

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ МОДЕЛЕЙ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

На основі літературних джерел проаналізовано сучасні експериментальні методики моделювання цукрового діабету. Наведено основні переваги та недоліки вказаних моделей.

Ключові слова: цукровий діабет, експериментальні тварини, генетичні та негенетичні моделі.

Цукровий діабет був та залишається глобальною проблемою сьогодення, яка призводить до інвалідизації, втрати працездатності та смерті. Інтерес до вивчення цієї патології не згасає і спонукає науковців до пошуків нових шляхів діагностики та лікування цукрового діабету та його ускладнень. Нині в арсеналі дослідників більше десяти моделей експериментального цукрового діабету (рис. 1, рис. 2) [4, 7].

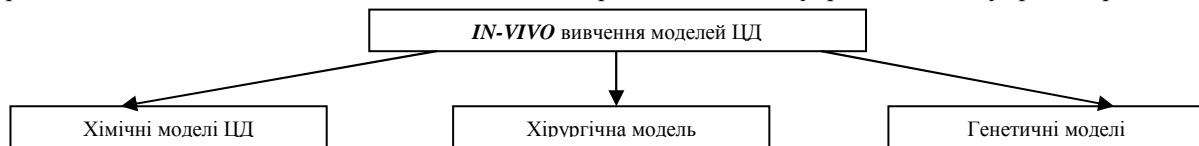


Рис. 1. Вивчення моделей цукрового діабету *in-vivo*.

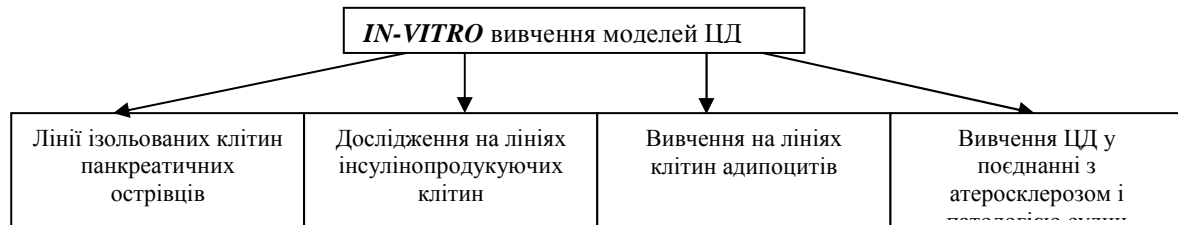


Рис. 2. Вивчення моделей цукрового діабету *in-vitro*.

Основними моделями відомими на сьогодні є: 1. Панкреатичний цукровий діабет – видалення у дослідних тварин (переважно, у собак) 9/10 підшлункової залози (Мерінг і Мінковський, 1889 р.); 2. Алоксановий цукровий діабет – одноразове уведення тваринам алоксану – речовини, яка вибірково ушкоджує β -клітини острівців підшлункової залози; 3. Стрептозотоциновий цукровий діабет – уведення дослідним тваринам стрептозоточину – антибіотика, який селективно вражає β -клітини острівців підшлункової залози; 4. Вірус-індукований цукровий діабет – викликається шляхом інфікування дослідних тварин вірусами певних штамів; 5. Дитізонавий цукровий діабет – уведення тваринам дитізону – речовини, яка зв'язує цинк і, таким чином, порушує депонування і секрецію інсуліну; 6. Імунний цукровий діабет – уведення тваринам антитіл проти інсуліну; 7. Метагіпофізарний цукровий діабет – тривале уведення тваринам гормонів аденогіпофіза – соматотропного гормона, АКТГ; 8. Метастероїдний цукровий діабет – тривале уведення тваринам глюкокортикоїдів; 9. Генетичні моделі цукрового діабету – виведення чистих ліній мишей та інших тварин зі спадково обумовленою формою хвороби [7, 10, 12, 17].

Метою роботи було проаналізувати сучасні експериментальні моделі цукрового діабету та з'ясувати основні переваги та недоліки цих методів.

Для скринінгу та детального вивчення антидіабетичних препаратів вчені використовують різноманітні генетичні та негенетичні моделі експериментального цукрового діабету. Різні моделі дають змогу дослідникам викликати в експерименті той чи інший тип цукрового діабету, який відповідає ЦД типу 1 та 2 у людей [15, 18, 19]. Основні відмінності між ними наведені у наступній таблиці (табл. 1).

Зупинимось на деяких з тих моделей, які найчастіше використовуються дослідниками та науковцями. Генетичні дефекти в інсулінопродукуючих клітинах, в структурах, які обумовлюють трансдукцію інсулінового сигналу або секреторну функцію ендокриноцитів, можуть бути детально досліджені за допомогою спеціалізованих ліній тварин зі спонтанно отриманими мутаціями або спрямованим нокаутом генів. Тим не менш, найпростішими у відтворенні є негенетичні моделі, в яких використовують гідрофільні β -клітинні глюкозні аналоги, такі як алоксан, стрептозоточин, хлорозоточин, ципрогептадин тощо [5, 8]. Механізм дії цих речовин полягає перш за все у деструкції β -клітин панкреатичного острівця шляхом: 1) генерації вільних радикалів кисню, які порушують цілісність клітини; 2) алкілування ДНК і наступною активацією полі-АТФ-рибозо-синтетази – зниження вмісту NAD у β -клітині; 3) пригнічення активного транспорту кальцію і кальмодулін-активованої протеїнкінази (D.A. Rees, J.C. Alcolado, 2005) [11, 12, 13]. У вказаній категорії експериментальних моделей ЦД використання

стрептозотоцину (N-нітрозопохідне глюкозаміна) є найбільш поширеним (R.M.Cowett, 1994). Залежно від використовуваної в експерименті дози цитотоксину (45-70 мг/кг) і шляху уведення (внутрішньоочередивно або внутрішньовенно), можливе моделювання різних станів вуглеводного обміну, які відповідають певним клінічним типам діабету (змішаний ЦД (тип 1-2) або порушення толерантності до вуглеводів, яке прирівнюють до латентного або прихованого діабету (K. Srinivasan et al., 2007)) [1, 14, 18]. При явному ЦД, який характеризується появою клінічних ознак (гіперглікемія, наявність глюкози у сечі, поліурія, полідипсія, різке зниження маси тіла), достатньо важко вирішити питання про вклад кожного з ланцюгів в патогенетичну ланку його розвитку і кількісно визначити ступінь ушкодження β-ендокриноцитів.

Таблиця 1

Відмінності ЦД типу 1 та типу 2

Ознака	ЦД 1 типу	ЦД 2 типу
Вік при маніфесті	Діти та підлітки	Дорослі
Виникнення	Раптове	Поступове
Статура	Худорлява або нормальна	Часто ожиріння
Ендогенний інсулін	Мало або відсутній	Підвищений, зменшений або нормальний
Поширеність	~10%	~90%

Уперше **експериментальний** цукровий діабет був отриманий у 1889 році. Дж. Мерінг та О. Мінковський повідомили, що видалення підшлункової залози у собаки викликає глюкозурію, поліурію, полідипсію, різке схуднення і слабкість при достатній кількості їжі та води. У своїй роботі автори підкреслювали, що саме видалення підшлункової залози є причиною розвитку діабету. Блискучим підтвердженням цьому стала проведена О. Мінковським пересадка депанкреатизованому собаці під шкіру його власної підшлункової залози. Розвиток діабету при цьому затримувався, а після видалення ауто трансплантату його симптоми знову з'являлися [4].

Упродовж декількох десятиріч років цукровий діабет, викликаний видаленням підшлункової залози, залишався єдиною моделлю цього захворювання. З її допомогою вдавалося з'ясувати деякі особливості дії інсуліну і зміни обміну речовин при його дефіциті. І лише у 1943 році було показано, що уведення **алоксану** тваринам викликає стан, схожий з цукровим діабетом у людей. З того часу інтерес до цієї хімічної сполуки не зменшується, особливо від тоді, коли вчені виявили присутність ендогенного алоксану в крові людини. Вміст алоксану в людей, собак та щурів складає 0,15-0,25 мг% [4, 9, 14]. Уведення глюкози сприяє його збільшенню, що, ймовірно, пояснює ушкодження острівцевих клітин після внутрішньовенного поступлення великих кількостей глюкози. Алоксан є похідним сечовини, блідо-рожевого кольору, розчинний у воді або спиртах, він легко підлягає аутоокисненню з утворенням активних радикалів та викликає селективний некроз β-клітин панкреатичних острівців. Паралельно з самоокисненням молекули подібних ксенобіотиків здійснюється продукція реактивних форм кисню. Алоксановий діабет викликається дворазовим підшкірним уведенням водного розчину алоксангидрату тваринам (кролики, щурі, миші та собаки), які попередньо голодували впродовж доби та за клінічним перебігом відповідає цукровому діабету 1-го типу [4]. Змінюючи дозу алоксану можна викликати різний ступінь пошкодження клітин підшлункової залози. Найчастіше при моделюванні цукрового діабету у щурів одноразова доза алоксану становить 55-65 мг/кг [3, 17]. У випадку його уведення внутрішньоочередивно ефективна доза повинна бути збільшена. Зазвичай, цукровий діабет викликають шляхом одноразового внутрішньоочередивного уведення дослідним щурам алоксану у дозі 100-200 мг/кг маси тіла тварини в 0,1 М цитратному буфері (рН 4,0) після 24-годинного голодування на тлі нормальних показників рівня глюкози крові. Алоксан та продукти його розпаду вступають в цикл перетворень, які закінчуються утворенням супероксидних радикалів, що, в свою чергу, веде до утворення пероксиду водню. Вплив реактивних форм кисню з одночасним масивним зростанням рівня цитозольного кальцію викликають швидку деструкцію β-клітин підшлункової залози, оскільки саме ДНК панкреатичних острівців є однією з мішеней їхньої дії. Недоліками моделювання алоксанового діабету є токсичність речовини, яка уводиться, а також те, що отримані результати клінічно та морфологічно відповідають діабету типу 1 і для отримання діабету типу 2 слід застосовувати іншу експериментальну модель.

Іншою поширеною моделлю цукрового діабету є **стрептозотоциновий** діабет. Діабетогенна дія стрептозотоцину, описана у 1963 році, виявилась побічним ефектом при перевірці у клініці антибактеріальної та протипухлинної активності цього антибіотика [8, 16]. Стрептозотозин являє собою заморожений порошок жовтувато-білого кольору, який зберігається у стерильному посуді. Стрептозотозин попереджує синтез ДНК у бактеріальних клітинах та клітинах ссавців. У бактеріальних клітинах він викликає спеціальну реакцію з цитозиновими групами, результатом якої є дегенерація та деструкція ДНК. Результатом даного біохімічного механізму є клітинна смерть. Стрептозотозин викликає діабет майже у всіх біологічних видів. Діабетогенна доза варіює, оптимальна доза для щурів – 50-70 мг/кг, мишей – 175-200 мг/кг, собак – 15 мг/кг упродовж трьох днів. Стрептозотозин уводиться на стерильному цитратному буфері 0,1 М (рН 4,5-4,8) внутрішньоочередивно або внутрішньовенно [1, 5, 7, 22]. Цікавою особливістю цієї моделі є те, що значна гіперглікемія (верифікується уже через тиждень після уведення стрептозотоцину шляхом забору крові з хвостової вени) розвивається без

істотного зменшення маси тіла. Проте стрептозотоцинова модель ЦД має і деякі недоліки у хронічному експерименті. Зокрема, спонтанне зменшення високого рівня глікемії за рахунок формування активної інсуліноми, а також доволі високий ризик утворення пухлин нирок та печінки у дослідних тварин. Ці проблеми пов'язані перш за все з потужною онкогенною дією вказаного антибіотика.

Є дані (S.H. Vae, 2003), що при збільшенні дози стрептозоточину зменшується вплив інсуліну на утилізацію глюкози та на синтез глікогену в діафрагмі, а тканинна чутливість до інсуліну прогресивно знижується зі збільшенням тривалості перебігу експериментального діабету (до 60 днів), і в кінцевому результаті призводить до розвитку неконтрольованої декомпенсації, пізніх ускладнень, і, як наслідок, у 30-50 % випадків – до загибелі тварин [1]. Оскільки в таких умовах експерименту важко визначити тип отриманого діабету, дослідники шукають нові моделі ЦД. Однією з таких можливостей, за даними літературних джерел, є превентивне уведення нікотинаміду безпосередньо перед інтоксикацією стрептозоточиним, яке мінімізує ушкоджу вальний вплив цитотоксину, і, ймовірно, виявляє цитопротективний вплив на острівці Лангерганса підшлункової залози [1, 2, 12]. Так об'єктивно фіксується розвиток помірної гіперглікемії і відбувається зменшення кількості інсуліну на 40%, а також стабілізація інших клінічних проявів ЦД 2 типу. За даними дослідників (А.А.Спасов, М.В.Воронкова, 2011) уведення нікотинаміду перед стрептозоточиним найбільш повно відповідає моделі ЦД типу-2, що проявляється помірною і стабільною гіперглікемією, присутністю глюкози в сечі, без явищ ацидозу. Аналіз патогістологічних змін острівцевого апарату підшлункової залози і печінки також засвідчує розвиток структурних змін, характерних для ЦД 2-типу. Цікавим є те, що зміни в нирках не супроводжуються розвитком патогномонічних ознак цукрового діабету, однак відкладання IgG вздовж гломерулярної базальної мембрани можуть розцінюватися як ранні прояви діабетичної нефропатії [14, 16].

Негенетичну форму експериментального цукрового діабету типу 2 відтворюють за Islam S., Choi H. (2007), моделюють уведенням дослідним статевозрілим щурам середньою масою 150-200 г стрептозоточину («Sigma», США) внутрішньоочеревинно – 65 мг/кг з попереднім (за 15 хв) навантаженням нікотинамідом (інтраперитонеально – 230 мг/кг). Тварину тримають хвостовим кінцем догори, щоб уникнути пошкодження кишківника. На 14 добу експерименту проводять тест перорального цукрового навантаження (3 г/кг внутрішньошлунково) з забором зразків крові через кожні 30 хв упродовж 2 год. Кількісне визначення глюкози в крові та кетонів у сечі, зазвичай, проводять на 3, 7, 21, 28 добу після уведення цитотоксину. Рівень глюкози піднімається через 5-7 діб і до кінця 3-4 тижня досягає 17-20 ммоль/л (норма 4-6 ммоль/л). подальше зростання рівня глюкози та її високі показники зберігаються щонайменше 3 місяці.

Як повідомляється у джерелах літератури, більше 10 **вірусів** пов'язані з розвитком діабету типу 1 у тварин. Це такі віруси як вірус Коксаки В у мишей і / або приматів, вірус енцефаломіокардиту (EMC1) у мишей, Mengo вірус у мишей, вірус ящуру в свиней і / або великої рогатої худоби, ретровірус у мишей, вірус краснухи у хом'яків та кролів, реовірус у мишей, Kilham-вірус у щурів (KRV1), цитомегаловірус та деякі інші [6, 21]. Серед згаданих вірусів найяскравішу картину експериментального цукрового діабету типу 1 у тварин виявляє вірус EMC у мишей. EMC вірус вважається первинним агентом, який селективно ушкоджує панкреатичні бета-клітини, тоді як KRV вважається пусковим чинником специфічного аутоімунного ушкодження без прямого цитолізу бета-клітин.

KRV – маленький ДНК вірус, який може викликати діабет, провокуючи аутоімунні реакції проти бета-клітини у лінії BioBreeding щурів, резистентних до діабету (DR-BB1). Ці пацюки походять від схильних до діабету попередників, але у них зазвичай ця хвороба не розвивається. Через 2-4 тижні після інфікування KRV у віці 3 тижнів приблизно у 30 % DR-BB щурів розвивається аутоімунний діабет, а ще у 30% щурів виявляють запалення підшлункової залози без розвитку діабету. Досі залишається достеменно не з'ясованим, яким чином KRV викликає руйнування бета - клітин в DR - BB щурів без інфікування цих клітин. У якості механізму для ініціювання специфічного аутоімунного діабету була запропонована молекулярна мімікрія – наявність спільного епітопу між KRV-специфічним пептидом і аутоантигенами бета клітин [4, 6, 21]. Якщо і справді молекулярна мімікрія залучена до процесу аутоімунного запалення бета-клітин підшлункової залози, то антиген-специфічні Т-клітини KRV, утворені пептидами вірусу, можуть вступати у зворотню реакцію з бета-клітинами, атакуючи їх та викликаючи розвиток запального процесу та, поступово, діабет. Проте, пізніше дослідники схилилися до думки, що ключову роль у розвитку діабету в дослідних тварин відіграє співвідношення Th1- та Th2-клітин у щурів (підтипи CD4+ Т-клітин). Th1 – це CD45RC+CD4+ Т-клітини, які продукують IL-2 та IFN- γ та відіграють важливу роль у клітинній імунній відповіді, в той час як Th2 – це CD45RC-CD4+ Т-клітини, які продукують IL-4 та IL-10 і беруть участь у гуморальній імунній відповіді [15, 17, 20].

Іншою моделлю цукрового діабету є **дитізонова**. Захворювання розвивається після внутрішньовенного уведення дитізону, котрий викликає вибіркоче ушкодження (гідропічну дегенерацію та некроз) β -клітин острівців підшлункової залози. Вперше дитізоновий діабет був описаний у 1949 р. Окамото (К. Okamoto). Дитізон, або дифенілтіокарбазон, – дрібнокристалічний порошок синьо-чорного кольору, нерозчинний у воді, але розчинний у більшості органічних розчинників. Частково розчинний у водних розчинах лугів. Цинк, якому відводять важливу роль у патогенезі дитізонового діабету, утворює в результаті взаємодії з дитізоном сіль пурпурово-червоного кольору – дитізонат цинку. За допомогою дитізону можна виявити цинк у розведенні

6. Jun H.S. The role of viruses in Type I diabetes: two distinct cellular and molecular pathogenic mechanisms of virus-induced diabetes in animals / H.S.Jun, J.W.Yoon // Diabetologia. – 2001. – Vol. 44. – P.271-285.
7. King A. J. The use of animal models in diabetes research / A.J. King // Br. J. Pharmacol. – 2012. – Vol.166(3). – P.877-894.
8. Lencioni C. Beta-cell failure in type 2 diabetes mellitus / C.Lencioni, R. Lupi, S.Del Prato // Curr. Diab. Rep. – 2008. – Vol.8. – P. 179-184.
9. Mohan V. Epidemiology of diabetes in different regions of India / V.Mohan, R. Pradeepa // Health Administrator. – 2009. – Vol.22. P. 1-18.
10. Min T. S. Therapy of Diabetes Mellitus Using Experimental Animal Models / T.S. Min, S.H. Park // Asian-Aust. J. Anim. Sci. – 2010. – Vol. 23, No. 5. – P. 672 – 679.
11. Qi, L. Genes, environment, and interactions in prevention of type 2 diabetes: a focus on physical activity and lifestyle changes / L.Qi, F. B. Hu, G. Hu // Curr. Mol. Med. – 2008. – Vol.8. – P.519- 532.
12. Rees D. A. Animal models of diabetes mellitus / D.A.Rees, J.C. Alcolado // Diabet Med. – 2005. – Vol.22(4). – P.359-370.
13. Shapiro A.M. James Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen / A.M. James Shapiro, Jonathan R.T. Lakey // The New England Journal of Medicine. – 2000. – Vol. 343. – No. 4. – P.230-238.
14. Srinivasan K. Animal models in type 2 diabetes research: an overview K. Srinivasan, P.Ramarao // Indian J. Med. Res. – 2007. – No.125. – P. 451-472.
15. Sharma Sh. Experimental models of diabetes / Sharad Sharma, Jaya Dwivedi, Jha A.K. [et al.] // Intern. J. Res. Ayur.Pharm. – 2010. – Vol.1(2). – P.292-301.
16. Saisho Y. Ongoing β -cell turnover in adult nonhuman primates is not adaptively increased in streptozotocin-induced diabetes / Saisho, E. Manesso, A. E. Butler [et al.] // Diabetes. – 2011. – Vol. 60. – No.3. – P. 848–856.
17. Sharma Swapnil Experimental Models of Diabetes: A Comprehensive Review / Radha Sharma, Vivek Dave, Swapnil Sharma [et al.] // International Journal of Advances in Pharmaceutical Sciences. – 2013. – No. 4. – P. 1-8.
18. Von Herrath M. Animal models of human type 1 diabetes / Von Herrath M., G.T. Nepom // Nature Immunol. – 2009. – Vol. 10. – No. 2. – P. 129–132.
19. Wild S. Global prevalence of diabetes: Estimates for the year 2000 and projections for 2030 / S. Wild, G. Roglic, A. Green [et al.] // Diabetes Care. – 2004. – Vol.5. – P. 1047-1053.
20. Wu K.K. Diabetic atherosclerosis mouse models / K.K. Wu, Y.Huan // Atherosclerosis. – 2007. – Vol. 191. – P.241- 249.
21. Young-Hwa Chung Cellular and Molecular Mechanism for Kilham Rat Virus-Induced Autoimmune Diabetes in DR-BB Rats / Chung Young-Hwa, Hee Sook Jun, Mike Son [et al.] // The Journal of Immunology. – 2000. – Vol 1. – P. 2867-2876.
22. Zhang R. Sex differences in mesenteric endothelial function of streptozotocin-induced diabetic rats: a shift in the relative importance of EDRFs / R. Zhang, D. Thor, X. Han [et al.] // American Journal of Physiology. – 2012. – Vol.303. – No.10. – P.1183–1198.

Реферати

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЕЙ САХАРНОГО ДИАБЕТА

Грицюк М.И., Бойчук Т.Н., Петришен А. И.

На основании литературных источников проанализированы современные экспериментальные методики моделирования сахарного диабета. Приведены основные преимущества и недостатки указанных моделей.

Ключевые слова: сахарный диабет, экспериментальные животные, генетические и негенетические модели.

Стаття надійшла 9.03.2014 р.

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF EXPERIMENTAL MODELS OF DIABETES MELLITUS

Grytsiuk M.Iv., Bojchuk T.M., Petryshen O.Iv.

The modern experimental models of diabetes mellitus have been analyzed on the basis of different literature sources. Advantages and disadvantages of the given models are pointed.

Key words: diabetes mellitus, experimental animals, genetic and nongenetic models.

УДК 611.81-071.3-073.7

В. І. Шенітько

ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

НОВІ МОЖЛИВОСТІ КОМП'ЮТЕРНОЇ ТОМОГРАФІЇ В АНТРОПОМЕТРИЧНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ ЧЕРЕПА

В останні роки бурхливого розвитку набуває функціонально-стереотаксична нейрохірургія, інтерстиціальна лазерна термотерапія, ендovasкулярні, екстра назальні малоінвазивні оперативні втручання, навігаційні системи, імплантологія, пластична хірургія, нейротрансплантологія, анатомо-функціональною точкою прикладання яких є головний мозок і мозковий відділ черепа. Метою зазначених технологій є лікування багатьох недугів, серед яких: новоутворення, травми, паркінсонізм, м'язова дистонія, розсіяний склероз, важкі больові синдроми, епілепсія, крововиливи, лор-захворювання та ін. Такі дослідження порівняно з традиційними можуть виявляти значно більше розмаїття індивідуальних анатомічних особливостей і дозволяють формувати повні діапазони анатомічних відмінностей з виділенням крайніх і проміжних форм.

Ключові слова: комп'ютерна томографія, череп, головний мозок, дослідження.

В останні роки бурхливого розвитку набуває функціонально-стереотаксична нейрохірургія, інтерстиціальна лазерна термотерапія, ендovasкулярні, екстра назальні малоінвазивні оперативні втручання, навігаційні системи, імплантологія, пластична хірургія, нейротрансплантологія, анатомо-функціональною точкою прикладання яких є головний мозок і мозковий відділ черепа [12].