

УДК 616.379-008.64-092.9

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ САХАРНОГО ДИАБЕТА ЧАСТЬ II. ХИРУРГИЧЕСКИЙ, СТРЕПТОЗОТОЦИНОВЫЙ И ДИТИЗОНОВЫЙ ДИАБЕТ

Можейко Л.А.

УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь

*В обзоре обобщены данные литературы о хирургической, стрептозотоциновой и дитизоновой моделях диабета у экспериментальных животных. Также проанализированы и обсуждены механизмы избирательного воздействия стрептозотоцина и дитизона на  $\beta$ -клетки поджелудочной железы. Сделано заключение, что стрептозотоциновая модель является наиболее надежным и легко воспроизводимым методом индуцирования сахарного диабета у экспериментальных животных.*

**Ключевые слова:** экспериментальный диабет, хирургическая, стрептозотоциновая, дитизоновая модель.

Применение экспериментальных моделей сахарного диабета необходимо как для изучения патофизиологии этого заболевания, так и исследований антидиабетических свойств новых соединений, а также эффекта трансплантации эндокринных островков диабетическим животным, поскольку открывается возможность изучения клинических параметров до и после трансплантации или приема терапевтических средств. Чтобы избежать ошибочных результатов, требуется определенная осторожность при выборе модели и дозы препарата для получения экспериментального диабета. Важно объективно оценить достоинства и недостатки каждой модели в соответствии с поставленной целью [16, 33, 40].

### Хирургический диабет

На протяжении более 50-ти лет единственной моделью экспериментального сахарного диабета был диабет, вызываемый удалением поджелудочной железы. Панкреатэктомический сахарный диабет удалось получить у всех животных, у которых регуляция углеводного обмена осуществляется с помощью инсулина. Для развития в послеоперационный период диабетических нарушений большое значение имеет количество сохраненной ткани поджелудочной железы. При тотальном удалении органа диабет у крыс развивается через несколько часов. При удалении 97-98% сахарный диабет развивается только через 2 недели, 95% через 3-5 мес., 80% через 9 мес. [2]. Для получения длительно существующего хронического диабета часто прибегают к субтотальной панкреатэктомии. Основной причиной развития диабета после тотальной и субтотальной панкреатэктомии является дефицит инсулина, т.е. абсолютная инсулиновая недостаточность. Использование данной модели на первом этапе экспериментальной диабетологии позволило выяснить многое о механизмах действия инсулина, изменении обмена веществ при его дефиците, патогенезе нарушений, развивающихся при сахарном диабете. Однако существование целого ряда причин, осложняющих применение метода оперативного удаления поджелудочной железы, стимулировало поиск новых моделей. Как известно, панкреатэктомия требует высокого уровня хирургического мастерства и адекватного технического оснащения. Операция ведет к травматизации животных и высокому проценту летальности. Большой риск инфицирования требует послеоперационного лечения антибиотиками. Для предотвращения нарушений всасывания в кишечнике необходимо замещение экскреторных функций железы [16]. С появлением неоперативных моделей сахарного диабета применение этого метода резко снизилось. В последние годы его использовали некоторые исследова-

тели для изучения механизма действия ряда природных соединений на резистентность к инсулину и на его секрецию у различных животных: крыс, свинок, собак и приматов. При этом S.B. Choi с соавт. исследовали эффект усвоения глюкозы различными тканями при удалении 90% органа у крыс, а P. Masiello была выполнена субтотальная резекция более 80% железы и последующая дополнительная резекция, которая привела к значительной гипoinsулинемии [19, 25].

### Стрептозотоциновый диабет

Среди химических моделей экспериментального диабета стрептозотоциновая наряду с аллоксановой является наиболее распространенной. Стрептозотозин (стрептозотин, изостотин, занозар) - синтетический препарат, полученный из микроорганизмов *Streptomyces achromogenes*, откуда и произошло его название. Каждый флакон стерильного лиофилизированного порошка стрептозотоцина содержит 1 г активного ингредиента с химическим названием N0-метил-нитрозокарбамин-глюкозамин. Однограммовые флаконы хранят на холоде при температуре 2-8 °C без доступа света.

Антибактериальная и противоопухолевая активность позволили применять препарат для химиотерапевтического лечения опухолей. Однако вскоре было замечено его побочное действие, которое выражалось в развитии гипогликемических состояний [31]. Исследования на лабораторных животных показали способность соединения вызывать специфический некроз  $\beta$ -клеток [24]. Наблюдаемый инсулинемический синдром назвали «стрептозотоциновым диабетом». С тех пор стрептозотозин стали использовать для получения модели экспериментального сахарного диабета [35].

**Способы и дозы введения стрептозотоцина.** В настоящее время стрептозотоциновый диабет получен у большинства лабораторных животных: крыс, мышей, морских свинок, китайских хомячков, кроликов, собак и обезьян [2, 14, 41]. Однако имеются значительные видовые различия их чувствительности к стрептозотоцину. Считается, что грызуны, особенно крысы, наиболее чувствительны. Диабетогенные дозы стрептозотоцина для различных видов животных неодинаковы, так же, как и способ введения. Для получения экспериментального диабета существует несколько способов введения препарата в организм: внутривенный, внутрибрюшинный и метод прямой инфузии в сосуды поджелудочной железы. В связи с неустойчивостью стрептозотоцина и коротким периодом его полураспада самым надежным считается внутривенное введение. У крыс внутривенное введение препарата в дозе 60 мг/кг вызывает развитие признаков

клинического диабета и разрушение В-клеток, по разным авторам, уже через 2-4 дня [7, 20], а при однократном внутривенном введении в дозе 50-80 мг/кг через 7 и более дней [8, 16]. Мыши по сравнению с крысами менее чувствительны к стрептозотоцину. Обычно диабет у них вызывается дозой 150-200 мг/кг [16]. У собак доза составляет 25-50 мг/кг, но рекомендуется повторное внутривенное введение малых доз по 15 мг/кг в течение 3-х дней. Для развития диабета у кроликов требуются высокие дозы стрептозотоцина – 300 мг/кг внутривенно. У обезьян рекомендуемая доза 50-60 мг/кг для внутривенного введения или возможна прямая инфузия стрептозотоцина в артерию поджелудочной железы [2]. Замечено, что самки более устойчивы к стрептозотоцину. Развивающаяся у них гипергликемия менее значительна, чем у самцов [16]. При применении субдиабетогенных доз стрептозотоцина для поражения В-клеток рекомендуется повторное применение препарата, тогда чувствительность В-клеток к нему повышается. Более низкая чувствительность к стрептозотоцину по сравнению с другими видами лабораторных животных отмечается у морских свинок [41].

**Характер гликемической кривой.** После введения стрептозотоцина в ответ на изменения концентрации плазменного инсулина наблюдаются соответствующие изменения глюкозы крови [38]. Они носят трехфазный характер. В отличие от воздействия аллоксаном не развивается начальная скоротечная гипогликемическая фаза, обусловленная торможением фосфорилирования глюкозы в результате угнетения глюкокиназы. Установлено, что стрептозотозин не угнетает глюкокиназу [23]. Первая гипергликемическая фаза начинается через 1 час после введения стрептозотоцина, достигая пика подъема глюкозы через 2 часа и продолжается до 4-х часов. О причинах развития ранней гипергликемии имеются разные мнения. Большинство авторов считают её результатом угнетения секреции инсулина, вызванной токсическим воздействием стрептозотоцина на В-клетки поджелудочной железы [23]. Некоторые авторы связывают её с повышением скорости печеночного гликогенолиза или рассматривают как вторичную по отношению к повышению содержания свободных жирных кислот [2]. Гипергликемическая фаза кривой характеризуется ультраструктурными изменениями синтетического и энергетического аппарата В-клеток, сопровождаемым и нарушением процесса биосинтеза проинсулина и инсулина. [15]. Следующая, гипогликемическая фаза наступает спустя 4-8 часов после введения стрептозотоцина и продолжается в течение нескольких часов (до суток) [23, 42]. По единодушному мнению авторов, она считается следствием освобождения инсулина из поврежденных В-клеток. Потеря секреторных гранул развивается на фоне необратимых изменений субклеточных органелл и ядра. Третья фаза гликемической кривой является финальной и характеризуется устойчивой гипергликемией и развитием перманентного стрептозотоцинового диабета [42], наблюдающегося через 24 часа после введения препарата. Морфологический и ультрамикроскопический анализ свидетельствует о полной дегрануляции и потере целостности В-клеток. Вторичная гипергликемия рассматривается как результат абсолютной инсулиновой недостаточности.

**Механизм действия стрептозотоцина.** Стрептозотозин, избирательно воздействуя на В-клетки поджелудочной железы, угнетает секрецию инсулина и вызывает состояние инсулинзависимого сахарного диабета. Механизм избирательности действия препарата связан с его химической структурой. Высокая гидрофильность стреп-

тозотоцина затрудняет его проникновение через плазмолемму различных клеток и гематоэнцефалический барьер мозга. Предполагается, что глюкозная часть молекулы стрептозотоцина способна связываться с переносчиком глюкозы – ГЛЮТ2 – и обеспечивать проникновение и аккумуляцию агента в В-клетках [34]. Эта гипотеза подтверждается тем наблюдением, что инсулинпродуцирующие клетки, не экспрессирующие переносчик глюкозы, устойчивы к стрептозотоцину и становятся чувствительными к токсическому действию препарата только после экспрессии ГЛЮТ2 в плазматической мембране [34]. Кроме того, другие клетки, экспрессирующие этот переносчик, такие как гепатоциты и эпителиоциты канальцев почек, также подвергаются токсическому воздействию препарата. Поэтому введение животным стрептозотоцина приводит не только к диабету, но может быть причиной разной степени повреждений печени и почек [12].

Проникнув в В-клетки, стрептозотозин расщепляет на структурные компоненты. Токсичность стрептозотоцина и его структурных компонентов связывают с их способностью алкилировать биологические макромолекулы [10]. Установлено, что фрагмент препарата – метилнитрозомочевина – обладает ДНК-алкилирующей активностью, особенно в  $O^6$  позиции гуанина. Это повреждение ведет к фрагментации ДНК и некрозу В-клеток [39]. Попытки восстановить поврежденную ДНК с помощью активации поли-(АДФ-рибозо) полимеразы приводят к истощению НАД<sup>+</sup> клеток и последующего запаса АТФ.

Хотя стрептозотозин метилирует также белки, ответственным за гибель В-клеток, в конечном счете, является метилирование ДНК. Возможно, метилирование белков способствует функциональным дефектам В-клеток после экспозиции со стрептозотоцином *in vitro* или *in vivo* [23]. Ингибиторы поли-(АДФ-рибозо) полимеразы подавляют процесс метилирования ДНК. Хорошо известно, что введение никотинамида или других ингибиторов фермента параллельно или перед введением стрептозотоцина защищает В-клетки от токсического действия препарата и препятствует развитию диабетического состояния, однако в дальнейшем наблюдается образование инсулинпродуцирующих опухолей [30]. Замечено, что недостаток или отсутствие поли-(АДФ-рибозо) полимеразы у мышей предупреждает истощение кофактора НАД<sup>+</sup>, последующую потерю АТФ и смерть клеток [27]. Для выяснения роли алкилирования в повреждении В-клеток исследовали также этилированные агенты: N-этил-N-нитрозо-мочевину и этил метансульфонат. Считается, что они менее токсичны метилированных в связи с меньшей токсичностью  $O^6$ -этилгуанина по сравнению с  $O^6$ -метилгуанином. Полученный факт значительно меньшей токсичности N-этил-N-нитрозомочевины и этил метансульфоната на инсулин-продуцирующие клетки интерпретируется как очевидность роли  $O^6$ -алкилгуанина и подтверждает мнение, что алкилирование с метилированием ДНК является основой механизма токсического действия этой группы химических соединений [21].

Согласно альтернативной гипотезе, диабетогенный эффект стрептозотоцина может быть частично связан не с его алкилирующей способностью, а с его потенцией действовать, как внутриклеточный донор оксида азота NO [11]. Стрептозотозин и метилнитрозомочевина содержат нитрозную группу и могут освобождать оксид азота подобно другим донорам оксида азота [37]. Фактически стрептозотозин увеличивает активность гуанилциклазы и формирование циклического гуанинмонофосфата, который характеризует эффект NO. Однако алки-

лирующий агент – метил метансульфонат, – будучи самым токсичным соединением, не является донором оксида азота, тем самым доказывая, что оксид азота не отвечает для токсического действия алкилирующих агентов, включая диабетогенное соединение стрептозотоцина. Оксид азота и свободные нитрозные радикалы (т.н. пероксинитриты) могут усугублять токсичность действия стрептозотоцина, но NO, несомненно, не является решающим фактором для токсического действия на В-клетки [13, 34].

Также обсуждается вовлечение активных форм кислорода в механизм действия стрептозотоцина. Они могут образовываться в процессе генерации мочевой кислоты как финального продукта деградации АТФ ксантиноксидазой или гипоксантином [9]. Косвенное доказательство участия активных форм кислорода (АФК) получено в экспериментах [28]. Так, незначительная генерация АФК, включая супероксидные и гидроксильные радикалы, образованные при дисмутации перекиси водорода в процессе гипоксантинового метаболизма, сопровождали действие стрептозотоцина и ускоряли деструкцию В-клеток. Однако алкилирующая сила стрептозотоцина, вызывающая через истощение АТФ энергетическую недостаточность так же, как при других соединениях гипоксии и ишемии, является решающей для токсичности В-клеток.

Биологические эффекты стрептозотоцина на гомеостаз глюкозы и инсулина являются следствием токсичного поражения В-клеток. С одной стороны, нарушение гомеостаза глюкозы (потребление кислорода и окисление глюкозы) и угнетение биосинтеза и секреции инсулина очевидно. С другой стороны установлено, что стрептозотин не имеет непосредственного и прямого действия на транспорт глюкозы или фосфорилирование её, используя глюкокиназу [22, 34]. Предполагается, что первоначально угнетение биосинтеза и секреции инсулина может быть вызвано стрептозотин индуцированным истощением НАД<sup>+</sup> [18]. Позже выявляются дисфункции митохондриальных ферментов и повреждение митохондриального генома [17, 32]. Такая интерпретация согласуется с работами авторов, которые показали, что никотинамид предотвращает угнетение функции В-клеток, вызванное стрептозототином, только в течение первых суток и не эффективно при более длительном воздействии [18]. Замечено, что при использовании высоких цитотоксических доз стрептозотоцина первоначальные функциональные изменения постепенно переходят в серьезные нарушения. Они носят более общий и неспецифический характер и, прогрессируя, приводят к гибели клеток. В случае применения более низких доз стрептозотоцина многие В-клетки способны выдержать первоначальное воздействие, но длительное время обнаруживают снижение функции в результате недостаточного окислительного метаболизма митохондрий [17, 32].

#### Дитизиновый диабет

Является наиболее известным среди моделей «цинкового» диабета. К. Okamoto впервые обратил внимание на то, что некоторые химические соединения (дитизон, производные хинолина) могут блокировать в островках поджелудочной железы металлы (цинк), в результате чего происходит разрушение В-клеток [29]. Предположение было подтверждено в работах Н. Maske с и R. Schmidt [26, 36]. Биологическое значение цинка обусловлено тем, что он является составной частью каталитически активного центра целого ряда ферментов – дегидрогеназы, карбоксипептидазы, трансфорилазы. Определенное количество

ионов цинка содержится в панкреатических островках человека, кроликов, собак, мышей, крыс, котов и других животных, исключая морских свинок [29]. С помощью гистохимических методов было показано, что цинк находится в тесной функциональной связи с инсулином непосредственно в секреторных гранулах, образуя специфические нерастворимые комплексы депонированного гормона. Под влиянием стимуляторов секреции инсулина происходит изменение характера связи и нерастворимый комплекс цинк-инсулин становится растворимым. При введении глюкозы количество цинка в В-клетках уменьшается, почти полностью исчезая при длительной нагрузке глюкозой. Установлено, что любые вещества, вступающие в соединения с цинком и нарушающие его связь с инсулином, могут обладать диабетогенным действием [6].

**Дозы введения и механизм действия дитизона.** Дитизон, химически представляющий собой дифенилтиокарбазон, рекомендуется вводить в водном растворе аммиака. Наилучшим объектом для изучения дитизинового диабета являются кролики, хотя удалось вызвать его и у мышей [3]. Диабетогенная доза составляет 25-50 мг/кг. Предварительное голодание животных в течение 1-2 суток значительно повышает их чувствительность к дитизону, как и к остальным диабетогенным веществам. Через 2-5 мин. после введения дитизон соединяется с цинком в панкреатических В-клетках, образуя дитизонат цинка. Дитизон очень быстро исчезает из сосудистого русла и через 20 мин. в крови обнаруживаются только его следы – 1,2-5,28 Мкг/мл.

В первые сутки после введения диабетогенной дозы дитизона происходит трехфазное колебание концентрации сахара в крови, аналогичное описанному при аллоксановом диабете. Оно сопровождается структурными изменениями В-клеток. Первые изменения в виде небольших очагов опустошения цитоплазмы В-клеток начинают развиваться уже через 15 минут после образования комплекса цинк – дитизон. С помощью электронной микроскопии удалось установить, что в первую очередь повреждаются оболочки В-гранул, которые вслед за этим разрушаются. Первоначально формируются единичные очаги, каждый из которых возникает на месте 2 – 4 разрушенных гранул. Через 1-2 часа зона опустошения с поврежденными органоидами занимает большую часть клетки. К концу суток значительная часть В-клеток полностью разрушается, что, по-видимому, и является морфологической основой возникающей к этому периоду инсулиновой недостаточности [1].

Первоначально сформулированное К. Okamoto [29] представление о патогенезе «цинковых» диабетов, которое определяется способностью дитизона формировать комплексные соли с ионами цинка в В-клетках, в результате чего они разрушаются, к настоящему времени значительно уточнено и расширено. Большой вклад в изучение диабетогенного действия многих химических соединений этого ряда внесен проф. Я.А. Лазарисом и его сотрудниками [1, 3, 5]. Совместно с ИРЕА (Москва) были синтезированы реактивы для люминесцентного определения цинка. Они использовались для создания высокоспециализированного метода гистохимического определения цинка в островковой ткани. С помощью этого метода было доказано значение блокирования цинка в развитии диабета. Результаты диабетогенного действия дитизона, хинолина и их производных были прослежены в течение длительного срока (до нескольких месяцев), что дало возможность достаточно полно охарактеризовать особенности вызываемого ими заболевания. Течение

«химического» диабета у животных сходно с развитием сахарной болезни у человека. В зависимости от условий опыта можно получить разные формы болезни, начиная с самых тяжелых, сопровождающихся полным выпадением инкреторной функции островков, и кончая относительно легкими формами, завершающимися выздоровлением.

На основе сопоставления полученных фактов возникла гипотеза, согласно которой допускается существование двух фракций цинка в В-клетках. Одна из них – описанная фракция цинка, соединенная с инсулином в депонированных гранулах и делающая инсулин нерастворимым. Дитизон образует с этим цинком обратимую связь (комплекс быстро распадается и освобождающийся цинк соединяется с повторно вводимым дитизоном). Предположительно вторая фракция цинка В-клеток может быть связана с активным центром ферментов, участвующих в синтезе инсулина. Дитизон необратимо блокирует этот цинк, а потому нарушает инсулиногенную функцию островных клеток [5]. Однако эта гипотеза не подкреплена

прямыми доказательствами. Предполагалось также, что цинк, связываясь с диабетогенным веществом, затем в виде комплекса элиминирует из В-клеток, что впоследствии не подтвердилось.

Таким образом, среди представленных моделей экспериментального диабета предпочтение отдается стрептозотоциновому диабету [4, 16]. Преимущество его заключается в относительной простоте воспроизведения, высокой избирательности воздействия, возможности получения диабета различной степени тяжести и длительности, что позволяет смоделировать как постепенно развивающуюся дисфункцию В-клеток, так и нарушение толерантности к глюкозе и развитие связанных с ней расстройств. «Цинковые» формы диабета являются удобной моделью вследствие простоты их получения, незначительных побочных явлений хелатообразующих веществ на другие органы и ткани. Однако недостатком данной модели является ограниченный выбор животных.

### Литература

1. Бавельский, З.Е. Изменение инсулинпродуцирующих структур после введения дитизона / З.Е. Бавельский, Е.Л. Зуммеров // Проблемы эндокринологии. – 1984. – № 1. – С. 65–70.
2. Баранов, В.Г. Экспериментальный сахарный диабет: монография. – Л.: Наука, 1983. – 240 с.
3. Взаимодействие комплексообразующих веществ с ионами  $Zn^{2+}$  в панкреатических В-клетках и их роль в разрушении В-клеток / Г.Г. Мейрамов [и др.]. – Вестник Карагандинского университета. Серия «Биология». – 2013. – №1(89). – С. 4–10
4. Изучение гипогликемической активности субетты и росиглитазона на модели стрептозотоцинового диабета у крыс / И.А. Хейфец [и др.] // Бюл. exper. биол. и мед. – 2012. – Т. 153, № 1. С. 62–64.
5. Лазарис, Я.А. К выяснению роли блокирования цинка в патогенезе дитизонового диабета / Я.А. Лазарис, Г.Г. Мейрамов // Проблемы эндокринологии. – 1974. – № 5. – С. 90–94.
6. Мейрамова, А.Г. Диабетогенные цинк связывающие в - цитотоксические соединения / А.Г. Мейрамова // Проблемы эндокринологии. – 2003. – Т. 49, №2. – С. 8–16.
7. Сравнительные аспекты ультраструктурных изменений инсулоцитов панкреатических островков при экспериментальном сахарном диабете / Г.Л. Снигур [и др.]. – Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2012. – №1. – с. 108–111.
8. Эндокринный статус и уровень экспрессии белков Bcl-2 и p53 в панкреатических островках у крыс с экспериментальным сахарным диабетом/ Т.В. Иваненко [и др.] // Патология. – 2011. – Т. 8, № 2. С. 18–20.
9. Allopurinol protects pancreatic beta cells from the cytotoxic effect of streptozotocin: in vitro study / M. Nukatsuka [et. al] // J Pharmacobiodyn. – 1990. – V. 13. – P. 259–262.
10. Bennett, R.A. Alkylation of DNA in rat tissues following administration of streptozotocin / R.A. Bennett, A.E. Pegg // Cancer Res. – 1981. – V. 41. – P. 2786–2790.
11. Biochemical evidence for nitric oxide formation from streptozotocin in isolated pancreatic islets / J. Turk [et al.] // Biochem Biophys Res Commun. – 1993. – V. 197. – P. 1458–1464.
12. Cloning and functional expression in bacteria of a novel glucose transporter present in liver, intestine, kidney, and beta-pancreatic islet cells / B. Thorens [et al.] // Cell. – 1988. – V. 55. – P. 281–290.
13. Comparison of inhibition of glucose-stimulated insulin secretion in rat islets of Langerhans by streptozotocin and methyl and ethyl nitrosoureas and metha-nesulphonates. Lack of correlation with nitric oxide-releasing or  $O_6$ -alkylating ability / C.A. Burkart [et al.] // Biochem Pharmacol. – 1995. – V. 50. – P. 2015–2020.
14. Concentration and secretion of gastric somatostatin in streptozotocin-diabetic rats / T. Chiba [et al.] // Diabetes. – 1981. – V. 30. – P. 188–191.

### Literature

1. Bavel'skiy, Z.E. Izmenenie insulinproducirovushchih struktur posle vvedeniya ditziona / Z.E. Bavel'skiy, E.L. Zummerov // Problemy endokrinologii – 1984. – № 1. – S. 65–70.
2. Baranov, V.G. Eksperimentalnyy saharnyy diabet: monografiya. – L.: Nauka, 1983. – 240 s.
3. Vzaimodeystvie kompleksoobrazuyuschih veschestv s ionami  $Zn^{2+}$  v pankreaticheskikh V-kletkah i ih rol v razrushenii V-kletok / G.G. Meyramov [i dr.]. – Vestnik Karagandinskogo universiteta. Seriya «Biologiya». – 2013. – №1(89). – S. 4–10
4. Izuchenie gipoglikemicheskoy aktivnosti subetty i rosigitazona na modeli streptozototsinovogo diabeta u kryis / I.A. Heyfets [i dr.] // Byul. eksper. biol. i med.– 2012. – T. 153, № 1. S. 62–64.
5. Lazaris, Ya.A. K vyiyasneniyu roli blokirovaniya tsinka v patogeneze ditzionovogo diabeta / Ya.A. Lazaris, G.G. Meyramov // Problemy endokrinologii. – 1974. – № 5. – S. 90–94.
6. Meyramova, A.G. Diabetogennyye tsink svyazyivayushchie v - tsitotoksicheskie soedineniya / A.G. Meyramova // Problemy endokrinologii.–2003. – T. 49, №2.– S. 8–6.
7. Sravnitelnyye aspekty ultrastrukturnykh izmeneniy insulotsitov pankreaticheskikh ostrovkov pri eksperimentalnom saharnom diabete / G.L. Snigur [i dr.]. – Volgogradskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal. – 2012. – №1. – S. 108–111.
8. Endokrinnyiy status i uroven' ekspressii belkov Bcl-2 i p53 v pankreaticheskikh ostrovkah u kryis s eksperimentalnyim saharnym diabetom/ T.V. Ivanenko [i dr.] // Patologiya. – 2011. – T. 8, № 2. S. 18–20.
9. Allopurinol protects pancreatic beta cells from the cytotoxic effect of streptozotocin: in vitro study / M. Nukatsuka [et. al] // J Pharmacobiodyn. – 1990. – V. 13. – P. 259–262.
10. Bennett, R.A. Alkylation of DNA in rat tissues following administration of streptozotocin / R.A. Bennett, A.E. Pegg // Cancer Res. – 1981. – V. 41. – P. 2786–2790.
11. Biochemical evidence for nitric oxide formation from streptozotocin in isolated pancreatic islets / J. Turk [et al.] // Biochem Biophys Res Commun. – 1993. – V. 197. – P. 1458–1464.
12. Cloning and functional expression in bacteria of a novel glucose transporter present in liver, intestine, kidney, and beta-pancreatic islet cells / B. Thorens [et al.] // Cell. – 1988. – V. 55. – P. 281–290.
13. Comparison of inhibition of glucose-stimulated insulin secretion in rat islets of Langerhans by streptozotocin and methyl and ethyl nitrosoureas and metha-nesulphonates. Lack of correlation with nitric oxide-releasing or  $O_6$ -alkylating ability / C.A. Burkart [et al.] // Biochem Pharmacol. – 1995. – V. 50. – P. 2015–2020.
14. Concentration and secretion of gastric somatostatin in streptozotocin-diabetic rats / T. Chiba [et al.] // Diabetes. – 1981. –

15. Effect of streptozotocin on the ultrastructure of rat pancreatic islets / M.D. Mythili [et al.] // *Microsc Res Tech.* – 2004. – V. 63. – P. 274–281.
16. Etuk, E.U. Animals models for studying diabetes mellitus / E.U. Etuk // *Agric. Biol. J.N. Am.* – 2010. – V. 1 (2). – P. 130–134.
17. Exposure of pancreatic islets to different alkylating agents decreases mitochondrial DNA content but only streptozotocin induces longlasting functional impairment of B-cells / D.L. Eizirik [et al.] // *Biochem Pharmacol.* – 1991. – V. 42. – P. 2275–2282.
18. Functional characteristics of cultured mouse pancreatic islets following exposure to different streptozotocin concentrations / E. Strandell [et al.] // *Mol Cell Endocrinol.* – 1988. – V. 59. – P. 83–91.
19. Improvement of insulin resistance and insulin recreation by water extracts of *Cordiceps militaris*, *phellinus linteus* and *paecilomyce tenuipes* in 90% pancreatectomized rats / S.B. Choi [et al.] // *J. Biotech. and Biochem.* – 2004. – V. 68. – P. 2257–2264.
20. Induction of diabetes by streptozotocin in rats / A. Akbarzaden [et al.] // *Indian Journal of Clinical Biochemistry.* – 2007. – V. 22. – P. 60–64.
21. Karran, P. Self-destruction and tolerance in resistance of mammalian cells to alkylation damage / P. Karran, M. Bignami // *Nucleic Acids Res.* – 1992. – V. 20. – P. 2933–2940.
22. Lenzen, S. Glucokinase in pancreatic B-cells and its inhibition by alloxan / S. Lenzen, M. Tiedge, U. Panten // *Acta Endocrinol.* – 1987. – V. 115. – P. 21–29.
23. Lenzen, S. The mechanisms of alloxan and streptozotocin induced diabetes / S. Lenzen // *Diabetologia.* 2008. – V. 51. – P. 216–226.
24. Light and electron microscopy of lesions in rats rendered diabetic with streptozotocin / R.N. Arison [et al.] // *Diabetes.* – 1967. – V. 16. – P. 51–56.
25. Masiello, P. Animal models of type11 diabetes with reduced pancreatic b-cell mass / P. Masiello // *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology.* – 2006. – V. 38. – P. 873–893.
26. Maske, H. Role of zinc in insulin secretion / H. Maske // *Experientia.* – 1955. – V. 11, №3. – P. 122–128.
27. Mice lacking the poly(ADP-ribose) polymerase gene are resistant to pancreatic beta-cell destruction and diabetes development induced by streptozotocin / V. Burkart [et al.] // *Nat Med.* – 1999. – V. 5. – P. 314–319.
28. Okamoto, H. Okamoto model for 3-cell damage: recent advances / H. Okamoto // *Lessons from animal diabetes* / H. Okamoto; Shafir E. (ed). – Boston: Birkhauser. – 1996. – P. 97–111.
29. Okamoto, K. Experimental pathology of diabetes mellitus / K. Okamoto // *Tohoku J. Exp. Med.* – 1955. – V. 61. – P. 1–11.
30. Preston, A.M. Modification of streptozotocin-induced diabetes by protective agents/ A.M. Preston // *Nutrition Res.* – 1985. – V. 5. – P. 435–446.
31. Rakieten, N. Studies on the diabetogenic action of streptozotocin (NSC-37917) / N. Rakieten, M.L. Rakieten, M.V. Nadkarni // *Cancer Chemother Rep.* – 1963. – V. 29. – P. 91–98.
32. Rasschaert, J. Long term in vitro effects of streptozotocin, interleukin-1, and high glucose concentration on the activity of mitochondrial dehydrogenases and the secretion of insulin in pancreatic islets / J. Rasschaert, D.L. Eizirik, W.J. Malaisse // *Endocrinology.* – 1992. – V. 130. – P. 3522– 3528.
33. Rees, D.A. Animal models of diabetes mellitus / D.A. Rees, J.C. Alcolado // *Diabetic Medicine.* – 2005. – V. 22. – P. 359–370.
34. Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin / M. Elsner [et al.] // *Diabetologia.* – 2000. – V. 43. – P. 1528– 1533.
35. Rerup C.C. Drugs producing diabetes through damage of the insulin secreting cells / C.C. Rerup // *Pharmacol Rev.* – 1970. – V. 22. – P. 485–518.
36. Schmidt, R. Der Alloxandiabetes. Morphologie, Chemismus und Literatur / R. Schmidt // *Herausg. K. Mothes.* – Leipzig. – 1967. – S. 142.
37. Site-specific DNA methylation and apoptosis: induction by diabetogenic streptozotocin / M. Murata [et al.] // *Biochem Pharmacol.* – 1999. – V. 57. – P. 881– 887.
- V. 30. – P. 188–191.
15. Effect of streptozotocin on the ultrastructure of rat pancreatic islets / M.D. Mythili [et al.] // *Microsc Res Tech.* – 2004. – V. 63. – P. 274–281.
16. Etuk, E.U. Animals models for studying diabetes mellitus / E.U. Etuk // *Agric. Biol. J.N. Am.* – 2010. – V. 1 (2). – P. 130–134.
17. Exposure of pancreatic islets to different alkylating agents decreases mitochondrial DNA content but only streptozotocin induces longlasting functional impairment of B-cells / D.L. Eizirik [et al.] // *Biochem Pharmacol.* – 1991. – V. 42. – P. 2275–2282.
18. Functional characteristics of cultured mouse pancreatic islets following exposure to different streptozotocin concentrations / E. Strandell [et al.] // *Mol Cell Endocrinol.* – 1988. – V. 59. – P. 83–91.
19. Improvement of insulin resistance and insulin recreation by water extracts of *Cordiceps militaris*, *phellinus linteus* and *paecilomyce tenuipes* in 90% pancreatectomized rats / S.B. Choi [et al.] // *J. Biotech. and Biochem.* – 2004. – V. 68. – P. 2257–2264.
20. Induction of diabetes by streptozotocin in rats / A. Akbarzaden [et al.] // *Indian Journal of Clinical Biochemistry.* – 2007. – V. 22. – P. 60–64.
21. Karran, P. Self-destruction and tolerance in resistance of mammalian cells to alkylation damage / P. Karran, M. Bignami // *Nucleic Acids Res.* – 1992. – V. 20. – P. 2933–2940.
22. Lenzen, S. Glucokinase in pancreatic B-cells and its inhibition by alloxan / S. Lenzen, M. Tiedge, U. Panten // *Acta Endocrinol.* – 1987. – V. 115. – P. 21–29.
23. Lenzen, S. The mechanisms of alloxan and streptozotocin induced diabetes / S. Lenzen // *Diabetologia.* 2008. – V. 51. – P. 216–226.
24. Light and electron microscopy of lesions in rats rendered diabetic with streptozotocin / R.N. Arison [et al.] // *Diabetes.* – 1967. – V. 16. – P. 51–56.
25. Masiello, P. Animal models of type11 diabetes with reduced pancreatic b-cell mass / P. Masiello // *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology.* – 2006. – V. 38. – P. 873–893.
26. Maske, H. Role of zinc in insulin secretion / H. Maske // *Experientia.* – 1955. – V. 11, №3. – P. 122–128.
27. Mice lacking the poly(ADP-ribose) polymerase gene are resistant to pancreatic beta-cell destruction and diabetes development induced by streptozotocin / V. Burkart [et al.] // *Nat Med.* – 1999. – V. 5. – P. 314–319.
28. Okamoto, H. Okamoto model for 3-cell damage: recent advances / H. Okamoto // *Lessons from animal diabetes* / H. Okamoto; Shafir E. (ed). – Boston: Birkhauser. – 1996. – P. 97–111.
29. Okamoto, K. Experimental pathology of diabetes mellitus / K. Okamoto // *Tohoku J. Exp. Med.* – 1955. – V. 61. – P. 1–11.
30. Preston, A.M. Modification of streptozotocin-induced diabetes by protective agents/ A.M. Preston // *Nutrition Res.* – 1985. – V. 5. – P. 435–446.
31. Rakieten, N. Studies on the diabetogenic action of streptozotocin (NSC-37917) / N. Rakieten, M.L. Rakieten, M.V. Nadkarni // *Cancer Chemother Rep.* – 1963. – V. 29. – P. 91–98.
32. Rasschaert, J. Long term in vitro effects of streptozotocin, interleukin-1, and high glucose concentration on the activity of mitochondrial dehydrogenases and the secretion of insulin in pancreatic islets / J. Rasschaert, D.L. Eizirik, W.J. Malaisse // *Endocrinology.* – 1992. – V. 130. – P. 3522– 3528.
33. Rees, D.A. Animal models of diabetes mellitus / D.A. Rees, J.C. Alcolado // *Diabetic Medicine.* – 2005. – V. 22. – P. 359–370.
34. Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin / M. Elsner [et al.] // *Diabetologia.* – 2000. – V. 43. – P. 1528– 1533.
35. Rerup C.C. Drugs producing diabetes through damage of the insulin secreting cells / C.C. Rerup // *Pharmacol Rev.* – 1970. – V. 22. – P. 485–518.
36. Schmidt, R. Der Alloxandiabetes. Morphologie, Chemismus und Literatur / R. Schmidt // *Herausg. K. Mothes.* – Leipzig. – 1967. – S. 142.
37. Site-specific DNA methylation and apoptosis: induction by diabetogenic streptozotocin / M. Murata [et al.] // *Biochem Pharmacol.* – 1999. – V. 57. – P. 881– 887.

38. Szkudelski, T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action B cells of the rat pancreas/ T. Szkudelski // *Physiology, Res* – 2001. – V. 50. – P. 536–546.
39. Treatment of cultured pancreatic B-cells with streptozotocin induces cell death by apoptosis / N.G. Morgan [et al.] // *Biosci Rep.* – 1994. – V. 14. – P. 243–250.
40. Treatment of Streptozotocin-induced diabetes mellitus by transplantation of islet cells Plus bone Marrow cells via portal vein in rats / K. Ikebukuro [et al.] // *Transplantation.* – 2002. – V. 73, №4. – P. 512–518.
41. Vergleichende biochemische Untersuchungen uber die diabetogene Wirkung von Streptozotocin bei Mausen, Ratten, chinesischen Streifenhamstern und Meerschweinchen / W. Losert [et al.] // *Arzneim Forsch.* – 1971. – V. 21. – P. 1643–1653.
42. West, E. Streptozotocin alters pancreatic beta-cell responsiveness to glucose within six hours of injection into rats / E. West, O.R. Simon, E.Y. Morrison // *West Indian Med J.* – 1996. – V. 45. – P. 60–62.
- 1999. – V. 57. – P. 881– 887.
38. Szkudelski, T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action B cells of the rat pancreas/ T. Szkudelski // *Physiology, Res* – 2001. – V. 50. – P. 536–546.
39. Treatment of cultured pancreatic B-cells with streptozotocin induces cell death by apoptosis / N.G. Morgan [et al.] // *Biosci Rep.* – 1994. – V. 14. – P. 243–250.
40. Treatment of Streptozotocin-induced diabetes mellitus by transplantation of islet cells Plus bone Marrow cells via portal vein in rats / K. Ikebukuro [et al.] // *Transplantation.* – 2002. – V. 73, №4. – P. 512–518.
41. Vergleichende biochemische Untersuchungen uber die diabetogene Wirkung von Streptozotocin bei Mausen, Ratten, chinesischen Streifenhamstern und Meerschweinchen / W. Losert [et al.] // *Arzneim Forsch.* – 1971. – V. 21. – P. 1643–1653.
42. West, E. Streptozotocin alters pancreatic beta-cell responsiveness to glucose within six hours of injection into rats / E. West, O.R. Simon, E.Y. Morrison // *West Indian Med J.* – 1996. – V. 45. – P. 60–62.

## EXPERIMENTAL MODELS FOR STUDYING DIABETES MELLITUS PART II. SURGICALLY, STREPTOZOTOCIN AND DITHIZONE-INDUCED DIABETES

*Mozheyko L.A.*

Educational Establishment «Grodno State Medical University», Grodno, Belarus

*The literature data on the models of surgically, streptozotocin and dithizone-induced diabetes in experimental animals have been summarized in the review. Also the mechanisms of selective action of streptozotocin and dithizone on the  $\beta$ -cells of the pancreas have been analyzed and discussed. It can be concluded, that the model of streptozotocin-induced diabetes is the most reliable and easily reproducible method of inducing diabetes mellitus in experimental animals.*

**Key words:** *experimental diabetes, surgical, streptozotocin, dithizone model.*

Адрес для корреспонденции: e-mail: [mozhejko-hist@yandex.ru](mailto:mozhejko-hist@yandex.ru)

Поступила 28.06.2013