

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ САХАРНОГО ДИАБЕТА 1-го ТИПА

© М.И. Ярмолинская^{1,2}, Н.Ю. Андреева¹, Е.И. Абашова¹, Е.В. Мишарина¹

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург;

² ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Для цитирования: Ярмолинская М.И., Андреева Н.Ю., Абашова Е.И., Мишарина Е.В. Экспериментальные модели сахарного диабета 1-го типа // Журнал акушерства и женских болезней. — 2019. — Т. 68. — № 2. — С. 109–118. <https://doi.org/10.17816/JOWD682109-118>

Поступила: 24.12.2018

Одобрена: 22.01.2019

Принята: 18.03.2019

■ В настоящем обзоре рассмотрены основные методы моделирования сахарного диабета 1-го типа с использованием лабораторных животных. Обобщены данные литературы, связанные с представлениями о патогенезе развития клинической и морфологической картины заболевания, о возможности экстраполяции результатов, а также проанализированы преимущества и недостатки каждой из моделей. На основании представленных данных сделан вывод о необходимости проведения доклинических исследований в качестве фундаментальной базы для изучения сахарного диабета 1-го типа.

■ **Ключевые слова:** сахарный диабет 1-го типа; экспериментальный диабет; аллоксан; стрептозотцин.

EXPERIMENTAL MODELS OF TYPE 1 DIABETES

© M.I. Yarmolinskaya^{1,2}, N.Yu. Andreyeva¹, E.I. Abashova¹, E.V. Misharina¹

¹ The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia;

² North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia

For citation: Yarmolinskaya MI, Andreyeva NYu, Abashova EI, Misharina EV. Experimental models of type 1 diabetes. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2019;68(2):109-118. <https://doi.org/10.17816/JOWD682109-118>

Received: December 24, 2018

Revised: January 22, 2019

Accepted: March 18, 2019

■ This article describes currently used experimental animal models of type 1 diabetes. The literature data on the pathogenesis of clinical and morphological patterns of the disease and the possibility of extrapolation have been summarized in the review. In addition, the advantages and disadvantages of each of the models have been evaluated. Based on the reported results, it can be concluded that preclinical research is essential as fundamental basis for the investigation of type 1 diabetes mellitus.

■ **Keywords:** type 1 diabetes mellitus; experimental diabetes; alloxan; streptozotocin.

Сахарный диабет — метаболическое расстройство, представляющее серьезную проблему для здоровья человека и крайне негативно влияющее на качество жизни. Распространенность заболевания в мире за последние несколько десятилетий непрерывно увеличивается и, по эпидемиологическим прогнозам, к 2030 г. достигнет 7–8 % от общей численности населения мира [1]. Приблизительно 10 % всех случаев сахарного диабета приходится на сахарный диабет 1-го типа (СД1) [2], который развивается в результате гибели β -клеток

поджелудочной железы, приводящей к прекращению продукции инсулина — ключевого регулятора процессов углеводного и липидного обмена в организме. Несмотря на многочисленные исследования, направленные на изучение данного заболевания, болезнь продолжает прогрессировать, а недостаточное количество средств профилактики и лечения СД1 предполагает включение данных пациентов в группы высокого риска по развитию огромного числа осложнений, что подтверждается данными по общему риску смертности среди людей с диа-

бетом, который вдвое выше, чем у сверстников без диабета [3]. Среди осложнений стоит отметить негативное влияние на репродуктивную систему женщины, проявляющееся в виде нарушений менструального цикла, бесплодия, патологического течения беременности и родов [4, 5].

С учетом вышеперечисленных фактов необходимо углубленное понимание сложных механизмов, которые лежат в основе диабета и его осложнений, определение новых перспектив для уже имеющейся терапии и выявление точек приложения с целью разработки новых методов лечения и снижения последствий, связанных с данным заболеванием, а следовательно, дальнейшие исследования для изучения новых аспектов в патогенезе СД1. Однако решение многих медицинских проблем возможно только посредством инвазивных манипуляций или наблюдений, которые неприменимы к людям по этическим и моральным принципам.

Экспериментальные модели наиболее удобны для изучения патофизиологии любого заболевания. Очевидно, что использование животных в исследованиях может стать серьезной этической проблемой, которая включает в себя физические и/или психологические страдания животных [6]. Одной из наиболее важных концепций в этом отношении является концепция 3Rs (reduction, refinement and replacement: замена, сокращение и усовершенствование), разработанная Расселом и Берчем в 1959 г. [7]. Соблюдение данной концепции позволяет сократить количество животных, используемых в экспериментах, и уменьшить их страдания и дискомфорт.

В течение последних нескольких десятилетий для изучения сахарного диабета и тестирования антидиабетических средств были созданы многочисленные модели животных, которые включают химические, хирургические, гормональные, вирус-индуцированные и генетические вмешательства. Несмотря на то что подходы к методологии моделирования диабета известны достаточно давно, экспериментальные методики различаются даже в рамках одной модели.

В данной статье мы рассмотрим наиболее популярные и доступные из них.

Хирургические модели

Один из самых очевидных способов изучения эффекта гипергликемии у животного — это удаление поджелудочной железы, частично или

полностью. Вид животного, который будет использован в рамках данной модели, зависит от целей исследования. В целом чем меньше животное, тем более адаптирована модель к различным условиям и, соответственно, дешевле стоимость эксперимента, поэтому наиболее часто используют крыс и мышей. Тем не менее серьезная критика применения грызунов заключается в том, что полученные данные могут неадекватно отражать заболевание относительно человека, в связи с этим в ряде случаев требуются более крупные животные, такие как кошки, собаки, свиньи и приматы [8].

Несмотря на доступность исследования с точки зрения финансовой составляющей, развитие гипoinsулинемии и гипергликемии при тотальной панкреатэктомии уже в первые сутки после операции, широкое использование данной модели ограничивают следующие факторы [9]:

- высокий уровень технического оснащения и хирургического мастерства исследователя;
- высокий процент летальности (наиболее высокий среди всех моделей диабета);
- развитие диабета через 9 месяцев при условии 80 % субтотальной панкреатэктомии [10];
- большой риск инфекционных осложнений в послеоперационном периоде;
- экскреторная недостаточность поджелудочной железы, которая требует заместительной терапии;
- возможность регенерации клеток ткани поджелудочной железы при наличии остаточной ткани после панкреатэктомии.

Генетические модели

Существуют несколько типов грызунов, способных к спонтанному развитию диабета: мышь NOD, крысы BB, LETL, KDP, LEW-iddm и др. Мышь NOD и крыса BB на сегодняшний день наиболее широко используются для работы с экспериментальными моделями диабета.

NOD-мышь (Non-Obese Diabetes) — так называемая модель диабета без ожирения. Инбредная линия NOD создана в Японии в 1980-х гг. как подтип CTS (мыши, подверженные катаракте) с явной склонностью к развитию гипергликемии. Как и у человека, СД1 у мышей NOD развивается в результате хронической деструкции β -клеток поджелудочной железы иммунной системой, что приводит к дефициту инсулина, гипергликемии и глюкозурии, однако характерной чертой данной модели является

высокая устойчивость к развитию кетоацидоза. Мыши могут оставаться живыми в течение 2–4 недель после констатации заболевания без введения инсулина, и в случае полного отсутствия терапии смерть будет скорее результатом обезвоживания, а не кетоацидоза. Начиная с возраста 3–4 недель у мышей NOD вокруг островков поджелудочной железы развивается инфильтрат мононуклеарных клеток (инсулит), который прогрессирует примерно в течение 100 дней до наступления стадии инвазивного инсулита и полного разрушения β -клеток [11]. Первоначально антигенпредставляющие клетки презентуют аутоантиген к $CD4^+$ Т-лимфоцитам, которые запускают каскад воспалительных реакций [12].

Далее конечное повреждение β -клеток, продуцирующих инсулин в островках Лангерганса, опосредуется в основном $CD8^+$ Т-лимфоцитами [13]. Стоит отметить, что, хотя мыши NOD имеют повышенную генетическую восприимчивость к СД1, развитие болезни может быть модулировано различными факторами окружающей среды (включая температуру, диету и инфекционные агенты). Следовательно, не у всех мышей NOD в колонии будет развиваться картина, подобная СД1. При определенных условиях заболеваемость диабетом достигает 80–95 % среди самок и 20–40 % среди самцов в возрасте 40 недель [14]. Изменчивость в заболеваемости частично связана с патогенной средой и восприимчивостью иммунной системы мышей NOD. Более высокая заболеваемость наблюдается в «очень чистых» специфических (SPF-виварий) и условно-чистых условиях (SOPF), а половое различие нивелируется в аксенических условиях, при которых у самцов NOD развивается картина СД1 с такой же скоростью, с какой и у самок [15, 16]. В обычной среде, не связанной с SPF, частота диабета может снижаться до 10 % [17].

В дополнение к развитию СД1 мыши NOD подвержены также развитию тиреоидита, сиалоаденита, аутоиммунной гемолитической анемии и волчаночноподобного синдрома.

Как у мышей NOD, так и у людей наиболее важным генетическим фактором, способствующим восприимчивости СД1, являются аллели главного комплекса гистосовместимости. В некоторых случаях такие гены, как *Ag7*, или такие локусы, как *CTLA*, рассматриваются в качестве гомологичных у людей и мышей, что позволяет использовать данную модель, в том числе и с помощью трансгенных под-

ходов, как основу для изучения факторов, ускоряющих или замедляющих развитие СД1 [18, 19]. Существует большое количество работ, доказывающих эффективность таргетной терапии для профилактики и лечения СД1 на данной модели животных [20–22]. Однако клинические исследования в полной мере этих выводов не подтверждают. Авторы подчеркивают необходимость осторожной экстраполяции результатов с четко определенной модели инбредного животного на гетерогенную популяцию людей [23]. С целью нивелирования различий между видами созданы так называемые «очеловеченные», или гуманизированные (Humanized), NOD-мыши, которым внедрились молекулы HLA 1-го или 2-го класса с целью дальнейшего анализа их про- или антидиабетогенных свойств и идентификации эпитопов Т-клеток, имеющих отношение к развитию заболевания у человека [24].

Таким образом, к преимуществам данного метода относятся:

- отсутствие необходимости хирургических манипуляций для создания экспериментальной модели диабета;
- заболеваемость может достигать 90–95 %;
- возможность применения модели для долгосрочного исследования;
- возможность использования данной модели в качестве основы для трансгенных манипуляций.

К недостаткам данной модели относятся:

- высокая стоимость (как крыс в целом, так и их содержания);
- строгие (SPF) условия для вивария, которые влияют на заболеваемость;
- развитие сопутствующих заболеваний (сиалоаденит, тиреоидит, гемолитическая болезнь);
- развитие заболевания в среднем между 18-й и 20-й неделями (глюкоза крови > 250 мг/дл) [25];
- устойчивость к развитию кетоацидоза как проявления заболевания.

ВВ-крысы (BioBreeding rats) получены от аутбредных крыс Wistar в 1974 г. в Канаде [26]. Животные склонны к развитию таких симптомов заболевания, как потеря веса, полиурия, полидипсия, гипергликемия и инсулинопения, которые приводят к развитию тяжелого кетоацидоза и смерти в случае отсутствия заместительной терапии экзогенным инсулином. Клиническая картина проявляется в среднем на 12-й неделе жизни животного, часто во время полового созревания (8–16-я неделя).

Заболеваемость среди крыс составляет более 90 %, причем она одинакова среди самцов и самок [27]. Подобно мышам NOD, островки Лангерганса ВВ-крыс подвергаются иммунной атаке Т-, В-лимфоцитами, макрофагами и естественными киллерами, что вызывает развитие инсулита. К преимуществам данной модели относится также более близкая к человеческой «избирательная» морфологическая картина развития инсулита, в отличие от тотальных повреждений бета-клеток у мышей NOD [28]. Как правило, данная модель отличается наличием глубокой Т-клеточной лимфопении, в частности, клеток, которые экспрессируют рецепторы к АДФ-рибозилтрансферазе (ART2⁺) и, по-видимому, имеют иммуномодулирующие свойства, так как при их превентивной трансфузии не происходит формирования ни морфологической, ни клинической картины СД1 [29]. Лимфопения не является характерной чертой диабета 1-го типа ни у людей, ни у мышей NOD. Следовательно, это воспринимается как недостаток в использовании крыс ВВ в качестве модели СД1 [26]. Т-лимфопения присутствует уже при рождении крысы, и ее тяжесть обосновывает развитие иммунодефицита грызуна. Кроме того, подобно мышам NOD, ВВ-крысы подвержены развитию аутоиммунных сиалоаденита и тиреоидита.

К преимуществам данного метода относятся:

- отсутствие необходимости хирургических манипуляций;
- заболеваемость достигает 90–95 %;
- возможность долгосрочного исследования;
- возможность использования модели для изучения индукции толерантности при трансплантации островков Лангерганса.

К недостаткам данной модели относятся:

- высокая стоимость;
- глубокий иммунодефицит в связи с врожденной лимфопенией;
- развитие клинической картины заболевания в среднем на 12-й неделе;
- развитие сопутствующих заболеваний (сиалоаденит, тиреоидит);
- строгие условия SPF-вивария.

Химические модели

Для создания модели диабета используются химические агенты, в результате действия которых происходит избирательное повреждение β-клеток поджелудочной железы и развивается картина сахарного диабета. Для индукции модели применяют несколько веществ, обладаю-

щих диабетогенной активностью: стрептозотозин и аллоксан, пиринурон [30], дитизон [31], диалуровую кислоту [32] и др. Помимо данных веществ, существуют другие соединения, позволяющие имитировать специфическое осложнение у животного уже с проявлениями диабета, например флоризин. Наиболее часто используют аллоксан и стрептозотозин. Оба являются цитотоксическими аналогами глюкозы. Несмотря на различия в фармакодинамике, механизмы избирательного действия данных препаратов на β-клетки идентичны.

Моделирование аллоксанового диабета

В 1838 г. Wöhler и Liebig синтезировали производное пиримидина (2,4,5,6-тетраоксипиримидин, 5,6-диоксиурацил), которое позднее назвали аллоксаном [33]. Название возникло из слияния двух понятий — «аллантаин» и «оксалуровая кислота». Аллантаин — это продукт мочевой кислоты, выделяемый аллантаином эмбриона птицы, а оксалуровая кислота была получена из щавелевой кислоты и мочевины. В 1943 г. аллоксан стал объектом интереса диабетологов: Dunn, Sheehan и McLetchie сообщили, что в результате применения данного препарата наблюдается специфический некроз β-клеток поджелудочной железы [34, 35].

Вызванная препаратом инсулинопения обуславливает состояние экспериментального сахарного диабета, называемого «аллоксановый диабет» [36]. В водном растворе аллоксан в течение нескольких минут спонтанно разлагается на недиабетогенную аллоксановую кислоту [37]. При температуре тела (37 °C) и уровне pH 7,4 период полураспада аллоксана равен 1,5 минуты [38].

При более низких температурах период полувыведения аллоксана больше, и поскольку аллоксан является слабой кислотой, он более стабилен при более низком pH. Аллоксан — гидрофильное нестабильное соединение с глюкозоподобной структурой. Данные свойства необходимы для развития диабета. Именно гидрофильность препарата предотвращает его проникновение через билипидный слой плазматической мембраны, тогда как глюкозоподобная структура позволяет взаимодействовать с транспортером глюкозы 2-го типа (GLUT2) в плазматической мембране β-клеток [39]. По данным авторов, аллоксан не ингибирует функцию транспортера и поэтому может избирательно поступать в β-клетки в неограниченном количестве [40]. Структурная особенность

соединения заключается в его центральной 5-карбонильной группе, которая реагирует с тиольными группами разных ферментов, особенно с наиболее чувствительной к нему глюкокиназой (гексокиназой IV) [41]. Результатом взаимодействия препарата с последней является опосредованное снижением продукции АТФ, подавление глюкозоиндуцированной секреции инсулина [42]. Ингибирование глюкокиназы возникает уже через 1 минуту после введения препарата [41]. Стимуляция выработки инсулина происходит в короткий промежуток времени после ингибирования глюкокиназы в связи с торможением фосфорилирования глюкозы. В течение часа после индукции модели такие вещества, как лейцин или толбутамид, способны стимулировать секрецию инсулина, так как она опосредуется не через глюкокиназу. В дальнейшем вследствие прогрессирующего повреждения β -клеток возможность индукции секреции инсулина полностью утрачивается [43]. Имеются данные, что цистеин и другие тиолы способны восстанавливать аллоксан до диалуровой кислоты, препятствуя взаимодействию с глюкокиназой, как и глюкоза, правда уже в качестве конкурента аллоксана. На данный момент причиной цитотоксического действия аллоксана признается воздействие активных форм кислорода (АФК), синтезирующихся в цикле аллоксан – диалуровая кислота, которые в отдельности не токсичны для β -клеток [44–46]. Для реакций данного цикла необходим кислород, который преобразуется в супероксидные и далее в гидроксильные радикалы. Скорее всего, супероксидные радикалы не отвечают за цитотоксичность аллоксана и диалуровой кислоты, и большая часть исследований указывает на гидроксильные радикалы в качестве основной причины цитотоксичности [38]. Данное предположение авторы объясняют тем, что каталаза, инактивирующая пероксид, обеспечивает лучшую защиту от токсичности аллоксана и диалуровой кислоты по сравнению с супероксиддисмутазой [38].

Высказано предположение, что нарушения во внутриклеточном гомеостазе кальция представляют собой важный шаг в диабетогенном действии аллоксана [47]. Эта концепция подтверждена экспериментами *in vitro* и *in vivo*, которые демонстрируют, что аллоксан повышает содержание цитозольного свободного Ca^{2+} в 2,5 раза в клетках поджелудочной железы, что рассматривается как одна из причин,

приводящая к разрывам цепей ДНК и цитотоксичности препарата для β -клеток [47–49]. В ответ на введение препарата в организме животного запускается процесс, который проходит несколько последовательных фаз, описанных S. Lensen [38].

Максимальная продолжительность первой фазы составляет 30 минут, которая наступает сразу после инъекции аллоксана и является переходной гипогликемической фазой. Этот кратковременный гипогликемический ответ представляет собой результат временной стимуляции секреции инсулина в ответ на блокирование фосфорилирования глюкозы, о котором упоминалось выше. На данном этапе морфологические изменения в клетках поджелудочной железы минимальны [50].

Во второй фазе, наступающей через час после применения аллоксана, повышается концентрация глюкозы в крови. Более того, одновременно с этим снижается концентрация плазменного инсулина. Эта первая гипергликемическая фаза, которая длится обычно 2–4 часа, вызвана ингибированием секреции инсулина и приводит к гипoinsулинемии. В этой фазе β -клетки проявляют следующие морфологические особенности: внутриклеточная вакуолизация, дилатация эндоплазматического сети, уменьшение площади аппарата Гольджи, уменьшение секреторных гранул, в частности содержащих инсулин, набухание митохондрий [50].

Третья, транзиторная гипогликемическая фаза обычно развивается через 4–8 часов после инъекции и длится несколько часов, максимум сутки [51]. На этом этапе животному стоит уделить особое внимание, так как вероятность смерти крайне высока. В результате падения уровня глюкозы крови может развиться судорожный синдром и стремительно истощаются запасы гликогена в печени, что без терапии глюкозой обычно заканчивается фатально [52]. Резкий скачок уровня инсулина в крови выступает следствием индуцированного аллоксаном разрушения плазматической мембраны β -клеток поджелудочной железы. Кроме того, наблюдаются повреждения других субклеточных органелл. В дополнение к данным морфологическим изменениям некоторые ядра β -клеток становятся пикнотическими, что свидетельствует о некрозе клеток [53].

Четвертый этап — это конечная постоянная диабетическая гипергликемическая фаза, которая длится 12–48 часов и морфологически характеризуется полной дегрануляцией и поте-

рей целостности β -клеток. Не- β -клетки (α -, δ -, pp -клетки) поджелудочной железы остаются интактными и демонстрируют селективный характер токсического действия на β -клетки. Происходящий из некротических β -клеток клеточный дебрис поглощается макрофагами [38]. Многие животные проявляют чувствительность к диабетогенным свойствам аллоксана. Так, аллоксан может быть использован у крыс, мышей [54], кроликов [55], свиней [56] и собак [50]. Такие животные, как морские свинки и кошки, устойчивы к аллоксану, хотя последние чувствительны к его побочным эффектам, особенно к нефротоксическому действию препарата. Было отмечено, что лекарство оказывает диабетогенное действие при парентеральном введении, то есть внутривенно, внутривентально или подкожно [57, 58]. Кроме того, доза аллоксана, необходимая для индуцирования диабета, зависит от вида животных, способа введения и состояния питания.

Наиболее часто для индукции аллоксанового диабета используют крыс. Диабетогенная доза аллоксана для крыс колеблется между 100 и 200 мг/кг. Однако однократное внутривенное введение аллоксана в указанных дозах высокотоксично и часто заканчивается фатально. С целью снижения общей смертности и токсичности рекомендуется уменьшить дозу аллоксана в 2–3 раза [59]. В рамках исследований Federiuk et al. было выявлено, что наиболее успешной методикой индукции диабета (при летальности 10 и 80 %) является интраперитонеальное однократное введение аллоксана в дозировке 200 мг/кг [57].

Гипергликемия, возникающая после разрушения аллоксаном β -клеток, нестабильна и может оказаться обратимым процессом, который по истечении определенного времени приведет к нормализации уровня глюкозы крови [60]. Поскольку аллоксан и глюкоза конкуренты как для GLUT2, так и для глюкокиназы, более низкая концентрация глюкозы в плазме улучшает взаимодействие аллоксана с β -клетками, поэтому перед инъекцией аллоксана необходим период голодания в среднем от 12 до 24 часов [61].

Высокая нефротоксичность и гепатотоксичность обусловлены наличием рецепторов к GLUT2 в клетках почечных канальцев и гепатоцитов [62], что в свою очередь служит причиной развития уремико-диабетического синдрома в первые 5 суток после операции с показателем летальности в среднем 30 % [63]. В отличие от почечной ткани гепатоциты обла-

дают более высокой антиоксидантной активностью и часто проявляют свою реакцию на препарат уже в отдаленном периоде [64, 65].

Резюмируя вышесказанное, следует отметить следующие преимущества аллоксановой модели диабета:

- стоимость модели наиболее низкая из известных на данный момент;
 - заболеваемость составляет 80 %;
 - клиническая картина диабета развивается спустя 48–72 часа от начала эксперимента.
- Однако существуют и определенные недостатки:
- высокая нефротоксичность;
 - гепатотоксичность;
 - возможна токсичность и для других органов [66];
 - высокая летальность (минимум 30 %) [57];
 - развитие «смешанного» диабета за счет формирования инсулинорезистентности [67].

Модель диабета, созданная введением стрептозотоцина (STZ)

Данный аналог нитрозомочевины является гидрофильным соединением и, подобно аллоксану, проникает в β -клетку с транспортом GLUT2 [68]. Известно три пути разрушения β -клеток, которые реализуются параллельно. Так, основной механизм заключается в истощении поли(АДФ-рибоза)-полимеразы и никотинамидадениндинуклеотида в ответ на алкилирование ДНК, что приводит к снижению содержания АТФ и ингибированию секреции инсулина [68]. К этому процессу присоединяется действие внутриклеточного оксида азота, образующегося в результате действия стрептозотоцина, который подавляет работу цикла Кребса, образование гидроксильных радикалов и вызывает кислородное голодание митохондрий [69]. Кроме того, обнаружено, что STZ генерирует АФК, которые также способствуют фрагментации ДНК и вызывают другие повреждения в клетках [70]. В конечном счете повреждение ДНК в сочетании с истощением энергии обуславливает гибель β -клеток. Существуют различные схемы введения препарата животному, однако, по мнению авторов, наиболее эффективно для моделирования СД1 однократное введение диабетогенной дозы стрептозотоцина. При использовании стрептозотоцина стоит учитывать не только межвидовую, но и внутривидовую чувствительность к действию препарата. Известно, что самки более устойчивы к развитию диабета в рамках

данной модели [9]. Наиболее чувствительными считаются крысы при однократном внутривенном введении стрептозотоцина в дозировке от 35 до 65 мг/кг [68]. Для мышей средняя дозировка составляет 100–200 мг/кг, для кроликов — 300 мг/кг [71]. Стрептозотцин не блокирует действие глюкокиназы в отличие от аллоксана с его 5-карбонильной группой, в связи с чем отсутствует начальная гипогликемическая фаза. Далее, за редким исключением, наблюдается та же последовательность фаз (2–4-й), что и при использовании аллоксана, развитие клинической картины происходит в среднем спустя 72 часа от момента введения препарата внутривенно. Популярность модели диабета с применением стрептозотоцина оправдана в первую очередь за счет меньшей гепато- и нефротоксичности, а также в связи с другим механизмом действия, позволяющим создать модель с долгосрочной перспективой. Однако вероятность развития инсулиномы почки или печени напрямую зависит от длительности эксперимента в силу онкогенного действия стрептозотоцина, и, как следствие, возможно спонтанное «выздоровление» в виде компенсации картины диабета [72].

Преимущества стрептозотоциновой модели диабета:

- приемлемая стоимость по сравнению с генетическими моделями;
 - развитие клинической картины диабета через 72 часа от начала эксперимента;
 - возможность создания долгосрочной модели.
- Недостатки данной модели диабета:
- онкогенное действие стрептозотоцина;
 - спонтанное «выздоровление»;
 - высокая стоимость по сравнению с аллоксановой моделью;
 - видовая и гендерная специфичность;
 - развитие «смешанного» диабета за счет формирования инсулинорезистентности [67].

Заключение

Таким образом, необходимость использования экспериментальных моделей на животных в изучении СД1 определяется влиянием данного заболевания как на качество жизни отдельного человека, так и на популяцию в целом.

Значительный объем информации, касающийся различных аспектов патогенеза и этиологии, был получен именно в результате доклинических исследований. К сожалению, несмотря на широкий спектр имеющихся возможных путей индукции диабета, ни одна из

моделей не может отразить в полной мере сущность заболевания и имитировать все особенности СД1 человека. Тем не менее использование и усовершенствование экспериментальных моделей диабета на животных необходимо для разработки новых подходов к моделированию данного заболевания, а также изучения эффективности различных лекарственных препаратов.

Литература

1. Ostrauskas R. The prevalence of type 1 diabetes mellitus among 15-34-year-aged Lithuanian inhabitants during 1991-2010. *Prim Care Diabetes*. 2015;9(2):105-111. <https://doi.org/10.1016/j.pcd.2014.07.009>.
2. Дедов И.И., Шестакова М.В. Сахарный диабет и артериальная гипертензия. — М., 2006. — 344 с. [Dedov II, Shestakova MV. Sakharnyy diabet i arterial'naya gipertenziya. Moscow; 2006. 344 p. (In Russ.)]
3. Roglic G, Unwin N, Bennett PH, et al. The burden of mortality attributable to diabetes: realistic estimates for the year 2000. *Diabetes Care*. 2005;28(9):2130-2135. <https://doi.org/10.2337/diacare.28.9.2130>.
4. Дедов И.И., Шестакова М.В. Сахарный диабет и репродуктивная система. — М., 2016. — 176 с. [Dedov II, Shestakova MV. Sakharnyy diabet i reproduktivnaya sistema. Moscow; 2016. 176 p. (In Russ.)]
5. Потин В.В., Боровик Н.В., Тиселько А.В. Сахарный диабет и репродуктивная система женщины // Журнал акушерства и женских болезней. — 2006. — Т. 55. — № 1. — С. 85–90. [Potin VV, Borovik NV, Tisel'ko AV. Diabetes Mellitus And Female Reproductive System. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2006;55(1):85-90. (In Russ.)]
6. Levy N. The use of animal as models: ethical considerations. *Int J Stroke*. 2012;7(5):440-442. <https://doi.org/10.1111/j.1747-4949.2012.00772.x>.
7. Kroeger M. How omics technologies can contribute to the '3R' principles by introducing new strategies in animal testing. *Trends Biotechnol*. 2006;24(8):343-346. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2006.06.003>.
8. Rees DA, Alcolado JC. Animal models of diabetes mellitus. *Diabet Med*. 2005;22(4):359-370. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2005.01499.x>.
9. Etuk E. Animals models for studying diabetes mellitus. *Agric Biol J N Am*. 2010;1(2):130-4.
10. Баранов В.Г. Экспериментальный сахарный диабет. — Л.: Наука, 1983. — 240 с. [Baranov VG. Eksperimental'nyy sakharnyy diabet. Leningrad: Nauka; 1983. 240 p. (In Russ.)]
11. Anderson MS, Bluestone JA. The NOD mouse: a model of immune dysregulation. *Annu Rev Immunol*. 2005;23:447-485. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.23.021704.115643>.
12. Saxena V, Ondr JK, Magnusen AF, et al. The countervailing actions of myeloid and plasmacytoid dendritic cells

- control autoimmune diabetes in the nonobese diabetic mouse. *J Immunol.* 2007;179(8):5041-5053. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.179.8.5041>.
13. Jayasimhan A, Mansour KP, Slattery RM. Advances in our understanding of the pathophysiology of Type 1 diabetes: lessons from the NOD mouse. *Clin Sci (Lond).* 2014;126(1):1-18. <https://doi.org/10.1042/CS20120627>.
 14. You S, Chatenoud L. Autoimmune diabetes: An overview of experimental models and novel therapeutics. *Methods Mol Biol.* 2016;1371:117-142. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3139-2_8.
 15. Bach JF. The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *N Engl J Med.* 2002;347(12):911-920. <https://doi.org/10.1056/NEJMra020100>.
 16. Markle JG, Frank DN, Mortin-Toth S, et al. Sex differences in the gut microbiome drive hormone-dependent regulation of autoimmunity. *Science.* 2013;339(6123):1084-1088. <https://doi.org/10.1126/science.1233521>.
 17. Pozzilli P, Signore A, Williams AJK, Beales PE. NOD mouse colonies around the world- recent facts and figures. *Immunol today.* 1993;14(5):193-196. [https://doi.org/10.1016/0167-5699\(93\)90160-m](https://doi.org/10.1016/0167-5699(93)90160-m).
 18. Adorini L, Gregori S, Harrison LC. Understanding autoimmune diabetes: insights from mouse models. *Trends Mol Med.* 2002;8(1):31-38. [https://doi.org/10.1016/s1471-4914\(01\)02193-1](https://doi.org/10.1016/s1471-4914(01)02193-1).
 19. Baxter AG, Duckworth RC. Models of type 1 (autoimmune) diabetes. *Drug Discov Today Dis Models.* 2004;1(4):451-455. <https://doi.org/10.1016/j.ddmod.2004.11.012>.
 20. Besançon A, Goncalves T, Valette F, et al. A selective CD28 antagonist and rapamycin synergise to protect against spontaneous autoimmune diabetes in NOD mice. *Diabetologia.* 2018;61(8):1811-1816. <https://doi.org/10.1007/s00125-018-4638-7>.
 21. Montanucci P, Pescara T, Alunno A, et al. Remission of hyperglycemia in spontaneously diabetic NOD mice upon transplant of microencapsulated human umbilical cord Wharton jelly-derived mesenchymal stem cells (hUCMS). *Xenotransplantation.* 2018:e12476. <https://doi.org/10.1111/xen.12476>.
 22. Fiorina P, Tahvili S, Törngren M, et al. Paquinimod prevents development of diabetes in the non-obese diabetic (NOD) mouse. *Plos One.* 2018;13(5):e0196598. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196598>.
 23. Mathews CE. Utility of murine models for the study of spontaneous autoimmune type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes.* 2005;6(3):165-177. <https://doi.org/10.1111/j.1399-543X.2005.00123.x>.
 24. Li Y, Zhou L, Li Y, et al. Identification of autoreactive CD8⁺ T cell responses targeting chromogranin A in humanized NOD mice and type 1 diabetes patients. *Clin Immunol.* 2015;159(1):63-71. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2015.04.017>.
 25. Kachapati K, Adams D, Bednar K, Ridgway WM. The non-obese diabetic (NOD) mouse as a model of human type 1 diabetes. 2012:3-16. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-068-7_1.
 26. Mordes JP, Bortell R, Blankenhorn EP, et al. Rat models of type 1 diabetes: genetics, environment, and autoimmunity. *ILAR J.* 2004;45(3):278-291. <https://doi.org/10.1093/ilar.45.3.278>.
 27. Crisá L, Mordes JP, Rossini AA. Autoimmune diabetes mellitus in the BB rat. *Diabetes Metab Rev.* 1992;8(1):9-37. <https://doi.org/10.1002/dmr.5610080104>.
 28. Lally FJ, Ratcliff H, Bone AJ. Apoptosis and disease progression in the spontaneously diabetic BB/S rat. *Diabetologia.* 2001;44(3):320-324. <https://doi.org/10.1007/s001250051621>.
 29. Bortell R, Waite DJ, Whalen BJ, et al. Levels of Art2⁺ cells but not soluble Art2 protein correlate with expression of autoimmune diabetes in the BB rat. *Autoimmunity.* 2001;33(3):199-211. <https://doi.org/10.3109/08916930109008047>.
 30. Kim JM, Lee TH, Lee MC, et al. Endoneurial microangiopathy of sural nerve in experimental vacor-induced diabetes. *Ultrastruct Pathol.* 2002;26(6):393-401. <https://doi.org/10.1080/01913120290104700>.
 31. Monago CC, Onwuka F, Osaro E. Effect of combined therapy of diabinese and nicotinic acid on liver enzymes in rabbits with dithizone-induced diabetes. *J Exp Pharmacol.* 2010;2:145-153. <https://doi.org/10.2147/JEP.S11490>.
 32. Bailey CC, Bailey OT, Leech RS. Diabetes mellitus in rabbits injected with dialuric acid. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1946;63(3):502-505. <https://doi.org/10.3181/00379727-63-15651>.
 33. Wöhler F, Liebig J. Untersuchungen über die Natur der Harnsäure. *Annalen der Pharmacie.* 1838;26(3):241-336. <https://doi.org/10.1002/jlac.18380260302>.
 34. Shaw Dunn J, McLetchie NGB. Experimental alloxan diabetes in the rat. *Lancet.* 1943;242(6265):384-387. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(00\)87397-3](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(00)87397-3).
 35. Dunn JS, Kirkpatrick J, McLetchie NGB, Telfer SV. Necrosis of the islets of Langerhans produced experimentally. *J Pathol Bacteriol.* 1943;55(3):245-257. <https://doi.org/10.1002/path.1700550302>.
 36. Goldner MG, Gomori G. Alloxan diabetes in the Dog1. *Endocrinology.* 1943;33(5):297-308. <https://doi.org/10.1210/endo-33-5-297>.
 37. Lenzen S, Munday R. Thiol-group reactivity, hydrophilicity and stability of alloxan, its reduction products and its N-methyl derivatives and a comparison with ninhydrin. *Biochem Pharmacol.* 1991;42(7):1385-1391. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(91\)90449-f](https://doi.org/10.1016/0006-2952(91)90449-f).
 38. 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>.
 39. Gorus FK, Malaisse WJ, Pipeleers DG. Selective uptake of alloxan by pancreatic B-cells. *Biochem J.* 1982;208(2):513-515. <https://doi.org/10.1042/bj2080513>.
 40. Boquist L, Nelson L, Lorentzon R. Uptake of labeled alloxan in mouse organs and mitochondria *in vivo* and *in vitro*. *Endo-*

- crinology*. 1983;113(3):943-948. <https://doi.org/10.1210/endo-113-3-943>.
41. Lenzen S, Panten U. Alloxan: history and mechanism of action. *Diabetologia*. 1988;31(6):337-342. <https://doi.org/10.1007/bf02341500>.
 42. Tiedge M, Richter T, Lenzen S. Importance of cysteine residues for the stability and catalytic activity of human pancreatic beta cell glucokinase. *Arch Biochem Biophys*. 2000;375(2):251-260. <https://doi.org/10.1006/abbi.1999.1666>.
 43. Borg LAH. Effects of alloxan on the islets of Langerhans inhibition of leucine metabolism and insulin secretion. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*. 1981;677(2):257-262. [https://doi.org/10.1016/0304-4165\(81\)90093-3](https://doi.org/10.1016/0304-4165(81)90093-3).
 44. Cohen G, Heikkila RE. The generation of hydrogen peroxide, superoxide radical, and hydroxyl radical by 6-hydroxydopamine, dialuric acid, and related cytotoxic agents. *J Biol Chem*. 1974;249(8):2447-2452.
 45. Winterbourn CC, Cowden WB, Sutton HC. Auto-oxidation of dialuric acid, divicine and isouramil. *Biochem Pharmacol*. 1989;38(4):611-618. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(89\)90206-2](https://doi.org/10.1016/0006-2952(89)90206-2).
 46. Winterbourn CC, Munday R. Glutathione-mediated redox cycling of alloxan. *Biochem Pharmacol*. 1989;38(2):271-277. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(89\)90037-3](https://doi.org/10.1016/0006-2952(89)90037-3).
 47. Kim H-R, Rho H-W, Park B-H, et al. Role of Ca²⁺ in alloxan-induced pancreatic β -cell damage. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 1994;1227(1-2):87-91. [https://doi.org/10.1016/0925-4439\(94\)90111-2](https://doi.org/10.1016/0925-4439(94)90111-2).
 48. Park BH, Rho HW, Park JW, et al. Protective mechanism of glucose against alloxan-induced pancreatic beta-cell damage. *Biochem Biophys Res Commun*. 1995;210(1):1-6. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1995.1619>.
 49. Weaver DC, McDaniel ML, Naber SP, et al. Alloxan stimulation and inhibition of insulin release from isolated rat islets of Langerhans. *Diabetes*. 1978;27(12):1205-1214. <https://doi.org/10.2337/diab.27.12.1205>.
 50. Wrenshall GA, Collins-Williams J, Best CH. Initial changes in the blood sugar of the fasted anesthetized dog after alloxan. *Am J Physiol*. 1950;160(2):228-246. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1950.160.2.228>.
 51. Tasaka Y, Inoue Y, Matsumoto H, Hirata Y. Changes in plasma glucagon, pancreatic polypeptide and insulin during development of alloxan diabetes mellitus in dog. *Endocrinol Jpn*. 1988;35(3):399-404. <https://doi.org/10.1507/endocrj1954.35.399>.
 52. Macedo CS, Capelletti SM, Mercadante CS, et al. Experimental model of induction of diabetes mellitus in rats. In: Plastic surgery, laboratory of plastic surgery. Sao Paulo: Paulista School of Medicine; 2005. P. 2-15.
 53. Lenzen S, Tiedge M, Jörns A, Munday R. Alloxan derivatives as a tool for the elucidation of the mechanism of the diabetogenic action of alloxan. In: Lessons from Animal Diabetes VI. Ed. by E. Shafrir. Boston: Birkhäuser; 1996. P. 113-122. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-4112-6_8.
 54. Favaro RR, Salgado RM, Covarrubias AC, et al. Long-term type 1 diabetes impairs decidualization and extracellular matrix remodeling during early embryonic development in mice. *Placenta*. 2013;34(12):1128-1135. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2013.09.012>.
 55. Irshad N, Akhtar MS, Bashir S, et al. Hypoglycaemic effects of methanolic extract of *Canscora decussata* (Schult) whole-plant in normal and alloxan-induced diabetic rabbits. *Pak J Pharm Sci*. 2015;28(1):167-174.
 56. Sodha NR, Boodhwani M, Clements RT, et al. Increased anti-angiogenic protein expression in the skeletal muscle of diabetic swine and patients. *Arch Surg*. 2008;143(5):463-470. <https://doi.org/10.1001/archsurg.143.5.463>.
 57. Federiuk IF, Casey HM, Quinn MJ, et al. Induction of type-1 diabetes mellitus in laboratory rats by use of alloxan: route of administration, pitfalls, and insulin treatment. *Comp Med*. 2004;54(3):252-257.
 58. Sano T, Ozaki K, Terayama Y, et al. A novel diabetic murine model of *Candida albicans*-induced mucosal inflammation and proliferation. *J Diabetes Res*. 2014;2014:509325. <https://doi.org/10.1155/2014/509325>.
 59. Reis FPD, Sementilli A, Gagliardi ARDT. Experimental diabetes exacerbates skin transplant rejection in rats. *Acta Cir Bras*. 2013;28(5):323-326. <https://doi.org/10.1590/s0102-86502013000500001>.
 60. Kumar S, Singh R, Vasudeva N, Sharma S. Acute and chronic animal models for the evaluation of anti-diabetic agents. *Cardiovasc Diabetol*. 2012;11:9. <https://doi.org/10.1186/1475-2840-11-9>.
 61. Radenkovic M, Stojanovic M, Prostran M. Experimental diabetes induced by alloxan and streptozotocin: The current state of the art. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2016;78:13-31. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2015.11.004>.
 62. Chatzigeorgiou A, Halapas A, Kalafatakis K, Kamper E. The use of animal models in the study of diabetes mellitus. *In Vivo*. 2009;23(2):245-258.
 63. Vargas L, Friederici HHR, Maibenco HC. Cortical sponge kidneys induced in rats by alloxan. *Diabetes*. 1970;19(1):33-44. <https://doi.org/10.2337/diab.19.1.33>.
 64. Malaisse WJ, Malaisse-Lagae F, Sener A, Pipeleers DG. Determinants of the selective toxicity of alloxan to the pancreatic B cell. *PNAS*. 1982;79(3):927-930. <https://doi.org/10.1073/pnas.79.3.927>.
 65. Tiedge M, Lortz S, Drinkgern J, Lenzen S. Relation between antioxidant enzyme gene expression and antioxidant defense status of insulin-producing cells. *Diabetes*. 1997;46(11):1733-1742. <https://doi.org/10.2337/diab.46.11.1733>.
 66. Srinivasan K, Ramarao P. Animal model in type 2 diabetes research: An overview. *Ind J Med Res*. 2007;125(3):451.
 67. Islam MS, Loots du T. Experimental rodent models of type 2 diabetes: a review. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 2009;31(4):249-261. <https://doi.org/10.1358/mf.2009.31.4.1362513>.

68. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res.* 2001;50(6):537-546.
69. Turk J, Corbett JA, Ramanadham S, et al. Biochemical evidence for nitric oxide formation from streptozotocin in isolated pancreatic islets. *Biochem Biophys Res Commun.* 1993;197(3):1458-1464. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1993.2641>.
70. Bedoya FJ, Solano F, Lucas M. N-Monomethyl-arginine and nicotinamide prevent streptozotocin-induced double strand DNA break formation in pancreatic rat islets. *Experientia.* 1996;52(4):344-347. <https://doi.org/10.1007/bf01919538>.
71. Dekel Y, Glucksam Y, Elron-Gross I, Margalit R. Insights into modeling streptozotocin-induced diabetes in ICR mice. *Lab Anim (NY).* 2009;38(2):55-60. <https://doi.org/10.1038/labani0209-55>.
72. Kazumi T, Yoshino G, Fujii S, Baba S. Tumorigenic action of streptozotocin on the pancreas and kidney in male Wistar rats. *Cancer Res.* 1978;38(7):2144-2147.

■ Информация об авторах (Information about the authors)

Мария Игоревна Ярмолинская — д-р мед. наук, профессор РАН, руководитель отдела эндокринологии репродукции, руководитель центра «Диагностика и лечение эндометриоза». ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург; профессор кафедры акушерства и гинекологии. ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург. **E-mail:** m.yarmolinskaya@gmail.com.

Нелли Юрьевна Андреева — клинический ординатор. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** nelly8352@yahoo.com.

Елена Ивановна Абашова — канд. мед. наук, старший научный сотрудник отдела эндокринологии репродукции. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** abashova@yandex.ru.

Елена Владимировна Мишарина — канд. мед. наук, старший научный сотрудник отдела эндокринологии репродукции. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** mishellena@gmail.com.

Maria I. Yarmolinskaya — MD, PhD, DSci (Medicine), Professor of the Russian Academy of Sciences, the Head of the Department of Endocrinology of Reproduction, the Head of the Diagnostics and Treatment of Endometriosis Center. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia; Professor. The Department of Obstetrics and Gynecology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** m.yarmolinskaya@gmail.com.

Nelly Yu. Andreyeva — Resident Doctor. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** nelly8352@yahoo.com.

Elena I. Abashova — MD, PhD, Senior Researcher. The Department of Endocrinology of Reproduction. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** abashova@yandex.ru.

Elena V. Misharina — MD, PhD, Senior Researcher. The Department of Endocrinology of Reproduction. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** mishellena@gmail.com.