

© Коллектив авторов, 2020

УДК 616-092

Геворкян Н.М.¹, Тишевская Н.В.², Бабаева А.Г.³

О феномене повышенной чувствительности крыс, ранее перенесших аллоксановый диабет, к диабетогенному воздействию суммарной РНК

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», Россия, 119121, г. Москва, Россия, ул. Погодинская, 10, стр. 8;

²ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», 454092, Челябинск, Россия, ул. Воровского, д. 64;

³ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека», 17418, г. Москва, Россия, ул. Цюрупы, д. 3

Введение. Как было нами показано ранее, препараты аллогенных суммарных РНК лимфоидных и стволовых клеток способствуют нормализации уровня глюкозы в крови белых беспородных крыс со стойким аллоксановым диабетом. **Цель исследования** – оценка влияния суммарной РНК, выделенной из селезенки крыс с аллоксановым диабетом, на уровень глюкозы в крови интактных крыс и животных, перенесших стойкий аллоксановый диабет. **Методика.** Эксперимент выполнен на 34 белых беспородных крысах-самках массой 250–280 г.: 12 интактных животных составили «интактный контроль». У 22 животных моделировали аллоксановый диабет путем однократного подкожного (п/к) введения полного адьюванта Фрейнда (0,5 мл) и последующего подкожного введения аллоксана тригидрата (200 мг/кг) – группа «аллоксановый диабет». Селезенка 10 крыс группы «аллоксановый диабет» была использована для получения суммарной РНК. У 12 крыс группы «аллоксановый диабет» уровень глюкозы в крови был стабильно нормализован введением суммарной РНК клеток костного мозга, селезенки и поджелудочной железы – группа «перенесшая диабет». На 45-е сут эксперимента 12 крыс группы «интактный контроль» и 12 крыс группы «перенесшей диабет» использованы в новом опыте (по протоколу «2-й этап работы»). У 6 животных группы «интактный контроль» (впервые) и у 6 животных группы «перенесший диабет» (повторно) моделировали аллоксановый диабет путем подкожного введения аллоксана в дозе 100 мг/кг. Оставшимся 6-ти животным группы «интактный контроль» и 6-ти животным группы «перенесших диабет» вводили внутривентриально суммарную РНК (15 мкг/100 г веса тела), выделенную из селезенки 10 крыс группы «аллоксановый диабет». **Результаты.** Показано, что исследуемая суммарная РНК в дозе 15 мкг/100 г массы тела вызывала гипергликемию у всех подопытных животных, сравнимую с действием 600–700-кратной дозы самого аллоксана, при этом крысы, ранее перенесшие диабет, реагировали значительно сильнее. Повторный контакт с аллоксаном у крыс, перенесших ранее диабет, так же вызывал значимо более выраженную гипергликемию, чем реакция на аллоксан у интактных крыс. **Заключение.** Выявлен феномен диабетогенного действия исследуемой суммарной РНК, а также повышенную чувствительность животных, ранее перенесших аллоксановый диабет, к повторному действию повреждающего агента. Полученные эффекты свидетельствуют о принципиальной возможности использовать суммарную РНК лимфоидных клеток для создания моделей заболеваний человека и разработку новых подходов в области персонализированной медицины.

Ключевые слова: экспериментальный сахарный диабет; аллоксан; суммарная РНК; лимфоидные клетки; селезенка.

Для цитирования: Геворкян Н.М., Тишевская Н.В., Бабаева А.Г. О феномене повышенной чувствительности крыс, ранее перенесших аллоксановый диабет, к диабетогенному воздействию суммарной РНК. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2020;64(2): 85-88.

DOI: 10.25557/0031-2991.2020.02.85-88

Для корреспонденции: Геворкян Нина Михайловна, науч. сотр. лаб. биосинтеза белков, e-mail: gevorkiann@yandex.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 гг. по теме «Создание клеточных моделей молекулярных процессов в органах и тканях» (НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Геворкян Н.М.; выделение препаратов РНК – Геворкян Н.М.; постановка и проведение экспериментов на животных – Тишевская Н.В.; статистическая обработка полученных данных – Тишевская Н.В.; обсуждение полученных данных, написание текста, редактирование – Геворкян Н.М., Тишевская Н.В., Бабаева А.Г.

Поступила 24.03.2020

Принята к печати 20.04.2020

Опубликована 28.05.2020

Gevorkyan N.M.¹, Tishevskaya N.V.², Babaeva A.G.³

A phenomenon of hypersensitivity to the diabetogenic effect of total RNA in rats that had alloxan diabetes

¹V. N. Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry,

Pogodinskaya Str. 10, Moscow 119121, Russia;

²South Ural State Medical University,

Vorovskogo Str. 64, Chelyabinsk 454092, Russia;

³Research Institute of Human Morphology, Tsuryupy Str. 3, Moscow 117418, Russia

Introduction. As we have shown earlier, preparations of allogenic total RNA from lymphoid and stem cells contribute to normalization of blood glucose levels in white outbred rats with persistent alloxan-induced diabetes. **The aim** of this study was to evaluate the effect of total RNA from the spleen of rats with alloxan diabetes on blood glucose of intact and post-alloxan diabetic animals. **Method.** Experiments were performed on 34 white outbred female rats weighing 250-280 g. Rats were divided into intact animals (n=12) and rats with experimental alloxan diabetes mellitus (n=22). Diabetes mellitus was modeled by a single subcutaneous (s.c.) injection of complete Freund's adjuvant (0.5 ml) followed by a s.c. injection of alloxan trihydrate (200 mg/kg). Spleens from 10 rats with alloxan diabetes were used for obtaining total RNA. In the remaining 12 rats with alloxan diabetes, the level of blood glucose was completely normalized by administration of total RNA from the bone marrow, spleen, and pancreas (post-diabetes group). On day 45 of this experiment, 12 intact rats and 12 post-diabetes rats were used for a new experiment (second stage protocol). Alloxan diabetes was induced in 6 intact rats (for the first time) and 6 post-diabetes rats (for the second time) by a s.c. injection of alloxan 100 mg/kg. The remaining 6 rats of the intact control group and 6 rats of the post-diabetes group received an injection of total RNA (15 µg/100 g body weight, i.p.). **Results.** Administration of total RNA (15 µg/100 g body weight) induced hyperglycemia in all experimental animals, which was comparable with the effect of a 600-700-fold dose of alloxan. Rats that had previously had diabetes responded to the total RNA significantly stronger. Likewise, a repeated exposure to alloxan of post-diabetes rats induced significantly more pronounced hyperglycemia than the response to alloxan of intact rats. **Conclusions.** This study discovered a phenomenon of hypersensitivity to repeated exposure to alloxan and to the diabetogenic effect of total RNA in animals that had previously had alloxan diabetes. This effect suggests a possibility of using the total RNA of lymphoid cells to create animal models of human diseases and to develop new approaches in personalized medicine.

Key words: experimental diabetes mellitus, alloxan, total RNA, lymphoid cells, spleen

For citation: Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V., Babaeva A.G. A phenomenon of hypersensitivity to the diabetogenic effect of total RNA in rats that had alloxan diabetes. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2020; 64(2): 85-88. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2020.02.85-88

For correspondence: Nina M. Gevorkyan, Researcher, Laboratory for Protein Biosynthesis of «Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of Biomedical Chemistry, 10 Pogodinskaya Str., Moscow 119121, Russian Federation, e-mail: gevorkiann@yandex.ru

Acknowledgments. This work was carried out in the framework of the Program of fundamental scientific research of state academies of sciences for 2013-2020 on the topic "Creation of cellular models of molecular processes in organs and tissues" (V.N. Orekhovich Scientific Research Institute of Biomedical Chemistry).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Contribution: research concept and design, isolation of RNA, preparations – Gevorkyan N.M.; setting up and conducting experiments on animals, statistical processing of data – Tishevskaya N.V.; discussion of the data, writing text, editing – Gevorkyan N.M., Tishevskaya N.V., Babaeva A.G.

Information about the authors:

Gevorkyan N.M., <https://orcid.org/0000-0002-0386-4010>Tishevskaya N.V., <https://orcid.org/0000-0002-4912-3111>

Received 24.03.2020

Accepted 20.04.2020

Published 28.05.2020

Введение

Ранее нами было показано, что препараты аллогенных суммарных РНК лимфоидных и стволовых клеток способствуют нормализации уровня глюкозы в крови белых беспородных крыс со стойким аллоксановым диабетом. В продолжение исследований морфогенетических свойств суммарных РНК лимфоидных клеток [1-5], дан-

ная работа посвящена решению вопроса: влияет ли – и как именно – суммарная РНК селезенки крыс с аллоксановым диабетом на уровень глюкозы в крови интактных и перенесших аллоксановый диабет животных [1]. Результаты сопоставляли с влиянием аллоксана на уровень глюкозы в крови указанных групп животных.

Цель исследования — оценка влияния суммарной РНК, выделенной из селезенки крыс с аллоксановым диабетом, на уровень глюкозы в крови интактных крыс и животных, перенесших стойкий аллоксановый диабет.

Методика

Эксперименты с животными, содержащимися в стандартных условиях вивария, на стандартном рационе и при свободном доступе к воде, проводили в соответствии с Национальным стандартом РФ «Принципы надлежащей лабораторной практики». Работа выполнена на 34 белых беспородных крысах-самках массой 250-280 г.: 12 животных составили группу «интактный контроль» и 22 крысы — группу с экспериментальным аллоксановым диабетом (группа «аллоксановый диабет»). Аллоксановый диабет моделировали предварительным однократным подкожным введением полного адьюванта Фрейнда в дозе 0,5 мл на одно животное, а через 24 ч (на фоне 24-часового голодания и свободного доступа к воде) однократно подкожно вводили аллоксана тригидрата («La Chema», Чехия) в дозе 200 мг/кг в 0,9%-ном растворе NaCl. Начиная с 3-х сут после введения аллоксана, все животные получали базисную инсулинотерапию. На 45-е сут из лимфоидных клеток селезенки 10-ти крыс группы «ал-

ллоксановый диабет» выделяли суммарную РНК методом гуанидин тиоцианат–фенол–хлороформной экстракции. У остальных 12 крыс этой группы уровень глюкозы крови был стабильно нормализован к 21-м сут введением суммарных РНК клеток костного мозга, селезенки и поджелудочной железы [1] (группа «перенесшие аллоксановый диабет»).

12 крыс группы «перенесшие диабет» и 12 крыс группы «интактный контроль», содержащиеся в стандартных условиях вивария все 45 сут, были использованы в новом эксперименте (второй этап работы). Эти животные были разделены на 4 группы (таблица). У 6 животных группы «интактный контроль» (первые) и у 6 животных группы «перенесший диабет» (вторично) моделировали диабет ведением подкожно аллоксана (100 мг/кг) — группы 1 и 3, соответственно. Оставшиеся 6 животных группы «интактный контроль» и 6 животных группы «перенесших диабет» получали путем внутрибрюшинного введения суммарной РНК селезенки (15 мкг/100 г веса тела) — группы 2 и 4, соответственно.

Статистическую значимость различий оценивали с помощью критерия Манна-Уитни и Уилкоксона. Различия считались статистически значимыми при вероятности ошибки < 0,05.

Таблица

Сравнительное влияние аллоксана и суммарной РНК селезенки крыс с аллоксановым диабетом на уровень глюкозы крови у подопытных животных

Срок наблюдения	Интактные крысы (n=12)		Крысы, ранее перенесшие аллоксановый диабет (n=12)	
	Аллоксан (100 мг/кг)	РНК (15 мкг/100г)	Аллоксан (100 мг/кг)	РНК (15 мкг/100г)
	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
Фон	5,2±0,2	5,7±0,1	5,5±0,2	5,4±0,2
3 сут	14,1±0,4	8,0±0,5*	17,4±0,5*	11,6±0,6■▲
5 сут	13,9±0,4	14,3±0,6	18,7±0,5*	18,6±0,3■
7 сут	11,7±0,7	17,8±0,3*	20,2±0,6*	19,1±0,4
10 сут	10,9±0,4	16,7±0,5*	21,9±0,8*	19,3±0,5■
14 сут	11,3±0,6	15,7±0,4*	22,3±0,9*	19,9±0,3■
17 сут	9,5±0,5	13,2±0,5*	19,5±0,5*	17,5±0,2■
21 сут	8,2±0,3	9,2±0,3	18,7±0,7*	15,3±0,5■▲
28 сут	7,2±0,6	6,1±0,3	17,9±0,5*	11,6±0,5■▲

Примечание.

1. «*» — статистически значимые различия между группами 1 и 3
2. «*» — статистически значимые различия между группами 1 и 2
3. «■» — статистически значимые различия между группами 2 и 4
4. «▲» — статистически значимые различия между группами 3 и 4.

Результаты

Показано (см. табл.), что микродозы суммарной РНК селезенки животных с аллоксановым диабетом вызывали повышение уровня глюкозы в крови как интактных крыс, так и животных, перенесших ранее диабет, причем гипергликемия в ответ на введение суммарной РНК была статистически значимо выше у животных перенесших диабет (гр. 4), чем у интактных животных (гр. 2). Гипергликемия, вызываемая введением суммарной РНК селезенки, была сравнима с действием 600–700-кратной дозы самого аллоксана. Уровень гипергликемии у крыс с повторно воспроизведенным диабетом (гр. 3) был статистически значимо выше, чем у животных, у которых диабет моделировали впервые (гр. 1).

Заключение

В данной работе нами описан феномен повышенной чувствительности животных, ранее перенесших аллоксановый диабет, как к повторному действию агента, повреждающего инсулинпродуцирующие клетки островков Лангерганса (аллоксану), так и к диабетогенному действию исследуемой РНК. Полученные эффекты свидетельствуют о принципиальной возможности использовать суммарную РНК лимфоидных клеток для создания животных моделей заболеваний человека и новых подходов в области персонализированной медицины. Использование для этих целей именно суммарных РНК имеет особое значение, т.к. доказано [4], что они не имеют аллогенного и ксеногенного ограничений.

Литература

1. Геворкян Н.М., Тишевская Н.В., Бабаева А.Г. Роль суммарных РНК лимфоидных и стволовых клеток в коррекции уровня глюкозы в крови при экспериментальном сахарном диабете. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2019; 63(3): 88–95.

Сведения об авторах:

Геворкян Нина Михайловна, науч. сотр. лаб. биосинтеза белков, НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАН, e-mail: gevorgiann@yandex.ru;

Тишевская Наталья Викторовна, доктор мед. наук, проф. каф. нормальной физиологии Южно-Уральского государственного медицинского университета;

Бабаева Анна Георгиевна, акад. РАЕН, доктор мед. наук, консультант лаб. роста и развития ФГБНУ «НИИ морфологии человека».

2. Тишевская Н.В., Геворкян Н.М., Козлова Н.И. Роль Т-лимфоцитов в гормональной регуляции морфогенетических процессов. *Успехи современной биологии*. 2015; 135(2): 189–202.
3. Геворкян Н.М., Тишевская Н.В., Болотов А.А. Влияние предварительного введения суммарной РНК клеток костного мозга на динамику восстановления эритропоэза у крыс после острого гамма-облучения. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2016; 161(5): 670–3.
4. Бабаева А.Г., Геворкян Н.М., Тишевская Н.В., Головкина Л.Л., Муратова Ю.О., Рагимов А.А. О гемопоэтических свойствах рибонуклеиновой кислоты лимфоцитов периферической крови больных истинной полицитемией и здоровых доноров. *Онкогематология*. 2015; 10(2): 58–62.
5. Тишевская Н.В., Бабаева А.Г., Геворкян Н.М. Роль лимфоцитарных РНК в межклеточном информационном обмене и регуляции регенеративных процессов. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2016; 102(11): 1280–301.

References

1. Gevorgyan N.M., Tishevskaya N.V., Babaeva A.G. The role of lymphoid and stem cell total RNAs in correction of blood glucose levels in experimental diabetes mellitus. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimentalnaya terapiya*. 2019; 63(3): 88–95. (In Russian)
2. Tishevskaya N.V., Gevorgyan N.M., Kozlova N.I. The role of T-lymphocytes in the hormonal regulation of morphogenetic processes. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2015; 135(2): 189–202. (In Russian)
3. Gevorgyan N.M., Tishevskaya N.V., Bolotov A.A. Effect of preliminary introduction of bone marrow cell total RNA on the dynamics of erythropoiesis restoration in rats after acute gamma-irradiation. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2016; 161(5): 670–3. (In Russian)
4. Babaeva A.G., Gevorgyan N.M., Tishevskaya N.V., Golovkina L.L., Muratova Ju.O., Ragimov A.A. On the hematopoietic properties of ribonucleic acid of peripheral blood lymphocytes in patients with true polycythemia and healthy donors. *Onkogematologiya*. 2015; 10(2): 58–62. (In Russian)
5. Tishevskaya N.V., Babaeva A.G., Gevorgyan N.M. The role of lymphocytic RNA in intercellular information exchange and regulation of regenerative processes. *Rossiyskiy fiziologicheskiy Zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2016; 102(11): 1280–301. (In Russian)