УДК 616.008

А.В. Белоусова[1], К.В. Соколова[1], И.Ф. Гетте[1], С.Ю. Медведева[1], И.Г. Данилова[1,2], В.А. Черешнев[1]

РЕАКЦИЯ ОСТРОВКОВЫХ И ВНЕОСТРОВКОВЫХ ЭНДОКРИНОЦИТОВ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА 1 И 2 ТИПА

[1] Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Российская Федерация;
[2] Институт медицинских клеточных технологий, г. Екатеринбург, Российская Федерация

A.V. Belousova[1], K.V. Sokolova[1], I.F. Gette[1], S.Yu. Medvedeva[1], I.G. Danilova[1,2], V.A. Chereshnev[1]

REACTION OF ISLET AND EXTRA ISLET ENDOCRINOCYTES IN DIABETES TYPE 1 AND 2

[1] Institute of Immunology and Physiology, Yekaterinburg, Russian Federation;
[2] Institute of Medical Cell Technologies, Yekaterinburg, Russian Federation

Резюме. ***Цель исследования*** — оценить и сравнить патологические изменения островкового аппарата поджелудочной железы при моделировании сахарного диабета по данным морфометрии и биохимических тестов. ***Материалы и методы***. Получены модели сахарного диабета 1 типа (СД1) введением крысам-самцам линии Wistar аллоксана в дозе 170 мг/кг и 2 типа (СД2) введением никотинамида 110 мг/кг и стрептозотоцина 65 мг/кг, проведены гистологические и иммуногистохимические исследования, а также биохимические тесты, подтверждающие развитие сахарного диабета 1 и 2 типов. ***Результаты***. В обеих группах СД1 и СД2 на фоне увеличения уровня глюкозы уменьшалось количество панкреатических островков, содержание в них β-клеток и инсулина. В модели СД1 уменьшение количества островковых β-клеток, содержания инсулина в β-клетках и в агломератах внеостровковых клеток сопровождалось снижением уровня инсулина в плазме крови и накоплением гликированного гемоглобина. В модели СД2 на фоне уменьшения количества β-клеток и снижения уровня инсулина в островках увеличивалось количество одиночных внеостровковых инсулинсинтезирующих клеток, что способствовало поддержанию в норме уровня инсулина в плазме крови и подтверждалось отсутствием накопления гликированного гемоглобина. ***Выводы***. Эксериментальная модель стрептозотоцин-нкотинамид позволяет получить изменения, характерные для СД 2 типа, такие, как гипергликемия при нормальном уровне инсулина в плазме крови, уровень которого в данной модели поддерживается за счет увеличения количества одиночных внеостровковых инсулинсинтезирующих клеток и сохраняющейся в норме продукции инсулина в агломератах внеостровковых инсулинсинтезирующих клеток. В аллоксановой модели СД 1 типа гипергликемия

Abstract. ***The aim of the investigation***. Models of type 1 and 2 diabetes were obtained to compare and evaluate pathological changes according to morphometry and biochemical tests.

Materials and methods. Male Wistar rats were administered alloxan in a dosage of 170 mg/kg to simulate DM1. Nicotinamide (110 mg/kg) and streptozotocin (65 mg/kg) were administered to simulate DM2. The histological and immunohistochemical analyses of pancreatic sections were performed, biochemical parameters were tested. ***Results***. The increase in glucose level in DM1 and DM2 was accompanied by a decrease in the pancreatic islets number, the β-cells number and insulin concentration in β-cells. In the DM1 model, a decrease in the number of islet β-cells, insulin content in β-cells and in extra-islet cells agglomerates was accompanied by a decrease in the plasma insulin level and the glycated hemoglobin accumulation. In the DM2 model, a decrease in the number of β-cells and insulin deficiency in the islets were compensated by an increase in the number of single extra-islet insulin-synthesizing cells. ***Conclusion***. The streptozotocin-nicotinamide model obtains pathogenetic changes similar these in type 2 diabetes, such as hyperglycemia with a normal level of insulin in the blood plasma, which is supported by an increase in the number of single extra-island insulin-synthesizing cells and the remaining normal insulin production in agglomerates of extra-island insulin-synthesizing cells. In the alloxan model, hyperglycemia is accompanied by the accumulation of glycated hemoglobin and urea, and the decrease in insulin production is noted not only in the islets, but also in agglomerates of extra-island insulin-synthesizing cells, which is confirmed by a reduced insulin level in rat blood plasma.

сопровождается накоплением гликированного гемоглобина и мочевины, а уменьшение продукции инсулина отмечается не только в островках, но и в агломератах внеостровковых инсулинсинтезирующих клеток, что подтверждается сниженным содержанием инсулина в плазме крови крыс.

Ключевые слова: сахарный диабет, β-клетки, панкреатические островки, внеостровковые инсулиноциты

Keywords: diabetes mellitus, β-cells, pancreatic islets, extra-islet insulin synthesizing cells

Конфликт интересов отсутствует.

There is no conflict of interest.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:
Данилова Ирина Георгиевна
Ig-danilova@yandex.ru

Contact information of the author responsible for correspondence:
Irina G. Danilova
Ig-danilova@yandex.ru

Дата поступления 05.04.2018

Received 05.04.2018

Образец цитирования:
Белоусова А.В., Соколова К.В., Гетте И.Ф., Медведева С.Ю., Данилова И.Г., Черешнев В.А. Реакция островковых и внеостровковых эндокриноцитов при моделировании сахарного диабета 1 и 2 типа. Вестник уральской медицинской академической науки. 2018, Том 15, №3, с. 405–412, DOI: 10.22138/2500-0918-2018-15-3-405-412

For citation:
A.V. Belousova A.V., K.V. Sokolova K.V., I.F. Gette I.F., S.Yu. Medvedeva S.Yu., I.G. Danilova I.G., V.A. Chereshnev V.A. Reaction of islet and extra islet endocrinocytes in diabetes type 1 and 2. Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2018, Vol. 15, no. 3, pp. 405–412. DOI: 10.22138/2500-0918-2018-15-3-405-412 (In Russ)

Высокая частота встречаемости сахарного диабета (СД) и необходимость поиска новых лекарственных средств, воздействующих на патогенетические механизмы заболевания, обусловливает подробное исследование изменений гистологических и биохимических показателей, развивающихся при моделировании сахарного диабета 1 и 2 типа.

Наиболее распространенными экспериментальными моделями сахарного диабета 1 типа (СД1) являются аллоксановая и стрептозотоциновая модели [1, 2, 3]. Как аллоксан, так и стрептозотоцин проявляют направленное действие против инсулиноцитов [4], поскольку проникают внутрь этих клеток через рецепторы ГЛЮТ-2 и вызывают их гибель [5]. Действие аллоксана сопровождается образованием активных форм кислорода и оксидативным стрессом, поскольку β-клетки, в отличие от других клеток, обладают низкой антиоксидантной защитой, что приводит к развитию инсулита [4]. Кроме того, аллоксан связывает SH-группы глутатиона и ингибирует глюкокиназу, необходимую для секреции инсулина в ответ на стимуляцию глюкозой [5]. Дальнейшее повреждение β-клеток происходит в результате аутоиммунных реакций, что было доказано адоптивным переносом данной патологии и невозможностью моделировать ее у тимэктомированных животных [1, 6].

Стрептозотоцин традиционно используется для моделирования СД1 [1, 7]. Токсичность стрептозотоцина и образующихся при его расщеплении фрагментов связывают с их алкилирующей способностью, что вызывает фрагментацию ДНК и некроз β-клеток [5]. Несмотря на некоторые отличия в механизме действия стрептозотоцина и аллоксана введение каждого из этих веществ позволяет моделировать патологические изменения, происходящие в организме больных сахарным диабетом 1 типа. Моделирование сахарного диабета 2 типа (СД2) затруднительно, поскольку для этой патологии характерна инсулинорезистентность [1], которую сложно моделировать, а также сложно оценить недостаточность инсулиновых рецепторов. В настоящее время наиболее распространенной моделью СД2 является внутрибрюшинное введение стрептозотоцина с предварительным внутрибрюшинным введением никотинамида, который снижает токсическое действие стрептозотоцина [8]. Предварительное введение никотинамида позволяет моделировать такие проявления патогенеза СД2, как менее выраженное по сравнению с СД1 отклонение биохимических показателей от нормы, отсутствие острых осложнений. Данная модель воссоздает стадию заболевания

СД2 с развившейся недостаточностью β-клеток, но менее выраженной, чем при СД1 [9, 10].

Исследованиями последних лет показано, что β-клетки могут восстанавливаться из малодифференцированных эпителиальных клеток протоков поджелудочной железы, из стволовых клеток костного мозга, а также из α- и δ-клеток островков поджелудочной железы после их предварительной дедифференцировки и благодаря присущей им пластичности [11, 12, 13]. Для выявления возможности коррекции патологических изменений и хронических осложнений сахарного диабета необходимо подробное исследование островковых и внеостровковых инсулинпродуцирующих клеток (ВИСК) при патологии 1 и 2 типа. Однако в литературе отсутствуют данные о комплексном исследовании морфометрии и биохимических тестов при сравнении моделей СД1 и СД2.

Цель исследования — оценить и сравнить патологические изменения, развивающиеся при аллоксановой модели СД1 и стрептозотоциновой модели СД2, по данным морфометрии и биохимических тестов.

Материалы и методы

Эксперимент на животных был выполнен в соответствии с принципами Директивы 2010/63 / ЕС Европейского парламента и Европейского Совета (Официальный журнал Европейского союза, 2010 г.). Животные содержались в равных условиях (12 часов света / 12 часов темноты), по 5 крыс в клетке. Крысы получали стандартный корм в соответствии с обычным графиком со свободным доступом к воде.

В эксперименте было использовано 40 крыс-самцов линии Wistar одного возраста и веса. Было сформировано 4 группы животных: 1 — интактная, 2 — контрольная, 3 — группа с моделированием СД2 путем введения никотинамида и стрептозотоцина, 4 — группа с воспроизведением СД1 посредством введения аллоксана из расчета 170 мг/кг массы крысы в 0,85% растворе хлорида натрия по модифицированной авторской методике [14]. Доза аллоксана 170 мг/кг была выбрана с целью получения уровня гипергликемии при моделировании сахарного диабета 1 типа сравнимой с уровнем гипергликемии при моделировании сахарного диабета 2 типа, для которого не характерен высокий уровень глюкозы [14]. Для создания модели СД2 предварительно внутрибрюшинно вводили раствор никотинамида в воде 110 мг/кг, через 15 минут также внутрибрюшинно вводили раствор стрептозотоцина в цитратном буфере 65 мг/кг [8]. Инъекции никотинамида, стрептозотоцина и аллоксана проводили после двенадцатичасового голодания. На 28 сутки эксперимента был проведен тест пероральной сахарной нагрузки (1г/кг глюкозы, интрагастрально). Анализ крови на глюкозу осуществлялся через каждые 30 минут в течение 2 часов.

Животным контрольной группы были сделаны внутрибрюшинные инъекции 0,85% раствора хлорида натрия в таком же объеме, как животным 3 и 4 групп.

Животных всех групп выводили из эксперимента на 30-е сутки после инъекции посредством внутримышечного введения пентобарбитала натрия 40 мг/кг. В плазме крови крыс определяли содержание глюкозы, креатинина, мочевины, общего количества белка, а также активность ферментов: аспартатаминотрансферазы или АСТ (К.Ф.2.6.1.1), аланинаминотрансферазы или АЛТ (К.Ф.2.6.1.2), щелочной фосфатазы (К.Ф.3.1.3.1.), альфа-амилазы (К.Ф. 3.2.1.1.). Для определения биохимических тестов использовали наборы реактивов фирмы «Витал Диагностикс» (СПб). В цельной крови определяли содержание гликированного гемоглобина методом аффинной гельхроматографии с использованием набора реактивов «Диабет-тест» фирмы ФОСФОСОРБ (Москва). Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре DU-800 фирмы «Beckman» (США). Содержание инсулина в крови определяли методом иммуноферментного анализа (Rat/Mouse Insulin ELISA; Millipore) и с использованием прибора LAZURITE AUTOMATED ELISA SYSTEM.

Поджелудочные железы животных фиксировались в 10% забуференном формалине 24 часа с последующей заливкой в парафин. Иммуногистохимическое исследование поджелудочной железы лабораторных животных проводили по стандартному протоколу с использованием Autostainer DAKO на формалинфиксированных парафиновых срезах толщиной 3-4 мкм. Визуализацию β-клеток осуществляли с помощью антител к инсулину (Anti-Rat Insulin/Proinsulin antibody; MA5-12042, Thermo Scientific, Waltham). Первичные антитела использовали в рабочем разведении 1:200 и инкубировали в течение 60 минут при 37 градусах. Затем осуществляли инкубацию с вторичными антителами goat anti-mouse, HrP conjugate (Millipore) в разведении 1:500 и инкубировали в течение 60 мин при 37 градусах. Для визуализации антигенреактивных клеток использовали тест-систему NovolinkTM Polymer Detection System (Novocastra Lab., Ltd), включающую хромогенный субстрат 3,3-диаминобензидин (DAB) в забуференном растворе. DAB-позитивные клетки идентифицировали по коричневому окрашиванию цитоплазмы клеток. Для исключения неспецифического окрашивания проводили постановку негативного и позитивного контроля.

Морфометрические исследования островкового аппарата поджелудочной железы в каждой экспериментальной группе животных включали: подсчет общего количества островков в пересчете на 1 мм2 паренхимы поджелудочной железы (N/мм2), площади пан-

DOI: 10.22138/2500-0918-2018-15-3-405-412

креатических островков (мкм^2); абсолютного и относительного количества β-клеток в 1 мм^2 эндокринной ткани (N/мм^2). Количество ВИСК, расположенных одиночно, а также собранных в агломераты (от 2 до 5 клеток), было подсчитано на 1 мм^2 среза поджелудочной железы. Визуализация проводилась в программе Leica Application Suite V4.9. В программе Видео Тест Морфология 5.0 была определена оптическая плотность (ОП) инсулина в островках и ВИСК.

Статистический анализ материала проводили с помощью программ Statistica 6.0 (Stat. Soft. Inc.) и программы Microsoft Exel 2003. При проверке статистических гипотез использовался уровень значимости 5% (P<0,05). Данные представлены в виде среднее ± ошибка среднего.

Результаты

При определении показателей крови у крыс интактной группы были получены следующие данные: содержание глюкозы 5,0±0,3 ммоль/л, гликированного гемоглобина 4,4±0,3 %, инсулина 1,26±0,22 мкг/л. Активность ферментов у интактных животных составляла: АСТ 16,1±2,8 мкмоль/мин•л, АЛТ 12,5±1,0 мкмоль/мин•л, щелочной фосфатазы 68,5±3,5 мкмоль/мин•л, α-амилазы 30,2±3,0 мкмоль/мин•л, соотношение величин активности АСТ/АЛТ 1,30±0,07. Содержание мочевины в крови животных интактной группы составило 5,0±0,3 ммоль/л, креатинина 62,9±2,7 мкмоль/л и общего белка 72,8±2,8 г/л. (таблица 1). При сравнении данных крыс интактной и контрольной групп не было обнаружено достоверных различий между всеми исследованными показателями, что позволяет предположить отсутствие существенного влияния инъекций физиологического раствора на животных контрольной группы. В дальнейшем показатели групп 3 и 4 сравнивали с показателями контрольной группы крыс.

Моделирование СД2 способствовало увеличению содержания глюкозы в плазме крови крыс группы 3 по сравнению с показателем в контрольной группе до уровня 10,3±0,6 ммоль/л. Гипергликемия в группе 3 не сопровождалась накоплением гликированного гемоглобина, не было зафиксировано также достоверного снижения содержания инсулина в плазме крови относительно показателей контрольной группы (таблица 1), что соответствовало развитию диабета 2 типа. При анализе глюкозотолерантного теста крыс группы СД2 через 30, 90 и 120 минут после нагрузки глюкозой из расчета 1 г/кг массы было обнаружено более высокое содержание глюкозы в крови по сравнению с показателем интактных крыс, получивших такое же количество глюкозы, что подтверждает снижение толерантности к глюкозе у животных группы СД2.

У крыс этой же группы выявлено достоверное увеличение активности АЛТ и снижение коэффициента де Ритиса относительно контроля, что указывает на возможный цитолиз или увеличение проницаемости мембран гепатоцитов. Увеличение активности α-амилазы у животных группы 3 по сравнению с показателем контрольной группы может свидетельствовать о повреждении экзокринной ткани поджелудочной железы. Небольшое увеличение содержания мочевины в крови животных СД2 (в 1,3 раза по сравнению с контролем) может быть, вероятнее всего, следствием усиления глюконеогенеза, а не признаком нарушения фильтрационного процесса в почках, так как уровень креатинина у крыс этой группы не увеличился (таблица 1).

В группе крыс 4 с моделированием СД1 выявлено изменение содержания глюкозы, сходное с изменением этого же показателя в группе СД2 и превышающее значение показателя крыс контрольной группы (таблица 1). У животных группы СД1 обнаружено также достоверное накопление гликированного гемоглобина и снижение содержания инсулина по сравнению с показателями контрольной группы. В группе СД1 продолжительность гипергликемии, вероятно, была больше, чем при СД2, поскольку содержание гликированного гемоглобина, в отличие от уровня глюкозы в крови, отражает состояние гипергликемии в течение не менее, чем четырех недель [15, 16]. В группе 4 была увеличена относительно контроля активность обеих аминотрансфераз, но, в то же время активность АЛТ была ниже, чем у крыс группы СД2, что свидетельствует о проявлении цитолиза в различных органах у крыс СД1, в отличие от преимущественного повреждения гепатоцитов у крыс группы СД2.

Активность альфа-амилазы в группе 4 оставалась на уровне контроля, в отличие от показателя группы 3. Изменение содержания мочевины и креатинина в группах 3 и 4 существенно не отличалось. В то же время количество общего белка в плазме крови крыс группы 4 стало ниже, чем у контрольных крыс (таблица 1), что указывает на снижение белоксинтетической функции печени у животных с СД1.

Таким образом, моделирование СД1 сопровождается более выраженным проявлением гипергликемии, чем при СД2, и согласуется с недостаточным содержанием инсулина и большим отклонением от нормы уровня мочевины, отражающего развитие глюконеогенеза. На основании исследования биохимических тестов функционального состояния различных органов можно предположить большее повреждение печени и экзокринной части поджелудочной железы у крыс группы СД2, что может быть связано с большей токсичностью стрептозотоцина по сравнению с аллоксаном [1].

print ISSN 2073-9125
on-line ISSN 2500-0918
vestnikural.ru

Таблица 1
Показатели в крови экспериментальных животных
Table 1
Blood parameters of experimental rats

Показатель/ Parameter	Контрольная группа / Control group	СД2 30 суток /DM2 30 days	СД1 30 суток /DM1 30 days
Глюкоза, ммоль/л / Glucose, mmol/L	5,1±0,2	10,3±0,6 *	10,9±0,5 *
HbA1c, % / HbA1c, %	4,3±0,3	4,2±0,4	6,7±0,8* 3
Инсулин, мкг/л/ Insulin, mkg/L	1,28±0,19	1,00±0,13	0,45±0,09* 3
АСТ, мкмоль/мин•л /AST, µmol/min•L	16,5 ±1,0	16,4 ± 0,8	21,0±1,0*
АЛТ, мкмоль/мин•л /ALT, µmol/min•L	12,9±0,9	23,1±1,5*	16,3±1,1* 3
АСТ/АЛТ AST/ALT	1,29±0,06	0,73±0,07*	1,30±0,06 3
Щелочная фосфатаза,мкмоль/мин•л/Alkaline phosphatase, µmol/min•L	69,7±3,9	65,0± 12,5	63,4±11,0
α-Амилаза, мг/с•л /α-amylase, mg/s L	29,8±2,9	44,4±2,6*	31,8±1,43
Мочевина, ммоль/л/Urea, mmol/L	5,1±0,3	6,8±0,6*	8,2±0,5*
Креатинин, мкмоль/л/ Creatinine, µmol/L	64,1±2,5	44,7±1,2*	53,7±4,3
Общий белок, г/л/ Total protein, g/L	72,0±2,7	68,6±3,8	59,1±1,6*

* — различия с показателем группы интактных животных достоверны при P<0,05;
* — differences with control group are significant at P<0,05
3 — различия с показателями группы СД2 достоверны при P<0,05.
3 — differences with group DM2 are significant at P<0,05.

При исследовании показателей морфометрии в группах крыс 3 и 4 (моделирование СД2 и СД1) обнаружено достоверное уменьшение количества панкреатических островков почти в два раза по сравнению с показателем контрольной группы при неизменной средней площади островков (таблица 2). В островках крыс обеих групп (3 и 4) снизилось также относительное содержание β-клеток (в % от всех клеток островка) (таблица 2). В то же время достоверное снижение абсолютного количества всех инсулиноцитов в островках по сравнению с показателем контрольной группы было выявлено только у крыс СД1 (группа 4). Сохранение в норме площади островков свидетельствует об отсутствии связанного с выраженным воспалением отека, поэтому не наблюдается 100%-ной гибели островков и инсулиноцитов в обеих опытных группах. Уменьшение количества островков и содержания в них β-клеток является закономерным следствием действия стрептозотоцина и аллоксана, но при моделировании СД2 количество сохранившихся инсулиноцитов было несколько больше, чем при действии аллоксана, что согласуется с течением диабета 2 типа.

В настоящее время установлено, что кроме островковых β-клеток существуют синтезирующие инсулин внеостровковые клетки, как одиночные, так и собранные в агломераты [17].

При подсчете абсолютного количества и относительного содержания собранных в агломераты ВИСК у диабетических крыс в группах 3 и 4 было установлено, что эти показатели не отличались достоверно от показателей крыс контрольной группы (таблица 2), но численность одиночных ВИСК (абсолютное и выраженное в % содержание) у крыс группы СД2 были больше, чем соответствующие показатели контрольной группы (таблица 2).

Содержание инсулина в инсулинсинтезирующих клетках оценивали по оптической плотности специфической окраски на инсулин. При определении среднего значения оптической плотности инсулина, содержащегося в клетках сохранившихся островков крыс СД2 и СД1, не было выявлено достоверных отличий от оптической плотности в островках контрольных крыс, но суммарная оптическая плотность инсулиноцитов всех островков в обеих опытных группах достоверно снизилась (таблица 2). При сравнении оптической плотности одиночных ВИСК и ВИСК в агломератах с показателями контрольной группы животных было установлено, что в агломератах ОП инсулина уменьшалась только у крыс группы 4 (СД1) (таблица 2).

Таким образом, исследование морфометрических показателей выявило у крыс группы СД1 уменьшение количества инсулинсинтезирующих клеток, островковых и внеостровковых и связанное с уменьшением этих клеток снижение продукции инсулина. В группе СД2 уменьшение островковых β-клеток сопровождается увеличением количества внеостровковых инсулиноцитов, что может быть компенсаторной реакцией на гибель островковых инсулиноцитов.

 DOI: 10.22138/2500-0918-2018-15-3-405-412

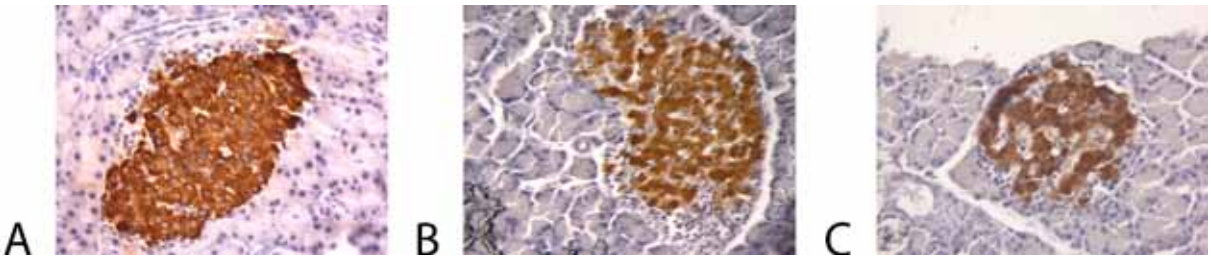

Рисунок 1. Инсулинсинтезирующие клетки в островках поджелудочной железы.
А. Контрольная группа, В. Модель СД2, С. Модель СД1, окрашивание на инсулин, визуализация диаминобензидином, ув. ×400
Figure 1. Insulin synthesizing cells in pancreatic islets.
A. Control group B. DM2 model C. DM1 model, insulin staining, diaminobenzidine visualization, ×400.

Таблица 2
Морфометрические показатели в поджелудочной железе животных
Table 2
Morphometric evaluation of rat pancreas

Показатель/ Parameter	Контрольная группа / Control group	СД2 30 суток / DM2 30 days	СД1 30 суток / DM1 30 days
Количество островков на мм^2 среза, шт./N. of islets in mm^2 of the section	4,21±0,56	1,90±0,39*	2,12±0,28*
Средняя площадь островка, мкм^2/The average area of islet, μm^2	8073,1±1429,9	9476,9±1112,8	9586,9±3998,4
Количество β-клеток в островке на мм^2 среза, шт./N. of β-cells in the islet in mm^2 of the section	166,32±42,76	63,30±15,88	43,60±4,20*
Количество β-клеток от всех клеток островка, % /Percent of β-cells from all islet cells	77,65±0,88	42,34±7,92*	46,50±3,13*
Количество ВИСК в агломератах на мм^2 среза, штук/N. of extra islet insulin synthesizing cells in agglomerates in mm^2 of the section	3,10±0,45	2,33±0,35	3,17±0,63
Количество ВИСК в агломератах на мм^2 среза, % /Percent of extra islet insulin synthesizing cells in agglomerates in mm^2 of the section	2,20±0,48	4,41±1,03	7,00±2,24
Количество одиночных ВИСК на мм^2 среза, шт. /N. of single extra islet insulin synthesizing cells in mm^2 of the section	0,40±0,12	0,88±0,14*	0,50±0,13
Количество одиночных ВИСК на мм^2 среза, % /Percent of single extra islet insulin synthesizing cells in mm^2 of the section	0,27±0,06	1,75±0,54*	0,93±0,27
ОП инсулина в островке, условные единицы ОП/ Optical density of insulin in an islet, a.u.	0,406±0,030	0,384±0,039	0,304±0,037
ОП инсулина во всех островках, условные единицы ОП / Optical density of insulin in all islets, a.u.	1,53±0,21	0,75±0,18*	0,64±0,16*
ОП инсулина в агломерате ВИСК, условные единицы ОП / Optical density of insulin in an agglomerate of extra islet insulin synthesizing cells, a.u.	0,444±0,017	0,434±0,032	0,350±0,028*
ОП инсулина в одиночных ВИСК, условные единицы ОП / Optical density of insulin in single extra islet insulin synthesizing cells, a.u.	0,433±0,039	0,403±0,026	0,386±0,030

* — различия с показателем группы интактных животных достоверны при P<0,05/
* — differences with control group are significant at P<0,05

Суммируя полученные данные можно сделать следующее заключение:

В обеих моделях сахарного диабета 1 и 2 типа увеличение уровня глюкозы сопровождается уменьшением количества панкреатических островков, содержания в них β-клеток и инсулина, отклонением от нормы тестов, характеризующих проявление цитолиза.

1. Стрептозотоциновая модель с предварительным введением никотинамида позволяет получить изменения, приближенные к патогенетическим изменениям СД 2 типа, таким, как гипергликемия при нормальном уровне инсулина в плазме крови, который в данной модели поддерживается за счет увеличения количества одиночных внеостровковых инсулинсинтезирующих клеток и сохраняющейся в норме продукции инсулина в агломератах ВИСК, что сопровождается отсутствием снижения уровня инсулина в плазме крови и накопления гликированного гемоглобина к 30 суткам.

2. В аллоксановой модели «сахарного диабета» 1 типа гипергликемия сопровождается накоплением гликированного гемоглобина и мочевины, а уменьшение продукции инсулина отмечается не только в островках, но и в агломератах ВИСК, что подтверждается

print ISSN 2073-9125
on-line ISSN 2500-0918
vestnikural.ru

сниженным содержанием инсулина в плазме крови крыс СД1.

Работа выполнена в рамках бюджетных тем ИИФ УрО РАН:
№АААА-А18-118020590107-0
и № АААА-А18-118020590108-7

ЛИТЕРАТУРА

1. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Патофизиология. т. 2. Основы патохимии. Санкт-Петербург: Элби-СПб; 2001. 687 с.
2. Chen T., Gao J., Xiang P., Chen Y., Ji J., Xie P., Wu H., Xiao W., Wei Y., Wang S., Lan .L., Ji H., Yan T. Protective effect of platycodin D on liver injury in alloxan-induced diabetic mice via regulation of Treg/Th17 balance. Int. Immunopharmacol. 2015; 26 (2): 338-348.
3. Like A.A., Rossini A.A. Streptozotocin-induced pancreatic insulitis: new model of diabetes mellitus. Science. 1976; 193: 415–417.
4. Malaisse W. Alloxan toxicity to the pancreatic B-cell. Biochem Pharmacol. 1982; 31: 3527–3534.
5. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. Physiol. Res. 2001; 50: 536–546.
6. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes (Review). Diabetologia. 2008; 51: 216-226.
7. Можейко Л.А. Экспериментальные модели для изучения сахарного диабета. Часть II. Хирургический, Стрептозотоциновый и дитизоновый диабет. Журнал Гродненского государственногог медицинского университета. 2013; 4: 5-10.
8. Спасов А.А., Воронкова М.П., Сингур Г.Л., Чепляева Н.И., Чепурнова М.В. Экспериментальная модель сахарного диабета типа 2. Биомедицина. 2011; 3: 12-18.
9. Sharma R., Dave V., Sharma S., Pankaj J., Sachdev Y. Experimental Models on Diabetes: A Comprehensive Review. International Journal of Advances in Pharmaceutical Sciences. 2013; 4: 1-8.
10. Islam M. S., Loots D.T. Experimental rodent models of type 2 diabetes: a review. Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology. 2009; 31: 249-261.
11. Mezza T., Kulkarni R.N. The regulation of pre- and post-maturational plasticity of mammalian islet cell mass. Diabetologia. 2014; 57(7): 1291-303.
12. Shimoda M., Chen S., Noguchi H., Matsumoto S., Grayburn P.A. Neurogenic differentiation 1 directs differentiation of cytokeratin 19-positive human pancreatic nonendocrine cells into insulin-producing cells. Transplant Proc. 2010; 42(6):2071-4. doi: 10.1016/j.transproceed.2010.05.114.

REFERENCES

1. Zaychik A.Sh., Churilov L.P. Pathophysiology. Vol. 2. Fundamentals of pathochemistry. St. Petersburg: Elbi-SPb. 2001. 687 p. (in Russ)
2. Chen T., Gao J., Xiang P., Chen Y., Ji J., Xie P., Wu H., Xiao W., Wei Y., Wang S., Lan .L., Ji H., Yan T. Protective effect of platycodin D on liver injury in alloxan-induced diabetic mice via regulation of Treg/Th17 balance. Int. Immunopharmacol. 2015; 26 (2): 338-348.
3. Like A.A., Rossini A.A. Streptozotocin-induced pancreatic insulitis: new model of diabetes mellitus. Science. 1976; 193: 415–417.
4. Malaisse W. Alloxan toxicity to the pancreatic B-cell. Biochem Pharmacol. 1982; 31: 3527–3534.
5. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. Physiol. Res. 2001; 50: 536–546.
6. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes (Review). Diabetologia. 2008; 51: 216-226.
7. Mozheyko L.A. Experimental models for the study of diabetes mellitus. Part II. Surgical, Streptozotocin and Dithizone Diabetes. Journal of the Grodno State Medical University. 2013; 4: 5-10. (in Russ)
8. Spasov A.A., Voronkova M.P., Singur G.L., Cheplyaeva N.I., Chepurnova M.V. Экспериментальная модель сахарного диабета типа 2. Biomeditsina. 2011; 3: 12-18. (in Russ)
9. Sharma R., Dave V., Sharma S., Pankaj J., Sachdev Y. Experimental Models on Diabetes: A Comprehensive Review. International Journal of Advances in Pharmaceutical Sciences. 2013; 4: 1-8.
10. Islam M. S., Loots D.T. Experimental rodent models of type 2 diabetes: a review. Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology. 2009; 31: 249-261.
11. Mezza T., Kulkarni R.N. The regulation of pre- and post-maturational plasticity of mammalian islet cell mass. Diabetologia. 2014; 57(7): 1291-303.
12. Shimoda M., Chen S., Noguchi H., Matsumoto S., Grayburn P.A. Neurogenic differentiation 1 directs differentiation of cytokeratin 19-positive human pancreatic nonendocrine cells into insulin-producing cells. Transplant Proc. 2010; 42(6):2071-4. doi: 10.1016/j.transproceed.2010.05.114.
13. Yatoh S., Dodge R., Akashi T., Omer A., Sharma

DOI: 10.22138/2500-0918-2018-15-3-405-412

13. Yatoh S., Dodge R., Akashi T., Omer A., Sharma A., Weir G.C., Bonner-Weir S. Differentiation of affinity-purified human pancreatic duct cells to beta-cells. Diabetes. 2007; 56(7):1802-9. doi:10.2337/db06-1670.

14. Данилова И.Г., Гетте И.Ф. Способ моделирования аллоксанового диабета. Патент на изобретение №2534411; 2014.

15. Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., Кремянская В.М. Лечение сахарного диабета и его осложнений. Руководство для врачей. М.: Медицина; 2005: 5-31.

16. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Фадеев В.Ф. Эндокринология: учебник для вузов. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2007.

17. Яглов В. В., Яглова Н. В. Актуальные проблемы биологии ациноостровковых клеток поджелудочной железы. Вестник Российской академии медицинских наук. 2010; 7: 28-35.

A., Weir G.C., Bonner-Weir S. Differentiation of affinity-purified human pancreatic duct cells to beta-cells. Diabetes. 2007; 56(7):1802-9. doi:10.2337/db06-1670.

14. Danilova I.G., Gette I.F. A method for modeling alloxan diabetes. Patent RF №2534411; 2014. (in Russ)

15. Balabolkin M.I., Klebanova E.M., Kremyanskaya V.M. Treatment of diabetes mellitus and its complications. Guide for doctors. M.: Meditsina. 2005. (in Russ)

16. Dedov I.I., Mel'nichenko G.A., Fadeev V.F. Endocrinology: a textbook for high schools. M.: GEOTAR-Media. 2007. (in Russ)

17. Yaglov V.V., Yaglova N.V. Actual problems of biology of pancreatic acino-insular cells. Vestnik Rossijskoj akademii medicinskih nauk. 2010; 7: 28-35. (in Russ)

Авторы
Белоусова Анна Викторовна
Младший научный сотрудник
a1b2v3@mail.ru

Соколова Ксения Викторовна
Лаборант-исследователь
Kssocolova@bk.ru

Гетте Ирина Федоровна
К.б.н., старший научный сотрудник
i.goette@yandex.ru

Медведева Светлана Юрьевна
К.м.н., ведущий научный сотрудник
Medvedeva-ran@yandex.ru

Данилова Ирина Георгиевна
Д.б.н., профессор, зав. Лабораторией
Ig-danilova@yandex.ru

Черешнев Валерий Александрович
Д.м.н., профессор, академик, главный научный сотрудник
secretar@iip.uran.ru

Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Лаборатория морфологии и биохимии
Российская Федерация, 620049, г. Екатеринбург ул. Первомайская, д.106

Authors
Anna V. Belousova
Junior researcher
a1b2v3@mail.ru

Kseniya V. Sokolova
Research assistant
Kssokolova@bk.ru

Irina F. Gette
Cand. Sci. (Biolog.), Senior Researcher
i.goette@yandex.ru

Svetlana Yu. Medvedeva
Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher
Medvedeva-ran@yandex.ru

Irina G. Danilova
Dr. Sci. (Biolog.), Professor, Head of the Laboratory
Ig-danilova@yandex.ru

Valerij A. Chereshnev
Dr. Sci. (Med.), Professor, Academician, Chief Researcher
secretar@iip.uran.ru

Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Laboratory of Morphology and Biochemistry
Russian Federation, 620049, Ekaterinburg, Pervomaiskaya str., 106

print ISSN 2073-9125
on-line ISSN 2500-0918
vestnikural.ru