

К.В. Соколова, А.В. Белоусова, И.Ф. Гетте, И.Г. Данилова

5-АМИНО-2,3-ДИГИДРОФТАЛАЗИН-1,4-ДИОН НАТРИЯ УВЕЛИЧИВАЕТ КОЛИЧЕСТВО ОСТРОВКОВЫХ И ВНЕОСТРОВКОВЫХ ИНСУЛИН-ПРОДУЦИРУЮЩИХ КЛЕТОК В ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

ФГБУН Институт иммунологии и физиологии

Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Российская Федерация

Резюме. В работе представлены данные о количестве островковых и внеостровковых инсулин-продуцирующих клеток и их функциональной активности в поджелудочной железе крыс с экспериментальным сахарным диабетом 2 типа (СД2) при модуляции функциональной активности макрофагов 5-амино-2,3-дигидрофталазин-1,4-дионом натрия (АФГ). **Цель исследования:** оценить влияние 5-амино-2,3-дигидрофталазин-1,4-диона натрия на количество и функциональную активность панкреатических инсулин-продуцирующих клеток разной локализации у крыс с СД2. **Материалы и методы.** Количество инсулин+, CD163+ и F4/80+ клеток в островках, ацинусах и протоках поджелудочной железы крыс подсчитано с помощью иммуногистохимического окрашивания ткани железы с использованием специфических антител и световой микроскопии, функциональная активность инсулин+ клеток оценена по оптической плотности цитоплазмы в них. **Результаты исследования.** Введение АФГ, увеличивая инфильтрацию ткани поджелудочной железы CD163+ клетками, способствует росту количества и функциональной активности инсулин+ клеток в островках, ацинусах и протоках поджелудочной железы у крыс с экспериментальным СД2.

Ключевые слова: поджелудочная железа, экспериментальный сахарный диабет, сахарный диабет 2 типа, инсулин-продуцирующие клетки, внеостровковые инсулин-продуцирующие клетки, макрофаги, 5-амино-2,3-дигидрофталазин-1,4-дион натрия, воспаление

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Белоусова Анна Викторовна

annavibelousova@gmail.com

Дата поступления: 15.07.2024

Образец цитирования: Соколова К.В., Белоусова А.В., Гетте И.Ф., Данилова И.Г. 5-амино-2,3-дигидрофталазин-1,4-дион натрия увеличивает количество островковых и внеостровковых инсулин-продуцирующих клеток в поджелудочной железе крыс с экспериментальным сахарным диабетом. [Электронный ресурс] Вестник уральской медицинской академической науки. 2024, Том 21, № 5, с. 551–564, DOI: 10.22138/2500-0918-2024-21-5-551-564

Введение

Функциональная пластичность макрофагов, заключающаяся в изменении их продукции под действием специфических стимулов окружающей среды и тканевого микроокружения, позволяет им выступать в качестве регуляторов как процессов повреждения, так и процессов восстановления тканей. Резидентные макрофаги островков поджелудочной железы локализуются в непосредственной близости от бета-клеток и играют решающую роль в их дифференцировке и гомеостазе [1, 2]: поляризация островковых макрофагов, адаптивно изменяясь в зависимости от микроокружения, оказывает влияние на функцию бета-клеток [3]. Помимо панкреатических островков, инсулин-продуцирующие клетки располагаются также в ацинусах и протоках поджелудочной железы [4]. Исследователи от-

мечают связь внеостровковых инсулин-продуцирующих клеток с развитием диабета [5], их гипогликемический потенциал [6, 7] и, шире, рассматривают ацинарные и протоковые клетки поджелудочной железы как динамический резерв бета-клеток в условиях дефицита инсулина [8, 9]. Ранее нами было показано, что снижение количества F4/80+ макрофагов в ацинусах, а также уменьшение содержания TNF- α и увеличение концентрации TGF- β 1 в ткани поджелудочной железы, наблюдаемое при внутримышечном введении натриевой соли 5-амино-2,3-дигидрофалазин-1,4-диона (АФГ) крысам с экспериментальным диабетом, сопровождается ростом количества внеостровковых инсулин-продуцирующих клеток [4]. Вследствие отсутствия однозначной трактовки поляризации F4/80+ макрофагов в качестве очередного шага в сторону выяснения механизма действия АФГ на инсулин-продуцирующие клетки поджелудочной железы в настоящей работе оценивалось влияние введения АФГ на количество CD163+ макрофагов в панкреатических островках, ацинарной и протоковой зонах железы, а также количество инсулин+ клеток в них у крыс с экспериментальным диабетом. В качестве модели диабета была использована никотинамид-стрептозотоциновая модель, приводящая к развитию умеренной стойкой гипергликемии и развитию инсулинрезистентности [4]. Модуляция макрофагальной продукции, способствующая редукции воспаления в поджелудочной железе, может быть использована при разработке новых стратегий увеличения функциональной массы островковых и внеостровковых инсулин-продуцирующих клеток при лечении сахарного диабета.

Целью работы было оценить влияние 5-амино-2,3-дигидрофалазин-1,4-диона натрия на количество и функциональную активность панкреатических инсулин-продуцирующих клеток разной локализации у крыс с экспериментальным СД2.

Материалы и методы

Экспериментальные животные

Исследования были проведены на 40 крысах-самцах линии Вистар, возраст которых на момент начала эксперимента составлял 3-3,5 месяца. Все животные содержались в одинаковых условиях (доступ к корму «DeltaFeeds С-19» (БиоПро, Новосибирск, РФ) и питьевой воде *ad libitum*, естественный световой режим, температура воздуха $+22 \pm 2^\circ\text{C}$) в виварии Института иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН (ИИФ УрО РАН). На работу с животными было получено разрешение Этического комитета ИИФ УрО РАН (протокол № 07/19 от 18.12.19).

Протокол эксперимента

Животные были случайным образом поделены на 4 равные по количеству особей группы, одна из которых оставлена интактной. У остальных крыс было индуцировано развитие экспериментального СД2 путём внутрибрюшинного введения стрептозотоцина (Sigma-Aldrich, США), разведённого в 0,1 М цитратном буфере (рН 4,5), в дозе 65 мг/кг с предварительным внутрибрюшинным введением никотинамида (Sigma-Aldrich, США), разведённого в воде для инъекций, в дозе 110 мг/кг [10]. Треть животных с экспериментальным СД2 была выведена из эксперимента через 30 суток после введения диabetогена, треть – через 60 суток, оставшейся трети животных через 30 суток после начала эксперимента был проведён месячный курс внутримышечных инъекций 5-амино-2,3-дигидрофалазин-1,4-диона натрия (АФГ) в дозе 2 мг/кг: первые 10 дней инъекции проводились ежедневно, следующие 10 дней – через день, и последние 10 дней делалась 1 инъекция 1 раз в 2 дня. Данная схема введения была разработана на основании рекомендаций патента Абидова А.М. и Даниловой И.Г. 2013 года, полученного на использование АФГ в медицине [11], с модификациями.

Вывод из эксперимента производился путём декапитации при ингаляционной анестезии изофлураном с предварительным внутримышечным введением ксилазина (Alfasan, Woerden, Нидерланды) в дозе 0,1 мг/кг и золетила-100 в дозе 5 мг/кг (Virbac, Carros, Франция). Перед декапитацией у крыс была взята кровь из хвостовой вены. После умерщвления у крыс извлекали поджелудочную железу.

Исследуемые показатели

Большую часть отобранной крови центрифугировали при 1000 g в течение 10 минут при температуре $+4^\circ\text{C}$, в оставшейся цельной крови методом афинной хроматографии определяли содержание гликированного гемоглобина (HbA1C). В плазме крови определяли концентрацию глюкозы (глюко-

зооксидазным методом с использованием набора «Глюкоза-Ново» (Вектор-Бест, Новосибирск, РФ) и концентрацию инсулина (методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием набора Rat/Mouse Insulin ELISA (Millipore, Германия) и автоматического анализатора LAZURITE AUTOMATED ELISA SYSTEM (Dynex Technologies, США)). На основании данных о содержании глюкозы и инсулина в крови по стандартной формуле рассчитывали значение индекса НОМА-IR, используемого для оценки инсулинорезистентности.

Ткань поджелудочной железы после извлечения фиксировали в 10%-ном нейтральном забуференном формалине в течение 48 часов, после чего промывали холодной проточной водопроводной водой в течение 6 часов и подвергали стандартной процедуре гистологической проводки и заливке в парафин с использованием автоматизированного тканевого процессора Leica TP 1020 (Leica Microsystems, Германия) и станции для изготовления парафиновых блоков Leica EG 1160 (Leica Microsystems, Германия) соответственно. На срезах толщиной 3,5-4 мкм, изготовленных на ручном микротоме Leica SM 2000R (Leica Microsystems, Германия), иммуногистохимически выявляли инсулин-позитивные (+), F4/80+ и CD163+ клетки с использованием соответствующих антител (Таблица 1) согласно рекомендованным производителями антител протоколам непрямым пероксидазным методом.

Таблица 1
Перечень антител, использованных для проведения иммуногистохимического исследования ткани поджелудочной железы экспериментальных животных

Table 1

List of antibodies used for immunohistochemical studies of pancreatic tissue of experimental animals

Выявляемый антиген Detected antigen	Первичное антитело: клон, производитель, разведение Primary antibodies: reference, supplier, dilution	Вторичное антитело: клон, производитель, разведение Secondary antibodies: reference, supplier, dilution
Инсулин Insulin	Anti-Insulin/Proinsulin, клон INS04+INS05, Invitrogen, США, 1:200 Anti-Insulin/Proinsulin, clone INS04+INS05, Invitrogen, USA, 1:200	Biotin Goat anti-Mouse Ig (Multiple Absorption), BD Pharmingen, США, 1:500 Biotin Goat anti-Mouse Ig (Multiple Absorption), BD Pharmingen, USA, 1:500
F4/80 F4/80	Polyclonal anti-F4/80, PA5-21399, Thermo Fisher Scientific, США, 1:400 Polyclonal anti-F4/80, PA5-21399, Thermo Fisher Scientific, USA, 1:400	Biotin Goat anti-Rabbit Ig G, Thermo Fisher Scientific, США, 1:500 Biotin Goat anti-Rabbit Ig G, Thermo Fisher Scientific, USA, 1:500
CD 163 CD 163	Anti-CD163 monoclonal antibody, Thermo Fisher Scientific, США, 1:70 Anti-CD163 monoclonal antibody, Thermo Fisher Scientific, USA, 1:70	Biotin Goat anti-Mouse Ig G, Thermo Fisher Scientific, США 1:50 Biotin Goat anti-Mouse Ig G, Thermo Fisher Scientific, USA 1:50

Далее срезы тканей инкубировали с вторичными биотинилированными антивидовыми антителами, для выявления биотинилированной метки проводили инкубацию со стрептавидином, конъюгированным с пероксидазой хрена (Streptavidin HRP, Thermo Fisher Scientific, США, для выявления пероксидазной активности использовали диаминобензидин (BD DAB Substrate Kit, Thermo Fisher Scientific, США). Визуализация выявляемых маркеров проводилась с помощью светового микроскопа Leica DM2500 (Leica Microsystems, Германия), видеокамеры Leica DFC420 (Leica Microsystems, Германия) и программного пакета для захвата и анализа изображений Leica Application Suite (Leica Microsystems, Германия). Подсчитывалось количество инсулин+, F4/80+ и CD163+ клеток в границах панкреатических островков, ацинусов и протоков железы, перерасчёт проводился на единицу площади (мм²) островков и паренхимы поджелудочной железы соответственно. Подсчитывалось количество и размеры панкреатических островков. Функциональная активность инсулин+ клеток (ИПК) оценивалась по оптической плотности (ОП) цитоплазмы инсулин+ клеток, выраженной в условных единицах (у.е.). ОП определялась с помощью анализатора изображений ВидеоТест Морфология 5.0 (ООО «ВидеоТест», Санкт-Петербург, РФ). При проведении работ было использовано оборудование ЦКП ИИФ УрО РАН.

Статистическая обработка материала

Данные представлены в виде среднего арифметического (M) ± стандартная ошибка среднего (m). Статистический анализ данных выполнен с использованием программного обеспечения Origin Pro 9.0 (OriginLab Corporation, США). Для оценки значимости отличий между выборками использовали непараметрический U-критерий Манн-Уитни для множественных парных сравнений. Критический уровень значимости p при проверке статистических гипотез расценивали как $p < 0,05$.

Результаты

Показатели углеводного обмена экспериментальных животных после введения диabetогена стрептозотоцина свидетельствовали о развитии стойкой умеренной гипергликемии и снижении тканевой чувствительности к инсулину (Таблица 2), что соответствует модели СД2.

Таблица 2
Показатели крови экспериментальных животных, M±m
Table 2
Blood parameters of experimental animals, M±m

Исследуемый параметр Parameter	Экспериментальная группа Experimental group			
	Интактная группа Intact	Сахарный диабет 2 типа: Type 2 diabetes:		
		30 суток 30 days	60 суток 60 days	60 суток + АФГ 60 days + APH
Содержание глюкозы, ммоль/л Glucose level, mmol/L	5,59 ± 0,14	11,12 ± 0,7 ^{1;2}	13,42 ± 0,64 ¹	8,94 ± 0,69 ^{1;2}
HbA1c, % HbA1c, %	4,69 ± 0,18	6,54 ± 0,48 ¹	6,95 ± 0,45 ¹	6,39 ± 0,35 ¹
Инсулин, мЕд/мл Insulin, μ IU/mL	22,08 ± 1,92	16,94 ± 0,72	15,19 ± 0,38 ¹	19,56 ± 0,28 ²
Индекс НОМА-IR НОМА-IR index	5,84 ± 0,64	10,78 ± 1,19 ¹	8,39 ± 0,27 ¹	7,08 ± 2,6

Примечание: ¹ – $p < 0,05$ в сравнении с интактной группой; ² – $p < 0,05$ в сравнении с группой СД2 60 суток.

Note: ¹ – $p < 0,05$ in comparison with intact group; ² – $p < 0,05$ in comparison with T2D 60 days.

Введение АФГ сопровождалось снижением уровня гликемии и нормализацией содержания инсулина в крови крыс с экспериментальным СД2, однако не приводило к нормализации содержания у них HbA1c. Стрептозотцин избирательно поражает бета-клетки, что ведёт к быстрому развитию гипергликемии. Так, согласно [12], уже на третьи сутки после введения диabetогена в ходе моделирования никотинамид-стрептозотоцинового диабета содержание глюкозы в крови крыс составляет $14,92 \pm 1,23$ ммоль/л и остаётся выше нормы вплоть до 4-ой недели исследования. Стабильно высокий уровень глюкозы в крови приводит к гликированию белков, что выражается в высоком процентном содержании HbA1c в крови как на 30-е, так и на 60-е сутки развития экспериментального СД2. Уровень HbA1c отражает среднее содержание глюкозы в крови за период жизни эритроцитов, который, согласно литературным источникам, у крыс составляет от 60 до 100 суток [13, 14]. Кроме того, несмотря на снижение уровня гликемии у диабетических крыс после курса АФГ, он оставался достоверно выше показателя интактных животных. Таким образом, закономерно предположить, что отмеченного к 30-м суткам лечения АФГ снижения уровня глюкозы в крови оказалось недостаточно для изменения уровня HbA1c.

Иммуногистохимическое исследование ткани поджелудочной железы крыс с использованием антител к проинсулину и инсулину (Рисунок 1) показало, что снижение количества бета-клеток в островках поджелудочной железы наблюдалось в обеих группах крыс с экспериментальным диабетом (продолжительностью 30 и 60 суток). Что касается внеостровковых ИПК, то через 30 суток после введения диabetогена их количество не изменилось ни в составе ацинусов, ни в эпителии протоков.

Снижение количества внеостровковых ИПК обеих локализаций (ацинарной и перидуктальной) наблюдалось лишь в динамике развития экспериментального диабета на 60-е сутки с момента введения диabetогена. Оптическая плотность (ОП) цитоплазмы инсулин+ клеток, характеризующая функциональную активность клеток, при развитии экспериментального СД2 снижалась у островковых, но не изменялась у внеостровковых ИПК. После введения АФГ у крыс отмечалось увеличение количества внеостровковых и островковых ИПК на единицу площади железы и островков, соответственно, при этом ОП цитоплазмы ИПК также выросла (Рисунок 2, Таблица 3).

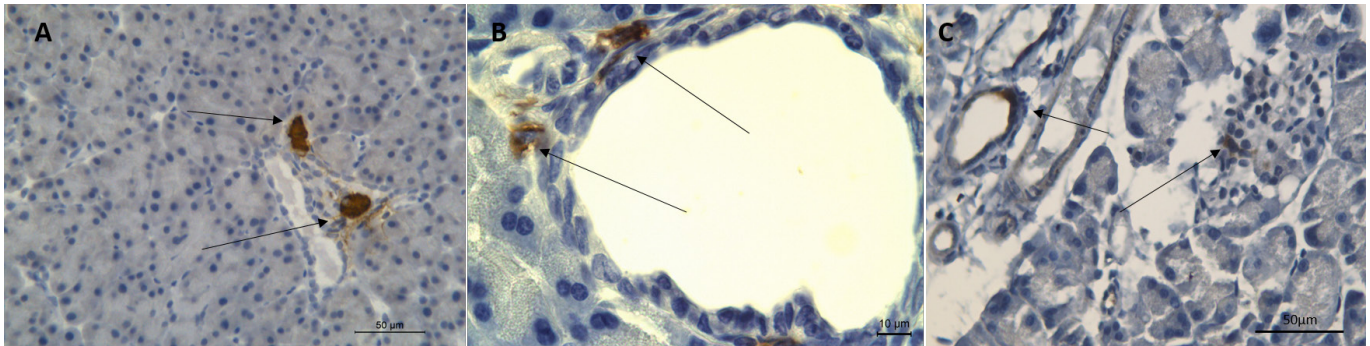


Рисунок 1. Иммуногистохимическое окрашивание ткани поджелудочной железы крыс с использованием антител к: А – проинсулину и инсулину; В – F4/80; С – CD163. Цитоплазма иммунопозитивных клеток имеет коричневое окрашивание, ядра докраснены гематоксилином и эозином. Инсулин+, F4/80+ и CD 163+ клетки показаны стрелками. x400

Figure 1. Immunohistochemical analysis of rat pancreatic tissue, using antibodies to A – proinsulin and insulin; B – F4/80; C – CD163. Chromogenic IHC analysis showing brown staining in the cytoplasm, nuclei were counterstained with hematoxylin. Arrows show insulin+, F4/80+ and CD163+ cells. x400

Таблица 3

Количество и размер панкреатических островков и количество инсулин+ клеток (ИПК) разных локализаций в поджелудочной железе крыс, М±m

Table 3

The number and area of pancreatic islets and the number of insulin+ cells (IPCs) of different localizations in the pancreas of rats, M±m

Исследуемый параметр Parameter	Экспериментальная группа Experimental group			
	Интактная группа Intact	Сахарный диабет 2 типа: Type 2 diabetes:		
		30 суток 30 days	60 суток 60 days	60 суток + АФГ 60 days + APH
ПО, N/мм ² ткани железы Pancreatic islets, N/mm ² of pancreatic tissue	2,76±0,32	1,8±0,3	1,62±0,2	2,48±0,45
Площадь ПО, мкм ² Area of pancreatic islet, mkm ²	8040,2±1410,07	9482,81±1112,81	9587,05±911,88	7743,69±1223,66
β-клетки, N/мм ² островка β-cells, N/mm ² of islet	5966,84±250,86	4349,45±860,82 ¹	4149,39±1247,53 ¹	6483,90±1427,56 ²
Внеостровковые ИПК, N/мм ² ткани ПЖ Extra-islet IPCs, N/mm ² of pancreatic tissue	3,32±0,37	3,14±0,21 ²	1,78±0,23 ¹	8,62 ±1,56 ^{1;2}
из них: among them:				
В ацинусах In acini	2,5±0,26	2,59±0,31 ²	1,79±0,37	8,19±1,54 ^{1;2}
В протоках In ducts	0,7±0,03	0,57±0,12 ²	0,31±0,09 ¹	1,72±0,21 ^{1;2}

Примечание: ¹– p < 0,05 в сравнении с интактной группой; ²– p < 0,05 в сравнении с группой СД2 60 суток. ПО – панкреатические островки; ПЖ – поджелудочная железа.

Note: ¹– p < 0,05 in comparison with intact group; ²– p < 0,05 in comparison with T2D 60 days.

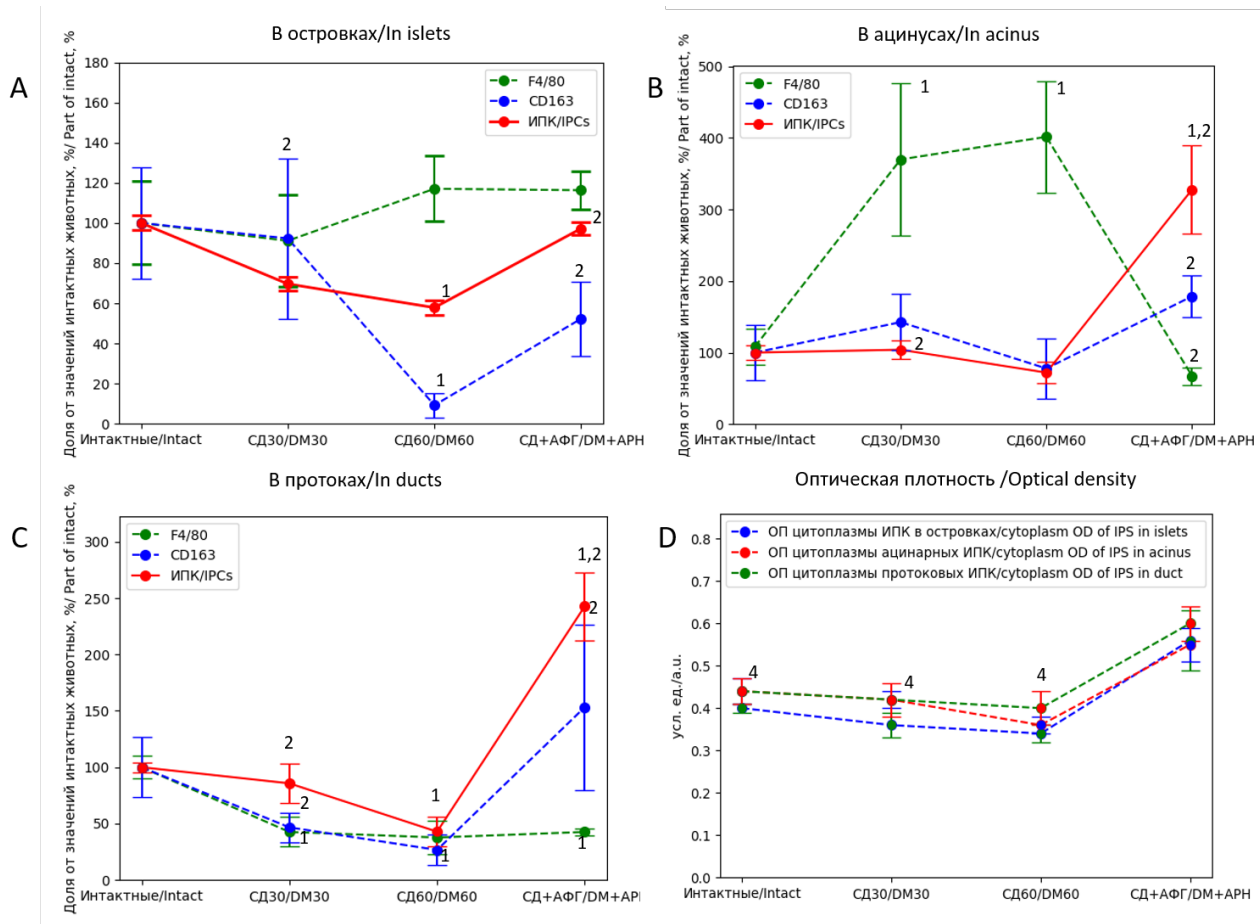


Рисунок 2. Количество инсулин+ (ИПК), F4/80+, CD163+ клеток: А – в составе островков; В – составе ацинусов; С – в составе протоков поджелудочной железы. D – оптическая плотность (ОП) цитоплазмы ИПК, условные единицы (усл.ед.). Интактные – показатели крыс без диабета; СД30 – показатели крыс с экспериментальным сахарным диабетом 2 типа (СД2) продолжительностью 30 суток; СД60 – показатели крыс с экспериментальным СД2 продолжительностью 60 суток; СД+АФГ – показатели крыс с экспериментальным СД2 продолжительностью 60 суток, получавших курс внутримышечных инъекций АФГ. 1– $p < 0,05$ в сравнении с интактной группой; 2– $p < 0,05$ в сравнении с группой СД2 60 суток; 4– в сравнении с группой СД2 60 суток + АФГ.

Figure 2. Number of insulin+ (IPCs), F4/80+, CD163+ cells: A – in the islets; B – in acini; C – in ducts. D – optical density (OD) of the cytoplasm of IPCs, arbitrary units (a.u.). Intact – rats without diabetes; T2D30 – experimental DM2 duration 30 days; T2D60 – experimental DM2 duration 60 days; T2D+APH – experimental DM2 duration 60 days + a course of intramuscular injections of APH. 1– $p < 0,05$ in comparison with intact group; 2– $p < 0,05$ in comparison with T2D 60 days; 4– $p < 0,05$ in comparison with T2D+APH.

Тканевые макрофаги поджелудочной железы выявлялись по поверхностной экспрессии маркера F4/80, противовоспалительная поляризация макрофагов оценивалась на основании наличия у них поверхностного маркера CD163 (Рисунок 1). При развитии экспериментального диабета общее количество макрофагов (F4/80+ клетки) в островках достоверно не отличалось от значений животных без диабета, однако к 60-м суткам СД резко снижалась доля островков, в которых присутствуют CD163+ клетки, т.е. противовоспалительные макрофаги. Поскольку общее количество макрофагов в островках не изменялось, закономерно предположить, что снижение количества M2 макрофагов произошло за счёт увеличения количества M1 макрофагов, что свидетельствует о повреждении эндокринной части железы. Введение АФГ не изменяло общее количество макрофагов (F4/80+ клеток) в островках, однако увеличивало долю островков, в которых обнаруживаются M2 макрофаги (CD163+ клетки).

У крыс с экспериментальным СД2 инфильтрация F4/80+ макрофагами возрастала в ацинусах и снижалась в протоках железы. Введение АФГ приводило к снижению инфильтрации F4/80+ клетками ацинусов до значений интактных животных. Инфильтрация ацинусов CD163+ клетками при развитии экспериментального СД2 достоверно не изменялась, инфильтрация протоков снижалась;

введение АФГ приводило к увеличению количества CD163+ клеток и в ацинусах, и в протоках (Таблица 4).

Таким образом, введение АФГ сопровождалось увеличением числа M2 макрофагов в островках, ацинусах и протоках поджелудочной железы; при этом в ацинусах также снижалось общее количество макрофагов.

Таблица 4

Количество макрофагов в поджелудочной железе экспериментальных животных, M±m

Table 4

Number of macrophages in the pancreas of experimental animals, M±m

Исследуемый параметр Parameter	Экспериментальная группа Experimental group			
	Интактная группа Intact	Сахарный диабет 2 типа: Type 2 diabetes:		
		30 суток 30 days	60 суток 60 days	60 суток + АФГ 60 days + APH
F4/80+ клетки в ПЖ, N/мм ² ткани F4/80+ cells in the pancreas, N/mm ² tissue				
В островках In islets	134,85±28,22	122,96±31,13	157,69±22,11	157,39±12,64
Общее количество вне островков Total amount outside islets	87,45±6,49	116,52±12,97	113,07±11,97	42,42±5,33 ^{1;2}
из них: among them:				
В ацинусах / In acini	26,45±6,28	90,3±26,41 ¹	97,97±18,72 ¹	16,39±3,41 ²
В протоках / In ducts	61±6,3	26,22±7,67 ¹	22,66±8,72 ¹	26,03±2,08 ¹
CD163+ клетки CD163+ cells				
Доля островков, в которых обнаруживаются CD163+ клетки, % от общего количества островков Proportion of islets in which CD163+ cells are found, % of the total number of islets	32,5±9,46	30±12,65 ²	3±2,06 ¹	17,27±5,67 ²
CD163+ клетки в ПЖ, N/мм ² ткани CD163+ cells in the pancreas, N/mm ² tissue				
Общее количество вне островков Total amount outside islets	66,05±25,72	78,61±22,06	43,03±23,92	119,98±25,43 ²
из них: among them:				
В ацинусах In acini	53,68±21,11	76,69±20,99	41,78±23,01	96,5±16,2 ²
В протоках In ducts	14,85±4,23	6,8±2,39 ²	3,75±2,46 ¹	22,58±10,6 ²

Примечание: ¹– p < 0,05 в сравнении с интактной группой; ²– p < 0,05 в сравнении с группой СД2 60 суток. ПЖ – поджелудочная железа.

Note: ¹– p < 0,05 in comparison with intact group; ²– p < 0,05 in comparison with T2D 60 days.

Обсуждение

Исследования демонстрируют важную роль активации макрофагов, инфильтрирующих ткань поджелудочной железы как в патогенезе таких метаболических нарушений, как сахарный диабет 1 [15] и 2 [16, 17] типа, так и в восстановительно-регенераторных процессах [1, 18]. Лежащее в основе патогенеза СД2 хроническое воспаление, ассоциированное с метаболическими нарушениями, определённым образом активирует иммунциты, в частности, макрофаги, продукция которых приводит к снижению количества и дисфункции островковых бета-клеток [17, 19].

В вопросе фенотипирования тканевых макрофагов поджелудочной железы нет ясности. Маркер F4/80 обычно рассматривают как типичный маркер тканевых макрофагов [20] и макрофагов, инфильтрирующих островки грызунов [19], но, по более ранним сведениям, F4/80 является маркером макрофагов, инфильтрирующих эндокринные органы в целом [21]. Хотя поверхностная экспрессия антигена F4/80 и является на сегодняшний момент общепринятым способом идентификации тканевых макрофагов, нельзя сбрасывать со счетов данные, указывающие на неодинаковую экспрессию F4/80 разными линиями тканевых макрофагов [20]. Также приводятся доказательства роли молекулы F4/80 в качестве индуктора генерации эфферентных CD8⁺ Т-регуляторных клеток [22], что позволяет трактовать F4/80⁺ макрофаги как классически активированные про-воспалительные макрофаги. CD163 является трансмембранным рецептором-мусорщиком (scavenger receptor), широко используемым в качестве маркера M2 макрофагов [23], реализующих противовоспалительные функции [23, 24]. Отдельно следует подчеркнуть, что в настоящее время исследователи не придерживаются строгого разграничения макрофагов на M1 и M2 с однозначной трактовкой роли последних как про- и противовоспалительных [25]. Также имеются данные, позволяющие предположить, что воспалительные факторы и повышенная инфильтрация иммунocyтами на определённом этапе могут выполнять и восстановительные функции [17].

При развитии экспериментального СД2 мы наблюдали следующую картину: общее количество макрофагов (F4/80) в островках не изменялось, общее количество макрофагов в экзокринной части железы также не менялось, однако происходило их перераспределение: инфильтрация ацинусов возросла, инфильтрация протоков снизилась. Для объяснения причин изменений количества макрофагов в ацинусах и протоках следует учитывать ряд моментов.

В первую очередь, наличие тесной структурно-функциональной связи между эндокринным и экзокринным отделами поджелудочной железы, формирующими ацино-островковую ось, в которой гормоны островков регулируют работу ацинарных клеток посредством внутрисекреторической порտальной циркуляции. Изменение функции любого из компонентов этой оси влечёт за собой изменения в работе остальных её составляющих [26, 27]. Соответственно, повреждения островков при диабете не могут не повлиять на состояние и функцию ацинусов и протоков железы.

Структурно-функциональная связь протоков железы с островками может опосредоваться локализованными в протоках стволовыми клетками и клетками-предшественниками. Исследователи предполагают их участие в регенерации островков, но окончательно роль протокового компартмента стволовых клеток при диабете пока не установлена [28]. Показано, что у людей с СД2 в протоках железы повышается количество пролиферирующих клеток [28].

По мере развития диабета экзокринная часть поджелудочной железы также претерпевает изменения [29]. Известно, что экзокринная недостаточность поджелудочной железы встречается примерно у половины больных сахарным диабетом, при этом данных, позволяющих понять патофизиологию развития данного состояния, явно недостаточно [30]. Также при диабете в экзокринной части поджелудочной железы может иметь место ацинарно-протоковая метаплазия (acinar-to-ductal metaplasia, ADM), провоцируемая воспалением или другими факторами, при которой ацинарные клетки могут трансдифференцироваться в протоковые, и наоборот [31, 32]. При панкреатите данный процесс до определённого момента является обратимым и служит для снижения экзокринной функции железы, но при наличии онкогенных провоцирующих факторов может приводить к предраковым изменениям. Ранее полагали, что ADM инициируется провоспалительными макрофагами [33], однако к настоящему моменту получены данные, демонстрирующие односторонность подобных воззрений [34].

Таким образом, в зависимости от условий, протоки поджелудочной железы могут дать начало как бета-клеткам, так и ацинарным клеткам. На мышах было показано, что образование бета-клеток из клеток протоков при повреждении поджелудочной железы требует снижения уровня воспаления, которого можно добиться устранением макрофагов [32]. Резюмируя сказанное, мы полагаем, что снижение количества макрофагов в протоках крыс с экспериментальным диабетом является адаптацией, нацеленной на стимуляцию неогенеза бета-клеток в условиях повреждения островков.

В настоящее время о поляризации макрофагов как о новой парадигме лечения сахарного диабета говорят разные исследователи [35, 36], однако реального перехода от теоретических знаний о влиянии макрофагов на восстановление структуры и функции поджелудочной железы к практическому использованию препаратов, изменяющих макрофагальную продукцию в желательном для терапев-

тических задач направлении, в терапии СД2 пока не произошло. Мы рассмотрели вещество 5-амино-2,3-дигидрофалазин-1,4-дион натрия (АФГ), присутствующее в общедоступной базе данных химических соединений PubChem под идентификационным номером (PubChemCID) 9794222 и имеющее международный химический идентификатор (InChI Key) JKЕВМURXLKGPLR-UHFFFAOYSA-N, с точки зрения его влияния на количество и функциональную активность инсулин-продуцирующих клеток поджелудочной железы разной локализации посредством изменения активации макрофагов. Механизм воздействия АФГ точно не установлен, возможно, он реализуется в силу специфического реагирования АФГ с активными формами кислорода, образующимся в фагосомах [37, 38]. Ранее было продемонстрировано, что курс из 20 внутримышечных инъекций АФГ приводит к достоверному снижению гипергликемии, росту концентрации инсулина в крови и увеличению количества бета-клеток в островках крыс с экспериментальным аллоксановым диабетом [39], а также увеличению количества и функциональной активности внеостровковых ИПК в стрептозотоцин-никотинамидной модели, соответствующей СД2 [4]. В настоящей работе мы сделали акцент на изменении поляризации макрофагов, оцениваемой на основании поверхностной экспрессии маркеров, при введении АФГ крысам с экспериментальным стрептозотоцин-никотинамидным диабетом, соответствующим СД2. Мы показали, что введение АФГ приводит к увеличению количества CD163+ клеток в островках, ацинусах и протоках поджелудочной железы, что можно трактовать как свидетельство сдвига продукции макрофагов, инфильтрирующих железу, в сторону M2. Таким образом, увеличение количества инсулин+ клеток в поджелудочной железе может быть следствием снижений воспалительного фона в железе.

Заключение

Таким образом, мы показали, что внутримышечное введение 5-амино-2,3-дигидрофалазин-1,4-диона натрия увеличивает количество инсулин-продуцирующих клеток и их функциональную активность в островках, ацинусах и протоках поджелудочной железы крыс с моделью СД2, что может быть следствием увеличения числа M2 макрофагов в ткани железы.

Работа выполнена в рамках госзадания ИИФ УрО РАН (№ гос. регистрации 122020900136-4).

ЛИТЕРАТУРА

1. Cosentino C., Regazzi R. Crosstalk between Macrophages and Pancreatic β -Cells in Islet Development, Homeostasis and Disease. *Int J Mol Sci.* 2021, 22(4), pp. 1765. doi: 10.3390/ijms22041765.
2. Xiao X., Gittes G.K. Concise Review: New Insights Into the Role of Macrophages in β -Cell Proliferation, Stem Cells Translational Medicine. 2015, Volume 4, Issue 6, pp. 655-658. <https://doi.org/10.5966/sctm.2014-0248>
3. Naćkiewicz D. Islet macrophages as integral regulators of islet inflammation, beta-cell function and survival (T). University of British Columbia. (2020). Retrieved from <https://open.library.ubc.ca/collections/ubctheses/24/items/1.0389926>
4. Abidov M.T., Sokolova K.V., Gette I.F., Danilova I.G. Accelerated Generation of Extra-Islet Insulin-Producing Cells in Diabetic Rats, Treated with Sodium Phthalhydrazide. *International Journal of Molecular Sciences.* 2022, 23(8), 4286. <https://doi.org/10.3390/ijms23084286>
5. Masini M., Marselli L., Himpe E., Martino L., Bugliani M., Suleiman M., et al. Co-localization of acinar markers and insulin in pancreatic cells of subjects with type 2 diabetes. *PLoS ONE.* 2017, 12(6), e0179398. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179398>
6. Marikar S.N., Al-Hasani K., Khurana I. et al. Pharmacological inhibition of human EZH2 can influence a regenerative β -like cell capacity with in vitro insulin release in pancreatic ductal cells. *Clin Epigenet.* 2023, 15, article number 101. <https://doi.org/10.1186/s13148-023-01491-z>
7. Zhao M., Amiel S.A., Christie M.R. et al. Insulin-producing cells derived from human pancreatic non-endocrine cell cultures reverse streptozotocin-induced hyperglycaemia in mice. *Diabetologia.* 2005, 48, pp. 2051-2061. <https://doi.org/10.1007/s00125-005-1888-y>
8. Dirice E., De Jesus D.F., Kahraman S. et al. Human duct cells contribute to β cell compensation in insulin resistance. *JCI Insight.* 2019, 18, 4(8), e99576. doi: 10.1172/jci.insight.99576.
9. Al-Hasani K., Marikar S.N., Kaipanickal H. et al. EZH2 inhibitors promote β -like cell regeneration

in young and adult type 1 diabetes donors. *Sig Transduct Target Ther.* 2024, 9, 2. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01707-x>

10. Ghasemi A., Khalifi S., Jedi S. Streptozotocin-nicotinamide-induced rat model of type 2 diabetes (review). *Acta Physiologica Hungarica.* 2014, Vol. 101, N4, pp. 408-420. DOI: 10.1556/APhysiol.101.2014.4.2
11. US Patent for Method for obtaining 5-amino-2,3-dihydrophthalazine-1,4-dione alkali metal salts and their use in medicine (Patent # 9101629) (<https://patents.justia.com/patent/9101629>)
12. Спасов А.А. и др. Экспериментальная модель сахарного диабета типа 2. *Биомедицина.* 2011, № 3, с. 12-18.
13. Belcher E.H., Harriss E.B. Studies of red cell life span in the rat. *J Physiol.* 1959, May 19, 146(2), 217-34. doi: 10.1113/jphysiol.1959.sp006190
14. van Putten L.M. The Life Span of Red Cells in the Rat and the Mouse as Determined by Labeling with DFP32 in Vivo. *Blood.* 1958, 13(8), 789-794. <https://doi.org/10.1182/blood.V13.8.789.789>
15. Zirpel H., Roep B.O. Islet-Resident Dendritic Cells and Macrophages in Type 1 Diabetes: In Search of Bigfoot's Print *Frontiers in Endocrinology.* 2021, 12, 12, p. 666795. DOI=10.3389/fendo.2021.666795
16. Banu S., Sur D. Role of Macrophage in Type 2 Diabetes Mellitus: Macrophage Polarization a New Paradigm for Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2023, 23(1), pp. 2-11. doi: 10.2174/1871530322666220630093359
17. Böni-Schnetzler M., Meier D.T. Islet inflammation in type 2 diabetes. *Semin Immunopathol.* 2019, 41(4), pp. 501-513. doi: 10.1007/s00281-019-00745-4
18. Nackiewicz D., Dan M., Speck M. et al. Islet Macrophages Shift to a Reparative State following Pancreatic Beta-Cell Death and Are a Major Source of Islet Insulin-like Growth Factor-1. *iScience.* 2020, 23(1), p. 100775. doi: 10.1016/j.isci.2019.100775
19. Cuenco J., Dalmás E. Islet Inflammation and β Cell Dysfunction in Type 2 Diabetes. In: Eckel J., Clément, K. (eds) *From Obesity to Diabetes. Handbook of Experimental Pharmacology.* 2022, vol 274, pp. 227-251. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/164_2021_571
20. Dos Anjos Cassado A. F4/80 as a Major Macrophage Marker: The Case of the Peritoneum and Spleen. *Results Probl Cell Differ.* 2017, 62, pp. 161-179. doi: 10.1007/978-3-319-54090-0_7
21. Hume D.A., Halpin D., Charlton H., Gordon S. The mononuclear phagocyte system of the mouse defined by immunohistochemical localization of antigen F4/80: macrophages of endocrine organs. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1984, 81(13), pp. 4174-7. doi: 10.1073/pnas.81.13.4174
22. Lin H.H., Faunce D.E., Stacey M. et al. The macrophage F4/80 receptor is required for the induction of antigen-specific efferent regulatory T cells in peripheral tolerance. *J Exp Med.* 2005, 201(10), pp. 1615-25. doi: 10.1084/jem.20042307
23. Skytté M.K., Graversen J.H., Moestrup S.K. Targeting of CD163+ Macrophages in Inflammatory and Malignant Diseases. *International Journal of Molecular Sciences.* 2020, 21(15), p. 5497. <https://doi.org/10.3390/ijms21155497>
24. Liu H., Lin D., Xiang H. et al. The role of tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis in atherosclerosis via its two different receptors. *Exp. Ther. Med.* 2017, 14, pp. 891-897. doi: 10.3892/etm.2017.4600
25. Kraakman M.J., Murphy A.J., Jandeleit-Dahm K., Kammoun H.L. Macrophage Polarization in Obesity and Type 2 Diabetes: Weighing Down Our Understanding of Macrophage Function? *Frontiers in Immunology.* 2014, Vol.5, p. 470. DOI=10.3389/fimmu.2014.00470
26. Pierzynowski S.G., Gregory P.C., Filip R. et al. Glucose homeostasis dependency on acini-islet-acinar (AIA) axis communication: a new possible pathophysiological hypothesis regarding diabetes mellitus. *Nutr Diabetes.* 2018, 8(1), 55. <https://doi.org/10.1038/s41387-018-0062-9>
27. Barreto S.G., Carati C.J., Toouli J., Saccone G.T.P. The islet-acinar axis of the pancreas: more than just insulin. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology.* 2010, 299(1), G10-22. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00077.2010>
28. Overi D., Carpino G., Moretti M., Franchitto A., et al. Islet Regeneration and Pancreatic Duct Glands in Human and Experimental Diabetes. *Front. Cell Dev. Biol.* 2022, 10, 814165. doi: 10.3389/fcell.2022.814165
29. Wright J.J., Eskaros A., Windon A., Bottino R. et al. Exocrine Pancreas in Type 1 and Type 2 Diabetes: Different Patterns of Fibrosis, Metaplasia, Angiopathy, and Adiposity. *Diabetes.* 2024, 73 (7), 1140–1152.

<https://doi.org/10.2337/db23-0009>

30. Шестакова М.В., Маев И.В., Аметов А.С., Анциферов М.Б. и др. Экзокринная недостаточность поджелудочной железы при сахарном диабете 1 и 2 типа. Сахарный диабет. 2023, 26, с.2. <https://doi.org/10.14341/DM13027>

31. Reichert M., Rustgi A.K. Pancreatic ductal cells in development, regeneration, and neoplasia. *J Clin Invest.* 2011, 121(12), 4572-4578. <https://doi.org/10.1172/JCI57131>

32. Clayton H.W. Osipovich A.B., Stancill J.S., Schneider J.D. et al. Pancreatic Inflammation Redirects Acinar to β Cell Reprogramming. *Cell Reports.* 2016, Volume 17, Issue 8, pp. 2028 – 2041. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.10.068

33. Liou G.Y., Storz P. Inflammatory macrophages in pancreatic acinar cell metaplasia and initiation of pancreatic cancer. *Oncoscience.* 2015 Mar 28, 2(3), pp. 247-51. doi: 10.18632/oncoscience.151

34. Liou G.Y., Fleming Martinez A.K., Döppler H.R., Bastea L.I., Storz P. Inflammatory and alternatively activated macrophages independently induce metaplasia but cooperatively drive pancreatic precancerous lesion growth. *iScience.* 2023, Volume 26, Issue 6, 106820. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.106820>

35. Zhang Q.Z., Liu J.H., Gao Y.R. et al. Effect of macrophage polarization on parasitic protection against type 1 diabetes mellitus. *Exp Parasitol.* 2024, 256, p.108649. doi: 10.1016/j.exppara.2023.108649

36. Banu S., Sur D. Role of Macrophage in Type 2 Diabetes Mellitus: Macrophage Polarization a New Paradigm for Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2023, 23(1), pp. 2-11. doi: 10.2174/1871530322666220630093359

37. Tseng J.C., Kung A.L. In vivo imaging method to distinguish acute and chronic inflammation. *J Vis Exp.* 2013, 78, p.50690. doi: 10.3791/50690

38. Gross S., Gammon S.T., Moss B.L. et al. Bioluminescence imaging of myeloperoxidase activity in vivo. *Nat Med.* 2009, 15(4), p.455-61. doi: 10.1038/nm.1886

39. Danilova I.G., Bulavintceva T.S., Gette I.F. et al. Partial recovery from alloxan-induced diabetes by sodium phthalhydrazide in rats. *Biomed Pharmacother.* 2017, 95, p.103-110. doi: 10.1016/j.biopha.2017.07.117

Авторы

Соколова Ксения Викторовна

К. б. н., старший научный сотрудник Лаборатории морфологии и биохимии

xenia.socolova@gmail.com

Белоусова Анна Викторовна

Научный сотрудник Лаборатории морфологии и биохимии

annavibelousova@gmail.com

Гетте Ирина Фёдоровна

К. б. н., старший научный сотрудник Лаборатории морфологии и биохимии

i.goette@yandex.ru

Данилова Ирина Георгиевна

Д. б. н., главный научный сотрудник, заведующая Лабораторией морфологии и биохимии

ig-danilova@yandex.ru

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук
Екатеринбург, Российская Федерация

K.V. Sokolova, A.V. Belousova, I.F. Gette, I.G. Danilova

MODULATION OF MACROPHAGE PRODUCTION BY SODIUM 5-AMINO-2,3-DIHYDROPHthalAZINE-1,4-DIONE INCREASES THE NUMBER OF ISLET AND EXTRA-ISLET INSULIN-PRODUCING CELLS IN THE PANCREAS OF RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES

Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract. Quantity data of islet and extra-islet insulin-producing cells and their functional activity in the pancreas of rats with experimental type 2 diabetes mellitus (T2DM) upon modulation of the functional activity of macrophages by 5-amino-2,3-dihydrophthalazine-1,4-dione sodium (APH) are presented. **Aim of the study:** to evaluate the effect of 5-amino-2,3-dihydrophthalazine-1,4-dione sodium on the number and functional activity of pancreatic insulin-producing cells of different locations in rats with T2DM. **Materials and methods.** The number of insulin+, CD163+ and F4/80+ cells in the islets, acini and pancreatic ducts of rats was calculated using immunohistochemical staining of pancreatic tissue using specific antibodies and light microscopy; the functional activity of insulin+ cells was assessed by the optical density of the cytoplasm in them. **Results.** Administration of APH, increasing the infiltration of pancreatic tissue with CD163+ cells, promotes an increase in the number and functional activity of insulin+ cells in the islets, acini and pancreatic ducts in rats with experimental T2DM.

Keywords: pancreas, experimental diabetes mellitus, type 2 diabetes mellitus, insulin-producing cells, extra-islet insulin-producing cells, macrophages, 5-amino-2,3-dihydrophthalazine-1,4-dione sodium, inflammation

There is no conflict of interest.

Contact details of the corresponding author:

Anna V. Belousova

annavibelousova@gmail.com

Received: 15.07.2024

For citation: Sokolova K.V., Belousova A.V., Gette I.F., Danilova I.G. Modulation of macrophage production by sodium 5-amino-2,3-dihydrophthalazine-1,4-dione increases the number of islet and extra-islet insulin-producing cells in the pancreas of rats with experimental diabetes. [Online] Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2024, Vol. 21, no. 5, pp. 551–564. DOI: 10.22138/2500-0918-2024-21-5-551-564 (In Russ)

REFERENCES

1. Cosentino C., Regazzi R. Crosstalk between Macrophages and Pancreatic β -Cells in Islet Development, Homeostasis and Disease. *Int J Mol Sci.* 2021, 22(4), pp. 1765. doi: 10.3390/ijms22041765.
2. Xiao X., Gittes G.K. Concise Review: New Insights Into the Role of Macrophages in β -Cell Proliferation, Stem Cells Translational Medicine. 2015, Volume 4, Issue 6, pp. 655-658. <https://doi.org/10.5966/sctm.2014-0248>
3. Nąckiewicz D. Islet macrophages as integral regulators of islet inflammation, beta-cell function and survival (T). University of British Columbia. (2020). Retrieved from <https://open.library.ubc.ca/collections/ubctheses/24/items/1.0389926>
4. Abidov M.T., Sokolova K.V., Gette I.F., Danilova I.G. Accelerated Generation of Extra-Islet Insulin-Producing Cells in Diabetic Rats, Treated with Sodium Phthalhydrazide. *International Journal of Molecular Sciences.* 2022, 23(8), 4286. <https://doi.org/10.3390/ijms23084286>
5. Masini M., Marselli L., Himpe E., Martino L., Bugliani M., Suleiman M., et al. Co-localization of acinar markers and insulin in pancreatic cells of subjects with type 2 diabetes. *PLoS ONE.* 2017, 12(6),

e0179398. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179398>

6. Marikar S.N., Al-Hasani K., Khurana I. et al. Pharmacological inhibition of human EZH2 can influence a regenerative β -like cell capacity with in vitro insulin release in pancreatic ductal cells. *Clin Epigenet.* 2023, 15, article number 101. <https://doi.org/10.1186/s13148-023-01491-z>
7. Zhao M., Amiel S.A., Christie M.R. et al. Insulin-producing cells derived from human pancreatic non-endocrine cell cultures reverse streptozotocin-induced hyperglycaemia in mice. *Diabetologia.* 2005, 48, pp. 2051-2061. <https://doi.org/10.1007/s00125-005-1888-y>
8. Dirice E., De Jesus D.F., Kahraman S. et al. Human duct cells contribute to β cell compensation in insulin resistance. *JCI Insight.* 2019, 18, 4(8), e99576. doi: 10.1172/jci.insight.99576.
9. Al-Hasani K., Marikar S.N., Kaipanickal H. et al. EZH2 inhibitors promote β -like cell regeneration in young and adult type 1 diabetes donors. *Sig Transduct Target Ther.* 2024, 9, 2. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01707-x>
10. Ghasemi A., Khalifi S., Jedi S. Streptozotocin-nicotinamide-induced rat model of type 2 diabetes (review). *Acta Physiologica Hungarica.* 2014, Vol. 101, N4, pp. 408-420. DOI: 10.1556/APhysiol.101.2014.4.2
11. US Patent for Method for obtaining 5-amino-2,3-dihydrophthalazine-1,4-dione alkali metal salts and their use in medicine (Patent # 9101629) (<https://patents.justia.com/patent/9101629>)
12. Spasov A.A. et al. Experimental model of diabetes mellitus type 2. *Biomedicine.* 2011, no. 3, pp. 12-18. (In Russ)
13. Belcher E.H., Harriss E.B. Studies of red cell life span in the rat. *J Physiol.* 1959, May 19, 146(2), 217-34. doi: 10.1113/jphysiol.1959.sp006190
14. van Putten L.M. The Life Span of Red Cells in the Rat and the Mouse as Determined by Labeling with DFP32 in Vivo. *Blood.* 1958, 13(8), 789-794. <https://doi.org/10.1182/blood.V13.8.789.789>
15. Zirpel H., Roep B.O. Islet-Resident Dendritic Cells and Macrophages in Type 1 Diabetes: In Search of Bigfoot's Print *Frontiers in Endocrinology.* 2021, 12, 12, p. 666795. DOI=10.3389/fendo.2021.666795
16. Banu S., Sur D. Role of Macrophage in Type 2 Diabetes Mellitus: Macrophage Polarization a New Paradigm for Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2023, 23(1), pp. 2-11. doi: 10.2174/1871530322666220630093359
17. Böni-Schnetzler M., Meier D.T. Islet inflammation in type 2 diabetes. *Semin Immunopathol.* 2019, 41(4), pp. 501-513. doi: 10.1007/s00281-019-00745-4
18. Nackiewicz D., Dan M., Speck M. et al. Islet Macrophages Shift to a Reparative State following Pancreatic Beta-Cell Death and Are a Major Source of Islet Insulin-like Growth Factor-1. *iScience.* 2020, 23(1), p. 100775. doi: 10.1016/j.isci.2019.100775
19. Cuenco J., Dalmas E. Islet Inflammation and β Cell Dysfunction in Type 2 Diabetes. In: Eckel J., Clément, K. (eds) *From Obesity to Diabetes. Handbook of Experimental Pharmacology.* 2022, vol 274, pp. 227-251. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/164_2021_571
20. Dos Anjos Cassado A. F4/80 as a Major Macrophage Marker: The Case of the Peritoneum and Spleen. *Results Probl Cell Differ.* 2017, 62, pp. 161-179. doi: 10.1007/978-3-319-54090-0_7
21. Hume D.A., Halpin D., Charlton H., Gordon S. The mononuclear phagocyte system of the mouse defined by immunohistochemical localization of antigen F4/80: macrophages of endocrine organs. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1984, 81(13), pp. 4174-7. doi: 10.1073/pnas.81.13.4174
22. Lin H.H., Faunce D.E., Stacey M. et al. The macrophage F4/80 receptor is required for the induction of antigen-specific efferent regulatory T cells in peripheral tolerance. *J Exp Med.* 2005, 201(10), pp. 1615-25. doi: 10.1084/jem.20042307
23. Skytthe M.K., Graversen J.H., Moestrup S.K. Targeting of CD163+ Macrophages in Inflammatory and Malignant Diseases. *International Journal of Molecular Sciences.* 2020, 21(15), p. 5497. <https://doi.org/10.3390/ijms21155497>
24. Liu H., Lin D., Xiang H. et al. The role of tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis in atherosclerosis via its two different receptors. *Exp. Ther. Med.* 2017, 14, pp. 891-897. doi: 10.3892/etm.2017.4600
25. Kraakman M.J., Murphy A.J., Jandeleit-Dahm K., Kammoun H.L. Macrophage Polarization in Obesity and Type 2 Diabetes: Weighing Down Our Understanding of Macrophage Function? *Frontiers in Immunology.* 2014, Vol.5, p. 470. DOI=10.3389/fimmu.2014.00470

26. Pierzynowski S.G., Gregory P.C., Filip R. et al. Glucose homeostasis dependency on acini-islet-acinar (AIA) axis communication: a new possible pathophysiological hypothesis regarding diabetes mellitus. *Nutr Diabetes*. 2018, 8(1), 55. <https://doi.org/10.1038/s41387-018-0062-9>
27. Barreto S.G., Carati C.J., Toouli J., Saccone G.T.P. The islet-acinar axis of the pancreas: more than just insulin. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2010, 299(1), G10-22. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00077.2010>
28. Overi D., Carpino G., Moretti M., Franchitto A., et al. Islet Regeneration and Pancreatic Duct Glands in Human and Experimental Diabetes. *Front. Cell Dev. Biol.* 2022, 10, 814165. doi: 10.3389/fcell.2022.814165
29. Wright J.J., Eskaros A., Windon A., Bottino R. et al. Exocrine Pancreas in Type 1 and Type 2 Diabetes: Different Patterns of Fibrosis, Metaplasia, Angiopathy, and Adiposity. *Diabetes*. 2024, 73 (7), 1140–1152. <https://doi.org/10.2337/db23-0009>
30. Shestakova M.V., Maev I.V., Ametov A.S., Antsiferov M.B. et al. Exocrine pancreatic insufficiency in diabetes mellitus type 1 and 2. *Diabetes mellitus*. 2023, 26, p.2. (In Russ) <https://doi.org/10.14341/DM13027>
31. Reichert M., Rustgi A.K. Pancreatic ductal cells in development, regeneration, and neoplasia. *J Clin Invest*. 2011, 121(12), 4572-4578. <https://doi.org/10.1172/JCI57131>
32. Clayton H.W. Osipovich A.B., Stancill J.S., Schneider J.D. et al. Pancreatic Inflammation Redirects Acinar to β Cell Reprogramming. *Cell Reports*. 2016, Volume 17, Issue 8, pp. 2028 – 2041. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.10.068
33. Liou G.Y., Storz P. Inflammatory macrophages in pancreatic acinar cell metaplasia and initiation of pancreatic cancer. *Oncoscience*. 2015 Mar 28, 2(3), pp. 247-51. doi: 10.18632/oncoscience.151
34. Liou G.Y., Fleming Martinez A.K., Döppler H.R., Bastea L.I., Storz P. Inflammatory and alternatively activated macrophages independently induce metaplasia but cooperatively drive pancreatic precancerous lesion growth. *iScience*. 2023, Volume 26, Issue 6, 106820. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.106820>
35. Zhang Q.Z., Liu J.H., Gao Y.R. et al. Effect of macrophage polarization on parasitic protection against type 1 diabetes mellitus. *Exp Parasitol*. 2024, 256, p.108649. doi: 10.1016/j.exppara.2023.108649
36. Banu S., Sur D. Role of Macrophage in Type 2 Diabetes Mellitus: Macrophage Polarization a New Paradigm for Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2023, 23(1), pp. 2-11. doi: 10.2174/1871530322666220630093359
37. Tseng J.C., Kung A.L. In vivo imaging method to distinguish acute and chronic inflammation. *J Vis Exp*. 2013, 78, p.50690. doi: 10.3791/50690
38. Gross S., Gammon S.T., Moss B.L. et al. Bioluminescence imaging of myeloperoxidase activity in vivo. *Nat Med*. 2009, 15(4), p.455-61. doi: 10.1038/nm.1886
39. Danilova I.G., Bulavintceva T.S., Gette I.F. et al. Partial recovery from alloxan-induced diabetes by sodium phthalhydrazide in rats. *Biomed Pharmacother*. 2017, 95, p.103-110. doi: 10.1016/j.biopha.2017.07.117

Authors:

Ksenia V. Sokolova

PhD, Senior researcher, Morphology and Biochemistry Lab

Anna V. Belousova

Researcher, Morphology and Biochemistry Lab

Irina F. Gette

PhD, Senior researcher, Morphology and Biochemistry Lab

Irina G. Danilova

Doctor of Science in Biology, Principal researcher, Head of the Morphology and Biochemistry Lab

ig-danilova@yandex.ru

Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences

Yekaterinburg, Russian Federation