

DOI: 10.1134/S0869813918110031

ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ КОМПЕНСАТОРНЫХ ПРОЦЕССОВ В ИНСУЛИНСИНТЕЗИРУЮЩЕЙ СИСТЕМЕ ПРИ АЛЛОКСАНОВОМ ДИАБЕТЕ

© Т. С. Булавинцева, Б. Г. Юшков, К. В. Соколова, И. Г. Данилова

Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН,
Екатеринбург, Россия
E-mail: Ig-danilova@yandex.ru

Задача исследования — выявить реакции структур инсулинсинтезирующей системы при аллоксановом диабете. Показано, что в поджелудочной железе она представлена островками (60.93 %), агломератами β -клеток (19.37 %) и единичными β -клетками ацинарного (13.13 %) и протокового эпителия (6.56 %). По интенсивности синтеза инсулина островки разделяются на островки с высокой (тип I), средней (тип II) и низкой (тип III) синтетической активностью. Под влиянием аллоксана отмечается нарастающая деструкция инсулинсинтезирующих клеток. При этом островковый аппарат является наиболее уязвимым, поскольку в островках в отличие от агломератов количество β -клеток падает. Компенсаторные механизмы в островках реализуются либо увеличением количества пролиферирующих β -клеток на фоне снижения их синтетической активности, либо повышением синтетической активности при снижении количества пролиферирующих β -клеток. Во внеостровковых инсулинсинтезирующих структурах отмечаются гипертрофия клеток и значительное увеличение количества единичных клеток в эпителии протоков.

Ключевые слова: аллоксановый диабет, панкреатический островок, β -клетки, внеостровковые инсулинсинтезирующие клетки.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 104. № 11. С. 1291—1300. 2018

T. S. Bulavintseva, B. G. Ushkov, K. V. Sokolova, I. G. Danilova. COMPENSATORY PROCESSES IN THE INSULIN PRODUCTION SYSTEM IN ALLOXAN DIABETES. Institute of immunology and physiology of the Ural Branch of the RAS, Ekaterinburg, Russia, e-mail: Ig-danilova@yandex.ru.

The current study was aimed to reveal the reaction of the insulin production system to alloxan diabetes. In the pancreas that system is comprised by islets (60.93 %), β -cell agglomerates (19.37 %) and singular β -cells in acinar (13.13 %) and ductal (6.56 %) epithelium. Based on the insulin production intensity, islets are classified as high- (type I), medium- (type II), and low- (type III) activity. Alloxan treatment leads to the progressive destruction of insulin-producing cells, with islets being the most susceptible to the β -cell death. The compensatory mechanisms in the islets are implemented through either increased β -cell proliferation combined with their decreased proliferation.

Cell hypertrophy and significant increase in the number of cells in ductal epithelium is found in the extra-islet insulin-producing structures.

Key words: alloxan diabetes, pancreatic islet, β -cell, extra-islet insulin-producing cells.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 104. N 11. P. 1291—1300. 2018

Сахарный диабет 1-го типа (СД1) — тяжелое прогрессирующее заболевание, связанное с увеличением апоптоза и гибелью β -клеток островков поджелудочной железы, что приводит к развитию дефицита инсулина, гипергликемии и формированию хронических осложнений. Важнейшим инструментом для изучения механизмов развития данного заболевания является использование экспериментальных моделей на животных. Индукция сахарного диабета введением химических веществ широко применяется в диабетологии [12]. Аллоксан является нестабильным цитотоксическим соединением, быстро накапливающимся в панкреатических β -клетках благодаря облегченной диффузии, опосредованной транспортером глюкозы-2 (GLUT2). Токсичность аллоксана по отношению к β -клеткам связана с генерацией активных форм кислорода, ингибированием окисления глюкозы и синтеза АТФ, что подавляет секрецию инсулина. Быстрое и селективное разрушение β -клеток аллоксаном широко используется в качестве экспериментальной модели СД 1 [8]. Необратимая деструкция β -клеток является ключевой особенностью аутоиммунной патологии СД1 [3].

Известно, что моноциты / макрофаги и дендритные клетки играют важную роль в иницировании и координации аутоиммунной агрессии против инсулинсинтезирующих клеток [16]. Инфильтрируя ткани на всех стадиях инсулита, макрофаги фагоцитируют поврежденные β -клетки и представляют свои антигены в локальных лимфатических узлах, активируя цитотоксические Т-лимфоциты. Предполагается, что макрофаги поджелудочной железы, возможно фенотипа M1, участвуют в секреции активных форм кислорода и провоспалительных цитокинов [5].

Инсулинсинтезирующая система гетерогенна и представлена островками Лангерганса, агломератами инсулинсинтезирующих клеток и отдельно лежащими клетками. Данные структуры отличаются по количеству инсулинсинтезирующих клеток, их пролиферативной и секреторной активности, а также по характеристикам их микроокружения. Это дает основание предположить различную чувствительность инсулинсинтезирующих структур к действию повреждающих факторов.

Цель настоящего исследования состояла в выявлении особенностей компенсаторной реакции отдельных структур инсулинсинтезирующей системы крыс в процессе развития аллоксанового сахарного диабета.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа проведена на крысах линии Вистар обоего пола в возрасте 3—4 месяцев ($n = 15$). Исследование проведено в соответствии с этическими нормами, изложенными в «Правилах проведения работ с использованием экспериментальных животных» и директиве 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях. На проведение исследования получено разрешение этического комитета Института иммунологии и физиологии УрО РАН (протокол № 2 от 06.02.2017).

Избирательное повреждение инсулинсинтезирующих клеток вызывали у крыс путем трехкратного с интервалом 2 суток внутрибрюшинного введения растворенного в физиологическом растворе аллоксана в дозе 100 мг на 1 кг массы тела животного после предварительного 12-часового голодания. Общая доза составила 300 мг/кг [2]. Контролем служили интактные животные. Выведение животных из эксперимента проведено натошак путем передозировки эфира.

Исследование состояния углеводного обмена и характеристику инсулинсинтезирующей системы осуществляли на 30-е и 60-е сутки после последнего введения аллоксана. Контролем служили интактные животные. В крови животных определяли уровень глюкозы, гликозилированного гемоглобина и инсулина. Образцы ткани поджелудочной железы фиксировали в 10%-ном забуференном формальдегиде, далее осуществляли стандартную подготовку образцов на автоматическом процессоре Leica EG 1160 с последующей заливкой в парафин.

Для визуализации инсулиноцитов и макрофагов использовали антитела к инсулину (клон E11D7; Millipore, Германия) и антимоноцитарно-макрофагальные антитела (клон MAC387; Abcam, США). Оценку пролиферативной активности инсулиноцитов осуществляли с помощью моноклональных антител к Ki-67 (BD, США).

Двойное иммуногистохимическое исследование [1] проводили в двух последовательных срезах: 1 — для выявления пролиферирующих инсулиноцитов (Ki-67⁺инсулин⁺ клетки), 2 — для выявления особенностей локализации макрофагов (MAC387⁺) и β -клеток (инсулин⁺). В качестве вторичных антител для визуализации Ki-67 и MAC387 были использованы противомышинные иммуноглобулины козы, конъюгированные с Alexa Fluor 488 (Abcam, США), для визуализации инсулина — противомышинные иммуноглобулины козы, конъюгированные с Texas Red (Abcam, США). Контрастное окрашивание ядер проводили Nuc Red Dead 647 (LifeTec, Германия). Получение и обработку изображений осуществляли на лазерном сканирующем конфокальном микроскопе LSM 710 (ZEISS, Германия).

В ходе морфометрии подсчитывали общее количество панкреатических островков, единичные и собранные в агломераты (в количестве до 5 штук) инсулинсинтезирующие клетки. Исследование панкреатических островков включало определение их диаметра (мкм); общей плотности клеток, количества β -клеток, Ki-67⁺ β -клеток и макрофагов в расчете на 1 мм² эндокринной ткани (N/мм²).

Оценку интенсивности синтеза инсулина β -клетками проводили путем измерения интенсивности флуоресценции инсулинпозитивной области клеток. Данный параметр свидетельствует о количестве инсулина в клетках (чем больше инсулина содержит клетка, тем больше антител с ней связывается и тем интенсивнее она флуоресцирует). Интенсивность окраски выражали в условных единицах, определенных с помощью программы ВидеоТест-Морфология 5.0.

С целью анализа зависимости функциональной активности панкреатических островков и структурных изменений в них все островки были разделены на три основных типа в зависимости от синтетической активности в них β -клеток: I тип — панкреатические островки, обладающие высокой синтетической активностью (интенсивность флуоресценции инсулина свыше 41 усл. ед.); II тип — панкреатические островки со средней функциональной активностью (интенсивность флуоресценции инсулина от 21 до 40 усл. ед.);

III тип — панкреатические островки, обладающие низкой синтетической активностью (интенсивность флюоресценции до 20 усл. ед.).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием непараметрического критерия (U) Манна—Уитни (Statistica 6,0; Stat-Soft, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

После введения аллоксана в оба исследованных срока в крови крыс отмечаются характерные для СД1 прогрессирующие снижения концентрации инсулина, рост уровня глюкозы и гликированного гемоглобина (табл. 1).

В поджелудочной железе на фоне сохранения общего количества инсулинсинтезирующих структур на 30-е сутки эксперимента изменяется их соотношение. Количество панкреатических островков снижается на 29 % относительно интактных животных, число агломератов инсулинсинтезирующих клеток (ИСК) не меняется, а единичных диффузно расположенных ИСК возрастает в 2 раза (табл. 2). В результате соотношение количества панкреатических островков и внеостровковых инсулинсинтезирующих структур выравнивается (1 : 1.2), в то время как в контроле островки Лангерганса преобладают (1.5 : 1).

На 60-е сутки эксперимента количество панкреатических островков и агломератов инсулинсинтезирующих клеток значительно снижается относительно интактных животных. Количество единичных инсулинсинтезирующих клеток остается на уровне предыдущего срока наблюдения (табл. 2). В результате отношение островков к внеостровковым инсулинсекретирующим структурам смещается в сторону преобладания последних (1 : 4).

На фоне уменьшения количества островков отмечаются и их качественные изменения.

Так, на 30-е сутки у экспериментальных животных преобладают островки с низкой и средней синтетической активностью, в то время как у контрольных крыс доминируют островки с высокой синтетической активностью (см. рисунок), снижается плотность β -клеток (табл. 3) и содержание в них инсулина (табл. 5), растет количество макрофагов (табл. 4), хотя размеры островков и их общая клеточность остаются на уровне контроля. При этом выявляются единичные островки, не дающие положительной реакции на инсулин в ходе иммуногистохимического окрашивания.

В зависимости от содержания инсулина островки имеют свои особенности изменения морфофункциональных характеристик. Отмечается неравномер-

Таблица 1

Биохимические показатели крови экспериментальных животных

Показатель	Интактные животные	Длительность аллоксанового диабета	
		30 суток	60 суток
Инсулин, мкг/л	1.28 ± 0.19	0.47 ± 0.05*	0.36 ± 0.04*, **
Глюкоза, ммоль/л	6.0 ± 0.3	26.0 ± 1.8*	32.6 ± 0.8*, **
Гликозилированный гемоглобин, %	5.1 ± 0.2	7.1 ± 0.6*	6.5 ± 0.3*

Примечание. * Достоверные отличия от группы интактных животных ($p \leq 0.05$), ** достоверные отличия от группы животных с длительностью аллоксанового диабета 30 суток ($p < 0.05$). $n = 5$.

Таблица 2

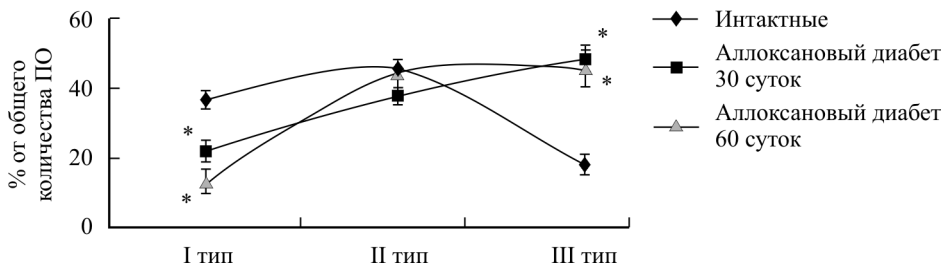
Соотношение количества инсулинсинтезирующих структур в 1 мм² паренхимы поджелудочной железы экспериментальных животных

Показатель	Интактные животные	Длительность аллоксанового диабета	
		30 суток	60 суток
Общее количество инсулинсинтезирующих структур	3.2 ± 0.1	2.8 ± 0.2	1.7 ± 0.1*, **
Количество ПО	1.95 ± 0.08	1.38 ± 0.23*	0.31 ± 0.05*, **
Количество ПО с положительной реакцией на инсулин	1.8 ± 0.1	1.5 ± 0.2	0.3 ± 0.1*, **
Количество агломератов	0.62 ± 0.06	0.56 ± 0.05	0.45 ± 0.05*
Среднее количество единичных ИСК	0.55 ± 0.05	1.03 ± 0.09*	0.89 ± 0.06*
Количество единичных ИСК ацинарного эпителия	0.42 ± 0.06	0.34 ± 0.05	0.39 ± 0.06
Количество единичных ИСК протокового эпителия	0.21 ± 0.04	0.48 ± 0.07*	0.45 ± 0.06*

Примечание. ПО — панкреатический островок, ИСК — инсулинсинтезирующие клетки. * Достоверные отличия от группы интактных животных ($p < 0.05$), ** достоверные отличия от группы животных с длительностью аллоксанового диабета 30 суток ($p \leq 0.05$). $n = 5$.

ный рост содержания макрофагов в островках. Островки с высокой синтетической активностью (I типа) характеризуются наибольшим содержанием макрофагов (табл. 4), увеличением размеров β -клеток за счет увеличения ядра (табл. 6), при этом выявить Ki-67⁺ β -клетки в данном типе островков не удалось (табл. 7) (хотя у интактных животных они обладают наибольшим их количеством). В островках со средней синтетической активностью (II тип) также отмечается увеличение количества макрофагов (табл. 4), размеры β -клеток и их пролиферативная активность соответствуют показателям интактных животных (табл. 6, 7). Островки с низкой синтетической активностью (III типа) характеризуются наименьшим уровнем макрофагальной инфильтрации (табл. 4) и выраженным ростом количества Ki-67⁺ β -клеток (табл. 7). β -Клетки этих островков характеризуются увеличенным объемом цитоплазмы на 20 % относительно интактных животных (табл. 6).

На 30-е и 60-е сутки размеры и общая клеточность панкреатических островков соответствуют уровню интактных животных. Количество β -клеток еще больше снижается и составляет 11 % от нормальных значений (табл. 3).



Распределение островков с различной синтетической активностью.

ПО — панкреатический островок. * Статистически значимые различия с интактной группой животных ($p \leq 0.05$).

Таблица 3

Количество β -клеток в панкреатических островках (N/mm^2 структуры)

Показатель	Интактные животные	Длительность аллоксанового диабета	
		30 суток	60 суток
Средний ПО	7025 \pm 221	3353 \pm 341*	862 \pm 104*,**
ПО I типа	7098 \pm 226	3746 \pm 338*	2346 \pm 497*
ПО II типа	7000 \pm 233	3276 \pm 242*	1185 \pm 314*,**
ПО III типа	7947 \pm 405	2891 \pm 272*	1014 \pm 127*,**
Агломерат	13409 \pm 537	9720 \pm 691*	10049 \pm 662*

Примечание. * Достоверные отличия от группы интактных животных ($p \leq 0.05$), ** достоверные отличия от группы животных с длительностью аллоксанового диабета 30 суток ($p \leq 0.05$). $n = 5$.

Таблица 4

Распределение макрофагов (MAC387⁺) в панкреатических островках различной функциональной активности

Показатель	Интактные животные	Длительность аллоксанового диабета	
		30 суток	60 суток
Среднее количество макрофагов в ПО (N/1 мм ² ПО)	28 \pm 3	165 \pm 23*	185 \pm 18*
Количество макрофагов в ПО I типа (N/1 мм ² ПО)	25 \pm 4	387 \pm 97*	252 \pm 54*
Количество макрофагов в ПО II типа (N/1 мм ² ПО)	29 \pm 6	261 \pm 58*	181 \pm 29*
Количество макрофагов в ПО III типа (N/1 мм ² ПО)	36 \pm 7	161 \pm 15*	146 \pm 32*

Примечание. ПО — панкреатический островок. * Достоверные отличия от группы интактных животных ($p \leq 0.05$), ** — достоверные отличия от группы животных с длительностью аллоксанового диабета 30 суток ($p \leq 0.05$). $n = 5$.

Таблица 5

Синтетическая активность инсулинсинтезирующих клеток различной локализации (усл. ед.)

Показатель	Интактные животные	Длительность аллоксанового диабета	
		30 суток	60 суток
β -клетки ПО	33.7 \pm 1.7	15.1 \pm 3.1*	18.7 \pm 3.4*
ИСК агломерата	32.8 \pm 4.4	47.9 \pm 4.7*	33.9 \pm 4.1
Единичные ИСК ацинарного эпителия	43.3 \pm 4.0	44.5 \pm 6.7*	33.1 \pm 3.0
Единичные ИСК протокового эпителия	32.2 \pm 3.6	31.9 \pm 9.4	35.3 \pm 3.8

Примечание. * Достоверные отличия от группы интактных животных ($p \leq 0.05$). $n = 5$.

Таблица 6

Ядерно-цитоплазматическое соотношение инсулинсинтезирующих клеток (ИСК) различной локализации

Показатель, мкм ²	Интактные животные	Длительность аллоксанового диабета	
		30 суток	60 суток
Единичные ИСК			
S ядра ИСК ацинарного эпителия	23.4 ± 1.1	27.5 ± 1.5	28.7 ± 1.9*
S ИСК ацинарного эпителия	112.4 ± 8.8	113.9 ± 4.3	137.1 ± 11.2
S ядра ИСК протокового эпителия	21.7 ± 2.2	18.6 ± 1.3	30.1 ± 3.3*, **
S ИСК протокового эпителия	80.1 ± 6.5	80.6 ± 10.3	103.7 ± 7.0*
ИСК агломерата			
S ИСК	74.4 ± 4.9	85.5 ± 6.3	103.9 ± 5.9*
S ядра ИСК	25.6 ± 1.0	25.0 ± 1.5	26.9 ± 1.5
Панкреатические островки			
S ядра β-клетки Среднего ПО	24.5 ± 0.6	25.3 ± 1.5	24.9 ± 0.7
S β-клетки Среднего ПО	73.1 ± 3.9	78.5 ± 2.3	87.9 ± 3.8*
S ядра β-клеток ПО I типа	22.6 ± 1.2	29.3 ± 1.0*	23.6 ± 1**
S β-клеток ПО I типа	66.9 ± 5.3	84.9 ± 1.7*	68.6 ± 2.7**
S ядра β-клеток ПО II типа	24.9 ± 0.6	27.7 ± 0.8	27.4 ± 0.9
S β-клеток ПО II типа	68.6 ± 4.1	74.4 ± 1.9	87.2 ± 4.0*, **
S ядра β-клеток ПО III типа	24.4 ± 0.9	27.5 ± 0.8	24.5 ± 1.1
S β-клеток III типа	64.8 ± 2.6	80.1 ± 1.5*	76.3 ± 2.3*

Примечание. * Достоверные отличия от группы интактных животных ($p \leq 0.05$), ** достоверные отличия от группы животных с длительностью аллоксанового диабета 30 суток ($p \leq 0.05$). $n = 5$.

Только 42 % островков положительно окрашиваются на инсулин (табл. 2). Соотношение островков с различной синтетической активностью и средняя синтетическая активность β-клеток соответствуют 30-м суткам наблюдения (см. рисунок; табл. 5).

В островках с высокой синтетической активностью (I тип) количество β-клеток соответствует уровню предыдущего срока наблюдения (табл. 3), отмечается уменьшение размеров ядра β-клеток (табл. 6). Пролиферирующие β-клетки в данном типе островков также не выявляются (табл. 7).

В островках со средней секреторной активностью (II тип) уменьшается количество β-клеток на 63 % (табл. 3), увеличивается объем их цитоплазмы на 27 % (табл. 6), значительно уменьшается количество пролиферирующих β-клеток относительно 30-х суток и интактных животных (табл. 7).

В островках с низкой синтетической активностью (III тип) наблюдается двукратное снижение количества β-клеток (табл. 3), объем их цитоплазмы сохраняется на уровне предыдущего срока эксперимента (табл. 6), количество Ki-67⁺ β-клеток снижается до уровня интактных животных (табл. 7).

Количество макрофагов и их распределение в панкреатических островках соответствуют 30-м суткам эксперимента (табл. 4).

Что касается агломератов инсулинсинтезирующих клеток, то на 30-е сутки после введения аллоксана выявляется снижение плотности их клеток (табл. 3) и повышение синтетической активности относительно интактных животных на 46 % (табл. 5), присутствуют единичные Ki-67⁺ клетки (табл. 7).

Таблица 7

Распределение пролиферирующих β -клеток

Показатель	Интактные животные	Длительность аллоксанового диабета	
		30 суток	60 суток
Единичные ИСК	0	0	0
Агломераты ИСК	Единичные	Единичные	Единичные
Среднее значение в ПО	28.9 ± 1.4	32.1 ± 5.2	$12.3 \pm 3.3^{*,**}$
Количество Ki-67 + β -клеток/мм ² ПО I типа	44 ± 4	0	0
Количество Ki-67 + β -клеток/мм ² ПО II типа	28 ± 3	25 ± 6	$13 \pm 1^{*,**}$
Количество Ki-67 + β -клеток/мм ² ПО III типа	15 ± 3	$53 \pm 13^*$	$20 \pm 3^{**}$

Примечание. * Достоверные отличия от группы интактных животных ($p \leq 0.05$), ** достоверные отличия от группы животных с длительностью аллоксанового диабета 30 суток ($p \leq 0.05$). $n = 5$.

На 60-е сутки исследования плотность клеток в агломератах остается на уровне 30-х суток (табл. 3), при этом клетки характеризуются большими размерами цитоплазмы (табл. 6), а содержание в них инсулина снижается до уровня интактных животных (табл. 5).

Морфофункциональные характеристики единичных инсулинсинтезирующих клеток на 30-е сутки после введения аллоксана соответствуют показателям интактных животных (табл. 5—7). На 60-е сутки исследования увеличиваются размеры ядра единичных инсулинсинтезирующих клеток, расположенных в составе ацинарного эпителия относительно интактных животных. Единичные инсулинсинтезирующие клетки протокового эпителия характеризуются ростом их размеров за счет ядра относительно интактных животных и предыдущего срока наблюдения (табл. 6). Вместе с этим функциональная активность единичных инсулинсинтезирующих клеток соответствует интактным животным (табл. 5, 7).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные данные свидетельствуют, что введение аллоксана, токсическое действие которого длится в течение нескольких минут [7], запускает нарастающий процесс деструкции инсулинсинтезирующих клеток, характерный для СД1 типа. В результате значительного снижения количества β -клеток островков Лангерганса отмечается уменьшение уровня инсулина в крови и развитие гипергликемии [10]. Так, было показано, что уровень глюкозы выше 20 ммоль/л значительно снижает синтез и секрецию инсулина β -клетками [15].

В условиях хронической гипергликемии глюкоза подвергается аутоокислению с генерацией свободных радикалов, активируется гликирование белков, промежуточные продукты которого — α -кетоальдегиды — активно связываются с аминокислотными группами белков, фосфолипидов и ДНК, что в свою очередь запускает апоптоз β -клеток [13]. С другой стороны, хроническая гипергликемия активирует секрецию активных радикалов и провоспалительных

цитокинов моноцитами/макрофагами, что способствует нарушению микроциркуляции и повреждению клеток [6]. Более того, показано, что в данных условиях β -клетки способны синтезировать IL-1 β , угнетающий их синтетическую активность и запускающий апоптоз клеток [9].

В качестве второго объяснения может выступать изменение микроокружения инсулинсинтезирующих клеток, в основе которых лежит нарушение микроциркуляции [13].

Результаты исследования свидетельствуют также о неравномерности деструктивного процесса в инсулинпродуцирующей системе в процессе развития аллоксанового диабета.

Наибольшим дегенеративным изменениям подвержены инсулинсинтезирующие клетки панкреатических островков, что может быть объяснено с нескольких позиций:

1) панкреатический островок обладает большей (в 5—10 раз) плотностью капилляров по сравнению с экзокринной частью органа [4], что, вероятно, обеспечивает более сильное повреждающее действие аллоксана по сравнению с внеостровковыми инсулинсинтезирующими структурами;

2) уменьшение количества β -клеток способствует снижению их синтетической активности, как было показано в работе [14]. В ответ на увеличение концентрации глюкозы происходит снижение секреции инсулина неагрегированными β -клетками панкреатического островка по сравнению с агрегированными. Также известно, что в условиях снижения количества β -клеток в островках увеличивается количество α -клеток и их супрессирующее действие на функциональную и пролиферативную активность β -клеток [4];

3) внеостровковые инсулинсинтезирующие клетки обладают, вероятно, более высокой способностью к самоподдержанию в условиях токсического воздействия глюкозы по сравнению с островковыми, которая реализуется через дифференцировку клеток-предшественников и трансдифференцировку экзокринного эпителия.

Помимо дегенеративных процессов в условиях аллоксанового диабета отмечается включение механизмов компенсации как в островковом аппарате, так и во внеостровковой части инсулинсинтезирующей системы.

Со стороны панкреатических островков процесс компенсации реализуется через формирование двух популяций островков: первые увеличивают количество пролиферирующих β -клеток при снижении их синтетической активности, в то время как вторые повышают синтетическую активность на фоне снижения количества пролиферирующих β -клеток. Реакция внеостровковых инсулинсинтезирующих структур характеризуется развитием гипертрофии клеток и значительным увеличением количества единичных инсулинсинтезирующих клеток в эпителии протоков, где локализованы клетки-предшественники [11], что свидетельствует об активации их дифференцировки.

Необходимо отметить, что данные компенсаторные изменения являются недостаточными для компенсации повреждения и на 60-е сутки наблюдения отмечается их истощение. Об этом свидетельствует низкая концентрация инсулина, высокий уровень глюкозы в периферической крови, значительное снижение количества инсулинсинтезирующих клеточных агрегатов и островков, снижение общего количества инсулинсинтезирующих клеток и их пролиферативной активности до 33 % от уровня интактных животных.

Таким образом, в процессе развития СД1 имеет место существенная перестройка инсулинсинтезирующей системы, включающей в себя как повреждение, так и активацию компенсаторных процессов. При этом островковый аппарат является наиболее уязвимым к действию повреждающих факторов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Кумар Д. Л., Радбек Л. Иммуногистохимические методы : Руководство. Перевод с англ. под ред. Г. А. Франка и П. Г. Малькова. М. ДАКО. 2011.
- [2] Медведева С. Ю., Булавинцева Т. С., Данилова И. Г., Гетте И. Ф., Сенцов В. Г. Токсическое действие аллоксана в динамике развития аллоксанового диабета. Вестн. уральской мед. акад. науки. 3 : 30—33. 2012.
- [3] Battaglia M. Neutrophils and type 1 autoimmune diabetes. *Curr. Opin. Hematol.* 21(1): 8—15. 2014.
- [4] El-Gohary Y., Sims-Lucas S., Lath N., Tulachan S., Guo P., Xiao X., Welsh C., Paredes J., Wiersch J., Prasad K., Shiota C., Gittes G. K. Three-dimensional analysis of the islet vasculature. *Anatom. Record.* 295(9): 1473—1481. 2012.
- [5] Gusdon A. M., Corbett J. A., Mathews C. E. Type 1 diabetes. Islet inflammation. The contribution of cytokines and beta cells. *Drug. Discov. Today Dis. Mech.* 3: 367—372. 2006.
- [6] Kumar P., Swain M. M., Pal A. Hyperglycemia-induced inflammation caused down-regulation of 8-oxoG-DNA glycosylase levels in murine macrophages is mediated by oxidative-nitrosative stress-dependent pathways. *Int. J. Biochem.. Cell Biol.* 73: 82—98. 2016.
- [7] 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.* 42: 1385—1391. 1991.
- [8] Lenzen S., Szkudelski T. The mechanism of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia.* 51(2): 216—226. 2008.
- [9] Maedler K., Sergeev P., Ris F., Oberholzer J., Joller-Jemelka H. I., Spinas G. A., Kaiser N., Halban P. A., Donath M. Y. Glucose-induced β -cell production of IL-1 β contributes to glucotoxicity in human pancreatic islets. *J. Clin. Invest.* 110(6): 851—860. 2002.
- [10] Marrif H. I., Al-Sunousi S. I. Pancreatic β -cell mass death. *Front. Pharmacol.* 7(83): 1—16. 2016.
- [11] Merkwitz C., Blaschuk O. W., Schulz A., Lochhead P., Meister J., Ehrlich A., Ricken A. M. The ductal origin of structural and functional heterogeneity between pancreatic islets. *Progr. Histochem. Cytochem.* 48: 103—140. 2013.
- [12] Radenkovic M., Stojanovic M., Prostran M. Experimental diabetes induced by alloxan and streptozotocin: the current state of art. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods.* 78: 13—31. 2016.
- [13] Robertson R. P. Chronic oxidative stress as a central mechanism for glucose toxicity in pancreatic islet beta cells in diabetes. *J. Biol. Chem.* 279(41): 42 351—42 354. 2004.
- [14] Roscioni S. S., Migliorini A., Gegg M., Lickert H. Impact of islet architecture on β -cell heterogeneity, plasticity and function. *Nature reviews. Endocrinology.* 12: 695—709. 2016.
- [15] Schuit F., Flamez D., De Vos A., Pipeleers D. Glucose-regulated gene expression maintaining the glucose-responsive state of β -cells. *Diabetes.* 51: S326—S332. 2002.
- [16] Yoon J. W., Jun H. S. Cellular and molecular roles of beta cell autoantigens, macrophages and T cells in the pathogenesis of autoimmune diabetes. *Arch. Pharm. Res.* 22(5): 437—447. 1999.

Поступила 14.06.2018

После доработки 28.08.2018

Принята к публикации 19.11.2018