

**СТРЕПТОЗОТОЦИНОВЫЕ МОДЕЛИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО
ДИАБЕТА**

(Обзор литературы)

Тилиябов И.А.

Ташкентская медицинская академия

✓ **Резюме**

Целью исследования явилось - изучить данные литературы о создании модели стабильного экспериментального сахарного диабета (СД) у лабораторных крыс с помощью стрептозотоцина (СТЦ). Выявлено, что наибольшее распространение в современной экспериментальной диабетологии получили стрептозотоциновые модели СД смешанного или 2 типа. Чувствительность к введению этих диабетогенных соединений может существенно зависеть не только от видовой принадлежности, но и от генетической линии животного и его возраста. Приводятся исследования, в которых введением стрептозотоцина (СТЦ) лабораторным грызунам (мышам и крысам) моделировали СД 2 типа.

Ключевые слова: экспериментальный сахарный диабет, стрептозотоксин, крысы, гликемия, гипергликемия.

EXPERIMENTAL QANDLI DIABETNING STREPTOZOTOSIN MODELLARI

(Adabiyot sharhi)

Tilyabov I.A.

Toshkent tibbiyot akademiyasi

✓ **Rezyume**

Tadqiqotning maqsadi streptozototsin (STC) yordamida laboratoriya kalamushlarida barqaror eksperimental diabetes mellitus (DM) modelini yaratish bo'yicha adabiyot ma'lumotlarini o'rganish edi. Zamonaviy eksperimental diabetologiyada aralash yoki 2-toifa diabetning streptozotsin modellari eng keng tarqalganligi aniqlandi. Ushbu diabetogen birikmalarning kiritilishiga sezgirlik nafaqat turga, balki hayvonning genetik chizig'iga va uning yoshiga ham bog'liq bo'lishi mumkin. Laboratoriya kemiruvchilari (sichqonlar va kalamushlar) uchun streptozotsin (STC) ning kiritilishi 2-toifa diabet bilan taqlid qilingan tadqiqotlar taqdim etilgan.

Kalit so'zlar: eksperimental diabetes mellitus, streptozototsin, kalamushlar, glikemiya, giperglikemiya.

STREPTOZOTOCIN MODELS OF EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

(Literature review)

Tilyabov I.A.

Tashkent Medical Academy

✓ **Resume**

The aim of the study was to study the literature data on the creation of a model of stable experimental diabetes mellitus (DM) in laboratory rats using streptozotocin (STC). It was revealed that streptozotocin models of mixed or type 2 diabetes are most widely used in modern experimental diabetology. The sensitivity to the introduction of these diabetogenic compounds can significantly depend not only on the species, but also on the genetic line of the animal and its age. Studies are presented in which type 2 diabetes was simulated by the administration of streptozotocin (STC) to laboratory rodents (mice and rats).

Key words: experimental diabetes mellitus, streptozotocin, rats, glycemia, hyperglycemia.

Актуальность

Несмотря на достигнутые успехи в лечении пациентов с сахарным диабетом (СД), осложнения этого заболевания по-прежнему остаются одной из основных причин заболеваемости и смертности пациентов с сахарным диабетом [1], как и десятилетие назад [5], принося национальной системе здравоохранения значительные социально-экономические потери [4]. Важным с точки зрения понимания патофизиологических механизмов возникновения осложнений СД и разработки профилактических и лечебных подходов является использование адекватных моделей диабетической нефропатии (ДН) у экспериментальных животных, максимально точно воспроизводящих стадии естественного течения этого микрососудистого осложнения СД у людей. [2-4]. Однако выбор той или иной экспериментальной модели СД 1 или 2 типа во многом определяется целью исследования, а именно тестированием фармакологической активности, генетическими исследованиями или выяснением механизмов развития заболевания [1,2,10,13].

Механизм диабетогенного действия стрептозотоцина. Стрептозотоцин (СТЗ) является токсическим соединением из группы производных нитрозомочевины [2,5,14], избирательно проникающим в панкреатические β -клетки [8,10]. Панкреатотоксичность СТЗ в значительной мере связывают с алкилирующей активностью его метильной группы, приводящей к фрагментации ДНК β -клеток, в ответ на которую активируется участвующий в репарации повреждённой ДНК фермент полимераза. Развивающийся в связи с этим дефицит запасов кофактора, а затем и энергетических субстратов в виде АТФ, неминуемо приводит, в конечном счёте, к некрозу β -клеток [14]. Данный процесс усугубляется активацией свободнорадикального окисления, из избыточно образующегося оксида азота, донатором которого является нитрозогруппа СТЗ [9].

Диабетогенный эффект СТЗ наблюдается у многих видов животных, включая мышей, собак, кошек, обезьян, морских свинок и др. Наиболее резистентными к действию СТЗ оказались кролики и свиньи, а максимальная сенсibilизация выявлена у крыс, при этом оптимальная диабетогенная доза СТЗ для крысы уменьшается по мере увеличения

массы животного [8,12, 13]. Также отмечено, что особи мужского пола при сопоставимой дозе развивают более выраженную гипергликемию [3,17]. Высокая стоимость соответствующих генетических линий лабораторных животных, трудоёмкость воспроизведения модели, специальные условия ухода определяют необходимость разработки и совершенствования негенетических моделей [5]. Соответственно для оценки возможного использования природных биологически активных веществ (БАВ) в диетотерапии и профилактике СД наряду с генетическими линиями животных достаточно широко используются лабораторные грызуны с нарушениями углеводного обмена, индуцированными введением таких химических соединений, как стрептозотоцин (СТЦ), дитизон и другие.

Стрептозотоцин (нитрозопроизводное глюкозамина) является антибиотиком широкого спектра действия и представляет собой, как и аллоксан, структурный аналог глюкозы. В результате внутрибрюшинного или внутривенного введения СТЦ переносится в β -клетки поджелудочной железы транспортером и вызывает алкилирование ДНК. Последующая активация ведет к истощению никотинамидадениндинуклеотида, снижению клеточного уровня аденозинтрифосфорной кислоты, некрозу клеток и последующему ингибированию продукции инсулина и развитию инсулинорезистентности [8]. Негативные проявления сопровождаются активацией свободнорадикального окисления вследствие избыточного образования оксида азота [5]. При моделировании СД введением животным оптимально подобранных доз СТЦ можно добиваться существенно меньшей деструкции β -клеток. Различные гипотетические механизмы патофизиологического действия аллоксана и СТЦ обсуждаются, в частности, в обзорных статьях [9, 10]. В зависимости от дозы и способа введения как аллоксана, так и СТЦ моделируются состояния углеводного обмена, которые в той или иной степени соответствуют различным клиническим типам СД. Чувствительность к введению этих диабетогенных соединений может существенно зависеть не только от видовой принадлежности, но и от генетической линии животного и его возраста. Следует заметить, что авторы некоторых работ, в которых мышам или крысам вводятся значительные

дозы СТЦ, не определяли тип разрабатываемых ими моделей СД [12-15]. Например, моделирование СД воспроизводили на крысах линии Вистар с исходной массой тела 180-210 г внутривенным введением СТЦ в дозе 50 мг на 1 кг массы тела однократно, развитие СД подтверждали через 120 ч и в дальнейшем эксперимент отбирали животных с уровнем глюкозы на сытый желудок выше 250 мг% (13,89 мМ). Введение этим животным в течение 6 нед 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата, который является структурным аналогом у-бутиробетаина (предшественника карнитина), внутривенно или перорально оказывало гипогликемический и гиполипидемический эффекты: снижение в крови уровня глюкозы, триглицеридов, замедление накопления гликированного гемоглобина, улучшение показателей теста толерантности глюкозы [14]. Гипогликемический эффект тестируемого соединения при моделировании СТЦ диабета авторы работы связывают с его способностью усиливать пролиферацию в выживших р-клетках. Однократное внутривенное введение СТЦ в дозе 40 мг на 1 кг массы тела вызывало стабильную гипергликемию у крыс-самцов линии Вистар (масса тела 200-250 г): содержание глюкозы в плазме крови у СТЦ-индуцированных крыс было более чем в 2,5 раза выше, чем у контрольных животных. Также была достоверно повышена концентрация триглицеридов [15].

Моделирование СД 2 типа введением СТЦ новорожденным животным осуществлено в ряде работ [2,8,16]. В частности, с использованием схемы, предложенной в работах Portha B., Picon L., Rosselin G., новорожденным беспородным белым крысам однократно внутривенно вводили СТЦ (100 мкг на 1 г массы тела) и затем вызывали абдоминальное ожирение, используя высокожировую диету. Было установлено, что ведущую роль в развитии комплекса метаболических и функциональных изменений сердца у этих животных играет периферическая инсулинорезистентность. Неонатальная СТЦ модель СД 2 типа была воспроизведена в работе [9,15], выявившей при этой патологии нарушения в сопряженных с G β -белками сигнальных каскадах, посредством которых осуществляется гормональное ингибирование аденилатциклазы. Однократное внутривенное введение СТЦ двухдневным крысам линии Вистар в

дозировке 90 мг на 1 кг массы тела вызывало у них гипергликемию и оральную непереносимость глюкозы, выявляемые через 12 нед после инъекции СТЦ. У этих животных также были повышены уровни холестерина (ХС) и триглицеридов в сыворотке крови [11]. Существенно меньшую разовую дозировку СТЦ (20 мг на 1 кг массы тела), но внутривенно и 5-кратно использовали, моделируя СД 2 типа у крыс с массой тела 300-340 г, которым дополнительно через неделю подкожно вводили 0,2 мл полного адьюванта Фрейнда. Имели место гипергликемия и ультрамикроскопические признаки необратимого нарушения части панкреатических р-клеток [7].

Одним из возможных приближений большего соответствия стрептозотоциновой модели СД 2 типа является предварительное введение животным никотинамида, повышающее устойчивость β -клеток островков Лангерганса к повреждающему действию СТЦ [10,11]. Так, в работе [12] было показано, что однократное внутривенное введение никотинамида в дозе 180 мг на 1 кг массы тела крысы и последующее введение СТЦ (50 мг на 1 кг массы тела) позволяло моделировать СД 2 типа, характеризующийся нарушением реологических показателей крови, что делает возможным использовать эту модель для тестирования соответствующих корректирующих препаратов.

С учетом ведущей роли абдоминального ожирения как фактора риска различных алиментарно-зависимых хронических заболеваний значительное развитие получило моделирование СД 2 типа введением СТЦ на фоне высокожировой диеты. Обсуждение генетических и негенетических моделей СД 2 типа с использованием ожиревших лабораторных животных - грызунов представлено в обзорных статьях [3, 4]. В таблице, составленной с использованием данных, представленных в обзоре [3], дано определенное представление о СТЦ-моделировании СД 2 типа в 2000-2013 гг.

Модель СД 2 типа на белых аутбредных крысах-самцах, которым двукратно внутривенно вводили СТЦ в дозе 35 мг на 1 кг массы тела, получающих рацион с повышенным содержанием (30% по калорийности) жирового компонента, была использована для тестирования влияния экстракта крапивы на некоторые показатели углеводного и липидного обмена [13]. У СТЦ-

индуцированных животных уровень глюкозы в крови натошак варьировал от 10 до 32 ммоль/л, среднее содержание гликированного гемоглобина (HbA1c) 8,6%, а концентрация триглицеридов была повышена в 8 раз. Было показано достоверное ($p < 0,05$) гипогликемическое и гиполипидемическое действие курсового введения экстракта: содержание глюкозы снизилось на 31-74%, среднее содержание HbA1c составило 7,8%, нормализовались уровень триглицеридов и индекс атерогенности, восстанавливалась чувствительность к инсулину.

СД 2 типа с ожирением моделировали, используя 7-недельных крыс-самцов линии Sprague-Dawley, у которых однократное введение СТЦ (50 мг на 1 кг массы тела) сочеталось с последующим потреблением в течение 2 нед высокожирового рациона (40% по калорийности) [3]. На фоне развившейся гипергликемии у этих животных отмечено достоверное увеличение содержания ТГ, свободных жирных кислот в крови и развитие инсулинорезистентности.

Модификация этой модели была осуществлена в работе [16]: крысы-самцы линии Sprague-Dawley массой тела 160-180 г получали в течение 2 нед рацион с еще большим содержанием жира (58% по калорийности). В конце этого срока у животных наблюдалось увеличение массы тела, содержания инсулина, глюкозы, триглицеридов и общего ХС, а также снижение скорости элиминации глюкозы при проведении теста углеводной нагрузки. После внутрибрюшинного введения СТЦ в дозе 35 мг на 1 кг массы тела у крыс, находившихся на высокожировой диете, наблюдалось достоверное снижение уровня инсулина (с 468 до 218 пмоль/л), а также повышение концентрации триглицеридов (с 70,7 до 173,4 мг/л), общего ХС (с 116 до 179 мг/л) и глюкозы (с 129 до 418 мг/л), в то время как у животных, находившихся на стандартной диете, введение СТЦ не приводило к изменению этих показателей (за исключением повышения в крови уровня глюкозы с 101 до 137 мг/л).

Моделирование СД 2 типа для исследования патогенеза диабетической кардиопатии было воспроизведено на крысах-самцах линии Вистар, которым однократно внутрибрюшинно вводили СТЦ (интервал доз 15-30 мг на 1 кг массы тела) на фоне высокожирового (60% жира по калорийности) рациона [40]. Тяжесть развития выявляемых нарушений зависела от дозы вводимого СТЦ.

В дозах 15-20 мг на 1 кг массы тела модель в большей степени соответствовала СД 2 типа, а дальнейшее увеличение дозы СТЦ приводило к возникновению патологии, характерной для СД 1 типа (снижение концентрации инсулина почти в 3 раза с 3,03 до 1,04 мкг/л у СТЦ-индуцированных животных по сравнению с контрольными). В то же время малые дозы СТЦ не приводили к достоверному снижению концентрации инсулина в крови.

У диабетических крыс-самцов линии Вистар массой тела 170-190 г, получавших высокожировой рацион (60% жира по калорийности) в течение 6 нед перед внутрибрюшинной инъекцией СТЦ (35 мг на 1 кг массы тела) и 24 нед после его введения, оценивали макро- и микрососудистые осложнения, и состояние углеводного и липидного обмена [14]. Были выявлены повреждения больших кровеносных сосудов и почечные нарушения. Показатели липидного и углеводного обмена: уровень глюкозы, триглицеридов, ХС общего и липопротеинов низкой плотности были также достоверно повышены.

Гипогликемическое влияние малата хрома, его влияние на липидный обмен и кишечную микрофлору было исследовано у крыс с СД 2 типа, которых в течение 2 мес кормили рационом с повышенным содержанием сахара и жира с последующим внутрибрюшинным введением СТЦ в дозировке 30 мг на 1 кг массы тела [42]. Уровень глюкозы натошак у животных с СТЦ-индуцированным СД был выше 11,1 ммоль/л, у диабетических животных был значительно повышен уровень инсулина и индекс инсулинорезистентности по сравнению с интактными животными, что позволило авторам сделать вывод о развитии СД 2 типа.

Для моделирования СД 2 типа мог быть использован также рацион, содержащий 20% жира (по калорийности), как это было продемонстрировано в работе [13], в которой использовали схемы с однократным или двукратным (с интервалом 2 нед) внутрибрюшинным введением СТЦ (45 мг/кг однократно или 39 мг/кг двукратно).

Наряду с моделью СТЦ-диабета 2 типа у ожиревших лабораторных животных, разработаны и используются альтернативные модели СТЦ-диабета 2 типа на грызунах, потребляющих рационы с высоким содержанием фруктозы. Инсулинорезистентность, нарушения углеводного и липидного обмена, проявление

отдельных диабетических симптомов и осложнений у лабораторных грызунов индуцируются поступлением с пищей в течение относительно продолжительного времени большого количества фруктозы, которая может потребляться *ad libitum* с питьевой водой или с рационом [14-16]. Сочетанное действие СТЦ в низкой дозировке и высокофруктозного рациона позволяет в относительно короткий период времени индуцировать развитие диабета 2 типа у крыс, как это показано в работе [7]. У Sprague-Dawley крыс-самцов, получавших с питьем в течение 2 нед *ad libitum* 10% раствор фруктозы, которым затем внутрибрюшинно однократно вводили СТЦ (доза 40 мг на 1 кг массы тела), развивался СД 2 типа, характеризующийся инсулиновой резистентностью и частичной дисфункцией панкреатических р-клеток. Такая же доза СТЦ (40 мг на 1 кг массы тела) индуцировала развитие диабета у альбиносов крыс-самцов линии Вистар, получавших со стандартным кормом в течение 4 нед с питьем *ad libitum* 21% раствор фруктозы. У животных был повышен уровень глюкозы в крови и моче натощак, уровень глюкозы в крови при тестировании толерантности к глюкозе, были установлены существенные структурные и клеточные нарушения островков Лангерганса [8].

Заключение

Несмотря на большое разнообразие описанных на сегодняшний день моделей сахарного диабета у экспериментальных животных, негенетические модели стрептозотоцинового сахарного диабета по-прежнему остаются наиболее доступными, относительно легко реализуемыми и достаточно валидными, адекватно воспроизводящими обратимые стадии диабетической болезни почек у людей, когда воздействие фармакологических препаратов с нефропротективными свойствами может замедлить прогрессирование течения осложнения. Ряд имеющихся недостатков таких моделей (возможность разброса экспериментальных данных по уровню гликемии, потенциальная нефротоксичность стрептозотоцина, возможность спонтанной нормализации инсулин-секреторной функции) могут быть устранены путём правильного подбора диабетогенной дозы препарата, заблаговременного планирования протокола эксперимента и времени определения маркеров почечной дисфункции, а также

посредством предварительного введения химических соединений, уменьшающих повреждающее действие цитотоксина на инсулин-секретирующие клетки (никотинамид). Кроме того, при использовании определённых схем введения стрептозотоцина у крыс (умеренной гипергликемии, инсулинорезистентности и дислипидемии), т.е. ключевых патогенетических компонентов сахарного диабета 2 типа. Эти данные могут быть экспериментальным обоснованием при разработке способов прогнозирования, профилактики и рациональной научно-обоснованной терапии больных с сахарным диабетом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Baranov V.G., Sokoloverova I.M., Gasparyan E.G., Yaroshevskiy Yu.A., Nikitin A.I. Eksperimental'nyy sakharnyy diabet. Rol' v klinicheskoy diabetologii. L.: Nauka, 1983: 240.
2. Bayrasheva V.K. Modelirovaniye sakharnogo diabeta i diabeticheskoy nefropatii v eksperimente // Elektronnyy zhurnal «Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya». 2015. № 4.
3. Mazo V.K., Sidorova Yu.S., Kochetkova A.A. Geneticheskiye modeli sakharnogo diabeta 2 tipa na myshakh dlya otsenki effektivnosti minornykh biologicheskikh aktivnykh veshchestv pishchi // Vopr. pitaniya. 2015. T. 84, № 6. S. 63-68.
4. Mazo V.K., Murashev A.N., Sidorova Yu.S., Zorin S.N., Kochetkova A.A. Geneticheskiye modeli diabeta tipa 2 na krysakh dlya otsenki effektivnosti minornykh biologicheskikh aktivnykh veshchestv pishchi // Vopr. pitaniya. 2014. T. 83, № 6. S. 25-31.
5. Snigur G.L., Smirnov A.V., Shmidt M.V., Pocheptsov M.YA. i dr. Sravnitel'nyye aspekty ul'trastrukturnykh izmeneniy insulotsitov pankreaticheskikh ostrovkov pri eksperimental'nom sakharnom diabete // Volgograd. nauch.-med. zhurn. 2012. № 1. C. 108-111.
6. Ganda OP, Rossi AA, Like AA. Studies on streptozotocin diabetes. Diabetes. 1976; 25: 595-603.
7. Gandhi G.R., Stalin A., Balakrishna K. et al. Insulin sensitization via partial agonism of PPARgamma and glucose uptake through translocation and activation of GLUT4 in PI3K/p-Akt signaling pathway by embelin in

- type 2 diabetic rats // *Biochim. Biophys. Acta*. 2013. Vol. 1830. P. 2243-2255.
8. Katsumata K, Katsumata K, Jr., Katsumata Y. Protective effect of diltiazem hydrochloride on the occurrence of alloxan- or streptozotocin-induced diabetes in rats. *Horm Metab Res*. 1992; 24: 508-510.
 9. Nir T, Melton DA, Dor Y. Recovery from diabetes in mice by β cell regeneration. *The Journal of Clinical Investigation*. 2007; 117 (9): 2553-2561.
 10. Quaranta P, Antonini S, Spiga S, Mazzanti B, Curcio M, Mulas G, Diana M, Marzola P, Mosca F, Longoni B. Cotransplantation of endothelial progenitor cells and pancreatic islets to induce long-lasting normoglycemia in streptozotocin-treated diabetic rats. *PLoS One*. 2014 Apr 14; 9 (4): e94783. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094783>. [eCollection 2014](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094783).
 11. Olatunji L.A., Okwusidi J.I., Soladoye A.O. Antidiabetic Effect of anacardium occidentale stem-bark in fructose-diabetic rats // *Pharm. Biol*. 2005. Vol. 43, N 7. P. 589-593. 48.
 12. Patel J., Iyer A., Brown L. Evaluation of the chronic complication of diabetes in a high fructose diet in rats // *Indian J. Biochem. Biophys*. 2009. Vol. 46. P. 66-72.
 13. Szkudelski T. Streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. *Exp Biol Med* (Maywood). 2012 May; 237 (5): 481-490. <https://doi.org/10.1258/ebm.2012.011372>. Epub 2012 May 22.
 14. Wilson R.D, Islam M.S. Fructose-fed streptozotocin-injected rat: an alternative model for type diabetes // *Pharmacol. Rep*. 2012. Vol. 64, N 1. P. 129-139.
 15. Wu Y., Ouyang J.P., Zhou Y.F. et al. Mechanism of improving effect of losartan on insulin sensitivity of non-insulin-dependent diabetes mellitus rats // *Acta Physiologica Sinica*. 2004. Vol. 56. P. 539549.
 16. Zhou Y.S., Gao Y., Guo X.H. et al. Effects of timely insulin treatment on protection of beta cells in a rat model of type 2 diabetes mellitus // *Chin. Med. J. (Engl)*. 2004. Vol. 117. P. 15231529.
 17. Zhang M., Lv X.Y., Li J., Xu Z.G., Chen L. The characterization of high-fat diet and multiple low-dose streptozotocin induced type 2 diabetes rat model // *Exp. Diabetes Res*. 2008. Article ID 704045. doi: 10.1155/2008/704045. 47.

Поступила 09.10.2021