

Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ
КАФЕДРА МОРФОЛОГИИ И ОБЩЕЙ ПАТОЛОГИИ

III Университетская молодёжная научная конференция

**«Генные и клеточные технологии
в регенерации органов и тканей»**

(Казань, 22 ноября 2018 года)

СБОРНИК ТЕЗИСОВ ДОКЛАДОВ

КАЗАНЬ 2018 г.

Сборник тезисов докладов III Университетской молодёжной научной конференции «Генные и клеточные технологии в регенерации органов и тканей»

Составитель:
М.С. Калигин

Под общей редакцией заведующего кафедрой морфологии и общей патологии ИФМиБ К(П)ФУ д.м.н., проф. А.П. Киясова

Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, 2018

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

д.м.н. – доктор медицинских наук
к.м.н. – кандидат медицинских наук
к.б.н. – кандидат биологических наук
асс. – ассистент
доц. – доцент
проф. – профессор

In vivo визуализация экспрессии плазмидных конструкций

Билялов А.И., Мавликеев М.О., Титова А.А., Бозо И.Я., Деев Р.В.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

Научный руководитель: к.м.н. Деев Р.В.

В 2016 г. в Российской Федерации за медицинской помощью по поводу травм, отравлений и некоторых других последствий воздействия внешних причин обратилось более 10 млн взрослых пострадавших. Действительно, проблема костных дефектов является актуальной на сегодняшний день. В некоторых случаях процессы регенерации костных дефектов происходят не в полном объеме, что требует их замещения костнопластическими материалами в 20-25 % случаев.

Существует несколько поколений костнопластических материалов: 1) «живая» костная ткань (ауто-, алло-, ксеногенная) 2) консервированная костная ткань 3) синтетические костнопластические материалы 4) тканеинженерные эквиваленты костей. Данные медицинские изделия являются в некоторых случаях не обладают достаточной способностью индуцировать регенерацию костной ткани.

Абсолютно новым поколением костнопластических материалов являются активированные материалы, в состав которых помимо основного матрикса входит дополнительные биологически активные вещества: прогениторные клетки и генные конструкции, способные стимулировать процессы регенерации кости.

Мы разрабатываем ген-активированный костнопластический материал, состоящий из ортофосфата кальция и терапевтического гена, носителем которого является плазмидная ДНК.

При разработке подобного типа материала необходимо убедиться, что генная конструкция будет сохраняться, высвобождаться из костнопластического материала и встраиваться в клетки.

В эксперименте участвовало четыре группы животных, 1 группе (n=4) подкожно имплантировался трехмерный костнопластический материал с плазмидой, несущей ген люциферазы (3DLuc), 2 группе - (n=3) ординарный 3D материал (3D), 3 группе (n=4) подкожно вводился раствор плазмиды, несущий ген люциферазы (PLuc), 4 группе (n=2) подкожно вводился раствор плазмиды, несущий ген фактора роста сосудов (NVG).

Экспрессия люциферазы оценивалась до 28 суток при помощи прибора для детекции люминесценции IVIS Spectrum (Perkin Elmer, Santa Clara, CA, USA) через 5 мин после внутрибрюшинного введения раствора натриевой соли люциферина из расчета 150 мкг/кг массы тела животного (время экспозиции 10 с). Результаты были представлены в виде средней интенсивности свечения люциферина (Avg Radiance, p/s/cm²/sr) и проанализированы в программе Living image® (Perkin Elmer, USA).

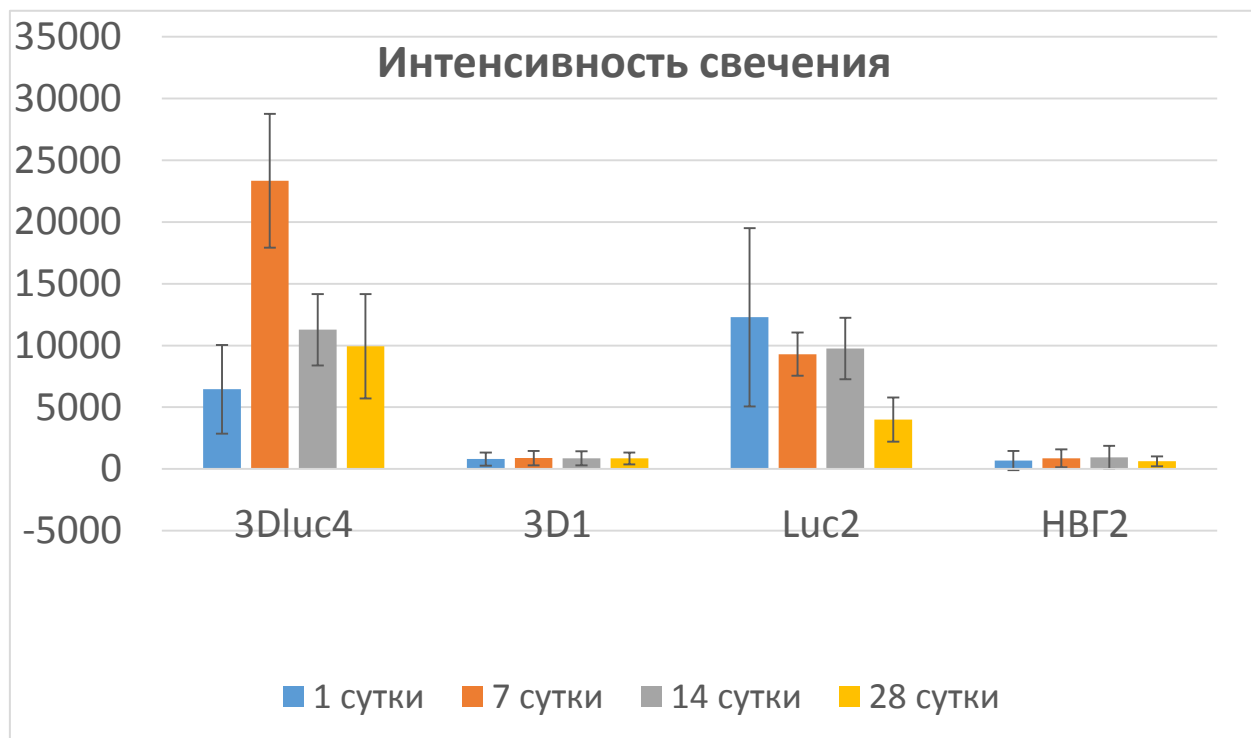


Рисунок 1 – Интенсивность свечения люциферина на 1-28 сутки

При детекции люминесценции было обнаружено, что интенсивность сигнала плазмиды с 3D материалом на первые сутки меньше по сравнению с голой плазмидой, затем к 7 суткам происходит нарастание интенсивности со стабилизацией сигнала до 28 суток, в отличие от голой плазмиды, пик

люминисценции которой наблюдался на 1 сутки, и интенсивность свечения постоянно снижалась, достигая практически минимума к 28 суткам (Рисунок 1).

Таким образом, плазида, заключенная в 3D материал, способна обеспечивать постепенное и пролонгированное снабжение тканей и клеток терапевтическим геном. Это может быть использовано при создании ген-активированных медицинских изделий, предназначенных для стимуляции регенерации различных тканевых дефектов.

Влияние трансплантации клеток Ито на пролиферацию клеток печени крыс после частичной гепатэктомии и введения 2-ацетиламинофлуорена

Усмонова Г.О., Заикина Э.И., Титова А.А., Мавликеев М.О., Гумерова А.А., Киясов А.П.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

Научный руководитель — к.м.н. Шафигуллина А.К.

Введение. Печень характеризуется уникальной способностью к регенерации, является единственным органом у млекопитающих, способным полностью восстанавливаться после повреждения [1]. Данная способность обусловлена во многом организованной пролиферацией всех видов резидентных клеток.

Основная доля клеточных компонентов печени приходится на гепатоциты (паренхиматозные клетки). Среди других клеточных элементов, относимых в группе непаренхиматозных клеток, выделяют клетки Ито (звездчатые клетки печени, которые секретируют факторы роста и компоненты внеклеточного матрикса, накапливают липиды и жирорастворимые витамины), клетки Купфера (печеночные макрофаги), эндотелиальные клетки синусоидов, которые обеспечивают прямой доступ к гепатоцитам питательных веществ и метаболитов из крови. Все они участвуют в поддержании структурной и функциональной целостности печени.

При повреждении или удалении части печени (операция частичной гепатэктомии) инициируется сложный механизм регенерации, проявляющийся в пролиферации, дифференцировке и миграции клеток. Известно, что первыми активируются гепатоциты [2]. В случае функциональной несостоятельности и утраты гепатоцитами способности к делению запускается пул резервных клеток печени. Среди собственных

непаренхиматозных клеток печени в качестве резервного стволового пула рассматривают клетки Ито. На сегодняшний день все больше исследований посвящено изучению клеток Ито [3,4], однако роль их в регенерации печени до конца не ясна. Исходя из этого, целью данного исследования стало изучение влияния трансплантации клеток Ито на пролиферацию клеток печени после частичной гепатэктомии и введения ацетиламинофлуорена.

Материалы и методы. В качестве модели повреждения печени была выбрана классическая модель - операция частичной гепатэктомии (ЧГ). Для прицельного изучения влияния трансплантации клеток Ито на регенерацию печени, пролиферация гепатоцитов была ингибирована путем пред- и послеоперационного (до выведения из эксперимента) внутрибрюшинного введения ацетиламинофлуорена (ААФ) [5].

Клетки Ито для трансплантации были выделены из печени крыс путем коллагеназно-пропазовой перфузии печени с последующим разделением в градиенте плотности гистоденза. Выделенные клетки Ито были введены в воротную вену во время операции ЧГ. Образцы печени экспериментальных животных были забраны на 2,7,14,28 сутки. Срезы из образцов печени были окрашены иммуногистохимическим методом с антителами к маркеру пролиферации Ki-67.

Результаты. В образцах печени крыс без трансплантации клеток Ито (ЧГ+ААФ) были выявлены единичные Ki-67+ клетки с небольшим приростом пролиферации на 2 сутки у гепатоцитов ($4,13 \pm 0,33\%$), на 7 и 14 – у непаренхиматозных клеток ($6,09 \pm 0,94\%$). Таким образом, введение ААФ приводит к подавлению пролиферации как гепатоцитов, так и непаренхиматозных клеток печени реципиента. В экспериментальных образцах с введением клеток Ито на 2 сутки в области портального тракта были выявлены Ki-67+ клетки: $42,97 \pm 0,71\%$ гепатоцитов и $55,88 \pm 2,12\%$ непаренхиматозных клеток. На 7 сутки наблюдался резкий спад пролиферативной активности как гепатоцитов, так и непаренхиматозных

клеток ($2,42 \pm 1,08\%$ и $26,13 \pm 0,26\%$ соответственно). На 14 сутки количество делящихся гепатоцитов возросло ($15,05 \pm 0,48\%$), среди непаренхиматозных клеток вплоть до 28 суток было отмечено устойчивое снижение пролиферации ($5,34 \pm 1,14\%$).

Выводы. В целом, при введении клеток Ито на всех сроках количество Ki-67 позитивных клеток гораздо выше, чем в образцах без трансплантации. Полученные результаты показали, что трансплантация клеток Ито повышает пролиферативную активность паренхиматозных и непаренхиматозных клеток, что необходимо для регенерации печени после ЧГ. Более выраженное влияние трансплантированные клетки оказывали на пролиферацию непаренхиматозных клеток.

Список литературы:

1. J. A. Cienfuegos [et al.] Liver regeneration — the best kept secret. A model of tissue injury response. *Rev Esp Enferm Dig.* — 2014. — vol. 106(3). — p. 171–194.
2. Michalopolus, G.K. Liver regeneration // *Cell Physiol.* — 2007. — 213(2):286-300.
3. Kordes C, Sawitza I, Götze S, Herebian D, Häussinger D. Hepatic stellate cells contribute to progenitor cells and liver regeneration. *J Clin Invest.* 2014;124(12):5503-15.
4. Yin C, Evason KJ, Asahina K, Stainier DY. Hepatic stellate cells in liver development, regeneration, and cancer. *J Clin Invest.* 2013;123(5):1902-10.
5. Dusabineza AC. Participation of liver progenitor cells in liver regeneration: lack of evidence in the AAF/PH rat model. *Lab Invest.* 2012 Jan;92(1):72-81.

Изучение влияния введения микровезикул мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани на регенерацию печени крыс после частичной гепатэктомии

Барков А.Ю., Кундакчян Г.Г., Усмонова Г.О., Ганиев И.М.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

Научные руководители: Гомзикова М.О., Шафигуллина А.К.

Введение. В последнее время публикуется много работ, посвященных стимуляции регенерации печени путем введения мезенхимальных стволовых клеток, полученных из жировой ткани. Несмотря на достигнутые результаты в изучении роли стволовых клеток в регенерации печени, многие вопросы остаются открытыми. К примеру, не определено, одинакова ли роль стволовых клеток в регенерации печени в физиологических и патологических условиях, механизмы влияния трансплантированных клеток на процессы в печени [1].

При этом стволовые клетки могут либо встраиваться и дифференцироваться в гепатоциты – основные функциональные клетки печени, либо осуществлять взаимодействие с собственными клетками печени путем выделения различных биологически активных веществ. Одним из способов межклеточного взаимодействия является секреция микровезикул – мембранных пузырьков, выделяемых клеткой и содержащих факторы роста, цитокины и другие биологически активные вещества, необходимые для передачи сигнала клетке-мишени. На сегодняшний день именно микровезикулы рассматривают как современную альтернативу клеточной терапии ввиду большей безопасности. Также с помощью искусственно полученных микровезикул можно моделировать и изучать паракринный механизм влияния трансплантированных клеток на фенотип клеток хозяина в ходе регенерации печени, что и стало целью данной работы.

Материалы и методы. В ходе эксперимента под эфирным наркозом была выполнена операция частичной гепатэктомии (удаление 69% массы печени) у крыс. Животным контрольной группы в воротную вену вводили 200мкл физиологического раствора. Экспериментальной группе животных ввели 200мкл раствора с микровезикулами, выделенных из культуры мезенхимных стромальных стволовых клеток жировой ткани крыс путем обработки клеток цитохалазином В [2]. Забор образцов печени для анализа был произведен на 7 и 14 сутках. После заключения образцов в парафин были изготовлены гистологические срезы и окрашены иммуногистохимически с помощью антител к Ki-67 (маркер пролиферирующих клеток), десмин (маркер звездчатых клеток печени), α -ГМА (маркер ГМК сосудов и миофибробластов).

Результаты. Морфометрически установлено, что введение микровезикул мезенхимных стромальных стволовых клеток жировой ткани сопровождается увеличением пролиферации гепатоцитов и уменьшением пролиферации непаренхиматозных клеток на ранних сроках (7 сутки) по сравнению с контрольной группой. Помимо подавления пролиферации непаренхиматозных клеток печени введение микровезикул приводит к ингибированию активацию звездчатых клеток печени и не сопровождается появлением α -ГМА+ миофибробластов, которые являются источником соединительной ткани при фиброзе печени. Полученные нами данные согласуются с данными зарубежного исследования, в котором было показано, что микровезикулы, полученные из мезенхимальных стволовых клеток, обладают антиоксидантным эффектом и уменьшают гибель клеток в моделях острого повреждения печени и проявления фиброза печени [3].

Таким образом, введение микровезикул мезенхимных стромальных стволовых клеток жировой ткани является безопасным методом стимуляции регенерации гепатоцитов после операции

частичной гепатэктомии у крыс и не сопровождается риском развития фиброза печени.

Список литературы:

1. А.Н. Лызиков, А.Г. Скуратов, Е.В. Воропаев, А.А. Призенцов. Роль стволовых клеток в регенерации печени и перспективы их использования в лечении печеночной недостаточности (обзор литературы).

2. Gomzikova M.O. Cytochalasin B-induced membrane vesicles convey angiogenic activity of parental cells / M.O. Gomzikova, M.N.Zhuravleva, R.R. Miftakhova, S.S. Arkhipova, V.G. Evtugin, S.F. Khaiboullina, A.P. Kiyasov, J.L. Persson, N.P. Mongan, R.G. Pestell, A.A. Rizvanov // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8 (41). – P. 70496-70507.

3. Somayeh Keshtkar, Negar Azarpira, Mohammad Hossein Ghahremani. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles: novel frontiers in regenerative medicine.

Оценка сосудистой плотности в онтогенезе мышей с дисферлинопатией

Закирова Д.М., Мирмиева А.М., Петрова Н.В.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

Научный руководитель: аспирант Чернова О.Н.

Известно, что повреждение мышечной ткани вызывает большой спектр факторов как эндогенной, так и экзогенной природы. Существует несколько групп белков сарколеммы, участвующих в ее репарации. Один из ключевых механизмов восстановления мембраны, направленный на образование временной «заплатки» (патча) связан с участием дисферлина. Последний является белком семейства ферлинов и кодируется геном *DYSF* [1]. Сниженная экспрессия данного белка или ее отсутствие, возникающие в результате мутации в гене *DYSF*, приводят к развитию группы миодистрофий, именуемых дисферлинопатиями.

Для восстановления поврежденной мышцы важна адекватная васкуляризация. Экспрессия дисферлина установлена и в эндотелиоцитах, где он участвует в поддержании гомеостаза, адгезии, а также в ангиогенезе [2]. Логично предположить, что нарушение экспрессии дисферлина приводит не только к нарушению репарации сарколеммы, но и замедлению восстановительных процессов за счет снижения васкуляризации участка в месте повреждения.

Цель исследования: оценка сосудистой плотности скелетных мышц в онтогенезе мышей линий *Bla/J* и *C57BL/6*.

Материалы и методы. Исследовали икроножную мышцу 10 мышей линии *Bla/J* (экспериментальная группа) и 10 мышей линии *C57BL/6* (контрольная группа) на разных сроках онтогенеза от 1 мес до 18 мес. Парафиновые срезы окрашивали иммуногистохимически с антителами к α -SMA (альфа-гладкомышечному актину) в разведении 1:50 (ДАКО, клон

1A4). Морфометрию проводили в 10 случайных полях зрения на увеличении 400x в программе ImageJ. Статистическую обработку проводили в Statistica 10.0

Результаты и обсуждения. По результатам статистической обработки показатель сосудистой плотности в среднем был выше у мышей контрольной группы, чем у животных экспериментальной группы. У мышей с дисферлинопатией данный показатель растет до 5 месяцев, а затем идет на спад. Такая динамика может быть обусловлена снижением компенсаторной способности клеток и развитием других патологических изменений у мутантных мышей с течением времени: некрозом и фиброзом.

Выводы. Уровень сосудистой плотности ниже у мышей с мутацией в гене дисферлина по сравнению с контрольной группой. Установлено, что с возрастом у мутантных мышей происходит снижение сосудистой плотности. Таким образом, мутации в гене *DYSF* отражаются не только на скелетных мышцах, но и на состоянии сосудов. Не исключено, что снижение сосудистой плотности негативно сказывается на течении основного патологического процесса в мышцах, а именно приводит к гипоксии и усилению гибели мышечных волокон.

Список литературы:

1. Barthelemy F. Muscle Cells Fix Breaches by Orchestrating a Membrane Repair Ballet / F. Barthelemy, A. Defour, N. Levy et al. // J Neuromuscul Dis. – 2018. – 5(1). – P.21-28.
2. A. Sharma A. A new role for the muscle repair protein dysferlin in endothelial cell adhesion and angiogenesis / A. Sharma, C. Yu, C. Leung et al. // Arterioscl. Throm. Vas. Biol. – 2010. – V.30. – P.2196-2204.

Оценка доли соединительной ткани у животных с мышечной дистрофией

Мирмиева А.М., Закирова Д. М., Петрова Н.В.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

Научный руководитель: аспирант Чернова О.Н.

Дисферлинопатии – это группа нервно-мышечных заболеваний с аутосомно-рецессивным типом наследования, для которых характерно нарушение экспрессии мРНК и (или) функции белка дисферлина в поперечнополосатой скелетной мышечной ткани вследствие мутации в гене *DYSF* [1]. Дисферлин – трансмембранный белок, относится к семейству белков *ferlin*, локализуется преимущественно в сарколемме и т-трубочках. Способствует поддержанию гомеостаза Ca^{2+} при механической нагрузке на мышечное волокно (МВ). В дисферлин-дефицитных мышечных волокнах после острых механических напряжений нарушается гомеостаз Ca^{2+} , что приводит к локальному повреждению сарколеммы [2]. Выделяют два основных фенотипа дисферлинопатии: миопатия Миоши с преимущественно дистальной слабостью и поясно-конечностная мышечная дистрофия типа 2В (LGMD2В) с преимущественно проксимальной слабостью. Миопатия Миоши (средний возраст начала 19 лет) характеризуется мышечной слабостью и атрофией, наиболее выраженной в дистальных отделах нижних конечностей, со временем распространяются на бедра и ягодичные мышцы. LGMD2В характеризуется ранней слабостью и атрофией мышц тазового и плечевого поясов с медленным прогрессированием [3]. Также у пациентов с дисферлинопатией был замечен фиброз тканей. При мышечном фиброзе соединительная ткань в умеренных количествах формируется в пространстве между поврежденными мышечными волокнами и вместо них, чтобы обеспечить большую площадь поверхности для регенерации мышечных

волокон. Но при чрезмерном фиброзе мышцы постепенно теряют изначальный объем функционирующих волокон [4].

Целью данного исследования является оценка доли соединительной ткани у животных с мышечной дистрофией в их постнатальном онтогенезе.

Материалы и методы. У мышей линий Vla/J (экспериментальная группа) и C57Bl/6 (контрольная группа) забирали образцы мышц голени на 1, 5, 9 и 15 месяцах жизни. Парафиновые срезы окрашивали по Маллори и определяли в программе ImageJ отношение доли соединительной ткани к общей площади среза.

Результаты. Данные статистической обработки показали, что доля фиброзной ткани у мышей линии VlaJ выше, чем у мышей линии C57Bl/6, у контрольной группы данный показатель на всем протяжении жизни не превышает 0,5%.

Вывод. Таким образом, процесс замещения скелетных мышц соединительной тканью у мышей с дисферлинопатией выше во всех контрольных точках по сравнению с контрольной группой, однако различия незначительны. Полученные данные позволяют предположить, что отсутствие экспрессии дисферлина мышечными волокнами не сказывается на процессах фиброобразования.

Список литературы:

1. Старостина И.Г. Дисферлинопатии: возможности диагностики, моделирования и генно-клеточной терапии / И.Г. Старостина, В.В. Соловьева, К.С. Юрьева и др. // Гены и клетки. – 2013. – VIII (3). – С.61-70.
2. Jaclyn P. Kerr. Dysferlin at transverse tubules regulates Ca²⁺ homeostasis in skeletal muscle / P. Kerr J., C. Ward, J.R. Bloch // Front. Physiol. – 2014. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00089>.
3. Lee J.J.A. Identification of Novel Antisense-Mediated Exon Skipping Targets in DYSF for Therapeutic Treatment of Dysferlinopathy / J.J.A. Lee, R.

Maruyama, W. Duddy et al. // Mol. Therapy Nucleic Acids. – 2018. –V.13. – P.596-604.

4. Wynn T.A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis / T.A. Wynn // J. Pathol. – 2008. – 214(2). – P.199-210.

Изучение динамики изменений Ki67 – позитивных клеток в постнатальном онтогенезе

Ходжиева Х. А., Каримов Т. М.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

Научный руководитель: – к.м.н. Калигин М. С.

Сахарный диабет – хроническое заболевание, характеризующееся тяжелыми метаболическими изменениями в организме человека, в основе которого лежит повышение уровня глюкозы в крови за счет нарушения выработки инсулина и взаимодействия его с окружающими тканями. Это заболевание имеет огромную медико-социальную значимость, так как осложнения сахарного диабета приводят к инвалидизации молодого работоспособного населения.

Согласно прогнозам, к концу 2030 года количество лиц с сахарным диабетом возрастет до 366 млн., что делает поиск новых методов лечения сахарного диабета весьма актуальным. При разработке методов клеточной терапии сахарного диабета важнейшими задачами являются идентификация региональных стволовых клеток железы и изучение их пролиферативного потенциала. При этом данных о пролиферативной активности клеток поджелудочной железы человека разных возрастов недостаточно.

Цель работы: изучение динамики изменений Ki – 67 позитивных клеток поджелудочной железы человека в постнатальном онтогенезе.

Исследование проводилось на материале взрослого человека (1944, 1963 год) и ребёнка (17 дней, 2 месяца). Исследование одобрено Локальным этическим комитетом КФУ.

После забора и фиксации материала в 10 % формалине в течение суток, проводилась заливка образца в парафин по стандартной методике.

Далее парафиновые срезы поджелудочной железы окрашивали иммуногистохимически с антителами против Ki-67 (1:200, clone SP6 «Abcam», UK) и инсулина (1:40, clone 2D11-H5, «Novocastra», UK).

Далее для получения фотографий производилось сканирование при помощи аппаратуры APERIO CS2.

В детской поджелудочной железе Ki-67+ клетки были обнаружены в островках, в ацинусах и эпителии протоков, однако в ядрах инсулин-положительных в-клеток этот маркер отсутствовал. Индекс Ki-67 островков составлял в среднем 3 %. При окрашивании поджелудочной железы взрослого человека пролиферативной активности в островках выявлено не было, единичные Ki-67+ клетки были обнаружены только в ацинусах.

Результаты исследования позволяют сделать вывод, что уже в раннем постнатальном онтогенезе инсулин-синтезирующие клетки не проявляют заметной пролиферативной активности и, по-видимому, в последующем дифференцируются из других клеточных источников, например из пролиферирующих клеток островков, которые потенциально могут быть частью стволового компартмента железы. Пролиферативная же активность в поджелудочной железе взрослого сохраняется только в эпителии ацинусов, что ставит под сомнение целесообразность выделения стволовых клеток из поджелудочной железы в зрелом возрасте.

Список литературы:

1. IDF DIABETES ATLAS Eighth edition 2015 -14 p
2. 3.Микроскопическая техника руководство для врачей и лаборантов/ Д.С.Саркисова, Ю.Л. Петрова/1996г/ 7-26.
3. Маслова О.В., Сунцов Ю.И. Эпидемиология сахарного диабета и микрососудистых осложнений. Сахарный диабет 2011; 3: 6–11.

Изменения в островках поджелудочной поджелудочной железы мышей при аллоксановом и стрептозоциновом диабете

Ходжиева Х. А, Каримов Т. М.

Казанский (Приволжский) федеральный университет

Научный руководитель: – к.м.н. Калигин М. С.

Сахарный диабет (СД) является тяжелым метаболическим заболеванием, в основе которого лежит состояния гипергликемии, возникшее в результате нарушения секреции инсулина или нарушение действия его на периферические ткани. Осложнения сахарного диабета приводят к снижению качества жизни, и увеличивает риск преждевременной смерти.

По данным международной ассоциации диабета, количество больных сахарным диабетом к концу 2017 г. составляет 425 миллионов человек. Осложнения сахарного диабета охватывает преимущественно молодое и трудоспособное население. Так количество больных сахарным диабетом в возрасте от 20 до 64 лет составляет 320,5 миллионов человек. На сегодняшний день количество больных продолжает, увеличивается и к концу 2045 г. количество больных составит 629 миллионов человек. К концу 2017 г. количество смертельных исходов от осложнений сахарного диабета составляет 4 миллиона человек. Количество больных сахарным диабетом в детском возрасте составляет 1 106 200, как правило, это дети с сахарным диабетом первого типа [1].

По данным ВОЗ количество больных в России к концу 2016 г. составляло 12 миллионов человек [2].

Для разработки новых методов лечения СД необходимо создание адекватных экспериментальных моделей СД, которые были бы наиболее приближены к проявлениям клиники СД человека.

Цель работы: Выявить разницу морфологических и биохимических показателей при диабетах вызванных аллоксаном и стрептозоцином при одинаковой дозировке.

Для создания модели диабета, были использованы простые беспородные мыши белого цвета, разделённые на 3 группы:

- Первая группа являлась контрольной;
- Во вторую группу входили мыши, которым проводили внутрибрюшинное введение аллоксана в дозе 100 мг/кг;
- Третья группа состояла из мышей, которым проводили внутрибрюшинное введение стрептозоцин в дозе 100 мг/кг.

Эвтаназия животных проводилась на 2 сутки. Забранный материал из тела поджелудочной железы, подвергался фиксации. Фиксация проводилась 10% формалином в течении 24 ч. Заливка в парафин проводилась по стандартной методике [3].

Далее окрашивание срезов проводилось иммуногистохимически с применением антител против инсулина (1:40, clone 2D11-H5, «Novocastra», UK).

Фотографии препаратов были сделаны на световом микроскопе ZEISS Scope.A1 при 400x увеличении. Подсчет клеток производился в программе ImageJ (разработчик National Institutes of Health).

Результаты исследования, представленные в таблице 1.

Таблица 1. Средние значения инсулин позитивных клеток в островках в норме и при экспериментальных моделях диабета на 2 сутки.

Экспериментальные модели	Средние значения инсулин позитивных клеток в островках
Контрольная группа (норма)	0,829286
Аллоксановая модель	0,653277
Стрептозациновая модель	0,351033

В проведённой нами работе было выявлено, что стрептозациновая модель продуктивнее по сравнению с аллоксановой моделью. Это связано со следующими факторами:

- механизмом действия,
- периодом полураспада в крови,
- способностью к регенерации β – клеток после действия аллоксана и стрептозоцина.

Механизм действия стрептозацина связан с истощением в клетке АТФ и НАДН, возникшие в результате алкилирования ДНК с последующей фрагментацией, также образованием активных форм кислорода и участие в клеточной смерти JNK киназы [4].

Механизм действия аллоксана связан с ингибированием глюкокиназы и снижением содержания АТФ, с образованием активных форм кислорода, и гидроксильных радикалов, которые в небольшой степени ингибируются антиоксидантной системой [5].

Период полураспада стрептозоцина в крови занимает 1 ч.

Период полураспада аллоксана в крови составляет около 1 мин [5].

Регенераторная способность β -клеток при стрептозоциновом диабете низкая, в связи с чем его используют при длительных моделях диабета.

Гипергликемия при аллоксановой модели является обратимой и менее стабильной. Это связано с регенерацией β -клеток островков Лангерганса [4].

Стрептозоциновая модель эффективнее аллоксановой модели диабета, поскольку стрептозоцин действует дольше аллоксана, а также биодоступность стрептозоцина при внутрибрюшном способе введения выше.

Аллоксановая модель является эффективной при внутривенном способе введения. Cho Chair

Список литературы:

1. Nam H. Forewords / Nam H., Cho Chair., //IDF DIABETES ATLAS Eighth edition 2017 -2017. P.7
2. ВОЗ. Глобальный доклад по диабету (ВОЗ) 2016 -2016. 35 с.
3. Саркисова Д.С., Микроскопическая техника руководство для врачей и лаборантов, Ю.Л. Петрова; Учебное пособие, Москва: книга 1996. 7-26 с.

4. Miroslav Radenković. Experimental diabetes induced by alloxan and streptozotocin: The current state of the art. / Marko Stojanović, Milica Prostran 2016.P.14-26.

5. S.Lenzen, The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes 2008. P.217-223.