგენეზში (Chang et al., 2014; Morelli et al., 2014; Didebulidze et al., 2015; Shen M and Shi H., 2015; Harada et al., 2015; Navarro et al., 2016). აქედან გამომდინარე, შაქრიანი დიაბეტის სხვადასხვა ფორმების კომპლექსურ თერაპიაში ანდროგენების გამოყენების კვლევა აქტუალურ სამეცნიერო და პრაქტიკულ

საკითხს წარადგენს, რომლის მიზანშეწონილობის განსაზღვრაც საბოლოო ვერდიქტს ელოდება.

### **კვლევის ჰიპოთეზა**

ყოველივე ზემოაღნიშნულის გათვალისწინებით ჩვენი კვლევის ჰიპოთეზა, შესაძლებელია, შემდეგნაირად იქნას ფორმირებული: მამაკაცის სასქესო ჰორმონი დადებითად მოქმედებს არა მხოლოდ შაქრიან დიაბეტ ტიპ 2-ზე, არამედ, შაქრიან დიაბეტ ტიპ 1-ზეც. ეს მოქმედება მულტიორგანულია და ხორციელდება განსხვავებული მექანიზმებით, მათ შორის ორგანოთა ანდროგენ-რეცეპტორების მონაწილეობით.

### **კვლევის მიზანი**

შაქრიანი დიაბეტის ექსპერიმენტულ მოდელში გამოვლენილ მეტაბოლურ დარღვევებზე ანდროგენების ზემოქმედების ეფექტის გამოკვლევა და ამ ზემოქმედების მექანიზმების განსაზღვრა.

### **კვლევის ამოცანები**

აღნიშნული მიზნის მიღწევისათვის ოპტიმალურად მივიჩნიეთ კვლევის ქვემოთე ამოცანების გადაწყვეტა:

1. Wistar - ის ჯიშის თეთრ ვირთაგვებზე შაქრიანი დიაბეტის ექსპერიმენტული მოდელის დაყენება და მისი ტესტოსტერონით მკურნალობის შემუშავება.
2. პანკრეასის და ღვიძლის ჰისტოლოგიური, იმუნოჰისტოქიმიური და მორფომეტრიული გამოკვლევა ექსპერიმენტული შაქრიანი დიაბეტის სხვადასხვა ვადაზე და მისი ტესტოსტერონით მკურნალობის შემდეგ.
3. ინსულინის და გლუკოზის, ასევე სტეროიდული, სასქესო და სომატოტროპული ჰორმონების კონცენტრაციების განსაზღვრა ექსპერიმენტული შაქრიანი დიაბეტისა და მისი ტესტოსტერონით მკურნალობის შემდეგ სხვადასხვა ვადაზე.

4. ღვიძლში ანდროგენ-რეცეპტორების ექსპრესიის და დნმ-ისა და რნმ-ის სინთეზის ინტენსივობის გამოკვლევა ექსპერიმენტული შაქრიანი დიაბეტის სხვადასხვა ვადაზე და მისი ტესტოსტერონით მკურნალობის შემდეგ.

5. მიღებული შედეგების ანალიზი და სტატისტიკური დამუშავება.

### მეცნიერული სიახლე

ალოქსანის ინიექციის შედეგად  $\beta$ -უჯრედების დაზიანების ფონზე განვითარებული ექსპერიმენტული შაქრიანი დიაბეტის პირობებში იცვლება როგორც გლუკოზის, ისე სასქესო, სომატოტროპული და კორტიკოსტეროიდული ჰორმონების მეტაბოლიზმი; ცვლილებები ასევე, ვითარდება გლუკოზის ინსულინდამოუკიდებელი უტილიზაციის შესაძლებლობის მქონე ორგანოებში (ღვიძლში), რაც ადასტურებს ზოგადი „მეტაბოლური სტრესის განვითარებას“.

სინთეზური ტესტოსტერონის -  $H^3$ -მეთილტრიენოლონის - ინიექციები, ერთი მხრივ, ამცირებს ინსულინრეზისტენტობას, ხოლო მეორე მხრივ, ახდენს ზემოთ აღნიშნული ჰორმონების კონცენტრაციის ნორმალიზაციას, ასევე ღვიძლის უჯრედებში ნუკლეინის მჟავების სინთეზის აღდგენას, რაც, საბოლოოდ, აისახება ჰიპერგლიკემიის და მისით აღძრული დისმეტაბოლიზმის კორექციით.

იმის გათვალისწინებით, რომ ღვიძლის უჯრედებში დნმ-ის და რნმ-ის სინთეზის გაძლიერება ხდება ამ უჯრედების აქტიური ანდროგენ-რეცეპტორების რაოდენობის მატების პარალელურად, უნდა ვიფიქროთ, რომ ალოქსანური შაქრიანი დიაბეტით გამოწვეული დისმეტაბოლიზმის კორექციას ტესტოსტერონი ახორციელებს ანდროგენ-რეცეპტორული მექანიზმით.

ტესტოსტერონის ინიექციების შედეგად ჰეპატოციტებში დნმ-ისა და რნმ-ის სინთეზის გაძლიერება აისახება არა ღვიძლის უჯრედების მიტოზების, არამედ პლოიდობის მატებით.

### დასაცავად გამოსატანი დებულებები

ნაშრომში დასაცავად არის გამოტანილი „კვლევის ჰიპოთეზაში“ გაცხადებული დებულება, კემოდ: მამაკაცის სასქესო ჰორმონი - ტესტოსტერონი - დადებითად მოქმედებს არა მხოლოდ შაქრიან დიაბეტ ტიპ 2-ზე, არამედ, შაქრიან დიაბეტ ტიპ 1-ზეც. ეს მოქმედება მულტიორგანულია; ღვიძლში ეს შესაძლებელია ხორციელდებოდეს ანდროგენ-რეცეპტორების მონაწილეობით.

### პრაქტიკული რეკომენდაციები

მნიშვნელოვანია გაგრძელდეს კვლევა არა მხოლოდ შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის, არამედ, შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1-ის კომპლექსურ თერაპიაში ანდროგენების ჩართვის ეფექტის სრულფასოვანი შეფასებისა და მიზანშეწონილობის დადგენის, ასევე, მათი დოზირებისა და დანიშვნის ალგორითმის დაზუსტებისათვის.

მიზანშეწონილია გაგრძელდეს ანდროგენ-რეცეპტორებზე დაფუძნებული იმ მექანიზმების შემდგომი შესწავლა, რომლითაც ეგზოგენური ანდროგენების დამატება იწვევს ჰიპერგლიკემიისა და ჰიპოინსულინემიის პირობებში დარღვეული უჯრედული მეტაბოლიზმის (როგორც ექსტრანუკლეარული, ისე ინტრანუკლეარული) კორექციას.



## II თავი

### ლიტერატურის მიმოხილვა

1. შაქრიანი დიაბეტი, როგორც სამედიცინო, ბიოლოგიური, ჯანდაცვითი და სოციალურ-ეკონომიკური პრობლემა.

შაქრიანი დიაბეტი ქრონიკული მდგომარეობაა, რომელიც წარმოიშვება მაშინ, როცა პანკრეასი ვერ გამოიმუშავებს საკმარის ინსულინს (შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1), ან როცა ორგანიზმს არ შეუძლია გამომუშავებული ინსულინის ეფექტური გამოყენება (შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2). შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1-ის მიზეზი დღემდე დადგენილი არ არის; შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის განვითარების ძირითად მაპროვოცირებელ და ხელშემწყობ ფაქტორებად მიჩნეულია ჭარბი წონა (სიმსუქნე) და ცხიმისა და კალორიების მაღალი შემცველობის საკვები (Atkinson et al., 2014; American Diabetes Association, 2014; Zaccardi et al., 2015); დაავადებათა კონტროლისა და საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის ეროვნული ცენტრის ეპიდემიოლოგიური ბიულეტენი - დკეც 2015; Chatterjee et al., 2017).

შაქრიანი დიაბეტი ერთ-ერთი ყველაზე გავრცელებული არაგადამდები დაავადებაა, რომელმაც ეპიდემიის სახე მიიღო მთელი მსოფლიოსათვის. ის წარმოადგენს სიკვდილიანობის მეოთხე-მეხუთე მიზეზს ბევრ განვითარებულ ქვეყანაში (დკეც, 2015). შაქრიანი დიაბეტი 21-ე საუკუნეში ჯანმრთელობის დაცვის ერთ-ერთ მთავარ პრობლემად განიხილება (Forouhi N.G. and Wareham N.J., 2014).

2014 წელს არაგადამდებ დაავადებათა გლობალური ანგარიშის (Global status report on NCD) მიხედვით, 9 ძირითად სამიზნეს შორის მეშვიდეა შაქრიანი დიაბეტისა და სიმსუქნით დაავადების მატების შეჩერება. მსოფლიოში შაქრიანი დიაბეტის გავრცელება 9%-ს აღწევს. დაავადებულთაგან 20% ცხოვრობს



განვითარებულ ქვეყნებში, ხოლო 80% - დაბალ და, განსაკუთრებით, საშუალო შემოსავლის მქონე მოსახლეობის ქვეყნებში. თუ შაქრიანი დიაბეტის შემთხვევათა ზრდის დღევანდელი ტენდენცია შენარჩუნდა, 2035 წლისთვის დაახლოებით 592 მლნ ადამიანი, ანუ მოზრდილი მოსახლეობის თითქმის მეათედი შაქრიანი დიაბეტით იქნება დაავადებული (WHO-Global report on diabetes 2016).

დღეისათვის განვითარებულ ქვეყნებში შაქრიანი დიაბეტით დაავადებულთა შორის შაქრიან დიაბეტ ტიპ 1-ზე 10-15% მოდის (და ამ პაციენტების რიცხვი უმნიშვნელოდ იცვლება), ხოლო შაქრიან დიაბეტ ტიპ 2-ზე - 85-90% (ამ პაციენტთა რიცხვი მუდმივად იზრდება), რაც დაკავშირებულია არასწორ კვებასა და სიმსუქნესთან (Dabelea et al., 2014). დიაბეტის სიხშირე, გარკვეულწილად, ასევე, დამოკიდებულია გეოგრაფიულ და ეთნიკურ ფაქტორებზე. ჩრდილოეთის ქვეყნებში შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1 სამხრეთის ქვეყნებთან შედარებით მეტადაა გავრცელებული. მაგალითად, ფინეთში ის 30-40-ჯერ ხშირია (Forssas et al., 2016), ვიდრე კორეასა (Ha et al., 2015) და მექსიკაში (Rull et al., 2005; Aguilar-Salinas et al., 2017). დაბალი და საშუალო შემოსავლის ქვეყნებში შაქრიანი დიაბეტით დაავადებულ ადამიანთა რიცხვი 181 მლნ-ს შეადგენს, რომელთაგან 122 მლნ სოფლად ცხოვრობს. 2035 წლისთვის აღნიშნული მაჩვენებლები მიაღწევს 347 მილიონს ქალაქად და 145 მილიონს სოფლად (National Center for Disease Control and Public Health - NCDC 2015).

საინტერესოა შაქრიანი დიაბეტით დაავადების სიხშირის მონაცემები ასაკობრივ ასპექტში. შაქრიანი დიაბეტის ნახევარზე მეტი 40-დან 59 წლამდე ასაკობრივ ჯგუფში ვლინდება. ექსპერტთა ვარაუდით, შაქრიანი დიაბეტით დაავადებულთა უმრავლესობა მომავალშიც კონცენტრირებული იქნება ამ ასაკობრივ კატეგორიაში; ნავარაუდევია, რომ 2035 წლისთვის შაქრიანი დიაბეტით დაავადებულ 40-59 წლის ადამიანთა რაოდენობა 264 მლნ-ს მიაღწევს. ამასთანავე,

ამ ადამიანთა 86%-ზე მეტი იცხოვრებს დაბალი და საშუალო შემოსავლის ქვეყნებში (Kautzky-Willer et al., 2016; WHO -Global report on diabetes 2016).

დადასტურებულია, რომ შაქრიანი დიაბეტით დაავადებული 180 000 000-ზე მეტი ადამიანი 20 წელზე ნაკლები ასაკისაა. National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES)-ის მონაცემების მიხედვით, 1999-დან 2007 წლამდე ამერიკის 12-დან 19 წლამდე მოზარდებში აღინიშნა პრედიამეტის და შაქრიანი დიაბეტის მომატება 9%-დან 23 %-მდე (Copeland et al., 2011; Pettitt et al., 2014). ამასთანავე, ყოველწლიურად, მსოფლიოში შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1-ის დაახლოებით 15 000 ახალი შემთხვევა ვლინდება სწორედ 20 წლამდე ასაკის პირებში (Patterson et al., 2014).

სხვა კვლევები მიუთითებს, რომ შაქრიანი დიაბეტით ყოველწლიურად ავადდება 15 წლამდე ასაკის 79100 ბავშვი (Reinehr T., 2013; Dabelea et al., 2014).

2010 წლის მონაცემებით შაქრიანი დიაბეტი აღენიშნებოდა 65 წლის და მეტი ასაკის მოსახლეობის 26,9 %-ს, ხოლო პრედიამეტი 50 % -ს (Cowie et al., 2011).

NHANES-ს (National Health and Nutrition Examination Survey) კვლევების მიხედვით 2005-2050 წლებში შაქრიანი დიაბეტით დაავადებულთა რიცხვი გაორმაგდება (5,6%-12%) (Narayan et al., 2006).

რაც შეეხება შაქრიანი დიაბეტის გავრცელებას გენდერული ნიშნის მიხედვით, დღეისათვის, მსოფლიოში შაქრიანი დიაბეტით დაავადებული მამაკაცების რიცხვი 7%-ით მეტია, ვიდრე ქალების. ვარაუდობენ, რომ ეს სხვაობა შენარჩუნებული იქნება 2035 წლისთვისაც (Guariguata et al., 2014). გენდერული დისბალანსი შაქრიანი დიაბეტის განვითარების დროს დადასტურებულია მრავალი ეპიდემიოლოგიური კვლევით (Fitzgerald et al., 1995; Grant et al, 2009; Siddiqui et al., 2013), რომლებიც ადასტურებს, რომ მამაკაცებს აქვთ უფრო მაღალი

პრევალენტობა და შაქრიანი დიაბეტის განვითარების მაღალი რისკი (Aregbesola et al., 2016; Kautzky-Willer, et al., 2016).

ამავე ტენდენციას ადასტურებს (თუმცა სხვა ციფრებს მიუთითებს) Bogalusa Heart Study კვლევა, რომლის მიხედვითაც 20 წელზე მეტი ასაკის მამაკაცებში შაქრიანი დიაბეტის გავრცელება უფრო ხშირია (11,8%) ვიდრე ამავე ასაკის ქალებში (10,8%) (Wild et al., 2004).

განსაკუთრებით მაღალია შაქრიანი დიაბეტის გავრცელება ხმელთაშუა ზღვის ქვეყნების აღმოსავლეთ რეგიონებში (14%) და შედარებით დაბალია წყნარი ოკეანის, ევროპულ და დასავლეთ რეგიონებში (8% - 9%) (Guariguata et al., 2014).

აფრიკის ქვეყნებში, სადაც არ არის ან ნაკლებია რესურსები შაქრიანი დიაბეტის მკურნალობისთვის და/ან ამ დაავადების მკურნალობა (მართვა) არ წარმოადგენს პრიორიტეტს, შაქრიანი დიაბეტის არადიაგნოსტირებულმა შემთხვევებმა შეიძლება მიაღწიოს 90%-ს (Kengne et al., 2013(1); Kengne et al., 2013(2)). მეტიც, ირკვევა, რომ მაღალი შემოსავლის ქვეყნებშიც კი, შაქრიანი დიაბეტით დაავადებულ პირთა ერთმა მესამედმა არ იცის თავისი ავადმყოფობის შესახებ (Beagley et al., 2014). შაქრიანი დიაბეტის არადიაგნოსტირებული შემთხვევების 60% მოდის სამხრეთ-აღმოსავლეთ აზიაზე (35,1 მლნ) და წყნარი ოკეანის დასავლეთ ნაწილის რეგიონზე (74,7 მლნ). მსოფლიო მასშტაბით, იმ ადამიანების 84%, რომლებმაც არ იციან თავიანთი დაავადების შესახებ, მოდის დაბალი და საშუალო შემოსავლის ქვეყნებზე (Li et al., 2014; Pablos-Velasco et al., 2014; Bancks et al., 2014; Ramachandran et al., 2014).

NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey) მონაცემების მიხედვით, 20 წელზე მეტი ასაკის 19,7 მილიონ ამერიკელს აღენიშნება ექიმის მიერ დადასტურებული შაქრიანი დიაბეტი, ხოლო 8,2 მილიონს - დაუზუსტებელი შაქრიანი დიაბეტი აქვს. ამასთანავე, 87,3 მილიონ ადამიანს

აღნიშნება პრედიკტი, რაც ნიშნავს, რომ ამ უკანასკნელით შეპყრობილია ამერიკის მოსახლეობის 38% (Ginter E. and Simko V., 2013).

აღსანიშნავია, რომ ამერიკაში შაქრიანი დიაბეტის ახალი შემთხვევები სჭარბობს ინდიელებში, აზიელებში და ესპანელ ლათინოსებში (Liu et al., 2009). 2007-2009 წლებში შაქრიანი დიაბეტის დიაგოზი დაისვა 7,1% არაესპანელ თეთრკანიანებში, 8,4% აზიელ ამერიკელებში, 11,8% ესპანელებში და 12,6% არაესპანელ შავკანიანებში (Centers for Disease Control and Prevention 2011). არაესპანელ თეთრკანიანებთან შედარებით დიაბეტის გავრცელება 18%-ით მაღალი იყო აზიელ ამერიკელებში, 66% -ით მაღალი ესპანელ ლათინოსებში (Centers for Disease Control and Prevention 2011).

2004-2006 წლებში შაქრიანი დიაბეტით დაავადებულების რიცხვი ორჯერ უფრო მაღალი იყო ინდოელებში (14%), ვიდრე ჩინელებში (6%) და იაპონელებში (5%) (Barnes et al., 2008).

განსაკუთრებით მაღალია შაქრიანი დიაბეტის გავრცელება ხმელთაშუა ზღვის ქვეყნების აღმოსავლეთ რეგიონებში (14%) და შედარებით დაბალია წყნარი ოკეანის, ევროპულ და დასავლეთ რეგიონებში (8% და 9%) (Geiss et al., 2014; Tamayo et al., 2014).

ყველა ეს მონაცემი, სავარაუდოდ, ამ დაავადებისადმი „გენეტიკურ განწყობის“ არსებობას უნდა ადასტურებდეს.

შაქრიანი დიაბეტით ავადობა ბავშვთა ასაკში, განსაკუთრებით 15 წლამდე, ასევე ავლენს მკვეთრ გეოგრაფიულ ტენდენციებს. შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1-ის მნიშვნელოვანი ზრდა აღინიშნება ევროპის ცენტრალურ და აღმოსავლეთ რეგიონში, სადაც მანამდე ეს დაავადება ბავშვთა შორის ნაკლებად იყო გავრცელებული (Dabelea et al., 2014; Patterson et al., 2015).

შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1-ით დაავადებული 497 100 ბავშვიდან 26%

ცხოვრობს ევროპის რეგიონში, სადაც შეკრებილია უკანასკნელი და განსაკუთრებით სარწმუნო მონაცემები შაქრიანი დიაბეტის ახალი შემთხვევების შესახებ, ხოლო 22% - ჩრდილოეთ ამერიკასა და კარიბის ზღვის აუზის რეგიონში (Dabelea et al., 2014; Pettitt et al., 2014; Patterson et al., 2015).

შაქრიანი დიაბეტით ავადობა საქართველოს ჯანდაცვის მნიშვნელოვანი პრობლემაა. დაავადების გავრცელება ქვეყანაში წლიდან წლამდე იზრდება. 2014 წლის ბოლოს შაქრიანი დიაბეტით დაავადებული იყო 85 957 ადამიანი (პრევალენტობის მაჩვენებელი 100 000 მოსახლეზე შეადგენდა - 2 306,3-ს), რაც წინა წელთან შედარებით 1,3-ჯერ მეტი იყო. 2014 წელს ინციდენტობის მაჩვენებელმაც 10 000 მოსახლეზე, წინა წელთან შედარებით 1,4-ჯერ მოიმატა და 586,5 შეადგინა. ასეთი მკვეთრი მატება შესაძლებელია უკავშირდებოდეს სადაზღვევო პროგრამების გავრცელების და პროფილაქტიკური გამოკვლევების გახშირების ფონზე ავადმყოფთა გამოვლენის გაუმჯობესებას, სადაზღვევო პროგრამების სტაბილურ მიმდინარეობას და ჯანმრთელობის საყოველთაო დაზღვევის პროგრამით მაღალ მოცვას (დაავადებათა კონტროლისა და საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის ეროვნული ცენტრის მონაცემები - 2015).

ამასთანავე, აღინიშნება ერთგვარი „მაკრატლის სინდრომი“, რომელსაც ზუსტი ახსნა ჯერ-ჯერობით არ მოეძებნება. შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1-ის ინციდენტობის მაჩვენებელი 100 000 მოსახლეზე 2014 წელს 53,3 იყო, რაც წინა წლის მაჩვენებელზე 1,32-ჯერ ნაკლებია. გარემოს მზარდი დაბინძურებისა და საკვებსა და საყოფაცხოვრებო საგნებში ტოქსინების კონტროლის შეუძლებლობის პირობებში, ასევე, აუტოიმუნური დაავადების რიცხვის მატების ფონზე, შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1-ის კლება შემდგომ გამოკვლევას საჭიროებს. შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის ინციდენტობის მაჩვენებელი კი 425 იყო, რაც 1,5-ჯერ აღემატება წინა წლის მაჩვენებელს (დკეც 2015).

შაქრიანი დიაბეტის როგორც პრევალენტობის, ისე ინციდენტობის მაჩვენებლის მატების ტენდენცია აღინიშნება 15 წლამდე ბავშვებში (დკეც 2015).

2014 წლის მონაცემებით შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის ინციდენტობის მაჩვენებელი 8-ჯერ აღემატებოდა შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1-ის ინციდენტობას, რაც მეტ-ნაკლებად შეესაბამება სამხრეთ აღმოსავლეთ ქვეყნების ანალოგიურ მაჩვენებელს (დკეც 2015).

ამასთანავე, შაქრიანი დიაბეტის ინციდენტობის მაჩვენებელთა შედარებით ვლინდება, რომ საქართველოს მაჩვენებლები უფრო მაღალია, ვიდრე ევროპის ქვეყნების საშუალო მაჩვენებლები (Atkinson et al., 2014; დკეც 2015).

### შაქრიან დიაბეტთან და მის გართულებებთან დაკავშირებული სოციალურ-ეკონომიკური პრობლემები.

შაქრიანი დიაბეტის მართვა ჯანდაცვის სისტემის მაღალ დანახარჯებთანაა დაკავშირებული, ამასთანავე, ის აქვეითებს შრომისუნარიანობას, და, შესაბამისად, ქვეყნის ეკონომიკური განვითარების ტემპებს. მსოფლიოში, 2011 წელს ჯანდაცვის სისტემის დანახარჯი შაქრიან დიაბეტზე 465 მილიარდ აშშ დოლარს შეადგენდა, რაც ჯანდაცვაზე გაწეული ხარჯების 11%-ია. ითვლება, რომ ეფექტური და ფართოდ ხელმისაწვდომი ღონისძიებების განხორციელების გარეშე, ეს მაჩვენებლები 2025 წლისთვის 595 მილიარდ დოლარამდე გაიზრდება (World Health Organization, 2016). დეკომპენსირებული შაქრიანი დიაბეტი, რომელსაც თან ახლავს გართულებების მაღალი რისკი, შემოსავლების დიდ დანაკლისს იწვევს და საფრთხეს უქმნის პიროვნების (შესაბამისად, ოჯახისა და სახელმწიფოს) ეკონომიკურ განვითარებას.

ამასთანავე, შაქრიანი დიაბეტის საერთაშორისო ფედერაციის მონაცემებით, არანაკლებ 175 მილიონმა ადამიანმა, ანუ ამ პათოლოგიით დაავადებულთა



მნიშვნელოვანმა ნაწილმა არ იცის იმის შესახებ, რომ აქვს შაქრიანი დიაბეტი. უმეტესად, ეს შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ია (International Federation of Diabetes 2015).

შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის წილი 85%-ს აღემატება. როგორც წესი, ეს მაჩვენებელი, მაღალი შემოსავლის ქვეყნებთან შედარებით უფრო მაღალია საშუალო და დაბალი შემოსავლის ქვეყნებში. ქვეყნების უმეტესობაში კულტურული და სოციალური ცვლილებების მაღალ ტემპებთან ერთად (მოსახლეობის დაბერება, ურბანიზაცია, კვებითი ჩვევების და რეჟიმის ცვლილება, ფიზიკური აქტივობის დაქვეითება და ცხოვრების არაჯანსაღი წესი) შაქრიანი დიაბეტით ავადობა მატულობს (Ginter et al., 2013; Beratarrechea et al., 2014).

როგორც მდიდარ, ისე ღარიბ ქვეყნებში ყოველწლიურად იზრდება შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1-ით დაავადებულთა რიცხვიც, თუმცა, როგორც ზემოთ ავღნიშნეთ, შაქრიანი დიაბეტის ეს ფორმა გაცილებით იშვიათია, ვიდრე დიაბეტი ტიპი 2 (Guariguata et al., 2014; Beagley et al., 2014).

შაქრიანი დიაბეტით დაავადებულ პირებში ინვალიდობის, სიკვდილიანობისა და ცხოვრების ხარისხის გაუარესების წამყვან მიზეზებს ამ დაავადების გართულებები წარმოადგენს, რაც მძიმე ტვირთად აწევს როგორც დაავადებული ადამიანის ოჯახს, ასევე საზოგადოებას მთლიანად.

შაქრიანი დიაბეტით დაავადებულ პირებში გართულებებმა შეიძლება მოიცვას როგორც სხვადასხვა ორგანო, ისე მთლიანად ორგანიზმი. დროთა განმავლობაში შაქრიანი დიაბეტი აზიანებს გულსა და სისხლძარღვებს, თვალებს, ნერვულ სისტემას, თირკმელებს, ღვიძლს; მკვეთრად ზრდის გულის დაავადებებისა და ინსულტის განვითარების რისკს (Fox et al., 2004; Fang et al., 2006; Fox et al., 2007; Fox et al., 2008; Goldstein et al., 2011; Shah et al., 2014; Peters et al., 2014), სისხლის მიმოქცევის დარღვევასთან კომბინაციაში იწვევს ქვემო

კიდურების ნეიროპათიას (Metteling et al., 2013; Chiles et al., 2014; Iftikhar et al., 2014), ზრდის ტერფზე წყლულების გაჩენის შესაძლებლობას და საბოლოო ჯამში - კიდურების ამპუტაციის რისკს (Alavi et al., 2014; Martins-Mendes et al., 2014). შაქრიანი დიაბეტითაა განპირობებული სიბრმავის შემთხვევათა 1%; დიაბეტური რეტინოპათია, რომელიც სიბრმავის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან მიზეზს წარმოადგენს, ვითარდება ბადურის წვრილი სისხლძარღვების ქრონიკული დაზიანების შედეგად (Zhao et al., 2014; Zhao et al., 2015; Petropoulos et al., 2015; Yang et al., 2016). შაქრიანი დიაბეტი თირკმლის უკმარისობის ერთ-ერთი ძირითადი მიზეზია (Centers for Disease Control and Prevention (CDC) – 2010; Boer et al., 2011; Wanner et al., 2016).

ამრიგად, შაქრიანი დიაბეტის ორივე ტიპისათვის დამახასიათებელი ქრონიკული ჰიპერგლიკემია ნახშირწყლების, ცილებისა და ცხიმების მეტაბოლური მოშლით (American Diabetes Association, 2009), პათოგენეზში მრავალ ორგანოს ითრევს (Hotamisligil, 2006). შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1-ის მქონე მამაკაცების რისკი გულ-სისხლძარღვთა დაავადების სიკვდილობის მიხედვით დაახლოებით 10-ჯერ მაღალია, იმ მამაკაცებთან შედარებით რომელთაც არ აქვთ შაქრიანი დიაბეტი (Orchard et al., 1990).

პოპულაციური კვლევების მონაცემების თანახმად, შაქრიანი დიაბეტის ახალ შემთხვევათა უმრავლესობა არ (ვერ) ვლინდება ადრეულ სტადიაზე (Forouhi et al., 2014). როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ, შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის შემთხვევების დიდი წილი არადიაგნოსტირებულია (Li et al., 2014; Pablos-Velasco et al., 2014; Bancks et al., 2014; Ramachandran et al., 2014). მნიშვნელოვან პრობლემას წარმოადგენს გლუკოზისადმი ტოლერანტობის დარღვევა (პრედიაბეტი - მდგომარეობა, როდესაც გლუკოზის დონე აღემატება ნორმას, მაგრამ შაქრიანი



დიაბეტის დიაგნოსტიკურ კრიტერიუმებს არ აკმაყოფილებს) (Bonomini et al., 2015).

ბევრ ქვეყანაში შაქრიანი დიაბეტი და მისი გართულებები წარმოადგენს ნაადრევი სიკვდილიანობის მიზეზს (Nwaneri et al., 2014; Zinman et al., 2015). (მეორდება)

ყოველწლიურად მსოფლიოში 3.4 მილიონი ადამიანი იღუპება შაქრიან დიაბეტთან დაკავშირებული გართულებების გამო. შაქრიანი დიაბეტით სიკვდილიანობის თითქმის 80% დაბალ და საშუალო შემოსავლების მქონე ქვეყნებზე მოდის (Huang et al., 2014 Zoungas et al., 2014). გულ-სისხლძარღვთა სისტემის დაავადებები არის შაქრიანი დიაბეტით დაავადებულებში სიკვდილიანობის ერთ-ერთი მთავარი მიზეზი (Go et al., 2013; Dregan et al., 2014).

ბონოუს მონაცემებით, აშშ-ში შაქრიანი დიაბეტის მქონე პაციენტების 80%-ის სიკვდილის მიზეზი კარდიო-ვასკულური დაავადებებია, მათ შორის 75% გულის იშემიურ დაავადებებზე მოდის (Bonow et al., 1996).

ევროპის რეგიონში შაქრიანი დიაბეტის ძირითად გართულებებად მიჩნეულია ნეიროპათია (16-34%-ში), ნეფროპათია (8,5-16%), რეტინოპათია (10,5-45%) და გულის იშემიური დაავადება (4-26%) (NCDC-2014).

შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის ადრეული დიაგნოსტიკა და მკურნალობის დროული დაწყება ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი ბერკეტია მძიმე და ძვირადღირებული მკურნალობის საჭიროების მქონე გართულებების პროფილაქტიკისთვის. შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის პროფილაქტიკა მნიშვნელოვანია ყველა, განსაკუთრებით დაბალი და საშუალო შემოსავლის მქონე ქვეყნებისათვის (დკეც 2015).

გასათვალისწინებელია, რომ შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის პრევენცია უმრავლეს შემთხვევაში შესაძლებელია. ამასთანავე, ამ დაავადების (მისი

გართულებების) მკურნალობის ხარჯები გაცილებით აღემატება პრევენციისა და კონტროლისათვის საჭირო ხარჯებს (American Diabetes Association 2014; Alwin et al., 2017).

## **2. ტესტოსტერონის როლი შაქრიანი დიაბეტის მართვაში**

როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ, გენდერული დისბალანსი შაქრიანი დიაბეტის განვითარების დროს დადასტურებულია მრავალი ეპიდემიოლოგიური კვლევით (Fitzgerald et al., 1995; Grant et al., 2009; Siddiqui et al., 2013). მიჩნეულია, რომ შაქრიანი დიაბეტი უფრო მძიმე ფორმით ვითარდება მამაკაცებში (Aregbesola et al., 2016; Kautzky-Willer et al., 2016). თუმცა, რამდენიმე ფაქტორი დაკავშირებული ცხოვრების წესთან, გარემოსთან და სოციალურ-ეკონომიკურ სტატუსთან, გავლენას ახდენს მამაკაცებსა და ქალებს შორის შაქრიანი დიაბეტის წინასწარ განწყობაზე, განვითარებასა და კლინიკურ გამოვლინებაზე. სასქესო ჰორმონები დიდ გავლენას ახდენს ენერგეტიკულ ცვლაზე, აღნაგობაზე, სისხლძარღვთა ფუნქციაზე და ანთებით რეაქციებზე (Kautzky-Willer et al., 2016). აღწერილია ტესტოსტერონის კონცენტრაციის სარწმუნო დაქვეითება როგორც შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1, ისე შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ით დაავადებულ მამაკაცების სისხლში. სისხლში ტესტოსტერონის კონცენტრაციის დაქვეითება იწვევს ღვიძლში მეტაბოლური პროცესების დარღვევას, შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1 და ტიპი 2-ის მქონე მამაკაცებში ჰიპერგლიკემიას და ინსულინრეზისტენტობას (Grossmann et al., 2008; Holt et al., 2014). დასაბუთებულად შეიძლება მივიჩნიოთ სასქესო ჰორმონების გავლენა პანკრეასის  $\beta$ -უჯრედებში ინსულინის სეკრეციასა და ღვიძლში მიმდინარე მეტაბოლურ პროცესებზე (Morimoto et al., 2001; Shen and Shi, 2015). თუ გავითვალისწინებთ, რომ ჰეპატოციტებს და  $\beta$ -უჯრედებს აქვთ როგორც ქალის, ისე მამაკაცის სასქესო ჰორმონების რეცეპტორები, რომელთაც

აქვთ რაოდენობრივი ექსპრესიის ცვლილების („კლების“ და „მატების“) უნარი სისხლში სასქესო ჰორმონების კონცენტრაციისაგან დამოკიდებულებით, შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ შაქრიანი დიაბეტის მიმდინარეობისას, სასქესო ჰორმონების მიღებას შეუძლია გამოიწვიოს პანკრესისა და ღვიძლის ფუნქციური აქტივობის ცვლილება, რაც ეფუძნება ამ ორგანოებში სასქესო ჰორმონების რეცეპტორების ექსპრესიის ცვლილებას და მათგან აღძრულ უჯრედულ მექანიზმებს.

მნიშვნელოვანი კავშირების არსებობა იკვეთება ანდროგენის ნაკლებობასა და შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ს შორის. ტესტოსტერონი ზემოქმედებს მეტაბოლურ სინდრომზე, ინსულინრეზისტენტობაზე, შედეგად კი - ხელს უწყობს სისხლძარღვების პათოლოგიისა და მათი გართულებების (გულისა და ტვინის იშემიური დაავადება, თირკმელების პათოლოგია, კიდურების ცირკულაციის მოშლა, ერექციული დისფუნქცია) განვითარებას.

ტესტოსტერონის დაბალი დონე ხელს უწყობს ინსულინრეზისტენტობის განვითარებას - შემდგომი ჰიპერგლიკემიით, არტერიული ჰიპერტენზიითა და დისლიპიდემიით, რაც, თავის მხრივ, ზრდის სისხლძარღვოვანი დაავადებების რისკს (Simon et al., 1997; Stellato et al., 2000; Oh et al., 2002; Dhindsa et al., 2004; Rhoden et al., 2005b; Pitteloud et al., 2005a,b; Corona et al., 2006; Kapoor et al., 2006, 2007; Selvin et al., 2007; Fukui et al., 2007,2008).

ნაჩვენებია, რომ ენდოგენური ტესტოსტერონის დაბალი კონცენტრაცია კორელირებს მაღალი არტერიული წნევის მაჩვენებლებთან (Kannel et al., 1972), რაც ზრდის მარცხენა პარკუჭის ჰიპერტროფიისა (Kannel et al., 1969) და გულის უკმარისობის განვითარების რისკს (Kannel et al., 1972).

შაქრიანი დიაბეტი და ინსულინრეზისტენტობა განიხილება როგორც მეტაბოლური სინდრომის ორი მთავარი კომპონენტი. როგორც აღვნიშნეთ, დღეს

მსოფლიოში შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის გავრცელებამ მკვეთრად იმატა და ეს წარმოადგენს ბოლო 5 ათწლეულის განმავლობაში ჭარბი წონისა და სიმსუქნის მკვეთრი მატების ანარეკლს (Steinbrook R., 2006; Parikh et al., 2007). შემაშფოთებელია ის ფაქტი, რომ მეტაბოლური სინდრომი, რომლის ძირითად კომპონენტს ინსულინრეზისტენტობა წარმოადგენს, აღენიშნება მოზარდების 4,5%-ს (Ford et al., 2008).

მამაკაცებში აღინიშნება უკუკავშირი ტესტოსტერონის დონესა და შაქრიან დიაბეტს შორის (Saad et al., 2009). შაქრიანი დიაბეტით დაავადებულ მამაკაცებს აღენიშნებათ ტესტოსტერონის დაბალი დონე, იმ მამაკაცებისგან განსხვავებით, რომელთაც არ აქვთ შაქრიანი დიაბეტი (Stanworth R. D. and Jones T. H., 2009; Stanworth et al., 2009). ასევე უკუკავშირი არსებობს ტესტოსტერონსა და გლიკოზირებულ ჰემოგლობინს შორის (Stamler et al., 1976). სხვა კვლევებმა აჩვენა, რომ მაღალი ტესტოსტერონის მქონე მამაკაცებში შაქრიანი დიაბეტის განვითარების რისკი 42% - ით უფრო დაბალია (Ding et al., 2006).

დადასტურებულია, რომ მეტაბოლური სინდრომი თრგუნავს მოცირკულაციე ტესტოსტერონის დონეს, ხოლო დაბალი ტესტოსტერონი იწვევს მეტაბოლურ სინდრომს (Stellato et al., 2000; Laaksonen et al., 2004).

კვლევები ადასტურებს, რომ დაბალი ტესტოსტერონის მქონე მამაკაცებს აქვთ შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის განვითარების მაღალი რისკი და რომ დაბალი ტესტოსტერონის დონე შეიძლება იყოს შაქრიანი დიაბეტის განვითარების პრედიქტორი (წანამძღვარი) (Haffner et al., 1997; Stellato et al., 2000; Oh et al., 2002; Rhoden et al., 2005a,b; Shores et al., 2006; Selvin et al., 2007) და პირიქით, ტესტოსტერონის მაღალი დონის შემთხვევაში შაქრიანი დიაბეტის განვითარების რისკი მნიშვნელოვნად დაბალია (Ding et al., 2006). ეს უკანასკნელი დასკვნა

ეფუძნებოდა 43 კვლევის მიმოხილვას, რომლებშიც 6427 მამაკაცი იღებდა მონაწილეობას (Ding et al., 2006).

საერთო ტესტოსტერონსა და ინსულინრეზისტენტობას შორის უკუკავშირის კვლევისას (Andersson et al., 1994; Simon et al., 1997; Pitteloud et al., 2005a,b; Osuna et al., 2006) აღმოჩნდა, რომ აღნიშნული კორელაცია უფრო მაღალია თავისუფალ ტესტოსტერონთან, ვიდრე საერთო ტესტოსტერონთან (Rhoden et al., 2005a,b; Basaria et al., 2006). ამასვე ადასტურებს უახლესი კვლევების შედეგებიც, რომელთა თანახმადაც საერთო ტესტოსტერონის დონე შემცირებული იყო შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ით დაავადებულ მამაკაცთა 43%-ში, ხოლო თავისუფალი ტესტოსტერონისა - 57%-ში. მსგავსი ტენდენცია აღინიშნება შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1-ის დროსაც: მამაკაცების 7%-ს აღნიშნა საერთო ტესტოსტერონის ნაკლებობა, ხოლო 20%-ს - თავისუფალი ტესტოსტერონის დაბალი დონე (Grossmann et al., 2008).

დ.სიმონის კვლევის მიხედვით (Simon et al., 1997) საერთო ტესტოსტერონის კონცენტრაცია მნიშვნელოვნადაა დაკავშირებული უზმოდ სისხლში ინსულინის დონეზე, ხოლო საკვების მიღებიდან 2 საათის შემდეგ - სისხლში ინსულინის და გლუკოზის დონეებზე.

ნაჩვენებია, რომ ინსულინის დონის მატება და საერთო ტესტოსტერონის დაბალი დონე შეიძლება კავშირში იყოს სხეულზე ცხიმის გადანაწილებასთან. ჯ. ოსუნამ დაადგინა ტესტოსტერონის დონის მნიშვნელოვანი უკუპროპორცია წელის გარშემოწერილობასთან, სხეულის მასის ინდექსთან, ინსულინთან და HOMA ინდექსთან (HOMA ინდექსი - homeostatic model assessment of insulin resistance). ერთად აღებული, ეს შედეგები მიუთითებს, რომ მამაკაცებში ტესტოსტერონს შეიძლება ქონდეს დამცავი ფუნქცია შაქრიანი დიაბეტის წინააღმდეგ (Osuna et al., 2006).

ერთსა და იმავე პაციენტს ხშირად უსვამენ ერთდროულად ჰიპოგონადიზმისა და შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის დიაგნოზებს (Dhindsa et al., 2004; Kapoor et al., 2007). ამასთანავე, ჰიპოგონადიზმი უფრო გავრცელებულია სხეულის ჭარბი მასის მქონე შაქრიანი დიაბეტის მქონე პაციენტებში, ან პაციენტებში მორბიდილი სიმსუქნით (სხეულის მასის ინდექსი  $> 40$ -ზე). 1100 -ზე მეტი მამაკაცისგან შემდგარ ჯგუფში, ჯ. კორონამ გამოიკვლია, რომ ჰიპოგონადიზმს უფრო მაღალი დადებითი კორელაცია აქვს ვისცერალურ ცხიმთან, ვიდრე შაქრიან დიაბეტს (Corona et al., 2007). ამასთანავე, ნაჩვენები იქნა, რომ ჰიპოგონადიზმი ინსულინის და გლუკოზის დონის მატების უფრო ძლიერ რისკ ფაქტორს წარმოადგენს ვიდრე ჭარბი წონა (Pagotto et al., 2003). ს. დჰინსამ ასევე აჩვენა, რომ 50 წლის შემდეგ ჰიპოგონადიზმის შემთხვევების მატება სულ უფრო ინტენსიური ხდება ყოველი მომდევნო 10 წლის განმავლობაში: 50-59 წლის ასაკობრივ ჯგუფში ეს მატება 24%-ს შეადგენს, ხოლო 70-79 წლის ასაკობრივ ჯგუფში - 55%-ს (Dhindsa et al., 2004), რაც ხელს უნდა უწყობდეს მოხუცებში წონის მატებასა და შაქრიანი დიაბეტის განვითარებას (Cowie et al., 2011).

რ. პასკუალიმ აღმოაჩინა, რომ შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის მქონე ადამიანებს ხშირად აღენიშნებათ სიმსუქნე, რომელიც, თავის მხრივ, შეიძლება იყოს მნიშვნელოვანი რისკ-ფაქტორი თავისუფალი და საერთო ტესტოსტერონის შემცირებისათვის და უზმოდ ინსულინის რაოდენობის მომატებისათვის. ამასთანავე, ნორმალური წონის მამაკაცებში ასეთი რისკ-ფაქტორის არსებობა არ დასტურდება (Pasquali et al., 1991; 1997). ჯანმრთელ, ასევე დიაბეტის არმქონე, მაგრამ ჭარბწონიან მამაკაცების ჯგუფებში, რომელთაც გლუკოზის ცვლა დაერღვათ დიაზოქსიდის მიღების შედეგად, აღმოჩნდა, რომ ინსულინს აქვს *in vivo* ტესტოსტერონის წარმოქმნის სტიმულაციის და, ამავდროულად,



სექს-ჰორმონ შემაკავშირებელი გლობულინის (SHBG) კონცენტრაციის დაქვეითების უნარი (Pasquali et al., 1995).

ა. ისიდორიმ და თანაავტორებმა დაადასტურეს, რომ იმ ადამიანებს, რომელთა სხეულის მასის ინდექსი  $30\text{კგ/მ}^2$ -ზე მეტია, უზმოდ აღენიშნებათ ინსულინის, ინსულინრეზისტენტობის ინდექსისა და C-პეპტიდის სარწმუნოდ უფრო მაღალი, ხოლო ტესტოსტერონის დაბალი მაჩვენებლები, იმ ადამიანებთან შედარებით, ვისი სხეულის მასის ინდექსიც  $30\text{კგ/მ}^2$ -ზე ნაკლებია (Isidori et al., 2000). კ. ბლოუინმა ივარაუდა, რომ სხეულის ცხიმის გადანაწილება შესაძლოა გავლენას ახდენდეს საერთო ტესტოსტერონის დაბალ დონესა და ინსულინის მომატებულ დონეს შორის კავშირზე (Blouin et al., 2008). თუმცა, ნ. პიტელოუდმა აჩვენა, რომ სხეულის აგებულებას არავითარი გავლენა აქვს პლაზმაში ტესტოსტერონის კონცენტრაციასა და ინსულინისადმი მგრძნობელობას შორის ურთიერთკავშირზე (Pitteloud et al., 2005 b). დ. ლააკსონენმა და თანაავტორებმა შეაფასეს შაქრიანი დიაბეტის არმქონე შუახნის 1896 მამაკაცის მახასიათებლები მეტაბოლურ სინდრომთან მიმართებაში. აღმოჩნდა, რომ მეტაბოლური სინდრომის მქონე პირებს უზმოდ მომატებული ჰქონდათ ინსულინის დონე, ხოლო დაქვეითებული - საერთო ტესტოსტერონის დონე (Laaksonen et al., 2003). გარდა ამისა, მ. მულერმა და თანაავტორებმა უჩვენეს, რომ მომატებული ტესტოსტერონი და სექს-ჰორმონ შემაკავშირებელი გლობულინი (SHBG) იწვევს ინსულინის მიმართ მგრძნობელობის მატებას და მეტაბოლური სინდრომის რისკის შემცირებას (Muller et al., 2005).

ანდროგენების აღკვეთის თერაპია, რაც ხშირად ინიშნება პროსტატის სიმსივნის დროს, ზრდის ინსულინრეზისტენტობას, მოქმედებს გლუკოზის მეტაბოლიზმზე და, შესაძლოა, ხელს უწყობდეს შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის განვითარებას. მ. ლაჯემ აღმოაჩინა, რომ შაქრიანი დიაბეტის განვითარების რისკი

ანდროგენების აღკვეთის თერაპიის დროს შეადგენს 1,36 ( $P = 0.01$ ) და რომ ამ პაციენტებში შაქრიანი დიაბეტის განვითარების მაღალი რისკი არსებობს 1 წლის განმავლობაში, მაშინაც კი, როდესაც მიმდინარეობს ისეთი კოფაქტორების კორექცია, რომლებიც დაკავშირებულია ასაკთან, სუსტ ჯანმრთელობასთან და განსაკუთრებით ჰიპერტენზიასთან (Lage et al., 2007).

პროსტატის სიმსივნის მქონე ისეთი დიაბეტიანი პაციენტების გადაყვანისას ანდროგენების აღკვეთის თერაპიაზე, რომელთაც მკურნალობდნენ ინსულინით, ანდროგენების აღკვეთის შემდეგ ინსულინზე მოთხოვნა თანდათანობით იზრდებოდა. აღნიშნულის საფუძველზე გაკეთდა დასკვნა, რომ ანდროგენების აღკვეთას უარყოფითი ზეგავლენა აქვს ინსულინრეზისტენტობაზე და გლიკემიაზე პროსტატის სიმსივნის მქონე პაციენტებში (Haidar et al., 2007).

ნაჩვენები იქნა, რომ სასქესო ჰორმონების შეწყვეტამ 2 კვირის განმავლობაში გამოიწვია ინსულინის მიმართ მგრძობელობის დაქვეითება იდიოპათიური ჰიპოგონადოტროპული ჰიპოგონადიზმის მქონე ახალგაზრდა მამაკაცებში, რაც ახსნეს იმით, რომ ტესტოსტერონი პირდაპირ ზემოქმედებას ახდენს ინსულინის მგრძობელობაზე და რომ ეს მექანიზმი არ არის დაფუძნებული ორგანიზმის აგებულების (მათ შორის ცხიმოვანი ქსოვილის განვითარება-გადანაწილების) ცვლილებაზე (Yialamas et al., 2007).

მეორე მხრივ, არსებობს მოსაზრება, რომ ანდროგენების უკმარისობა მეტაბოლიზმის პროცესის გაუარესების შედეგია და არა მიზეზი (Chen et al., 2006).

ამდენად, არ არის გამორიცხული, რომ ასეთი ურთიერთქმედება ორმხრივია. ჯ. სმიტმა გამოიკვლია ანდროგენების აღკვეთის თერაპიის ეფექტი ინსულინის დონეზე პროსტატის სიმსივნის მქონე პაციენტებში. 12 კვირის განმავლობაში „გონადოტროპინ რილიზინგ ჰორმონის“ (GnRH) აგონისტებით მკურნალობამ მამაკაცებში გამოიწვია გლიკოზირებული ჰემოგლობინის მატება



და ინსულინის მიმართ მგრძობელობის და HOMA ინდექსის დაქვეითება (Smith et al., 2001).

ინსულინის დონის ცვლილება დადებითად კორელირებს სხეულის ცხიმის მასის ცვლილებასთან (Dockery et al., 2003). ტესტოსტერონის ნაკლებობა იწვევს ჰიპერინსულინემიას, ხოლო ანდროგენების აღკვეთის თერაპია იწვევს უზმოდ გლუკოზის დონის მატებას (Nishiyama et al., 2005). ჯ. იანუჩის კვლევამ რომელიც 85 დღე გრძელდებოდა, უჩვენა, რომ ანდროგენების აღკვეთის თერაპიაზე მყოფ პაციენტებში გლუკოზის და ინსულინრეზისტენტობის დონე (HOMA ინდექსი) იმატებს. ამ კვლევაში ასაკი და სხეულის მასის ინდექსი შეზღუდული არ იყო (Yannucci et al., 2006). ს. ბასარიას კვლევით (სადაც შეზღუდული იყო ასაკი და სხეულის მასის ინდექსი) იმ პაციენტებს, რომლებიც იმყოფებოდნენ ანდროგენების აღკვეთის თერაპიაზე, ინსულინის მნიშვნელოვნად უფრო მაღალი დონე აღენიშნათ უზმოდ, ვიდრე პროსტატის სიმსივნიან პაციენტებს, რომლებიც არ იმყოფებოდნენ ანდროგენების აღკვეთის თერაპიაზე; იგივე შედეგი დაფიქსირდა ჯანმრთელ საკონტროლო ჯგუფის წევრებშიც (Basaria et al., 2006).

ეს კვლევები ადასტურებს, რომ ანდროგენების აღკვეთის თერაპია, და არა ასაკი და სხეულის მასის ინდექსი, არის პირდაპირ პასუხისმგებელი უზმოდ ინსულინის დონის მატებაზე.

გარდა ზემოაღნიშნულისა, ს. ბასარიამ მამაკაცების სამივე აღნიშნულ ჯგუფში აღმოაჩინა მაღალი უარყოფითი კორელაცია უზმოდ გლუკოზის, ინსულინის და HOMA ინდექსის დონეებსა და საერთო და თავისუფალი ტესტოსტერონის დონეებს შორის. იმ პაციენტების რაოდენობა, რომელთა გლუკოზის კონცენტრაცია უზმოდ იყო  $\geq 126$  მმოლ/ლ, შეადგენდა ანდროგენების აღკვეთის თერაპიაზე მყოფი პროსტატის სიმსივნიან პაციენტების 44%-ს, ანდროგენების აღკვეთის თერაპიაზე არ მყოფი პროსტატის სიმსივნიანი

პაციენტების - 12%-ს, ხოლო ჯანმრთელ ჯგუფის წევრთა - 11%-ს (Basaria et al., 2006).

ს. შაჰანის ვარაუდით, ანდროგენების აღკვეთის თერაპია ადრეულ ეტაპზე (3-6 თვე) იწვევს მეტაბოლიზმის დარღვევებს, რაც ასოცირებულია ჰიპერინსულინემიის განვითარებასთან, ხოლო ხანგრძლივ თერაპიას (12 თვე და მეტი) მიყვავართ შაქრიანი დიაბეტის და მეტაბოლური სინდრომის განვითარებასთან (Shahani et al., 2008).

ჰიპოგონადიზმის დროს მამაკაცებში ტესტოსტერონით მკურნალობა ამცირებს ინსულინის დონეს უზმოდ, მაგრამ ასევე ამცირებს ინსულინრეზისტენტობას. ინსულინის მიმართ მომატებული მგრძობელობა მაღალ უარყოფით კორელაციაშია საერთო ტესტოსტერონის დონესთან (Marin et al., 1992; 1993; 1995; 1996; Pagotto et al., 2003). მ. ბოიანოვმა ასევე აჩვენა, რომ შაქრიანი დიაბეტის მქონე იმ მამაკაცებს, რომლებიც სამი თვის განმავლობაში იღებდნენ ტესტოსტერონს, საწყის მაჩვენებლებთან შედარებით შეუმცირდათ უზმოზე გლუკოზის დონე, ჭამის შემდგომი გლუკოზის დონე და გლიკოზირებული ჰემოგლობინის დონე (Boyanov et al., 2003).

დ. კაპურის კვლევის თანახმად ტესტოსტერონის მკურნალობის შედეგად ინსულინ დამოკიდებულმა პაციენტებმა შეამცირეს თავიანთი დოზა საშუალოდ 7 ერთეულით (Kapoor et al., 2006).

მ. ნაჰარსიმ აჩვენა, რომ ტესტოსტერონის ხანგრძლივმა თერაპიამ გააუმჯობესა ინსულინის მიმართ მგრძობელობა და შეამცირა სხეულის ცხიმის მასა. ასევე, ნაჰარსის მტკიცებით, რაც უფრო მაღალია ტესტოსტერონის „დელტა“, მით უფრო იმატებს ინსულინის მიმართ მგრძობელობა (Naharci et al., 2007). ამასვე ადასტურებს ნ. პიტელოუდის დაკვირვებაც (Pitteloud et al., 2005a,b). ეს განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია, რადგან მიუთითებს, რომ საჭიროა

ტესტოსტერონის ნორმის არა დაბალი დონის (მინიმალური მაჩვენებლის), არამედ, მაღალი დონის (მაქსიმალური მაჩვენებლის) მიღწევა (შენარჩუნება).

ტესტოსტერონს, გარდა ინსულინის მიმართ მგრძობელობაზე ეფექტისა, შესაძლოა ქონდეს პირდაპირი გავლენა პანკრეასის  $\beta$ -უჯრედებზე (Morimoto et al., 2005). კერძოდ, ნაჩვენებია იქნა, რომ კასტრირებული ცხოველების პანკრეასის უჯრედებში, სტრეპტოზოტოცინით გამოწვეული ექსპერიმენტული შაქრიანი დიაბეტის მოდელზე ტესტოსტერონით თერაპია აჩერებს  $\beta$ -უჯრედების ადრეულ აპოპტოზს.

როგორც აღინიშნა, ანდროგენების დეფიციტი მთავარ როლს თამაშობს მეტაბოლური სინდრომის, შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის და ინსულინ-რეზისტენტობის პათოგენეზში; მას ასევე მნიშვნელოვანი წვლილი შეაქვს ადიპოგენეზსა და ვისცერალური ცხიმის დაგროვებაში, რასაც მივყავართ სიმსუქნის განვითარებამდე.

ვისცერალური ცხიმი ფუნქციონირებს როგორც ენდოკრინული ორგანო, რომელიც აწარმოებს მრავალ ქსოვილსა და ორგანოზე მოქმედ ანთების საწინააღმდეგო ციტოკინებს, რომლებიც ზრდის ინსულინ-რეზისტენტობის, შაქრიანი დიაბეტის და მეტაბოლური სინდრომის რისკს და ენდოთელურ დისფუნქციას. ითვლება, რომ ანდროგენების ნაკლებობა მთავარი ფაქტორია მრავალი პათოლოგიის განვითარებისათვის, რომელსაც მოიცავს მეტაბოლური სინდრომი და რომელსაც მივყავართ სისხლძარღვოვან გართულებებამდე (Traish et al., 2009, III).

ამ პათოლოგიურ ჯაჭვში, კლინიცისტთა აღიარებით, მთავარი პრობლემა მდგომარეობს ზედმეტი წონის კორექციაში. სიმსუქნე, ეს ის მდგომარეობაა, რომელიც ეპიდემიასავით ვრცელდება განვითარებულ და განვითარებად ქვეყნებში. შეერთებულ შტატებში მამაკაცების 63% და ქალების 55%

ჰარბონიანად ითვლება. ჰარბონიანთა 22%-ის სხეულის მასის ინდექსი  $30\text{კგ/მ}^2$ -ზე მეტია, ამასთანავე ეს შეფარდება მზარდი დინამიკით ხასიათდება, რისი შედეგის სერიოზულობის გადაფასება ძნელია (Ogden et al., 2006). ჰარბონასთან დაკავშირებულია ისეთი დაავადებები, როგორებიცაა შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2, ჰიპერტენზია, გულ-სისხლძარღვთა დაავადება, ნაღვლის ბუშტის დაზიანება, სიმსივნე და საყრდენ-მამოძრავებელი სისტემის დაავადება (ართრიტი).

ზრდასრულ ჰარბონიანთა 80%-ს აღენიშნება ჰარბონასთან დაკავშირებული ერთი დაავადება მაინც, ხოლო 40%-ს ორი ან მეტი დაავადება (Janssen et al., 2007).

ზრდასრული მამაკაცი და ქალი განსხვავდება ცხიმის რეგიონალური განაწილების თავისებურებებით (Blouin et al., 2008).

მენოპაუზამდე ქალებში ცხიმის დიდი ნაწილი გროვდება მკერდში, თეძოებში და ბარძაყებში. მამაკაცებში კი, როგორც წესი, მუცლის მიდამოში (კანქვეშ და ვისცერალურად). ამასთანავე მამაკაცებს, ვისცერული ცხიმის უფრო დიდი მარაგი აქვთ, ვიდრე ქალებს (Wells et al., 2007). იქედან გამომდინარე, რომ სხეულის ცხიმის ლოკალიზაცია ითვლება მეორად სასქესო ნიშნად, შესაძლებელია ვივარაუდოთ, რომ სასქესო სტეროიდები მონაწილეობას ღებულობენ მამაკაცის და ქალის ცხიმოვანი მარაგის განაწილებაში.

ეს მოსაზრება დასტურდება იმით, რომ სასქესო სტეროიდების დონის ცვლილება, რეპროდუქციული ცხოვრების სხვადასხვა ეტაპზე, თანხვედრაშია ცხიმის რეგიონალური დაგროვებისა და მობილიზაციის ცვლილებებთან, მაშინ, როდესაც პუბერტატულ პერიოდამდე გოგოები და ბიჭები ძალიან არ განსხვავდებიან ცხიმის რაოდენობით და მისი რეგიონალური გავრცელებით.

პუბერტატული პერიოდიდან კი განსხვავებები უკვე აშკარად ვლინდება (Loomba-Albrecht et al., 2009; Taylor et al., 2010).

საკვერცხის მიერ ესტროგენის და პროგესტერონის გამომუშავება იწვევს საერთო ცხიმის მატებას და ასევე ცხიმის შერჩევით გადანაწილებას მკერდში, საჯდომსა და ბარძაყებში. ბიჭებში კი, პუბერტატულ პერიოდში, საგრძნობლად იზრდება არაცხიმოვანი მასა, მაშინ როდესაც ცხიმის საერთო რაოდენობა თითქმის უცვლელი რჩება (Loomba-Albrecht et al., 2009).

სიმსუქნეზე დაკვირვებამ აჩვენა, რომ ცხიმის უპირატესად მუცლის მიდამოში დაგროვება დაკავშირებულია ინსულინდამოუკიდებელი შაქრიანი დიაბეტის და გულ-სისხლძარღვთა სისტემის დაავადებების განვითარების მომატებულ რისკთან, თანაც არა მხოლოდ ჭარბწონიანებში, არამედ ნორმალურწონიანებშიც (Kannel et al., 1991).

მრავალი კვლევა ადასტურებს კავშირს აბდომინალურ გაცხიმოვნებასა და გულ-სისხლძარღვთა სისტემის დაავადების ისეთ რისკ-ფაქტორებს შორის, როგორცაა ჰიპერტენზია, დისლიპიდემია (ქოლესტეროლის, ტრიგლიცერიდების, დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების გაზრდილი დონე და მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების დაბალი დონე), გლიკემია ჰიპერინსულინემიასთან ერთად (ცნობილია, როგორც „ინსულინრეზისტენტობა“ ან „მეტაბოლური სინდრომი“) (Bjorntorp et al., 2000; Carr et al., 2004; Grundy et al., 2004; Gans, 2006).

გამჭოლი (ჯვარედინი) კვლევების სისტემატურმა მიმოხილვამ და მეტა-ანალიზმა აჩვენა, რომ ტესტოსტერონის დონე შესამჩნევად დაბალია შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის მქონე მამაკაცებში. დაბალი ტესტოსტერონის მქონე მამაკაცებში კი შაქრიანი დიაბეტის განვითარების ალბათობა გაზრდილია (Ding et al., 2006). კვლევებით ასევე დასტურდება, რომ ტესტოსტერონის დაბალი დონე

მამაკაცებში შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის განვითარების წინაპირობაა. არსებობს დამაჯერებელი ეპიდემიოლოგიური მტკიცებულებები, რომლის მიხედვითაც ტესტოსტერონის დაბალი დონე ხანდაზმულ ასაკში წარმოადგენს დამოუკიდებელ რისკ ფაქტორს, როგორც მეტაბოლური სინდრომის და შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის (Stanworth et al., 2009; Traish et al., 2009,II), ასევე მათი გართულებების - ინსულტისა და გარდამავალი იშემიის განვითარებისათვის (Yeap et al., 2009).

MMAS (The Massachusetts Male Aging Study) (Stellato et al., 2000) და MRFIT (Multiple Risk Factor Intervention Trial) (Haffner et al., 1996) კვლევებმა აჩვენა, რომ საერთო ტესტოსტერონის დაბალი დონე და სექს-ჰორმონ შემაკავშირებელი გლობულინი (SHBG) დამოუკიდებელი რისკ ფაქტორია შუა ხნის მამაკაცებში - შაქრიანი დიაბეტის მოგვიანებით განვითარებისათვის.

კალიფორნიაში ჩატარებულმა კვლევებმა აჩვენა მნიშვნელოვანი უარყოფითი კორელაცია საერთო ტესტოსტერონის საწყის დონესა და უზმოდ გლუკოზის დონეს, ინსულინის დონესა და, ასევე, გლუკოზოტოლერანტულ ტესტს შორის (8 წლის დაკვირვება) (Oh et al., 2002). მიჩნეულია, რომ ტესტოსტერონის და სექს-ჰორმონ შემაკავშირებელი გლობულინის (SHBG) დაბალი დონე წარმოადგენს მეტაბოლური სინდრომის და შაქრიანი დიაბეტის განვითარების პროგნოზს (Laaksonen et al., 2004; Haring et al., 2009).

საინტერესოა აღინიშნოს, რომ MMAS-ის (The Massachusetts Male Aging Study) მონაცემებით, ტესტოსტერონის დაბალი დონე წარმოადგენს მეტაბოლური სინდრომის და შაქრიანი დიაბეტის განვითარების რისკ-ფაქტორს იმ მამაკაცებში, რომლებიც თავიდანვე არ იყვნენ ქარბწონიანები (Kupelian et al., 2006). NHANES III კვლევამ (the Third National Health and Nutrition survey), რომელშიც მონაწილეობა მიიღო 1413 მამაკაცმა, რომლებიც დაყვეს ასაკის, რასის, ეთნიკური



წარმომავლობის და ჭარბი წონის მიხედვით, აჩვენა, რომ იმ მამაკაცებს, რომლებსაც თავისუფალი ტესტოსტერონის (და არა საერთო ტესტოსტერონის) დაბალი დონე აღენიშნებოდათ, შაქრიანი დიაბეტის განვითარების რისკი უფრო მაღალი ჰქონდათ, ვიდრე მათ, ვისაც აღენიშნებოდა სიმსუქნე (Selvin et al., 2007).

ეს კვლევა ამყარებს MMAS - ის (The Massachusetts Male Aging Study) კვლევის შედეგებს, რომლის თანახმადაც, ჭარბი წონა, თავისთავად, არ წარმოადგენს რისკ-ფაქტორს შაქრიანი დიაბეტის განვითარებისათვის, რაც უნისონშია ავსტრალიაში ჩატარებულ ანალოგიური დიზაინის კვლევასთან. (Stellato et al., 2000; Traish et al., 2009 (II; III); Yeap et al., 2009).

სიმსუქნე, მასთან ასოცირებული ჰიპერინსულინემიით, თრგუნავს სექს-ჰორმონ შემკავშირებელი გლობულინის (SHBG) სინთეზს და აქედან გამომდინარე მოცირკულირე ტესტოსტერონის რაოდენობას (Kaufman et al., 2005; Eckel et al., 2005). გარდა ამისა, ინსულინი (Pitteloud et al., 2005a) და ლეპტინი (Isidori et al., 1999) დამთრგუნველად მოქმედებს სათესლის მიერ სტეროიდების წარმოქმნაზე (Stamler et al., 1976). აქედან გამომდინარე, საფუძველი გვაქვს ვიფიქროთ, რომ სიმსუქნე მოცირკულირე ტესტოსტერონის დაქვეითების მთავარი ფაქტორია 40 წლამდე მამაკაცებშიც კი (Goncharov et al., 2009; Zitzmann M., 2009; Mah et al., 2010).

აღნიშნული მიმოხილვიდან ცხადი ხდება, რომ ტესტოსტერონის დაბალი დონე მთავარი ფაქტორია ხანდაზმული მამაკაცების ისეთი დაავადების ეტიოლოგიაში, როგორცაა მეტაბოლური სინდრომი და მასთან დაკავშირებული დაავადებები: შაქრიანი დიაბეტი და ათეროსკლეროზული დაავადებები. ამდენად, მეტაბოლური სინდრომის და მისი გართულებების - შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2 და გულ-სისხლძარღვთა დაავადებები - მკურნალობაში ტესტოსტერონის ჩართვის მიზანშეწონილობის განსაზღვრა ფრიად აქტუალური საკითხია.

მრავალი მტკიცებულებით დასტურდება ტესტოსტერონის დადებითი გავლენა ვისცერალური ცხიმის და მეტაბოლური სინდრომის სხვა ელემენტების რედუქციაზე (Jones et al., 2009).

ჩატარდა კვლევა, სადაც შერჩეულ იქნა ჰიპოგონადიზმით დაავადებული 32 მამაკაცი მეტაბოლური სინდრომით და ახლად დადგენილი შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ით. ერთი ჯგუფის წევრებს (n=16) მხოლოდ დიეტა და ვარჯიში დაენიშნათ, მეორე ჯგუფს (n=16) - დიეტა და ვარჯიში ტესტოსტერონის გელთან ერთად (50 მგ. ტესტოსტერონი ერთხელ დღეში, 52 კვირის მანძილზე). გლუკოზაზე მოქმედი არც ერთი პრეპარატი იქნა გამოყენებული კვლევაში ან კვლევის დროს. ტესტოსტერონის დამატებამ საგრძნობლად გააუმჯობესა გლიკემიური მაჩვენებელი და მეტაბოლური სინდრომისთვის დამახასიათებელი სხვა პარამეტრები, იმ ჯგუფთან შედარებით, სადაც მხოლოდ დიეტას და ვარჯიშს მისდევდნენ (Heufelder et al., 2009).

ასევე დადგენილია, რომ ტესტოსტერონი ამცირებს ინსულინის დონეს და ინსულინრეზისტენტობას ჭარბწონიან მამაკაცებში. ორ კვლევაში, ტესტოსტერონის ჩანაცვლებითი თერაპიის შემდეგ, სადაც მონაწილეობას იღებდნენ შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის მქონე და ჰიპოგონადიზმით დაავადებული მამაკაცები, აღინიშნა ტესტოსტერონის მცირედი გავლენა გლიკემიაზე ან ასეთი გავლენა საერთოდ არ აღინიშნა (Corrales et al., 2006). საპირისპირო შედეგები აჩვენა სხვა კვლევაში, რომლითაც დადგინდა, რომ ტესტოსტერონის ჩანაცვლებითმა თერაპიამ შეამცირა ინსულინრეზისტენტობა და გააუმჯობესა გლიკემიური მაჩვენებელი ჰიპოგონადიზმით დაავადებულ პაციენტებში, რომელთაც აღინიშნებოდათ შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2 (Lee et al., 2005).



ამრიგად, მიუხედავად იმისა, რომ არ არის ცალსახა მტკიცებულებები იმის თაობაზე, რომ მოცირკულირე ტესტოსტერონის დონე ხელს უწყობს გლუკოზის ჰომეოსტაზის ნორმალიზაციას, არსებობს კვლევები, რომლებიც ამტკიცებს, რომ ტესტოსტერონით ჩანაცვლებითი თერაპია დადებით როლს ასრულებს გლიკემიისა და მეტაბოლური პროცესების კონტროლში შაქრიანი დიაბეტის დროს.

ამასთანავე, ტესტოსტერონის მოქმედების მექანიზმები ჯერ კიდევ გამოსაკვლევიან. მით უფრო, რომ როგორც ზემოთ აღინიშნა, ნავარაუდევია ამ მექანიზმების კომპლექსურობა.

პანკრეასის კუნძულები შეიცავს მინიმუმ 5 სახის უჯრედებს, რომლებშიც გამომუშავებული ჰორმონები პირდაპირ გადადის სისხლის მიმოქცევაში. მღრღნელების პანკრეასის კუნძულები ამჟღავნებს მსგავსებას ადამიანის პანკრეასის კუნძულებთან. ეს მსგავსება ქმნის საფუძველს, რომ შაქრიანი დიაბეტის მოდელირება განხორციელდეს სწორედ მღრღნელებში. ვირთაგვის პანკრეასის კუნძულებში, ენდოკრინული უჯრედების სუბსიდიები წარმოდგენილია შემდეგი პროპორციით (Elayat et al., 1995):

- α-უჯრედები, რომლებიც გამოიმუშავებს გლუკაგონს, შეადგენს კუნძულოვანი უჯრედების 20%-ს;
- β-უჯრედები, რომლებიც გამოიმუშავებს ინსულინს და ამილინს, შეადგენს უჯრედული პოპულაციის 70%-ს;
- δ-უჯრედები, რომლებიც გამოიმუშავებს სომატოსტატინს, შეადგენს - 10%-ს;
- PP უჯრედები, რომლებშიც გამომუშავდება პანკრეასული პოლიპეპტიდი - 5%-ს;

- $\epsilon$ -უჯრედები (ეფსილონი), რომლებშიც გამომუშავდება გრელინი - მხოლოდ 1%-ს.

ამასთანავე, უჯრედული შემადგენლობის მსგავსების მიუხედავად, უჯრედთა დასახელებული ტიპების ტოპოგრაფია პანკრეასის კუნძულებში განსხვავებულია. მაშინ, როდესაც მღრღნელების კუნძულებს ახასიათებს ინსულინის წარმომქმნელი  $\beta$ -უჯრედების უპირატესი ცენტრალური განლაგება და ალფა, დელტა და PP უჯრედების მწირი პერიფერიული განლაგება, ადამიანის კუნძულებში  $\alpha$ - და  $\beta$ -უჯრედები განლაგებულია ერთმანეთთან ახლოს (შეჯგუფულად) (Brissova et al., 2005; Cabrera et al., 2006).

#### **შაქრიანი დიაბეტის პათოგენეზისა და სანოგენეზის მექანიზმების თაობაზე.**

მიუხედავად იმისა, რომ შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის დროს ტესტოსტერონის დონის შემცირება დადასტურებულად ითვლება (Haffner et al., 1996; Stellato et al., 2000; Oh et al., 2002), ისევე, როგორც ის ფაქტი, რომ პროსტატის სიმსივნის მქონე პაციენტებში ანდროგენების აღკვეთის თერაპია გონადოტროპული ჰორმონის აგონისტებით, იწვევს  $\beta$ -უჯრედების ფუნქციის ნაკლებობას და ჰიპერგლიკემიას (Inaba et al., 2005) და ზრდის შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის რისკს (Keating et al., 2012), ტესტოსტერონის დეფიციტის როლი  $\beta$ -უჯრედების დისფუნქციაში უცნობი რჩება.

გამომდინარე იქედან, რომ ჰიპერგლიკემიის განვითარება მოითხოვს  $\beta$ -უჯრედების დაზიანებას, ზემოთ განხილული კვლევების შედეგები საფუძველს უქმნის ვარაუდს, რომ ტესტოსტერონის ნაკლებობა იწვევს ან ხელს უწყობს  $\beta$ -უჯრედების დაზიანებას მამაკაცებში.

დადასტურებულია, რომ ტესტოსტერონი ზემოქმედებს ანდროგენ-რეცეპტორებზე, რომელსაც შეიცავს სხვადასხვა ორგანოების უჯრედების

მემბრანები (Haffner et al., 1996). თუ რა მექანიზმით და რა როლს ასრულებს ანდროგენ-რეცეპტორი  $\beta$ -უჯრედების ფუნქციონირებაში ნორმულად და ტესტოსტერონის ნაკლებობის პირობებში, გარკვეული არ არის (Stellato et al., 2000; Oh et al., 2002). ეს საკითხი უაღრესად მნიშვნელოვანია, რადგან ანტიდიაბეტური ანდროგენული თერაპია, რომელიც არ გაზრდის პროსტატის ჰიპერტროფიული პათოლოგიების განვითარების რისკს, შეიძლება იქცეს საზოგადოებრივი ჯანდაცვის მნიშვნელოვან მონაპოვრად (Oh et al., 2002).

ადამიანის პანკრეასის ქსოვილის კულტურებზე და ისეთ ხაზოვან თაგვებზე ჩატარებულმა ექსპერიმენტებმა, როდესაც მიზანმიმართულად იყო შემცირებული  $\beta$ -უჯრედების ანდროგენ-რეცეპტორების რაოდენობა, უჩვენა, რომ ტესტოსტერონი მოქმედებს ანდროგენ-რეცეპტორის საშუალებით, რომელიც წარმოადგენს ლიგანდ-დამოკიდებულ ტრანსკრიფციის ფაქტორს. ნაჩვენებია იყო, რომ  $\beta$ -უჯრედებში შემცირებული რაოდენობის ანდროგენ-რეცეპტორების მქონე მამრ ვირთაგვებში, ისევე როგორც ადამიანის კულტურის შემთხვევაში, ეს რეცეპტორები მნიშვნელოვან როლს თამაშობს ტესტოსტერონის პოტენცირების გამოვლენისათვის გლუკოზით სტიმულირებული ინსულინის სეკრეციის (GSIS - glucose-stimulated insulin secretion) გაძლიერებისათვის (ტესტოსტერონი გლუკოზის დაბალი კონცენტრაციის პირობებში იწვევს ინსულინის ისეთივე სეკრეციას როგორსაც გამოიწვევდა გლუკოზის შედარებით მაღალი კონცენტრაციები. ეს ეფექტი დაფუძნებულია  $\beta$ -უჯრედებში cAMP კონცენტრაციის მატებაზე და პროტეინ კინაზა A-ს (PKA)-ს აქტივაციაზე, რომელიც, თავის მხრივ, ზრდის GLP-1 (glucagon-like peptide-1) ეფექტს. ამ აღმოჩენას შეიძლება ჰქონდეს მნიშვნელოვანი კლინიკური და ფარმაკოლოგიური ღირებულება შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის პრევენციისათვის ასაკოვან მამაკაცებში (Navarro et al., 2016).

ზოგიერთი გამოკვლევით, ტესტოსტერონი, გარდა ინსულინის სეკრეციის სტიმულაციისა, პირდაპირ გავლენას ახდენს  $\beta$ -უჯრედებზე (Mauvais-Jarvis et al., 2016). ანდროგენების დამთრგუნველი თერაპიის შემდეგ ვლინდება ჰიპერგლიკემია და  $\beta$ -უჯრედების ფუნქციის დარღვევა, რაც მათი აპოპტოზის გაძლიერებით უნდა იყოს გამოწვეული (Inaba et al., 2005). ამასვე ადასტურებს ის კვლევებიც, სადაც ნაჩვენებია თუ ტესტოსტერონის ჩანაცვლებითი თერაპიით როგორ აღიკვეთება სტრეპტოზოტოცინით გამოწვეული  $\beta$ -უჯრედების ადრეული აპოპტოზური დაზიანება კასტრირებულ ვირთაგვებში (Morimoto et al., 2005).

გ. ნავარო და თანაავტორები იკვლევდნენ გლუკოზის ჰომეოსტაზს 12 კვირის მამრ თაგვებში, რომელთაც  $\beta$ -უჯრედებში არ ქონდათ ანდროგენ-რეცეპტორი ( $\beta$ ARKO<sup>-/-</sup> ხაზის ცხოველები). ეს ის ასაკია, რომელსაც მოსდევს ცხიმის ნაგვიანევი განვითარება და ინსულინრეზისტენტობა - ანდროგენ-რეცეპტორის სრული ან ნაწილობრივი დეფიციტის ფონზე. 9 კვირის განმავლობაში, დიეტით გამოწვეული მეტაბოლური სტრესის პირობებში,  $\beta$ ARKO<sup>-/-</sup> თაგვებმა, საკონტროლო ჯგუფის თაგვებისგან განსხვავებით, გამოავლინეს როგორც ინსულინის კონცენტრაციის, ისე ჰიპერგლიკემიის შემცირება, როგორც შიმშილის ასევე მაძღრობის შემდეგ. ამდენად, დადასტურდა, რომ  $\beta$ -უჯრედებში ანდროგენ-რეცეპტორების დეფიციტის მქონე თაგვები ავლენენ ინსულინის დეფიციტის ტენდენციას, მაშინ, როდესაც „western“ დიეტისთვის დამახასიათებელია გლუკოზით სტიმულირებული ინსულინის სეკრეციის (GSIS) შემცირება და გლუკოზისადმი ტოლერანტობის განვითარება, მიუხედავად იმისა, რომ  $\beta$ -უჯრედების რაოდენობა არ იცვლება (Navarro et al., 2016).

აღსანიშნავია, რომ ანდროგენ-რეცეპტორის ინსულინტროპული ეფექტი ადამიანის ლანგერჰანსის კუნძულებში ვლინდება ტესტოსტერონის ფიზიოლოგიური კონცენტრაციის შემთხვევაში. ეს ამტკიცებს, რომ

ტესტოსტერონი მნიშვნელოვანია მამაკაცებში გლუკოზით სტიმულირებული ინსულინის სეკრეციის (GSIS) ნორმის ფარგლებში შესანარჩუნებლად. ანდროგენების ნაკლებობა კი იწვევს გლუკოზით სტიმულირებული ინსულინის სეკრეციის (GSIS) დაქვეითებას, რაც ხელსაყრელ პირობებს ქმნის შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის განვითარებისთვის.

ფრიად მნიშვნელოვანია იმის გაცნობიერება, რომ გლუკოზის მეტაბოლიზმზე ტესტოსტერონი გავლენას ახდენს არა მხოლოდ პანკრეასის  $\beta$ -უჯრედების ანდროგენ-რეცეპტორებზე ზემოქმედებით. გლუკოზის კონცენტრაციის დაქვეითება ტესტოსტერონის ინიექციის შემდეგ აიხსნება იმითაც, რომ ტესტოსტერონი ზემოქმედებს ღვიძლის ანდროგენ-რეცეპტორებზე და ხელს უწყობს ჰეპატოციტებში ინსულინ-რეცეპტორების m-RNA სინთეზს, რომელიც, თავის მხრივ, იწვევს ჰეპატოციტების მგრძობელობის გაზრდას ინსულინის მიმართ. ამ პირობებში ინსულინის მინიმალური კონცენტრაციაც საკმარისია რომ გაიზარდოს გლუკოზის მოხმარება ღვიძლის უჯრედების მიერ (Kapoor et al., 2006; Sato et al., 2008).

აღსანიშნავია, რომ მამაკაცებისგან განსხვავებით, ქალების  $\beta$ -უჯრედებში ანდროგენ-რეცეპტორების დაბალი დონე არ ცვლის გლუკოზით სტიმულირებული ინსულინის სეკრეციას (GSIS). მიზეზი მდგომარეობს იმაში, რომ მდებარე ვირთაგვებში ანდროგენების კონცენტრაცია შრატში და ქსოვილში იმაზე ნაკლებია ვიდრე საჭიროა ანდროგენ-რეცეპტორის აქტივაციისთვის (Mauvais-Jarvis et al., 2011). ეს მონაცემები ადასტურებს სხვა კვლევების შედეგებს, რომლებიც მიუთითებს, რომ სხვადასხვა სქესის ორგანიზმის ორგანოებში განსხვავებული რაოდენობითაა წარმოდგენილი ანდროგენ- და ესტროგენ-რეცეპტორები.

როგორც აღვნიშნეთ, ტესტოსტერონის მაღალი კონცენტრაცია მამაკაცებში კორელაციაშია ინსულინის მიმართ მომატებულ მგრძობელობასთან. ამასთანავე, ტესტოსტერონ 17 $\beta$  ექვემდებარება არომატიზაციას ესტრადიოლად (E2) და ეს რეაქცია მნიშვნელოვანია მამაკაცებში ენერგეტიკული ჰომეოკინეზის დაბალანსებისათვის (Navarro et al., 2015).

კასტრირებულ მამრ მღრღნელებს, რომელსაც უკეთებდნენ “სუფთა” ანდროგენს (DHT), რომელიც არ გარდაიქმნება ესტრადიოლად არ უვითარდებოდათ სიმსუქნე, იმ მღრღნელებისგან განსხვავებით, რომელსაც უკეთებდნენ ტესტოსტერონს. ეს მიუთითებს იმას, რომ ცხიმის დაგროვება კასტრაციის შემდეგ გამოწვეულია ტესტოსტერონის გარდაქმნით ესტრადიოლად, რომელიც უკვე გავლენას ახდენს ესტროგენ-რეცეპტორებზე. ეს დაკვირვება ეთანხმება ალოქსანით გამოწვეულ შაქრიანი დიაბეტის მოდელის კვლევისას მიღებულ მონაცემებს, რომლის თანახმადაც ესტრადიოლის კონცენტრაციის მატების პარალელურად კლებულობს ტესტოსტერონის კონცენტრაცია (Hayes et al., 2000; Hayes et al., 2001).

Wistar-ის ჯიშის მამრ ვირთაგვებში ალოქსანის 200 მგ/კგ ინტრაპერიტონეალური ინიექციის შემდეგ (Latsabidze et al., 2016), ისევე როგორც Sprague-Dawley ჯიშის მდედრ ვირთაგვებში სტრეპტოზოტოცინის 50 მლ/ლ ინტრაპერიტონეალური ინიექციის შემდეგ, ნანახი იქნა ნეკროზული  $\beta$ -უჯრედები. ნაკლები ინტენსივობის დაზიანება იქნა ნანახი ღვიძლის და თირკმელის მილაკების ეპითელურ უჯრედებში. ამრიგად, დადასტურებულია, რომ ალოქსანის და სტრეპტოზოტოცინის ინიექცია მოზრდილ ვირთაგვებში იწვევს მძიმე და შეუქცევად შაქრიან დიაბეტს, რომელიც შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1-ის მსგავსია (Portha et al., 1974; Wilson et al., 1990; Haligur et al., 2012).



β-უჯრედების კვდომა, რომელიც შეიძლება გამოხატული იყოს ნეკროზით ან კასპაზ (caspase) დამოკიდებული აპოპტოზით, წარმოადგენს ექსპერიმენტული შაქრიანი დიაბეტის საბოლოო სტადიას, რაც თანხვედრაშია გლუკოზის მეტაბოლიზმის მნიშვნელოვანი მოშლასთან (Haligur et al., 2012).

ცნობილია, რომ ინსულინს და გლუკაგონს საპირისპირო მოქმედება აქვს გლუკოზის ჰომეოსტაზზე ღვიძლში. ინსულინის დაბალი დონე და გლუკაგონის მაღალი დონე შიმშილის დროს ღვიძლში იწვევს გლუკონეოგენეზს და გლიკოგენოლიზს, რაც ხელს უშლის ჰიპოგლიკემიის განვითარებას. ამგვარად, უზმოდ გლუკოზის დონე განისაზღვრება ღვიძლის მიერ გენერირებული გლუკოზის დონის მიხედვით. ჭამის შემდეგ გლუკოზა მთავარი ფაქტორია, რომელიც ასტიმულირებს პანკრეასის β-უჯრედებში ინსულინის სინთეზს და სეკრეციას. სინთეზირებული ინსულინი ურთიერთქმედებს პერიფერიული ქსოვილების ინსულინ-რეცეპტორებთან (ჩონჩხის კუნთები და ცხიმოვანი ქსოვილი), იწვევს ტრანსმემბრანულ და უჯრედშიგა რეაქციებს, რაც ხელს უწყობს გლუკოზის შთანთქმას და გლუკოზის უტილიზაციას საკვების მიღების შემდეგ, რითაც ინარჩუნებს გლუკოზის ჰომეოსტაზს (Rovira-Llopis et al., 2017).

შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1-ის დროს, პანკრეასის კუნძულების დაზიანებული β-უჯრედები აღარ ახდენს ინსულინის სინთეზს და სეკრეციას. შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის დროს კი, β-უჯრედები კარგავს უნარს ადეკვატურად უპასუხონ გაზრდილ პერიფერიულ ინსულინრეზისტენტობას. სისხლში გლუკოზის მომატებული რაოდენობა ხელს უწყობს პრო-ანთებითი ციტოკინების სეკრეციას β-უჯრედებიდან, რაც იწვევს მონონუკლეური უჯრედების აქტივაციას და ადგილობრივად ციტოკინების პროდუქციის კიდევ უფრო გაზრდას. ეს ანთებითი რეაქცია იწვევს β-უჯრედების შემდგომ დაზიანებას.



ამგვარად, შაქრიანი დიაბეტი კომპლექსური მეტაბოლური დარღვევაა, რომელიც ხასიათდება ინსულინის პროდუქციისა და სეკრეციის შემცირებით, რაც აისახება მრავალი უჯრედის ფუნქციონირებაზე. ზოგიერთ შემთხვევაში გლუკაგონის გაზრდილი კონცენტრაცია ხელს უწყობს ჰიპერგლიკემიის სტაბილიზაციას. მაგრამ, გარდა ქრონიკული ჰიპერგლიკემიისა, შაქრიანი დიაბეტი ხასიათდება ნახშირწყლების, ცხიმის და ცილების მეტაბოლიზმის დარღვევით, რაც გამოწვეულია ინსულინის სეკრეციის დეფიციტით და/ან მისი მოქმედების მექანიზმის დაზიანებით. დაავადება ადრეულ სტადიაზე ყველაზე ხშირად შეიძლება გამოვლინდეს გლუკოზისადმი ტოლერანტობის დარღვევით. შაქრიანი დიაბეტი იწვევს გრძელვადიან დაზიანებებს, მრავალი ორგანოს დაზიანებას და დისფუნქციას, რომელთა შორისაც, როგორც ზემოთ აღინიშნა განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია თვალების, თირკმელების, ღვიძლის, გულის და სისხლძარღვების დაზიანება (Bennett P.H. and Knowler W.C., 2005). შაქრიანი დიაბეტის დროს ორგანოთა დაზიანების პათოგენეზში მრავალი ფაქტორი მონაწილეობს (Cheville N. F., 2009), მით უფრო, თუ გავითვალისწინებთ, რომ შაქრიანი დიაბეტის დროს ზიანდება როგორც გლუკოზის ინსულინდამოკიდებული ტრანსპორტის (მაგ. კუნთოვანი ქსოვილი), ისე ინსულინდამოუკიდებელი ტრანსპორტის ორგანოები.

იმის გამო, რომ შაქრიანი დიაბეტი კომპლექსური დაავადებაა და იწვევს მრავალი ორგანოს უჯრედულ დაზიანებას, მისი პათოგენეზური მექანიზმები სავარაუდოდ ინტერაქტიურია. შაქრიანი დიაბეტის დროს პანკრეასის კუნძულების  $\beta$ -უჯრედების დაზიანების მექანიზმების კვლევა დღესაც აქტუალურია. ერთ-ერთ მნიშვნელოვან მექანიზმადაა მიჩნეული კასპაზდამოკიდებული აპოპტოზის მექანიზმი. კასპაზა (caspase) წარმოადგენს ცისტეინ პროტეაზის ნაწილს, რომელიც ძირითადად ჩართულია აპოპტოზის

პროცესის საწყის ეტაპზე (Thornberry N.A. and Lazebnik Y., 1998). ყველაზე „ეფექტურია“ Caspase-3, რომელიც წარმოადგენს მნიშვნელოვან პროტეაზას, რომელიც „თიშავს“ მრავალი უჯრედული სუბსტრატის, ასევე დნმ-ის აღდგენასთან და რეგულაციასთან დაკავშირებულ კომპონენტების ურთიერთობას, რითაც იწვევს უჯრედის „დაპროგრამებულ“ სიკვდილს (Woo et al., 1998; Zhang et al., 2005). უჯრედების დაზიანებაში ასევე მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ ციკლოოქსიგენაზას ენზიმები. არსებობს სამი სხვადასხვა COX ენზიმი, რომლებიც ცნობილია როგორც COX-1, COX-2 და COX-3. ეს ენზიმები პასუხისმგებელია ისეთი პროსტანოიდების (მნიშვნელოვანი ბიოლოგიური შუამავლების) შექმნაზე, როგორიცაა პროსტაგლანდინები, პროსტაციკლინი და თრომბოქსანი. COX-ის ფარმაკოლოგიურ ინჰიბირებას შეუძლია ანთების და ტკივილის სიმპტომების შემსუბუქება (Morita I., 2002).

პირდაპირი მტკიცებულებები იმისა, რომ შაქრიანი დიაბეტის დროს ციტოპლაზმური  $Ca^{2+}$  იწვევს ინსულინის გრანულების ეგზოციტოზს, დადასტურებულ იქნა  $\beta$ -უჯრედებზე - დიაბეტის ექსპერიმენტულ მოდელებში. ამ უჯრედების პლაზმური მემბრანა შედარებით ადვილად შელწევადია, მემბრანული პოტენციალი ვარირებს ფართო დიაპაზონში და აგრეთვე, შესაძლებელია ციტოზოლური პატარა მოლეკულების კონცენტრაციის კონტროლი (Tamagawa et al., 1985). G პროტეინთან დაწყვილებული რეცეპტორი (GPCR) წარმოადგენს კალციუმის მიმართ მგრძობიარე რეცეპტორს (CaSR- calcium sensing receptor), რომელიც მონაწილეობს კალციუმის როგორც უჯრედშიგა, ისე უჯრედგარეთა ჰომეოსტაზის CaSR-თან დაკავშირებულ რეგულაციაში, რომლის დარღვევაც მნიშვნელოვან როლს თამაშობს უჯრედების დაზიანებაში. თუმცა, ასევე ნანახია სხვადასხვა ორგანოებში, რომლებიც არ იღებს მონაწილეობას

კალციუმის სისტემურ ჰომეოსტაზში (Brown E.M., 1991; Chattopadhyay et al., 1996; Brown E.M. and Macleod R.J., 2001).

ჰიპოქსიის გამომწვევ ფაქტორ -  $1\alpha$ -ს (HIF- $1\alpha$ ) მნიშვნელოვანი როლი აქვს დეგენერაციასა და ტრანსკრიფციის გააქტიურებაში, რომელიც ხელს უწყობს ანგიოგენეზის აქტივაციას (Brahimi-Horn M.C. and Pouyssegur J., 2007; Semenza G.L., 2007). ჰიპერგლიკემიით გამოწვეული პრო-ანთებითი ციტოკინების გაძლიერებული გამოყოფა ხელს უწყობს HIF- $1\alpha$ -ს წარმოქმნას და პანკრეასის  $\beta$ -უჯრედების, ასევე სხვა ორგანოთა უჯრედების დაზიანებას. აღსანიშნავია, რომ HIF- $1\alpha$  -ის ექსპრესია ასევე ინდუცირდება ნორმალურ პირობებშიც, როცა უჯრედები სტიმულირდება ზრდის ფაქტორით, ანთებითი ციტოკინებით, ლაქტატით ან პროსტაგლანდინებით (Laughner et al., 2001).

### **სასქესო სტეროიდული ჰორმონების რეცეპტორები და მათი გამოკვლევის მეთოდები.**

კვლევებმა ცხადყო, რომ ემბრიონის პანკრეასისაგან განსხვავებით, ზრდასრული ორგანიზმის პანკრეასში სასქესო სტეროიდების რეცეპტორები კონცენტრირებულია კუნძულოვან უჯრედებში (El Seifi et al., 1981). დადასტურებულ იქნა მოცირკულირე სასქესო სტეროიდების კონცენტრაციის გავლენა პანკრეასის მიერ ინსულინისა და სხვა ჰორმონების გამომუშავებაზე (Lenzen et al., 1984). საინტერესოა აღინიშნოს, რომ ანდროგენ-რეცეპტორები უფრო მეტი რაოდენობით ვლინდება სიმსივნის დროს (როგორც პანკრეასის ქსოვილში, ისე მის კულტურაში), ვიდრე ნორმულად, რაც ადასტურებს მათ მნიშვნელობას (აქტიურ მონაწილეობას) პათოლოგიურ პროცესში (Greenway et al., 1981; Andren-Sandberg et al., 1982; Corbishley et al., 1984).

ანდროგენების კონცენტრაციათა ცვლილებების კორელაციამ პანკრეასის

β-უჯრედების დაზიანებასთან და შაქრიან დიაბეტთან, ცხადია, გამოიწვია სასქესო ჰორმონების რეცეპტორების გამოკვლევით დაინტერესება. აღმოჩნდა, რომ პანკრეასი განეკუთვნება ე.წ. „ქალურ“ ორგანოებს, რომელშიც ესტროგენ-რეცეპტორების რაოდენობა მნიშვნელოვნად აღემატება ანდროგენ-რეცეპტორების რაოდენობას. გაირკვა, რომ ესტროგენ-რეცეპტორი ERα წარმოადგენს ერთ-ერთ ძირითად მოლეკულას, რომელიც ჩაბმულია გლუკოზისა და ლიპიდების მეტაბოლიზმში. პანკრეასის β-უჯრედების ძირითადი ფუნქციაა ინსულინის ბიოსინთეზი და გამონთავისუფლება. ინსულინი ერთადერთი ჰორმონია, რომელიც პირდაპირ ამცირებს სისხლში გლუკოზის დონეს. ესტროგენ-რეცეპტორები ERα და ERβ განლაგებულია β-უჯრედებში. ERβ-ს ფუნქცია დღემდე უცნობია, ხოლო ERα მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ინსულინის ბიოსინთეზის, ინსულინის სეკრეციისა და β-უჯრედების გადარჩენის რეგულაციაში. ესტროგენის და პროგესტერონის რეცეპტორები აღმოჩენილ იქნა ადამიანის პანკრეასის ადენოკარცინომის ქსოვილში. სასქესო სტეროიდების რეცეპტორების კვლევის ახალი მგრძობიარე მიკროანალიზის ტექნიკის გამოყენებამ ასევე გამოავლინა ანდროგენ-რეცეპტორებიც ხუთი ადამიანის პანკრეასის ადენოკარცინომის ნიმუშებში, მათ შორის სამ მამაკაცში; ერთ შემთხვევაში ანდროგენ-რეცეპტორები აღმოჩენილ იქნა პანკრეასის ქსენოტრანსპლანტატში, მოგვიანებით ანდროგენ-რეცეპტორები გამოვლინდა ზრდასრული პანკრეასის ხუთ ნიმუშში, მათ შორის ორ მამაკაცში და ორივე სქესის ნაყოფის პანკრეასის ქსოვილში. ამასთანავე, მათი რაოდენობა ჩამორჩებოდა ესტროგენ-რეცეპტორების რაოდენობას (Corbishley et al., 1986). ანდროგენ-რეცეპტორი (AR) არის ლიგანდ-დამოკიდებული ტრანსკრიფციის ფაქტორი, რომელიც განკარგავს სპეციფიკური გენების ექსპრესიას. ანდროგენ-რეცეპტორის კავშირი მისთვის სპეციფიკურ და ბუნებრივ ლიგანდთან

ტესტოსტერონთან და 5 $\alpha$ -დიჰიდროტესტოსტერონთან (DHT), ხელს უწყობს მამაკაცის სქესობრივ განვითარებას და დიფერენციაციას. ტესტოსტერონი ძირითადად სინთეზდება სათესლეს ლეიდიგის უჯრედებში, და ეს პროცესი რეგულირდება მალუთეინიზირებელი ჰორმონით (LH), რომელიც, თავის მხრივ, გამომუშავდება ჰიპოფიზის წინა წილის მიერ. LH სეკრეცია, თავის მხრივ, რეგულირდება გონადოტროპინ განმანთავისუფლებელი ჰორმონით (GnRH). სინთეზირებული ტესტოსტერონი ძირითადად უკავშირდება სისხლის პლაზმაში არსებულ სექს-ჰორმონ შემაკავშირებელ გლობულინს (SHBG) და ალბუმინს და მათთან ერთად ქმნის სისხლში მოცირკულაციე კომპლექსს (Rosner et al., 1991; Baker et al., 2002).

უჯრედის შიგნით ტესტოსტერონი გარდაიქმნება ტესტოსტერონის უფრო ძლიერ 5 $\alpha$ -ნაკლულ მეტაბოლიტად, 5 $\alpha$ -დიჰიდროტესტოსტერონად (DHT). DHT უკავშირდება ანდროგენ-რეცეპტორს მაღალი აფინურობით, განაპირობებს ენერგოტევადი (სითბოს გამომყოფი) ცილების დისტანცირებას ანდროგენ-რეცეპტორიდან, ააქტიურებს ანდროგენ-რეცეპტორის N-ის და C-ის შემცველი დაბოლოებების ურთიერთქმედებას და იკავშირებს იმპორტინ- $\alpha$ -ს, რაც უზრუნველყოფს ანდროგენ-რეცეპტორის გადაადგილებას ბირთვში. ბირთვში გადაადგილებული ანდროგენ-რეცეპტორი მონაწილეობს მოლეკულურ-ბიოლოგიურ პროცესებში და ზეგავლენას ახდენს დნმ-ისა და რნმ-ის სინთეზზე (Srinivas-Shankar et al., 2006). მამრობითი სქესის დიფერენციაცია შეუძლებელია ანდროგენ-რეცეპტორის არარსებობისას. მამაკაცებში ანდროგენ-რეცეპტორის ფუნქციის სრული დაკარგვა იწვევს ანდროგენისადმი სრული უგრძობელობის სინდრომს (McPhaul et al., 1991; Brinkmann et al., 2001).

სასქესო სტეროიდები ხშირად განიხილება როგორც რეპროდუქციული სისტემის ფიზიოლოგიური მოქმედებების მოდერატორები. მათი რეცეპტორების გამოვლენა წლების განმავლობაში ხდებოდა ბიოქიმიური, იმუნოჰისტოქიმიური და ავტორადიოგრაფიული მეთოდების გამოყენებით. ბიოქიმიური კვლევის დროს სამიზნე ორგანოს ქსოვილები ჰომოგენიზდება და ხდება რეცეპტორების რაოდენობრივი ბიოქიმიური ანალიზი. ავტორადიოგრაფია იძლევა საშუალებას ბირთვული რეცეპტორების ლოკალიზაციის ზუსტი განსაზღვრისათვის სპეციფიკურ უჯრედებში, მაგრამ ვერ საზღვრავს ციტოზოლის რეცეპტორებს (Winborn et al., 1987; Ruizeveld de Winter et al., 1991).

**ანდროგენ-რეცეპტორების რაოდენობრივი შეფასებისათვის სამიზნე ორგანოს იმუნოჰისტოქიმიური კვლევა.**

ანდროგენ-რეცეპტორის ექსპრესიის გამოსავლენად იყენებენ ორმაგი იმუნოფერმენტული შეღებვის მეთოდს. კვლევა ეფუძნება პირშუშხას პეროქსიდაზას და ტუტე ფოსფატაზას გამოვლენას. ინკუბაციის შემდეგ ხდება არაპირდაპირი კონიუგირებული პეროქსიდაზის მეთოდის გამოყენება. ნაჭრები ინკუბირდება მონოკლონური ანტიდესმინური ანტისხეულით, რომელიც ზავდება 1:20 პროპორციით 37°C-ზე 30 წუთის განმავლობაში.

**რადიოიზოტოპური კვლევა ეფუძნება რადიოაქტიური ტესტოსტერონის ან ესტრადიოლის (5 $\alpha$ -დიჰიდრო ტესტოსტერონი ( $[^3\text{H}]$ DHT) და ესტრადიოლ-17 $\beta$  ( $[^3\text{H}]$ E $_2$ ) გამოსხივების რეგისტრაციას. გამოყენებული მეთოდიკების მიხედვით განარჩევენ რადიოგრაფიულ და რადიომეტრიული მეთოდებს.**

რადიომეტრიის დროს 4 მიკრომეტრი სისქის ნიმუშები დაჭრილ იქნა კრიოსტატით, დამონტაჟებულ იქნა სასაგნე მინებზე და დაფარულ იქნა NTB $_2$  „ბირთვული ბილიკის“ ამსახველი ემულსიით.



ანდროგენების ან ესტროგენების, ან ორივე რეცეპტორების რაოდენობრივი ანალიზი ხდებოდა ფოტოზე შესამჩნევი (გასარჩევი) ბირთვზე განლაგებული ვერცხლის მარცვლების მიკროსკოპში დათვლით (Arnold, A.P., 1981).

რადიომეტრიული ანალიზი ეფუძნება ანდროგენ- (ან ესტროგენ-) რეცეპტორთან შეჭიდული რადიოაქტიური ტესტოსტერონის (ან ესტრადიოლის) მიერ გამოსხივებული ენერჯის „დაჭერას“ სპეციალურ მთვლელში შემდგომი რაოდენობრივი ანალიზით. ამ მეთოდის დეტალური აღწერა იხილეთ თავში „მასალა და მეთოდები“.

ანდროგენ-რეცეპტორი მონაწილეობს უჯრედული პროცესების ფართო სპექტრში, როგორცაა პროლიფერაცია, დიფერენციაცია და აპოპტოზი. ანდროგენ-რეცეპტორების კვლევამ პანკრეასის  $\beta$ -უჯრედებში შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1-ის ექსპერიმენტულ მოდელზე, რომელიც გამოწვეული იყო სტრეპტოზოტოცინის დაბალი დოზების მრავალჯერადი ინიექციით, გამოავლინა კორელაცია ანდროგენ-რეცეპტორსა და  $\beta$ -უჯრედების აპოპტოზ/პროლიფერაციას შორის. კერძოდ, აღმოჩნდა, რომ ანდროგენ-რეცეპტორის ექსპრესიამ  $\beta$ -უჯრედებში პიკს მიაღწია ერთდღიანი შაქრიანი დიაბეტის პირობებში, შემდეგ კი თანდათანობით და მნიშვნელოვნად შემცირდა, და საერთოდაც გაქრა შაქრიანი დიაბეტის მოგვიანებით ვადებზე. ამასთანავე, TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling) - პოზიტიურ  $\beta$ -უჯრედებს თან ახლდა ანდროგენ-რეცეპტორების გაძლიერებული ექსპრესია, ხოლო Ki67-დადებით  $\beta$ -უჯრედებში კი ანდროგენ-რეცეპტორები ძალიან სუსტად, ან თითქმის არ ვლინდებოდა (Li et al., 2008). ზოგიერთი მკვლევარის აზრით ანდროგენ-რეცეპტორი შეიძლება გახდეს  $\beta$ -უჯრედების აპოპტოზის ერთ-ერთი ხელშემწყობი, ხოლო ანდროგენ-რეცეპტორის ანტაგონისტი ფლუტამიდი  $\beta$ -უჯრედების პროლიფერაციის ხელშემწყობი. შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1-ის



განვითარებისას, ანდროგენ-რეცეპტორების ექსპრესიის შემცირება კორელაციაშია  $\beta$ -უჯრედების აპოპტოზის შემცირებასთან და ამავე უჯრედების პროლიფერაციასთან (Li et al., 2008).

3. ლინმა გამოიკვლია ანდროგენ-რეცეპტორის როლი ვირთაგვების ღვიძლში. მან მოახერხა მიზნობრივად „ამოელო“ ანდროგენ-რეცეპტორები ჰეპატოციტებიდან, რის შედეგადაც შექმნა ვირთაგვების ე.წ. H-AR<sup>-y</sup> ხაზი. 8 კვირიანი მაღალკალორიული კვების შემდეგ, მამრ H-AR<sup>-y</sup> ვირთაგვებს განუვითარდათ სიმსუქნე და ღვიძლის სტეატოზი (Lin et al., 2008).

ცნობილია, რომ ღვიძლის სტეატოზი აქვეითებს ინსულინისადმი მგრძობელობას (იწვევს ინსულინრეზისტენტობის გაზრდას, რაც ვლინდება ინსულინის მიერ ღვიძლისმიერი გლუკოზის პროდუქციის ვერ- ან ნაკლებად დათრგუნვით. მაღალკალორიულ დიეტაზე მყოფ H-AR<sup>-y</sup>-ს ჯიშის მამრ ვირთაგვებში გამოვლინდა უზმოდ ჰიპერგლიკემია და ინსულინრეზისტენტობა, რაც მიუთითებს გლუკოზის ჰომეოსტაზის და ინსულინისადმი მგრძობელობის დარღვევას. ამასთანავე ნაჩვენებია იქნა, რომ ფოსფატიდილინოზიტოლ 3-კინაზ-ის შემცირებული აქტივაცია, კორელაციაშია ღვიძლისმიერი გლუკოზის სეკრეციის გაძლიერებასთან და ინსულინრეზისტენტობის განვითარებასთან (Lin et al., 2008; Yu et al., 2013).

### თავი III

#### მასალა და მეთოდები

კვლევა ჩატარდა ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტის ალექსანდრე ნათიშვილის მორფოლოგიის ინსტიტუტის ბაზაზე.

ექსპერიმენტი განხორციელდა Wistar-ის ჯიშის თეთრ ვირთაგვებზე, ასევე გამოყენებულ იქნა საარქივო მასალა (ბიოლოგიის დოქტორის - ნელი დიდებულის ექსპერიმენტები; ქვემოთ მითითებული იქნება, თუ კვლევის რომელი ფრაგმენტი განხორციელდა საარქივო მასალაზე).

კვლევის გეგმა დამტკიცებულ იქნა ალექსანდრე ნათიშვილის მორფოლოგიის ინსტიტუტის ბიოეთიკის კომისიის სხდომაზე (2015 წლის 3 თებერვლის სხდომის თავმჯდომარე - პროფ. ნოდარ ჭიჭინაძე).

ექსპერიმენტული კვლევის დროს დაცული იყო ლაბორატორიული ცხოველების მოვლისა და ცდებში გამოყენების მოთხოვნები, რომელიც მოწოდებულია აშშ ეროვნული აკადემიების ეროვნულ კვლევათა საბჭოს მიერ დამტკიცებული გაიდლაინით (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (8th edn) by the National Research Council of the National Academies Washington, DC: National Academies Press, 2011 - NRC 2011).

კვლევა ჩატარდა მამრობითი სქესის მეორე პოსტპუბერტული პერიოდის ზრდასრულ Wistar-ის ჯიშის 100 ვირთაგვაზე, რომელთა წონა შეადგენდა 180-200 გრამს. ცხოველები განთავსებული იყვნენ ვივარიუმში, ინდივიდუალურ გალიებში სტანდარტულ ტემპერატურაზე 24°C, სინათლისა და სიბნელის 12-საათიანი მონაცვლეობის რეჟიმში. კვების რაციონს შეადგენდა კომბინირებული საკვები მღრღნელებისათვის (კომპანია KIKI -ის პროდუქცია). ცხოველების დაშვება საკვებთან და წყალთან იყო თავისუფალი.

საკვლევი ჯგუფების ცხოველებში შაქრიანი დიაბეტის მოდელირებას

ვახდენდით ალოქსანის (Chemos GmbH & Co.KG (Germany)) ერთჯერადი შეყვანით ინტრაპერიტონეალურად, დოზით 2,0 მგ 10 გ წონაზე (Furman B.L., 2015). ინიექციები ხორციელდებოდა ნიღბით ეთერის ნარკოზის პირობებში.

საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებს, ასევე ნარკოზის პირობებში, ინტრაპერიტონეალურად უკეთდებოდათ ფიზიოლოგიური ხსნარი;

ცხოველები, რომელთაც განუვითარდათ ალოქსანური დიაბეტი, დაყოფილ იქნა ოთხ ჯგუფად:

I ჯგუფი შეადგინა 20-მა ვირთაგვამ, რომელთა გამოკვლევა (ცდიდან გამოყვანა) ხდებოდა ალოქსანის ინტრაპერიტონეალური ინიექციიდან მე-15 დღეს;

II ჯგუფი შეადგინა 20-მა ვირთაგვამ, რომელთა გამოკვლევა (ცდიდან გამოყვანა) ხდებოდა ალოქსანის ინტრაპერიტონეალური ინიექციიდან 30-ე დღეს;

III ჯგუფი შეადგინა 20-მა ვირთაგვამ, რომელთა გამოკვლევა (ცდიდან გამოყვანა) ხდებოდა ალოქსანის ინტრაპერიტონეალური ინიექციიდან 45-ე დღეს;

IV ჯგუფი შეადგინა 20-მა ვირთაგვამ, რომელთაც, დაწყებული ალოქსანის ინტრაპერიტონეალური ინიექციიდან 31-ე დღეს, 15 დღის განმავლობაში უკეთდებოდა 0,5 მგ. სინთეზური რადიონერტული ანდროგენი - მეთილტრიენოლონი. ამ ჯგუფის ცხოველების გამოკვლევა (ცდიდან გამოყვანა) ხდებოდა ალოქსანის ინტრაპერიტონეალური ინიექციიდან 45-ე, ანუ მეთილტრიენოლონით მკურნალობის მე-15 დღეს.

ცდიდან გამოყვანამდე 1 სთ-ით ადრე, როგორც საკონტროლო, ისე საკვლევი ჯგუფების ყველა ცხოველს, ეთერის ნარკოზის პირობებში ინტრაპერიტონეალურად უკეთდებოდა  $3,7 \times 10^4$  Bq სინთეზური რადიოაქტიური ანდროგენი - მეთილტრიენოლონი [17 $\alpha$ -METHYL-3H] (R-1881).

ნარკოზში მყოფი ცხოველების ქვემო ღრუ ვენიდან ვიღებდით სისხლს მასში გლუკოზის, იმუნორეაქტიული ინსულინის (IRI), კორტიკოსტერონის,

ესტრადიოლისა (E2) და ტესტოსტერონის (T) კონცენტრაციების განსაზღვრისათვის.

სინთეზური რადიოაქტიური ანდროგენის - მეთილტრიენოლონის ინიექციიდან ერთი საათის შემდეგ, როგორც საკვლევი, ისე საკონტროლო ჯგუფის ცხოველების ცდიდან გამოყვანა ხდებოდა ეთერის ნარკოზის გაღრმავებით.

ცხოველების სიკვდილის დადგომისთანავე, მიკროქირურგიული ხელსაწყოების გამოყენებით ხდებოდა პანკრეასის და ღვიძლის ამოკვეთა. პანკრეასის გამოკვლევა ხდებოდა მასში დიაბეტური ცვლილებების დადასტურებისა და ამ ცვლილებების ხარისხის განსაზღვრის მიზნით. ღვიძლი კი შერჩეულ იქნა, როგორც ორგანო, რომლის უჯრედებშიც გლუკოზის ტრანსპორტი არაა პირდაპირ დამოკიდებული ინსულინზე (მისგან დამოუკიდებლად ხორციელდება).

ამოკვეთილი ორგანოები ექვემდებარებოდა შემდგომ დამუშავებას მორფოლოგიური და რადიომეტრული კვლევის მიზნით.

ექსპერიმენტული ცხოველების განაწილება საკვლევი ჯგუფების და ჩატარებული გამოკვლევების ჩვენებით წარმოდგენილია N1 ცხრილში.

სისხლში გლუკოზას ვსაზღვრავდით სტანდარტული გლუკოზოოქსიდაციური მეთოდით (Christensen N.J., 1967; 2009), იმუნორეაქტიული ინსულინის და ჰორმონების კონცენტრაციის განსაზღვრისათვის ვიყენებდით კომერციულ კიტ-ნაკრებებს: იმუნორეაქტიული ინსულინისა და სომატოტროპინისათვის - SEA-IRE-SORIN-ის ფირმის (საფრანგეთი); კორტიკოსტერონისათვის - RSL.,Inc. ფირმის (კალიფორნია), ტესტოსტერონისათვის - SORIN BIOMEDICA - ფირმის (იტალია); ესტრადიოლისათვის - ORIS Industrie S.A. International GIS ფირმის (საფრანგეთი). ასევე ვითვლიდით მდედრისა და მამრის სასქესო ჰორმონების კონცენტრაციათა თანაფარდობას სისხლში (E2/T).

### ცხრილი N1

ექსპერიმენტული ცხოველების განაწილება საკვლევი ჯგუფების და ჩატარებული გამოკვლევების მიხედვით

კვლევის ჯგუფები და ცხოველთა რაოდენობა	საკონტროლო ჯგუფი	I ჯგუფი ალოქსანის ინიექციიდან მე-15 დღეს	II ჯგუფი ალოქსანის ინიექციიდან 30-ე დღეს	III ჯგუფი ალოქსანის ინიექციიდან 45-ე დღეს	IV ჯგუფი ალოქსანის ინიექციის 31-ე დღიდან მეთილ- ტრიენოლონით მკურ- ნალობის მე-15 დღეს
რაოდენობრივი კვლევები	20	20	20	20	20
გლუკოზა	+	+	+	+	+
იმუნორეაქტიული ინსულინი	+	+	+	+	+
კორტიკოსტერონი	+	+	+	+	+
ესტრადიოლი	+	+	+	+	+
ტესტოსტერონი	+	+	+	+	+
დნმ	+	+	+	+	+
რნმ	+	+	+	+	+
ანდროგენ რეცეპტორი	+	+	+	+	+
ჰეპატოციტების პლოიდობა	+	+	+	+	+

ჰორმონების განსაზღვრის შედეგები აღებულია მორფოლოგიის ინსტიტუტის საარქივო მასალიდან.

ექსპერიმენტული შაქრიანი დიაბეტის პირობებში, ღვიძლში განვითარებული მეტაბოლური ცვლილებების შეფასებისათვის, ერთი მხრივ, და დიაბეტური დისმეტაბოლიზმის ანდროგენით (სინთეზური რადიოაქტიური მეთილტრიენოლონი) კორექციის პროცესში ანდროგენული რეცეპტორების მონაწილეობის შეფასებისათვის, მეორე მხრივ, ვახდენდით ღვიძლის ქსოვილში ნუკლეინური მჟავების სინთეზის ინტენსივობის და ანდროგენული რეცეპტორების რაოდენობის განსაზღვრას.

ანდროგენული რეცეპტორების რაოდენობის განსაზღვრის მიზნით ცხოველის ღვიძლის ხუთი წილის ცენტრალური და პერიფერიული უბნებიდან ვიღებდით ქსოვილის 3x5x5 მმ<sup>3</sup> ზომის ფრაგმენტებს. მასალის ნაწილს ვწონიდით,

ვახდენდით მის ჰომოგენიზაციას და ვათავსებდით სცინტილაციური სითხის 5 მლ-ის შემცველ მინის ფლაკონებში, რომლებსაც ვდებდით დანადგარ „ბეტა-2“-ში (რუსეთის მედიცინის მეცნიერებათა აკადემიის ЗАО “ВНИИМП-ВИТА”) ცენტრის წარმოება) რადიაქტიული იმპულსების რაოდენობის განსაზღვრისათვის. იმპულსების რაოდენობრივი შეფასება ხდებოდა იმპულსი/გრამი/წუთი ერთეულით (იმპ/გრ/წთ) (Benito et al., 2012).

ანდროგენ-რეცეპტორების განსაზღვრის შედეგები აღებულია მორფოლოგიის ინსტიტუტის საარქივო მასალიდან. ნუკლეინური მჟავების სინთეზის ინტენსივობის შეფასებისათვის, დნმ-ისა და რნმ-ის რაოდენობის შესწავლას ღვიძლის ქსოვილში ვახდენდით რადიაქტიული  $H^3$ -თიმიდინის (I.U.  $8.14 \times 10^{11}$  Bq/ml) და  $H^3$ - ურიდინის (I.U.  $8.8 \times 10^{11}$  Bq/ml) ჩართვის მიხედვით. ამისათვის, ანდროგენული რეცეპტორების რაოდენობის განსაზღვრის შემდეგ დარჩენილი მასალის ნაწილს ვწონდით, ვათავსებდით 5 მლ გარემო 199 ხსნარის შემცველ ფლაკონებში (Anisimov V.N. and Khavinson V.K., 2010) და ვუმატებდით რადიაქტიურ კომპონენტს: დნმ-ის რაოდენობის განსაზღვრისათვის -  $H^3$ -თიმიდინს (დოზით  $3.7 \times 10^5$  Bq/ml) (Benito et al., 2012; Didebulidze et al., 2015), ხოლო რნმ-ის რაოდენობის განსაზღვრისათვის -  $H^3$ - ურიდინს (დოზით  $3.7 \times 10^6$  Bq/ml.) (Benito et al., 2012; Didebulidze et al., 2015), ინკუბაციისათვის ფლაკონები თავსდებოდა თერმოსტატში  $+38^{\circ}C$ -ზე 90 წუთის განმავლობაში. ინკუბაციის შემდეგ ფრაგმენტები ირეცხებოდა ცივ ( $+4^{\circ}C$ ) მკვებავ არეში, ხდებოდა მათი ჰომოგენიზაცია და განთავსება სცინტილაციური სითხის 5 მლ-ის შემცველ მინის ფლაკონებში, რომლებიც თავსდებოდა დანადგარ „ბეტა-2“-ში რადიაქტიული იმპულსების რაოდენობის განსაზღვრისათვის.

ჰისტოლოგიური შესწავლისათვის პანკრეასის და ღვიძლის ქსოვილის ფრაგმენტებს ვაფიქსირებდით 7,2-7,4 pH ფოსფატურ ბუფერზე დამზადებულ ფორმალდეჰიდის 4%-იან ხსნარში (ფორმალინის 10%-იან ხსნარში), 24 საათის

განმავლობაში. ფიქსაციის შემდეგ მასალის გაუწყლოება მიმდინარეობდა ჯერ აღმავალი სპირტების (50<sup>0</sup> - 100<sup>0</sup>) ბატარეაში, შემდეგ კი - ქსილოლში. ქსოვილს ვაყალიბებდით პარაფინში. მიღებულ ბლოკებს ვჭრიდით 3-4 მკმ-ის სისქის ანათლებად და ვღებავდით ჰემატოქსილინ-ეოზინით. პრეპარატებს ვიკვლევდით „Micros“-ის ფირმის ტრინოკულარულ სინათლის მიკროსკოპში, რომელიც უზრუნველყოფილი იყო ციფრული ვიდეო კამერით. აღნიშნული კამერით ხდებოდა საკვლევი მასალის ფიქსირება ციფრულ ფორმატში (jpg, tif) და მისი შემდგომი თვისობრივი და რაოდენობრივი (მორფომეტრიული) ანალიზი.

პანკრეასის ქსოვილის ჰისტოლოგიურ ანათლებზე ვახდენდით კუნძულების იდენტიფიკაციას და მასში β-უჯრედების რაოდენობისა და დაზიანების ხარისხის შეფასებას.

კომპიუტერულ პროგრამა Adobe Photoshop და Image J software იქნა გამოყენებული (1-ა,ბ) პანკრეასის კუნძულების საშუალო ზომების (ჰისტოლოგიურ ანათლებზე კუნძულების ფართობის [იზომებოდა მკმ<sup>2</sup>]) განსაზღვრისათვის და (2-ა,ბ) შაქრიანი დიაბეტის მქონე ცხოველთა პანკრეასის კუნძულებში ნეკროზული უბნების გასაზომად (სურათი N1,2).

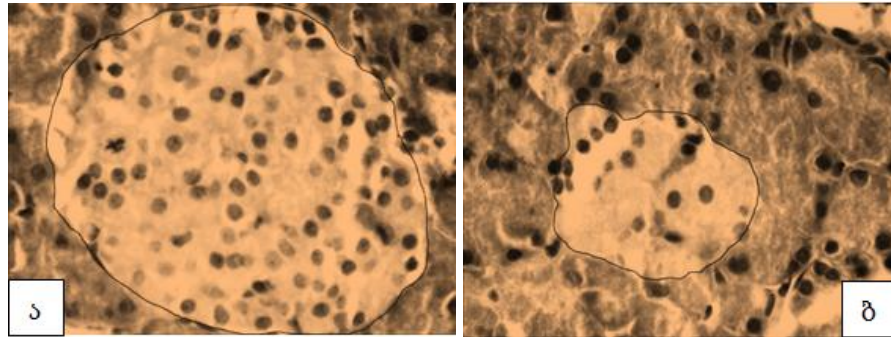
თითოეული ჯგუფიდან მორფომეტრიულ ანალიზს ექვემდებარებოდა 5 ცხოველი, თითოეული ცხოველის პანკრეასიდან და ღვიძლიდან ვსწავლობდით 10 ანათალს. შემოსაზღვრული ფართობის ზომებს კომპიუტერული პროგრამა აღრიცხავდა პიკსელებში და ავტომატურად გადაჰყავდა Microsoft Excel-ის ფორმატის ცხრილებში (სურათი N1,2; ცხრილი N2).

ღვიძლის დაზიანების ხარისხი ფასდებოდა 5-ბალიანი „ვიზუალური სკალით“, სადაც „1“ შეესაბამება „ნორმა“-ს (პრაქტიკულად ცვლილებების გარეშე), ხოლო „5“ – „მძიმე დეგენერაციულ“ (ნეკროზულ) ცვლილებებს.

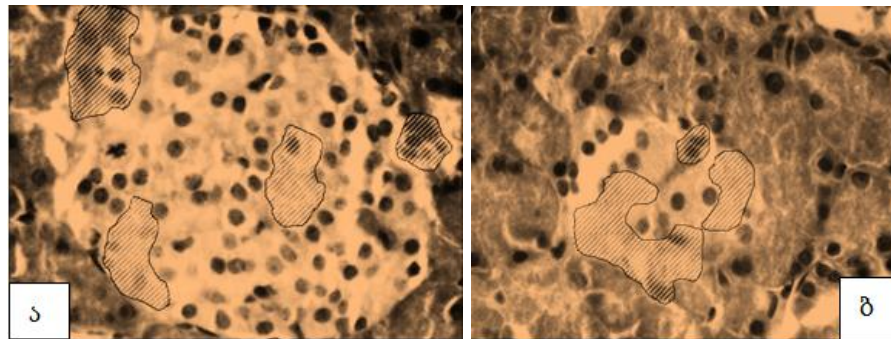
ღვიძლის ქსოვილში დამატებით ვსაზღვრავდით ჰეპატოციტების პლოიდობის მაჩვენებელს (ასეთი დამატებითი კვლევის საჭიროება გამოიწვია



ღვიძლში ნუკლეინური მჟავების სინთეზის ინტენსივობის კვლევის შედეგებმა).



**სურათი N1.** (ა,ბ) ფართობის გასაზომად შემოხაზულია პანკრეასის ლანგერჰანის კუნძული. H&E, ობიექტივი 20, ოკულარი 15; Adobe Photoshop.



**სურათი N2.** (ა,ბ) ფართობის გასაზომად შემოხაზულია პანკრეასის კუნძულებში ნეკროზული უბნები. H&E, ობიექტივი 20, ოკულარი 15; Adobe Photoshop.

**ცხრილი N2.** შემოსაზღვრული ფართობის ზომები მკმ<sup>2</sup>-ში (ნიმუში).

პროცესი	ნიმუში	კალიბრაცია	ფართობი	პერიმეტრი
გაზომვა	1.jpg	83 პიქსელი = 7,5000 მიკრონი	16571,29573	499,957045
გაზომვა	2.jpg	58 პიქსელი = 7,5000 მიკრონი	10128,14358	414,695169

ჰეპატოციტების პლოიდობის განსაზღვრისათვის, ვირთაგვას ღვიძლის 5x5x3 მმ ზომის ნაჭრებს თანმიმდევრულად ვათავსებდით ორ ბუფერში: I ბუფერში (p<sup>H</sup> 8,0 - 5%-იანი საქაროზის 100მლ + 0,07 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-ის 95 მლ + 0,07 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-ის 5მლ) 20 წუთის განმავლობაში, ხოლო II ბუფერში (p<sup>H</sup> 7,3 - 0,07 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-ის 80%-იანი ხსნარი + 0,07M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-ის 20%-იანი ხსნარი) 5 წუთის

განმავლობაში. გაჯირჯვებული ქსოვილის გამოწვლილვით მიღებულ „წვეთებს“ ვაწვეთებდით სასაგნე მინაზე და ვაკეთებდით ნაცხებს, რომელსაც ვაფიქსირებდით მეთანოლით. დნმ-ს სპეციფიკურად შეღებვისათვის ვიყენებდით შიფის რეაქტივს (ფიოლგენის რეაქციას). პრეპარატებს, ჰიდროლიზის მიზნით, ვათავსებდით 10M LiCl-სა და 2 M HCl -ის ნარევი (9:1) 30 წუთის განმავლობაში, შემდეგ ვავლებდით HCl-ის 0.01 M ხსნარში. საღებავში პრეპარატებს ვაჩერებდით 1 საათის განმავლობაში, შემდეგ ვავლებდით გოგირდოვან წყალში (5გ  $K_2S_2O_5$ -ს ემატება 950 მლ დისტილირებული წყალი და 50 მლ HCL) 3-ჯერ. ამის შემდეგ ვავლებდით HCL 0.01M ხსნარში, ვატარებდით აღმავალი კონცენტრაციის სპირტებში და ვფარავდით საფარი მინით.

ამ წესით შეღებილი პრეპარატების ფოტოგრაფირება ხდებოდა Micros-ის ფირმის სინათლის მიკროსკოპში (90X10) ინტერფერენციული ფილტრის გამოყენებით, რომელიც მხოლოდ ერთი სიგრძის (570 ნმ) ტალღის მქონე სინათლის სხივს ატარებს. თითოეული სურათი მუშავდებოდა კომპიუტერულ პროგრამა Image J-ში. გადაგვყავდა 32 bit-ში, ვახდენდით ინვერტირებას (ფონი მუქდება, ხოლო ბირთვები ღია ფერს იღებს), ვხაზავდით თითოეულ ბირთვს და ვზომავდით შეღებვის ინტენსიურობას.

აღწერილი მეთოდი საკმაოდ შრომატევადია. აღნიშნულის გამო ჩვენ ვცადეთ ჰეპატოციტების პლოიდობის შეფასება მათი ბირთვების ზომების (ჰისტოლოგიურ ანათლებში ბირთვების ფართობის) შედარებითი ანალიზით, პროგრამა Adobe Photoshop-ის გამოყენებით. ვახდენდით ჰემატოქსილინითა და ეოზინით შეღებილი პრეპარატების ინვერტირებას, რის შედეგადაც მუქ ფონზე კარგად იკვეთება ბირთვების კონტურები, შემოვხაზავდით თითოეულ ბირთვს და ვზომავდით შემოხაზულ ფართობს, რომლის ზომასაც პიქსელებში აღრიცხავდა Adobe Photoshop-ის პროგრამა და ავტომატურად გადაყავდა Microsoft Excel-ის ფორმატის ცხრილებში (სურათი N15; ცხრილი N4).

პილოტურმა ცდამ დაადასტურა, რომ ფოლგენის რეაქციით შეღებილი და შემდგომში ჩვენს მიერ მოდიფიცირებული (წინა აბზაცში აღწერილი) მეთოდით შეფასებული პლოიდობის მაჩვენებელი არ განსხვავდება ჩვენს მიერ შემოთავაზებული „გამარტივებული“ მეთოდით შეფასებული პლოიდობის მაჩვენებლისაგან. აღნიშნულის გამო კვლევა გავაგრძელებთ ამ უკანასკნელის გამოყენებით.

ყველა კვლევის (როგორც ბიოქიმიური, ისე მოლეკულურ-ბიოლოგიური და მორფოლოგიური) შედეგების სტატისტიკურ ანალიზს ვაწარმოებდით კომპიუტერული პროგრამის IBM SPSS 20-ის მეშვეობით.

## თავი IV

### შედეგები და განსჯა

შაქრიანი დიაბეტი ლანგერჰანსის კუნძულების  $\beta$ -უჯრედების პროგრესული დაზიანების შედეგია (Eisenbarth et al., 1987). სხვადასხვა მექანიზმი, რომელიც შემოთავაზებული იყო  $\beta$ -უჯრედების დაზიანების ახსნისათვის (Rabinovitch A., 1992; Mathis et al., 2001), საფუძვლად დაედო შაქრიანი დიაბეტის მოდელირებას ექსპერიმენტში.

შაქრიანი დიაბეტი პროგრესირებადი ქრონიკული დაავადებაა, თუმცა ექსპერიმენტულ მოდელებში დაწყებითი დაზიანებები შეინიშნება ადრეულ სტადიებზე. კვლევებმა აჩვენა, რომ ვირთაგვებში სტრეპტოზოტოცინით გამოწვეული შაქრიანი დიაბეტის პირობებში პანკრეასის კუნძულების მორფოლოგიური დაზიანება ვლინდება დაავადებიდან 3 დღეში (Komers et al., 2001; Ozmen et al., 2007). მსგავსი შედეგები შეინიშნა კვლევაში, სადაც, გლუკოზურია გამოვლინდა სტრეპტოზოტოცინის ინიექციიდან სამ დღეში. აღსანიშნავია, რომ შაქრიანი დიაბეტის პირობებში ზიანდება არა მხოლოდ პანკრეასის კუნძულები. ექსპერიმენტული დიაბეტის მე-3, მე-4 და მე-5 დღეს, ცვლილებების განვითარება ჰისტოლოგიურად და იმუნოჰისტოქიმიურად დადასტურდა ღვიძლის და თირკმელის ქსოვილებშიც. ლანგერჰანსის კუნძულებში, ღვიძლში და თირკმელში მოიმატა caspase-3-ის, COX-1-ის, COX-2-ის, CaSR-ის და HIF-1 $\alpha$ -ის ექსპრესიამ. ამ შედეგებმა განამტკიცა იდეა, რომ შაქრიანი დიაბეტის დროს უჯრედების დაზიანება იწყება დაავადების ძალიან ადრეულ ეტაპზე. კვლევების მიხედვით, შაქრიანი დიაბეტის პირობებში ორგანოთა დაზიანებას იწვევს ისეთი მექანიზმები, როგორცაა ჰიპოქსია, აპოპტოზი და კალციუმის შემოდინება (Komers et al., 2001; Ozmen et al., 2007).

სტრუქტოზოტოცინით გამოწვეული დიაბეტისაგან განსხვავებით, ალოქსანით აღძრული შაქრიანი დიაბეტის პირობებში დაზიანებას უფრო ქრონიკული ხასიათი აქვს. ალოქსანური დაზიანების დროს ადგილი აქვს პანკრეასის  $\beta$ -უჯრედების როგორც იშემიურ (ჰიპოქსია და კალციუმის შემოდინება უჯრედებში) და ტოქსიკურ (ალოქსანის უშუალო ზემოქმედება), ისე აპოპტოზურ დაზიანებას.

მიჩნეულია, რომ  $\beta$ -უჯრედების დაზიანება (დესტრუქცია) ძირითადად მიმდინარეობს კასპაზ-დამოკიდებული აპოპტოზის მექანიზმით (Maedler et al., 2001).

ექსპერიმენტული შაქრიანი დიაბეტის ალოქსანური მოდელი ერთ-ერთი ფართოდ გამოყენებული მოდელია მღრღნელებში შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1-ის გამოსაწვევად. ალოქსანი შერჩევითად აზიანებს პანკრეასის ლანგერჰანსის კუნძულების  $\beta$ -უჯრედებს. მისი ერთჯერადი ინიექცია იწვევს  $\beta$ -უჯრედების ტოქსიკურ და აპოპტოზურ ცვლილებებს, ჰიპოინსულინემიას და ჰიპერგლიკემიას (Etuk E.U., 2010), რაც, თავის მხრივ, აღძრავს დისმეტაბოლიზმური მექანიზმების კასკადს, მათ შორის ისეთ პროცესებსაც, რომლებიც ააქტიურებს  $\beta$ -უჯრედების აპოპტოზს (Bonner-Weir S. and Weir G.C., 2005). ამრიგად, ალოქსანური დიაბეტის მოდელში, რომელიც 1,5-დან 2 თვემდე, ზოგი დაკვირვებით კი - 3 თვემდე გრძელდება, „მონაწილეობს“  $\beta$ -უჯრედების როგორც ნეკროზული, ისე აპოპტოზური დაზიანებები (Morgan et al., 1994). შემდგომ ვადებზე ვითარდება რეგენერაციული პროცესები და პანკრეასის ლანგერჰანსის კუნძულები აღიდგენს ტიპურ სტრუქტურას.

როგორც ნაშრომის III თავში - „კვლევის მასალა და მეთოდები“ - აღვნიშნეთ, როგორც საკონტროლო, ისე კვლევითი ჯგუფების ცხოველებში (ექსპერიმენტის ყველა ვადაზე) ვაწარმოებდით მორფოლოგიურ (მიმოხილვითი

ჰისტოლოგია, მორფომეტრია, იმუნოჰისტოქიმია), ბიოქიმიურ და რადიოიზოტოპურ გამოკვლევებს.

პანკრეასისა და ღვიძლის ქსოვილის მორფოლოგიური ცვლილებები ალოქსანური დიაბეტის დინამიკაში და მისი მეთილტრიენოლონით მკურნალობის შემდეგ.

მორფოლოგიურად ვიკვლევდით პანკრეასისა და ღვიძლის ქსოვილებს; ბიოქიმიური კვლევის მეთოდებით ვსაზღვრავდით სისხლში გლუკოზის, იმუნორეაქტიული ინსულინის, ტესტოსტერონის, ესტრადიოლის და კორტიზოლის შემცველობას (კონცენტრაციებს), ხოლო რადიოიზოტოპური კვლევით ვახდენდით ღვიძლის უჯრედებში დნმ-ის და რნმ-ის, აგრეთვე, ანდროგენ-რეცეპტორების რაოდენობრივ შეფასებას (ყველა მეთოდი დეტალურად იყო აღწერილი III თავში).

საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში ჰემატოქსილინ-ეოზინით (H&E) შეღებილი ანათლების გამოკვლევამ აჩვენა, რომ პანკრეასს და ღვიძლს აქვს ნორმალური ჰისტოლოგიური სტრუქტურა.

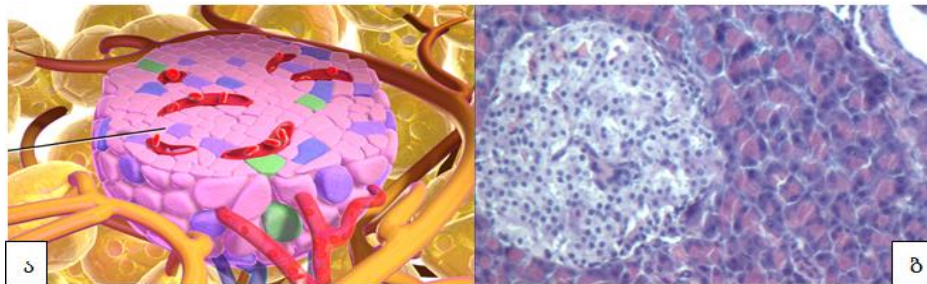
კერძოდ, ლანგერჰანსის კუნძულები პანკრეასის ქსოვილში გამოირჩევა როგორც არაკავსულირებული, მაგრამ ირგვლივმდებარე ქსოვილიდან კარგად გამოყოფილი, შედარებით ნათლად (მკრთალად) შეღებილი მრგვალი ან ოვალური ფორმის უბნები, რომლებიც ფორმირებულია ერთმანეთისაგან სისხლძარღვოვანი კაპილარებით გამოყოფილი სხვადასხვაგვარი უჯრედების ჯგუფებით. კუნძულები შედგება რამდენიმე ენდოკრინული ტიპის უჯრედებისგან ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\delta$ -,  $\epsilon$ - და პანკრეასული პოლიპეპტიდის [PP] უჯრედები), რომელთაგან თითოეული გამოიმუშავებს სპეციფიკურ ჰორმონს, რომელიც პასუხისმგებელია გლუკოზის ჰომეოსტაზის შენარჩუნებაზე შიმშილისა და მადრობის დროს. ამ უჯრედის ტიპებს შორის ბალანსის დაცვა მნიშვნელოვანია ორგანიზმის მეტაბოლური სტატუსისთვის (Bluestone et al., 2010; Ashcroft F.M. and Rorsman P.,



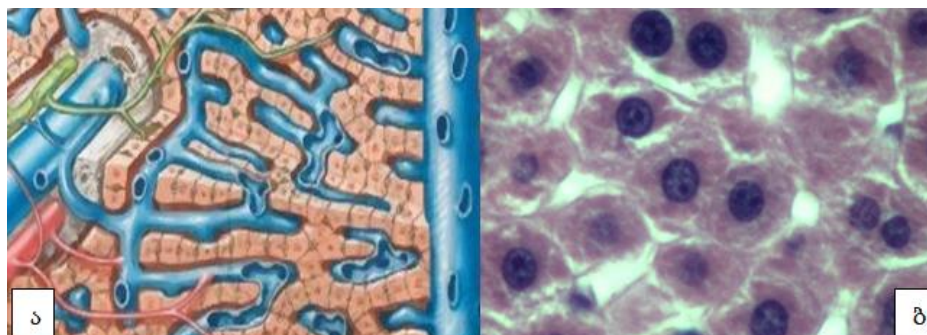
2012). ჩვენს პრეპარატებზე  $\beta$ -უჯრედებს, ძირითადად, უკავიათ კუნძულების ცენტრალური უბნები, თუმცა იშვიათად, მათი საშუალებით შექმნილი რიგი, როგორც „მოსაზღვრე ფირფიტა“, ისე გამოყოფს პანკრეასის კუნძულს ეგზოკრინული პანკრეასის ქსოვილისაგან.

ღვიძლის ფირფიტები ძირითადად წარმოდგენილია ჰეპატოციტთა ერთშირიანი ლაბირინთით, რომელიც დაცხრილულია სინუსოიდების ქსელით. ჰეპატოციტთა აბსოლუტური უმრავლესობა ერთბირთვიანია, ხოლო ბირთვები, ცალკეული გამონაკლისების გარდა - დიპლოიდურია.

ამდენად, საკონტროლო ჯგუფის ვირთაგვების როგორც პანკრეასის ლანგერჰანსის კუნძულის, ისე ღვიძლის სტრუქტურა სრულად შეესაბამება მღრღნელებში ამ ქსოვილთა სტანდარტულ სქემებს (სურათი N3; N4), რომლებიც მრავალი კვლევიტაა დადასტურებული.



**სურათი N3.** პანკრეასის კუნძულები ენდოკრინული უჯრედებით. ა - სქემა (მოწოდებულია Blausen.com staff -ის მიხედვით. ["Medical gallery of Blausen Medical 2014". WikiJournal of Medicine 1 (2). DOI:10.15347/wjm/2014.010. ISSN 2002-4436]); ბ - ჰისტოლოგიური პრეპარატი. H&E. ობიექტივი  $\times 10$ , ოკულარი  $\times 15$ .



**სურათი N4.** ღვიძლის ქსოვილი. ა - სქემა; ბ - ჰისტოლოგიური პრეპარატი. H&E. ობიექტივი  $\times 20$  ოკულარი  $\times 15$ .



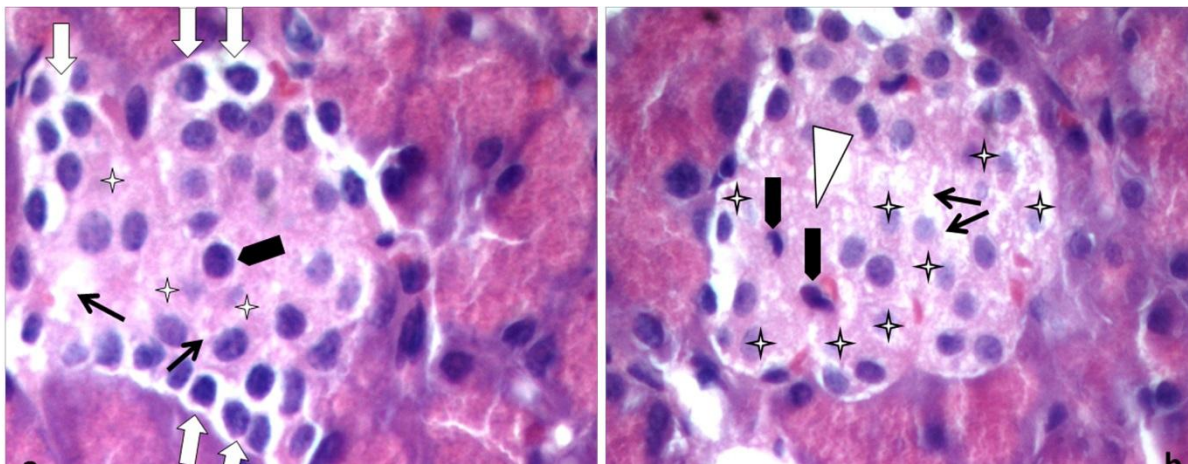
საკვლევი ჯგუფის ყველა ცხოველში, ალოქსანური დიაბეტის ყველა ვადაზე, გამოვლინდა დარღვევა პანკრეასის კუნძულებში. დესტრუქციული ცვლილებები, ძირითადად აღინიშნა  $\beta$ -უჯრედებში, რომელიც გამოიმუშავებს ინსულინს. ეს უნდა აიხსნას  $\beta$ -უჯრედებზე ალოქსანის სპეციფიკური დამაზიანებელი ეფექტით (სწორედ ეს სპეციფიკური ეფექტი უდევს საფუძვლად ექსპერიმენტული ალოქსანური დიაბეტის მოდელს) (Lenzen, S., 2008).

15-დღიანი ალოქსანური დიაბეტის მქონე ცხოველებში მიკროსკოპულმა გამოკვლევამ გამოავლინა ლანგერჰანსის კუნძულების  $\beta$ -უჯრედების დეგენერაციული და ნეკროზული დაზიანებები, განსაკუთრებით, მსხვილი სისხლძარღვების მიმდებარედ განლაგებულ კუნძულებში.  $\beta$ -უჯრედების ნაწილის ბირთვები ზომამში შემცირებულია, ნაწილში კი, პირიქით - მომატებულია შემუპების ხარჯზე. უჯრედთა ნაწილში აღინიშნება კარიოლიზისი;  $\beta$ -უჯრედების ნაწილი ნეკროზულია; ნაწილი განიცდის ვაკუოლიზაციას, ნაწილში კი აღინიშნება მუქად შეღებილი პიკნოზური ბირთვები. დეგენერაციული ცვლილებები ზოგჯერ უფრო მკვეთრად ვლინდება კუნძულების პერიფერიაზე, სადაც „თეთრი“ ფერის ვაკუოლიზებული უჯრედები წარმოქმნის ერთგვარ „სასაზღვრო ფირფიტას“ (ამ სახელს ვუწოდებთ ღვიძლის „სასაზღვრო ფირფიტის“ ანალოგიით), ხოლო ზოგჯერ ცენტრში, სადაც ვაკუოლიზებული ან ქაფისმსგავსი გამჭვირვალე ციტოპლაზმის მქონე უჯრედები გროვებადაა თავმოყრილი (სურათი N5).

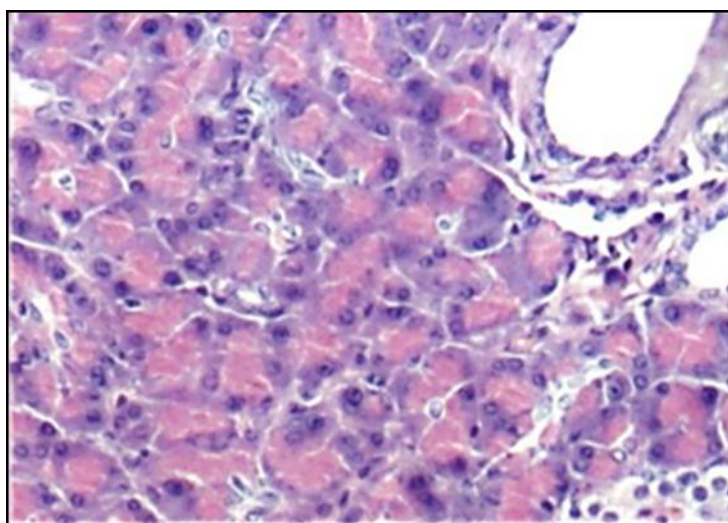
მიუხედავად დაზიანებულ უჯრედთა ნაწილის კოლიქვაციისა, ლანგერჰანსის კუნძულები შეჭმუხნილია, რის გამოც გამწვანებულია სისხლის კაპილარების როგორც სანათურის, ისე ენდოთელიოციტების იდენტიფიკაცია (სურათი N6).

ამ ფონზე, აღსანიშნავია, რომ პანკრეასის აცინუსის ეპითელიუმი, სხვადასხვა დიამეტრის სადინარები და შემაერთებული ქსოვილი ინარჩუნებს

ნორმალურ სტრუქტურას (სურათი N7). ზოგიერთი ეგზოკრინული აცინუსის უჯრედებში აღმოჩენილი ციტოპლაზმის ვაკუოლიზაცია, შეიძლება გამონაკლისად მივიჩნიოთ.



სურათი N5,6. პანკრეასის კუნძულების სტრუქტურა ალოქსანური დიაბეტის მე-15 დღეს. H&E. ობიექტივი x20 ოკულარი x15. (უჯრედების ნეკროზი ✦; უჯრედშორისი სივრცის შეშუპება ⤴; β-უჯრედების ჰიპერტროფია და ვაკუოლიზაცია ▮; β-უჯრედების პიკნოზური ბირთვები (არარეგულარული ჰიპერქრომული ბირთვები) ◼ ; კუნძულის ციტოპლაზმური დეგენერაციული ცვლილებები Δ).



სურათი N7. ნორმალური სტრუქტურის პანკრეასის აცინუსის ეპითელიუმი, სისხლძარღვები და შემაერთებული ქსოვილი. H&E. ობიექტივი x20, ოკულარი x15.

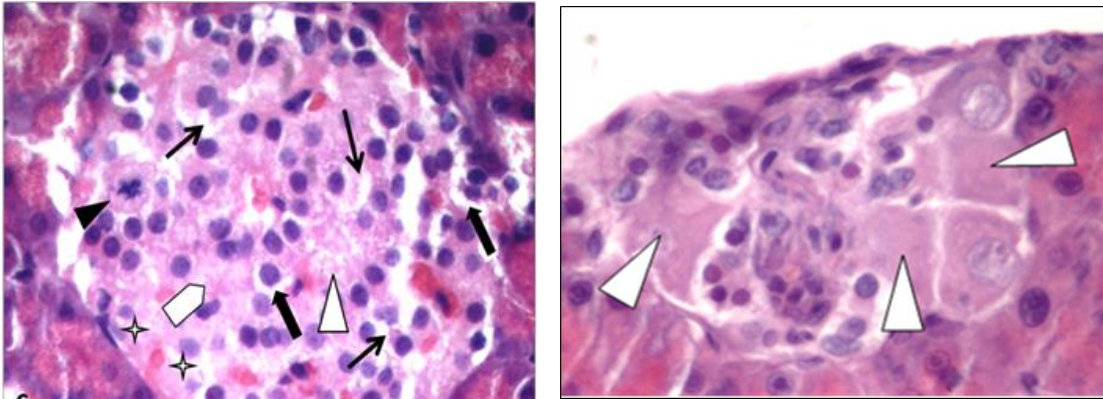
ყველა ეს ცვლილება ტიპურია მღრღნელებში ალოქსანური დიაბეტის მოდელისათვის, მიუთითებს ლანგენჰანსის კუნძულების მნიშვნელოვან დაზიანებაზე და ზუსტად შეესაბამება სისხლში ინსულინის და გლუკოზის კონცენტრაციის ცვლილებებს (იხ. ცხრილი N3 (წარმოდგენილია დანართის სახით) და ცხრილი N4; დიაგრამა N5).

დადასტურებულია, რომ ალოქსანის და სტრეპტოზოტოცინის ინიექცია მოზრდილ ვირთაგვებში იწვევს მძიმე და შეუქცევად შაქრიან დიაბეტს, რომელიც შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1-ის მსგავსია (Portha et al., 1974; Wilson et al., 1990; Haligur et al., 2012).  $\beta$ -უჯრედების კვდომა, რომელიც შეიძლება გამოხატული იყოს ნეკროზით ან კასპაზ დამოკიდებული აპოპტოზით, წარმოადგენს ექსპერიმენტული შაქრიანი დიაბეტის „ჩამოყალიბებულ“ სტადიას (Haligur et al., 2012). იმის გათვალისწინებით, რომ შაქრიანი დიაბეტის მე-15 დღეს გამოვლენილ იქნა ძირითადად ნეკროზული ცვლილებები, ხოლო აპოპტოზური „სხეულაკები“ აღმოჩენილ იქნა მხოლოდ ერთეულ უჯრედებში, უნდა დავასკვნათ, რომ ალოქსანური დიაბეტის მოდელს მე-15 დღეს, თავისი განვითარების პიკისთვის არ მიუღწევია.

30-დღიანი ალოქსანური დიაბეტის მქონე ცხოველების პანკრეასის კუნძულების მორფოლოგია ამჟღავნებს იმავე თავისებურებებს, რასაც 15-დღიანი ალოქსანური დიაბეტის მქონე ცხოველების პანკრეასის კუნძულების მორფოლოგია (სურათი N8 და სურათი N9).  $\beta$ -უჯრედების ნაწილში აღინიშნება მუქად შეღებილი პიკნოზური ბირთვები. ამასთანავე, ზოგიერთ კუნძულში დაზიანების ინტენსიობა განსაკუთრებით მაღალი იყო, რაც გამოიხატებოდა ნეკროზის უბნებისა და ნაკლები ხარისხით დაზიანებული უჯრედების გროვების მონაცვლეობით (ასეთი რამ ალოქსანური დიაბეტის მე-15 დღეს არ ყოფილა შემჩნეული) (სურათი N8). ალოქსანური დიაბეტის 30-ე დღეს, ასევე ვლინდება აპოპტოზური დაზიანების უბნებიც. სპეციალური (იმუნოჰისტოქიმიური) შედეგის არქონის გამო, ასეთი

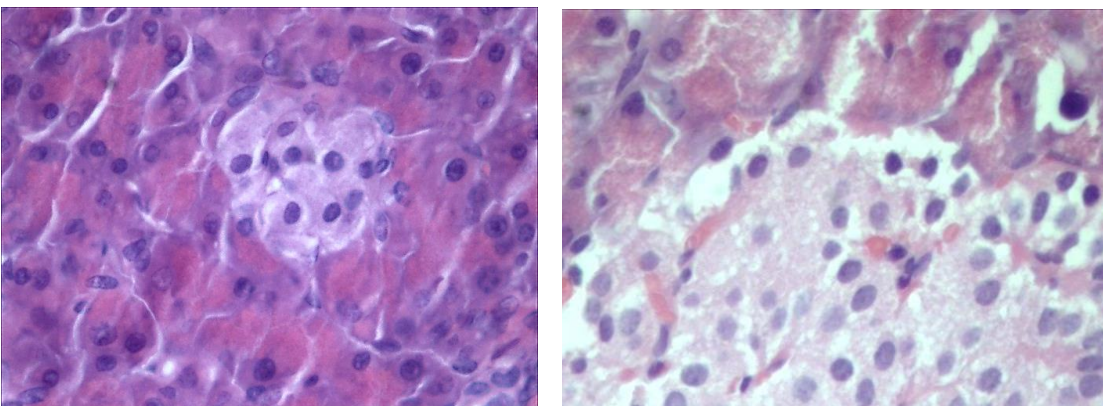


დასკვნა, სამწუხაროდ, მხოლოდ მორფოლოგიის ინსტიტუტში არსებული ჰისტოპათოლოგიური კვლევის გამოცდილებას ეფუძნება. თუმცა სხვა, ანალოგიური პრეპარატების გამოკვლევის შედეგებთან შედარების გათვალისწინებით, აპოპტოზური სხეულების რაოდენობის მატება წინა ვადასთან შედარებით, სარწმუნოდ უნდა მივიჩნიოთ.



**სურათი N8,9.** ნეკროზის უბნებისა და ნაკლები ხარისხით დაზიანებული უჯრედების გროვები. H&E. ობიექტივი x20 ოკულარი x15. (უჯრედების ნეკროზი ✦; უჯრედშორისი სივრცის შეშუპება ✧; β-უჯრედების პიკნოზური ბირთვები (არარეგულარული ჰიპერქრომატიული ბირთვები) ▴; კუნძულის ციტოპლაზმური დეგენერაციული ცვლილებები Δ; უჯრედის სიმკვრივის შესამჩნევი შემცირება □).

ალოქსანური დიაბეტის 45-ე დღეს კი პანკრეასის მორფოლოგიური სურათი პრაქტიკულად არ განსხვავდება 30-ე დღის სურათისაგან (სურათი N10,11).

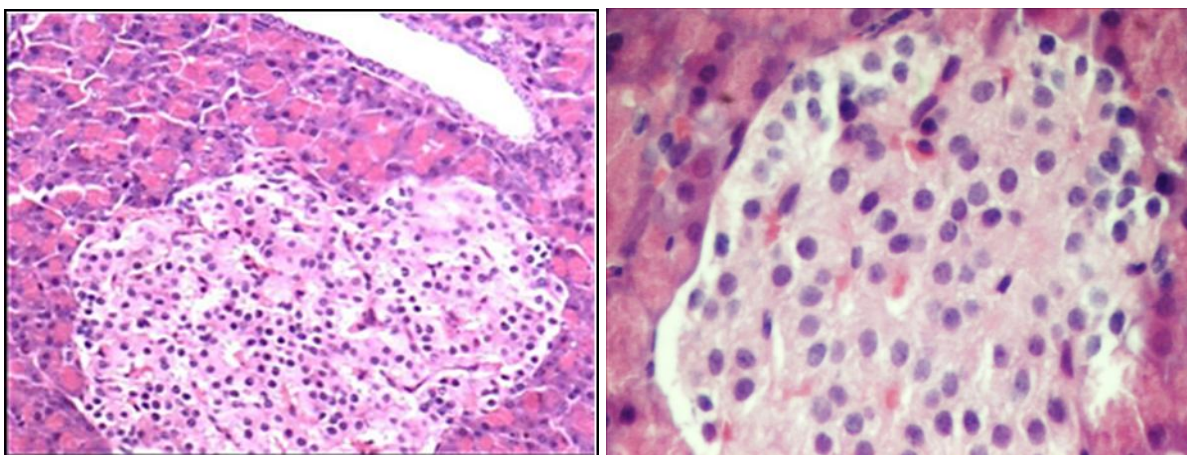


**სურათი N10,11.** H&E. ობიექტივი x20 ოკულარი x15.

დაზიანების ინტენსიობის მატების შეჩერება, სავარაუდოდ შეიძლება უკავშირდებოდეს ალოქსანის დამაზიანებელი ეფექტის „პლატოს“.

გასათვალისწინებელია ისიც, რომ ზოგიერთი ავტორი ვარაუდობს, რომ ალოქსანური დიაბეტის 45-ე დღიდან იწყება ალოქსანის დამაზიანებელი მოქმედების ეფექტის შემცირება და პანკრეასის  $\beta$ -უჯრედებისათვის “რეგენერაციის” ფაზა იწყება (Lenzen, S., 2008).

ტესტოსტერონით (მეთილტრიენოლონით) 15-დღიანი მკურნალობის ფონზე (ალოქსანური დიაბეტის 31-ე დღიდან 45-ე დღის ჩათვლით) აღინიშნება პანკრეასის კუნძულების სტრუქტურულ ცვლილებათა რევერსია. ნამკურნალები ვირთაგვების პანკრეასის მორფოლოგიურმა კვლევამ მნიშვნელოვანი გაუმჯობესება გამოავლინა: ლანგერჰანსის კუნძულების უჯრედების რაოდენობამ და, შესაბამისად, სიმკვრივემ მოიმატა; ვაკუოლიზებულ უჯრედთა რიცხვი მკვეთრად შემცირდა, ერთეულამდეა შემცირებული ნეკროზული  $\beta$ -უჯრედების რაოდენობა. პანკრეასის კუნძულების უმრავლესობას აქვს თითქმის სწორი კონტურები და ნორმალურის მსგავსი უჯრედული შემადგენლობა (სურ. N12,13).



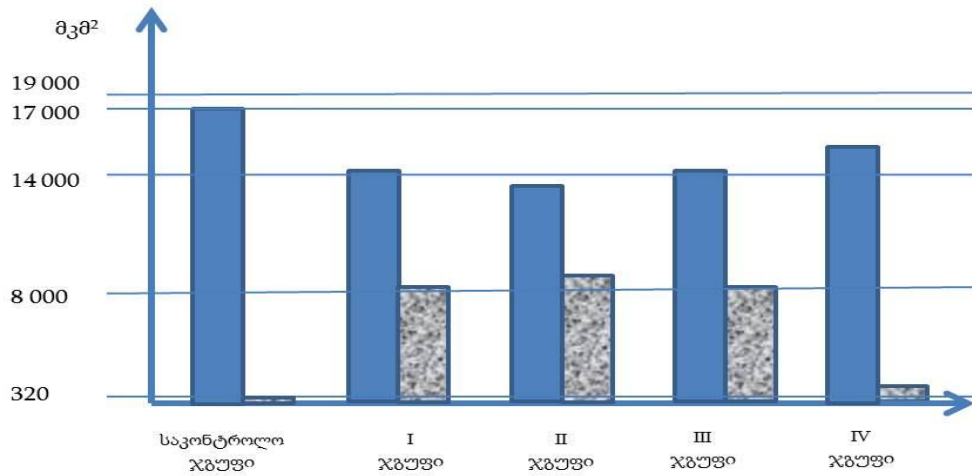
**სურათი N12,13.** ლანგერჰანსის კუნძულების უჯრედების რაოდენობის და სიმკვრივის მატება. შემცირებული ნეკროზული  $\beta$ -უჯრედების რაოდენობა. თითქმის სწორ კონტურებიანი და ნორმალურის მსგავსი პანკრეასის კუნძულების უჯრედული შემადგენლობა. H&E. ობიექტივი  $\times 20$  ოკულარი  $\times 15$ .

მთლიანად ლანგერჰანსის კუნძულების ფართობი ალოქსანური დიაბეტის მე-15, 30-ე და 45-ე დღეებზე სარწმუნოდ შემცირებულია, საკონტროლო ჯგუფის

ცხოველების ამავე მაჩვენებლებთან შედარებით, თუმცა ერთმანეთისაგან სარწმუნოდ არ განსხვავდება (დიაგრამა N1).

ამ კუნძულებში ნეკროზული უბნების ფართობი (რაც, პრაქტიკულად შეესაბამება ნეკროზული  $\beta$ -უჯრედების ჯამურ ფართს), ალოქსანური დიაბეტის მე-15, 30-ე და 45-ე დღეებზე სარწმუნოდ მატულობს საკონტროლო ჯგუფის ცხოველების ამავე მაჩვენებლებთან შედარებით, თუმცა ერთმანეთისაგან სარწმუნოდ არ განსხვავდება (დიაგრამა N1; სურათი N10,11).

ამასთანავე, IV საკვლევი ჯგუფის ცხოველების (რომელთაც ალოქსანური დიაბეტის მოდელირების 31-ე დღიდან 45-ე დღის ჩათვლით უტარდებოდათ მკურნალობა სინთეზური ტესტოსტერონით - მეთილტრიენოლონით) პანკრეასის ლანგერჰანსის კუნძულებში დასტურდება საერთო ფართობის ზრდა და ნეკროზული უბნების ფართობის შემცირება და ამ მახასიათებლების დაახლოება საკონტროლო ჯგუფის მაჩვენებლებთან (დიაგრამა N1).



**დიაგრამა N1.** პანკრეასის ლანგერჰანსის კუნძულების ფართობისა და ამ კუნძულებში ნეკროზული უბნების ფართობის ცვლილების დინამიკა ალოქსანური დიაბეტის სხვადასხვა ვადაზე და მეთილტრიენოლონით მკურნალობის შემდეგ.

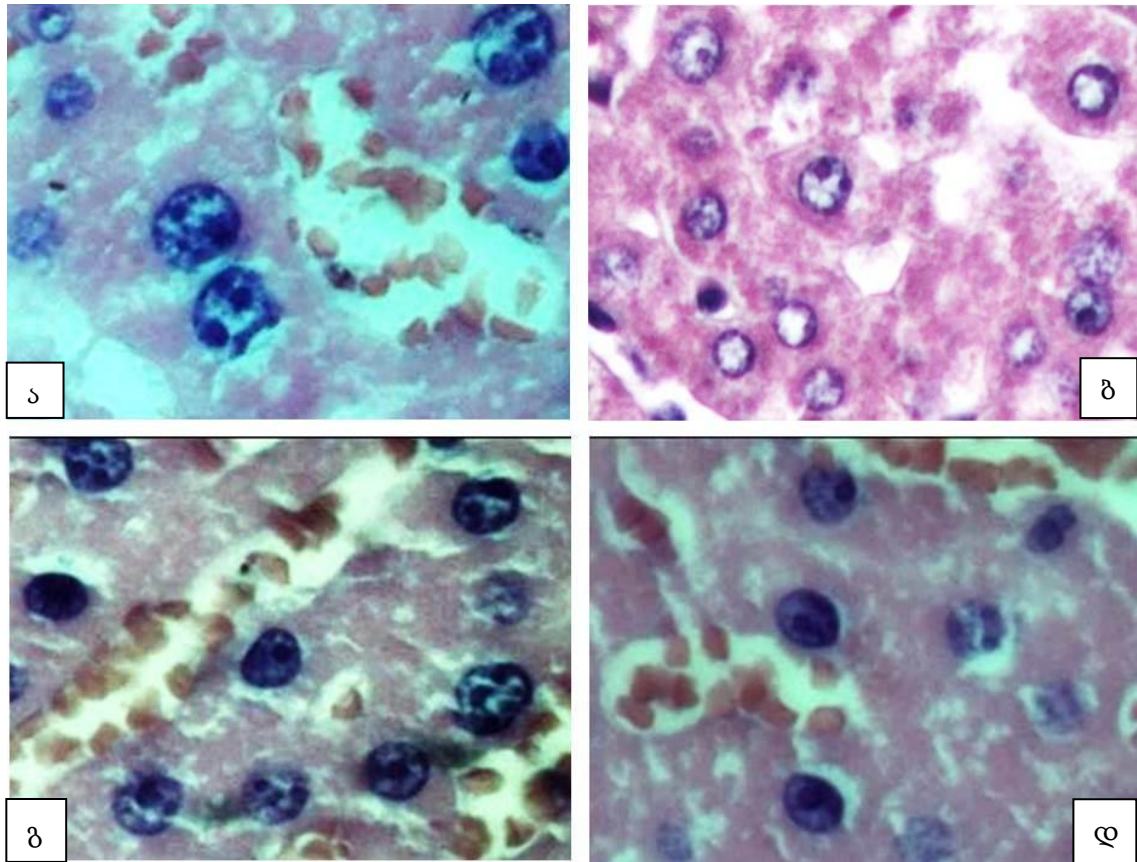
როგორც პანკრეასის კუნძულების, ისე მათში ნეკროზული უბნების ფართობის გაზომვა ხდებოდა ელაიატ-ის და თანაავტორთა გამოცდილების გათვალისწინებით (Elayat A., et al., 1995). ღვიძლი არის ერთ-ერთი ყველაზე

მნიშვნელოვანი ორგანო რომელიც ჩართულია ენერგეტიკული ჰომეოსტაზის რეგულაციაში. ამდენად, ბუნებრივია, რომ მასში ექსპერიმენტული შაქრიანი დიაბეტის პირობებში ვითარდება ცვლილებები.

ღვიძლის ქსოვილის დაზიანება (დეგენერაციული ცვლილებები, ფირფიტების დისკომპლექტაცია, სტაზი, ინფილტრაცია) ალოქსანური დიაბეტის ყველა ვადაზე შეფასებული იქნა „2“ და „3“ ბალით (ხუთბალიანი ვიზუალური სკალის გათვალისწინებით, სადც „1“ შეესაბამება „ნორმა“-ს (პრაქტიკულად ცვლილებების გარეშე), ხოლო „5“ – „მძიმე დეგენერაციულ“ (ნეკროზულ) ცვლილებებს.

ჰეპატოციტებში აღმოჩენილი წვრილ- და მსხვილმარცვლოვანი დეგენერაცია, იშვიათად კი - ცხიმოვანი ჩანართების არსებობა და ვაკუოლიზაცია, ასევე, აპოპტოზური სხეულაკების გაჩენა, წარმოადგენს ალოქსანით გამოწვეული დისმეტაბოლიზმის შედეგს. ეს მონაცემები ეთანხმება ს. ლენზენის მიერ აღწერილ მონაცემებთან ღვიძლის ქსოვილის დაზიანების თაობაზე სტრუქტოზოტოცინით გამოწვეული შაქრიანი დიაბეტის პირობებში, თუმცა, სტრუქტოზოტოცინის ინიექციის შემდეგ შაქრიანი დიაბეტის მოდელის განვითარების დინამიკა გაცილებით სწრაფია (Lenzen, S., 2008). ალოქსანური დიაბეტის მე-15, 30-ე და 45-ე დღეზე გამოვლენილი ღვიძლის დაზიანებები ერთმანეთისაგან პრინციპულად არ განსხვავდება. ტესტოსტერონით (მეთილტრიენოლონით) 15-დღიანი მკურნალობის ფონზე (ალოქსანური დიაბეტის 31-ე დღიდან 45-ე დღის ჩათვლით) აღინიშნება ღვიძლის ჰისტოლოგიური სურათის ნორმალიზაცია, რაც შეიძლება შეფასდეს „1“ ბალით; მხოლოდ ზოგიერთ უბნებში იქნა ნანახი ცვლილებები, რომელიც შეესაბამებოდა „2“ ბალს (სურათი N14).





**სურათი N14.** ღვიძლის ქსოვილი ალოქსანური დიაბეტის მე-15 დღეს (ა), 30-ე დღეს (ბ), 45-ე დღეს (გ) და მეთილტრიენოლონით მკურნალობის 15 დღის შემდეგ (დ). H&E. ობიექტივი x20 ოკულარი x15.

**ბიოქიმიური და მოლეკულურ-ბიოლოგიური ცვლილებები ალოქსანური დიაბეტის დინამიკაში და მისი მეთილტრიენოლონით მკურნალობის შემდეგ.**

როგორც ჩვენი ბიოქიმიური კვლევის შედეგები უჩვენებს, ალოქსანური დიაბეტი იწვევს გლუკოზის, კორტიკოსტერონისა და ესტრადიოლის კონცენტრაციის მატებას სისხლში; ეს მატება, დიაბეტის თითოეულ ვადაზე, სტატისტიკურად სარწმუნოა არა მხოლოდ საკონტროლო ჯგუფის მონაცემებთან შედარებით, არამედ, ექსპერიმენტის წინა ვადაზე დაფიქსირებულ მონაცემებთან შედარებითაც (ცხრილი N4; დიაგრამა N3).

**ცხრილი N4.** გლუკოზის, იმუნორეაქტიული ინსულინის (ირი), ტესტოსტერონის (T), ესტრადიოლის (E2), კორტიკოსტერონის შემცველობა სისხლში, ნუკლეინური მჟავების (დნმ და რნმ) სინთეზის აქტივობა, ანდროგენული რეცეპტორების (AR) ექსპრესია, ჰეპატოციტების პლოიდობა.

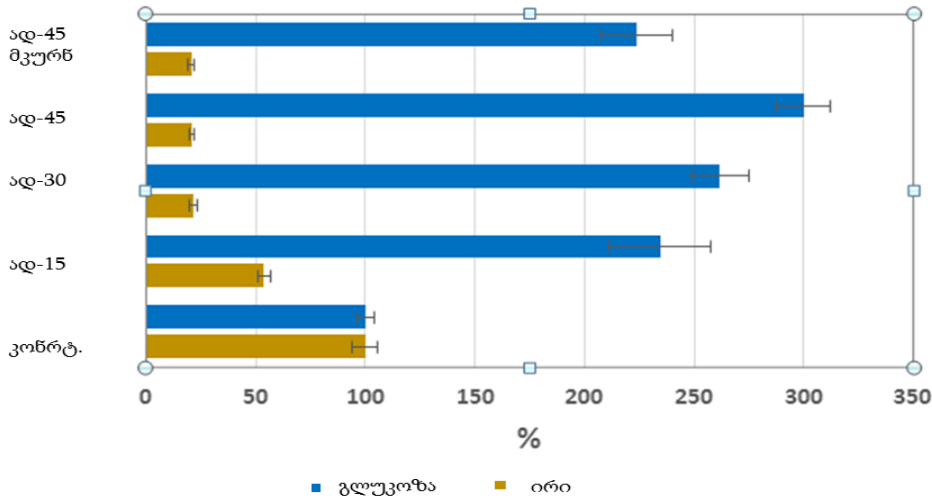
ჯგუფები	1	2		3		4		5	
	საკონტროლო ჯგუფი (n=20)	I სამიზნე (საკვლევი) ჯგუფი დიაბეტი - 15 დღის (n=20)	p value	II სამიზნე (საკვლევი) ჯგუფი დიაბეტი - 30 დღის (n=20)	p value	III სამიზნე (საკვლევი) ჯგუფი დიაბეტი - 45 დღის (n=20)	p value	IV სამიზნე (საკვლევი) ჯგუფი დიაბეტი - 45 დღის (მეთილტრიენოლონით 15 დღიანი მკურნალობის შემდეგ) (n=20)	p value
გლუკოზა მმოლი/ლ	5.10 (4.90-5.20)	12.30 (10.80-12.85)	<0.0001*	13.35 (12.90-13.60)	<0.0001* <0.0004**	15.00 (14.55-15.60)	<0.0001* <0.0001** <0.0001***	11.35 (10.54-12.11)	<0.0001* 0.08** <0.0001*** <0.0001****
ირი მიკრომოლ/ლ	23.30 (22.35-24.10)	12.42 (11.89-13.06)	<0.0001*	5.00 (4.70-5.40)	<0.0001* <0.0001**	4.72 (4.63-4.88)	<0.0001* <0.0001** 0.05***	4.90 (4.59-5.05)	<0.0001* <0.0001** 0.14*** 0.32****
T ნგ/მლ	2.63 (2.59-2.69)	1.73 (1.68-1.80)	<0.0001*	1.38 (1.34-1.44)	<0.0001* <0.0001**	1.38 (1.31-1.41)	<0.0001* <0.0001** 0.61***	2.40 (2.34-2.47)	<0.0001* <0.0001** <0.0001*** <0.0001****
E <sub>2</sub> ნგ/მლ	0.015 (0.013-0.016)	0.019 (0.017-0.020)	<0.0001*	0.023 (0.021-0.025)	<0.0001* <0.0001**	0.032 (0.031-0.034)	<0.0001* <0.0001** <0.0001***	0.019 (0.017-0.021)	<0.0001* 0.18** <0.0001*** <0.0001****
კორტიკოსტერონი ნგ/მლ	12.83 (11.72-13.45)	18.58 (17.90-19.03)	<0.0001*	22.15 (21.24-22.53)	<0.0001* <0.0001**	23.90 (22.05-24.85)	<0.0001* <0.0001** 0.005***	20.45 (19.60-20.95)	<0.0001* <0.0001** <0.0001*** <0.0001****
დნმ იმპ. გრ/წთ	180846 (180816-180872)	101276 (101272-101283)	<0.0001*	121163 (121157-121170)	<0.0001* <0.0001**	106698 (106683-106711)	<0.0001* <0.0001** <0.0001***	150096 (150086-150106)	<0.0001* <0.0001** <0.0001*** <0.0001****
რნმ იმპ. გრ/წთ	324909 (324870-324963)	230701 (230671-230712)	<0.0001*	259956 (259949-259962)	<0.0001* <0.0001**	243700 (243687-243714)	<0.0001* <0.0001** <0.0001***	282696 (282683-282707)	<0.0001* <0.0001** <0.0001*** <0.0001****
AR იმპ. გრ/წთ	1673.17 (1636.69-1705.25)	1885.95 (1876.15-1894.55)	<0.0001*	1121.86 (1109.23-1135.32)	<0.0001* <0.0001**	1003.43 (997.68-1013.45)	<0.0001* <0.0001** <0.0001***	1509.53 (1498.20-1516.34)	<0.0001* <0.0001** <0.0001*** <0.0001****
ჰეპატოციტების პლოიდობა (%) <sup>x</sup>	55,6/31,7/1,1	61,7/24,3/0,7	0.001*	72,3/18,2/0,5	<0.0001* <0.0001**	77,3/10,7/0,2	<0.0001* <0.0001** <0.01***	59,2/25,5/0,9	<0.0001* <0.0001** <0.0001*** <0.0001****

მედიანა წარმოდგენილია შესაბამის- კვარტილთა შორის ინტერვალით - interquartile ranges (IQR). შედარება ხდებოდა Mann-Whitney U ტესტის გამოყენებით. P -ს მნიშვნელობა 0,05-ზე ნაკლები მიჩნეული იყო სტატისტიკურად სარწმუნოდ.

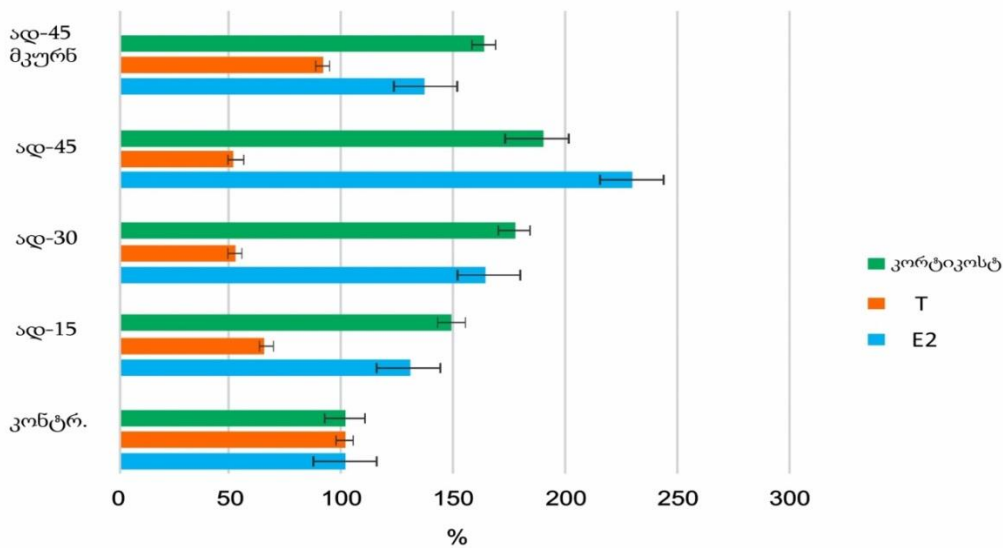
\* ნიშნის რაოდენობა მიუთითებს ჯგუფზე, რომელთა მონაცემებსაც ედარება კონკრეტული ჯგუფის მონაცემები.

<sup>x</sup> პროცენტული მაჩვენებელი დიპლოიდური/ ტეტრაპლოიდური/ ოკტოპლოიდური ღვიძლის უჯრედების.

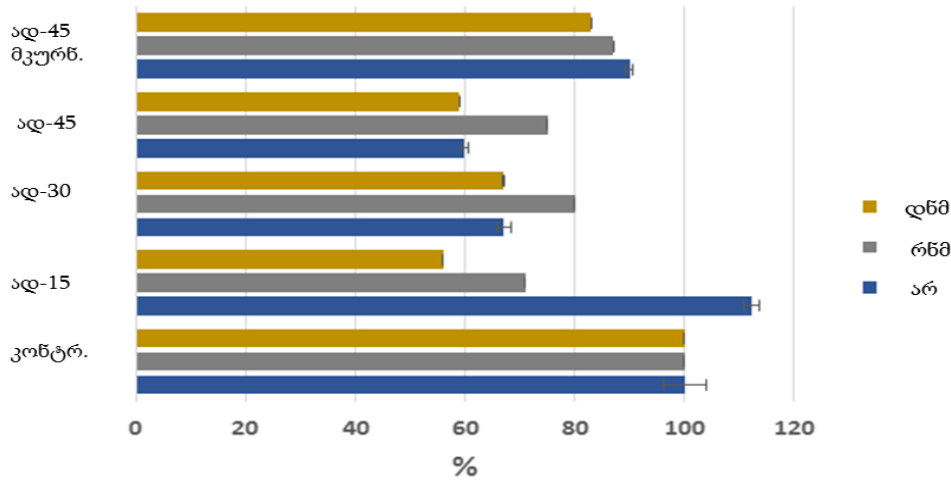
ალოქსანის ინიექციის შემდეგ, ინსულინისა და ტესტოსტერონის კონცენტრაციებმა ექსპერიმენტის მე-15 დღეს სარწმუნოდ დაიკლო ნორმის (საკონტროლო ჯგუფის) მაჩვენებლებთან შედარებით, ხოლო ექსპერიმენტის 30-ე დღეს - მე-15 დღის მაჩვენებლებთან შედარებით (დიაგრამა N5);



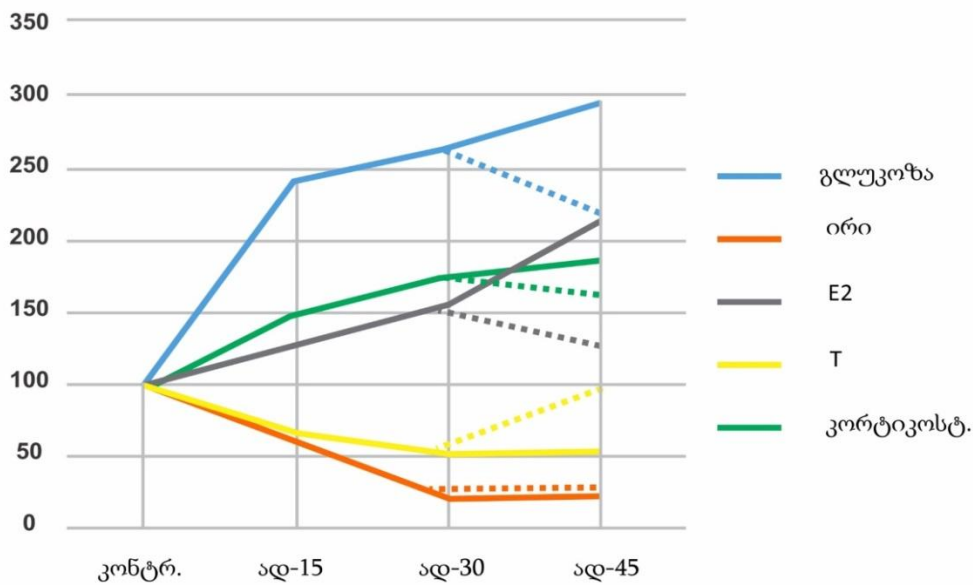
**დიაგრამა N2.** გლუკოზის, იმუნორეაქტიული ინსულინის (ირი) კონცენტრაცია (პროცენტებში) მამრი ვირთაგვების სისხლში - ნორმულად, ალოქსანური დიაბეტის სხვადასხვა ვადაზე და მეთილტრიენოლონით მკურნალობის შემდეგ.



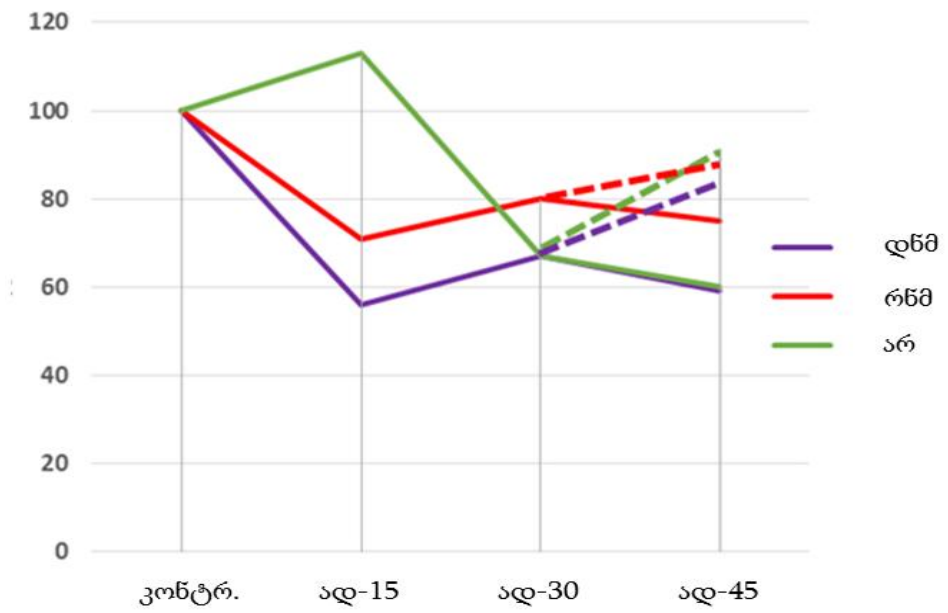
**დიაგრამა N3.** კორტიკოსტერონის, ესტრადიოლის (E2) და ტესტოსტერონის (T) კონცენტრაცია (პროცენტებში) მამრი ვირთაგვების სისხლში - ნორმულად, ალოქსანური დიაბეტის სხვადასხვა ვადაზე და მეთილტრიენოლონით მკურნალობის შემდეგ.



**დიაგრამა N4.** დნმ და რნმ სინთეზის აქტივობა და ანდროგენული რეცეპტორების ექსპრესია მამრი ვირთაგვების ღვიძლში - ნორმულად, ალოქსანური დიაბეტის სხვადასხვა ვადაზე და მეთილტრიენოლონით მკურნალობის შემდეგ.



**დიაგრამა N5.** გლუკოზის, იმუნორეაქტიული ინსულინის (ირი), ესტრადიოლის (E2), ტესტოსტერონის (T) და კორტიკოსტერონის კონცენტრაციათა ცვლილებების დინამიკა (პროცენტებში) მამრი ვირთაგვების სისხლში- ნორმულად, ალოქსანური დიაბეტის სხვადასხვა ვადაზე და მეთილტრიენოლონით მკურნალობის შემდეგ. (შენიშვნა: წყვეტილი ხაზებით ნაჩვენებია მონაცემები მკურნალობის შემდეგ).



**დიაგრამა N6.** დნმ და რნმ სინთეზის აქტივობის და ანდროგენული რეცეპტორების ექსპრესიის მაჩვენებელთა დინამიკა მამრი ვირთაგვების ღვიძლში - ნორმულად, ალოქსანური დიაბეტის სხვადასხვა ვადაზე და მეთილტრიენოლონით მკურნალობის შემდეგ. (შენიშვნა: წყვეტილი ხაზებით ნაჩვენებია მონაცემები მკურნალობის შემდეგ).

ამასთანავე, ალოქსანის ინიექციიდან 45-ე დღეს დაფიქსირებული მონაცემების განსხვავება 30-ე დღის მონაცემებთან - სტატისტიკურად სარწმუნო აღარ არის.

ეს, როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ, შეიძლება უკავშირდებოდეს ალოქსანის დამაზიანებელი ეფექტის „ამოწურვას“ 45-ე დღისათვის (Lenzen S., 2008). ინსულინის კონცენტრაციის შემცირების პარალელურად ტესტოსტერონის კონცენტრაციის შემცირება თანხმობაშია მრავალი გამოკვლევის შედეგთან, რომლებიც ამასვე მიუთითებს არა მხოლოდ ექსპერიმენტში, არამედ კლინიკაშიც (Pitteloud et al., 2005b; Kandeel et al., 2007; Grossmann et al., 2008).

ჰიპერგლიკემიის პირობებში, გლუკოზის გაზრდილი რაოდენობა აღწევს ჰეპატოციტებში (ინსულინი არაა საჭირო გლუკოზის ჰეპატოციტებში შესვლისათვის, ის საჭიროა უჯრედის შიგნით მისი უტილიზაციისთვის) (Kelly

D.M. and Jones T.H., 2013), რაც ხელს უწყობს დიდი რაოდენობით ჰიდროქსილის რადიკალების წარმოქმნას. ეს, თავის მხრივ, ზრდის BAX (Bcl-2-associated X protein) პროტეინის რაოდენობას. BAX ასტიმულირებს მიტოქონდრიიდან ციტოქრომ-C-ს გამოთავისუფლებას, რაც რთავს აპოპტოზის კასკადს: აქტიურდება კასპაზები (caspase) და ვითარდება აპოპტოზი (Francés et al., 2010).

ჰიპოინსულინიემიისა და, შესაბამისად, ჰეპატოციტებში გლუკოზის ათვისების დაქვეითების პირობებში აღძრული აპოპტოზის გამო უნდა კლებულობდეს დნმ-ისა და რნმ-ის სინთეზის ჯამური მაჩვენებელი. ეს დასტურდება ჩვენი ექსპერიმენტების შედეგებით, რომელთა თანახმადაც ალოქსანური დიაბეტის მოდელის შექმნიდან მე-15 დღეს ღვიძლში კლებულობს როგორც დნმ-ის სინთეზი (44%-ით), ასევე რნმ-ის სინთეზი (29%-ით). მსგავსი ვითარება აღინიშნება შაქრიანი დიაბეტის სხვა ვადებზეც (დიაგრამა N4;6).

რადიონერტული მეთილტრიენოლონის შეყვანის შემდეგ გლუკოზის მაჩვენებელი სარწმუნოდ კლებულობს და სტატისტიკურად აღარ განსხვავდება ექსპერიმენტის მე-15 დღის მაჩვენებლისაგან. ეს შეიძლება აიხსნას იმით, რომ ტესტოსტერონი ჰეპატოციტებში ასტიმულირებს ინსულინის რეცეპტორის I-რნმ-ის სინთეზს, რის შედეგადაც ჰეპატოციტის ზედაპირზე ძლიერდება ინსულინის რეცეპტორის ექსპრესია და ამით იზრდება ჰეპატოციტის მგრძობელობა ინსულინის მიმართ. ამის შედეგად ინსულინის მკვეთრად შემცირებული რაოდენობაც კი საკმარისი ხდება, რომ დაასტიმულიროს ჰეპატოციტებში შესული გლუკოზის უტილიზაცია (Kapoor et al., 2006; Sato et al., 2008). ამასთანავე, ინსულინი ასტიმულირებს აპოპტოზის მაინჰიბირებელ ცილას - XIAP (X-linked inhibitor of apoptosis protein), რომელიც „ამუხრუჭებს“ კასპაზებს და აჩერებს აპოპტოზის პროცესს (Francés et al., 2010). ჩვენი მონაცემები, რომლებიც მიუთითებს, რომ ეგზოგენური ანდროგენის შეყვანის შემდეგ მატულობს დნმ-ის



(24%) და რნმ-ის (8%) სინთეზის ინტენსიობა ღვიძლის უჯრედებში, ადასტურებს ამ მოსაზრებას (დიაგრამა N 4, 6).

ჩვენი მონაცემები ადასტურებს იმ კვლევათა შედეგებს, რომელთა თანახმადაც ტესტოსტერონით მკურნალობისას იზრდებოდა ინსულინ-რეცეპტორის mRNA დონე და ასევე ინსულინის მგრძობელობა ადამიანის ღვიძლის უჯრედში (Parthasarathy et al., 2009). მეტიც, ტესტოსტერონის ჩანაცვლებითი თერაპია კასტრირებულ ვირთაგვებშიც ზრდიდა mRNA ინსულინ-რეცეპტორის და ცილის დონეს ღვიძლში და აკორექციებდა კასტრაციით გამოწვეულ გლუკოზის მეტაბოლიზმის დარღვევას (Moverare-Skrtic et al., 2006), იწვევდა რა გლიკოგენის სინთეზს (როგორც ინტაქტურ ასევე კასტრირებულ მამრ ვირთაგვებში) (Bergamini, 1975; Kelly D.M. and Jones T.H., 2013).

ცნობილია, რომ ტესტოსტერონი ამჟღავნებს ინსულინის მსგავს ეფექტს ცილების ანაბოლიზმის გაძლიერების თვალსაზრისითაც (Shahidi N.T., 2001), თუმცა, ამ მოქმედების მექანიზმი განსხვავებულია და ეფუძნება ტესტოსტერონის მონაწილეობას GLUT2-ის ტრანსკრიპციასა და ჰექსოკინაზისა და ფოსფოფრუქტოკინაზის ენზიმური აქტივობის ზრდაში (Sato et al., 2008).

ვარაუდობენ რომ ტესტოსტერონს შეიძლება ჰქონდეს პირდაპირი ეფექტი GLUT2-ის ტრანსკრიფციაზე და mRNA-ის ტრანსლაციაზე. მიუხედავად იმისა, რომ ანდროგენ-რეცეპტორი არ არის იდენტიფიცირებული GLUT2-ის პრომოტორულ რეგიონში, ანდროგენ-რეცეპტორს შეუძლია ფუნქციონირება როგორც ლიგანდ გამააქტიურებელ ტრანსკრიფციის ფაქტორს და GLUT2-ის ექსპრესიის გამოწვევა, როგორც დამოუკიდებლად, ისე სხვა გამააქტიურებლებთან კომბინაციაში (Yeh and Chang, 1996; Mcewan I.J. and Gustafsson J., 1997; Aarnisalo et al., 1998).

აღსანიშნავია, რომ ეგზოგენური ანდროგენის შეყვანა არ მოქმედებს ინსულინის კონცენტრაციაზე: მეთილტრიენოლონით მკურნალობის ფონზე



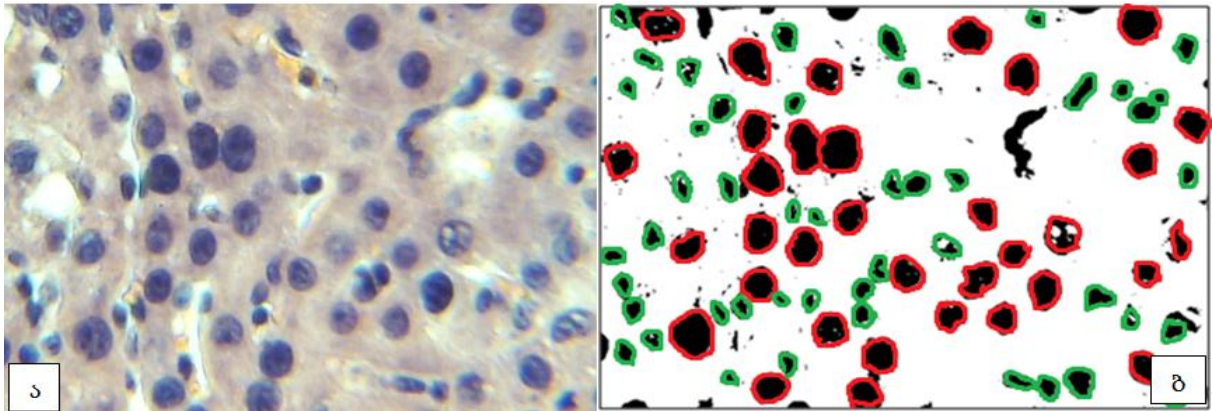
ინსულინის კონცენტრაცია არ იცვლება. ის არ განსხვავდება ალოქსანური დიაბეტის მოდელის არც 30-ე დღის, არც 45-ე დღის მაჩვენებლისაგან (ცხრილი N4; დიაგრამა N2). ეს ადასტურებს ადრე აღნიშნულ მოსაზრებას, რომ პანკრეასის კუნძულების  $\beta$ -უჯრედები მცირე რაოდენობით შეიცავენ ანდროგენ-რეცეპტორებს. ამის გამო, ალოქსანური დიაბეტის პირობებში, ეგზოგენური ანდროგენის უშუალო ეფექტი ენდოკრინულ პანკრეასზე (მის გადარჩენილ და/ან ნაკლებად დაზიანებულ  $\beta$ -უჯრედებზე) ნაკლებია. ამასთანავე, სიმსივნური დაავადების დროს პანკრეასის  $\beta$ -უჯრედებში ანდროგენ-რეცეპტორების რაოდენობა მატულობდა (Li et al., 2008), რაც ადასტურებს ამ რეცეპტორების „შენიღვის“ და „განნიღვის“ შესაძლებლობას. ალოქსანური დიაბეტი სიმსივნური დაავადებისაგან განსხვავებით, არ იწვევს ამ უჯრედების ანდროგენ-რეცეპტორების რაოდენობის ზრდას.

სხვა სურათია ღვიძლის ქსოვილში. ალოქსანური დიაბეტის მოდელირებიდან 31-ე დღეს დაწყებული მეთილტრიენოლონის ყოველდღიური ინიექციები, მკურნალობის დაწყებიდან 15 დღის შემდეგ ადასტურებს, რომ დნმ-ის და რნმ-ის სინთეზის გაძლიერებას თან ახლავს პოლიპლოიდური ჰეპატოციტების რაოდენობის ზრდა ალოქსანური დიაბეტის 30-ე და 45-ე დღესთან შედარებით (სურათი N15ა,ბ); ამასთანავე, არ ფიქსირდება Ki-67 დადებითი ჰეპატოციტების რაოდენობის ზრდა.

ამდენად, სახეზეა „მყარი“ პოლიპლოიდია - ჰეპატოციტების მიტოზების გააქტივების გარეშე. ეს ფაქტი, რომლის ანალოგიც ჩვენ ვერ მოვიძიეთ ლიტერატურაში, შემდგომ კვლევასა და ადეკვატურ ინტერპრეტაციას საჭიროებს.

ჩვენი ექსპერიმენტის შედეგები მიუთითებს ალოქსანური დიაბეტის პირობებში ესტრადიოლის კონცენტრაციის სარწმუნოდ მატებას ტესტოსტერონის კონცენტრაციის შემცირების ფონზე. ეს უნდა ასახავდეს რთულ

პათოფიზიოლოგიურ/პათოქიმიურ რეაქციათა შედეგს. კერძოდ, ალოქსანის მიერ განადგურებულ  $\beta$ -უჯრედებში მკვეთრად მცირდება ინსულინის რაოდენობას.



**სურათი N15.** ა) პოლიპლოიდია, ჰეპატოციტების მიტოზების გააქტივების გარეშე. აღინიშნება დიპლოიდური და ტეტრაპლოიდური ჰეპატოციტების ერთობლიობა. H&E. ობიექტივი  $\times 20$ , ოკულარი  $\times 15$ . ბ) იგივე სურათი, დამუშავებული ფოტომოპით. დიპლოიდური ბირთვების ნიმუშები შემოხაზულია მწვანედ, ტეტრაპლოიდური ბირთვების - წითლად.

ინსულინის ნაკლებობის გამო ვეღარ სტიმულირდება ტესტოსტერონის სინთეზი. ტესტოსტერონის შემცირებული კონცენტრაცია ვეღარ ახერხებს ფერმენტ ლიპოპროტეინ ლიპაზას ინჰიბიციას. ეს ფერმენტი, რომელიც მოთავსებულია ცხიმოვანი ქსოვილის კაპილარების ენდოთელიუმის მემბრანაზე, ცხიმებით მდიდარი ქილომიკრონისა და ძალიან დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინებისაგან (VLDL) გამოათავისუფლებს ტრიგლიცერიდებს, რომლებიც აღწევს და ლაგდება ადიპოციტებში. ასეთ პირობებში, ადიპოციტებში აქტიურდება ფერმენტი არომატაზა, რომელიც, თავის მხრივ, ისედაც შემცირებულ ტესტოსტერონს გარდაქმნის ესტროგენად (Hayes et al., 2000; 2001).

ამასთანავე, აღსანიშნავია, რომ ესტრადიოლის კონცენტრაცია, რომელიც მომატებულია ექსპერიმენტის ყველა ვადაზე, მეთილტრიენოლონის ინიექციის შემდეგ იკლებს.

წარმოდგენილი მონაცემები ადასტურებს, რომ სასქესო სტეროიდების რაოდენობრივი ცვლილებები მნიშვნელოვნად არის დამოკიდებული ინსულინისა

და გლიკემიის დონეზე. სასქესო ჰორმონების მატება და სექს-ჰორმონ შემაკავშირებელი გლობულინი (SHBG) კავშირშია ჰიპერინსულინემიასთან (Haffner et al., 1988), ხოლო ტესტოსტერონის დაბალი დონე ხელს უწყობს ინსულინრეზისტენტობის განვითარებას (Pitteloud et al., 2005a).

ჩვენ მიერ რადიომეტრიული მეთოდით ჩატარებული ექსპერიმენტის შედეგები აჩვენებს, რომ ალოქსანური დიაბეტის მე-15 დღეს ღვიძლის უჯრედებში აქტიური ანდროგენული რეცეპტორების ექსპრესიის მაჩვენებელი მატულობს. ეს ფაქტი, ვფიქრობთ, შეიძლება აიხსნას იმით, რომ ტესტოსტერონის შემცირება იწვევს აქტიური რეცეპტორების გამოთავისუფლებას და შედეგად მათ მომატებულ ექსპრესიას რადიოაქტიური  $H^3$  ტესტოსტერონის დამატების შემდეგ (იხ. მასალა და მეთოდები). ამასთანავე, შაქრიანი დიაბეტის შემდგომ ვადებზე, ტესტოსტერონის დეფიციტის შენარჩუნების ფონზე, ანდროგენ-რეცეპტორების ექსპრესიის მაჩვენებელი კლებულობს, რაც შეიძლება აიხსნას მათი შენიღბვით («маскировка») (Moudgil V.K., 1988; Теппермен Д. and ТепперменХ.,1989). 15 დღის განმავლობაში სინთეზური ანდროგენით მკურნალობა და ტესტოსტერონის კონცენტრაციის გაზრდილი რაოდენობა სისხლში იწვევს ამ რეცეპტორების „განნიღვას“ («демаскировка») და მათ აქტივაციას. გააქტიურებული რეცეპტორები უკავშირდება რადიოაქტიურ  $H^3$  მეთილტრიენოლონს, რაც, ცხადია, აისახება ანდროგენული რეცეპტორების ექსპრესიის გაზრდილი მაჩვენებლით ღვიძლის ქსოვილში.F

ჩვენი მონაცემებით, მეთილტრიენოლონის შეყვანის და პლაზმური ტესტოსტერონის კონცენტრაციის ნორმის მაჩვენებელთან მიახლოების შედეგად აღინიშნება ანდროგენ-რეცეპტორების გაზრდილი ექსპრესია, თუმცა, ის ნორმის მაჩვენებელს ვერ უბრუნდება (დიაგრამა N4,6). მიუხედავად იმისა, რომ მისი რაოდენობრივი ზრდა ხელს უწყობს ღვიძლში ფუნქციური და ადაპტაციურ-

კომპენსაციური მექანიზმების აღდგენის პროცესების გააქტიურებას (Смирнов Н., 2009).

თუმცა, ანდროგენ-რეცეპტორები ფართოდ არის წარმოდგენილი მამაკაცის და ქალის ღვიძლში, ასევე, მამრი და მდედრი მღრღნელების ღვიძლში, მისი რაოდენობა დამოკიდებულია სქესზე. დადასტურებულია, რომ ანდროგენ-რეცეპტორის ექსპრესია მოზრდილი მამრი ვირთაგვების ღვიძლში დაახლოებით 20-ჯერ უფრო მაღალია, ვიდრე მდედრი ვირთაგვების ღვიძლში (Chatterjee et al., 1996). ამასთანავე, ანდროგენ-რეცეპტორის ექსპრესია ღვიძლში ორივე სქესისთვის დამოკიდებულია ასაკზეც. პრეპუბერტატულ ასაკამდე ანდროგენ-რეცეპტორების ექსპრესია ძალიან დაბალია, მეტიც, ხშირად თითქმის არ ვლინდება. მათი რაოდენობა მკვეთრად მატულობს პოსტპუბერტატულ პერიოდში, თუმცა, შემდგომ, ხანდაზმულ ასაკში თანდათანობით მცირდება და 22-24 თვის ვირთაგვებში თითქმის შეუძლებელი ხდება მათი გამოვლენა (Supakar P.C. and Roy A.K., 1996). ეს ადასტურებს, რომ ანდროგენ-რეცეპტორები დინამიკური სტრუქტურებია, ახასიათებთ წარმოქმნა და დაშლა (გაქრობა) ან, როგორც ზემოთ აღინიშნა - „შენიღბვა“ და „განნიღბვა“. ამასთანავე, მათი წარმოქმნა და „გაქრობა“ კორელაციაშია ტესტოსტერონის კონცენტრაციასთან.

ყოველივე აღნიშნულის გათვალისწინებით, ჩვენი საკვლევო ცხოველების სქესი და ასაკი, ვფიქრობთ ოპტიმალურად შეესაბამებოდა კვლევის ამოცანებს.

თუ ჩვენი კვლევის შედეგებს შევაჯერებთ ლიტერატურის მონაცემებთან (Shen M. and Shi H., 2015), შეიძლება დავასკვნათ, რომ მამრებში ტესტოსტერონი ანდროგენ-რეცეპტორების „გზის“ მეშვეობით ზრდის ინსულინ-რეცეპტორების ექსპრესიას და გლიკოგენის სინთეზს, ამცირებს გლიკემიასა და ლიპოგენეზს და ხელს უწყობს ქოლესტეროლის დაგროვებას ღვიძლში. აღნიშნულის გათვალისწინებით, სასქესო ჰორმონის რეცეპტორებზე, კერძოდ, ანდროგენ-

რეცეპტორებზე ზემოქმედება შეიძლება შეიცავდეს, შაქრიანი დიაბეტის კომპლექსური მკურნალობის ახალ, პოტენციურ პერსპექტივას.

ალოქსანური დიაბეტის დინამიკაში სისხლში გლუკოზის კონცენტრაციის მატება თანხვედრაშია ადაპტაციური ჰორმონის - კორტიკოსტერონის კონცენტრაციის მატებასთან. ეს მატება შეიძლება გამოწვეული იყოს უჯრედების მიერ გლუკოზის ვერ-ათვისებით: ასეთ ვითარებაში კორტიკოსტერონის რაოდენობის მატება შეიძლება იყოს კომპენსატორული: ის ასტიმულირებს გლუკონეოგენეზს - პროცესს, რომელიც ირთვება გლუკოზის ნაკლებობისას, და რომლის დროსაც ცხიმებიდან და ამინომჟავებიდან უჯრედები თავად წარმოქმნის გლუკოზას (Imai et al., 1993; Andrews R.C. and Walker B.R., 1999; Kinote et al., 2012).

მიღებული მონაცემები გვიჩვენებს, რომ ალოქსანური დიაბეტი ცვლის სისხლში როგორც სასქესო სტეროიდების, ისე ადაპტაციური ჰორმონის - კორტიკოსტერონის კონცენტრაციას, რაც ადასტურებს „მეტაბოლური სტრესის“ არსებობას (Селятицкая В.Г., 2012). ეგზოგენურად შეყვანილი ანდროგენი კი, სარწმუნოდ ამსუბუქებს ამ სტრესის ეფექტს.

ეგზოგენური ანდროგენის შეყვანა მნიშვნელოვნად აუმჯობესებს ფუნქციურად აქტიური ანდროგენ-რეცეპტორის ექსპრესიას, რომლებიც მონაწილეობს ჰეპატოციტებში დნმ-ისა და რნმ-ის სინთეზის გაძლიერებაში იმდენად, რომ ამ პროცესების ინტენსივობის მაჩვენებელს უახლოებს ნორმის (საკონტროლო ჯგუფის მონაცემების) მაჩვენებელს.

ამრიგად, ჩატარებული კვლევები ადასტურებს სინთეზური ანდროგენების დადებით ზემოქმედებას მამრ ვირთაგვებში ალოქსანური დიაბეტის დროს განვითარებულ მეტაბოლურ ცვლილებებზე.

ამასთანავე, გასათვალისწინებელია, რომ მეთილტრიენოლონით მკურნალობა ახდენს გლუკოზის კონცენტრაციის ნორმალიზაციას, ისე, რომ



პრაქტიკულად არ ცვლის პანკრეასული ინსულინის დონეს. იგივე შედეგი იქნა ნაჩვენები სხვა მკვლევარების მიერაც (Didebulidze et al., 2015).

აღნიშნულიდან გამომდინარე, უნდა ვივარაუდოთ, რომ მეთილტრიენოლონის (ტესტოსტერონი) ინიექციები ნაკლებად მოქმედებს უშუალოდ  $\beta$ -უჯრედებზე და მისი დადებითი მეტაბოლური ეფექტი ეფუძნება სხვა, ნაწილობრივ ზემოთ აღწერილ მექანიზმებს. ამას ხელს უნდა უწყობდეს ზემოთ აღნიშნული ფაქტი, კერძოდ, პანკრეასის  $\beta$ -უჯრედებში ანდროგენ-რეცეპტორების სიმცირე. სამაგიეროდ, ანდროგენ-რეცეპტორები უხვადაა კუნთებში, მათ შორის გულის კუნთში (Ruizeveld de Winter et al., 1991), (ანუ ქსოვილში/ორგანოში, რომლის უჯრედებშიც გლუკოზის სისხლიდან გადასვლა „ინსულინდამოკიდებული“ პროცესია), ასევე ღვიძლში (Shen M. and Shi H., 2015), რომლის უჯრედებშიც (ჰეპატოციტებში) სისხლიდან გლუკოზის გადასვლისათვის, ინსულინი არ არის საჭირო („ინსულინდამოუკიდებელი“ პროცესია). ინსულინის ნაკლებობისას, ტესტოსტერონი ზრდის გლუკოზის ტრანსპორტის სიჩქარეს მღრღნელების ჩონჩხის კუნთებში. ის, ინსულინისგან დამოუკიდებლად, ააქტიურებს cAMP-დამოკიდებული პროტეინ კინაზას, რომელიც ზრდის AMP კინაზა-1-ს, რაც ხელს უწყობს გლუკოზის ტრანსპორტს. ტესტოსტერონი ზემოქმედებს ჩონჩხის კუნთებში არსებულ ადენოზინ A1-ის რეცეპტორზე, რომელიც აუმჯობესებს გლუკოზოტოლერანტობას ვირთაგვებში (Kelly et al., 2016).

რაც შეეხება ტესტოსტერონის ზემოქმედების მექანიზმს ღვიძლის ქსოვილში, ის ზემოთ იქნა აღწერილი.

ამდენად, შეიძლება დავასკვნათ, რომ ტესტოსტერონი დადებით გავლენას ახდენს ორივე ტიპის ქსოვილის/ორგანოს მეტაბოლიზმზე შაქრიანი დიაბეტის პირობებში.

## V თავი

### შეჯამება

მეტაბოლური სინდრომის, შაქრიანი დიაბეტისა და ანდროგენების დეფიციტის ურთიერთკავშირი ფართო განხილვის საგანია.

დადასტურებულია, რომ ტესტოსტერონის დეფიციტი იწვევს მეტაბოლურ სინდრომს, ინსულინრეზისტენტობას, შაქრიან დიაბეტ ტიპ 2-ს, ჰიპერგლიკემიას, ასევე დისლიპიდემიას და არტერიულ ჰიპერტენზიას, რაც, თავის მხრივ, ზრდის სისხლძარღვოვანი დაავადებების რისკს (Simon et al., 1997; Stellato et al., 2000; Oh et al., 2002; Dhindsa et al., 2004; Pitteloud et al., 2005a,b; Rhoden et al., 2005b; Corona et al., 2006; Kapoor et al., 2006, 2007; Selvin et al., 2007; Fukui et al., 2007, 2008; Stanworth et al., 2009; Traish et al., 2009; Yeap et al., 2009; Keating et al., 2012) და პირიქით, ტესტოსტერონის მაღალი კონცენტრაციის პირობებში ინსულინრეზისტენტობა მცირდება და შაქრიანი დიაბეტის განვითარების რისკი მნიშვნელოვნად დაბალია (Ding et al., 2006; Lage et al., 2007). ამასთანავე, ინსულინრეზისტენტობის მაჩვენებლის კლება უფრო მაღალ კორელაციაშია თავისუფალ ტესტოსტერონთან, ვიდრე საერთო ტესტოსტერონთან (Rhoden et al., 2005a,b; Basaria et al., 2006; Selvin et al., 2007).

დადასტურებულია, რომ სიმსუქნე და მასთან ასოცირებული ჰიპერინსულინემია ახდენს ტესტოსტერონის წარმოქმნის სტიმულაციას, მაგრამ, თრგუნავს სექს-ჰორმონ შემაკავშირებელი გლობულინის (SHBG) სინთეზს და აქედან გამომდინარე ამცირებს მოცირკულირე ტესტოსტერონის რაოდენობას (Kaufman et al., 2005; Eckel et al., 2005). SHBG-ის დაბალი დონე მიიჩნევა მეტაბოლური სინდრომის და შაქრიანი დიაბეტის განვითარების პროგნოზულ მაჩვენებელად (Laaksonen et al., 2004; Haring et al., 2009) და პირიქით (Muller et al., 2005).



შაქრიანი დიაბეტის მქონე მამაკაცებში ტესტოსტერონის მიღება ამცირებს გლუკოზის დონეს როგორც უზმოზე, ისე ჭამის შემდგომ, ასევე გლიკოზირებული ჰემოგლობინის დონეს (Boyanov et al., 2003; Ho et al., 2013), ინსულინ დამოკიდებულ პაციენტებში კი იძლევა ინსულინის დოზის შემცირების საშუალებას (Kapoor et al., 2006; Naharci et al., 2007).

ამ ფონზე, საინტერესოა აღინიშნოს, რომ კვლევების ერთი ჯგუფის შედეგები უარყოფს სტატისტიკურად სარწმუნო განსხვავებას ტესტოსტერონით და მის გარეშე ნამკურნალევ პაციენტებს შორის, რომელთაც აღენიშნებათ მეტაბოლური სინდრომი და შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2. ეს მიუთითებს ამ მიმართულებით გამოკვლევების გაგრძელების აუცილებლობას.

ანდროგენების დეფიციტის პირობებში ინსულინისადმი რეზისტენტობა, სავარაუდოდ, დაკავშირებულია ინსულინის მიმართ ჩონჩხის კუნთების მგრძობელობის შეცვლასთან. ვირთაგვების კასტრაცია ჩონჩხის კუნთებში იწვევს გამოხატულ ინსულინრეზისტენტობას - ნორმოგლიკემიის და ჰიპერინსულინემიის პირობებში. ტესტოსტერონის ფიზიოლოგიური დოზებით მკურნალობა კი მთლიანად აღადგენს ინსულინის მიმართ დარღვეულ მგრძობელობას (Holmång A. and Björntorp P., 1992).

ტესტოსტერონს, გარდა ინსულინისადმი მგრძობელობაზე ზემოქმედების ეფექტისა, შესაძლოა ჰქონდეს უშუალო გავლენა პანკრეასზე და კერძოდ,  $\beta$ -უჯრედების ფუნქციონირებაზე. ასეთი ვარაუდის საფუძველს იძლევა ის, რომ ანდროგენების აღკვეთის თერაპიის შემდეგ ვლინდება გამოხატული ჰიპერგლიკემია და  $\beta$ -უჯრედების ფუნქციის უკმარისობა (Inaba et al., 2005), მაშინ, როდესაც კასტრირებული ცხოველების პანკრეასის უჯრედებში სტრუბტოზოტოცინით გამოწვეულ ადრეულ აპოპოტოზურ დაზიანებას ამუხრუჭებს ტესტოსტერონით ჩანაცვლებითი თერაპია (Morimoto et al., 2005).

ტესტოსტერონი მოქმედებს ანდროგენ-რეცეპტორის საშუალებით, რომელიც წარმოადგენს ლიგანდ-დამოკიდებულ ტრანსკრიფციის ფაქტორს. იმ მამრ თაგვებში, ასევე ადამიანის პანკრეასის ქსოვილის კულტურებზე, რომელთაც წინასწარ დაქვეითებული ჰქონდათ  $\beta$ -უჯრედების ანდროგენ-რეცეპტორების რაოდენობა. ნანახია რომ ეს რეცეპტორები მნიშვნელოვან როლს თამაშობს გლუკოზით სტიმულირებული ინსულინის სეკრეციის (GSIS) გაძლიერებაში. მექანიზმი ეფუძნება  $\beta$ -უჯრედებში cAMP ზრდას და პროტეინ კინაზა A-ს (PKA) აქტივაციას, რომელიც, თავის მხრივ, ზრდის GLP-1 (glucagon-like peptide-1) ეფექტს. ამ აღმოჩენას შეიძლება ჰქონდეს კლინიკური და ფარმაკოლოგიური მნიშვნელობა ასაკოვან მამაკაცებში შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის პრევენციისათვის (Navarro et al., 2016). შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1-ის დროს მსგავსი მექანიზმი ნაკლებად სავარაუდოა, ერთი მხრივ,  $\beta$ -უჯრედების მნიშვნელოვანი დაზიანების, ხოლო, მეორე მხრივ, მათში ანდროგენ-რეცეპტორების სიმცირის გამო (Winborn et al., 1987).

გლუკოზის ჰომეოსტაზის შესწავლამ 12 კვირის  $\beta$ ARKO- $y$  მამრ თაგვებში (ეს ის ასაკია, რომლის შემდეგაც თაგვებში ვითარდება დაგვიანებული სიმსუქნე და ინსულინრეზისტენტობა ტოტალური (ან ნაწილობრივი) ანდროგენ-რეცეპტორების დეფიციტის ფონზე) 9 კვირის განმავლობაში „western“ დიეტით ე.წ. გამოწვეული მეტაბოლური სტრესის პირობებში გამოავლინა ინსულინის კონცენტრაციის შემცირება და ჰიპერგლიკემია - როგორც უზმოზე, ისე საკვების მიღების შემდეგ. ამდენად, დადასტურდა, რომ თაგვებში, რომელთაც აღენიშნებათ  $\beta$ -უჯრედებში ანდროგენ-რეცეპტორების დეფიციტი, ვლინდება მიდრეკილება ინსულინის დეფიციტისადმი, ხოლო „Western“ დიეტის შემდეგ - აღინიშნება GSIS-ის (გლუკოზით სტიმულირებული ინსულინის სეკრეცია) შემცირება და გლუკოზოტოლერანტობის განვითარება, იმის მიუხედავად, რომ  $\beta$ -უჯრედების რაოდენობა არ იცვლება (Navarro et al., 2016).

მნიშვნელოვანია რომ, ანდროგენ-რეცეპტორების ინსულინოტროპული ფუნქცია ადამიანის პანკრეასის კუნძულებში ვლინდება ტესტოსტერონის ფიზიოლოგიური კონცენტრაციისას. ეს ადასტურებს, რომ ტესტოსტერონი მნიშვნელოვანია მამაკაცებში ნორმალური GSIS-სთვის. ანდროგენების ნაკლებობა იწვევს GSIS-ის დეფიციტს და ხელსაყრელ პირობებს ქმნის შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის განვითარებისთვის.

გლუკოზის კონცენტრაციის დაქვეითება ტესტოსტერონის ინიექციის შემდეგ აიხსნება იმით, რომ ტესტოსტერონი ზემოქმედებს ღვიძლის ანდროგენ-რეცეპტორებზე ხელს უწყობს ჰეპატოციტებში ინსულინ-რეცეპტორების m-RNA სინთეზს, რომელიც იწვევს ჰეპატოციტების მგრძობელობის გაზრდას ინსულინის მიმართ. ამ პირობებში ინსულინის მინიმალური კონცენტრაციაც საკმარისია რომ გაიზარდოს გლუკოზის მოხმარება ღვიძლის უჯრედების მიერ (Kapoor et al., 2006; Sato et al., 2008). ჩვენი კვლევის შედეგები ამ მოსაზრების დადასტურებას წარმოადგენს.

მამრებისგან განსხვავებით, მდედრების  $\beta$ -უჯრედებში ანდროგენ-რეცეპტორების ნაკლები რაოდენობა ვერ ცვლის GSIS-ს (Visakorpi et al., 1995), რადგანაც, სავარაუდოდ, მდედრებში ანდროგენების კონცენტრაცია შრატში და ქსოვილებში იმაზე ნაკლებია, ვიდრე საჭიროა ანდროგენ-რეცეპტორების გასააქტიურებლად (Mauvais-Jarvis F., 2011). ამასთანავე, იმის გამო, რომ ტესტოსტერონი გარდაიქმნება ესტროგენად, ეფექტი რომელიც მოსდევს ტესტოსტერონის ინიექციებს, დიდი ალბათობით შეიძლება წარმოადგენს ტესტოსტერონის არომატიზაციით მიღებული ესტროგენის ზემოქმედების შედეგს ესტროგენ-რეცეპტორებზე (Wong et al., 2010).

ტესტოსტერონის მაღალი კონცენტრაცია მამაკაცებში კორელაციაშია ინსულინის მიმართ გაზრდილ მგრძობელობასთან. ამასთანავე, ტესტოსტერონ 17 $\beta$  არომატიზაცია ესტრადიოლად (E2) მნიშვნელოვანია მამაკაცებში

ენერგეტიკული ჰომეოსტაზისათვის. ექსპერიმენტში კასტრირებულ მამრებს, რომელთაც უკეთებდნენ “სუფთა” ანდროგენს (DHT), რომელიც არ გარდაიქმნება ესტრადიოლად (E2), არ უვითარდებოდათ სიმსუქნე, იმ მამრებისგან განსხვავებით, რომელსაც უკეთებდნენ ტესტოსტერონს. ეს მიუთითებს იმაზე, რომ ცხიმის დაგროვება კასტრაციის შემდეგ გამოწვეულია ტესტოსტერონის გარდაქმნით ესტრადიოლად, რაც გავლენას ახდენს ესტროგენ-რეცეპტორებზე (Hayes et al., 2000; Hayes et al., 2001). ეს დაკვირვება ეთანხმება ალოქსანით გამოწვეულ შაქრიანი დიაბეტის მოდელის კვლევისას ჩვენს მიერ მიღებულ მონაცემებს, რომლის თანახმადაც ესტრადიოლის კონცენტრაციის მატების პარალელურად იკლებს ტესტოსტერონის კონცენტრაცია.

ჩვენს ექსპერიმენტებში Wistar-ის ჯიშის მამრ ვირთაგვებში 200 მგ/კგ ალოქსანის ინტრაპერიტონეულად შეყვანის შემდეგ, ისევე როგორც Sprague-Dawley ჯიშის მდედრ ვირთაგვებში სტრეპტოზოტოცინის (STZ) 50 მმლ/ლ ინტრაპერიტონეალური ინიექციის შემდეგ, ლანგერჰანსის კუნძულებში ნანახი იქნა ნეკროზული  $\beta$ -უჯრედები; ამასთანავე, სტრეპტოზოტოცინური დიაბეტის მოდელზე იმუნოჰისტოქიმიურმა კვლევამ მძიმე დაზიანებები გამოავლინა შაქრიანი დიაბეტის ადრეულ სტადიაზე. ნაკლები ინტენსიობის დეგენერაციული ცვლილებები იქნა აღმოჩენილი ღვიძლში და თირკმელის მილაკების ეპითელიოციტებში.

ალოქსანის ან სტრეპტოზოტოცინის შეყვანა ზრდასრულ ვირთაგვებში იწვევს მძიმე ციტოტოქსიკური შაქრიანი დიაბეტის განვითარებას, რომელიც ძალიან გავს შაქრიან დიაბეტ ტიპი 1-ს. ვირთაგვების პანკრეასში  $\beta$ -უჯრედების მორფოლოგიური დაზიანებები თანდართულია გლუკოზურიით.

$\beta$ -უჯრედის კვდომა შეიძლება გამოვლინდეს ნეკროზით ან აპოპტოზით. მრავალი *in vitro* კვლევების საფუძველზე, მიჩნეულია, რომ  $\beta$ -უჯრედების აპოპტოზში ძირითადია კასპაზ დამოკიდებული აპოპტოზური გზა. Caspase-3

აპოპტოზის მთავარი მარკერია (Morgan et al., 1994; Morimoto et al., 2005; Furman, B.L., 2015).

ინსულინის ძირითად მეტაბოლურ ფუნქციას წარმოადგენს გლუკოზის ტრანსპორტის გაზრდა განივზოლიანი კუნთების უჯრედებში (მათ შორის მიოკარდიუმის უჯრედები), სადაც გლუკოზა ინახება როგორც გლიკოგენი ან იჟანგება ატფ-ის წარმოსაქმნელად, და ადიპოციტებში, სადაც ინსულინი ახდენს ლიპიდების სინთეზის სტიმულაციისა (ლიპოგენეზი) და ლიპიდების დაშლის (ლიპოლიზი) შეფერხებას (Kelley et al., 1996).

ღვიძლში ინსულინი და გლუკაგონი საპირისპიროდ მოქმედებენ გლუკოზის ჰომეოსტაზზე. შიმშილის დროს ინსულინის დაბალი დონე და გლუკაგონის მაღალი დონე ხელს უწყობს ღვიძლში გლუკონეოგენეზს და გლიკოგენოლიზს, რაც ხელს უშლის ჰიპოგლიკემიის განვითარებას. ამდენად, უზმოდ გლუკოზის დონე განისაზღვრება ღვიძლის მიერ გამომუშავებული გლუკოზით. ჭამის შემდეგ, გლუკოზა მთავარი ფაქტორია, რომელიც ასტიმულირებს ინსულინის სინთეზს  $\beta$ -უჯრედებში და მის სეკრეციას. ინსულინი პერიფერიულ ქსოვილებში (ჩონჩხის კუნთებში და ცხიმოვან ქსოვილში) უკავშირდება ინსულინის რეცეპტორს, იწვევს უჯრედშიგა რეაქციების კასკადს, რომელიც ხელს უწყობს გლუკოზის ათვისებას და პოსტპრანდიული გლუკოზის უტილიზაციას, რითაც ინარჩუნებს გლუკოზის ჰომეოსტაზს (Ozougwu et al., 2013).

შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის დროს  $\beta$ -უჯრედები კარგავს უნარს ადეკვატურად უპასუხოს პერიფერიულ ინსულინრეზისტენტობას და ინსულინის სეკრეციაზე გაძლიერებულ მოთხოვნას. გლუკოზის გაზრდილი რაოდენობა ხელს უწყობს პრო-ანთებითი ციტოკინების სეკრეციას  $\beta$ -უჯრედებიდან, რაც იწვევს მონონუკლეარული უჯრედების გააქტიურებას და ადგილობრივი ციტოკინების პროდუქციის მომატებას. ამ პათოლოგიური ანთების შედეგად  $\beta$ -უჯრედების დისფუნქცია პროგრესირებს და დგება მათი სიკვდილი.

მიჩნეულია, რომ შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის მქონე მამაკაცები, რომელთაც ტესტოსტერონის დაბალი დონე აღენიშნებათ, შეუძლიათ ტესტოსტერონით მკურნალობით გაიუმჯობესონ მდგომარეობა - ასეთი დასკვნა იქნა გამოტანილი რანდომიზირებული, ორმაგი ბრმა, პლაცებო კონტროლირებადი კვლევის შედეგად, სადაც ტესტოსტერონით მკურნალობდნენ შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ით დაავადებულ მამაკაცებს და სრულყოფილად იკვლევდნენ ინსულინრეზისტენტობის და ანთების როლს ტესტოსტერონით მკურნალობამდე და მკურნალობის შემდეგ. დადასტურებულ იქნა, რომ ტესტოსტერონის დაბალი დონე ასოცირდება ინსულინის მიმართ მგრძობელობის მნიშვნელოვან დაქვეითებასთან (Batra et al., 2014).

ამასთანავე, აღსანიშნავია, რომ თუ კლინიკური კვლევების აბსოლუტური უმრავლესობა სწავლობს ესტროგენების ეფექტს შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის პირობებში, შაქრიანი დიაბეტის ექსპერიმენტულ მოდელებზე ანდროგენების დადებითი ეფექტი, იმის გათვალისწინებით, რომ ექსპერიმენტული დიაბეტი უფრო შეესაბამება დიაბეტ ტიპი 1-ს, მიუთითებს, რომ მამაკაცის სასქესო ჰორმონი დადებითად მოქმედებს არა მხოლოდ შაქრიანი დიაბეტ ტიპ 2-ზე, არამედ, ტიპ 1-ზეც. ამ მიმართულებით გამოჩნდა პირველი კლინიკური დაკვირვებებიც, რომლებიც ადასტურებს კვლევების გაგრძელების აუცილებლობას (Saad et al., 2015).

იმ კვლევების ანალიზი, რომლებიც შეისწავლის ანდროგენების მოქმედების მექანიზმს შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1 და ტიპი 2-ის პათოგენეზში, იძლევა საფუძველს დავასკვნათ, რომ ანდროგენების დამატება შეიძლება სხვადასხვა გზით ახდენდეს გავლენას შაქრიანი დიაბეტის დროს წარმოშობილ სხვადასხვა დარღვევებზე. ექსპერიმენტულ მოდელებში ანდროგენით მკურნალობის ეფექტი შეიძლება უკავშირდებოდეს ამ ჰორმონის ზეგავლენას



ღვიძლის უჯრედების ინსულინრეზისტენტობაზე და მათში გლუკოზის მეტაბოლიზმზე - ანდროგენ-რეცეპტორებზე ზემოქმედების გზით.

ყოველივე ზემოთქმულიდან გამომდინარე, ანდროგენებით შაქრიანი დიაბეტის სხვადასხვა ფორმების თერაპიის შესაძლებლობის კვლევა აქტიურ სამეცნიერო და პრაქტიკულ პრობლემას წარმოადგენს, რომელიც ახალ მონაცემებს და საბოლოო ვერდიქტს ელოდება.

## დასკვნები

1. ალოქსანით გამოწვეული ექსპერიმენტული შაქრიანი დიაბეტის სამკურნალოდ მამაკაცის სასქესო ჰორმონის - ტესტოსტერონის - გამოყენების დადებითი ეფექტი მიუთითებს, რომ ტესტოსტერონი შეიძლება წარმატებით იქნას გამოყენებული არა მხოლოდ შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის მართვისას (რაც დადასტურებულია მრავალი კლინიკური კვლევით), არამედ, ასევე ჩართულ იქნას შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 1-ის კომპლექსურ მკურნალობაშიც (იმის გათვალისწინებით, რომ ალოქსანით გამოწვეული ექსპერიმენტული შაქრიანი დიაბეტი სწორედ ტიპი 1-ის მოდელს წარმოადგენს;
2. ალოქსანით გამოწვეული ექსპერიმენტული შაქრიანი დიაბეტის მქონე ცხოველების ტესტოსტერონით მკურნალობა აკორექციებს მეტაბოლიზმურ დარღვევებს, რაც აისახება როგორც ბიოქიმიური მაჩვენებლების (გლუკოზის, იმუნორეაქტიული ინსულინის, სასქესო და სტეროიდული ჰორმონების), ისე პანკრეასისა და ღვიძლის მორფოლოგიური სტრუქტურის გაუმჯობესებით;
3. ალოქსანური დიაბეტის მოდელზე ტესტოსტერონის ზემოქმედება მულტიორგანულია და შეიძლება ხორციელდებოდეს განსხვავებული მექანიზმებით, მათ შორის ღვიძლის ანდროგენ-რეცეპტორებზე ზემოქმედებითა და იმ მექანიზმის ჩართვით, რომელიც ხელს უწყობს ინსულინრეზისტენტობის დაქვეითებას და გლიკოგენის სინთეზს;
4. ალოქსანური დიაბეტის მოდელირებიდან 15 დღის შემდეგ ჰეპატოციტების აქტიური ანდროგენ-რეცეპტორების რაოდენობა საკონტროლო ჯგუფის ცხოველების მონაცემებთან შედარებით მომატებულია; შაქრიანი დიაბეტის მოდელირებიდან 30 და 45 დღის შემდეგ კი, აქტიური ანდროგენ-

რეცეპტორების რაოდენობა შემცირებულია როგორც საკონტროლო ჯგუფის, ისე 15-დღიანი შაქრიანი დიაბეტის მქონე ცხოველების მონაცემებთან შედარებით; ანდროგენ-რეცეპტორების რაოდენობის შემცირება თანხვედრაშია ღვიძლის უჯრედებში დნმ-ის და რნმ-ის სინთეზის შემცირებასთან;

5. ალოქსანით გამოწვეული ექსპერიმენტული შაქრიანი დიაბეტის სამკურნალოდ მამაკაცის სასქესო ჰორმონის - ტესტოსტერონის - გამოყენება იწვევს აქტიური ანდროგენ-რეცეპტორების რაოდენობის მატებას, რასაც თან სდევს ღვიძლის უჯრედებში დნმ-ის და რნმ-ის სინთეზის გაძლიერება;
6. ტესტოსტერონის ინიექციების შედეგად ჰეპატოციტებში დნმ-ისა და რნმ-ის სინთეზის გაძლიერება აისახება არა ღვიძლის უჯრედების მიტოზების, არამედ პლოიდობის მატებით;

დანართი

ცხრილი N 3. ბიოქიმიური კლასების (გლუკოზა, იმუნორეაქტიული ინსულინი (ირი), ესტრადიოლი (E2), ტესტოსტერონი (T), კორტიკოსტერონი (კორ), დნმ, რნმ, ანდროგენ-რეცეპტორები (AR)) შედეგები

N	გლუკოზა კორტი	გლუკოზა-15	გლუკოზა-30	გლუკოზა-45	გლუკოზა-45 მუთ	ირი კორტი	ირი-15	ირი-30	ირი-45	ირი-45 მუთ	E2 კორტი	E2-15	E2-30	E2-45	E2-45 მუთ	T კორტი	T-15	T-30	T-45	T-45 მუთ	კორ კორტი	კორ-15	კორ-30	კორ-45	კორ-45 მუთ	დნმ კორტი	დნმ-15	დნმ-30	დნმ-45	დნმ-45 მუთ	რნმ კორტი	რნმ-15	რნმ-30	რნმ-45	რნმ-45 მუთ	AR კორტი	AR-15	AR-30	AR-45	AR-45 მუთ
1	5.20	12.00	14.0	15.1	11.2	23.80	12.40	5.00	4.70	4.90	0.014	0.018	0.023	0.030	0.022	2.63	1.65	1.38	1.40	2.43	13.60	18.95	22.20	21.80	19.30	180840.5	101286.5	121164.3	106678.4	150079.7	324944.6	230667.3	259955.5	243684.1	282689.6	1670.45	1882.25	1135.77	1005.95	1508.95
2	4.70	10.40	13.5	14.4	10.4	24.20	13.00	5.80	4.63	5.00	0.016	0.016	0.020	0.030	0.016	2.59	1.74	1.29	1.40	2.45	12.80	19.2	23.40	22.20	19.50	180862.2	101269.2	121145.1	106700.4	150119.3	324959.9	230767.2	259936.1	243708.3	282700.2	1675.85	1875.40	1117.68	996.90	1496.90
3	5.11	10.80	11.6	15.0	12.0	23.80	13.60	4.60	4.65	4.20	0.013	0.02	0.025	0.034	0.018	2.61	1.85	1.32	1.50	2.48	13.20	19.47	21.84	21.90	21.00	180845.6	101276.3	121183.6	106696.0	150099.0	324945.1	230956.6	259975.1	243732.5	282709.0	1599.90	1895.60	1125.20	1015.00	1525.00
4	5.10	13.00	12.5	16.5	12.2	22.50	12.00	4.50	4.70	4.40	0.015	0.019	0.024	0.031	0.016	2.63	1.72	1.35	1.52	2.32	13.80	17.73	21.45	25.40	20.80	180790.1	101281.5	121180.0	106710.9	150095.5	324875.2	230647.1	259954.4	243695.5	282680.9	1680.75	1900.80	1111.96	1010.20	1510.20
5	4.85	12.00	13.0	14.4	10.8	20.20	11.90	5.40	4.60	4.20	0.017	0.017	0.026	0.033	0.020	2.68	1.76	1.47	1.38	2.36	10.00	18.7	20.45	25.10	20.60	180900.4	101274.1	121148.9	106696.9	150099.6	324756.3	230661.9	259957.2	243721.7	282717.1	1622.41	1895.40	1109.15	998.70	1498.70
6	5.50	10.00	13.5	16.0	11.5	22.00	13.20	5.20	5.42	5.10	0.014	0.015	0.025	0.034	0.17	2.54	1.65	1.36	1.36	2.26	11.88	18.55	21.23	24.30	19.80	180812.2	101271.7	121171.4	106690.5	150099.0	324911.1	230711.8	259961.1	243685.3	282690.5	1639.96	1902.45	1119.42	1000.00	1512.65
7	4.80	12.60	13.0	14.5	10.5	23.10	11.70	5.60	4.60	4.70	0.011	0.014	0.021	0.032	0.016	2.61	1.82	1.40	1.34	2.24	10.90	17.9	22.45	24.60	19.70	180770.9	101263.5	121158.0	106678.2	150120.1	324788.5	230706.9	259947.3	243732.5	282708.3	1710.20	1868.00	1128.12	999.45	1498.40
8	5.20	10.00	13.8	15.8	12.4	20.90	12.85	4.80	4.90	5.20	0.015	0.017	0.022	0.031	0.019	2.58	1.70	1.36	1.35	2.50	12.30	19.54	21.84	21.80	21.00	180665.9	101280.0	121172.6	106715.7	150115.2	324865.6	230714.8	259950.0	243708.3	282693.7	1645.84	1888.90	1106.43	1010.60	1520.25
9	5.00	12.90	12.2	15.5	10.0	25.00	11.79	5.40	4.50	5.00	0.017	0.020	0.021	0.034	0.021	2.64	1.79	1.38	1.20	2.41	13.50	18.89	20.10	23.00	20.40	180922.1	101243.9	121156.2	106719.0	150077.0	324900.8	230705.1	259964.1	243699.9	282710.1	1600.70	1882.60	1117.30	1015.10	1508.90
10	5.00	10.80	12.8	14.9	11.6	22.20	12.35	5.10	4.20	5.00	0.014	0.019	0.026	0.032	0.022	2.63	1.72	1.38	1.20	2.38	13.80	18.75	23.14	25.30	20.50	180800.9	101273.2	121166.3	106678.8	150095.1	324874.4	230715.3	259957.0	243717.3	282700.9	1633.42	1877.95	1100.50	996.95	1499.80
11	4.90	13.10	12.4	15.4	12.2	25.20	11.88	4.80	4.79	4.58	0.016	0.02	0.020	0.032	0.016	2.85	1.72	1.40	1.38	2.31	11.55	17.9	22.45	21.76	21.00	180820.5	101270.4	121155.1	106660.2	150110.9	324905.9	230709.9	259948.1	243666.1	282684.6	1720.10	1889.24	1134.86	998.40	1488.60
12	4.80	12.60	13.6	15.0	10.5	24.10	13.12	5.00	4.95	5.16	0.017	0.019	0.023	0.032	0.018	2.70	1.81	1.29	1.30	2.50	10.95	18.2	21.23	23.50	21.05	180845.6	101285.2	121173.5	106700.3	150100.9	324990.1	230700.3	259963.4	243685.4	282671.3	1700.30	1886.50	1099.59	991.70	1518.45
13	5.30	12.70	13.2	15.7	11.5	20.80	11.24	5.10	4.80	4.70	0.015	0.017	0.021	0.030	0.022	2.63	1.67	1.30	1.40	2.30	11.45	19.1	23.11	24.56	20.80	180866.4	101272.6	121167.2	106720.2	150086.1	324863.3	230683.5	259966.0	243700.6	282666.8	1675.80	1891.85	1135.77	1020.50	1496.45
14	5.10	10.80	13.3	14.8	12.4	23.10	11.33	4.40	4.65	4.90	0.011	0.016	0.025	0.034	0.022	2.77	1.60	1.47	1.42	2.35	12.30	18.6	22.21	24.60	20.40	180877.5	101276.6	121161.8	106680.5	150083.5	324965.7	230715.5	259955.2	243650.8	282698.4	1667.85	1876.90	1109.30	1000.90	1514.23
15	5.10	12.80	13.3	15.5	11.2	23.10	13.15	4.60	4.90	5.00	0.013	0.015	0.024	0.031	0.020	2.59	1.79	1.48	1.26	2.42	13.60	17.88	22.10	25.40	19.28	180789.9	101280.3	121162.4	106690.1	150086.8	324893.6	230712.3	259956.1	243688.9	282708.6	1720.10	1901.30	1126.09	1012.30	1510.11
16	4.90	10.50	13.6	14.4	10.0	24.40	13.40	4.30	4.96	5.10	0.012	0.020	0.026	0.032	0.018	2.55	1.85	1.43	1.28	2.46	12.99	17.8	22.60	25.20	19.50	180887.1	101275.1	121155.3	106718.9	150083.0	324971.2	230689.6	259947.2	243721.4	282706.4	1685.65	1799.50	1145.80	1016.90	1522.30
17	5.20	13.30	14.0	15.0	10.4	24.10	12.45	5.40	4.85	4.60	0.014	0.018	0.020	0.030	0.016	2.65	1.76	1.39	1.32	2.38	13.40	18	20.90	21.30	19.90	180846.9	101277.2	121160.6	106710.5	150087.3	324949.8	230673.1	259960.5	243710.5	282685.1	1597.98	1866.40	1196.40	1014.40	1520.14
18	5.20	13.00	14.2	15.9	11.6	23.50	12.66	5.60	4.64	5.10	0.015	0.019	0.023	0.034	0.021	2.58	1.60	1.45	1.40	2.36	12.85	17.65	23.20	24.60	20.90	180838.7	101285.2	121158.5	106701.0	150111.4	324990.6	230654.6	259976.4	243690.8	282678.5	1714.30	1864.80	1099.70	995.70	1497.99
19	5.10	10.90	13.4	14.6	12.6	23.60	11.98	4.80	4.86	4.70	0.016	0.019	0.021	0.034	0.019	2.75	1.69	1.33	1.46	2.48	11.99	16.9	21.90	23.00	21.05	180862.7	101583.4	121163.2	106686.1	150096.8	324980.4	230684.2	259931.0	243699.7	282680.4	1670.54	1885.40	1124.30	992.80	1496.25
20	4.90	12.70	13.5	14.5	10.8	22.80	12.88	4.90	4.74	4.40	0.012	0.020	0.024	0.030	0.020	2.90	1.80	1.45	1.44	2.52	13.40	18.5	22.45	22.75	19.30	180846.9	101284.1	121167.9	106699.5	150096.0	324759.9	230701.5	259953.4	243695.5	282699.5	1896.90	1893.70	1156.40	1014.80	1511.35

## SUMMARY

### **The Role of Androgens in Correction of Metabolic Disorders Caused by Diabetes Mellitus. (Experimental Study)**

#### **Introduction**

According to World Health Organization data, the incidence of diabetes mellitus (DM) has been obviously increasing over the world during the last decades. Both types of DM (type 1 and type 2) are characterized by chronic hyperglycemia and disorders in metabolism of carbohydrates, proteins and fats (American Diabetes Association, 2009), with multi-organ involvement in the pathogenesis (Hotamisligil G.S., 2006).

The gender difference in the population affected by DM has been demonstrated by numerous epidemiological studies (Fitzgerald, et al., 1995; Grant, et al, 2009; Siddiqui, et al., 2013). It is considered that males have higher prevalence and diabetes type 2 risk (Aregbesola et al., 2016; Kautzky-Willer, et al., 2016). In addition, the risk of men with type 1 diabetes by cardiovascular disease mortality is approximately 10 times higher that of men without diabetes (Orchard et al., 1990). It is well established that sex hormones have a great impact on energy metabolism, body composition, vascular function, and inflammatory responses (Kautzky-Willer, et al., 2016). The credible decrease of plasma testosterone concentration has been shown in males affected by DM type 1 as well as type 2. The influence of sex hormones on the insulin secretion by  $\beta$ -cells in pancreas and metabolic processes in liver has been proved (Morimoto et al., 2001; Shen & Shi, 2015). It is also reported that the reduction of blood testosterone concentration leads to the changes of hyperglycemia, insulin resistance and metabolic processes in liver in men with both types of DM (Grossmann et al., 2008; Holt et al., 2014). The low level of blood testosterone is related to worst outcome in advanced liver diseases (Sinclair et al., 2016).

Considering, that hepatocytes and  $\beta$ -cells have the receptors for both male and female sex hormones, which in turn, have the ability of changing their quantitative expression (“down-regulation” and “up-regulation”) accordingly to their blood concentration, it could be expected that sex hormones supplementation may have the repercussions on pancreatic and hepatic functioning in DM.

It is considered, that the reduction of blood testosterone leads to the changes of metabolic processes in liver (Grossman et al., 2008; Holt et al., 2014) and alteration of DNA and RNA synthesis (Didebulidze et al., 2015). The functions of liver in males are changed more dramatically than in females, confirming the assumption that the sex-dependence (sex-association) of male livers are genetically more determined in compare with female livers (Zhang et al., 2011).

Alloxan selectively targets Langerhans islets and induces the damage of  $\beta$ -cells. Single injection leads to toxic effect and apoptogenic changes, hypoinsulinemia, and hyperglycemia (Elayat et al., 1995), which in turn stimulates a cascade of dysmetabolic mechanisms, including the processes that activate apoptosis of the  $\beta$ -cells (Bonner-Weir S. et Weir G.C. 2005).

It should be mentioned that the Langerhans islets are not the only targets damaged during diabetes. Histologically and immunohistologically confirmed changes in liver and kidney tissues were revealed in experimental models of diabetes. These damages are caused by the mechanisms such are hypoxia, apoptosis, and calcium influx (Maedler et al., 2001).

The efforts to determine the expediency of using various substances and compounds for treating diabetes are permanent. One of such substances is testosterone. Numerous clinical and experimental studies show a positive effect of testosterone in DM type 2 (in most of the studies) as well as DM type 1 (in certain studies), however, the final verdict with respect to its effect has not been reached yet.□



*The aim of the present study* was to investigate the possibility of restoration of metabolic imbalance by the exogenous androgen supplementation in the experimental model of alloxan-induced diabetes (AD). The influence of exogenous testosterone supplementation on the expression of androgen receptors (AR) and DNA & RNA synthesis as well as the morphological changes in pancreatic islets and liver tissue in AD was studied.

### **Materials and Methods**

The experimental model of diabetes was induced in male Wistar white rats (n=100) in age 2-2,5 months, weighting 180-200 g by a single intraperitoneal dose of Alloxan (Chemos GmbH & Co.KG (Germany)) - 2,0 mg per 10 g of body weight. The animals were divided into 4 groups: Control Group (n=20) received solvent; Group I (n = 20) studied on 15<sup>th</sup> day of AD; Group II (n = 20) studied on 30<sup>th</sup> day of AD; Group III (n = 20) studied on 45<sup>th</sup> day of AD; Group IV (n=20) received daily 0.5 mg of synthetic androgen - radioinert Methyltrienolone - beginning from the 31<sup>st</sup> day of AD. One hour before sacrifice, all animals underwent to the intraperitoneal injection of  $3,7 \times 10^4$  Bq radioactive androgen - Methyltrienolone [17 $\alpha$ -METHYL-3H] (R-1881) obtained from Perkin Elmer, Inc., for quantitative assessment of AR in liver.

Subsequently, the animals were given ether anesthesia and the blood samples were obtained from inferior vena cava to further measuring the levels of glucose, immunoreactive insulin (IRI), corticosterone, estradiol (E<sub>2</sub>) and testosterone (T), in parallel with studying of histology of pancreatic islets and liver cells in all above-mentioned groups. The study corresponded to the principles of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NRC 2011) and approved by the Commission on Bioethics at Al. Natishvili Institute of Morphology, Iv. Javakhishvili Tbilisi State University.

### Measurement of hormones

The levels of hormones were measured by commercial kits. IRI was determined using the assay from *SEA-IRE-SORIN (France)*; corticosterone was assessed using the assay from *RSL., Inc. (California, US)*, T - by *SORIN BIOMEDICA (Italy)* and E<sub>2</sub> - by *ORIS Industries S.A. International GIS (France)*.

### Measurement of hepatic DNA/RNA

The quantity of DNA in liver was studied by radioactive H<sup>3</sup>-thymidine (I.U. 8.14 x 10<sup>11</sup> Bq/ml) in the dose of 3.7x 10<sup>5</sup> Bq/ml, while the RNA was measured by radioactive H<sup>3</sup>-uridine (I.U. 8.8 x 10<sup>11</sup> Bq/ml) in the dose of 3.7x 10<sup>6</sup> Bq/ml. For this purpose, the fragments of liver tissue were weighed and placed into 5 ml *199 solution* vials, to which the above specific radioactive components were added.

The vials were placed in thermostat at +38°C for 90 minutes. Later, the fragments were rinsed in cold (+4°C) nourishing buffer with subsequent homogenization and placement in scintillating fluid container vials (according to previously published recommendations Didebulidze, et al., 2015). The frequency (quantity) of radioactive impulses (imp/gr/min) was calculated by the “β-2” device (produced by the Enterprise of Academy of Medical Sciences, Russia).

One hour before removing animals from the experiments, the intraperitoneal injection of 3,7x10<sup>4</sup> Bq radioactive androgen Methyltrienolone [17a-METHYL-3H] (R-1881) was performed for the assessment of amount of androgen receptors in liver (Didebulidze et al., 2015).

### Morphological studies

For the histological investigation of pancreatic and liver tissues, their fragments were fixed in 4% formaldehyde prepared on 7,2-7,4 pH phosphate buffer and later embedded in the paraffin according to standard protocols. 3-4 μm thick samples were stained with hematoxylin-eosin (H&E). The slices were studied by light microscope

(*Micros*) equipped with a digital camera. 5 animals from each group were subjected to morphometric analysis; 10 samples were studied from each animal. *Adobe Photoshop software* was used to determine the average size of the pancreatic islets (the area occupied by the islets, measured in  $\mu\text{m}^2$ ) as well as to measure the areas of necrotic foci in the islets. The degree of the liver damage was assessed by 5-points "visual scale", where "1" corresponds to the norm (practically without changes) and "5" - with severe degenerative (necrotic) changes.

Additional liver tissue sections were studied immunohistochemically for assessing Ki-67 expression. After deparaffinization and rehydration, endogenous peroxidase was blocked in hydrogen peroxide solution. For the antigen restoration, the samples were placed in 0.01 M citrate buffer (pH 6.0) and were heated in a microwave oven (1000 C at 600W) for 15 minutes. After incubation with bovine serum to avoid unspecific binding and blocking of non-specific bonds, mouse monoclonal antibody anti-rat Ki-67 diluted 1:50 (clone MIB-5; DAKO) was incubated for 1 hour at room temperature. For the detection of bound antibodies Novolink Polymer Detection System (Leica, Germany) was used, and visualized using diaminobenzidine (DAB, Leica) and counterstained with hematoxylin.

To determine the ploidy of hepatocytes, the computer program Image J was used. The nuclei of 500 hepatocytes were measured on the corresponding histology sections. Based on the obtained data the diagrams were built for the squares roughly similar to their size. The first peak corresponded to 2C, subsequent peaks - 4C (2Cx2) and 8C (4Cx2). Tissue samples ( $3 \times 5 \times 5 \text{ mm}^3$ ) were taken from the central and peripheral areas of all liver lobes.

#### Quantitative assessment of AR

The samples of liver tissue being weighed, homogenized and placed in scintillation fluid, were placed in a scintillation counter "Beta-2" (Scientific-Research Institute of

Medical Industry at Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, USSR) for determining of the number of AR in liver (counting the radioactive impulses).

### Statistical analysis

Median values are provided with respective interquartile ranges. Comparisons were tested using Mann-Whitney U test. P values less than 0.05 were considered statistically significant. Statistical analysis was conducted using SAS 9.2 software.

*We preferred median over mean because of concerns regarding the normality of distribution and small sample size of our study. Therefore we thought that median values are more appropriate to describe our data and make comparison between groups, which consisted of 20 subjects each.*

### **Results and Discussion**

AD was accompanied by the increased plasma concentration of glucose, corticosterone and E<sub>2</sub>. This increase appeared to be statistically significant compared with data of control group and groups with lesser terms of AD as well. The plasma concentration of IRI and testosterone has significantly decreased at 15<sup>th</sup> and 30<sup>th</sup> days of the experiment but on the 45<sup>th</sup> day their further changes compared with previous terms were not statistically significant (Table 1).

This could be related to the reduction of damaging effect of alloxan at 45<sup>th</sup> day when pancreatic  $\beta$ -cells entered into regeneration phase. The reduction of intensity of IRI decline is accompanied by the reduction of intensity of testosterone decline as well as it was described by Kandeel, et al. (2007). It is established that hypoinsulinemia and decreased glucose utilization inhibit protein, DNA and RNA synthesis in hepatocytes. In our study, hepatic DNA synthesis was decreased by 44% and RNA synthesis by 29% at 15<sup>th</sup> day of AD. In case of hypoinsulinemia and hyperglycemia, the glucose, which abundantly penetrated into hepatocytes (insulin is not required for the entrance

of glucose in the hepatocytes, but only for its utilization by the cells - Kelly & Jones, 2013) promotes a significant increase in the production of hydroxyl radicals, which increase the amount of Bcl-2-associated X protein (BAX-protein). Besides, BAX protein stimulates the release of cytochrome C from mitochondria, caspase-3 activation and induction of apoptosis (Frances, et al., 2010).

After injection of radio-inert methyltrienolone, the glucose level significantly decreased being not statistically different in comparison with the data obtained at 15<sup>th</sup> day of experiment. This can be explained by the fact, that testosterone promotes the synthesis of i-RNA of IRI receptors in hepatocytes, which leads to increased sensitivity of hepatocytes toward IRI. In this conditions the minimal rise of IRI is enough to stimulate the glucose utilization in liver cells (Kapoor, et al., 2006; Sato, et al., 2008). IRI exerts anti-apoptotic properties based on the stimulation of XIAP, which inhibits caspases and suppresses the apoptosis (Frances, et al., 2010).

Exogenous androgen supplementation significantly increases DNA (24%) and RNA (8%) synthesis in liver followed by a raise on the amount of polyploid hepatocytes in compare with 30<sup>th</sup> and 45<sup>th</sup> days of AD model, although no increase in the number of Ki-67 positive hepatocytes was observed (Fig 1).

Testosterone shifts insulin signaling toward cellular protein anabolism (Shahidi N.T., 2001). It increases Glut4 expression and downstream signaling such as Akt and PKC-zeta/lambda phosphorylations and the main glycolytic phosphofructokinase and hexokinase enzymes (Sato et al., 2008). Injection of methyltrienolone, had no effect on the concentration of IRI: the latter was not different neither from the data obtained at 30<sup>th</sup> nor 45<sup>th</sup> days of AD model.

Due to reduction of rat  $\beta$ -cells derived insulin by alloxan imply, the synthesis of testosterone is not stimulated adequately. Reduced testosterone concentration can no longer afford inhibition of lipoprotein lipase enzyme. This enzyme, located at the

endothelial membranes of blood capillaries into adipose tissue, releases the triglycerides from fat rich chylomicrons and very low density lipoproteins; these triglycerides penetrate and deposit into adipocytes. Under these conditions the enzyme aromatase, located in adipocytes, is activated and converts already diminished testosterone to estrogen. This observation is confirmed by our data in which the marked increase in E<sub>2</sub> concentration paralleled the decrease in the testosterone concentration (Hayes et al., 2000, 2001). However, the E<sub>2</sub> concentration which was increased at all stages of the experiment still declined after methyltrienolone injection and was not statistically different from indices of 15<sup>th</sup> day of AD (Table 1).

The presented data confirms the results of Shahidi (2001), Haffner, et al. (1988) and Pitteloud, et al. (2005) that the variability in the steroid hormone concentration is dependent on insulin and glucose levels and vice versa.

At the 15<sup>th</sup> day of AD it was observed an increase of liver AR expression. This can be explained by active consumption of testosterone during alloxan-dependent stress that increased the number of free AR enabled to interact with radioactive androgen H<sup>3</sup>-methyltrienolone (R-1881). At subsequent stages the increased testosterone deficiency induced by experimental diabetes was associated with drastic down-regulation of AR expression and signaling (due to their “masking”) (Tepperman J., 1968; Moudgil V.K., 1988,1990).

However, the administration of synthetic androgen during 15 days followed by increased testosterone level in blood plasma lead to up-regulation and activation (“de-masking”) of AR. Data showed that receptor binds to radioactive H<sup>3</sup>-methyltrienolone and cause further increase on the AR expression in liver tissue.

Despite the expression of liver AR after treatment with H<sup>3</sup>-methyltrienolone does not reach the control level, an increase in their number significantly supports the



restoration of liver function, including adaptive-compensatory activities (Smirnov A.N., 2009).

The increased glucose blood concentration during AD may be related to reduced glucose-related metabolism caused by enhanced corticosterone signaling. Under such circumstances, the increased level of steroid hormones stimulates gluconeogenesis from protein and amino acids metabolism (Imai et al., 1993; Andrews R.C. et Walker B.R., 1999; Kinote et al., 2012). The supplementation of H<sup>3</sup>-methyltrienolone reduced IRI resistance, hyperglycemia, corticosterone and E<sub>2</sub> drastically altered during experimental diabetes in male rats.

The structure of pancreatic islets and liver tissue of the rats in the control group were in full compliance with the standard morphology of these tissues in rodents, described in numerous studies. In particular, the pancreatic islets are distinguished as non-encapsulated, comparatively pale-colored round or oval areas formed by the various cell groups separated by the capillary network. They are well isolated from the adjacent exocrine tissue. Mainly  $\beta$ -cells are located in the center of the islets, however, rarely they can create the row (cell line) bordering the islets from the tissue of the exocrine pancreas (similarly to "bordering plate" in the liver) (Fig 2-A).

Hepatocytes are organized into plates separated by vascular channels (sinusoids). Majority of hepatocytes contain the single diploid nuclei, except for some cases where the nuclei are tetraploid.

Destructive changes in  $\beta$ -cells were revealed in the animals of all experimental groups with Alloxan-induced diabetic model (AIDM). This can be explained by the targeting damage of  $\beta$ -cells by Alloxan (this specific effect serves as a basis for the modeling of diabetes) (Lenzen S., 2008).

Within 15 days of AIDM, the degenerative changes and necrotic lesions were mostly expressed in the pancreatic islets which are adjacent to the large blood vessels.

The necrotic changes were revealed in part of the  $\beta$ -cells; some of them underwent vacuolization, while others expressed pale-colored pyknotic nuclei. Sometimes the degenerative changes were vividly seen at the periphery of islets, where the “white” vacuolated cells formed “bordering plate”, however, more often the changes were seen centrally – were vacuolized or foam-like cells with transparent cytoplasm were grouped in the clumps. Despite colliquation of the part of the damaged cells, the islets were shrunk, due to which the identification of capillary lumens as well as the endotheliocytes was difficult. At the same time, the epithelium of pancreatic acini, blood vessels of various diameters and connective tissue structures maintained the normal structure (vacuolization of the cytoplasm in the cells of some acini may be regarded as an exception) (Fig 2- B).

All described changes are typical for AIDM in rodents and indicate that substantial damage of islets directly correlates with the changes in insulin and glucose concentrations in blood, as it was shown previously (Lenzen S., 2008). It is assumed that death of  $\beta$ -cells, which may be expressed by necrosis or caspase-dependent apoptosis, represents “well-established” stage of experimental diabetes (Haligur et al., 2012). Considering the fact, that on 15th day of experimental diabetes, the number of cells with necrotic changes evidently prevail the number of cells with apoptotic bodies (these bodies were revealed in only small number of  $\beta$ -cells), it might be concluded that diabetes has not still reached the peak of its development on the 15th day of the Alloxan injection.

On the 30th day from AIDM, the morphology of pancreatic islets revealed the changes of the same type as on the day 15th. Hereby, the intensity of damage in some islets was significantly high, which was expressed in alternating necrotic foci and less damaged cells (Fig 2- C). The number of apoptotic foci was also increased on the 30th day of AIDM.

On day 45th of AIDM, the morphologic picture of pancreas practically does not differ from the picture seen on day 30th. Stalling the intensity of the damage may be associated with the plateau of Alloxan's damaging effect (Lenzen S., 2008).

After 15-day treatment with testosterone (methyltrienolone) (from day 31 to day 45 of AIDM), the recovery of structural changes in the pancreatic islets was revealed: the number of cells in the Langerhans islets and therefore their density was increased; the number of vacuolized and necrotic  $\beta$ -cells cells dropped significantly; the contours and compositions of the majority of pancreatic islets were almost similar to normal cells (Fig 2-D).

In total the area of islets on days 15th, 30th and 45th after AIDM was convincingly diminished compared to the value of animals in the control group, however, these do not differ from each other convincingly. The necrotic areas in these islets (which basically corresponds with the summary areas of necrotic  $\beta$ -cells) convincingly increased on days 15th, 30th and 45th after AD compared to the data of animals from the control group, however, these do not convincingly differ from each other. In addition, total area increased and the area of necrotic foci decreased in the pancreatic islets of the animals in IV group (including the animals with AD received the treatment with methyltrienolone from day 31st to day 45th) while the characteristics approximated to the values of the control group (Diagram N1).

Both the areas of pancreatic islets and necrotic foci were measured taking into account the existed experience (Elayat et al., 1995).

The liver is one of the most important organs involved in the regulation of energy homeostasis. Therefore, it is natural that in case of experimental diabetes it developed certain changes. The damage of liver tissue (degenerative changes, decomposition of plates, stasis, and infiltration) was assessed as score "2" and "3" for all terms of AD.

The granular degeneration of different degree, rarely fatty inclusions and vacuolization, as well as the development of apoptotic bodies, were revealed in the hepatocytes. These changes represent the outcome of Alloxan induced dysmetabolism. These data are in unison with the data described by S. Lenzen regarding liver damage in streptozotocin-induced diabetes, however, after streptozotocin injection, the progression of diabetic changes is significantly higher (Lenzen S., 2008). The lesions of liver tissue revealed on day 15th, 30th and 45th after AIDM, do not substantially differ from each other (Fig 2- E). During 15-days treatment with methyltrienolone (within day 31st to day 45th of AIDM) normalized the histological features of the liver (Fig 2 – F): its damage was assessed as score “1”, while the changes that corresponded with score “2” were seen only in several foci.

## **Conclusion**

Positive effect of male sex hormone – testosterone - in treatment of Alloxan induced Diabetes, indicates that testosterone can be successfully used not only for the management of Diabetes type 2 (as it is confirmed by many clinical studies) but also in the complex treatment of Diabetes type 1 (considering the fact that Alloxan induced Diabetes represents the model of Diabetes type 1).

In the animals with Alloxan induced Diabetes testosterone improves metabolic abnormalities (concentrations of glucose, immunoreactive insulin, sex- and steroid hormones) as well as the morphological structure of the pancreatic islets and liver.

Effect of testosterone is based on various mechanisms, including its influence on the Androgen-Receptors of liver cells and induction the pathways supporting the decrease in insulin resistance and synthesis of glycogen.

After 15 days of Alloxan-induced Diabetes the number of active Androgen-Receptors of hepatocytes is increased compared to the animals of the control group; after

30 and 45 days of experimental diabetes, the number of active Androgen-Receptors is decreased compared to the control group as well as the group with 15-days Diabetes; the decrease in the number of Androgen-Receptors is accompanied with the diminished synthesis of DNA and RNA in the liver cells.

Treatment of rats with Alloxan induced Diabetes with testosterone causes the increase of the number of active Androgen-Receptors which correlates with the intensification of DNA and RNA synthesis in the liver cells.

This intensification of synthesis of nuclear acids is accompanied by the increase of ploidy of hepatocytes but not the number of mitotic cells.

Table 1. Blood concentration of glucose, immunoreactive insulin (IRI), testosterone (T), estradiol (E<sub>2</sub>), corticosterone in rats; activity of nucleic acids (DNA and RNA) synthesis; expression of androgen receptor (AR); the hepatocytes ploidy.

Groups	1	2		3		4		5	
	Controle group (n=20)	I Group 15 days (n=20)	p value	II Group 30 days (n=20)	p value	III Group 45 days (n=20)	p value	IV Group 45 days (15 days getting methyltrienolone (n=20)	p value
Glucose mmol	5.10 (4.90-5.20)	12.30 (10.80-12.85)	<0.0001*	13.35 (12.90-13.60)	<0.0001* <0.0004**	15.00 (14.55-15.60)	<0.0001* <0.0001** <0.0001***	11.35 (10.54-12.11)	<0.0001* 0.08** <0.0001*** <0.0001****
IRI µU/mg	23.30 (22.35-24.10)	12.42 (11.89-13.06)	<0.0001*	5.00 (4.70-5.40)	<0.0001* <0.0001**	4.72 (4.63-4.88)	<0.0001* <0.0001** 0.05***	4.90 (4.59-5.05)	<0.0001* <0.0001** 0.14*** 0.32****
T ng/ml	2.63 (2.59-2.69)	1.73 (1.68-1.80)	<0.0001*	1.38 (1.34-1.44)	<0.0001* <0.0001**	1.38 (1.31-1.41)	<0.0001* <0.0001** 0.61***	2.40 (2.34-2.47)	<0.0001* <0.0001** <0.0001*** <0.0001****
E <sub>2</sub> ng/ml	0.015 (0.013-0.016)	0.019 (0.017-0.020)	<0.0001*	0.023 (0.021-0.025)	<0.0001* <0.0001**	0.032 (0.031-0.034)	<0.0001* <0.0001** <0.0001***	0.019 (0.017-0.021)	<0.0001* 0.18** 0.0001*** <0.0001****
Cortico sterone ng/ml	12.83 (11.72-13.45)	18.58 (17.90-19.03)	<0.0001*	22.15 (21.24-22.53)	<0.0001* <0.0001**	23.90 (22.05-24.85)	<0.0001* <0.0001** 0.005***	20.45 (19.60-20.95)	<0.0001* <0.0001** <0.0001*** <0.0001****
DNA Imp/g/m in	180846 (180816-180872)	101276 (101272-101283)	<0.0001*	121163 (121157-121170)	<0.0001* <0.0001**	106698 (106683-106711)	<0.0001* <0.0001** <0.0001***	150096 (150086-150106)	<0.0001* <0.0001** <0.0001*** <0.0001****
RNA Imp/g/m in	324909 (324870-324963)	230701 (230671-230712)	<0.0001*	259956 (259949-259962)	<0.0001* <0.0001**	243700 (243687-243714)	<0.0001* <0.0001** <0.0001***	282696 (282683-282707)	<0.0001* <0.0001** <0.0001*** <0.0001****
AR Imp/g/m in	1673.17 (1636.69-1705.25)	1885.95 (1876.15-1894.55)	<0.0001*	1121.86 (1109.23-1135.32)	<0.0001* <0.0001**	1003.43 (997.68-1013.45)	<0.0001* <0.0001** <0.0001***	1509.53 (1498.20-1516.34)	<0.0001* <0.0001** <0.0001*** <0.0001****
The hepatocyte ploidy (%) <sup>x</sup>	55,6/31,7/1,1	61,7/24,3/0,7	0.001*	72,3/18,2/0,5	<0.0001* <0.0001**	77,3/10,7/0,2	<0.0001* <0.0001** <0.01***	59,2/25,5/0,9	<0.0001* <0.0001** <0.0001*** <0.0001****

Number of (\*) indicates the group which data is compared to the data of given group  
<sup>x</sup> ratio of percentage of diploid/tetraploid/octaploid liver cells



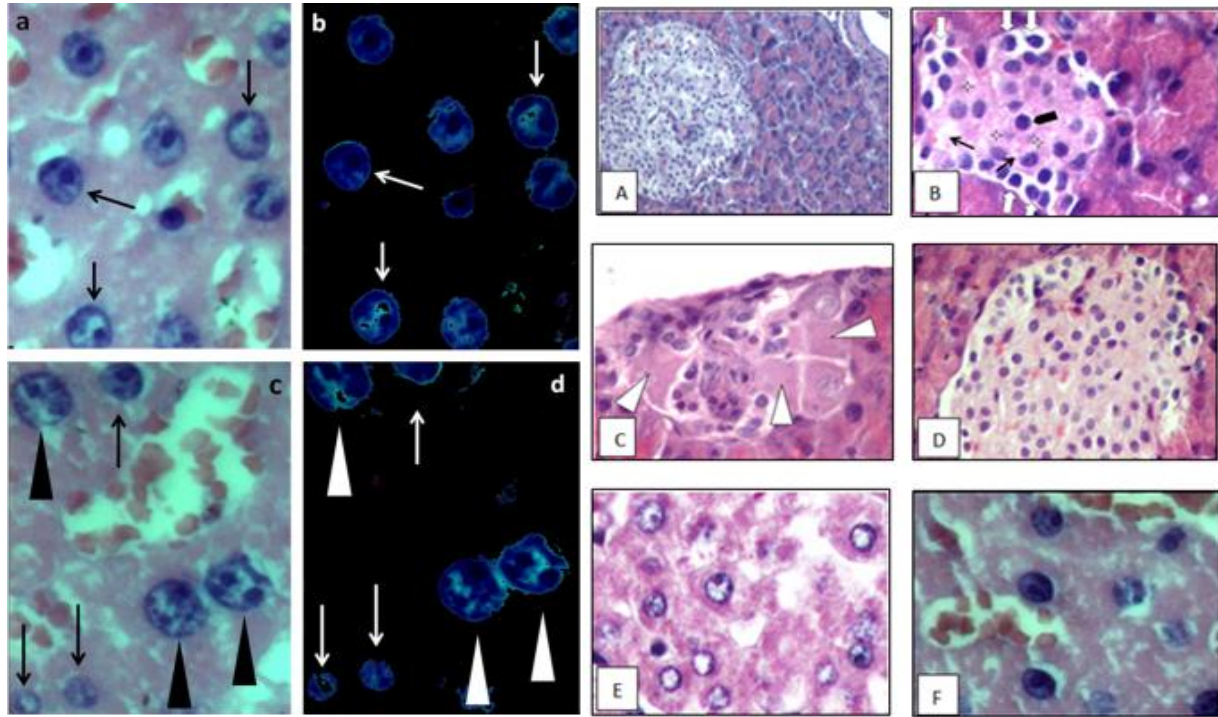


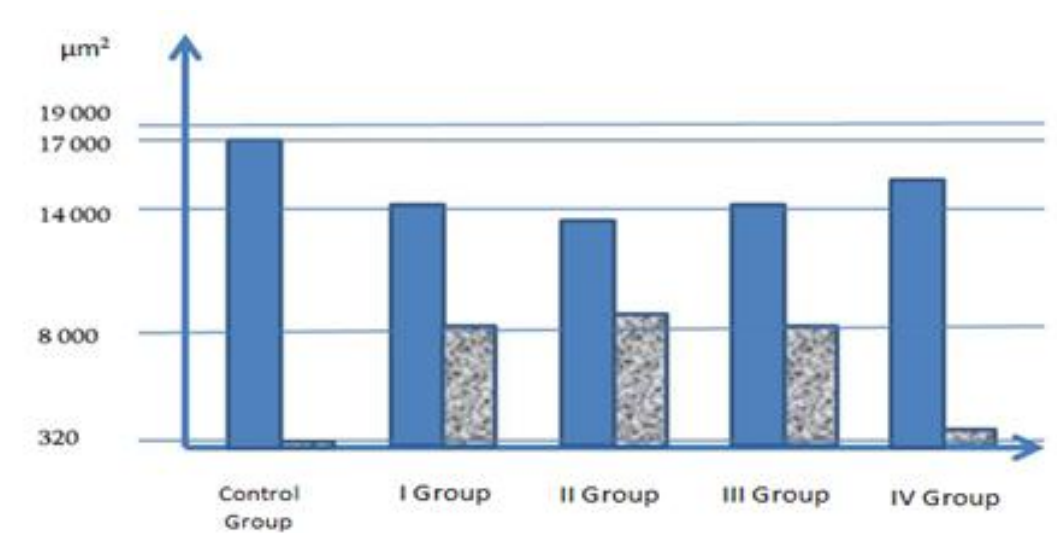
Figure N1.

Figure N2.

Figure N1. Ploidy of hepatocytes at 30th day of alloxan in-duced diabetes (a, b), and at 15th day of exogenous an-drogen supplementation (c, d). diploid nuclei - ↗ tetraploid nuclei - Δ

Figure N2.

- A. Pancreatic islets with endocrine cells. Control group. H&E Obj.x20, Oc.x15.
- B. Disrupted normal architecture of pancreatic islets on 15<sup>th</sup> day of Alloxan-induced diabetes. H&E Obj.x20, Oc.x15 (necrosis of β-cell - ✦; swelling of the intercellular substance - ↗; hypertrophy and vacuolization of β-cells - ↑ ; β-cells nuclear pyknosis (irregular hyper-chromic nuclei) - ▲).
- C. Structure of pancreatic islets on 30<sup>th</sup> day after Alloxan-induced diabetes. Combination of necrotic foci with less damaged cells. H&E Obj.x20, Oc.x15. Degenerative changes of the islet - Δ.
- D. Structure of pancreatic islets after 15-days treatment with methyltrienolone. The cellular composition is almost similar to normal. H&E Obj.x20, Oc.x15.
- E. Liver tissue on 30<sup>th</sup> day of Alloxan-induced diabetes. H&E Obj.x20, Oc.x15.
- F. Liver tissue after 15-days treatment with methyltrienolone. H&E Obj.x20, Oc.x15.



**Diagram N1** *Change of islet area and areas of necrotic foci on various terms of Alloxan-induced diabetes and after treatment with methyltrienolone.*

## გამოყენებული ლიტერატურა

1. Aarnisalo P., Palvimo J. J., and J"anne O. A., "CREB-binding protein in androgen receptor-mediated signaling," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 95, no. 5, pp. 2122–2127, 1998.
2. Aguilar-Salinas, C.A., Rodriguez, H.B. and Oteyza, E.P., 2017. Prevention of diabetes in Mexico: pragmatic solutions for a complex problem. *Nutrition reviews*, 75(suppl\_1), pp.107-111.
3. Alavi, A., Sibbald, R.G., Mayer, D., Goodman, L., Botros, M., Armstrong, D.G., Woo, K., Boeni, T., Ayello, E.A. and Kirsner, R.S., 2014. Diabetic foot ulcers: Part I. Pathophysiology and prevention. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 70(1), pp.1-e1.
4. Alwin Robert, A., Abdulaziz Al Dawish, M., Braham, R., Ali Musallam, M., Abdullah Al Hayek, A. and Hazza Al Kahtany, N., 2017. Type 2 Diabetes Mellitus in Saudi Arabia: Major Challenges and Possible Solutions. *Current diabetes reviews*, 13(1), pp.59-64.
5. American Diabetes Association – 2017 – Standards of Medical Care in Diabetes.
6. American Diabetes Association -2015-Approaches to glycemetic treatment.
7. American Diabetes Association, 2014. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 37(Supplement 1), pp.S81-S90.
8. American Diabetes Association, 2016. 7. Approaches to glycemetic treatment. *Diabetes care*, 39(Supplement 1), pp.S52-S59.
9. American Diabetes Association. (2009). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 32 (Supplement 1), S62-S67.
10. Andersson B, Marin P, Lissner L, Vermeulen A, Bjorntorp P. Testosterone concentrations in women and men with NIDDM. *Diabetes Care*. 1994;17:405–411.
11. Andren-Sandberg A, Borg A, Dawiskiba S, Ihse I, Fern0 M. Estrogen receptors and estrogen-binding protein in pancreatic cancer (Abstr). *Digestion* 1982; 25:12.
12. Andrews, R. C., & Walker, B. R. (1999). Glucocorticoids and insulin resistance: old hormones, new targets. *Clinical Science*, 96(5), 513-523.
13. Anisimov, V.N. and Khavinson, V.K., 2010. Peptide bioregulation of aging: results and prospects. *Biogerontology*, 11(2), pp.139-149.

14. Aregbesola AO, Voutilainen S, Virtanen JK, Mursu J, Tuomainen TP (2016) Gender difference in type 2 diabetes and the role of body iron stores. *Ann Clin Biochem* doi:10.1177/0004563216646397.
15. Arnold, A.P., 1981. Quantitative Analysis of Steroid Autoradiograms 1, 2. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 29(1A\_suppl), pp.207-211.
16. Ashcroft, F. M. & Rorsman, P. Diabetes mellitus and the beta cell: the last ten years. *Cell* 148, 1160–1171 (2012).
17. Atkinson, M.A., Eisenbarth, G.S. and Michels, A.W., 2014. Type 1 diabetes. *The Lancet*, 383(9911), pp.69-82.
18. Atkinson, Mark A., et al. "Current concepts on the pathogenesis of type 1 diabetes—considerations for attempts to prevent and reverse the disease." *Diabetes Care* 38.6 (2015): 979-988.
19. Baker, M.E., 2002. Albumin, steroid hormones and the origin of vertebrates. *Journal of Endocrinology*, 175(1), pp.121-127.
20. Bancks, M.P., Odegaard, A.O., Pankow, J.S., Koh, W.P., Yuan, J.M., Gross, M.D. and Pereira, M.A., 2014. Glycated hemoglobin and all-cause and cause-specific mortality in Singaporean Chinese without diagnosed diabetes: the Singapore Chinese Health Study. *Diabetes care*, 37(12), pp.3180-3187.
21. Barnes, PM., Adams, PF., Powell-Griner, E. Advance Data From Vital and Health Statistics; No. 394. Hyattsville, MD: National Center for Health Statistics; 2008. Health characteristics of the Asian adult population: United States, 2004–2006.
22. Basaria S, Muller DC, Carducci MA, Egan J, Dobs AS. Hyperglycemia and insulin resistance in men with prostate carcinoma who receive androgen-deprivation therapy. *Cancer*. 2006;106:581–588.
23. Batra, M., Dhindsa, S.S., Abuaysheh, S., Kuhadiya, N.D., Green, K., Makdissi, A., Hejna, J., Ghanim, H., Chaudhuri, A., Sandhu, S. and Dandona, P., 2014. Testosterone Restores Insulin Sensitivity and Improves Insulin Signal Transduction in Patients with Diabetes and Hypogonadotropic Hypogonadism. In *Glucose Metabolism* (pp. SAT-1042). Endocrine Society.
24. Beagley, J., Guariguata, L., Weil, C. and Motala, A.A., 2014. Global estimates of undiagnosed diabetes in adults. *Diabetes research and clinical practice*, 103(2), pp.150-160.
25. Benito C., Jiménez A., Sánchez C., Navarro-Sabaté A. "Liquid and solid scintillation: principles and applications." *Capítol del llibre: Handbook of*

- instrumental techniques for materials, chemical and biosciences research, Centres Científics i Tecnològics. Universitat de Barcelona, Barcelona, 2012. Part III. Biosciences technologies (BT), BT. 12, 12 p. (2012).
26. Bennett P. H. and Knowler W. C., “Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and glucose homeostasis,” I Joslin’s Diabetes Mellitus, C. R. Kahn, G.C. Weir, G. L. King, A M. Jacobson, A. C. Moses, and R. J. Smith, Eds., pp. 331–339, Lippincott, Williams and Wilkins, 2005.
  27. Beratarrechea, A., Lee, A.G., Willner, J.M., Jahangir, E., Ciapponi, A. and Rubinstein, A., 2014. The impact of mobile health interventions on chronic disease outcomes in developing countries: a systematic review. *Telemedicine and e-Health*, 20(1), pp.75-82.
  28. Bergamini E., “Different mechanisms in testosterone action on glycogen metabolism in rat perineal and skeletal muscles,” *Endocrinology*, vol. 96, no. 1, pp. 77–84, 1975.
  29. Berney Thierry, MD and Berishvili Ekaterine, MD, PhD. *Toward Clinical Application of the Bioartificial Pancreas* 2015.
  30. Björntorp P. and Rosmond R., “The metabolic syndrome—a neuroendocrine disorder?” *British Journal of Nutrition*, vol. 83, supplement 1, pp. S49–S57, 2000.
  31. Bjoern A. Menge, Andrea Tannapfel, Orlin Belyaev, Robert Drescher, Christophe Müller, Waldemar Uhl, Wolfgang E. Schmidt and Juris J. Meier. *Partial Pancreatectomy in Adult Humans Does Not Provoke  $\alpha$ -Cell Regeneration* 2008.
  32. Blouin K., Boivin A., and Tchernof A., “Androgens and body fat distribution,” *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, vol. 108, no. 3–5, pp. 272–280, 2008.
  33. Bluestone, J. A., Herold, K. & Eisenbarth, G. Genetics, pathogenesis and clinical interventions in type 1 diabetes. *Nature* 464, 1293–1300 (2010).
  34. Bocci, V., Zanardi, I., Huijberts, M.S. and Travagli, V., 2014. An integrated medical treatment for type-2 diabetes. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 8(1), pp.57-61.
  35. Bodin, J., Stene, L.C. and Nygaard, U.C., 2015. Can exposure to environmental chemicals increase the risk of diabetes type 1 development?. *BioMed research international*, 2015.

36. Boer IH, Rue TC, Hall YN, Heagerty PJ, Weiss NS, Himmelfarb J. Temporal trends in the prevalence of diabetic kidney disease in the United States. *JAMA*. 2011; 305:2532–2539. [PubMed: 21693741].
37. Boer, I.H., Afkarian, M., Rue, T.C., Cleary, P.A., Lachin, J.M., Molitch, M.E., Steffes, M.W., Sun, W., Zinman, B., Diabetes Control and Complications Trial and Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (DCCT/EDIC) Research Group, 2014. Renal outcomes in patients with type 1 diabetes and macroalbuminuria. *Journal of the American Society of Nephrology*, pp.ASN-2013091004.
38. Bonner-Weir, S. and Weir, G.C., 2005. New sources of pancreatic [beta]-cells. *Nature biotechnology*, 23(7), p.857.
39. Bonomini, F., Rodella, L.F. and Rezzani, R., 2015. Metabolic syndrome, aging and involvement of oxidative stress. *Aging and disease*, 6(2), p.109.
40. Bonow RO, Bohannon N, Hazzard W. Risk stratification in coronary artery disease and special population. *An J Med* 1996; 101: 4A 175-225.
41. Bowling, Frank L., S. Tawqeer Rashid, and Andrew JM Boulton. "Preventing and treating foot complications associated with diabetes mellitus." *Nature Reviews. Endocrinology* 11.10 (2015): 606.
42. Boyanov MA, Boneva Z, Christov VG (2003) Testosterone supplementation in men with type 2 diabetes, visceral obesity and partial androgen deficiency. *Aging Male* 6: 1–7.
43. Brahim-Horn M. C. and Pouyss'egur J., "Harnessing the hypoxia-inducible factor in cancer and ischemic disease," *Biochemical Pharmacology*, vol. 73, no. 3, pp. 450–457, 2007.
44. Brinkmann, A.O., 2001. Molecular basis of androgen insensitivity. *Molecular and cellular endocrinology*, 179(1), pp.105-109.
45. Brissova M, Fowler MJ, Nicholson WE, Chu A, Hirshberg B, Harlan DM, Powers AC (2005). "Assessment of human pancreatic islet architecture and composition by laser scanning confocal microscopy". *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 53 (9): 1087–97.
46. Brown E. M., "Extracellular Ca<sup>2+</sup> sensing, regulation of parathyroid cell function, and role of Ca<sup>2+</sup> and other ions as extracellular (first) messengers," *Physiological Reviews*, vol. 71, no. 2, pp. 371–411, 1991.



47. Brown E.M. and Macleod R. J., “Extracellular calcium sensing and extracellular calcium signaling,” *Physiological Reviews*, vol. 81, no. 1, pp. 239–297, 2001.
48. Cabrera O, Berman DM, Kenyon NS, Ricordi C, Berggren PO, Caicedo A (2006). "The unique cytoarchitecture of human pancreatic islets has implications for islet cell function". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 103 (7): 2334–9).
49. Cardinale V, Puca R, Carpino G, Scafetta G, Renzi A, De Canio M, Sicilia F, Nevi L, Casa D, Panetta R, Berloco PB. Adult human biliary tree stem cells differentiate to  $\beta$ -pancreatic islet cells by treatment with a recombinant human Pdx1 peptide. *PloS one*. 2015 Aug 7;10(8):e0134677).
50. Carr M. C. and Brunzell J. D., “Abdominal obesity and dyslipidemia in the metabolic syndrome: importance of type 2 diabetes and familial combined hyperlipidemia in coronary artery disease risk,” *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 89, no. 6, pp. 2601–2607, 2004.
51. Centers for Disease Control and Prevention. National Diabetes Fact Sheet: National Estimates and General Information on Diabetes and Prediabetes in the United States, 2011. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention; 2011.
52. Chang C, Lee SO, Yeh S, Chang TM. Androgen receptor (AR) differential roles in hormone-related tumors including prostate, bladder, kidney, lung, breast and liver. *Oncogene*. 2014 Jun 19;33(25):3225.
53. Chatterjee B., Song C. S., Jung M. H. et al., “Targeted overexpression of androgen receptor with a liver-specific promoter in transgenic mice,” *roceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 93, no. 2, pp. 728–733, 1996.
54. Chatterjee, S., Khunti, K. and Davies, M.J., 2017. Type 2 diabetes. *The Lancet*.
55. Chattopadhyay N., Mithal A., and Brown E.M., “The calciumsensing receptor: a window into the physiology and pathophysiology of mineral ion metabolism,” *Endocrine Reviews*, vol. 17, no. 4, pp. 289–307, 1996.
56. Chen RYT, Wittest GA, Andreson GR. Relative androgen deficiency in relation to obesity and metabolic status in older men. *Diabetes Obes Metab*. 2006;8:429–435.
57. Cheville N. F., “Response to cellular injury,” in *Ultrastructural Pathology*, pp. 5–31, Willey- Blackwell, Ames, Iowa, USA, 2009.

58. Chew, Boon How, et al. "Age  $\geq$  60 years was an independent risk factor for diabetes-related complications despite good control of cardiovascular risk factors in patients with type 2 diabetes mellitus." *Experimental gerontology* 48.5 (2013): 485-491.
59. Chiles, N.S., Phillips, C.L., Volpato, S., Bandinelli, S., Ferrucci, L., Guralnik, J.M. and Patel, K.V., 2014. Diabetes, peripheral neuropathy, and lower-extremity function. *Journal of Diabetes and its Complications*, 28(1), pp.91-95.
60. Christensen, N.J., 1967. Notes on the glucose oxidase method. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*, 19(4), pp.379-384. 2009.
61. Chubb, S.A.P., Hyde, Z., Almeida, O.P., Flicker, L., Norman, P.E., Jamrozik, K. et al. (2008) Lower sex hormone-binding globulin is more strongly associated with metabolic syndrome than lower total testosterone in older men: the Health in Men Study. *Eur J Endocrinol* 158: 785-792.
62. Copeland KC, Zeitler P, Geffner M, Guandalini C, Higgins J, Hirst K, Kaufman FR, Linder B, Marcovina S, McGuigan P, Pyle L, Tamborlane W, Willi S. TODAY Study Group. Characteristics of adolescents and youth with recent-onset type 2 diabetes: the TODAY cohort at baseline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96:159–167. [PubMed: 20962021].
63. Corbishley TP, Iqbal MJ, Wilkinson ML, Williams R. Androgen receptor in human normal and malignant pancreatic tissue and cell lines. *Cancer.* 1986 May 15;57(10):1992-5.
64. Corbishley TP, Iqbal MJ, Johnson PJ, Williams RS. Progesterone receptors in malignant and foetal pancreatic tissue. *IRCS Med Sci* 1984, 12:575-576.
65. Corona G, Mannucci E, Petrone L, Balercia G, Paggi F, Fisher AD, Lotti F, Chiarini V, Fedele D, Forti G, Maggi M. NCEP-ATPIII defined metabolic syndrome, type 2 diabetes mellitus, and prevalence of hypogonadism in male patients with sexual dysfunction. *J Sex Med.* 2007;4:1038–1045.
66. Corona G, Mannucci E, Petrone L, Ricca V, Balercia G, et al. (2006) Association of hypogonadism and type II diabetes in men attending an outpatient erectile dysfunction clinic. *Int J Impot Res* 18: 190–197.
67. Corona G., Monami M., Rastrelli G. et al., "Type 2 diabetes mellitus and testosterone: a meta-analysis study," *International Journal of Andrology*, vol. 34, no. 6, part 1, pp. 528–540, 2011.
68. Corrales J. J., Almeida M., Burgo R., Mories M. T., Miralles J. M., and Orfao A., "Androgen-replacement therapy depresses the ex vivo production of inflammatory

- cytokines by circulating antigen-presenting cells in aging type-2 diabetic men and partial androgen deficiency,” *Journal of Endocrinology*, vol. 189, no. 3, pp. 595–604, 2006.
69. Cowie CC, Rust KF, Byrd-Holt DD, Gregg EW, Ford ES, Geiss LS, Bainbridge KE, Fradkin JE 2010 Prevalence of diabetes and high risk for diabetes using A1C criteria in the U.S. population in 1988–2006. *Diabetes Care* 33:562–568.
  70. Cowie CC, Rust KF, Ford ES, Eberhardt MS, Byrd-Holt DD, Li C, Williams DE, Gregg EW, Bainbridge KE, Saydah SH, Geiss LS. Full accounting of diabetes and pre-diabetes in the U.S. population in 1988–1994 and 2005–2006 [published correction appears in *Diabetes Care*. 2011;34:2338]. *Diabetes Care*. 2009; 32:287–294. [PubMed: 19017771].
  71. Dabelea, D., Mayer-Davis, E.J., Saydah, S., Imperatore, G., Linder, B., Divers, J., Bell, R., Badaru, A., Talton, J.W., Crume, T. and Liese, A.D., 2014. Prevalence of type 1 and type 2 diabetes among children and adolescents from 2001 to 2009. *Jama*, 311(17), pp.1778-1786.
  72. Dhindsa S, Prabhakar S, Sethi M, Bandyopadhyay A, Chaudhuri A, Dandona P. Frequent occurrence of hypogonadotropic hypogonadism in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89: 5462–5468.
  73. Didebulidze NA, Kakabadze MS, Gordadze NG, Latsabidze IN, Kordzaya ME, Sikharulidze IT. Correction of hormonal and metabolic disorders in male rats with developing experimental diabetes. *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2015 May 1;159(1):20;
  74. Ding E. L., Song Y., Malik V. S., and Liu S., “Sex differences of endogenous sex hormones and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis,” *The Journal of the American Medical Association*, vol. 295, no. 11, pp. 1288–1299, 2006.
  75. Dockery F, Bulpitt CJ, Agarwal S, Donaldson M, Rajkumar C. Testosterone suppression in men with prostate cancer leads to an increase in arterial stiffness and hyperinsulinaemia. *Clin Sci*.2003;104:195–201.
  76. Dregan, A., Charlton, J., Chowienczyk, P. and Gulliford, M.C., 2014. Chronic inflammatory disorders and risk of type 2 diabetes mellitus, coronary heart disease, and stroke: a population-based cohort study. *Circulation*, pp.CIRCULATIONAHA-114.
  77. Duran-Salgado, M.B. and Rubio-Guerra, A.F., 2014. Diabetic nephropathy and inflammation. *World journal of diabetes*, 5(3), p.393.

78. Eckel R. H., Grundy S. M., and Zimmet P. Z., "The metabolic syndrome," *The Lancet*, vol. 365, no. 9468, pp. 1415–1428, 2005.
79. Eisenbarth G. S., Connelly J., and Soeldner J. S., "The "natural" history of type I diabetes," *Diabetes/Metabolism Reviews*, vol. 3, no. 4, pp. 873–891, 1987.
80. El Seifi S, Green IC, Pemn D. Insulin release and steroid hormone binding in isolated islets of Langerhans in the rat: Effects of ovariectomy. *JEndocrinol* 1981; 90:59-67.
81. Elayat AA; el-Naggar MM; Tahir M; Bassam dahrouj (1995). "An immunocytochemical and morphometric study of the rat pancreatic islets". *Journal of Anatomy*. 186. (Pt 3) (Pt 3): 629–37).
82. Elayat, A.A., el-Naggar, M.M. and Tahir, M., 1995. An immunocytochemical and morphometric study of the rat pancreatic islets. *Journal of anatomy*, 186(Pt 3), p.629.
83. Etuk, E.U., 2010. Animals models for studying diabetes mellitus. *Agric Biol JN Am*, 1(2), pp.130-134.
84. Fang J, Alderman MH. Impact of the increasing burden of diabetes on acute myocardial infarction in New York City: 1990–2000. *Diabetes*. 2006; 55:768–773. [PubMed: 16505241].
85. Fitzgerald, J. T., Anderson, R. M., & Davis, W. K. (1995). Gender differences in diabetes attitudes and adherence. *The diabetes educator*, 21(6), 523-529.
86. Forbes, J.M. and Cooper, M.E., 2013. Mechanisms of diabetic complications. *Physiological reviews*, 93(1), pp.137-188.
87. Ford ES, Li C, Zhao G, Pearson WS, Mokdad AH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adolescents using the definition from the international diabetes federation. *Diabetes Care*. 2008;31:587–589.
88. Forouhi, N.G. and Wareham, N.J., 2014. Epidemiology of diabetes. *Medicine*, 42(12), pp.698-702.
89. Forssas, E., Arffman, M., Manderbacka, K., Keskimäki, I., Ruuth, I. and Sund, R., 2016. Multiple complications among people with diabetes from Finland: an 18-year follow-up in 1994–2011. *BMJ Open Diabetes Research and Care*, 4(1), p.e000254.
90. Fox CS, Coady S, Sorlie PD, D'Agostino RB Sr, Pencina MJ, Vasan RS, Meigs JB, Levy D, Savage PJ. Increasing cardiovascular disease burden due to diabetes mellitus: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2007; 115:1544–1550. [PubMed: 17353438].

91. Fox CS, Coady S, Sorlie PD, Levy D, Meigs JB, D'Agostino RB Sr, Wilson PW, Savage PJ. Trends in cardiovascular complications of diabetes. *JAMA*. 2004; 292:2495–2499. [PubMed: 15562129].
92. Fox CS, Pencina MJ, Wilson PW, Paynter NP, Vasan RS, D'Agostino RB Sr. Lifetime risk of cardiovascular disease among individuals with and without diabetes stratified by obesity status in the Framingham heart study. *Diabetes Care*. 2008; 31:1582–1584. [PubMed: 18458146].
93. Francés, D. E., Ronco, M. T., Monti, J. A., Ingaramo, P. I., Pisani, G. B., Parody, J. P., ... & Carnovale, C. E. (2010). Hyperglycemia induces apoptosis in rat liver through the increase of hydroxyl radical: new insights into the insulin effect. *Journal of Endocrinology*, 205(2), 187-200.
94. Fukui M, Soh J, Tanaka M, Kitagawa Y, Hasegawa G, Yoshikawa T, et al. (2007) Low serum testosterone concentration in middle-aged men with type 2 diabetes. *Endocr J* 54: 871–877.
95. Fukui M, Tanaka M, Hasegawa G, Yoshikawa T, Nakamura N. Association between serum bioavailable testosterone concentration and the ratio of glycated albumin to glycated hemoglobin in men with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2008;31:397–401.
96. Furman, B.L., 2015. Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats. *Current Protocols in Pharmacology*, pp.5-47).
97. Gans R. O. B., “The metabolic syndrome, depression, and cardiovascular disease: interrelated conditions that share pathophysiologic mechanisms,” *Medical Clinics of North America*, vol. 90, no. 4, pp. 573–591, 2006.
98. Geiss, L.S., Wang, J., Cheng, Y.J., Thompson, T.J., Barker, L., Li, Y., Albright, A.L. and Gregg, E.W., 2014. Prevalence and incidence trends for diagnosed diabetes among adults aged 20 to 79 years, United States, 1980-2012. *Jama*, 312(12), pp.1218-1226.
99. Gianatti EJ, Dupuis P, Hoermann R, Strauss BJ, Wentworth JM, et al. (2014) Effect of testosterone treatment on glucose metabolism in men with type 2 diabetes: a randomized controlled trial. *Diabetes care* DC\_132845.
100. Gibb, F.W. and Strachan, M.W., 2014. Androgen deficiency and type 2 diabetes mellitus. *Clinical biochemistry*, 47(10), pp.940-949. 12Bocci, V., Zanardi, I., Huijberts, M.S. and Travagli, V., 2014. An integrated medical treatment for type-2 diabetes. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 8(1), pp.57-6.

101. Ginter, E. and Simko, V., 2013. Type 2 diabetes mellitus, pandemic in 21st century. In *Diabetes* (pp. 42-50). Springer New York.
102. Go, A.S., Mozaffarian, D., Roger, V.L., Benjamin, E.J., Berry, J.D., Borden, W.B., Bravata, D.M., Dai, S., Ford, E.S., Fox, C.S. and Franco, S., 2013. Executive summary: Heart disease and stroke Statistics—2013 update. *circulation*, 127(1), pp.143-152.
103. Goldstein LB, Bushnell CD, Adams RJ, Appel LJ, Braun LT, Chaturvedi S, Creager MA, Culebras A, Eckel RH, Hart RG, Hinchey JA, Howard VJ, Jauch EC, Levine SR, Meschia JF, Moore WS, Nixon JV, Pearson TA. on behalf of the American Heart Association Stroke Council; Council on Cardiovascular Nursing; Council on Epidemiology and Prevention; Council for High Blood Pressure Research, Council on Peripheral Vascular Disease, and Interdisciplinary Council on Quality of Care and Outcomes Research. Guidelines for the primary prevention of stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association [published correction appears in *Stroke*. 2011;42:e26]. *Stroke*. 2011; 42:517–584. [PubMed: 21127304].
104. Goncharov N. P., Katsya G. V., Chagina N. A., and Gooren L. J., “Testosterone and obesity in men under the age of 40 years,” *Andrologia*, vol. 41, no. 2, pp. 76–83, 2009.
105. Grant, J. F., Hicks, N., Taylor, A. W., Chittleborough, C. R., & Phillips, P. J. (2009). Gender-specific epidemiology of diabetes: a representative cross-sectional study. *International journal for equity in health*, 8(1), 6.
106. Greenway BA, Iqbal MJ, Johnson PJ, Williams RS. Oestrogen receptor proteins in malignant and fetal pancreas. *Br Med J* 1981; 283.
107. Grossmann, M., Gianatti, E.J. and Zajac, J.D., 2010. Testosterone and type 2 diabetes. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, 17(3), pp.247-256.
108. Grossmann, M., Thomas, M. C., Panagiotopoulos, S., Sharpe, K., MacIsaac, R. J., Clarke, S., ... & Jerums, G. (2008). Low testosterone levels are common and associated with insulin resistance in men with diabetes. *The journal of clinical endocrinology & metabolism*, 93(5), 1834-1840.
109. Grundy S. M., Brewer H. B. Jr., Cleeman J. I., Smith S. C. Jr., and Lenfant C., “Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to



- definition,” *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, vol. 24, no. 2, pp. e13–e18, 2004.
110. Guariguata, L., Whiting, D.R., Hambleton, I., Beagley, J., Linnenkamp, U. and Shaw, J.E., 2014. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes research and clinical practice*, 103(2), pp.137-149.
  111. Ha, K.H. and Kim, D.J., 2015. Trends in the diabetes epidemic in Korea. *Endocrinology and Metabolism*, 30(2), pp.142-146.
  112. Haffner S. M., Shaten J., Stern M. P., Smith G. D., and Kuller L., “Low levels of sex hormone-binding globulin and testosterone predict the development of non-insulindependent diabetes mellitus in men,” *American Journal of Epidemiology*, vol. 143, no. 9, pp. 889–897, 1996.
  113. Haffner SM, Miettinen H, Karhapa P, Mykkaenen L, Laakso M. Leptin concentrations, sex hormones, and cortisol in nondiabetic men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82:1807–1809.
  114. Haffner, S. M., Katz, M. S., Stern, M. P., & Dunn, J. F. (1988). The relationship of sex hormones to hyperinsulinemia and hyperglycemia. *Metabolism*, 37(7), 683-688.
  115. Haidar A, Yassin A, Saad F, Shabsigh R. Effects of androgen deprivation on glycaemic control and on cardiovascular biochemical risk factors in men with advanced prostate cancer with diabetes. *Aging Male*. 2007;10:189–196.
  116. Haligur M, Topsakal S, Ozmen O. Early degenerative effects of diabetes mellitus on pancreas, liver, and kidney in rats: an immunohistochemical study. *Experimental diabetes research*. 2012 Jul 11;2012.
  117. Harada N, Katsuki T, Takahashi Y, Masuda T, Yoshinaga M, Adachi T, Izawa T, Kuwamura M, Nakano Y, Yamaji R, Inui H. Androgen Receptor Silences Thioredoxin-interacting Protein and Competitively Inhibits Glucocorticoid Receptor-Mediated Apoptosis in Pancreatic  $\beta$ -Cells. *Journal of cellular biochemistry*. 2015 Jun 1;116(6):998-1006.
  118. Haring R., Völzke H., Felix S. B. et al., “Prediction of metabolic syndrome by low serumtestosterone levels inmen: results from the study of health in Pomerania,” *Diabetes*, vol. 58, no. 9, pp. 2027–2031, 2009.
  119. Hayes FJ, DeCruz S, Seminara SB, Boepple PA, Crowley Jr WF. (2001). Differential regulation of gonadotropin secretion by testosterone in the human male: Absence of a negative feedback effect of testosterone on follicle-stimulating hormone secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 86(1): 53-58.

120. Hayes FJ, Seminara SB, DeCruz S, Boepple PA, Crowley Jr WF (2000). Aromatase Inhibition in the Human Male Reveals a Hypothalamic Site of Estrogen Feedback. *J Clin Endocrinol Metab* 85(9): 3027-3035
121. Heufelder A.E., Saad F., Bunck M.C. and Gooren L., “Fiftytwo-week treatment with diet and exercise plus transdermal testosterone reverses the metabolic syndrome and improves glycemic control in men with newly diagnosed type 2 diabetes and subnormal plasma testosterone,” *Journal of Andrology*, vol. 30, no. 6, pp. 726–733, 2009.
122. Ho CH, Yu HJ, Wang CY, Jaw FS, Hsieh JT, et al. (2013) Prediabetes is associated with an increased risk of testosterone deficiency, independent of obesity and metabolic syndrome. *PLoS ONE* 8, e74173.
123. Holmång, A. and Björntorp, P., 1992. The effects of testosterone on insulin sensitivity in male rats. *Acta Physiologica*, 146(4), pp.505-510.
124. Holt, S. K., Lopushnyan, N., Hotaling, J., Sarma, A. V., Dunn, R. L., Cleary, P. A., ... & Wessells, H. (2014). Prevalence of low testosterone and predisposing risk factors in men with type 1 diabetes mellitus: findings from the DCCT/EDIC. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 99(9), E1655-E1660.
125. Hotamisligil, G.S. (2006). Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, 444 (7121), 860-867. doi:10.1038/nature05485.
126. Huang, E.S., Laiteerapong, N., Liu, J.Y., John, P.M., Moffet, H.H. and Karter, A.J., 2014. Rates of complications and mortality in older patients with diabetes mellitus: the diabetes and aging study. *JAMA internal medicine*, 174(2), pp.251-258.
127. Iftikhar, M., Hussain, A. and Rizvi, A., 2014. Frequency of peripheral neuropathy in patients with diabetes mellitus. *Journal of Ayub Medical College Abbottabad*, 26(4), pp.584-586.
128. Imai, E., Miner, J. N., Mitchell, J. A., Yamamoto, K. R., & Granner, D. K. (1993). Glucocorticoid receptor-cAMP response element-binding protein interaction and the response of the phosphoenolpyruvate carboxykinase gene to glucocorticoids. *Journal of Biological Chemistry*, 268(8), 5353-5356.
129. Inaba M., Otani Y., Nishimura K. et al., “Marked hyperglycemia after androgen-deprivation therapy for prostate cancer and usefulness of pioglitazone for its treatment,” *Metabolism: Clinical and Experimental*, vol. 54, no. 1, pp. 55–59, 2005.

130. Isidori A.M., Caprio M., Strollo F., et al., “Leptin and androgens in male obesity: evidence for leptin contribution to reduced androgen levels,” *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 84, no. 10, pp. 3673–3680, 1999.
131. Isidori AM, Strollo F, More M, Caprio M, Aversa A, Moretti C, Frajese G, Riondino G, Fabbri A. Leptin and aging: correlation with endocrine changes in male and female healthy adult populations of different body weights. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:1954–1962.
132. Janssen I. and Mark A. E., “Elevated body mass index and mortality risk in the elderly,” *Obesity Reviews*, vol. 8, no. 1, pp. 41–59, 2007.
133. Jones T. H. and Saad F., “The effects of testosterone on risk factors for, and the mediators of, the atherosclerotic process,” *Atherosclerosis*, vol. 207, no. 2, pp. 318–327, 2009.
134. Jones, H., Howell, J. and Channer, K. (2010) Testosterone improves glycaemic control, insulin resistance, body fat and sexual function in men with the metabolic syndrome and/or type 2 diabetes: a Multicentre European Clinical Trial: the TIMES2 Study. *Endocrine Abstracts* 21: OC1.6.
135. Kakabadze Zurab, Shanava Koba, Ricordi Camillo, Shapiro A.M. James, Gupta Sanjeev, and Berishvili Ekaterine. *An Isolated Venous Sac as a Novel Site for Cell Therapy in Diabetes Mellitus*, 2012.
136. Kakabadze, Z., Gupta, S., Brandhorst, D., Korsgren, O. and Berishvili, E., 2011. Long-term engraftment and function of transplanted pancreatic islets in vascularized segments of small intestine. *Transplant International*, 24(2), pp.175-183.
137. Kalyani, R.R. and Dobs, A.S., 2007. Androgen deficiency, diabetes, and the metabolic syndrome in men. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, 14(3), pp.226-234.
138. Kandeel, F. R., Swerdloff, R. S., & Pryor, J. L. (Eds.). (2007). *Male Reproductive Dysfunction: Pathophysiology and Treatment*. CRC Press.
139. Kannel W. B., Cupples L. A., Ramaswami R., Stokes J. III, B. E. Kreger, and M. Higgins, “Regional obesity and risk of cardiovascular disease; the Framingham Study,” *Journal of Clinical Epidemiology*, vol. 44, no. 2, pp. 183–190, 1991.

140. Kannel WB, Castelli WP, McNamara PM, McKee PA FM (1972) Role of blood pressure in the development of congestive heart failure. The Framingham study. *N Engl J Med*; 16:781–7. doi:10.1056/NEJM197210192871601
141. Kannel WB, Gordon T, Offutt D (1969) Left ventricular hypertrophy by electrocardiogram. Prevalence, incidence, and mortality in the Framingham study. *Ann Intern Med*; 71:89–105. doi:10.7326/0003-4819-71-1-89.
142. Kapoor D, Aldred H, Clark S, Channer K, Jones T. Clinical and biochemical assessment of hypogonadism in men with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2007;30:911–917.
143. Kapoor D, Goodwin E, Channer KS, Jones TH (2006) Testosterone replacement therapy improves insulin resistance, glycaemic control, visceral adiposity and hypercholesterolaemia in hypogonadal men with type 2 diabetes. *Eur J Endocrinol* 154: 899–906.
144. Karaca, Turan, et al. "Effects of extract of green tea and ginseng on pancreatic beta cells and levels of serum glucose, insulin, cholesterol and triglycerides in rats with experimentally streptozotocin-induced diabetes: a histochemical and immunohistochemical study." *Journal of Animal and Veterinary Advances* 9.1 (2010): 102-107.
145. Kaufman J. M. and Vermeulen A., “The decline of androgen levels in elderly men and its clinical and therapeutic implications,” *Endocrine Reviews*, vol. 26, no. 6, pp. 833–876, 2005.
146. Kaul, Kirti, et al. "Introduction to diabetes mellitus." *Diabetes*. Springer New York, 2013. 1-11.
147. Kautzky-Willer, A., Harreiter, J. and Pacini, G., 2016. Sex and gender differences in risk, pathophysiology and complications of type 2 diabetes mellitus. *Endocrine reviews*, 37(3), pp.278-316.
148. Keating N. L., O’Malley A. J., Freedland S. J., and Smith M. R., “Diabetes and cardiovascular disease during androgen deprivation therapy: observational study of veterans with prostate cancer,” *Journal of the National Cancer Institute*, vol. 104, no. 19, pp. 1518–1523, 2012.
149. Kelley, D.E., Mintun, M.A., Watkins, S.C., Simoneau, J.A., Jadali, F., Fredrickson, A., Beattie, J. and Thériault, R., 1996. The effect of non-insulin-dependent diabetes mellitus and obesity on glucose transport and phosphorylation in skeletal muscle. *Journal of Clinical Investigation*, 97(12), p.2705.

150. Kelly D.M. and Jones T.H., “Testosterone: a metabolic hormone in health and disease,” *Journal of Endocrinology*, vol. 217, no. 3, pp. R25–R45, 2013.
151. Kelly, D.M., Akhtar, S., Sellers, D.J., Muraleedharan, V., Channer, K.S. and Jones, T.H., 2016. Testosterone differentially regulates targets of lipid and glucose metabolism in liver, muscle and adipose tissues of the testicular feminised mouse. *Endocrine*, 54(2), pp.504-515.
152. Kengne, A.P., Echouffo-Tcheugui, J.B., Sobngwi, E. and Mbanja, J.C., 2013. New insights on diabetes mellitus and obesity in Africa–Part 1: prevalence, pathogenesis and comorbidities. *Heart*, pp.heartjnl-2012. (1)
153. Kengne, A.P., Sobngwi, E., Echouffo-Tcheugui, J.B. and Mbanja, J.C., 2013. New insights on diabetes mellitus and obesity in Africa-Part 2: prevention, screening and economic burden. *Heart*, pp.heartjnl-2013. (2)
154. Kinote, A., Faria, J. A., Roman, E. A., Solon, C., Razolli, D. S., Ignacio-Souza, L. M., ... & Lellis-Santos, C. (2012). Fructose-induced hypothalamic AMPK activation stimulates hepatic PEPCK and gluconeogenesis due to increased corticosterone levels. *Endocrinology*, 153(8), 3633-3645.
155. Komers R., Lindsley J. N., Oyama T. T. et al., “Immunohistochemical and functional correlations of renal cyclooxygenase-2 in experimental diabetes,” *Journal of Clinical Investigation*, vol. 107, no. 7, pp. 889–898, 2001.
156. Kupelian V., Page S. T., Araujo A. B., Travison T. G., Bremner W. J., and McKinlay J. B., “Low sex hormone-binding globulin, total testosterone, and symptomatic androgen deficiency are associated with development of the metabolic syndrome in nonobese men,” *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 91, no. 3, pp. 843–850, 2006.
157. Laaksonen D. E., Niskanen L., Punnonen K. et al., “Testosterone and sex hormone-binding globulin predict the metabolic syndrome and diabetes in middle-aged men,” *Diabetes Care*, vol. 27, no. 5, pp. 1036–1041, 2004.
158. Laaksonen DE, Niskanen L, Punnonen K, Nyysönen K, Tuomainen TP, Salonen R, Rauramaa R, Salonen JT. Sex hormones, inflammation and the metabolic syndrome: a population-based study. *Eur J Endocrinol*. 2003;149:601–608.
159. Lage MJ, Barber BL, Markus RA (2007) Association between androgen deprivation therapy and incidence of diabetes among males with prostate cancer. *Urology* 70: 1104–1108.

160. Latsabidze I, Janberidze E, Kakabadze M, Didebulidze N, Machavariani T (2016) The influence of plaferon LB on regenerative processes in the pancreas in an alloxan-induced diabetes rat model. *Transl and Clin Med - Geo Med J* 1(2): 4-10.
161. Latsabidze I, Machavariani T, Gachechiladze I, Gvamichava T, Kavtiashvili K. B-cells of rats pancreas and their supposed precursors during alloxan diabetes and after the action of Plaferon LB. *GEORGIAN MEDICAL*. 2011 Sep;11(15):40).
162. Laughner E., Taghavi P., Chiles K., Mahon P. C., and Semenza G. L., “HER2 (neu) signaling increases the rate of hypoxiainducible factor 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) synthesis: novel mechanism for HIF-1-mediated vascular endothelial growth factor expression,”*Molecular and Cellular Biology*, vol. 21, no. 12, pp. 3995–4004, 2001.
163. Lee C.-H, Kuo S.-W., Hung Y.-J. et al., “The effect of testosterone supplement on insulin sensitivity, glucose effectiveness, and acute insulin response after glucose load in male type 2 diabetics,” *Endocrine Research*, vol. 31, no. 2, pp. 139–148, 2005.
164. Lenzen S, Bailey CJ. Thyroid hormones, gonadal and adrenocortical steroids and the function of the islets of Langerhans. *Endocrine Rev* 1984; 5:411-434.
165. Lenzen, S., 2008. The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51(2), pp.216-226.
166. Li RJ, Qiu SD, Wang HX, Tian H, Wang LR, Huo YW Androgen receptor: a new player associated with apoptosis and proliferation of pancreatic beta-cell in type 1 diabetes mellitus. *Apoptosis*. 2008 ;13(8):959-71.
167. Li, R., Shrestha, S.S., Lipman, R., Burrows, N.R., Kolb, L.E. and Rutledge, S., 2014. Diabetes self-management education and training among privately insured persons with newly diagnosed diabetes--United States, 2011-2012. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, 63(46), pp.1045-1049.
168. Lin HY, Yu IC, Wang RS, et al. Increased hepatic steatosis and insulin resistance in mice lacking hepatic androgen receptor. *Hepatology* 2008; 47:1924–1935.
169. Liu LL, Yi JP, Beyer J, Mayer-Davis EJ, Dolan LM, Dabelea DM, Lawrence JM, Rodriguez BL, Marcovina SM, Waitzfelder BE, Fujimoto WY. SEARCH for Diabetes in Youth Study Group. Type 1 and type 2 diabetes in Asian and Pacific Islander U.S. youth: the SEARCH for Diabetes in Youth Study. *Diabetes Care*. 2009; 32(suppl 2):S133–S140. [PubMed: 19246578].



170. Lomba-Albrecht L. A. and Styne D. M., “Effect of puberty on body composition,” *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, vol. 16, no. 1, pp. 10–15, 2009.
171. Maedler, K., Spinas, G.A., Lehmann, R., Sergeev, P., Weber, M., Fontana, A., Kaiser, N. and Donath, M.Y., 2001. Glucose induces  $\beta$ -cell apoptosis via upregulation of the Fas receptor in human islets. *Diabetes*, 50(8), pp.1683-1690.
172. Mah P. M. and Wittert G. A., “Obesity and testicular function,” *Molecular and Cellular Endocrinology*, vol. 316, no. 2, pp. 180–186, 2010.
173. Maiorino, M.I., Bellastella, G. and Esposito, K., 2014. Diabetes and sexual dysfunction: current perspectives. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy*, 7, p.95.
174. Marin P, Holmang S, Gustafsson C, Jonsson L, Kvist H, Elander A, Eldh J, Sjostrom L, Holm G, Bjorntorp P. Androgen treatment of abdominally obese men. *Obes Res*. 1993;1:245–251.
175. Marin P, Holmang S, Jonsson L, Sjostrom L, Kvist H, Holm G, Lindstedt G, Bjorntorp P. The effects of testosterone treatment on body composition and metabolism in middle-aged obese men. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1992;16:991–997.
176. Marin P, Lonn L, Andersson B, Oden B, Olbe L, Bengtsson BA, Bjorntorp P. Assimilation of triglycerides in subcutaneous and intraabdominal adipose tissues in vivo in men: effects of testosterone. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81:1018–1022.
177. Marin P. Testosterone and regional fat distribution. *Obes Res*. 1995;3(suppl 4):S609–S612.
178. Martins-Mendes, D., Monteiro-Soares, M., Boyko, E.J., Ribeiro, M., Barata, P., Lima, J. and Soares, R., 2014. The independent contribution of diabetic foot ulcer on lower extremity amputation and mortality risk. *Journal of Diabetes and its Complications*, 28(5), pp.632-638.
179. Mathis D., Vence L., and Benoist C., “ $\beta$ -cell death during progression to diabetes,” *Nature*, vol. 414, no. 6865, pp. 792–798, 2001.
180. Mauvais-Jarvis F (2011) Estrogen and androgen receptors: regulators of fuel homeostasis and emerging targets for diabetes and obesity. *Trends Endocrinol Metab* 22: 24–33.
181. Mauvais-Jarvis F. (2016) Role of Sex Steroids in  $\beta$  cell function, growth, and survival. *Trends Endocrin Metab* 27(12): 844-55.

182. Mcewan I. J. and Gustafsson J.-<sup>o</sup> A., “Interaction of the human androgen receptor transactivation function with the general transcription factor TFIIF,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 94, no. 16, pp. 8485–8490, 1997.
183. McPhaul, M.J., Marcelli, M., Tilley, W.D., Griffin, J.E. and Wilson, J.D., 1991. Androgen resistance caused by mutations in the androgen receptor gene. *The FASEB journal*, 5(14), pp.2910-2915.
184. Mettelinge, T.R., Delbaere, K., Calders, P., Gysel, T., Van Den Noortgate, N. and Cambier, D., 2013. The impact of peripheral neuropathy and cognitive decrements on gait in older adults with type 2 diabetes mellitus. *Archives of physical medicine and rehabilitation*, 94(6), pp.1074-1079.
185. Morelli MB, Amantini C, Nabissi M, Liberati S, Cardinali C, Farfariello V, Tomassoni D, Quaglia W, Piergentili A, Bonifazi A, Del Bello F. Cross-talk between alpha 1D-adrenoceptors and transient receptor potential vanilloid type 1 triggers prostate cancer cell proliferation. *BMC cancer*. 2014 Dec 7;14(1):921.
186. Morgan, N.G., Cable, H.C., Newcombe, N.R. and Williams, G.T., 1994. Treatment of cultured pancreatic B-cells with streptozotocin induces cell death by apoptosis. *Bioscience reports*, 14(5), pp.243-250.
187. Morimoto S, Mendoza-Rodríguez CA, Hiriart M, Larrieta ME, Vital P, Cerboń MA. Protective effect of testosterone on early apoptotic damage induced by streptozotocin in rat pancreas. *J Endocrinol*. 2005;187:217–224.
188. Morimoto, S., Fernandez-Mejia, C., Romero-Navarro, G., Morales-Peza, N., & Díaz-Sánchez, V. (2001). Testosterone Effect on Insulin Content, Messenger Ribonucleic Acid Levels, Promoter Activity, and Secretion in the Rat 1. *Endocrinology*, 142(4), 1442-1447.
189. Morita I., “Distinct functions of COX-1 and COX-2,” *Prostaglandins and Other Lipid Mediators*, vol. 68-69, pp. 165–175, 2002.
190. Moudgil, V. K. (1988). Steroid receptors in health and disease. In *Steroid Receptors in Health and Disease* (pp. 3-24). Springer US .
191. Movérare-Skrtic S., Venken K., Andersson N. et al., “Dihydrotestosterone treatment results in obesity and altered lipid metabolism in orchidectomized mice,” *Obesity*, vol. 14, no. 4, pp. 662–672, 2006.
192. Muller M, Grobbee DE, den Tonkelaar I, Lamberts SW, van der Schouw YT. Endogenous sex hormones and metabolic syndrome in aging men. *J Clin*

Endocrinol Metab. 2005;90:2618–2623.

193. Muraleedharan, V. and Jones, T.H., 2010. Testosterone and the metabolic syndrome. *Therapeutic advances in endocrinology and metabolism*, 1(5), pp.207-223.
194. Naharci MI, Pinar M, Bolu E, Olgun A (2007) Effect of testosterone on insulin sensitivity in men with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *Endocr Pract* 13:629–635.
195. Narayan KM, Boyle JP, Geiss LS, Saaddine JB, Thompson TJ. Impact of recent increase in incidence on future diabetes burden: U.S., 2005–2050. *Diabetes Care*. 2006; 29:2114–2116. [PubMed: 16936162].
196. National Center for Disease Control and Public Health-2014.
197. National Center for Disease Control and Public Health-2015.
198. Navarro G, Xu W, Jacobson DA, Wicksteed B, Allard C, et al. (2016) Extranuclear actions of the androgen receptor enhance glucose-stimulated insulin secretion in the male. *Cell metab* 23(5): 837-51.
199. Navarro, G., Allard, C., Xu, W. and Mauvais-Jarvis, F., 2015. The role of androgens in metabolism, obesity, and diabetes in males and females. *Obesity*, 23(4), pp.713-719.
200. Nishiyama T, Ishizaki F, Anraku T, Shimura H, Takahashi K. The influence of androgen deprivation therapy on metabolism in patients with prostate cancer. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90:657–660.
201. Nwaneri, C., Cooper, H., Jones, D.B., Agwu-Umahi, O. and Osho, T., 2014. Measure of the Rate at which Mortality in Type 2 Diabetes Mellitus Occurs: Protocol for a Systematic Review.
202. Ogden C. L., Carroll M. D., Curtin L. R., McDowell M. A., Tabak C. J., and Flegal K. M., “Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999–2004,” *JAMA*, vol. 295, no. 13, pp. 1549–1555, 2006.
203. Oh J.-Y., Barrett-Connor E., Wedick N. M., and Wingard D. L., “Endogenous sex hormones and the development of type 2 diabetes in older men and women: the Rancho Bernardo Study,” *Diabetes Care*, vol. 25, no. 1, pp. 55–60, 2002.
204. Orchard, T.J., Dorman, J.S., Maser, R.E., Becker, D.J., Drash, A.L., Ellis, D., LaPorte, R.E. and Kuller, L.H., 1990. Prevalence of complications in IDDM by sex and

- duration: Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study II. *Diabetes*, 39(9), pp.1116-1124.
205. Osuna JA, Gomez-Perez R, Arata-Bellabarba G, Villaroel V. Relationship between BMI, total testosterone, sex hormonebinding-globulin, leptin, insulin and insulin resistance in obese men. *Arch Androl*. 2006;52:355–361.
  206. Ozmen O., Topsakal S., Sahinduran S., and Ozcelik M., “Effect of insufficient insulin treatment in streptozotocin-induced diabetes mellitus,” *Pancreas*, vol. 34, no. 3, pp. 354–358, 2007.
  207. Ozougwu, J.C., Obimba, K.C., Belonwu, C.D. and Unakalamba, C.B., 2013. The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Journal of Physiology and Pathophysiology*, 4(4), pp.46-57.
  208. Pablos-Velasco, P., Parhofer, K.G., Bradley, C., Eschwege, E., Gönder-Frederick, L., Maheux, P., Wood, I. and Simon, D., 2014. Current level of glycaemic control and its associated factors in patients with type 2 diabetes across Europe: data from the PANORAMA study. *Clinical endocrinology*, 80(1), pp.47-56.
  209. Pagotto U, Gambineri A, Pelusi C, Genghini S, Cacciari M, Otto B, Castaneda T, Tschop M, Pasquali R. Testosterone replacement therapy restores normal ghrelin in hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88:4139–4143.
  210. Parikh NI, Pencine MJ, Wang TJ, Lanier KJ, Fox CS, d’Agostino RB, Ramachandran SV. Increasing trends in incidence of overweight and obesity over 5 decades. *Amer J Med*. 2007;120:242–250.
  211. Parthasarathy C., Renuka V. N., and Balasubramanian K., “Sex steroids enhance insulin receptors and glucose oxidation in Chang liver cells,” *Clinica Chimica Acta*, vol. 399, no. 1-2, pp. 49–53, 2009.
  212. Pasquali R, Casimirri F, Cantobelli S, Melchionda N, Morselli Labate AM, Fabbri R, Capelli M, Bortoluzzi L. Effect of obesity and body fat distribution on sex hormones and insulin in men. *Metabolism*. 1991;40:101–104.
  213. Pasquali R, Casimirri F, De Iasio R, Mesini P, Boschi S, Chierici R, Flamia R, Biscotti M, Vicennata V. Insulin regulates testosterone and sex hormone-binding globulin concentrations in adult normal weight and obese men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995;80:654–658.
  214. Pasquali R, Macor C, Vicennati V, Novo F, De Lasio R, Mesini P, Boschi S, Casimirri F, Vettor R. Effects of acute hyperinsulinemia on testosterone serum

- concentrations in adult obese and normalweight men. *Metabolism*. 1997;46:526–529.0.
215. Patterson, C., Guariguata, L., Dahlquist, G., Soltész, G., Ogle, G. and Silink, M., 2014. Diabetes in the young—a global view and worldwide estimates of numbers of children with type 1 diabetes. *Diabetes research and clinical practice*, 103(2), pp.161-175.
  216. Patterson, C.C., Gyürüs, E., Rosenbauer, J., Cinek, O., Neu, A., Schober, E., Parslow, R.C., Joner, G., Svensson, J., Castell, C. and Bingley, P.J., 2015. Seasonal variation in month of diagnosis in children with type 1 diabetes registered in 23 European centers during 1989–2008: little short-term influence of sunshine hours or average temperature. *Pediatric diabetes*, 16(8), pp.573-580.
  217. Peters, Sanne AE, Rachel R. Huxley, and Mark Woodward. "Diabetes as a risk factor for stroke in women compared with men: a systematic review and meta-analysis of 64 cohorts, including 775 385 individuals and 12 539 strokes." *The Lancet* 383.9933 (2014): 1973-1980.
  218. Peters, Sanne AE, Rachel R. Huxley, and Mark Woodward. "Diabetes as risk factor for incident coronary heart disease in women compared with men: a systematic review and meta-analysis of 64 cohorts including 858,507 individuals and 28,203 coronary events." (2014): 1542-1551.
  219. Petropoulos, I.N., Green, P., Chan, A.W., Alam, U., Fadavi, H., Marshall, A., Asghar, O., Efron, N., Tavakoli, M. and Malik, R.A., 2015. Corneal confocal microscopy detects neuropathy in patients with type 1 diabetes without retinopathy or microalbuminuria. *PloS one*, 10(4), p.e0123517.
  220. Pettitt, D.J., Talton, J., Dabelea, D., Divers, J., Imperatore, G., Lawrence, J.M., Liese, A.D., Linder, B., Mayer-Davis, E.J., Pihoker, C. and Saydah, S.H., 2014. Prevalence of diabetes in US youth in 2009: the SEARCH for diabetes in youth study. *Diabetes care*, 37(2), pp.402-408.
  221. Pitteloud N, Hardin M, Dwyer AA, Valassi E, Yialamas M, Elahi D, Hayes FJ. Increasing insulin resistance is associated with a decrease in Leydig cell testosterone secretion in men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005a;90:2636–2641.
  222. Pitteloud, N., Mootha, V.K., Dwyer, A.A., Hardin, M., Lee, H., Eriksson, K.F., et al. (2005b) Relationship between testosterone levels, insulin sensitivity, and mitochondrial function in men. *Diabetes Care*, 28(7), 1636-42.

223. Portha B, Levacher C, Picon L, Rosselin G (1974) Diabetogenic effect of streptozotocin in the rat during the perinatal period. *Diabetes* 23(11): 889–895.
224. Rabinovitch A., “Free radicals as mediators of pancreatic islet  $\beta$ -cell injury in autoimmune diabetes,” *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, vol. 119, no. 5, pp. 455–456, 1992.
225. Rajagopal, J., Anderson, W.J., Kume, S., Martinez, O.I. and Melton, D.A., 2003. Insulin staining of ES cell progeny from insulin uptake. *Science*, 299(5605), pp.363–363.
226. Ramachandran, A., Snehalatha, C. and Ma, R.C.W., 2014. Diabetes in South-East Asia: an update. *Diabetes research and clinical practice*, 103(2), pp.231–237.
227. Ramiya, V.K., Maraist, M., Arfors, K.E., Schatz, D.A., Peck, A.B. and Cornelius, J.G., 2000. Reversal of insulin-dependent diabetes using islets generated in vitro from pancreatic stem cells. *Nature medicine*, 6(3), p.278.
228. Rebuffescrive, M., Marin, P. and Bjorntorp, P. (1991) Effect of testosterone on abdominal adipose-tissue in men. *Int J Obesity* 15: 791–795.
229. Reinehr, T., 2013. Type 2 diabetes mellitus in children and adolescents. *World journal of diabetes*, 4(6), p.270.
230. Rewers Marian, Ludvigsson Johnny, *Environmental risk factors for type 1 diabetes* 2016.
231. Rhoden EL, Ribeiro EP, Riedner CE, Teloken C, Souto CA. Glycosylated haemoglobin levels and the severity of erectile function in diabetic men. *BJU Int*. 2005b;95:615–617.
232. Rhoden EL, Ribeiro EP, Teloken C, Souto CA (2005a) Diabetes mellitus is associated with subnormal serum levels of free testosterone in men. *BJU Int* 96 :867–870.
233. Rojas, L.B.A. and Gomes, M.B., 2013. Metformin: an old but still the best treatment for type 2 diabetes. *Diabetology & metabolic syndrome*, 5(1), p.6.
234. Rosner, W., Hryb, D.J., Khan, M.S., Nakhla, A.M. and Romas, N.A., 1991. Sex hormone-binding globulin: anatomy and physiology of a new regulatory system. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 40(4), pp.813–820.
235. Rovira-Llopis S, Bañuls C, De Marañon AM, Diaz-Morales N, Jover A, et al. (2017) Low testosterone levels are related to oxidative stress, mitochondrial dysfunction and altered subclinical atherosclerotic markers in type 2 diabetic male patients. *Free Radic Biol Med* 108: 155–62.



236. Ruizeveld de Winter, J.A., Trapman, J., Vermeij, M.A.R.C.E.L., Mulder, E.P.P.O., Zegers, N.D. and van der Kwast, T.H., 1991. Androgen receptor expression in human tissues: an immunohistochemical study. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 39(7), pp.927-936.
237. Rull, J.A., Aguilar-Salinas, C.A., Rojas, R., Rios-Torres, J.M., Gómez-Pérez, F.J. and Olaiz, G., 2005. Epidemiology of type 2 diabetes in Mexico. *Archives of medical research*, 36(3), pp.188-196.
238. Saad F. and Gooren L., “The role of testosterone in the metabolic syndrome: a review,” *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, vol. 114, no. 1-2, pp. 40–43, 2009.
239. Saad Farid, Yassin Aksam, Almeahmadi Yousef, Doros Gheorghe, Gooren Louis - Effects of long-term testosterone replacement therapy, with a temporary intermission, on glycemic control of nine hypogonadal men with type 1 diabetes mellitus – a series of case reports -*The Aging Male* 2015 18(3): 164-168.
240. Saisho Yoshifumi, Manesso Erica, Butler Alexandra E., Galasso Ryan, Kavanagh Kylie, Flynn Mickey, Zhang Li, Clark Paige, Gurlo Tatyana, Toffolo Gianna M., Cobelli Claudio, Wagner Janice D., and Butler Peter C.. *Ongoing b-Cell Turnover in Adult Nonhuman Primates Is Not Adaptively Increased in Streptozotocin-Induced Diabetes*. 2011.
241. Sato, K., Iemitsu, M., Aizawa, K., & Ajisaka, R. (2008). Testosterone and DHEA activate the glucose metabolism-related signaling pathway in skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 294(5), E961-E968.
242. Selvin E, Feinleib M, Zhang L, Rohrmann S, Rifai N, et al. (2007) Androgens and diabetes in men. *Diabetes Care* 30: 234–238.
243. Semenza G. L., “Life with oxygen,” *Science*, vol. 318, no. 5847, pp. 62–64, 2007.
244. Shah, A.D., Langenberg, C., Rapsomaniki, E., Denaxas, S., Pujades-Rodriguez, M., Gale, C.P., Deanfield, J., Smeeth, L., Timmis, A. and Hemingway, H., 2014. Type 2 diabetes and incidence of cardiovascular diseases: a cohort study in 1• 9 million people.
245. Shahani, S., Braga-Basaria, M. and Basaria, S., 2008. Androgen deprivation therapy in prostate cancer and metabolic risk for atherosclerosis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 93(6), pp.2042-2049.

246. Shahidi, N. T. (2001). A review of the chemistry, biological action, and clinical applications of anabolic-androgenic steroids. *Clinical therapeutics*, 23(9), 1355-1390.
247. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes research and clinical practice*. 2010 Jan 31;87(1):4-14.
248. Shen M, Shi H. Sex hormones and their receptors regulate liver energy homeostasis. *International journal of endocrinology*. 2015 Sep 27;2015.
249. Shores MM, Matsumoto AM, Sloan KL, Kivlahan DR. Low serum testosterone and mortality in male veterans. *Arch Intern Med*. 2006;166:1660–1665.
250. Siddiqui, M. A., Khan, M. F., & Carline, T. E. (2013). Gender differences in living with diabetes mellitus. *Materia socio-medica*, 25(2), 140.
251. Simó, R. and Hernández, C., 2014. Neurodegeneration in the diabetic eye: new insights and therapeutic perspectives. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 25(1), pp.23-33.
252. Simon D, Charles MA, Nahoul K, Orssaud G, Kremiski J, Hully V, Joubert E, Papoz L, Eschwege E. Association between plasma total testosterone and cardiovascular risk factors in healthy adult men:the Telecom Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82:682–685.
253. Smith JC, Bennett S, Evans LM, Kynaston HG, Parmar M, Mason MD, Cockcroft JR, Scanlon MF, Davies JS. The effects of induced hypogonadism on arterial stiffness, body composition, and metabolic parameters in males with prostate cancer. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:4261–4267.
254. Soccio, R.E., Chen, E.R. and Lazar, M.A., 2014. Thiazolidinediones and the promise of insulin sensitization in type 2 diabetes. *Cell metabolism*, 20(4), pp.573-591.
255. Srinivas-Shankar, U. and Wu, F.C., 2006. Drug insight: testosterone preparations. *Nature Reviews. Urology*, 3(12), p.653.
256. Stamler J., Stamler R., Riedlinger W. F., Algera G., and Roberts R. H., “Hypertension screening of 1 million Americans. Community Hypertension Evaluation Clinic (CHEC) program, 1973 through 1975,” *JAMA*, vol. 235, no. 21, pp. 2299–2306, 1976.
257. Stanworth R. D. and Jones T. H., “Testosterone in obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes,” *Frontiers of Hormone Research*, vol. 37, pp. 74–90, 2009.
258. Stanworth R. D., Kapoor D., Channer K. S., and Jones T. H., “Statin therapy is associated with lower total but not bioavailable or free testosterone in men with

type 2 diabetes,” *Diabetes Care*, vol. 32, no. 4, pp. 541–546, 2009.

259. Steinbrook R. Facing the diabetes epidemic—mandatory reporting of glycosylated hemoglobin values in New York City. *N Engl J Med*. 2006;354:545–548.
260. Stellato RK, Feldman HA, Hamdy O, Horton ES, McKinlay JB. Testosterone, sex hormone-binding globulin, and the development of type 2 diabetes in middle-aged men: prospective results from the Massachusetts male aging study. *Diabetes Care*. 2000;23:490–494.
261. Stephens, E., 2015. Insulin therapy in type 1 diabetes. *Medical Clinics of North America*, 99(1), pp.145-156.
262. Sun, C.D., Zhang, B., Zhang, J.K., Xu, C.J., Wu, Y.L., Li, X. and Chen, K.S., 2012. Cyanidin-3-glucoside-rich extract from Chinese bayberry fruit protects pancreatic  $\beta$  cells and ameliorates hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetic mice. *Journal of medicinal food*, 15(3), pp.288-298.
263. Supakar P. C. and Roy A. K., “Role of transcription factors in the age-dependent regulation of the androgen receptor gene in rat liver,” *Biological Signals*, vol. 5, no. 3, pp. 170–179, 1996.
264. Tamagawa T., Niki H., and Niki A., “Insulin release independent of a rise in cytosolic free  $Ca^{2+}$  by forskolin and phorbol ester,” *FEBS Letters*, vol. 183, no. 2, pp. 430–432, 1985.
265. Tamayo, T., Rosenbauer, J., Wild, S.H., Spijkerman, A.M.W., Baan, C., Forouhi, N.G., Herder, C. and Rathmann, W., 2014. Diabetes in Europe: an update. *Diabetes research and clinical practice*, 103(2), pp.206-217.
266. Taylor R. W., Grant A. M., Williams S. M., and Goulding A., “Sex differences in regional body fat distribution from pre-to postpuberty,” *Obesity*, vol. 18, no. 7, pp. 1410–1416, 2010.
267. Thornberry N. A. and Lazebnik Y., “Caspases: enemies within,” *Science*, vol. 281, no. 5381, pp. 1312–1316, 1998.
268. Traish A. M., Saad F., Feeley R. J., and Guay A., “The dark side of testosterone deficiency: III. Cardiovascular disease,” *Journal of Andrology*, vol. 30, no. 5, pp. 477–494, 2009.
269. Traish A.M., Saad F., and Guay A., “The dark side of testosterone deficiency: II. type 2 diabetes and insulin resistance,” *Journal of Andrology*, vol. 30, no. 1, pp. 23–32, 2009.

270. Turner, R.C., Cull, C.A., Frighi, V., Holman, R.R. and UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group, 1999. Glycemic control with diet, sulfonylurea, metformin, or insulin in patients with type 2 diabetes mellitus: progressive requirement for multiple therapies (UKPDS 49). *Jama*, 281(21), pp.2005-2012.
271. Vetere A, Choudhary A, Burns SM, Wagner BK. Targeting the pancreatic [beta]-cell to treat diabetes. *Nature reviews. Drug discovery*. 2014 Apr 1;13(4):278.
272. Visakorpi T, Hyytinen E, Koivisto P, Tanner M, Keinänen R, et al. (1995) In vivo amplification of the androgen receptor gene and progression of human prostate cancer. *Nat Genet* 9: 401 – 406.
273. Wanner, C., Inzucchi, S.E., Lachin, J.M., Fitchett, D., von Eynatten, M., Mattheus, M., Johansen, O.E., Woerle, H.J., Broedl, U.C. and Zinman, B., 2016. Empagliflozin and progression of kidney disease in type 2 diabetes. *New England Journal of Medicine*, 375(4), pp.323-334.
274. Wells J. C. K., “Sexual dimorphism of body composition,” *Best Practice and Research*, vol. 21, no. 3, pp. 415–430, 2007.
275. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*. 2004; 27:1047–1053. [PubMed: 15111519].
276. Wilson GL. Leiter EH (1990) Streptozotocin interactions with pancreatic  $\beta$  cells and the induction of insulin-dependent diabetes. *Curr Top Microbiol Immunol* 156: 27–54.
277. Winborn, W.B., Sheridan, P.J. and McGill, H.C., 1987. Sex steroid receptors in the stomach, liver, pancreas, and gastrointestinal tract of the baboon. *Gastroenterology*, 92(1), pp.23-32.
278. Wong, W.P., Tiano, J.P., Liu, S., Hewitt, S.C., Le May, C., Dalle, S., Katzenellenbogen, J.A., Katzenellenbogen, B.S., Korach, K.S. and Mauvais-Jarvis, F., 2010. Extranuclear estrogen receptor- $\alpha$  stimulates NeuroD1 binding to the insulin promoter and favors insulin synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(29), pp.13057-13062.
279. Woo M., Hakem R., Soengas M. S. et al., “Essential contribution of caspase 3/CPPp32 to apoptosis and its associated nuclear changes,” *Genes and Development*, vol. 12, no. 6, pp. 806–819, 1998.
280. World Health Organization, 2016. Global report on diabetes. World Health Organization.

281. Yang, X., Deng, Y., Gu, H., Ren, X., Lim, A., Snellingen, T., Liu, X., Wang, N., Pak, J.W., Liu, N. and Danis, R.P., 2016. Relationship of retinal vascular calibre and diabetic retinopathy in Chinese patients with type 2 diabetes mellitus: the Desheng Diabetic Eye Study. *British Journal of Ophthalmology*, pp.bjophthalmol-2014.
282. Yannucci J, Manola J, Garnick MB, Bhat G, Bublely GJ. The effect of androgen deprivation therapy on fasting serum lipid and glucose parameters. *J Urol*. 2006;176:520–525.
283. Yeap B.B., Hyde Z., Almeida O.P., et al., “Lower testosterone levels predict incident stroke and transient ischemic attack in older men,” *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 94, no. 7, pp. 2353–2359, 2009.
284. Yeh S. and Chang C., “Cloning and characterization of a specific coactivator, ARA70, for the androgen receptor in human prostate cells,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 93, no. 11, pp. 5517–5521, 1996.
285. Yialamas MA, Dwyer AA, Hanley E, Lee H, Pitteloud N, Hayes FJ. Acute sex steroid withdrawal reduces insulin sensitivity in healthy men with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92:4254–4259.
286. Yu IC, Lin HY, Liu NC, et al. Neuronal androgen receptor regulates insulin sensitivity via suppression of hypothalamic NF- $\kappa$ B-mediated PTP1B expression. *Diabetes* 2013;62:411–423.
287. Zaccardi, F., Webb, D.R., Yates, T. and Davies, M.J., 2015. Pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus: a 90-year perspective. *Postgraduate medical journal*, pp.postgradmedj-2015.
288. Zhang X., Barile G., Chang S. et al., “Apoptosis and cell proliferation in proliferative retinal disorders: PCNA, Ki-67, caspase-3, and PARP expression,” *Current Eye Research*, vol. 30, no. 5, pp. 395–403, 2005.
289. Zhao, D., Cho, J., Kim, M.H., Friedman, D. and Guallar, E., 2014. Diabetes, glucose metabolism, and glaucoma: the 2005–2008 National Health and Nutrition Examination Survey. *PloS one*, 9(11), p.e112460.
290. Zhao, D., Cho, J., Kim, M.H., Friedman, D.S. and Guallar, E., 2015. Diabetes, fasting glucose, and the risk of glaucoma: a meta-analysis. *Ophthalmology*, 122(1), pp.72–78.
291. Zinman, B., Wanner, C., Lachin, J.M., Fitchett, D., Bluhmki, E., Hantel, S., Mattheus, M., Devins, T., Johansen, O.E., Woerle, H.J. and Broedl, U.C., 2015.

- Empagliflozin, cardiovascular outcomes, and mortality in type 2 diabetes. *New England Journal of Medicine*, 373(22), pp.2117-2128.
292. Zitzmann M., “Testosterone deficiency, insulin resistance and the metabolic syndrome,” *Nature Reviews Endocrinology*, vol. 5, no. 12, pp. 673–681, 2009.
293. Zoungas, S., Woodward, M., Li, Q., Cooper, M.E., Hamet, P., Harrap, S., Heller, S., Marre, M., Patel, A., Poulter, N. and Williams, B., 2014. Impact of age, age at diagnosis and duration of diabetes on the risk of macrovascular and microvascular complications and death in type 2 diabetes. *Diabetologia*, 57(12), pp.2465-2474.
294. Кулаков, В.В., Киселевский, М.В., Полоцкий, Б.Е. and Пинегин, Б.В., 1999. Изучение цитостатической и цитотокси-ческой активности нейтрофилов периферической крови нормальных доноров и больных раком легких. *Вестник РОНЦ им. НН Блохина РАМН*, 10(2). სცინტილაციური სითხის 5 მლ-ის.
295. Селятицкая В. Г. Глюкокортикоидные гормоны: от процессов адаптации к экологическим факторам севера до метаболических нарушений при диабете. *Бюллетень СО РАМН*. 2012. т.32, N1, ст.13-20
296. Смирнов Н. Гормональные механизмы половой дифференцировки печени: Современные представления и проблемы. *Онтогенез*. 2009. т.40, N5, ст.334-354.
297. Теппермен, Джей, and X. Теппермен. *Физиология обмена веществ и эндокринной системы*. Рипол Классик, 1989.
298. დაავადებათა კონტროლისა და საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის ეროვნული ცენტრი - დეკ 2015.



## Effect of Methyltrienolone on the Metabolic Disorders in Rat Model of Alloxan-Induced Diabetes

***Neli Didebulidze MBiol, PhD***

Ivane Javakhishvili Tbilisi State University (TSU), Tbilisi, Georgia  
Alexandre Natishvili Institute of Morphology, TSU, Tbilisi, Georgia

***Sopiko Kandelaki MD***

Ivane Javakhishvili Tbilisi State University (TSU), Tbilisi, Georgia

***Manana Kakabadze MD, PhD***

Ivane Javakhishvili Tbilisi State University (TSU), Tbilisi, Georgia  
Alexandre Natishvili Institute of Morphology, TSU, Tbilisi, Georgia

***Salome Kordzaia BM***

David Tvildiani Medical University, Tbilisi, Georgia

***Dimitri Kordzaia MD, PhD***

Ivane Javakhishvili Tbilisi State University (TSU), Tbilisi, Georgia  
Alexandre Natishvili Institute of Morphology, TSU, Tbilisi, Georgia

***Jordi Muntané Relat MD, PhD***

Department of General Surgery, University Hospital Virgen del  
Rocio/IBiS/CSIC/University of Seville, Seville, Spain  
Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y  
Digestivas (CIBERehd), Spain

***Javier Padillo MD, PhD***

Department of General Surgery, University Hospital Virgen del  
Rocio/IBiS/CSIC/University of Seville, Seville, Spain  
de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas  
(CIBERehd), Spain

doi: 10.19044/esj.2017.v13n15p22

URL:<http://dx.doi.org/10.19044/esj.2017.v13n15p22>

### Abstract

**Aim:** The aim of the study was to investigate the restoration of metabolic imbalance related with deficiency of insulin by the exogenous androgen supplementation in the experimental model of alloxan-induced diabetes in Wistar male rats. **Methods:** The experimental diabetes was induced by a single intraperitoneal administration of alloxan. The concentrations of glucose, immunoreactive insulin, corticosterone, testosterone and estradiol were examined in blood, the intensity of DNA and RNA synthesis and androgen receptor expression were studied in the liver

tissue – at 15<sup>th</sup>, 30<sup>th</sup> and 45<sup>th</sup> days of alloxan-induced diabetes. The synthetic androgen methyltrienolone was administered to rats with 30-days diabetes during 15 days. All data were compared to control group received solvent. **Results:** The induction of diabetes increased the concentrations of glucose, corticosterone and estradiol while decreases insulin and testosterone concentration in blood as well as DNA/RNA synthesis and androgen receptors expression in hepatocytes. The administration of exogenous androgen significantly restored the metabolic imbalance and the expression of androgen receptors and increased DNA/RNA synthesis in liver cells maintained close to control level. **Conclusion:** The administration of methyltrienolone reduced the effect of “diabetic stress” and restored the hormonal dysfunction induced by alloxan.

---

**Keywords:** Alloxan-induced diabetes, testosterone, liver androgen receptors, hormonal disbalance

## Introduction

According to World Health Organization data, the incidence of diabetes mellitus (DM) has been obviously increasing over the world during the last decades. Both types of DM (type 1 and type 2) are characterized by chronic hyperglycemia and disorders in metabolism of carbohydrates, proteins and fats (American Diabetes Association, 2009), with multi-organ involvement in the pathogenesis (Hotamisligil, 2006).

The gender difference in the population affected by DM has been demonstrated by numerous epidemiological studies (Fitzgerald, et al., 1995; Grant, et al, 2009; Siddiqui, et al., 2013). It is considered that males have higher prevalence and diabetes type 2 risk (Aregbesola ET AL., 2016; Kautzky-Willer, et al., 2016). In addition, the risk of men with type 1 diabetes by cardiovascular disease mortality is approximately 10 times that of men without diabetes (Orchard, et al., 1990). Moreover the diabetes is considered as one of the strongest independent predictors of left ventricular hypertrophy (Greaves, et al., 1994).

Sex hormones have a great impact on energy metabolism, body composition, vascular function, and inflammatory responses (Kautzky-Willer, et al., 2016). The credible decrease of plasma testosterone concentration has been shown in males affected by DM type 1 as well as type 2. It was shown that the low concentrations of endogenous testosterone correlates with increased risk for left ventricular hypertrophy and heart failure (Kannel, et al., 1969; Kannel, et al., 1972). It is also reported that the reduction of blood testosterone concentration leads to the changes of metabolic processes in liver, hyperglycemia and insulin resistance in men with both types of DM (Grossmann, 2008; Holt, 2014). The low level of

blood testosterone is related to worst outcome in advanced liver diseases (Sinclair, 2016). The influence of sex hormones on the insulin secretion by  $\beta$ -cells in pancreas and metabolic processes in liver has been proved (Morimoto, 2001; Shen & Shi, 2015).

Considering, that hepatocytes and  $\beta$ -cells have the receptors for both male and female sex hormones, which in turn, have the ability of changing their quantitative expression (“down-regulation” and “up-regulation”) accordingly to their blood concentration, it could be expected that sex hormones supplementation may have functional pancreatic and hepatic repercussions in DM.

At the same time it's shown that male's liver, compared to female's, is more dependent on the genetically determined androgen levels in blood (Smirnov, 2009).

The aim of the present study was to investigate the possibility of restoration of metabolic imbalance by the exogenous androgen supplementation in the experimental model of alloxan-induced diabetes (AD).

## Material And Methods

The experimental model of diabetes was induced in male Wistar white rats (n=80) in age 2-2,5 months, weighting 180-200 g by a single intraperitoneal administration of alloxan obtained from Chemos GmbH & Co.KG (Germany). The animals received alloxan 200 mg/kg body weight in accordance to the pattern of experimental group. The animals were divided into 5 groups: Group I (Control) (n = 20) received solvent; Group II (n = 20) studied on 15<sup>th</sup> day of AD; Group III (n = 20) studied on 30<sup>th</sup> day of AD; Group IV (n = 20) studied on 45<sup>th</sup> day of AD; Group V (n=20) received daily 0.5 mg of synthetic androgen - radioinert methyltrienolone - beginning from the 31<sup>st</sup> day of AD. One hour before sacrifice, all animals underwent to the intraperitoneal injection of  $3,7 \times 10^4$  Bq radioactive androgen - methyltrienolone [17 $\alpha$ -METHYL-3H] (R-1881) obtained from Perkin Elmer, Inc., for quantitative assessment of androgen receptors (AR) in liver.

Subsequently, the animals were given ether anesthesia and the blood samples were obtained from inferior vena cava to further measuring the levels of glucose, immunoreactive insulin (IRI), corticosterone, estradiol (E<sub>2</sub>) and testosterone (T). The study corresponded to the principles of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NRC 2011) and approved by the Commission on Bioethics at Al. Natishvili Institute of Morphology, Iv. Javakhishvili Tbilisi State University.

### Measurement of hormones

The levels of hormones were measured by commercial kits. IRI was determined using the assay from *SEA-IRE-SORIN (France)*; corticosterone was assessed using the assay from *RSL., Inc. (California, US)*, T - by *SORIN BIOMEDICA (Italy)* and E<sub>2</sub> - by *ORIS Industries S.A. International GIS (France)*.

### Measurement of hepatic DNA/RNA content

The quantity of DNA in liver was studied by radioactive H<sup>3</sup>-thymidine (I.U.  $8.14 \times 10^{11}$  Bq/ml) in the dose of  $3.7 \times 10^5$  Bq/ml, while the RNA was measured by radioactive H<sup>3</sup>-uridine (I.U.  $8.8 \times 10^{11}$  Bq/ml) in the dose of  $3.7 \times 10^6$  Bq/ml. For this purpose, the fragments of liver tissue were weighed and placed into 5 ml *199 solution* vials, to which the above specific radioactive components were added.

The vials were placed in thermostat at +38<sup>0</sup>C for 90 minutes. Later, the fragments were rinsed in cold (+4<sup>0</sup>C) nourishing buffer with subsequent homogenization and placement in scintillating fluid container vials (according to previously published recommendations (Didebulidze, et al., 2015). The frequency (quantity) of radioactive impulses (imp/gr/min) was calculated by the “β-2” device (produced by the Enterprise of Academy of Medical Sciences, Russia).

### Statistical analysis

Median values are provided with respective interquartile ranges. Comparisons were tested using Mann-Whitney U test. P values less than 0.05 were considered statistically significant. Statistical analysis was conducted using SAS 9.2 software.

*We preferred median over mean because of concerns regarding the normality of distribution and small sample size of our study. Therefore we thought that median values are more appropriate to describe our data and make comparison between groups, which consisted of 20 subjects each.*

### Results and Discussion

AD was accompanied by the increased plasma concentration of glucose, corticosterone and E<sub>2</sub>. This increase appeared to be statistically significant compared with data of control group and groups with lesser terms of AD as well. The plasma concentration of IRI and T has significantly decreased at 15<sup>th</sup> and 30<sup>th</sup> days of the experiment but on the 45<sup>th</sup> day their further changes compared with previous terms were not statistically significant (Table 1, Diagram 1).

This could be related to the reduction of damaging effect of alloxan at 45<sup>th</sup> day when pancreatic β-cells entered into regeneration phase. The

reduction of intensity of IRI decline is accompanied by the reduction of intensity of T decline as well as it was described by Kandeel, et al. (2007). It is established that hypoinsulinemia and decreased glucose utilization inhibit protein, DNA and RNA synthesis in hepatocytes. In our study, hepatic DNA synthesis was decreased by 44% and RNA synthesis by 29% at 15<sup>th</sup> day of AD. In case of hypoinsulinemia and hyperglycemia, the glucose, which abundantly penetrated into hepatocytes (insulin is not required for the entrance of glucose in the hepatocytes, but only for its utilization by the cells - Kelly & Jones, 2013) promotes a significant increase in the production of hydroxyl radicals, which increase the amount of Bcl-2-associated X protein (BAX-protein). Besides, BAX protein stimulates the release of cytochrome C from mitochondria, caspase-3 activation and induction of apoptosis (Frances, et al., 2010).

After injection of radio-inert methyltrienolone, the glucose level significantly decreased being not statistically different in comparison with the data obtained at 15<sup>th</sup> day of experiment. This can be explained by the fact, that testosterone promotes the synthesis of i-RNA of IRI receptors in hepatocytes, which leads to increased *sensitivity of hepatocytes toward IRI*. In this conditions the minimal rise of IRI is enough to stimulate the glucose utilization in liver cells (Kapoor, et al., 2006; Sato, et al., 2008). IRI exerts anti-apoptotic properties based on the stimulation of XIAP, which inhibits caspases and suppresses the apoptosis (Frances, et al., 2010).

Our study, supports that injection of exogenous androgen supplementation significantly increases DNA (24%) and RNA (8%) synthesis in liver (Diagram 2).

T shifts insulin signaling toward cellular protein anabolism (Shahidi, 2001). T increases Glut4 expression and downstream signaling such as Akt and PKC-zeta/lambda phosphorylations and the main glycolytic phosphofructokinase and hexokinase enzymes (Sato, et al., 2008). Injection of methyltrienolone, had no effect on the concentration of IRI: the latter was not different neither from the data obtained at 30<sup>th</sup> nor 45<sup>th</sup> days of AD model.

Due to reduction of rat  $\beta$ -cells-derived insulin by alloxan imply, the synthesis of T is not stimulated adequately. Reduced T concentration can no longer afford inhibition of lipoprotein lipase enzyme. This enzyme, located at the endothelial membranes of blood capillaries into adipose tissue, releases the triglycerides from fat rich chylomicrons and very low density lipoproteins; these triglycerides penetrate and deposit into adipocytes. Under these conditions the enzyme aromatase, located in adipocytes, is activated and converts already diminished T to estrogen. This observation is confirmed by our data in which the marked increase in E<sub>2</sub> concentration paralleled the decrease in the T concentration (Hayes, et al., 2000, 2001). However, the E<sub>2</sub>

concentration which was increased at all stages of the experiment still declined after methyltrienolone injection and was not statistically different from indices of 15<sup>th</sup> day of AD (Table 1, Diagram 1).

The presented data confirms the results of Shahidi (2001), Haffner, et al. (1988) and Pitteloud, et al. (2005) that the variability in the steroid hormone concentration is dependent on insulin and glucose levels and vice versa.

At the 15<sup>th</sup> day of AD it was observed an increase of liver AR expression (Diagram 2). This can be explained by active consumption of testosterone during alloxan-dependent stress that increased the number of free AR enabled to interact with radioactive androgen H<sup>3</sup>-methyltrienolone (R-1881). At subsequent stages the increased testosterone deficiency induced by experimental diabetes was associated with drastic down-regulation of AR expression and signaling (due to their “masking”) (Tepperman, 1968; Moudgil, 1988,1990).

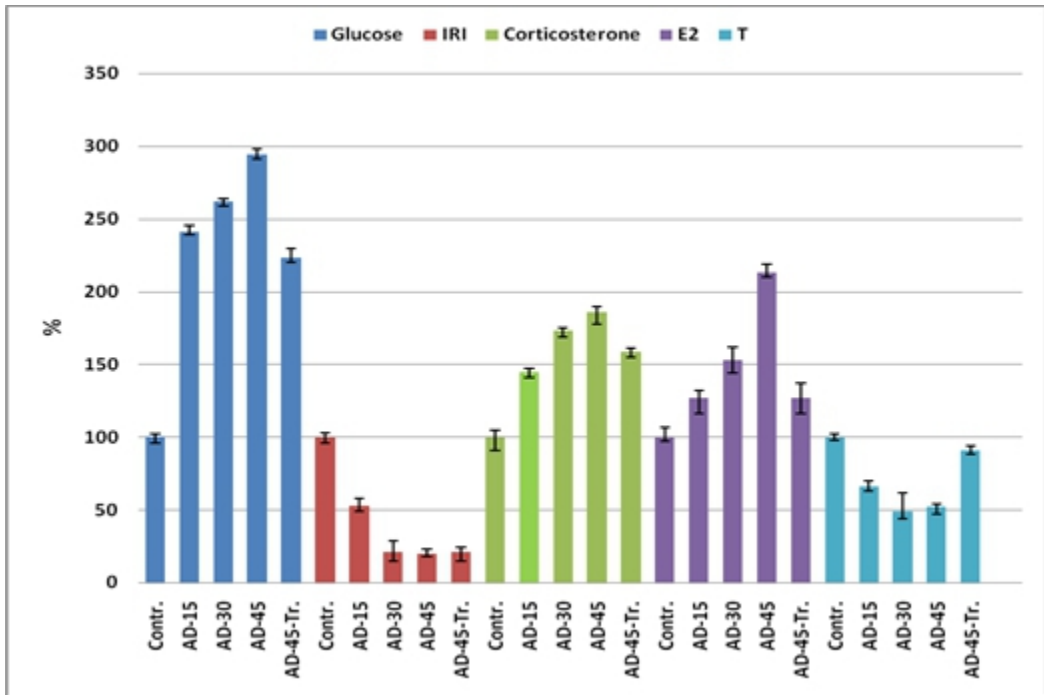


**Table 1.** Blood concentration of glucose, IRI, T, E<sub>2</sub>, corticosterone (Cor); activity of nucleic acids (DNA and RNA) synthesis; expression of AR.

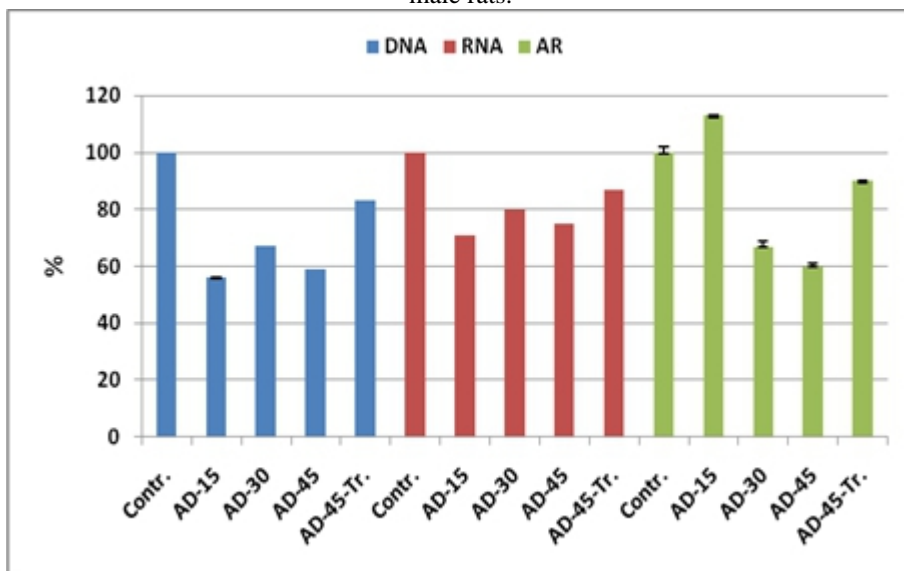
Groups	I	II.		III.		IV.		V.	
	Control (n=20)	Diabetes - 15 days (n=20)	p value	Diabetes - 30 days (n=20)	p value	Diabetes - 45 days (n=20)	p value	Diabetes - 45 days (15 days getting methyltrienolone) (n=20)	p value
Glucose mmol	5.10 (4.90-5.20)	12.30 (10.80-12.85)	<0.0001*	13.35 (12.90-13.60)	<0.0001* <0.0004**	15.00 (14.55-15.60)	<0.0001* <0.0001** <0.0001***	11.35 (10.54-12.11)	<0.0001* 0.08** <0.0001*** <0.0001****
IRI μU/mg	23.30 (22.35-24.10)	12.42 (11.89-13.06)	<0.0001*	5.00 (4.70-5.40)	<0.0001* <0.0001**	4.72 (4.63-4.88)	<0.0001* <0.0001** 0.05***	4.90 (4.59-5.05)	<0.0001* <0.0001** 0.14*** 0.32****
T ng/ml	2.63 (2.59-2.69)	1.73 (1.68-1.80)	<0.0001*	1.38 (1.34-1.44)	<0.0001* <0.0001**	1.38 (1.31-1.41)	<0.0001* <0.0001** 0.61***	2.40 (2.34-2.47)	<0.0001* <0.0001** <0.0001*** <0.0001****
E <sub>2</sub> ng/ml	0.015 (0.013-0.016)	0.019 (0.017-0.020)	<0.0001*	0.023 (0.021-0.025)	<0.0001* <0.0001**	0.032 (0.031-0.034)	<0.0001* <0.0001** <0.0001***	0.019 (0.017-0.021)	<0.0001* 0.18** 0.0001*** <0.0001****
Cor ng/ml	12.83 (11.72-13.45)	18.58 (17.90-19.03)	<0.0001*	22.15 (21.24-22.53)	<0.0001* <0.0001**	23.90 (22.05-24.85)	<0.0001* <0.0001** 0.005***	20.45 (19.60-20.95)	<0.0001* <0.0001** <0.0001*** <0.0001****
DNA Imp/g/min	180846 (180816-180872)	101276 (101272-101283)	<0.0001*	121163 (121157-121170)	<0.0001* <0.0001**	106698 (106683-106711)	<0.0001* <0.0001** <0.0001***	150096 (150086-150106)	<0.0001* <0.0001** <0.0001*** <0.0001****
RNA Imp/g/min	324909 (324870-324963)	230701 (230671-230712)	<0.0001*	259956 (259949-259962)	<0.0001* <0.0001**	243700 (243687-243714)	<0.0001* <0.0001** <0.0001***	282696 (282683-282707)	<0.0001* <0.0001** <0.0001*** <0.0001****
AR Imp/g/min	1673.17 (1636.69-1705.25)	1885.95 (1876.15-1894.55)	<0.0001*	1121.86 (1109.23-1135.32)	<0.0001* <0.0001**	1003.43 (997.68-1013.45)	<0.0001* <0.0001** <0.0001***	1509.53 (1498.20-1516.34)	<0.0001* <0.0001** <0.0001*** <0.0001****

Number of (\*) indicates the group which data is compared to the data of given group

**Diagram 1.** Concentrations (in percents) of glucose, IRI, corticosterone, E<sub>2</sub> and T in blood of male rats.



**Diagram 2.** Levels of DNA and RNA synthesis and AR expression in the liver tissue of male rats.



However, the administration of synthetic androgen during 15 days followed by increased T level in blood plasma lead to up-regulation and

activation (“de-masking”) of AR. Data showed that receptor binds to radioactive H<sup>3</sup>-methyltrienolone and cause further increase on the AR expression in liver tissue.

Despite the expression of liver AR after treatment with H<sup>3</sup>-methyltrienolone does not reach the control level, an increase in their number significantly supports the restoration of liver function, including adaptive-compensatory activities (Smirnov, 2009).

The increased glucose blood concentration during AD may be related to reduced glucose-related metabolism caused by enhanced corticosterone signaling. Under such circumstances, the increased level of steroid hormones stimulates gluconeogenesis from protein and amino acids metabolism (Imai, et al., 1993; Andrews & Walker, 1999; Kinote, et al., 2012). The supplementation of H<sup>3</sup>-methyltrienolone reduced IRI resistance, hyperglycemia, corticosterone and E<sub>2</sub> drastically altered during experimental diabetes in male rats.

## Conclusion

The present study showed that AD alters IRI resistance and glucose-related metabolism as well as the levels of both gonadal and adrenal steroids in blood plasma confirming the presence of “metabolic stress”. The administration of exogenous androgen reduced the effect of “stress” and recovers the hormonal dysfunction induced by alloxan.

Restoration/functional activation of liver AR by methyltrienolone accompanied by increased DNA and RNA synthesis in hepatocytes plays the significant role in restoration of metabolic imbalance caused by AD.

## Conflict of interest

No potential conflict of interest relevant to this submitted article is reported.

## Acknowledgments

We thank Biomedical Research Network Center for Liver and Digestive Diseases (CIBERehd) founded by Instituto de Salud Carlos III and co-financed by European Development Regional Fund "A way to achieve Europe" ERDF and Al. Natishvili Institute of morphology, TSU - for their financial support.

## References:

1. American Diabetes Association. (2009). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 32 (Supplement 1), S62-S67.
2. Andrews, R. C., & Walker, B. R. (1999). Glucocorticoids and insulin resistance: old hormones, new targets. *Clinical Science*, 96(5), 513-

- 523.
3. Aregbesola AO, Voutilainen S, Virtanen JK, Mursu J, Tuomainen TP (2016) Gender difference in type 2 diabetes and the role of body iron stores. *Ann Clin Biochem* doi:10.1177/0004563216646397.
  4. Didebulidze, N. A., Kakabadze, M. S., Gordadze, N. G., Latsabidze, I. N., Kordzaya, M. E., & Sikharulidze, I. T. (2015). Correction of Hormonal and Metabolic Disorders in Male Rats with Developing Experimental Diabetes. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 159(1), 20.
  5. Fitzgerald, J. T., Anderson, R. M., & Davis, W. K. (1995). Gender differences in diabetes attitudes and adherence. *The diabetes educator*, 21(6), 523-529.
  6. Francés, D. E., Ronco, M. T., Monti, J. A., Ingaramo, P. I., Pisani, G. B., Parody, J. P., ... & Carnovale, C. E. (2010). Hyperglycemia induces apoptosis in rat liver through the increase of hydroxyl radical: new insights into the insulin effect. *Journal of Endocrinology*, 205(2), 187-200.
  7. Grant, J. F., Hicks, N., Taylor, A. W., Chittleborough, C. R., & Phillips, P. J. (2009). Gender-specific epidemiology of diabetes: a representative cross-sectional study. *International journal for equity in health*, 8(1), 6.
  8. Greaves, S. C., Gamble, G. D., Collins, J. F., Whalley, G. A., & Sharpe, D. N. (1994). Determinants of left ventricular hypertrophy and systolic dysfunction in chronic renal failure. *American journal of kidney diseases*, 24(5), 768-776.
  9. Grossmann, M., Thomas, M. C., Panagiotopoulos, S., Sharpe, K., MacIsaac, R. J., Clarke, S., ... & Jerums, G. (2008). Low testosterone levels are common and associated with insulin resistance in men with diabetes. *The journal of clinical endocrinology & metabolism*, 93(5), 1834-1840.
  10. Haffner, S. M., Katz, M. S., Stern, M. P., & Dunn, J. F. (1988). The relationship of sex hormones to hyperinsulinemia and hyperglycemia. *Metabolism*, 37(7), 683-688.
  11. Hayes, F. J., DeCruz, S., Seminara, S. B., Boepple, P. A., & Crowley Jr, W. F. (2001). Differential regulation of gonadotropin secretion by testosterone in the human male: Absence of a negative feedback effect of testosterone on follicle-stimulating hormone secretion 1. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86(1), 53-58.
  12. Hayes, F. J., Seminara, S. B., DeCruz, S., Boepple, P. A., & Crowley Jr, W. F. (2000). Aromatase Inhibition in the Human Male Reveals a Hypothalamic Site of Estrogen Feedback 1. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 85(9), 3027-3035.

13. Holt, S. K., Lopushnyan, N., Hotaling, J., Sarma, A. V., Dunn, R. L., Cleary, P. A., ... & Wessells, H. (2014). Prevalence of low testosterone and predisposing risk factors in men with type 1 diabetes mellitus: findings from the DCCT/EDIC. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 99(9), E1655-E1660.
14. Hotamisligil, G.S. (2006). Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, 444 (7121), 860-867. doi:10.1038/nature05485.
15. Imai, E., Miner, J. N., Mitchell, J. A., Yamamoto, K. R., & Granner, D. K. (1993). Glucocorticoid receptor-cAMP response element-binding protein interaction and the response of the phosphoenolpyruvate carboxykinase gene to glucocorticoids. *Journal of Biological Chemistry*, 268(8), 5353-5356.
16. Kandeel, F. R., Swerdloff, R. S., & Pryor, J. L. (Eds.). (2007). *Male Reproductive Dysfunction: Pathophysiology and Treatment*. CRC Press.
17. Kannel WB, Gordon T, Offutt D (1969) Left ventricular hypertrophy by electrocardiogram. Prevalence, incidence, and mortality in the Framingham study. *Ann Intern Med*; 71:89–105. doi:10.7326/0003-4819-71-1-89.
18. Kannel WB, Castelli WP, McNamara PM, McKee PA FM (1972) Role of blood pressure in the development of congestive heart failure. The Framingham study. *N Engl J Med*; 16:781–7. doi:10.1056/NEJM197210192871601
19. Kapoor, D., Goodwin, E., Channer, K. S., & Jones, T. H. (2006). Testosterone replacement therapy improves insulin resistance, glycaemic control, visceral adiposity and hypercholesterolaemia in hypogonadal men with type 2 diabetes. *European Journal of Endocrinology*, 154(6), 899-906.
20. Kautzky-Willer, A., Harreiter, J., & Pacini, G. (2016). Sex and gender differences in risk, pathophysiology and complications of type 2 diabetes mellitus. *Endocrine reviews*, 37(3), 278-316.
21. Kelly, D. M., & Jones, T. H. (2013). Testosterone: a metabolic hormone in health and disease. *Journal of Endocrinology*, 217(3), R25-R45.
22. Kinote, A., Faria, J. A., Roman, E. A., Solon, C., Razolli, D. S., Ignacio-Souza, L. M., ... & Lellis-Santos, C. (2012). Fructose-induced hypothalamic AMPK activation stimulates hepatic PEPCK and gluconeogenesis due to increased corticosterone levels. *Endocrinology*, 153(8), 3633-3645.
23. Morimoto, S., Fernandez-Mejia, C., Romero-Navarro, G., Morales-Peza, N., & Díaz-Sánchez, V. (2001). Testosterone Effect on Insulin Content, Messenger Ribonucleic Acid Levels, Promoter Activity, and

- Secretion in the Rat 1. *Endocrinology*, 142(4), 1442-1447.
24. Moudgil, V. K. (1988). Steroid receptors in health and disease. In *Steroid Receptors in Health and Disease* (pp. 3-24). Springer US.
  25. Moudgil, V.K., (1990) Phosphorylation of steroid hormone receptors. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res*,1055(3), 243-58.
  26. Orchard EJ, Dorman JS, Maser RE, Becker DJ, Drash AL, Ellis D, et al. (1990) Prevalence of complications in IDDM by sex and duration: Pittsburgh epidemiology of diabetes complications study II. *Diabetes* 39:1116–24. doi:10.2337/diabetes.39.9.1116.
  27. Pitteloud, N., Mootha, V.K., Dwyer, A.A., Hardin, M., Lee, H., Eriksson, K.F., et al. (2005) Relationship between testosterone levels, insulin sensitivity, and mitochondrial function in men. *Diabetes Care*, 28(7), 1636-42.
  28. Sato, K., Iemitsu, M., Aizawa, K., & Ajisaka, R. (2008). Testosterone and DHEA activate the glucose metabolism-related signaling pathway in skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 294(5), E961-E968.
  29. Shahidi, N. T. (2001). A review of the chemistry, biological action, and clinical applications of anabolic-androgenic steroids. *Clinical therapeutics*, 23(9), 1355-1390.
  30. Shen, M., & Shi, H. (2015). Sex hormones and their receptors regulate liver energy homeostasis. *International journal of endocrinology*, 2015.
  31. Siddiqui, M. A., Khan, M. F., & Carline, T. E. (2013). Gender differences in living with diabetes mellitus. *Materia socio-medica*, 25(2), 140.
  32. Sinclair, M., Grossmann, M., Angus, P. W., Hoermann, R., Hey, P., Scodellaro, T., & Gow, P. J. (2016). Low testosterone as a better predictor of mortality than sarcopenia in men with advanced liver disease. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 31(3), 661-667.
  33. Smirnov, A.N. (2009). Gormonalnie mehanizmi polovoi differentsirovki pecheni: sovremennie predstavleniya I problem Ontogenez, 40(5), 334-354. (Rus.).
  34. Tepperman, J. (1968). Metabolic and endocrine physiology. An introductory text. *Metabolic and endocrine physiology. An introductory text.*, (Edn 2).

# Methyltrienolone Influences on the Androgen Receptors and DNA&RNA Synthesis in the Liver Cells of Male Rats with Alloxan-induced Diabetes

Kandelaki S.<sup>1</sup> Didebulidze N.<sup>1,2</sup> Kakabadze M.<sup>1,2</sup> Kordzaia S.<sup>3</sup>

Muntané Relat J.<sup>4,5</sup> Padillo J.<sup>4,5</sup>

## Abstract

**Introduction:** It has been revealed previously, that metabolic imbalances during the diabetes, occurring with multi-organ participation, are accompanied by the decrease of corticosterone concentration in blood and with the depression of DNA & RNA synthesis, and as well as expression of androgen receptors in liver cells.

**Aim:** The purpose of our study was to examine how exogenous testosterone can correct mentioned liver cell disturbances under the conditions of experimental diabetes.

**Methods:** The concentrations of glucose, immune-reactive insulin and testosterone were examined in blood in parallel with studying of histology of pancreatic islets - on the 15<sup>th</sup>, 30<sup>th</sup> and 45<sup>th</sup> days from intraperitoneal injection of Alloxan - to confirm the development of adequate model of experimental (alloxan-induced) Diabetes in Wistar Rats aged 2 months and weighting 180-200 g. DNA and RNA synthesis, proliferative activity and androgen receptor expression in the hepatic cells were studied on the same terms of the experiment – to confirm the involvement of liver in diabetes-caused metabolic disturbances. All above-mentioned investigations were repeated in animals undergone to exposure of exogenous synthetic androgen – methyltrienolone during 15 days – beginning from 31<sup>st</sup> day of Alloxan-induced diabetes.

**Results:** Methyltrienolone supplementation reduces the alterations of blood concentration of immune-reactive insulin, glucose and testosterone and supports the regeneration of androgen receptors' expression and DNA/RNA synthesis in hepatocytes. However, the increase of nuclear acids synthesis is accompanied by increase of hepatocytes ploidy but not their proliferation.

**Conclusion:** The administration of methyltrienolone reduces the effect of “diabetic stress”. Its influence on DNA/RNA synthesis in hepatocytes might be realized through the regeneration of active androgen receptors of liver cells. **TCM-GMJ May 2017; 2(1):P10-P13**

**Keywords:** Alloxan-induced diabetes, Testosterone, Liver androgen receptors, DNA, RNA, Pancreatic  $\beta$ -cells disturbance

## Introduction

**I**ntraperitoneal injection of Alloxan in male rats provokes the long-term injury of pancreatic islets followed by chronic hyperglycemia and generalized metabolism disorders. This model of experimental diabetes is widely used for investigation of different pathways based on multi-organ involvement

and causing various complications of diabetes. Deterioration of sex hormones and liver metabolism is one of the well-known features of both types (type 1 and type 2) of diabetes in common and Alloxan-induced experimental diabetes, particularly.

The reduction of blood testosterone leads to the changes of metabolic processes in liver<sup>1,2</sup> and alteration of DNA and RNA synthesis<sup>3</sup>. It is considered, that the functions of liver in males are changed more dramatically confirming the assumption that the sex-dependence (sex-association) of male livers are genetically more determined in compare with female livers<sup>4</sup>. Considering, that hepatocytes as well as  $\beta$ -cells of pancreatic islets are widely provided by the receptors of sex hormones, and particularly by androgen receptors, it may be proposed that testosterone supplementation may impact the hepatocytes and

From the <sup>1</sup>Medical Faculty, Ivane Javakishvili Tbilisi State University (TSU), Tbilisi, Georgia, <sup>2</sup>Alexandre Natishvili Institute of Morphology, TSU, Tbilisi, Georgia, <sup>3</sup>David Tvildiani Medical University, Tbilisi, Georgia, <sup>4</sup>Department of General Surgery, University Hospital Virgen del Rocío/IBiS/CSIC/University of Seville, Seville, Spain and <sup>5</sup>Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd)

Received February 20, 2017; accepted April 17, 2017.

Address requests to: Sopiko Kandelaki MD Phone: (+995) 599 903 933

E-mail: [sopokandel@yahoo.com](mailto:sopokandel@yahoo.com)



pancreatic  $\beta$ -cells metabolism via the pathways developing with involvement of these receptors.

The aim of the present study was to investigate how the exogenous androgen supplementation could influence on the expression of androgen receptors and DNA&RNA synthesis of liver cells impaired in alloxan-induced diabetes model.

## Material and Methods

The model of alloxan-induced diabetes was developed in 80 male Wistar rats weighting 180-200 g. Administration of alloxan produced by Chemos GmbH & Co. KG (Germany) was performed as it was described before<sup>3</sup>. 4 target groups with 20 animals in each one were created: the 1<sup>st</sup> group was studied on 15<sup>th</sup> day after alloxan intraperitoneal injection; the 2<sup>nd</sup> group – after 30 days, the 3<sup>rd</sup> group - after 45 days, correspondingly; the 4<sup>th</sup> group was studied after exposure of exogenous synthetic androgen – methyltrienolone - during 15 days, beginning from 31<sup>st</sup> day after injection of Alloxan. The control group with 20 healthy animals received solvent. The concentrations of glucose, immune-reactive insulin and testosterone were examined in blood obtained from caudal vena cava in parallel with studying of histology of pancreatic islets and liver cells in all above-mentioned groups.

One hour before removing animals from the experiments, the intraperitoneal injection of  $3,7 \times 10^4$  Bq radioactive androgen Methyltrienolone [ $17\alpha$ -METHYL- $3H$ ] (R-1881) was performed for the assessment of amount of androgen receptors in liver (the method was described in details earlier<sup>3</sup>).

Paraffin sections of pancreas and liver (4  $\mu$ m) stained by hematoxylin and eosin were studied to assess the structure of pancreatic islets and ploidy of hepatocytes. Additional liver tissue sections were obtained for assessing Ki-67 expression by immunohistochemistry. After deparaffinization and rehydration, endogenous peroxidase was blocked in hydrogen peroxide solution. For the antigen restoration, the samples were placed in 0.01 M citrate buffer (pH 6.0) and were heated in a microwave oven (1000 C at 600W) for 15 minutes. After incubation with bovine serum to avoid unspecific binding and blocking of non-specific bonds, mouse monoclonal antibody anti-rat Ki-67 diluted 1:50 (clone MIB-5; DAKO) was incubated for 1 hour at room temperature. For the detection of bound antibodies Novolink Polymer Detection System (Leica, Germany) was used, and visualized using diaminobenzidine (DAB, Leica) and counterstained with hematoxylin.

To determine the ploidy of hepatocytes, the computer program Image J was used. The nuclei of 500 hepatocytes were measured on the corresponding histology sections. Based on the obtained data the diagrams were built for the squares roughly similar to their size. The first peak corresponded to 2C, subsequent peaks - 4C (2Cx2) and 8C (4Cx2). Tissue samples (3x5x5 mm<sup>3</sup>) were taken from the central and peripheral areas of all liver lobes.

The part of these samples being weighed, homogenized

and placed in scintillation fluid, were placed in a scintillation counter "Beta-2" (Scientific-Research Institute of Medical Industry at Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, USSR) for determining of the number of androgen receptors (AR) in liver (counting the radioactive impulses).

The quantities of DNA and RNA in liver were studied by radioactive H<sup>3</sup>-thymidine and H<sup>3</sup>-uridine as it was described before<sup>3,5</sup>.

The study corresponded to the principles of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NRC 2011) and approved by the Commission on Bioethics at Al. Natishvili Institute of Morphology, Iv. Javakhishvili Tbilisi State University.

The obtained data were compared by using t test. p values less than 0.05 were considered statistically significant. Statistical analysis was conducted using SAS 9.2 software.

## Results and Discussion

The development of adequate model of experimental diabetes is confirmed by alteration of the pancreatic islets with destruction of the part of their  $\beta$ -cells - on all studied terms from Alloxan injection (Figure 1). The structural disorders in the islets are accompanied by decrease of blood concentration of Insulin and Testosterone and increase of Glucose.

A reliable decrease in insulin concentration is observed on the 15<sup>th</sup> and 30<sup>th</sup> days of alloxan-induced diabetes. As for the 45<sup>th</sup> day, its decrease is no longer reliable (Table N1). This may be related to gradual leveling of the deleterious effect of alloxan on the 45<sup>th</sup> day of the experiment and to the initiation of pancreatic  $\beta$ -cell regeneration<sup>6</sup>.

The dynamics of insulin concentrations decrease is respectively reflected in the dynamics of increasing glucose concentration in blood: This increase is significant on the 15<sup>th</sup> and 30<sup>th</sup> days of the experiment, but on the 45<sup>th</sup> day the increase of glucose concentration is no longer statistically reliable compared to the previous period (Table N1).

The decrease of the testosterone concentration was observed in the presence of the experimental diabetes, the dynamics of which is directly correlated with the dynamics of insulin concentration decrease: Testosterone concentration is decreased by 34.7% on the 15<sup>th</sup> day of the experiment, by 47,9% on the 30<sup>th</sup> day, and by 48.7% on the 45<sup>th</sup> day in comparison, with the control data. These data are consistent with the results of other authors<sup>1,2,6</sup>.

Hypoinsulinemia and decreased glucose utilization is accompanied by inhibition of DNA and RNA synthesis in hepatocytes. DNA synthesis was decreased by 44% and RNA synthesis by 29% at 15<sup>th</sup> day of the experiment which might be related with increased production of hydroxyl radicals, increasing the amount of Bcl-2-associated X protein (BAX-protein), stimulating the release of cytochrome C from mitochondria with activation of caspase-3 depended pathway of apoptosis<sup>7</sup>.

Injections of methyltrienolone, synthetic testosterone, lead to the reliable increase in the testosterone indicator

(although, do not reach the norm figures), but do not change the concentration of insulin in the blood (it does not differ from the data of the 30<sup>th</sup> and 45<sup>th</sup> days of alloxan-induced diabetes); In addition, the concentration of glucose is significantly reduced and statistically is no longer different from the data of the 15<sup>th</sup> day of the experiment.

Exogenous androgen supplementation significantly increases DNA (24%) and RNA (8%) synthesis in liver followed by a raise on the amount of polyploid hepatocytes in compare with 30<sup>th</sup> and 45<sup>th</sup> days of AD model (Figure 2), although no increase in the number of Ki-67 positive hepatocytes was observed.

At the 15<sup>th</sup> day of alloxan-induced diabetes it was observed an increase of hepatic AR expression (Table N 1 and Diagram 2). As we previously supposed, this can be explained by down-regulation of testosterone and in-

creased number of free AR enabled to interact with radioactive androgen (H<sup>3</sup>-methyltrienolone). The further deficit of testosterone provokes violent down-regulation of AR expression and signaling<sup>8</sup>. Methyltrienolone supplementation leads to upregulation and activation of ARs, which in their turn, bind to radioactive H<sup>3</sup>-methyltrienolone (see above Materials and Methods) and increase in AR expression in liver cells.

Our study provides the additional data, that administration of methyltrienolone reduces the “stress” of alloxan-induced diabetes in liver cells. The intensification of DNA/RNA synthesis in hepatocytes by methyltrienolone might be realized through the regeneration of active androgen receptors of liver cells.

**Table 1.** Blood concentration of glucose, immunoreactive insulin (*IRI*), testosterone (T) in rats; activity of nucleic acids (DNA and RNA) synthesis; expression of androgen receptor (AR); the hepatocytes ploidy.

Groups		Glucose mmol/L	IRI $\mu$ Uu/mg	T ng/ml	DNA Imp/g/min	RNA Imp/g/min	AR Imp/g/min	The hepatocyte ploidy (%) <sup>x</sup>
I	Control	5,05 $\pm$ 0,19	22,12 $\pm$ 1,36	2,65 $\pm$ 0,09	180849,63 $\pm$ 47,19	324904,44 $\pm$ 72,11	1676,45 + 65,13	55,6/31,7/1,1
II	Diabetes (15 <sup>th</sup> day)	11,84 $\pm$ 1,17	12,44 $\pm$ 0,69	1,73 $\pm$ 0,07	101289,42 $\pm$ 69,58	230694,17 $\pm$ 28,32	1888,25 + 22,35	61,7/24,3/0,7
		<b>p value</b>	<0.0001*	<0.0001*	<0.0001*	<0.0001*	<0.0001*	<0.0001*
	Diabetes (30 <sup>th</sup> day)	13,22 $\pm$ 0,66	5,01 $\pm$ 0,42	1,38 $\pm$ 0,06	121163,57 $\pm$ 9,66	259955,76 $\pm$ 11,07	1124,98 + 22,83	72,3/18,2/0,5
<b>p value</b>		<0.0001* <0.0004**	<0.0001* <0.0001**	<0.0001* <0.0001**	<0.0001* <0.0001**	<0.0001* <0.0001**	<0.0001* <0.0001**	<0.0001* <0.0001**
IV	Diabetes 45 <sup>th</sup> day	15,14 $\pm$ 0,62	4,75 $\pm$ 0,24	1,36 $\pm$ 0,09	106696,59 $\pm$ 16,44	243699,73 $\pm$ 20,63	1004,96 + 8,57	77,3/10,7/0,2
		<b>p value</b>	<0.0001* <0.0001** <0.0001** *	<0.0001* <0.0001** 0.05***	<0.0001* <0.0001** 0.61***	<0.0001* <0.0001** <0.0001***	<0.0001* <0.0001** <0.0001***	<0.0001* <0.0001** <0.0001***
	Methyltrienolone supplementation during 15 days from 31 <sup>th</sup> day of Diabetes	11,29 $\pm$ 0,83	4,79 $\pm$ 0,32	2.40 $\pm$ 0,08	150097,07 $\pm$ 12,95	282693,73 $\pm$ 20,63	1507,78 + 10,51	59,2/25,5/0,9
<b>p value</b>		<0.0001* 0.08** <0.0001** * <0.0001** **	<0.0001* <0.0001** 0.14*** * 0.32****	<0.0001* <0.0001** <0.0001*** <0.0001****	<0.0001* <0.0001** <0.0001*** <0.0001****	<0.0001* <0.0001** <0.0001*** <0.0001****	<0.0001* <0.0001** <0.0001*** <0.0001****	<0.0001* <0.0001** <0.0001*** <0.0001****

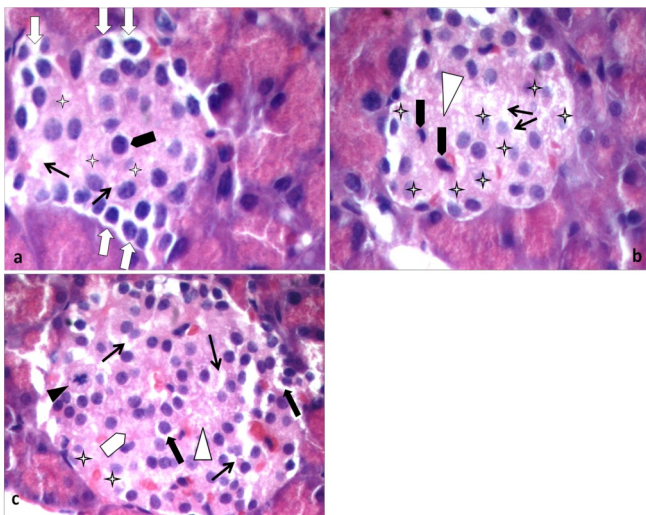


Fig1. Disrupted normal architecture of pancreatic islets on 15<sup>th</sup> (a), 30<sup>th</sup> (b) and 45<sup>th</sup> (c) days of alloxan-induced Diabetes.

*Necrosis of  $\beta$ -cell* - ✱ ; *swelling of the intercellular substance* - ↗ ; *hypertrophy and vacuolization of  $\beta$ -cells* - ↓ ;  *$\beta$ -cells nuclear pyknosis (irregular hyperchromic nuclei)* - ■ ; *cytoplasmic degenerative changes in center of the islet* - △ ; *apparent decrease in cell density* - ◻

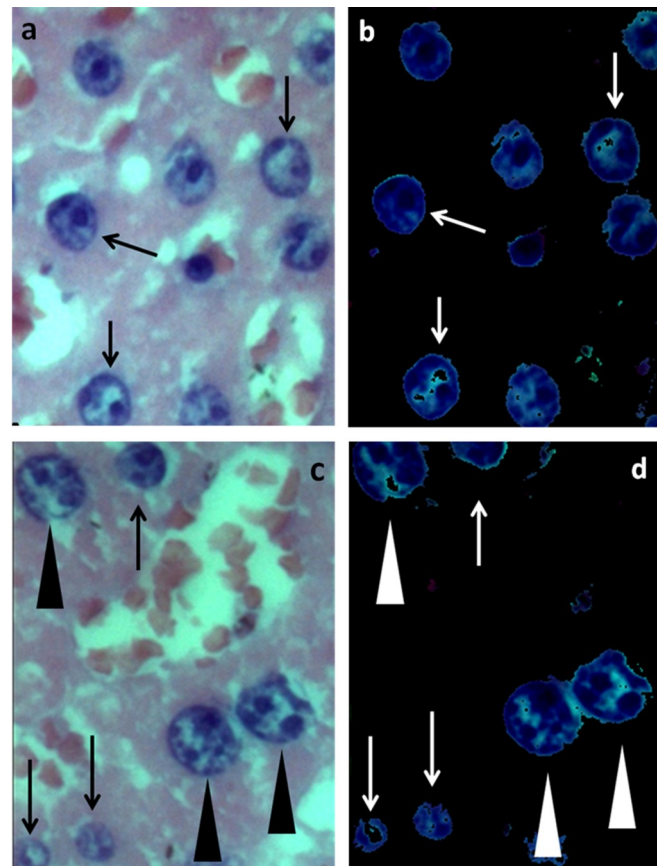


Fig2. Ploidy of hepatocytes at 30<sup>th</sup> day of alloxan induced diabetes (a, b), and at 15<sup>th</sup> day of exogenous androgen supplementation (c, d).

*diploid nuclei* - ↗ *tetraploid nuclei* - △

## References

- Grossmann M, Thomas MC, Panagiotopoulos S, Sharpe K, MacIsaac RJ, Clarke S, Zajac JD, Jerums G. Low testosterone levels are common and associated with insulin resistance in men with diabetes. *The journal of clinical endocrinology & metabolism*. 2008 May;93(5):1834-40.
- Holt SK, Lopushnyan N, Hotaling J, Sarma AV, Dunn RL, Cleary PA, Braffett BH, Gatcomb P, Martin C, Herman WH, Wessells H. Prevalence of low testosterone and predisposing risk factors in men with type 1 diabetes mellitus: findings from the DCCT/EDIC. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2014 Jul 11;99(9):E1655-60.
- Didebulidze NA, Kakabadze MS, Gordadze NG, Latsabidze IN, Kordzaya ME, Sikharulidze IT. Correction of Hormonal and Metabolic Disorders in Male Rats with Developing Experimental Diabetes. *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2015 May 1;159(1):20.
- Zhang Y, Klein K, Sugathan A, Nassery N, Dombkowski A, Zanger UM, Waxman DJ. Transcriptional profiling of human liver identifies sex-biased genes associated with polygenic dyslipidemia and coronary artery disease. *PLoS One*. 2011 Aug 12;6(8):e23506.
- Dulbecco R, Hartwell LH, Vogt M. Induction of cellular DNA synthesis by polyoma virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1965 Feb 1;53(2):403-10.
- Kandeel FR, Swerdloff RS, Pryor JL, editors. *Male Reproductive Dysfunction: Pathophysiology and Treatment*. CRC Press; 2007 May 22.
- Francés DE, Ronco MT, Monti JA, Ingaramo PI, Pisani GB, Parody JP, Pellegrino JM, Sanz PM, Carrillo MC, Carnovale CE. Hyperglycemia induces apoptosis in rat liver through the increase of hydroxyl radical: new insights into the insulin effect. *Journal of Endocrinology*. 2010 May 1;205(2):187-200.
- Moudgil VK. Phosphorylation of steroid hormone receptors. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. 1990 Dec 10;1055(3):243-58.

**Mini Review**

Volume 2 Issue 5 – June 2017  
DOI: 10.19080/CRDOJ.2017.2.555598

Curre Res Diabetes & Obes J

Copyright © All rights are reserved by Manana Kakabadze

# Are Androgens Valuable in Management of Diabetes?



**Sopiko Kandelaki<sup>2</sup>, Keti Tsomaia<sup>1,2</sup>, Salome Kordzaia<sup>3</sup>, Natia Chkheidze<sup>2</sup>, Dimitri Kordzaia<sup>1,2</sup> and Manana Kakabadze<sup>1,2\*</sup>**

<sup>1</sup>AI Natishvili Institute of Morphology, Georgia

<sup>2</sup>Ivane Javakhishvili Tbilisi State University, Georgia

<sup>3</sup>David Tvildiani Medical University, Georgia

**Submission:** June 27, 2017; **Published:** July 10, 2017

**\*Corresponding author:** Manana Kakabadze, Assistant Professor of Anatomy Department, AI. Natishvili Institute of Morphology, Ivane Javakhishvili Tbilisi State University, Georgia, Tel: +995598197133; Email: [manana.kakabadze@tsu.ge](mailto:manana.kakabadze@tsu.ge)

## Abstract

The Influence of androgens on diabetes mellitus is a subject of extensive discussion. Testosterone effect in clinical trials commonly is evaluated in patients with diabetes type 2. In addition, the studies conducted on experimental models of diabetes (alloxan- and streptozotocin-induced diabetes) also showed positive effects of androgen. Considering that experimental diabetes is more in line with diabetes type 1, it can be assumed that male sex hormone positively effects both types of diabetes. However, its influence may be realized by different pathways. Therefore, research of the opportunity of treatment of the various forms of diabetes with androgens, represents the active scientific and practical feature, which is waiting for the final verdict.

**Keywords:** Diabetes mellitus; Testosterone; Experimental diabetes

## Introduction

It is established, that the testosterone deficiency promotes the development of the metabolic syndrome, insulin resistance, type 2 diabetes mellitus, hyperglycemia, as well as dyslipidemia and arterial hypertension, which, in turn, increases the risk of vascular diseases [1-7]. Conversely, in the case of high level of testosterone, insulin resistance decreases and the risk of development of diabetes is significantly reduced [8,9]. In addition, the decrease in the index of insulin resistance is in higher correlation with free testosterone than with the total testosterone [5,10,11]. Supplementation of testosterone in males with diabetes mellitus reduces the level of glucose in fasting and after eating, as well as level of glycosylated hemoglobin [12,13] and allows to reduce the dose of the insulin in insulin-dependent patients [3,14].

In this background, it is interesting to note that the results of several studies deny the statistically significant difference between the patients with metabolic syndrome and type 2 diabetes, treated with testosterone and without it. This indicates the need to continue research in this direction [15,16].

## Discussion

It is confirmed that obesity and associated with it hyperinsulinemia stimulates the formation of testosterone, but suppresses the synthesis of sex hormone binding globulin (SHBG) and thus reduces the number of circulating testosterone [17,18]. Low levels of testosterone and SHBG are considered as a predictors of the development of metabolic syndrome and diabetes mellitus type 2 [19,20] and vice versa [21]. Insulin resistance in the condition of the androgen deficiency is likely to be associated with the changes of sensitivity of the skeletal muscle to insulin. Castration of rats causes the expressed insulin resistance in skeletal muscles, which is completely restored by treatment with physiologic doses of testosterone [22]. Testosterone, except the effect of sensitivity to insulin, can directly influence on pancreatic  $\beta$ -cells [23]. Following the androgen suppression therapy expressed hyperglycemia and  $\beta$ -cells function failure are revealed [24], while streptozotocin-induced early apoptotic damage of  $\beta$ -cells in castrated animals is prevented by testosterone replacement therapy [25].



Testosterone acts through the androgen receptor (AR), which represents a ligand-activated transcription factor. It was shown, that in male mice with reduced number of AR in  $\beta$ -cells, as well as on human cultures, these receptors play an important role in testosterone potentiation of glucose-stimulated insulin secretion (GSIS). The pathway is based on the increase of the cAMP concentration in the  $\beta$ -cells and the activation of protein kinase A (PKA), which, in turn, increases the GLP-1 (glucagon-like peptide-1) effect. This finding may have important clinical and pharmacological value for the prevention of type 2 diabetes in elderly men [26]. Glucose homeostasis was studied in 12 weeks male mice lacking AR in  $\beta$  cells ( $\beta$ ARKO). This is the age, which is followed by the development of the delayed obesity and insulin resistance in mice, backed by the total (or partial) deficit of AR. During 9 weeks, in the conditions of metabolic stress caused by the western diet, the  $\beta$ ARKO- $\gamma$  mice showed reduced insulin concentration and hyperglycemia both, after fasting as well as after feeding, unlike the control group mice. Thus, it has been confirmed that in the mice with a deficiency of AR in  $\beta$ -cells, the tendency to insulin deficiency is revealed, while western diet is followed by GSIS reduction and development of tolerance to glucose, despite the fact that the number of  $\beta$ -cells does not change [26].

It is important that insulinotropic function of the AR is revealed in the human Langerhans islets in case of the physiological concentration of testosterone. It proves that testosterone is important for normal GSIS in males. Lack of androgen causes GSIS deficiency and creates favorable conditions (disposition) for the development of the type 2 diabetes mellitus. Decreasing of glucose concentration after testosterone supplementation also can be explained by the fact, that testosterone acting through the AR of liver cells promotes the synthesis of m-RNA of insulin receptors in hepatocytes, which leads to increased sensitivity of hepatocytes toward Insulin. In this condition the minimal concentration of insulin is enough to stimulate the glucose utilization by the liver cells [3, 27, 28]. In contrast to males, the lower number of AR in the  $\beta$ -cells of females does not change GSIS [29]. The reason is that, apparently, androgen concentrations in serum and tissues of female rats is less than needed to activate the androgen receptors [30]. As it was noted, high levels of testosterone in male are correlated with increased sensitivity to insulin. In addition, aromatization of testosterone 17 $\beta$  to/into estradiol (E2) is important for energetic homeostasis in males. In the castrated male rodents, treated with pure androgen-DHT, which is not transferred into E2, is developed obesity, unlike the rodents treated with testosterone. This indicates that restoration of fat after the castration is caused by the transformation of testosterone into E2, which influences estrogen receptors (ER). This observation is confirmed by the data in which the marked increase in E2 concentration paralleled the decrease in the testosterone concentration in alloxan diabetes model [28,31,32]. Following the 200 mg/kg intraperitoneal injection of Alloxan

to Wistar male rats [33, 34], just like after 50 ml/l intraperitoneal injection Streptozotocin (STZ) to Sprague-Dawley female rats, there were found necrotic  $\beta$ -cells in Langerhans islets. The degenerative changes with lower intensity were found in epithelial cells of the liver and kidney tubules. The alloxan or STZ injection in adult rats promotes the development of severe and irreversible diabetes, which is very similar to type 1 diabetes [28, 35-37].  $\beta$ -cell death is the last phase of its damage in experimental diabetes and can be expressed with the necrosis or caspase dependent apoptosis [37].

Insuline and glucagone have opposite effects on glucose homeostasis in the liver. Low level of insulin and high level of glucagon in the state of hunger promotes gluconogenesis and glycogenolysis in the liver that prevents the development of hypoglycemia. Thus, the fasting glucose level is determined by liver generated glucose level. After eating, glucose is the major factor which promotes insulin synthesis in  $\beta$ -cells and causes its secretion. Synthesized insulin interacts with insulin receptor in peripheral tissues (in skeletal muscles and fatty tissues), causing a number of intracellular reactions that promote glucose absorption and utilization of postprandial glucose, thus maintaining glucose homeostasis [38,39]. In case of type 2 diabetes mellitus,  $\beta$ -cells lose their ability to respond adequately to peripheral insulin-resistance and demand for increase of insulin secretion. The increased amount of glucose in the blood promotes the secretion of pro-inflammatory cytokines from  $\beta$ -cells, which leads to the activation of mononuclear cells and the increased production of local cytokines. These pathological inflammation results in the progression of  $\beta$ -cells dysfunction and leads to their death. Male patients with type 2 diabetes mellitus, who demonstrate low levels of testosterone, can improve their health by treatment with testosterone. Such a conclusion has been taken as a result of randomized, double-blind, placebo-controlled study [40].

It should be noted that the majority of clinical trials study estrogen effect in diabetes type 2. In addition, studies conducted on experimental models of diabetes (alloxan- and STZ-induced diabetes), also confirms the positive effects of androgen. Considering that experimental diabetes is more in line with diabetes type 1, it can be assumed that male sex hormone positively affects not only diabetes type 2, but also diabetes type 1. The first positive clinical observations in this regard, which confirm the necessity to continue studies, have appeared [41].

## Conclusion

Analysis of those studies, which examine the general mechanism of the action of androgens in "patho- and sanogenesis" of type 1 and type 2 diabetes, gives the basis to conclude that adding androgens may influence in various ways on the different disorders caused by diabetes. Therefore, research of the possibility of treatment of the various forms of diabetes with androgens, represents the active scientific and practical feature, which is waiting for the final verdict.

References

1. Oh JY, Barrett-Connor E, Wedick NM, Wingard DL (2002) Endogenous sex hormones and the development of type 2 diabetes in older men and women: the Rancho Bernardo study. *Diabetes Care* 25(1): 55-60.
2. Corona G, Mannucci E, Petrone L, Ricca V, Balercia G, et al. (2006) Association of hypogonadism and type II diabetes in men attending an outpatient erectile dysfunction clinic. *Int J Impot Res* 18(2): 190-197.
3. Kapoor D, Goodwin E, Channer KS, Jones TH (2006) Testosterone replacement therapy improves insulin resistance, glycaemic control, visceral adiposity and hypercholesterolaemia in hypogonadal men with type 2 diabetes. *Eur J Endocrinol* 154(6): 899-906.
4. Fukui M, Soh J, Tanaka M, Kitagawa Y, Hasegawa G, Yoshikawa T, et al. (2007) Low serum testosterone concentration in middle-aged men with type 2 diabetes. *Endocr J* 54(6): 871-877.
5. Selvin E, Feinleib M, Zhang L, Rohrmann S, Rifai N, et al. (2007) Androgens and diabetes in men. *Diabetes Care* 30: 234-238.
6. Stanworth RD, Jones TH (2009) Testosterone in obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Front Horm Res* 37: 74-90.
7. Yeap BB, Hyde Z, Almeida OP, Norman PN, Chubb SA. P, et al. (2009) Lower testosterone levels predict incident stroke and transient ischemic attack in older men. *J Clin Endocrinol Metab* 94(7): 2353-2359.
8. Ding EL, Song Y, Malik VS, Liu S (2006) Sex differences of endogenous sex hormones and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 295(11): 1288-1299.
9. Lage MJ, Barber BL, Markus RA (2007) Association between androgen deprivation therapy and incidence of diabetes among males with prostate cancer. *Urology* 70(6): 1104-1108.
10. Rhoden EL, Ribeiro EP, Teloken C, Souto CA (2005) Diabetes mellitus is associated with subnormal serum levels of free testosterone in men. *BJU Int* 96(6): 867-870.
11. Basaria S, Muller DC, Carducci MA, Egan J, Dobs AS (2006) Hyperglycemia and insulin resistance in men with prostate carcinoma who receive androgen-deprivation therapy. *Cancer* 106(3): 581-588.
12. Boyanov MA, Boneva Z, Christov VG (2003) Testosterone supplementation in men with type 2 diabetes, visceral obesity and partial androgen deficiency. *Aging Male* 6(1): 1-7.
13. Ho CH, Yu HJ, Wang CY, Jaw FS, Hsieh JT, et al. (2013) Prediabetes is associated with an increased risk of testosterone deficiency, independent of obesity and metabolic syndrome. *PLoS ONE* 8(9): e74173.
14. Naharci MI, Pinar M, Bolu E, Olgun A (2007) Effect of testosterone on insulin sensitivity in men with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *Endocr Pract* 13(6): 629-635.
15. Gianatti EJ, Dupuis P, Hoermann R, Strauss BJ, Wentworth JM, et al. (2014) Effect of testosterone treatment on glucose metabolism in men with type 2 diabetes: a randomized controlled trial. *Diabetes care* 37(8): 2098-2107.
16. Grossmann M, Hoermann R, Wittert G, Yeap BB (2015) Effects of testosterone treatment on glucose metabolism and symptoms in men with type 2 diabetes and the metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *Clin Endocrinol* 83(3): 344-351.
17. Kaufman JM, Vermeulen A (2005) The decline of androgen levels in elderly men and its clinical and therapeutic implications. *Endocr Rev* 26(6): 833-876.
18. Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ (2005) The metabolic syndrome. *Lancet* 365(9468): 1415-1428.
19. Laaksonen DE, Niskanen L, Punnonen K, Nyyssönen K, Tuomainen TP, et al. (2004) Testosterone and sex hormone-binding globulin predict the metabolic syndrome and diabetes in middle-aged men. *Diabetes Care* 27(5): 1036-1041.
20. Haring R, Olzke HV, Felix SB, Schipf S, Dorr M, et al., (2009) Prediction of metabolic syndrome by low serumtestosterone levels inmen: results from the study of health in Pomerania. *Diabetes* 58(9): 2027-2031.
21. Muller M, Grobbee DE, den Tonkelaar I, Lamberts SW, van der Schouw YT (2005) Endogenous sex hormones and metabolic syndrome in aging men. *J Clin Endocrinol Metab* 90(5): 2618-2623.
22. Navarro G, Allard C, Xu W, Mauvais-Jarvis F (2015) The role of androgens in metabolism, obesity, and diabetes in males and females. *Obesity* 23(4): 713-719.
23. Mauvais-Jarvis F (2016) Role of Sex Steroids in  $\beta$  cell function, growth, and survival. *Trends Endocrin Metab* 27(12): 844-855.
24. Inaba M, Otani Y, Nishimura K, Takaha N, Okuyama A, et al. (2005) Marked hyperglycemia after androgen-deprivation therapy for prostate cancer and usefulness of pioglitazone for its treatment. *Metabolism* 54(1): 55-59.
25. Morimoto S, Mendoza-Rodríguez CA, Hiriart M, Larrieta ME, Vital P, et al. (2005) Protective effect of testosterone on early apoptotic damage induced by streptozotocin in rat pancreas. *J Endocrinol* 187(2): 217-224.
26. Navarro G, Xu W, Jacobson DA, Wicksteed B, Allard C, et al. (2016) Extranuclear actions of the androgen receptor enhance glucose-stimulated insulin secretion in the male. *Cell metab* 23(5): 837-851.
27. Sato K, Iemitsu M, Aizawa K, Ajisaka R (2008) Testosterone and DHEA activate the glucose metabolism-related signaling pathway in skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 294(5): E961-E968.
28. Didebulidze N, Kandelaki S, Kakabadze M, Kordzaia S, Kordzaia D, et al. (2017) Effect of Methyltrienolone on the Metabolic Disorders in Rat Model of Alloxan-Induced Diabetes. *ESJ* 31: 13(15).
29. Visakorpi T, Hyytinen E, Koivisto P, Tanner M, Keinänen R, et al. (1995) In vivo amplification of the androgen receptor gene and progression of human prostate cancer. *Nat Genet* 9(4): 401-406.
30. Mauvais-Jarvis F (2011) Estrogen and androgen receptors: regulators of fuel homeostasis and emerging targets for diabetes and obesity. *Trends Endocrinol Metab* 22(1): 24-33.
31. Hayes FJ, Seminara SB, DeCruz S, Boepple PA, Crowley Jr WF (2000) Aromatase Inhibition in the Human Male Reveals a Hypothalamic Site of Estrogen Feedback. *J Clin Endocrinol Metab* 85(9): 3027-3035.
32. Hayes FJ, DeCruz S, Seminara SB, Boepple PA, Crowley WF (2001) Differential regulation of gonadotropin secretion by testosterone in the human male: Absence of a negative feedback effect of testosterone on follicle-stimulating hormone secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 86(1): 53-58.
33. Latsabidze I, Janberidze E, Kakabadze M, Didebulidze N, Machavariani T (2016) The influence of plaferon LB on regenerative processes in the pancreas in an alloxan-induced diabetes rat model. *Transl and Clin Med - Geo Med J* 1(2): 4-10.
34. Kandelaki S, Didebulidze N, Kakabadze M, Kordzaia S, Relat JM, et al. (2017) Methyltrienolone influences on the androgen receptors and DNA&RNA synthesis in the liver cells of male rats with alloxan-induced diabetes. *Transl and Clin Med - Geo Med J* 2(1): 10-13.

35. Portha B, Levacher C, Picon L, Rosselin G (1974) Diabetogenic effect of streptozotocin in the rat during the perinatal period. *Diabetes* 23(11): 889-895.
36. Wilson GL, Leiter EH (1990) Streptozotocin interactions with pancreatic  $\beta$  cells and the induction of insulin-dependent diabetes. *Curr Top Microbiol Immunol* 156: 27-54.
37. Haligur M, Topsakal S, Ozmen O (2012) Early degenerative effects of diabetes mellitus on pancreas, liver, and kidney in rats: an immunohistochemical study. *J Diabetes Res*, pp. 1s10.
38. Vinay Kumar, Abul Abbas, Jon Aster (2017) Robbins Basic Pathology E-book. Elsevier Health Sciences, (10<sup>th</sup> edn) Chapter 20.
39. Rovira-Llopis S, Bañuls C, De Marañon AM, Diaz-Morales N, Jover A, et al. (2017) Low testosterone levels are related to oxidative stress, mitochondrial dysfunction and altered subclinical atherosclerotic markers in type 2 diabetic male patients. *Free Radic Biol Med* 108: 155-162.
40. <http://www.medicalnewstoday.com/articles/303291.php>
41. Saad F, Gooren L (2009) The role of testosterone in the metabolic syndrome: a review. *J Steroid Biochem Mol Biol* 114(1-2): 40-43.



This work is licensed under Creative Commons Attribution 4.0 License  
DOI: [10.19080/CRDOJ.2017.2.555598](https://doi.org/10.19080/CRDOJ.2017.2.555598)

**Your next submission with Juniper Publishers will reach you the below assets**

- Quality Editorial service
- Swift Peer Review
- Reprints availability
- E-prints Service
- Manuscript Podcast for convenient understanding
- Global attainment for your research
- Manuscript accessibility in different formats  
( Pdf, E-pub, Full Text, Audio)
- Unceasing customer service

**Track the below URL for one-step submission**  
<https://juniperpublishers.com/online-submission.php>



ნისტი BRAF ანტიტელ, что указывает на необходимость более осторожного подхода к данному типу опухоли. Степень экспрессии BRAF антител в исследуемых гистопатологических группах увеличивалась с повышением агрессивности опухоли ( $p < 0,005$ ). Все случаи папиллярной карциномы с многоузловой вовлеченностью и экстратиреодным распространением показали умеренную или сильно выраженную положительность экспрессии BRAF антител.

რეზიუმე

BRAF ანტიტელის ექსპრესია ფარისებრი ჯირკვლის სხვადასხვა ტიპის კვანძოვანი დაზიანების დროს

ე. ბარაბაძე, ვ. მუნჯიშვილი, გ. ბურკაძე

დავით ტვილდიანის სახ. სამედიცინო უნივერსიტეტი, თბილისი, საქართველო

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა BRAF ანტიტელის ექსპრესიის შეფასება ფარისებრი ჯირკვლის განსხვავებული პისტოტიპის და აგრესიულობის მქონე კვანძოვანი დაზიანებების პირობებში. ქირურგიული ჩარევით მიღებულ 54 შემთხვევაზე ჩატარდა იმუნოჰისტოქიმიური

კვლევა. შემთხვევები მოიცავდა ავთვისებიან და კეთილთვისებიან პროცესებს და დაჯგუფდა სიმსივნის აგრესიულობის მიხედვით. კვლევისთვის გამოყენებული იყო შემდეგი ანტიტელის: BRAF ანტიტელის, CD-56, CK-19, HBME-1 და KI-67. ადენომატური ჰიპერპლაზიის და ფოლიკულური ადენომების შემთხვევაში BRAF ანტიტელის დადებითი ექსპრესია არ გამოვლინდა. პაპილარული კარცინომის ინკაფსულირებული ფორმები სუსტად დადებითი, ან უარყოფითი აღმოჩნდა BRAF ანტიტელის მიმართ. მიღებულმა შედეგმა გაამყარა ჰიპოთეზა იმის შესახებ, რომ პაპილარული კარცინომის ინკაფსულირებულ ფორმებს შედარებით მშვიდი მიმდინარეობა ახასიათებს და გენეტიკურად განსხვავდება ინფილტრაციული სიმსივნეებისაგან. პაპილარული მიკროკარცინომების შემთხვევათა 55,5%-ში BRAF ანტიტელის ექსპრესირდა, რაც მიუთითებს, რომ ამ ტიპის სიმსივნეებისადმი რეკომენდებულია მეტი სიფრთხილით მიდგომა. კვლევაში ჩართულ პისტოპათოლოგიურ ჯგუფებს შორის BRAF ანტიტელის ექსპრესია მატულობდა სიმსივნის აგრესიულობის ზრდასთან ერთად ( $P < 0,005$ ). პაპილარული კარცინომის ყველა შემთხვევაში ექსტრატირეოიდული გავრცელებით, ან მულტიცენტრული დაზიანებით გამოავლინა BRAF ანტიტელის მკვეთრი ექსპრესია.

## INFLUENCE OF TESTOSTERONE ON MORPHOLOGICAL CHANGES IN PANCREATIC ISLETS AND LIVER TISSUE OF RATS WITH ALLOXAN-INDUCED DIABETES

<sup>1,3</sup>Kandelaki S., <sup>3</sup>Kharabadze M., <sup>2</sup>Sikharulidze I., <sup>1</sup>Velijanashvili M., <sup>1,2</sup>Kakabadze M., <sup>1,2</sup>Kordzaia D.

<sup>1</sup>I. Javakhishvili Tbilisi State University; <sup>2</sup>A. Natishvili Institute of Morphology;

<sup>3</sup>Tbilisi State Medical University, Georgia

Diabetes Mellitus (DM) is the outcome of progressive damage of the  $\beta$ -cells [3]. Various mechanisms proposed to describe the  $\beta$ -cell damage [12,13] was used as the basis for modeling of DM for the experimental studies.

Alloxan-induced diabetic model (AIDM) is one of the most widely used models for inducing DM type 1 in rodents. Alloxan selectively targets Langerhans islets and induces the damage of  $\beta$ -cells. Single injection leads to toxic effect and apoptogenic changes, hypoinsulinemia, and hyperglycemia [5], which in turn stimulates a cascade of dysmetabolic mechanisms, including the processes that activate apoptosis of the  $\beta$ -cells [1].

It should be mentioned that the Langerhans islets are not the only targets damaged during diabetes. Histologi-

cally and immunohistologically confirmed changes in liver and kidney tissues were revealed in experimental models of diabetes. These damages are caused by the mechanisms such as hypoxia, apoptosis, and calcium influx [11].

The efforts to determine the expediency of using various substances and compounds for treating diabetes are permanent. One of such substances is testosterone. Numerous clinical and experimental studies show a positive effect of testosterone in DM type 2 (in most of the studies) as well as DM type 1 (in certain studies), however, the final verdict with respect to its effect has not been reached yet.

The purpose of the study is to investigate the morphological changes in pancreatic islets and liver tissue in AIDM and after its treatment with testosterone.

**Material and methods.** The study was carried out in the laboratory A. Natishvili Institute of Morphology, Ivane Javakhishvili Tbilisi State University. The experiment involved 100 adult male Wistar rats of the second post-pubertal age, with the weight of 180-200 grams. The requirements set forth by the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (8<sup>th</sup> ed) approved by National Research Council of the National Academies [7] has been followed during the experiments.

For induction of diabetes animals were administered a single intraperitoneal dose of Alloxan (Chemos GmbH & Co.KG (Germany)) - 2,0 mg per 10 g of body weight [6].

Animals which developed Alloxan-induced diabetes were divided into four groups (20 animals per group):

I group was investigated on day 15<sup>th</sup> of AIDM; II group - on day 30<sup>th</sup> of AIDM; III group - on day 45<sup>th</sup> of AIDM; The animals of IV group, on 31<sup>st</sup> day of AIDM were administered 0.5 mg of synthetic radioinert androgen - Methyltrienolone – for 15 days. These animals were studied on day 45<sup>th</sup> after intraperitoneal injection of Alloxan, i.e. on day 15<sup>th</sup> of treatment with Methyltrienolone.

Rats in the control group (20 animals) were given physiological saline solution through an intraperitoneal injection.

All animals were sacrificed by intensifying ether anesthesia. Upon death, pancreas and liver were removed with the use of surgical tools.

For the histological investigation of pancreatic and liver tissues, their fragments were fixed in 4% formaldehyde prepared on 7,2-7,4 pH phosphate buffer and later embedded in the paraffin according to standard protocols. 3-4  $\mu$ m thick samples were stained with hematoxylin-eosin (H&E). The slices were studied by light microscope (Micros) equipped with a digital camera. 5 animals from each group were subjected to morphometric analysis; 10 samples were studied from each animal. Adobe Photoshop software was used to determine the average size of the pancreatic islets (the area occupied by the islets, measured in  $\mu$ m<sup>2</sup>) as well as to measure the areas of necrotic foci in the islets. The degree of the liver damage was assessed by 5-points “visual scale”, where “1” corresponds to the norm (practically without changes) and “5” - with severe degenerative (necrotic) changes.

**Results and thier discussion.** The structure of pancreatic islets and liver tissue of the rats in the control group were in full compliance with the standard morphology of these tissues in rodents, described in numerous studies.

In particular, the pancreatic islets are distinguished as non-encapsulated, comparatively pale-colored round or oval areas formed by the various cell groups separated by the capillary network. They are well isolated from the adjacent exocrine tissue. Mainly  $\beta$ -cells are located in the center of the islets, however, rarely they can create the row (cell line) bordering the islets from the tissue of the exocrine pancreas (similarly to “bordering plate” in the liver) (Fig 1-A).

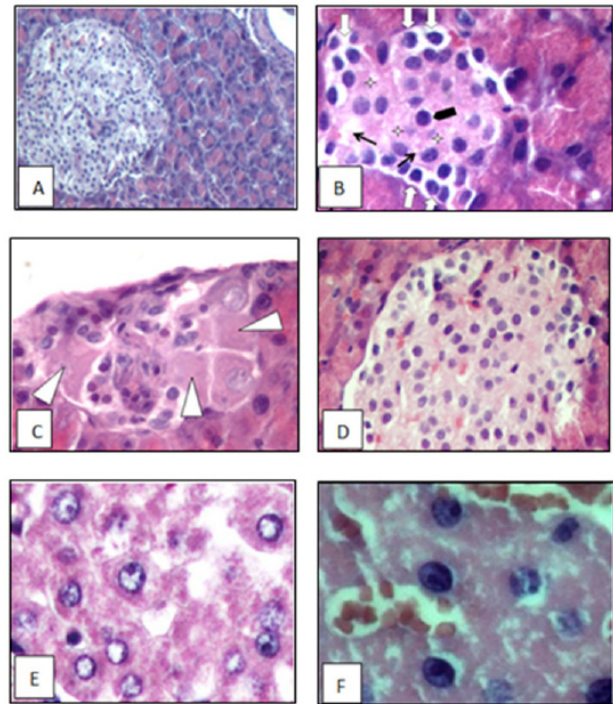


Figure 1.

A. Pancreatic islets with endocrine cells. Control group. H&E Obj.x20, Oc.x15.

B. Disrupted normal architecture of pancreatic islets on 15<sup>th</sup> day of Alloxan-induced diabetes. H&E Obj. x20, Oc.x15 (necrosis of  $\beta$ -cell -  $\blacktriangleright$ ; swelling of the intercellular substance -  $\blacklozenge$ ; hypertrophy and vacuolization of  $\beta$ -cells -  $\uparrow$ ;  $\beta$ -cells nuclear pyknosis (irregular hyperchromic nuclei) -  $\blacksquare$ ).

C. Structure of pancreatic islets on 30<sup>th</sup> day after Alloxan-induced diabetes. Combination of necrotic foci with less damaged cells. H&E Obj.x20, Oc.x15. Degenerative changes in the islet -  $\Delta$ .

D. Structure of pancreatic islets after 15-days treatment with methyltrienolone. The cellular composition is almost similar to normal. H&E Obj.x20, Oc.x15.

E. Liver tissue on 30<sup>th</sup> day of Alloxan-induced diabetes. H&E Obj.x20, Oc.x15.

F. Liver tissue after 15-days treatment with methyltrienolone. H&E Obj.x20, Oc.x15.

Hepatocytes are organized into plates separated by vascular channels (sinusoids). Majority of hepatocytes contain the single diploid nuclei, except for some cases where the nuclei are tetraploid.

Destructive changes in  $\beta$ -cells were revealed in the animals of all experimental groups with AIDM. This can be explained by the targeting damage of  $\beta$ -cells by Alloxan (this specific effect serves as a basis for the modeling of diabetes) [10].

Within 15 days of AIDM, the degenerative changes and necrotic lesions were mostly expressed in the pancreatic islets which are adjacent to the large blood vessels. The

necrotic changes were revealed in part of the  $\beta$ -cells; some of them underwent vacuolization, while others expressed pale-colored pyknotic nuclei. Sometimes the degenerative changes were vividly seen at the periphery of islets, where the “white” vacuolated cells formed “bordering plate”, however, more often the changes were seen centrally – were vacuolized or foam-like cells with transparent cytoplasm were grouped in the clumps. Despite colliquation of the part of the damaged cells, the islets were shrunk, due to which the identification of capillary lumens as well as the endotheliocytes was difficult. At the same time, the epithelium of pancreatic acini, blood vessels of various diameters and connective tissue structures maintained the normal structure (vacuolization of the cytoplasm in the cells of some acini may be regarded as an exception). (Fig 1- B).

All described changes are typical for AIDM in rodents and indicate that substantial damage of islets directly correlates with the changes in insulin and glucose concentrations in blood, as it was shown previously [10]. It is assumed that death of  $\beta$ -cells, which may be expressed by necrosis or caspase-dependent apoptosis, represents “well-established” stage of experimental diabetes [8]. Considering the fact, that on 15th day of experimental diabetes, the number of cells with necrotic changes evidently prevail the number of cells with apoptotic bodies (these bodies were revealed in only small number of  $\beta$ -cells), it might be concluded that Diabetes has not still reached the peak of its development on the 15th day of the Alloxan injection.

On the 30th day from AIDM, the morphology of pancreatic islets revealed the changes of the same type as on the day 15th. Hereby, the intensity of damage in some islets was significantly high, which was expressed in alternating necrotic foci and less damaged cells. (Fig 1- C). The number of Apoptotic foci was also increased on the 30th day of AIDM.

On day 45th of AIDM, the morphologic picture of pancreas practically does not differ from the picture seen on day 30th. Stalling the intensity of the damage may be associated with the plateau of Alloxan’s damaging effect [10].

After 15-day treatment with testosterone (methyltrienolone) (from day 31 to day 45 of AIDM), the recovery of structural changes in the pancreatic islets was revealed: the number of cells in the Langerhans islets and therefore their density was increased; the number of vacuolized and necrotic  $\beta$ -cells cells dropped significantly. had The contours and compositions of the majority of pancreatic islets were almost similar to normal cells.

In total the area of islets on days 15th, 30th and 45th after AIDM was convincingly diminished compared to the value of animals in the control group, however, these do not differ from each other convincingly. The necrotic areas in these islets (which basically corresponds with the summary areas of necrotic  $\beta$ -cells) convincingly increased on days 15th, 30th and 45th after AIDM compared to the data of animals from the control group, however, these do not convincingly differ from each other. In addition, total area increased and the area of necrotic foci decreased in the

pancreatic islets of the animals in IV group (including the animals with AIDM received the treatment with methyltrienolone from day 31st to day 45th) while the characteristics approximated to the values of the control group (Diagram).

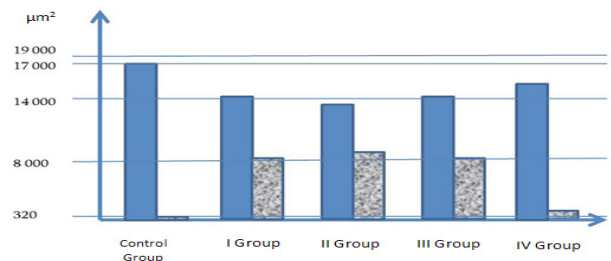


Diagram. Change of islet area and areas of necrotic foci on various terms of Alloxan-induced diabetes and after treatment with methyltrienolone

Both the areas of pancreatic islets and necrotic foci were measured taking into account the existed experience [4].

The liver is one of the most important organs involved in the regulation of energy homeostasis. Therefore, it is natural that in case of experimental diabetes it developed certain changes. The damage of liver tissue (degenerative changes, decomposition of plates, stasis, and infiltration) was assessed as score “2” and “3” for all terms of AIDM.

The granular degeneration of different degree, rarely fatty inclusions and vacuolization, as well as the development of apoptotic bodies, were revealed in the hepatocytes. These changes represent the outcome of Alloxan induced dysmetabolism. These data are in unison with the data described by S. Lenzen regarding liver damage in streptozotocin-induced diabetes, however, after streptozotocin injection, the progression of diabetic changes is significantly higher [10]. The lesions of liver tissue revealed on day 15th, 30th and 45th after AIDM, do not substantially differ from each other. During 15-days treatment with methyltrienolone (within day 31st to day 45th of AIDM) normalized the histological features of the liver: its damage was assessed as score “1”, while the changes that corresponded with score “2” were seen only in several foci.

#### Conclusion.

AIDM causes the degenerative changes in pancreatic islets and liver tissue. The intensity of the changes correlates to the time since diabetic modeling. These changes also correspond with metabolic abnormalities described for various experimental models and in the clinical course of the disease.

Taking into the consideration, that AIDM corresponds more with the DM type 1, we may conclude that male sex hormone has a positive effect not only on DM type 2 (as it is widely discussed) but also on DM type 1. Furthermore, treatment of diabetic animals with testosterone corrects not only the biochemical indicators (glucose, immunoreactive insulin, sex- and steroid hormones – described in various studies, including our previous works [2,9] but also a morphological structure of pancreas and liver.



## REFERENCES

1. Bonner-Weir, S. and Weir, G.C. New sources of pancreatic [beta]-cells. *Nature biotechnology* 2005; 23(7): 857.
2. Didebulidze N., Kandelaki S., Kakabadze M., Kordzaia S., Kordzaia D., Relat J.M. Padillo J. Effect of Methyltrienolone on the Metabolic Disorders in Rat Model of Alloxan-Induced Diabetes. *European Scientific Journal* 2017;13(15).
3. Eisenbarth G.S., Connelly J. Soeldner J.S. "The "natural" history of type I diabetes. *Diabetes/Metabolism Reviews* 1987; vol. 3, no. 4: 873–891.
4. Elayat AA, el-Naggar MM, Tahir M, Bassam dahrouj. An immunocytochemical and morphometric study of the rat pancreatic islets. *Journal of Anatomy* 1995; 186. (Pt 3) (Pt 3): 629–37.
5. Etuk E.U. Animals models for studying diabetes mellitus. *Agric Biol JN Am* 2010; 1(2): 130-134.
6. Furman B.L. Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats. *Current Protocols in Pharmacology* 2015; 5-47.
7. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (8th ed) by the National Research Council of the National Academies Washington, DC: National Academies Press, 2011 - NRC: 2011.
8. Haligur M, Topsakal S, Ozmen O. Early degenerative effects of diabetes mellitus on pancreas, liver, and kidney in rats: an immunohistochemical study. *Experimental diabetes research*. 2012; 6.
9. Kandelaki S., Didebulidze N., Kakabadze M., Kordzaia S., Relat J.M. Padillo, J. Methyltrienolone influences on the androgen receptors and DNA&RNA synthesis in the liver cells of male rats with alloxan-induced diabetes. *Translational and Clinical Medicine*. *Georgian Medical Journal* 2017; 2(1): 10-13.
10. Lenzen S., The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 2008; 51(2): 216-226.
11. Maedler, K., Spinas, G.A., Lehmann, R., Sergeev, P., Weber, M., Fontana, A., Kaiser, N. and Donath, M.Y. Glucose induces  $\beta$ -cell apoptosis via upregulation of the Fas receptor in human islets. *Diabetes* 2001; 50(8): 1683-1690.
12. Mathis D., Vence L., and Benoist C.  $\beta$ -cell death during progression to diabetes. *Nature* 2011; 414(6865): 792–798.
13. Rabinovitch A., Free radicals as mediators of pancreatic islet  $\beta$ -cell injury in autoimmune diabetes. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1992; 119(5): 455–456.

## SUMMARY

### INFLUENCE OF TESTOSTERONE ON MORPHOLOGICAL CHANGES IN PANCREATIC ISLETS AND LIVER TISSUE OF RATS WITH ALLOXAN-INDUCED DIABETES

<sup>1,3</sup>Kandelaki S., <sup>3</sup> Kharabadze M., <sup>2</sup>Sikharulidze I., <sup>1</sup>Velijanashvili M., <sup>1,2</sup>Kakabadze M., <sup>1,2</sup>Kordzaia D.

<sup>1</sup>I. Javakhishvili Tbilisi State University; <sup>2</sup>A. Natishvili Institute of Morphology; <sup>3</sup>Tbilisi State Medical University, Georgia

The role of exogenous testosterone (methyltrienolone) in the repair of damaged pancreatic islet and liver cells during alloxan diabetes was studied. Modeling of diabetes was performed through single intraperitoneal injection of Alloxan, with the dose 2 mg per 10 g of body

weight. Pancreatic and liver tissues were investigated microscopically using 3-4  $\mu$ m slices embedded in paraffin and stained with hematoxylin and eosin. Software Adobe Photoshop was used to measure the areas of pancreatic islets as well as areas of necrotic foci in these islets of animals with Alloxan-induced experimental diabetes. The degree of liver damage was assessed by a 5-score "visual scale".

The animals with diabetes revealed degenerative changes of pancreatic islets and liver tissue, the intensity of which correlates with the time-period passed since diabetic modeling. These changes correspond to the metabolic abnormalities described for various experimental models or clinical cases of diabetes.

The study revealed that treatment of Alloxan-induced diabetes with testosterone (methyltrienolone) restores not only the biochemical disorders (as previously described) but also supports to reverse the pathological changes in pancreatic and liver tissues.

**Keywords:** Alloxan-induced diabetes, testosterone, histopathology, pancreas, liver.

## РЕЗЮМЕ

### ВЛИЯНИЕ ТЕСТОСТЕРОНА НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОСТРОВКОВ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ТКАНИ ПЕЧЕНИ У КРЫС С АЛЛОКСАНОВЫМ ДИАБЕТОМ

<sup>1,3</sup>Канделаки С.К., <sup>3</sup>Харабадзе М.Б., <sup>2</sup>Сихарулидзе И.Т., <sup>1</sup>Велиджанашвили М.О., <sup>1,2</sup>Какабадзе М.Ш., <sup>1,2</sup>Кордзаиа Д.Д.

<sup>1</sup>Тбилисский государственный университет им. И. Джавахишвили; <sup>2</sup>Институт морфологии им. А. Нативили; <sup>3</sup>Тбилисский государственный медицинский университет, Грузия

Изучена роль экзогенного тестостерона (метилтриенолона) в восстановлении поврежденных островков поджелудочной железы и клеток печени при аллоксановом диабете. Моделирование диабета проводилось с помощью разовой внутрибрюшинной инъекции аллоксана (2 мг на 10 г массы тела).

Ткани поджелудочной железы и печени исследовались микроскопически (3-4 мкм срезы, заключённые в парафин и окрашенные гематоксилином и эозином). Програмное обеспечение Adobe Photoshop использовалось для измерения площадей островков поджелудочной железы, а также некротических очагов в этих островках. Степень поражения печени оценивалась по 5-бальной «визуальной шкале».

У животных с диабетом выявлены дегенеративные изменения островков поджелудочной железы и ткани печени, интенсивность которых коррелирует с периодом времени, прошедшим после моделирования диабета. Эти изменения соответствуют

метаболическим сдвигам, описанным в различных экспериментальных моделях диабета и/или клинических наблюдениях.

Исследование показало, что лечение аллоксанового диабета тестостероном (метилтриенолоном) восстанавливает не только биохимические нарушения (как описано ранее), но также способствует реверсии структурных изменений, развившихся в тканях поджелудочной железы и печени.

რეზიუმე

ტესტოსტერონის გაეღენა ვირთავის პანკრეასის კუნძულების და ღვიძლის ქსოვილის მორფოლოგიურ ცვლილებებზე ალოქსანური დიაბეტის პირობებში

<sup>1</sup>ს. კანდელაკი, <sup>3</sup>მ. ხარაბაძე, <sup>2</sup>ი. სიხარულიძე, <sup>1</sup>მ. ველიჯანაშვილი, <sup>1,2</sup>მ. კაკაბაძე, <sup>1,2</sup>დ. კორძია

<sup>1</sup>ი. ჯავახიშვილის სახ. თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი; <sup>2</sup>ა. ნათიშვილის სახ. მორფოლოგიის ინსტიტუტი; <sup>3</sup>თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, საქართველო

გამოკვლეულია ეგზოგენური ტესტოსტერონის (მეთილტრიენოლონის) როლი პანკრეასის კუნძულების და ღვიძლის ქსოვილის დაზიანებული უჯრედების კორექციაში ალოქსანური დიაბეტის დროს. დიაბეტის მოდელირება განხორციელდა ალოქსანის ერთჯერადი შეყვანით ინტრაპერიტონეალურად, დოზით 2,0 მგ 10გ წონაზე. პანკრეასის

და ღვიძლის ქსოვილის გამოკვლევა ხდებოდა პარაფინში ჩაყალიბებულ და ჰემატოქსილინითა და ეოზინით შეღებილ 3-4 მკმ-ის სისქის ანათლებზე, ხოლო პანკრეასის ქსოვილის ჰისტოლოგიურ ანათლებზე - კუნძულების იდენტიფიკაცია და მასში β-უჯრედების რაოდენობის და დაზიანების ხარისხის შეფასება. კომპიუტერულ პროგრამა Adobe Photoshop-ის გამოყენებით იზომებოდა პანკრეასის კუნძულების და მათში ნეკროზული უბნების ფართობი. ღვიძლის დაზიანების ხარისხი ფასდებოდა 5-ბალიანი “ვიზუალური სკალით”.

ალოქსანით გამოწვეული ექსპერიმენტული დიაბეტის პირობებში გამოვლინდა პანკრეასის კუნძულებისა და ღვიძლის ქსოვილის დეგენერაციული ცვლილებები, რომელთა ინტენსივობაც კორელაციაშია დიაბეტის მოდელირებიდან გასულ დროსთან. ეს ცვლილებები შეესაბამება იმ მეტაბოლურ დარღვევებს, რომლებიც აღწერილია დიაბეტის როგორც სხვადასხვა ექსპერიმენტული მოდელის, ისე კლინიკური მიმდინარეობის დინამიკაში.

ალოქსანური დიაბეტის ტესტოსტერონით (მეთილტრიენოლონით) მკურნალობის ფონზე აღინიშნა პანკრეასის კუნძულების და ღვიძლის ქსოვილის სტრუქტურულ ცვლილებათა რვეერსია.

ამდენად, ექსპერიმენტული დიაბეტით ცხოველების ტესტოსტერონით მკურნალობა კორექციას უწევს არა მარტო დარღვეულ ბიოქიმიურ მაჩვენებლებს (როგორც ადრე იყო აღწერილი), არამედ, პანკრეასისა და ღვიძლის მორფოლოგიური სტრუქტურის პათოლოგიურ ცვლილებებსაც.

**PECULIARITIES OF MELATONIN EFFECT ON CHONORHYTHMIC ORGANIZATION OF KIDNEY ACID-REGULATING FUNCTION INFLUENCED BY NITROGEN MONOXIDE SYNTHESIS BLOCKADE UNDER CONDITIONS OF PINEAL GLAND HYPOFUNCTION**

**Semenenko S., Tymofiychuk I., Boreyko L., Karatieieva S., Slobodian K.**

*Higher State Educational Institution of Ukraine “Bukovinian State Medical University”, Chernivtsi, Ukraine*

The work investigates the peculiarities of melatonin effect on chronorhythmic organization of the kidney acid-regulating function influenced by nitrogen monoxide (NO) synthesis blockade under conditions of pineal gland (PG) hypofunction. NO synthesis blockade under conditions of PG hypofunction were found to cause disorders of circadian organization of the kidney acid-regulating function and injection of melatonin (MT) led to correction of these violations. In animals that blocked the synthesis of NO in the background

of constant illumination and simultaneously introduced MT, it can be assumed that the blockade of NO synthesis under conditions of correction by melatonin increases the average daily urine pH as compared to the control (8.6±0.17 units). The results obtained are indicative of phase structure disorders of acid excretion rhythm concerning.

Stability of periodical changes of light, temperature, humidity, geomagnetic field and other parameters of the environment caused by the motion of the Earth and Moon