

УДК 616.379-008.64-092.9:547.857.5:542.92

Біологічне моделювання цукрового діабету I типу за допомогою алоксану зі зміненими хімічними властивостями

Понирко А.О., Теслик Т.П., Пернаков М.С.

Сумський державний університет, медичний інститут, м.Суми

НДР 0113U001347 «Закономірності вікових і конституціональних морфологічних перетворень внутрішніх органів і кісткової системи за умов впливу ендо- і екзогенних чинників і шляхи їх корекції»

Стаття присвячена порівняльному аналізу впливу щойноприготованого розчину алоксану та алоксану, що перебував протягом 30 діб в негерметичній упаковці на клінічну картину цукрового діабету I типу. Дослід проводили на 60-ти білих експериментальних щурах, масою 150-200 гр., молодого віку (24 тижні) обох статей, що утримувались в умовах віварію Медичного інституту, кафедри морфології. Експеримент тривав 60 діб. Важливою умовою для моделювання цукрового діабету є введення розчину алоксану після 10-ти годинного голодування. Дигідрат алоксану вводили інтраперитонеально одноразово у вигляді 0,9% нормального сольового розчину в дозі 150 мг/кг. Після введення свіжого розчину алоксану у експериментальних тварин розвинулась клінічна картина цукрового діабету I типу: полідипсія, поліфагія, поліурія з глюкозурією, зниження маси тіла, значне підвищення глюкози в крові, а у щурів, яким було введено алоксан місячної давнини, симптоматика була набагато слабшою.

Ключові слова: алоксан, цукровий діабет, експериментальні моделі, гіперглікемія, глюкозурія.

Вступ. Цукровий діабет займає 3 місце в світі після серцево-судинних захворювань та онкопатології. Постійно вивчаються питання хронічної гіперглікемії, зокрема і експериментальним шляхом для чого використовуються хімічні сполуки (алоксан, стрептозотонин та ін.)

Незважаючи на значні успіхи в сучасній діагностиці цукрового діабету, та новітні досягнення у вивченні патогенезу цього захворювання ряд запитань залишаються відкритими [2,5].

Велике значення для вивчення патогенезу захворювання має експериментальна діабетологія.

В наш час є безліч моделей експериментального цукрового діабету основними з яких є наступні:

1. Хімічна модель. Використовується введення хімічних речовин, що вибірково впливають на β -клітини острівців Лангергарса: стрептозотонин, алоксан, дитизон, хлорозотонин, ципрогептадин та ін.
2. Хірургічна модель. Використовується повне або часткове видалення підшлункової залози.
3. Ендокринна модель. Використовується тривале введення гормонів аденогіпофізу, СТГ, АКТГ, що викликає метагіпофізарний діабет, або введення глюкокортикоїдів, що викликають метастероїдний діабет.
4. Генетична модель. Використовується виведення чистих ліній мишей (щурів) та ін. тварин зі спадково-зумовленою формою цукрового діабету.
5. Імунна модель. Використовується введення тваринам антитіл проти інсуліну [9,10,12].

Найбільш поширеними являються хімічна та хірургічна моделі цукрового діабету.

Цікавість до алоксану різко зросла з 1943 року, коли вперше було показано, що введення цього хімічного з'єднання викликає вибірковий некроз острівців підшлункової залози з подальшим розвитком класичних симптомів цукрового діабету.

В наш час підвищена увага до алоксану виникла перед усім, тим, що він володіє цитостатичними властивостями по відношенню до β -клітин острівців підшлункової залози і тим самим може бути причиною виникнення інсулінозалежного цукрового діабету I типу[1,8,11].

Алоксан (мезоксалілсечовина)- продукт розпаду сечової кислоти, відноситься до ряду фізіологічно активних речовин. Утворюється від дії сильної азотної кислоти на сечову кислоту. В організмі утворюється при деяких порушеннях обміну речовин, вибірково діє тканину панкреатичних острівців (Лангерганса), викликаючи її переродження в зв'язку з цим використовується для створення експериментальної моделі цукрового діабету на лабораторних тваринах. Алоксан (2,4,5,6-тетраоксиперимедин, 5,6-диоксиурацил або метоксалил-сечовина) - це азотовмісне гетероциклічне з'єднання з чотирма оксигрупами, що має молекулярну структуру з шестичленним циклом. Являє собою білу кристалічну речовину, що легко вивірюється і при взаємодії з повітрям змінює свій колір на рожевий. При взаємодії з повітрям поступово втрачає частину кристалізованої води і стає вологим, якщо йому дати постояти при кімнатній температурі. Тому при зберіганні він поступово втрачає свої властивості [4,11].

Засіб має діабетогенну дію тільки при парентеральному способі введення - внутрішньовенному, підшкірному, внутрішньом'язовому, інтраперитонеальному [2,3].

Окрім патологічного впливу на підшлункову залозу, алоксан викликає наступні ускладнення: помутніння кришталіку, некроз ниркових каналців, ряду дрібних змін наднирників, гіпофізу, щитовидної залози, тимуса. Надмірні дози алоксана смертельні, але близько 150 мг/кг викликає вибіркоче руйнування β -клітин і лише мінімальне пошкодження тканин нирок та інших органів [6,7].

Після введення алоксан викликає незворотній цукровий діабет через 24 години після його введення, і цей стан підтверджується лабораторними дослідженнями через 7 днів.

Після введення спостерігається 3 стадії розвитку цукрового діабету.

- 1) Гостра стадія- з високою гіперглікемією, поліурією, що призведе до значної смертності через 2-3 дня після введення препарату.
- 2) Гіпоглікемічна – проявляється протягом 15-24 годин і характеризується різким зниженням цукру в крові.
- 3) Тривала стадія- зі стійкою гіперглікемією, поліурією, що триває декілька місяців (2-3 міс.).

У більшості видів (тварин) трифазний курс часу зберігається. Почасове зростання глюкози з подальшим зменшенням ймовірно через виснаження острівців від інсуліну, і знову виникає стійке підвищення рівня глюкози в крові [11,12].

Мета: Дослідити клінічну картину цукрового діабету I типу після введення алоксану, що перебував протягом 30 діб в негерметичній упаковці.

Важливою умовою для моделювання цукрового діабету є введення розчину алоксану після 10-ти годинного голодування[11].

Дигідрат алоксану вводили інтраперитонеально одноразово у вигляді 0,9% нормального сольового розчину в дозі 150 мг/кг.

Матеріали та методи дослідження: Протягом експерименту визначали масу тіла щурів (ваги Kern 442-432N), вміст глюкози в сечі (за допомогою діагностичних тест-полосок Citolab (КНДР)) та крові (глюкозооксидазним методом).

Піддослідні тварини були розділені на 3 групи:

- 1) Група А - тварини, яким вводили розчин алоксану, який готували з порошка, взятого з щойно відкритої герметичної упаковки.
- 2) Група Б – тварини, яким вводили розчин алоксану, який готували з порошка, який зберігався в упаковці, що була розгерметизована протягом 30 днів.
- 3) Група В - інтактні тварини.

Результати досліджень та їх обговорення. В нашій роботі була використана хімічна модель цукрового діабету, а саме: алоксанова модель.

Дослід проводили на 60-ти білих експериментальних щурах, масою 150-200 гр., молодого віку (24 тижні) обох статей, що утримувались в умовах віварію Медичного інституту, кафедри морфології. Тварини знаходились на повноцінній збалансованій по складу поживних речовин дієті для лабораторних тварин відповідно ГОСТ. Експеримент було проведено відповідно методичних вказівок та нормативних документів правилам лабораторної практики при проведенні дослідів. Експеримент тривав 60 діб.

Важливою умовою для моделювання цукрового діабету є введення розчину алоксану після 10-ти годинного голодування[11].

Дигідрат алоксану вводили інтраперитонеально одноразово у вигляді 0,9% нормального сольового розчину в дозі 150 мг/кг.

Після введення свіжого розчину алоксану у експериментальних тварин розвинулась клінічна картина цукрового діабету І типу: полідипсія,

поліфагія, поліурія з глюкозурією, зниження маси тіла, значне підвищення глюкози в крові, а у щурів, яким було введено алоксан місячної давнини, симптоматика була набагато слабшою.

Таблиця 1

Зміна маси тіла та глюкози в крові та сечі у експериментальних тварин

Показники		Група А		Група Б		Група В
		30 днів	60 днів	30 днів	60 днів	
1	Маса, г	180 ±2,002*	165±1,9*	195±2,1*	195±2,1*	200
2	Рівень глюкози в крові, ммоль/л	16,2±2,03*	10±2,1*	9,5±2,1*	7,3±2,3*	5,0
3	Рівень глюкози в сечі	++	+	±	-	-
4	Смертність	5	3	1	1	0
4	*-різниця з групами інтактних тварин достовірні при P<0,05					

Згідно показників видно, що тварини в групі А мають зменшення маси тіла на 10% у 30 днів і на 17,5% у 60 днів, а тварини з піддослідної групи Б мають зменшення маси тіла лише на 2,5% у порівнянні з тваринами групи В.

Рівень глюкози в крові у піддослідних тварин групи А склав 16,2 ммоль/л, що у порівнянні з інтактними тваринами у 3 рази більше, а у тварин групи Б цей показник досягає верхньої межі норми.

Глюкозурія у тварин групи А складає від 5,5 до 14,0 ммоль/л (\pm ,+ відповідно), а у щурів групи Б лише в перші 30 днів спостерігається глюкозурія а в подальшому цукор в сечі був відсутній.

Смертність при цьому у піддослідних тварин групи А склала 40 %, а у тварин групи Б лише 10%.

Висновки. Отже, розчин алоксану, який контактував з повітрям протягом 30 діб (не був герметично упакований) втратив свої повноцінні цитостатичні властивості відносно враження острівців Лангерганса. Це проявляється клінічно у вигляді незначної поліурії, поліфагії, полідипсії, глюкозурії, глікемії, зниження маси тіла.

Для практичного застосування необхідно використовувати герметично упакований кристалічний порошок алоксану, який перед використанням необхідно розкрити, розвести у відповідних пропорціях і використати протягом 1 доби.

Дані проведеного експерименту можуть бути враховані при проведенні експерименту іншими науковцями.

Перспективи подальших досліджень. Наступним етапом наших досліджень стане визначення впливу розчину алоксану на морфологію окремих органів піддослідних щурів.

Список використаної літератури

1. Балаболкин М.И. Диабетическая нейропатия./М.И.Балаболкин, Т.Е Чернышова и др.//Москва. – 2003. – 109 с.
2. Баранов В.Г. Экспериментальный сахарный диабет./Баранов В.Г. – Л.:Наука,1983. – 240 с.

3. Варданян А.Р. Влияние алоксана на физико-химические свойства металлопротеинов крови *in vitro*./А.Р.Варданян//Биохимия. – 1996. – Т.61. - С.936-937.
4. Галенова Т.І. Відтворення експериментальної стрептозотоцин-індукованої моделі цукрового діабету 2 типу у щурів./Т.І.Галенова, В.В.Конопельнюк та ін.//Фізика живого. – 2010. - №3.-Т.18. – С.50-53.
5. Грищук М.І. Порівняльна характеристика експериментальних моделей цукрового діабету./М.І.Грищук, Т.М.Бойчук та ін.//Світ медицини та біології. – 2014. - №2(44) – С.199-202.
6. Джафарова Р.Э. Сравнительное исследование различных моделей аллоксан-индуцированного сахарного диабета./Р.Э.Джафарова//Казанский медицинский журнал. – 2013. - №6. – С.915-919.
7. Эльбекьян К.С. Особенности нарушения макро- и микроэлементного спектра сыворотки крови при экспериментальном сахарном диабете./К.С.Эльбекьян, А.Б.Ходжаян и др.//Журнал Ставропольской медицинской академии. – 2011. - №2 – С.15-17.
8. Кузишин О.В. Біохімія цукрового діабету:1.Теоретична частина (огляд)/О.В.Кузишин, Н.В.Ковалишин та ін.// Біохімія. – 2010. – С.74-78.
9. Можейко Л.А. Экспериментальные модели для изучения сахарного диабета. Часть 1. Аллоксановый диабет./Л.А.Можейко//Журнал Гродненского медицинского университета. – 2013. - №3. – С. 26-28.
- 10.Пальчикова Н.А. Горманально-биохимические особенности аллоксановой и стрептозотоциновой моделей экспериментального диабета./Н.А.Пальчикова, Н.В.Кузнецова и др.//Бюллетень СО РАМН. – 2013. - №6. Том №33. – С.18-23.

11. Писарев В.Б. Клеточная гибель β -эндокриноцитов панкреатических островков, обусловленная аллоксановой цитотоксичностью. // В.Б. Писарев, Г.Л. Снигур и др. // Морфология. – 2008. - №4. – С.24-25.
12. Спасов А.А. Экспериментальная модель сахарного диабета 2 типа. // А.А. Спасов, М.П. Воронкова и др. // Биомедицина. – 2011. - №3. – С.12-18.

УДК 616.379-008.64-092.9: 547.857.5: 542.92

Биологическое моделирование сахарного диабета I типа с помощью аллоксана с измененными химическими свойствами

Понырко А.А., Теслык Т.П., Пернаков Н.С.

Резюме. Статья посвящена сравнительному анализу влияния свежеприготовленного раствора аллоксана и аллоксана, что находился в течение 30 суток в негерметичной упаковке на клиническую картину сахарного диабета I типа. Опыт проводили на 60-ти белых экспериментальных крысах, массой 150-200 гр., молодого возраста (24 недели) обеих полов, которые содержались в условиях вивария Медицинского института, кафедры морфологии. Эксперимент длился 60 суток. Важным условием для моделирования сахарного диабета является введение раствора аллоксана после 10-ти часового голодания. Дигидрат аллоксана вводили интраперитонеально однократно в виде 0,9% нормального солевого раствора в дозе 150 мг / кг. После введения свежего раствора аллоксана у экспериментальных животных развилась клиническая картина сахарного диабета I типа: полидипсия, полифагия, полиурия с глюкозурией, снижение массы тела, значительное

повышение глюкозы в крови, а у крыс, которым был введен аллоксаном месячной давности, симптоматика была намного слабее.

UDC 616.379-008.64-092.9: 547.857.5: 542.92

Biological Modeling of Type I Diabetes Mellitus with Alloxane with Modified Chemical Properties

Ponyrko A.A., Teslyk T.P., Pernakov N.S.

Summary. The article is devoted to a comparative analysis of the effect of a freshly prepared solution of alloxan and alloxan that was in a leaky package for 30 days on a clinical picture of type I diabetes mellitus. The experiment was carried out on 60 white experimental rats weighing 150-200 gr., young age (24 weeks) of both sexes, which were kept in the conditions of the Vivarium of the Medical Institute, the Department of Morphology. The experiment lasted 60 days. An important condition for the modeling of diabetes mellitus is the administration of the alloxan solution after a 10-hour fasting. Alloxan dihydrate was administered intraperitoneally once as a 0.9% normal saline solution at a dose of 150 mg / kg. After the introduction of a fresh alloxan solution, a clinical picture of type I diabetes mellitus was developed in experimental animals: polydipsia, polyphagia, polyuria with glucosuria, weight loss, significant increase in blood glucose, and in rats treated with an alloxan of a month ago, symptoms were much weaker.