

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 β -эндокриноцитов.

Ключевые слова: сахарный диабет, лимиглидол, инкретины, регенерация β -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 β -cells.

Key words: diabetes mellitus, limiglidol, incretins, β -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 β -клеток поджелудочной железы [9]. Исходя из вышеизложенного, представляется интересным проверить влияние препарата лимиглидола на регенерацию β -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- β]бензимидазола) 100 мг («ОАО Акрихин», Россия; лаб. № 540213).

Гипогликемическое действие изучали на животных со стрептозотоцин-индуцированным сахарным диабетом (стрептозотцин 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).

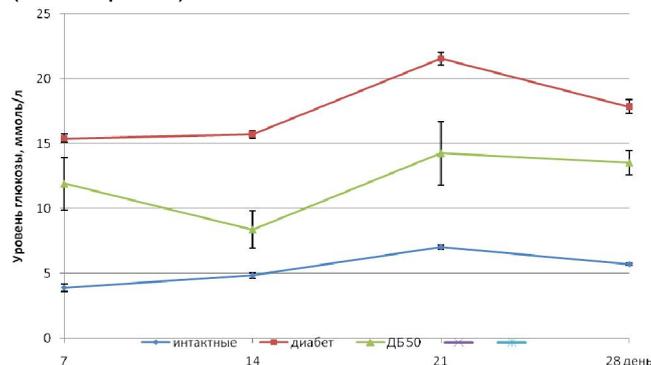


Рис. 1. Влияние лимиглидола в дозе 50 мг/кг (внутри) на показатель теста углеводной нагрузки (3 г/кг) — площадь под кривой, у. е.

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 β -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 β -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 β -эндокриноцитов в желудочном и кишечном отделах. Кроме того, лимиглидол препятствует развитию воспалительных и деструктивных изменений островкового аппарата под-

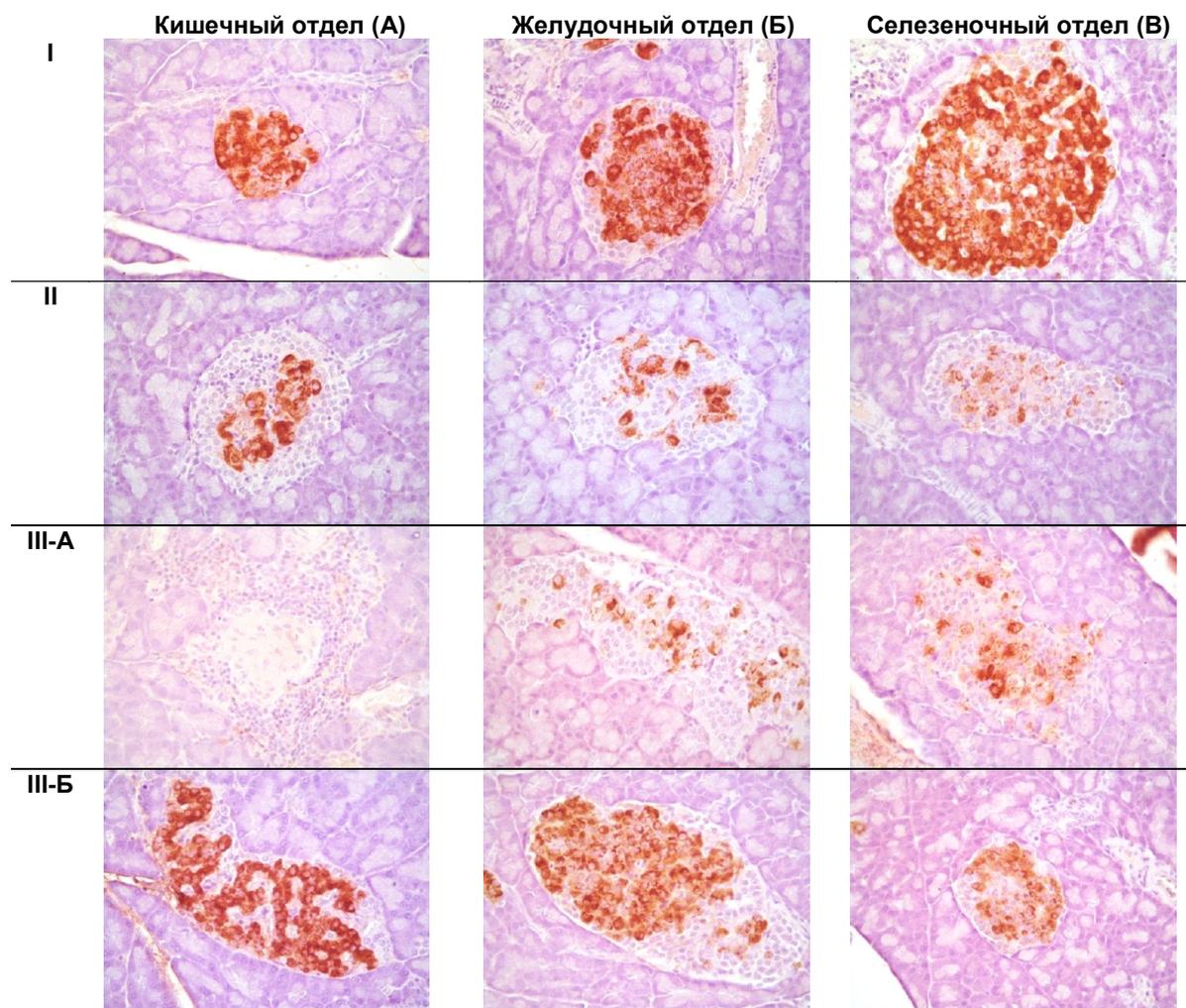


Рис. 2. Распределение β -клеток по панкреатическим островкам:

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 β -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 β -клеток. Обращает на себя внимание тот факт, что под влиянием лимиглидола отмечается выраженная гипертрофия ядер сохранившихся β -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). — Р. 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