

## ВЛИЯНИЕ ЛИМИГЛИДОЛА НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОСТРОВКОВОГО АППАРАТА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ЖИВОТНЫХ СО СТРЕПТОЗОТОЦИНОВЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

*А. А. Спасов, К. В. Ленская, Г. Л. Снигур*

*Волгоградский государственный медицинский университет,  
кафедра фармакологии, кафедра биологии,  
Волгоградский медицинский научный центр*

Исследовано влияние лимиглидола на морфологические особенности островкового аппарата поджелудочной железы *in vivo*. На модели стрептозотоцинового сахарного диабета (СД) при курсовом введении лимиглидол корректировал уровень гликемии и статистически незначимо увеличивал удельное количество  $\beta$ -эндокриноцитов.

*Ключевые слова:* сахарный диабет, лимиглидол, инкретины, регенерация  $\beta$ -клеток.

## INFLUENCE OF LIMIDOL ON THE MORPHOLOGICAL FEATURES OF PANCREATIC ISLET APPARATUS IN ANIMALS WITH STREPTOZOTOCIN DIABETES

*A. A. Spasov, K. V. Lenskaya, G. L. Snigur*

We studied the effect of limiglidol on the morphological features of pancreatic islet *in vivo*. When a streptozotocin-induced diabetes mellitus (DM) model was used the course administration of limiglidol reduced the blood glucose level and yielded a statistically insignificant increase in the specific amount of  $\beta$ -cells.

*Key words:* diabetes mellitus, limiglidol, incretins,  $\beta$ -cell regeneration.

Известно, что структуры бензимидазола входят в состав некоторых лекарственных средств и биологически активных веществ, проявляющих различные виды фармакологической активности [11]. Одно из соединений этой группы — лимиглидол (лабораторный шифр РУ-254) [3] — гипогликемическое средство, усиливающее секрецию инсулина [4]. На основании ранее проведенных исследований установлено, что гипогликемический эффект этого соединения, обнаруженный на интактных животных и животных с аллоксановым диабетом, связан с его поливалентным механизмом действия: усилением секреции инсулина [4], увеличением утилизации глюкозы периферическими тканями и пролонгацией гипогликемического эффекта инсулина [10]. То есть механизм гипогликемического действия лимиглидола определяется его панкреотропными и экстрапанкреотропными эффектами. Проведена третья фаза клинических испытаний, в которых была подтверждена гипогликемическая активность лимиглидола [2]. Были опубликованы данные о том, что это соединение является ингибитором ДПП-4 [5]. Установлено, что для всех ингибиторов ДПП-4 характерно влияние на регенерацию  $\beta$ -клеток поджелудочной железы [9]. Исходя из вышеизложенного, представляется интересным проверить влияние препарата лимиглидола на регенерацию  $\beta$ -клеток, при стрептозотоциновой интоксикации.

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить влияние соединения лимиглидола на гипогликемическую активность и изменение островково-

го аппарата поджелудочной железы крыс после стрептозотоциновой интоксикации.

### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводили на 70 половозрелых нелинейных белых крысах самцах массой 250—300 г, содержащихся в условиях вивария с естественным световым режимом, на полноценном рационе. В работе использовали таблетированную лекарственную форму лимиглидола (дигидрохлорид 9-диэтиламиноэтил-2,3-дигидроимидазо[1,2- $\beta$ ]бензимидазола) 100 мг («ОАО Акрихин», Россия; лаб. № 540213).

Гипогликемическое действие изучали на животных со стрептозотоцин-индуцированным сахарным диабетом (стрептозотоксин 45 мг/кг, однократно в/в на цитратном буфере рН = 4,5) (Sigma, США) [1]. Гипогликемическое действие субстанции лимиглидола изучали при ежедневном введении животным внутрь в дозе 50 мг/кг в течение 28 дней. Уровень глюкозы в плазме крови оценивали с помощью набора «Глюкоза ФКД» (Россия) [7]. Динамику изменений уровня глюкозы в плазме крови крыс оценивали еженедельно. Тест толерантности к глюкозе проводили при пероральной нагрузке глюкозой (ч. д. а., «Экрос», Россия) в дозе 3 г/кг на 7, 14, 21 и 28-е сутки курсового введения. Перед началом эксперимента (за 12 ч) животным проводили пищевую депривацию со свободным доступом к воде. За 2 ч до проведения теста опытным животным перорально вводили исследуемое вещество (лимиглидол), контрольным группам крыс — дистиллированную воду в аналогичном объеме. Образцы крови для оценки гликемии забирали до введения препаратов,

через 2 ч после введения препарата, через 30 минут после введения глюкозы и потом в течение 2 ч с 30-минутными интервалами. Уровень глюкозы определяли в цельной крови вышеуказанным способом. Скорость утилизации глюкозы оценивали исходя из степени снижения площади под кривой содержания «глюкоза — время» [6]. Данные обрабатывались статистически с использованием пакета программ «Statistica 6.0» (StatSoft, США).

Для гистологического исследования ткань поджелудочной железы разделяли на три фрагмента — кишечный, желудочный и селезеночный. Полученный материал фиксировали в 10%-м растворе нейтрального забуференного формалина (рН = 7,4) в течение 24 ч. На ротормном микротоме изготавливали срезы толщиной 5—6 мкм и монтировали их на предметные стекла с поли-L-лизинном. Для обзорных целей микропрепараты окрашивали гематоксилином и эозином по общепринятым гистологическим методикам [8].

Для выявления β-эндокриноцитов островков Лангерганса использовали первичные моноклональные антитела к инсулину [клон Ab-6 (INS04 + INS05), LabVision, Великобритания]. Иммуногистохимическое исследование проводили в соответствии с протоколами фирм производителей антител без предварительной демаскировки антигенов с использованием системы детекции «UltraVision» (LabVision, Великобритания) и хромогеном — диаминобензидином с докраской гематоксилином. Достоверность полученных результатов контролировали с помощью позитивных и негативных контролей антигенов, а также негативных контролей антител. В ходе иммуногистохимической реакции определяли удельное количество инсулин-позитивно окрашенных клеток по визуально-аналоговой шкале D. C. Allred, et al. (1998). Фотопротоколирование микроскопических изменений производили с использованием микроскопа «AxioScope» (CarlZeiss, Германия) и цифровой фотокамеры «PowerShot» (Canon, Япония).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе эксперимента было выявлено, что изучаемое соединение оказывает выраженный гипогликемический эффект. При проведении теста толерантности к глюкозе на 7-й день было выявлено стойкое

снижение уровня глюкозы в крови крыс со стрептозотоциновым СД, получавших лимиглидол, площадь под кривой уменьшалась на 34 % по сравнению с контрольной группой. Данная тенденция отмечалась на протяжении четырех недель эксперимента и на 28-й день достигла максимума, площадь под кривой снижалась на 47 % по сравнению с контрольной группой крыс с СД. Данные достоверно подтверждались показателем площади под кривой «глюкоза — время» (табл. и рис. 1).

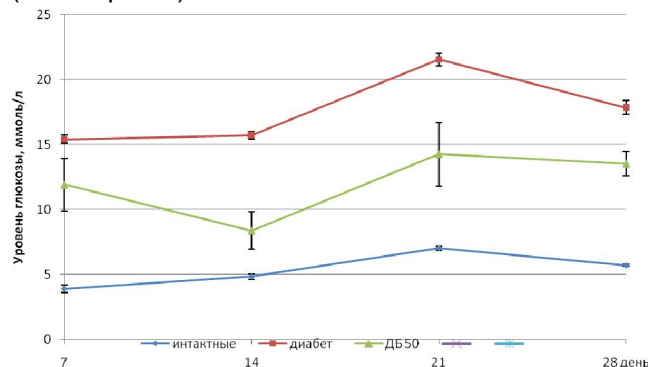


Рис. 1. Влияние лимиглидола в дозе 50 мг/кг (внутри) на показатель теста углеводной нагрузки (3 г/кг) — площадь под кривой, у. е.

При морфологическом исследовании в контрольной интактной группе панкреатические островки во всех отделах поджелудочной железы имели округлую или слегка овальную форму и располагались поодиночке или группами из нескольких островков преимущественно рядом с внутريدольковыми выводными протоками. Центральные отделы островков Лангерганса состояли преимущественно из инсулин-позитивных клеток с накоплением в цитоплазме большого количества иммунопозитивного материала (рис. 2). Деструктивные и воспалительные изменения отсутствовали.

При моделировании стрептозотоцин-индуцированного СД в поджелудочной железе отмечалось незначительное полнокровие кровеносных капилляров, умеренная очаговая лимфогистиоцитарная инфильтрация островков — «инсулит», некробиотические изменения эндокриноцитов островков Лангерганса и умеренная гипертрофия ядер функционирующих β-клеток. Панкреа-

### Влияние лимиглидола в дозе 50 мг/кг на уровень глюкозы (ммоль/л) крыс со стрептозотоциновым экспериментальным диабетом, при пероральном тесте толерантности к глюкозе (3 г/кг) (28-й день), $M \pm m$

Группы животных	Исход	90 мин	120 мин	Площадь под кривой «Глюкоза-время», у. е.
Интактные	3,52 ± 0,25	7,83 ± 0,18	6,92 ± 0,3	932,52 ± 186,60
Диабет	20,24 ± 0,97	24,49 ± 0,95*	23,66 ± 0,96*	2656,47 ± 210,91*
Лимиглидол	13,75 ± 2,81	15,02 ± 3,01**	13,34 ± 2,7**	1610,59 ± 318,55**

\*Достоверно по отношению к контролю, критерий Стьюдента ( $p \geq 0,05$ );

\*\*достоверно по отношению к группе с экспериментальным сахарным диабетом, критерий Стьюдента ( $p \geq 0,05$ ).

тические островки имели округлую, овальную или неправильную форму. Иммунопозитивный материал располагался неравномерно, с преимущественным накоплением в единичных группах клеток панкреатических островков (рис. 2). Количество инсулин-позитивных клеток уменьшалось во всех отделах железы, а в отдельных островках инсулиноциты отсутствовали.

При введении субстанции лимиглидола животным с моделью стрептозотоцин-индуцированного СД в поджелудочной железе отмечалась мозаичная морфологическая картина. Часть островков Лангерганса сохраняли округлую форму, часть были неправильной формы. В островках выявлялись явления умеренного полнокровия кровеносных капилляров с очаговой инфильтрацией островков лимфоцитами и гистиоцитами. Отмечалась выраженная гипертрофия ядер  $\beta$ -эндокриноцитов. Визуализировались некробиотические изменения инсулиноцитов (в отдельных островках вплоть до полного отсутствия). В некоторых островках сохранялись единичные разрозненные инсулин-позитивные клетки (рис. 2).

Таким образом, на основании морфологического исследования можно сделать заключение, что развитие стрептозотоцин-индуцированного сахарного диабета сопровождается характерными патогистологическими изменениями островкового аппарата поджелудочной железы в виде воспаления (инсулита), некробиоза инсулиноцитов и уменьшения количества  $\beta$ -эндокриноцитов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных исследований установлено, что в условиях экспериментального сахарного диабета лимиглидол уменьшает содержание сахара в крови и статистически значительно снижает показатель теста толерантности к глюкозе. При длительном введении препарата лимиглидола отмечается незначительное увеличение удельного количества  $\beta$ -эндокриноцитов в желудочном и кишечном отделах. Кроме того, лимиглидол препятствует развитию воспалительных и деструктивных изменений островкового аппарата под-

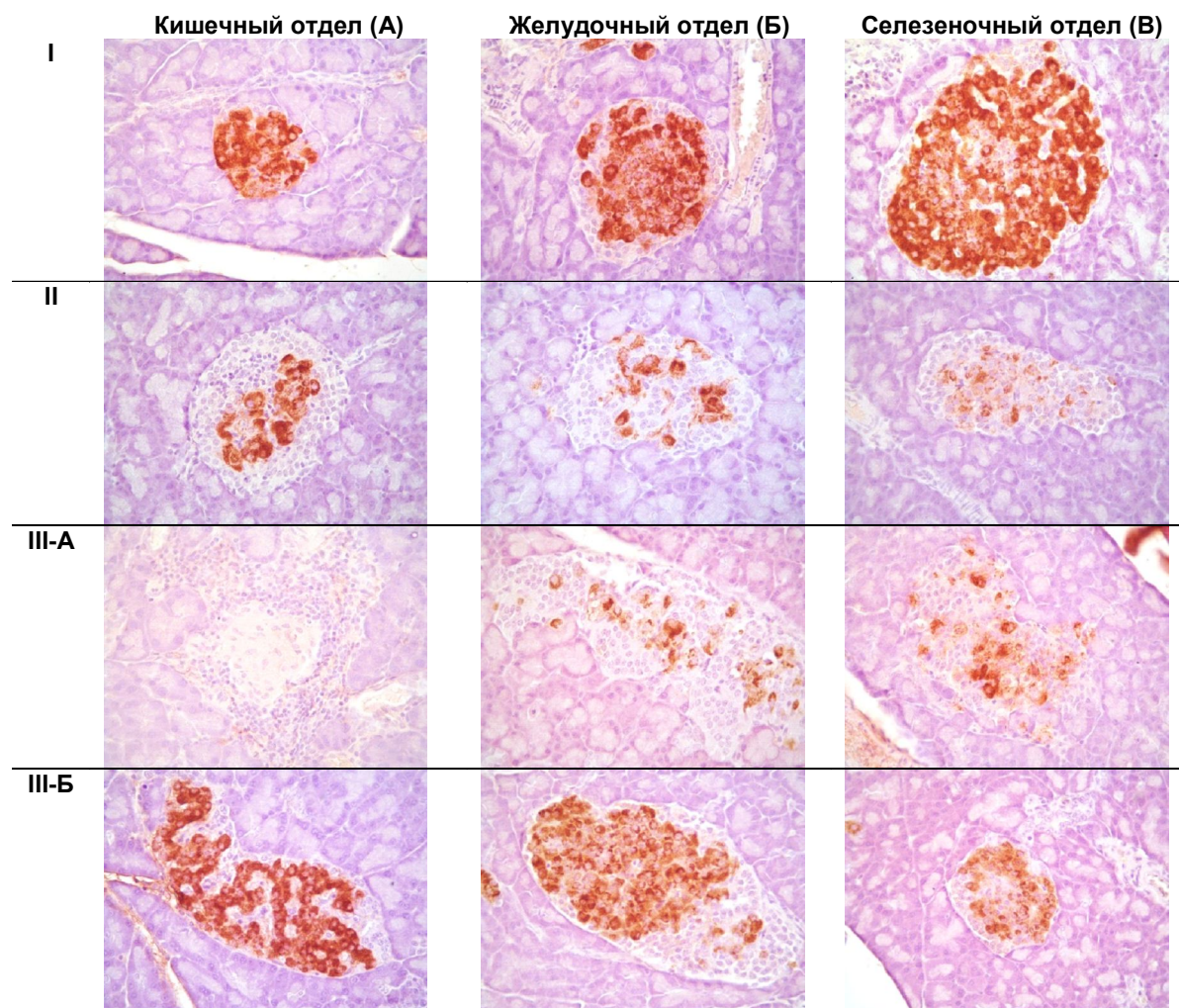


Рис. 2. Распределение  $\beta$ -клеток по панкреатическим островкам:

I — интактный контроль, II — стрептозотоцин-индуцированный СД, III-A — стрептозотоцин-индуцированный СД + коррекция (единичные инсулин-позитивные клетки), III-B — стрептозотоцин-индуцированный СД + субстанция. Первичные антитела к инсулину, визуализация ДАБ с докраской гематоксилином. Начальное ув. x 400

желудочной железы. Известно, что инкретиномиметический эффект напрямую связан с увеличением  $\beta$ -клеток поджелудочной железы [12]. Установлено, что вероятно для соединения лимиглидола периферический механизм гипогликемического действия не связан с влиянием на инкретины, так как не выявлено действие на пролиферацию  $\beta$ -клеток. Обращает на себя внимание тот факт, что под влиянием лимиглидола отмечается выраженная гипертрофия ядер сохранившихся  $\beta$ -эндокриноцитов. Эти данные совпадают с ранее проведенными исследованиями на интактных животных и являются косвенным доказательством инсулиногенного эффекта лимиглидола [4].

## ЛИТЕРАТУРА

1. Баранов В. Г. Экспериментальный сахарный диабет. — Л., 1983. — 300 с.
2. Дедов И. И., Балаболкин М. И., Спасов А. А. и др. // Материалы IV Всероссийского диабетологического конгресса. — М., 2008. — С. 35—36.
3. Дудченко Г. П., Спасов А. А., Гурова Н. А. // Вестник Волгоградской медицинской академии. — 2000. — № 6. — С. 46—49.
4. Дудченко Г. П., Турчаева А. Ф., Ковалев С. Г. // Вестник Волгоградской медицинской академии. — 1995. — № 1. — С. 33—36.
5. Ингибирующее дипептидилпептидазу IV средство и фармацевтическая композиция на его основе: Пат.

2485952 Российская Федерация / Н. Н. Золотов, В. М. Креминская; правообладатель ОАО «Химико-фармацевтический комбинат «АКРИХИН»; заявл. 18.08.2011, опубл. 27.06.2013.

6. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. — М.: Гриф и К, 2012.

7. Северин С. Е. Практикум по биохимии: учеб. пособие / С. Е. Северин, Г. А. Соловьева. — 2-изд., перераб. и доп. — М.: Изд-во МГУ, 1989. — 509 с.

8. Снигур Г. Л. Лекарственный патоморфоз экспериментального сахарного диабета / Г. Л. Снигур, А. В. Смирнов, А. А. Спасов, М. П. Воронкова // Вестник новых медицинских технологий. — 2011. — Т. XVIII. — № 2. — С. 169—173.

9. Спасов А. А., Воронкова М. П., Снигур Г. Л. Экспериментальная модель сахарного диабета типа 2 // Биомедицина. — 2011. — № 3, т. 1.

10. Спасов А. А., Иежица И. Н., Бугаева Л. И. и др. // Хим.-фарм. журнал. — 1999. — № 33 (5). — С. 6—13.

11. Barker H. A., Smyth R. D., Weissbach H., et al. // J. Biol. Chem. — 1960. — № 235 (2). — P. 480—488.

12. Buteau J. // Diabetes & Metabolism. — 2008. — № 34. — P. 73—77.

## Контактная информация

**Ленская Карина Владимировна** — ассистент кафедры фармакологии, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: karinavl@yandex.ru

УДК 616.12-001.8

## СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СРОКА ЧРЕСКОЖНЫХ КОРОНАРНЫХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ

*Р. Л. Шамраев, Ю. М. Лопатин*

*Волгоградский государственный медицинский университет, кафедра кардиологии с функциональной диагностикой ФУВ*

В статье представлены результаты собственных исследований, посвященных сравнительной характеристике больных с острым коронарным синдромом, в зависимости от срока чрескожных коронарных вмешательств.

**Ключевые слова:** острый коронарный синдром (ОКС), чрескожные коронарные вмешательства (ЧКВ), реваскуляризация, коронарография, стентирование, антитромбоцитарная терапия.

## COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROME DEPENDING ON THE TIME POINT OF PERCUTANEOUS CORONARY INTERVENTIONS

*R. L. Shamraev, Yu. M. Lopatin*

The article presents the results of comparing the characteristics of patients with acute coronary syndrome depending on the time point of percutaneous coronary intervention.

**Key words:** acute coronary syndrome (ACS), percutaneous coronary intervention (PCI), revascularization, coronary stenting, anti-platelet therapy.

Раннее восстановление коронарного кровотока с помощью тромболитика или первичного чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ) является наиболее эффективным методом лечения острого коронарного