7. Azagury A., Khoury L., Enden G., Kost J. Ultrasound mediated transdermal drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2014;75:127-143. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2014.01.007>
8. Pires-De-Campos M. S. M., De Almeida J., Wolf-Nunes V., Souza-Francesconi E., Grassi-Kassisse D. M. Ultrasound associated with caffeine increases basal and beta-adrenoceptor response in adipocytes isolated from subcutaneous adipose tissue in pigs. *Journal of Cosmetic and Laser Therapy*. 2016;18(2):116-123. <https://doi.org/10.3109/14764172.2015.1063659>
9. Park J., Lee H., Lim G. S., Kim N., Kim D. [et al.]. Enhanced Transdermal Drug Delivery by Sonophoresis and Simultaneous Application of Sonophoresis and Iontophoresis. *AAPS PharmSciTech*. 2019;20(3):96. <https://doi.org/10.1208/s12249-019-1309-z>
10. Maresca D., Lakshmanan A., Abedi M., Bar-Zion A., Farhadi A. [et al.]. Biomolecular ultrasound and sonogenetics. *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering*. 2018;9(1):229-252. <https://doi.org/10.1146/annurev-chembioeng-060817-084034>
11. Ушаков Р. В., Ушаков А. Р., Дьяконова М. С. Применение препаратов гиалуроновой кислоты Ревидент в хирургической стоматологии. *Медицинский алфавит*. 2017;(24):47-50. [Ushakov R. V., Ushakov A. R., D'jakonova M. S. Primenenie preparatov gialuronovoy kisloty Revident v hirurgicheskoy stomatologii. *Medicinskij alfavit*. – *Medical alphabet*. 2017;(24):47-50. (In Russ.)].
12. Хабриев Р. У., Камаев Н. О., Данилова Т. И., Кахожан Е. Г. Особенности действия гиалуронидаз различного происхождения на соединительную ткань. *Биомедицинская химия*. 2016;62(1):82-88. [Habrieiev R. U., Kamaev N. O., Danilova T. I., Kahojan E. G. Osobennosti dejstviya gialuronidaz razlichnogo proishozhdeniya na soedinitelnuju tkan. *Biomedicinskaja himija*. – *Biomedical chemistry*. 2016;62(1):82-88. (In Russ.)].
13. Петров И. Ю., Ларионов Е. В., Ипполитов Ю. А., Бут Л. В., Петров А. И. Морфогистохимические исследования остеопластического материала на основе гиалуроновой кислоты, хондроитинсульфата и недеминерализованного костного коллагена для восстановления костных дефектов в эксперименте. *Вестник новых медицинских технологий*. 2018;(3):41-46. [Petrov I. Yu., Larionov E. V., Ippolitov Yu. A., But L. V., Petrov A. I. Morfogistohimicheskie issledovanija osteoplasticheskogo materiala na osnove gialuronovoy kisloty, hondroitinsulfata i nedemineralizovannogo kostnogo kollagena dlja vosstanovlenija kostnyh defektov v jeksperimente. *Vestnik novyh medicinskih tehnologii*. – *Bulletin of new medical technologies*. 2018;(3):41-46. (In Russ.)].

Сведения об авторах:

Щетинин Евгений Вячеславович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии; тел.: 88652352524; e-mail: ev.cliph@rambler.ru; <http://orcid.org/0000-0001-6193-8746>

Сирак Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой стоматологии; тел.: 88652350551; e-mail: sergejsirak@yandex.ru

Петросян Григорий Григорьевич, кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической физиологии; тел.: 88652352684; e-mail: ev.cliph@rambler.ru

Кочкарова Зухра Магомедовна, аспирант кафедры гистологии; тел.: 88652352628; e-mail: azrch_1991@rambler.ru

Андреев Антон Александрович, аспирант кафедры стоматологии; тел.: 88652350551; e-mail: kafedra@mail.ru

Гарус Яна Николаевна, доктор медицинских наук, профессор кафедры пропедевтики стоматологических заболеваний; тел.: 88652352628; e-mail: garus_an@yandex.ru

Перикова Мария Григорьевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры стоматологии; тел.: 88652350551; e-mail: masha.perikova@yandex.ru

© Коллектив авторов, 2019

УДК 616.379

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14030>

ISSN – 2073-8137

ОСОБЕННОСТИ ПРОТЕКАНИЯ АЛЛОКСАН-ИНДУЦИРОВАННОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ КРЫС

К. С. Эльбекьян, А. Б. Ходжаян, Ф. А. Биджиева,
М. Г. Гевандова, Е. В. Маркарова, Е. И. Дискаева

Ставропольский государственный медицинский университет, Россия

PECULIARITIES OF ALLOXAN-INDUCED DIABETES MELLITUS IN EXPERIMENTAL RATS

Elbekyan K. S., Khodzhayan A. B., Bidzhiyeva F. A.,
Gevandova M. G., Markarova E. V., Diskaeva E. I.

Stavropol State Medical University, Russia

Проведен анализ специфичности и выраженности воспроизведения экспериментальной модели сахарного диабета первого типа на крысах-самцах линии Вистар. При введении аллоксана в дозе 150 мг/кг выявлен диабетико-уремический синдром. Соотношение животных с синдромом высокой и низкой уремической чувствительностью к препарату составило 31 и 24 % соответственно. У этих групп изучался липидный и углеводный обмены, про- и анти-

оксидантный статус, уровень гормона кортикостерона, а также активность АСТ и АЛТ. Полученные нами результаты позволяют более детально изучать динамику развития патологического состояния и исследовать способы ее модуляции различными соединениями.

Ключевые слова: сахарный диабет, аллоксан, чувствительность к аллоксану, эндокринные и обменные нарушения

In this article was carried analysis of specificity and expressiveness of reproduction of an experimental model of a diabetes of the first phylum on rats-males of a line of Vistar. With the introduction of alloxan in a dose of 150 mg/kg revealed diabetic-uremic syndrome. The ratio of animals with a syndrome of high and low uremic sensitivity to the drug was 31 and 24 %, respectively. In these groups, lipid and carbohydrate metabolism, pro- and antioxidant status, the level of the hormone corticosterone, as well as the activity of AST and ALT were studied. The results we obtained allow us to study in more detail the dynamics of the development of the pathological state and the study of the methods of its modulation with various compounds.

Keywords: diabetes, alloxan, alloxan sensitivity, endocrine and metabolic disorders

Для цитирования: Эльбекьян К. С., Ходжаян А. Б., Биджиева Ф. А., Гевандова М. Г., Маркарова Е. В., Дискаева Е. И. ОСОБЕННОСТИ ПРОТЕКАНИЯ АЛЛОКСАН-ИНДУЦИРОВАННОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ КРЫС. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2019;14(1.2):264-267. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14030>

For citation: Elbekyan K. S., Khodzhan A. B., Bidzhiyeva F. A., Gevandova M. G., Markarova E. V., Diskaeva E. I. PECULIARITIES OF ALLOXAN-INDUCED DIABETES MELLITUS IN EXPERIMENTAL RATS. *Medical News of North Caucasus*. 2019;14(1.2):264-267. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14030> (In Russ.)

АКТГ – адренокортикотропный гормон
АЛТ – аланинаминотрансфераза
АСТ – аспартатаминотрансфераза
ВУЧ – высокая уремическая чувствительность
ЛПНП – липопротеины низкой плотности

ЛПВП – липопротеины высокой плотности
МДА – малоновый диальдегид
НУЧ – низкая уремическая чувствительность
СОД – супероксиддисмутаза
ТГ – триглицериды

Модели сахарного диабета, полученные на животных, используют для понимания механизма действия различных препаратов, в том числе и антидиабетических. Чтобы избежать ошибочных результатов, требуется определенная осторожность при выборе модели и дозы препарата для получения экспериментального диабета. Важно объективно оценить достоинства и недостатки каждой модели в соответствии с поставленной целью [1].

На сегодняшний день известны четыре основных типа моделей: 1) хирургическая, в которой проводится удаление поджелудочной железы (полное или частичное); 2) химическая, связана с применением веществ, избирательно воздействующих на β -клетки островков Лангерганса; 3) эндокринная, предполагающая длительное введение гормонов аденогипофиза, соматотропного гормона, АКТГ, или модель, в которой применяется введение животным антител против инсулина; 4) генетическая – использование животных с наследственно обусловленной формой сахарного диабета [2, 3]. На современном этапе в экспериментальной диабетологии наибольшее распространение получила химическая модель сахарного диабета, в которой используются вещества, разрушающие β -клетки островков Лангерганса [4, 5].

Целью работы является анализ специфичности и выраженности воспроизведения экспериментальной модели сахарного диабета первого типа с помощью аллоксан-тетрагидрата на животных.

Материал и методы. В работе использовались 50 крыс-самцов линии Wistar массой 120–150 г, разделенных на 2 группы: первая – контрольная группа, вторая – животные, получающие аллоксан в дозе 150 мг/кг. Развитие заболевания регистрировали по клинической симптоматике (полиурия, полидипсия, полифагия, снижение веса) и уровню глюкозы в крови. Также изучали основные биохимические сдвиги в сыворотке крови.

Для оценки суточных величин диуреза и глюкозурии проводили сбор мочи индивидуально у каждой крысы с использованием мочесборников. Концентрацию глюкозы, общего холестерина, ЛПНП, ЛПВП и ТГ определяли с помощью биохимического анализатора «Cardiochek PA» (США) в течение 4 недель эксперимента. Забор крови для исследования уровня гликемии проводили из надреза кончика хвоста. Уровень гликозилированного гемоглобина в крови крыс определяли при помощи коммерческого набора (Чехия).

Про- и антиоксидантный статус, уровень гормона кортикостерона, а также активность ферментов АЛТ и АСТ определяли колориметрически при помощи соответствующих коммерческих наборов (США).

Различия показателей оценивалось методом вариационной статистики по t-критерию Стьюдента и считалось достоверным при $p < 0,05$. Все животные находились в стандартных условиях вивария без ограничения доступа к воде и пище.

Результаты и обсуждение. После введения аллоксан-тетрагидрата в дозе 150 мг/кг наблюдалось несколько фаз изменений содержания глюкозы крови: первая фаза – гипергликемическая, достигающая максимума в течение первых часов; вторая – гипогликемическая, которая в основном проявлялась на протяжении первых суток, третья фаза – фаза стойкой гипергликемии.

Первые признаки диабета проявлялись в виде резкого увеличения потребления воды до 120 мл, полифагии, полиурии, гипергликемии, резкой потери в весе, выпадении шерсти. Кроме вышеуказанных признаков, на разных этапах эксперимента наблюдались язвы голени, гангрена хвоста. В результате гипергликемической и гипогликемической комы в разные сроки развития аллоксанового диабета погибло 15 % животных. В течение первых суток эксперимента по-

сле введения аллоксана проявилась гетерогенность животных к нему. Животные, у которых диурез повышался с первых суток после введения препарата и оставался таким практически до конца эксперимента (32–107 мл/сут), отнесли к группе с высокой уремической чувствительностью (ВУЧ), а крыс, у которых на 15-е сутки диурез снижался до практической нормы (12–14 мл/сут), – с низкой уремической чувствительностью (НУЧ). В итоге соотношение крыс с синдромом высокой и низкой уремической чувствительностью к аллоксану составило 31 и 24 % соответственно (табл. 1).

Таблица 1
Динамика суточного диуреза и глюкозурии у крыс с различной чувствительностью к диабетогенному действию аллоксана

Показатель	Контроль	Интервал времени (сутки) после введения аллоксана	Животные после введения аллоксана (150 мг/кг)	
			НУЧ	ВУЧ
Диурез, мл/сут	10,00±1,00	1	12,08±1,54	32,01±1,91*
		5	20,33±2,14	43,15±2,19*
		10	16,00±2,38	65,54±1,95*
		15	11,92±1,45	87,54±2,45*
		25	13,75±2,12	107,17±3,29*
Глюкозурия, г/сут	0,002±0,001	1	1,22±0,18	0,18±0,02
		5	2,23±0,27	3,59±0,10
		10	0,08±0,01	5,37±0,15
		15	0,09±0,02	10,70±0,63
		25	0,010±0,005	9,72±0,59

* Достоверность различий при сравнении показателей экспериментальных групп с контрольными при $p < 0,05$.

Следует заметить, что величина глюкозурии у всех животных резко увеличилась уже в первые сутки после введения аллоксана. Однако у крыс из группы с НУЧ на 15-е сутки эксперимента содержание глюкозы в моче снижалось до 0,09±0,02, а у крыс с ВУЧ оставалось стабильно высоким до конца эксперимента (табл. 1).

Моделирование диабета приводило к заметным изменениям основных биохимических показателей. На 25-е сутки эксперимента содержание глюкозы оказалось на 46 % выше у животных с НУЧ и на 54,1 % – с ВУЧ. Уровень гликозилированного гемоглобина оказался достоверно высоким в обеих группах, однако в группе с ВУЧ его содержание было больше в 1,6 раза в сравнении с данными группы с НУЧ ($p < 0,05$).

Введение аллоксана привело к нарушению липидного обмена, которое выражалось повышением содержания в плазме крови: общего холестерина – на 9 % у крыс с НУЧ и на 25 % с ВУЧ, триглицеридов – на 58 и 41 % (соответственно). ЛПНП увеличились в 2 и 3 раза у крыс с НУЧ и ВУЧ соответственно, а ЛПВП в 1,2 и 1,3 раза соответственно. Содержание НЭЖК в обеих группах превышало в два раза данные контрольной группы (табл. 2).

К концу эксперимента содержание МДА достоверно высоким оказалось в обеих группах по сравнению с аналогичным показателем у контрольных крыс (табл. 3). В этот период наблюдалось увеличение активности антиоксидантных ферментов, которые создают мощную систему защиты от свободных радика-

лов – каталазы и СОД, в сыворотке по сравнению с контрольными животными ($p < 0,05$).

Таблица 2
Показатели липидного обмена в сыворотке крыс с разной чувствительностью к диабетогенному действию аллоксана

Показатель	Контрольные крысы	Крысы после введения аллоксана (n=36)	
		НУЧ (n=12)	ВУЧ (n=24)
Холестерол, ммоль/л	2,12±0,11	2,32±0,15*	2,81±0,29*
ТГ, ммоль/л	1,12±0,24	1,77±0,19*	1,58±0,17*
ЛПНП, %	1,34±0,12	2,67±0,15*	3,64±0,20*
ЛПВП, %	1,19±0,09	1,39±0,19*	1,52±0,13*
НЭЖК	0,87±0,13	1,79±0,13 *	1,91±0,17*

* Достоверность различий при сравнении показателей экспериментальных групп с контрольными при $p < 0,05$.

Таблица 3
Показатели состояния про- и антиоксидантной системы, кортикостерона и аминотрансфераз в сыворотке крыс с разной чувствительностью к диабетогенному действию аллоксана

Показатель	Контрольные крысы	Крысы после введения аллоксана (n=36)	
		НУЧ (n=12)	ВУЧ (n=24)
МДА, ммоль/мл	3,72±0,16	4,80±0,41*	7,5±0,41*
Активность каталазы, мкат/л	2,25±0,09	3,45±0,11*	4,55±0,12*
Активность СОД, ед.	2,55±0,16	3,65±0,04*	5,25±0,02*
АСТ, Е/л	58,10±3,20	60,20±1,24	145,00±1,54*
АЛТ, Е/л	70,00±1,00	73,00±1,50	150,0±2,9*
Кортикостерон, нг/мл	5,03±0,17	5,51±0,21*	8,55±1,12*

* Достоверность различий при сравнении показателей экспериментальных групп с контрольными при $p < 0,05$.

При развитии заболевания усугубляющим фактором у животных с ВУЧ, но не НУЧ, является нарушение функции печени, что подтверждается высокой активностью АСТ (в 2,5 раза) и АЛТ (в 2,1 раза) ($p < 0,05$).

Таким образом, при моделировании сахарного диабета с использованием аллоксана нами была выявлена выраженная вариабельность в индивидуальной чувствительности к препарату. Острая фаза заболевания, сопровождавшаяся значительным увеличением суточного потребления воды, полиурией, полифагией, гипергликемией, уменьшением веса, выпадением волосяного покрова, уже проявлялась гетерогенностью животных к аллоксану. Основным механизмом действия аллоксана является образование активных форм кислорода, которые приводят к разрушению β -клеток Лангерганса поджелудочной железы, имеющих низкую антиоксидантную защиту [3, 6]. Течение аллоксанового диабета ассоциировано с выраженностью активации адrenoкортикальной системы [7], что позволяет говорить о важной роли реактивности этой гормональной системы в механизмах возникновения

сахарного диабета первого типа после первоначального повреждения инсулин-продуцирующей функции островков Лангерганса поджелудочной железы.

Заключение. При моделировании сахарного диабета первого типа с применением аллоксана экспериментальные животные – крысы линии Wistar – проявляют выраженную вариабельность в индивидуальной чувствительности к его диабетогенному действию цитотоксических аналогов глюкозы. Это может быть связано в первую очередь с отличиями в состоянии про- и антиоксидантного баланса, определяющего степень повреждения островкового аппарата, с активностью процессов восстановления структуры и функции поджелудочной железы, а также со степенью активации глюкокортикоидной функции надпочечников.

Литература/References

1. Баранов В. Г. Экспериментальный сахарный диабет: монография. Л.: Наука; 1983. [Baranov V. G. Experimental diabetes mellitus: monograph. L.: Science; 1983. (In Russ.)].
2. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*. 2008;51(2):216-226. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0886-7>
3. Закирьянов А. Р., Плахотный М. А., Онищенко Н. А. Диабетические осложнения у крыс при длительных сроках моделирования сахарного диабета 1-го типа. *Патологическая физиология, экспериментальная терапия*. 2007;(4):21-25. [Zakiryaynov A. R., Plakhotny M. A., Onishchenko N. A. Diabetic complications in rats in long term modeling of diabetes mellitus of the 1st type. *Patologicheskaya fiziologiya, ehksperimentalnaya terapiya*. – *Pathological Physiology, Experimental therapies*. 2007;(4):21-25. (In Russ.)].
4. Gati M. A. Physiological and histological study of experimental diabetes mellitus by alloxan. *International Journal of Advanced Research*. 2016;4(3):1814-1818.

Информированное согласие: Экспериментальные исследования проведены в полном соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики (изложенными в национальном стандарте «Принципы надлежащей лабораторной практики» ГОСТ Р 53434–2009), с соблюдением Международных принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей (Страсбург, 1986), Правил лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003) и наличием положительного заключения этического комитета.

Конфликт интересов. Все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

5. Behr G. A., da Silva E. G., Romanelli A. Pancreas b-cells morphology, liver antioxidant enzymes and liver oxidative parameters in alloxan-resistant and alloxan-susceptible Wistar rats: a viable model system for the study of concepts into reactive oxygen species. *Fundamental & Clinical Pharmacology*. 2008;22:657-666. <https://doi.org/10.111/j.1472-8206.2008.00628.x>
6. Mathews C. E., Leite E. H. Constitutive differences in antioxidant defense status distinguish alloxan-resistant and alloxan-susceptible mice. *Free Radical Biology and Medicine*. 1999;27(3-4):449-455.
7. Selyatitskaya V. G., Palchikova N. A., Kuznetsova N. V. Adrenocortical system activity in alloxan-resistant and alloxan-susceptible Wistar rats. *Journal of Diabetes Mellitus*. 2012;2(2):165-169. <https://doi.org/10.4236/jdm.2012.22026>

Сведения об авторах:

Эльбекьян Карине Сергеевна, доктор биологических наук, доцент, заведующая кафедрой общей и биологической химии; тел.: 88652353683; e-mail: karinasgma@inbox.ru

Биджиева Фатима Асхатовна, старший преподаватель кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии; тел.: 88652352967; e-mail: opsurg@stgmu.ru

Гевандова Маргарита Грантовна, кандидат медицинских наук, заведующая кафедрой биологии с экологией; тел.: 88652353442; e-mail: kafedrabiologii@stgma.ru

Маркарова Евгения Викторовна, ассистент кафедры общей и биологической химии; тел.: 88652353683; e-mail: obiochem@stgmu.ru

Ходжаян Анна Борисовна, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры биологии; тел.: 89624037395; e-mail: uchpro@stgmu.ru

Дискаева Елена Игоревна, кандидат физико-математических наук, доцент, заведующая кафедрой физики и математики; тел.: 88652352721; e-mail: e_diskaeva@mail.ru