

© Коллектив авторов, 2020

УДК 616-092.9

Тучина Т.П., Рогоза О.В., Скотникова К.П., Лебедев Д.А., Грозов Р.В., Бабенко А.Ю., Галагудза М.М.

Морфологические особенности эндокриноцитов поджелудочной железы крыс с сахарным диабетом 2-го типа при разной длительности терапии инкретиномиметиками

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России, 197341, г. Санкт-Петербург, Россия, пр. Пархоменко д. 15

Группа препаратов, основанных на инкретиновых эффектах (аналоги глюкагоноподобного пептида-1 агПП1) и ингибиторы дипептидилпептидазы-4, иДПП4), обладают способностью увеличивать репликацию β -клеток и ингибировать апоптоз. Инкретиномиметики способны влиять на функцию α -клеток, восстанавливая физиологическую регуляцию уровня глюкагона. При этом эффекты инкретиномиметиков на пролиферацию/апоптоз α -клеток изучены недостаточно. В единичных исследованиях отмечено увеличение пролиферации α -клеток, но факторы, определяющие выраженность этих изменений, не установлены.

Цель – оценка влияния терапии инкретиномиметиками разной продолжительности на морфологические и функциональные особенности α - и β -клеток поджелудочной железы крыс (12 мес) с сахарным диабетом 2-го типа (СД 2-го типа).

Методика. У крыс (возраст 12 мес), находящихся на высокожировой диете, моделировали стрептозотозин-никотинамид-индуцированный СД 2-го типа. Животные получали инкретиномиметики: агонист рецепторов ГПП1 (лираглутид) или ингибитор ДПП4 (вилдаглиптин) в течение 4, 10 и 24 нед. Макроскопически оценивали наличие/отсутствие видимых изменений поджелудочной железы. Парафиновые срезы поджелудочной железы окрашивали гематоксилином и эозином для оценки микроструктуры ткани. Проводили иммуногистохимическое (ИГХ) исследование с применением антител (Abcam) к глюкагону, инсулину в аппарате для ИГХ «Thermo Autostainer 720». После процедуры ИГХ ядра доокрашивали гематоксилином в аппарате для окраски гистологических микропрепаратов LeicaST5020.

Результаты. Показано, что без лечения сахарный диабет приводил к снижению числа α - и β -клеток на всех сроках наблюдения. Лечение диабета лираглутидом и вилдаглиптином приводило к восстановлению пула как α -, так и β -клеток. При сравнении групп, получавших терапию и без терапии, с группой контроля значимые отличия сохранялись по количеству как α -, так и β -клеток во все сроки наблюдения. Через 4 нед в группах, получавших лираглутид, количество α -клеток стало сопоставимым с таковым в группе контроля, но количество β -клеток оставалось сниженным. После 10 и 24 нед терапии статистически значимой разницы между группой контроля и животными, получавшими терапию лираглутидом, по количеству как β -, так и α -клеток не выявлено.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют в пользу того, что терапия инкретиномиметиками способствует восстановлению пула как α -, так и β -клеток поджелудочной железы.

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа; инкретиномиметики; β -клетки; эндокриноциты.

Для цитирования: Тучина Т.П., Рогоза О.В., Скотникова К.П., Лебедев Д.А., Грозов Р.В., Бабенко А.Ю., Галагудза М.М. Морфологические особенности эндокриноцитов поджелудочной железы крыс с сахарным диабетом 2 типа при разной длительности терапии инкретиномиметиками. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2020; 64(3): 117-125.

DOI: 10.25557/0031-2991.2020.03.117-125

Для корреспонденции: Тучина Таисия Павловна, e-mail: tayka_91@mail.ru

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Тучина Т.П., Бабенко А.Ю., Галагудза М.М.; сбор и обработка материала – Тучина Т.П., Лебедев Д.А., Скотникова К.П., Рогоза О.В., Грозов Р.В.; статистическая обработка – Тучина Т.П.; написания текста – Тучина Т.П.; редактирование – Бабенко А.Ю., Галагудза М.М. Утверждение окончательного варианта статьи – все авторы.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 17-75-300-52 от 04.08.2017

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 23.08.2019

Принято к печати 24.06.2020

Опубликовано 21.08.2020

Tuchina T.P., Rogoza O.V., Skotnikova K.P., Lebedev D.A., Grozov R.V., Babenko A.Yu., Galagudza M.M.¹

Morphological features of pancreatic endocrinocytes in rats with type 2 diabetes mellitus receiving the incretin mimetic therapy of different duration

N. A. Almazov National Medical Research Centre,
Parkhomenko Str. 15, St. Petersburg 197341, Russia

Drugs based on incretin effects, including analogs of glucagon-like peptide-1 (GLP1) and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors (DPP4), increase replication and inhibit apoptosis of β -cells. Incretin mimetics can influence the function of α -cells thereby restoring physiological regulation of glucagon. However, effects of incretin mimetics on proliferation and apoptosis of α -cells are understudied. A few studies reported increased α -cell proliferation, but the factors determining the degree of these changes were not established.

Aim. To evaluate the effect of incretin mimetic treatment of different duration on morphological and functional features of pancreatic α - and β -cells of 12-month-old rats with type 2 diabetes mellitus.

Method. Streptozotocin-nicotinamide-induced type 2 diabetes mellitus was modeled in 12-month-old rats receiving a high-fat diet. The rats were treated with incretin mimetics, a GLP-1 receptor antagonist (Liraglutide) or a DPP-4 inhibitor (Vildagliptin) for 4, 10 or 24 weeks. Paraffin sections of the pancreas were stained with hematoxylin-eosin to evaluate the tissue microstructure. An immunohistochemical (IHC) study was performed using glucagon and insulin antibodies (Abcam) with a Thermo Autostainer 720 IHC instrument. After the IHC procedure, nuclei were additionally stained with hematoxylin using a Leica ST5020 stainer for histological micropreparations.

Results. Untreated diabetes mellitus resulted in decreased numbers of α - and β -cells at all timepoints of observation. The treatments with Liraglutide and Vildagliptin recovered the pools of α - and β -cells. Significant differences of both treated and untreated diabetic groups from the control group in the number of α - and β -cells remained at all timepoints of observation. In the Liraglutide group at 4 weeks, the number of α -cells became comparable with the control group, but the number of β -cells remained lower. At 10 and 24 weeks of treatment, statistically significant differences between the control group and the Liraglutide or Vildagliptin treatment groups in the number of α - and β -cells were not observed.

Conclusion. The results of the study suggested that the incretin mimetic therapy provided recovery of both α and β -cell pools in the pancreas.

Keywords: diabetes mellitus type 2; incretin mimetics; β -cells; endocrinocytes.

For citation: Tuchina T.P., Rogoza O.V., Skotnikova K.P., Lebedev D. A., Grozov R.V., Babenko A.Yu., Galagudza M.M. Morphological features of pancreatic endocrinocytes in rats with type 2 diabetes mellitus receiving the incretin mimetic therapy of different duration. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental' naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2020; 64(3): 117-125. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2020.03.117-125

For correspondence: *Taisiya P. Tuchina*, PhD of Department of Internal Medicine of the National Almazov Medical Research Centre, 197341, Parkhomenko d., 15, St-Petersburg, Russian Federation, e-mail: tayka_91@mail.ru

Contribution: research concept and design – Tuchina T.P., Babenko A.Yu., Galagudza M.M.; material collecting and processing – Tuchina T.P., Lebedev D.A., Skotnikova K.P., Grozov R.V., Rogoza, O.V.; statistical processing of results – Tuchina T.P.; writing text – Tuchina T.P.; text editing – Babenko A.Yu., Galagudza M.M. Approval of the final version of the article – all co-authors.

Acknowledgment. The work was supported by Russian Science Foundation Grant 17-75-300-52 from 04.08.2017.

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

Information about the authors:

Tuchina T.P., <https://orcid.org/0000-0003-0994-8650>
Rogoza O.V., <https://orcid.org/0000-0002-5258-5317>
Skotnikova K.P., <https://orcid.org/0000-0002-7883-5951>
Lebedev D.A., <https://orcid.org/0000-0003-1808-1331>
Grozov R.V., <https://orcid.org/0000-0001-8016-7692>
Babenko A. Yu., <https://orcid.org/0000-0002-0559-697X>
Galagudza M.M., <https://orcid.org/0000-0001-5129-9944>
Received 23.08.2019
Accepted 24.06.2020
Published 21.08.2020

Введение

В настоящее время поиск оптимальной терапии сахарного диабета 2-го типа (СД 2-го типа) и его осложнений становится все более актуальным, так как численность пациентов неуклонно растет [1]. Извест-

но, что физиологическое количество β -клеток поддерживается равновесием процессов апоптоза и пролиферации [2, 3]. По мере увеличения продолжительности течения СД 2-го типа происходит

прогрессирующая потеря β -клеток [4–6]. Складывается впечатление, что факторы, способствующие развитию β -клеточной недостаточности (пожилой возраст, длительное течение СД 2-го типа, терапия препаратами сульфонилмочевины), усиливают также и нарушение глюкагонового ответа, однако работы по изучению состояния α -клеток поджелудочной железы в зависимости от вышеперечисленных факторов крайне немногочисленны [7,8].

В этом контексте препараты, влияющие на инкретиновый баланс, — агонисты рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 (аГПП1) и ингибиторы дипептидилпептидазы-4 (идПП4), привлекают особое внимание. По данным литературы, эти препараты способны увеличивать репликацию β -клеток и ингибировать их апоптоз [9, 10]. Данные свойства инкретиномиметиков дают основания полагать, что они могут не только улучшать функцию оставшихся β -клеток, но и стимулировать образование новых β -клеток у больных СД 2-го типа [11]. Помимо эффектов на β -клетки, препараты аГПП1 и идПП4 способны оказывать влияние и на α -клетки, восстанавливая физиологическую регуляцию уровня глюкагона. При этом в единичных исследованиях показано увеличение пролиферации не только β -клеток, но и α -клеток [12]. Имеющиеся в настоящее время клинические исследования не смогли дать четкого ответа на вопрос о том, возрастает ли риск развития клинически значимой гиперплазии α -клеток. Это обусловлено тем, что длительность имеющихся исследований не превышает 5 лет, а факторы, повышающие риск неблагоприятных изменений, в частности пожилой возраст, обычно являются критерием исключения. Экспериментальные исследования дают возможность оценки эффекта данных препаратов в условиях, трудно реализуемых в клинических исследованиях: длительность непрерывной терапии (10 лет и более), возраст включенных в эксперимент животных, соответствующий пожилому возрасту человека, тщательная морфологическая и иммуногистохимическая (ИГХ) оценка морфофункциональных особенностей поджелудочной железы. В связи с этим было запланировано экспериментальное исследование по изучению влияния длительной терапии инкретиномиметиками на процессы пролиферации и апоптоза α - и β -клеток поджелудочной железы. Особенность исследования состоит еще в том, что в эксперимент включались только животные старше 1 года, что позволило в наибольшей степени достичь соответствия реальному возрасту продолжительности течения СД 2-го типа пациентов в клинике.

Цель исследования — оценка влияния терапии инкретиномиметиками разной продолжительности на

морфологические и функциональные особенности α - и β -клеток поджелудочной железы крыс (12 мес) с сахарным диабетом 2-го типа.

Методика

Все эксперименты проведены в соответствии с «Руководством по уходу и использованию лабораторных животных» (Публикация национального института здоровья, США №85-23). Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» МЗ России.

В эксперимент включались белые крысы-самцы Wistar. До моделирования СД 2-го типа животные в течение 5 нед получали высокожировую диету с добавлением говяжьего сала (итоговая общая калорийность 450 ккал/100 г). По достижении животными возраста 12 мес моделировали стрептозотоцин-никотинамид-индуцированный СД 2-го типа. Стрептозотоцин вводили однократно интраперитонеально (65 мг/кг в 0,9% растворе хлорида натрия) с предварительным (за 15 мин до инъекции) введением никотинамида (интраперитонеально 230 мг/кг в 0,9% растворе хлорида натрия) [13]. Через 1 нед после моделирования диабета с помощью глюкозо-толерантного теста (ГТТ) диагностировали СД 2-го типа. ГТТ проводили натощак, через зонд животное получало 40% раствор глюкозы (3 мг/кг). Уровень глюкозы крови измеряли (глюкометр «One touche ultra» (Johnson and Johnson, USA) натощак, через 1 и 2 ч после сахарной нагрузки. Критерием для включения в эксперимент был уровень глюкозы крови более 9 ммоль/л через 2 ч для всех групп, кроме группы контроля. В течение 4 нед после индукции диабета крысы содержались без терапии, после чего получали препараты согласно сформированным 4 экспериментальным группам (рис. 1).

В эксперимент было включено 60 крыс. Каждая группа включала 15 животных: контроль (1-я группа интактных животных), группа СД-2-го типа (2-я группа с СД без терапии), 3-я группа (аГПП1) в качестве терапии получала лираглутид (агонист рецепторов глюкагоноподобного пептида-1), 0,2 мкг/кг и 4-я группа (идПП4) получала вилдаглиптин (ингибитор дипептидилпептидазы-4), 1,5 мг/кг.

Эксперимент продолжался 24 нед. Материал для иммуногистохимического исследования структуры поджелудочной железы брали на 4-, 10- и 24-й нед эксперимента по 5 животных из каждой группы. Взятие материала поджелудочной железы проводили под наркозом (хлоралгидрат, 430 мг/кг). Макроскопически

оценивали состояние поджелудочной железы, фиксировали наличие/отсутствие видимых структурных изменений.

На базе морфологической лаборатории готовили гистологические микропрепараты. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином для общей характеристики микроструктуры ткани. В дальнейшем проводили ИГХ-анализ с применением антител (все АТ Abscam) к глюкагону (1:10 000) и инсулину (1:1000)

с использованием прибора для ИГХ «Thermo Autostainer 720». После ИГХ-процедуры ядра докрасивали гематоксилином (аппарат для окраски LeicaST5020). Фотографии микропрепаратов делали с помощью аппаратуры Leica (рис. 2).

Морфометрический анализ проводили с использованием микрофотографий. Определяли объёмную долю эндокриноцитов α и β по отношению к площади островков.

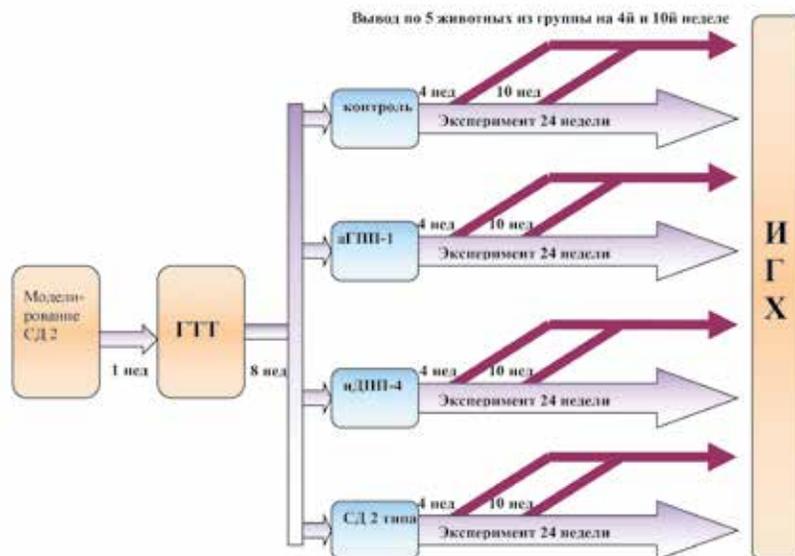
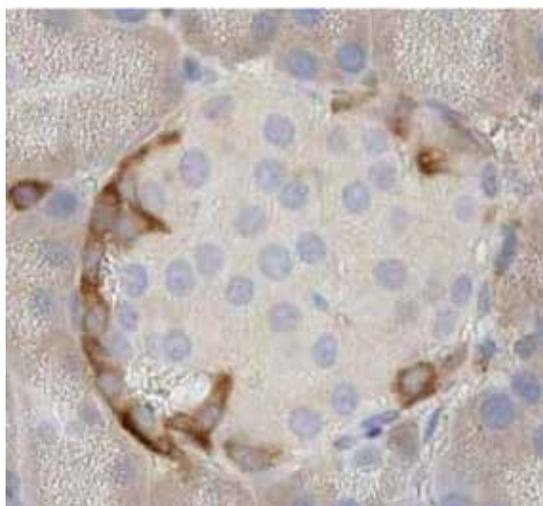
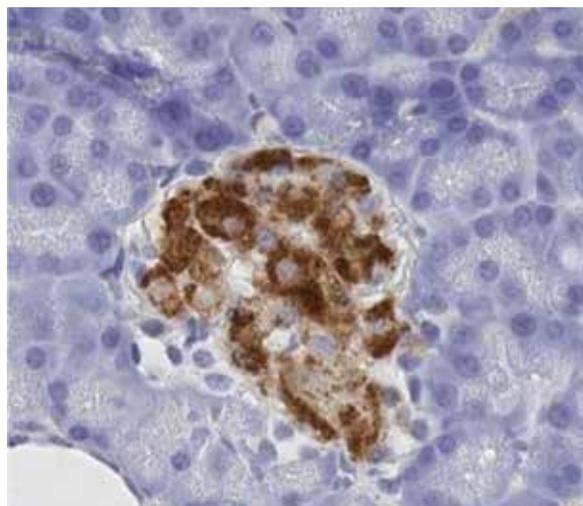


Рис. 1. Дизайн эксперимента.

Контроль-группа интактных животных, СД 2 - группа животных с СД 2-го типа без терапии, аГПП-1 – группа, получающая аГПП1 (лираглутид) в дозе 0,2мкг/кг, идПП-4 – группа, получающая идПП4 (вилдаглиптин) в дозе 1,5 мг/кг.



а



б

Рис. 2. Микрофотографии, 24 нед.

а – ИГХ с антителами к глюкагону, б – ИГХ с антителами к инсулину.

Статистический анализ параметров при нормальном распределении проводили с помощью *t*-критерия Стьюдента с вероятностью ошибки $p < 0,05$.

Результаты

При визуальной оценке ни в одном из препаратов поджелудочной железы макроскопических изменений выявлено не было.

В группе животных с СД 2-го типа без лечения количество как β -, так и α - клеток было статистически значимо снижено по сравнению с контролем. Через 4 нед количество β -клеток в группах терапии как лираглутидом, так и вилдаглиптином оставалось сниженным по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Однако количество α -клеток в группе аГПП-1 было сопоставимым с показателями группы контроля.

Статистически значимые различия по сравнению с группой контроля перестали выявляться по количеству как β -клеток, так и α -клеток для группы вилдаглиптина с 10-й нед, а для группы лираглутида по количеству β -клеток также с 10-й нед исследования (табл.).

На рис. 3 представлена динамика изменения α - и β - клеток (а, б) на протяжении всего эксперимента. У животных с диабетом без терапии количество α -клеток было значимо снижено на ранних сроках наблюдения (до 10 нед) по сравнению с контролем, что, вероятно, вызвано цитотоксическим действием стрептозотоцина. При длительном наблюдении (24 нед) количество α -клеток резко возрастало и значимо превышало показатели как группы контроля, так и групп животных, получавших инкретиномиметики. Это в определенной степени подтверждает валидность использованной модели СД 2-го типа, так как аналогичная степень гиперплазии α -клеток обнаруживается и у пациентов с диабетом 2-го типа. Масса β -клеток

в поджелудочной железе животных при диабете без лечения была статистически значимо ниже как показателя контроля, так и животных, получавших терапию инкретиномиметиками (см. рис. 3, б). Как показано на рис. 3, а по мере увеличения длительности терапии инкретиномиметиками количество α -клеток в островках Лангерганса постепенно возвращается к норме интактного контроля.

У животных с диабетом без терапии количество α -клеток на протяжении 10 нед было снижено по сравнению с контролем. К 24-й неделе количество α -клеток резко возрастало и статистически значимо отличалось как от показателей контрольной группы, так и групп, получавших терапию инкретиномиметиками.

Обсуждение

Изучение характера изменений эндокриноцитов поджелудочной железы при сахарном диабете проводится уже многие годы. Между тем эти исследования в основном были сосредоточены на изучении изменений β -клеток поджелудочной железы. Исследования, изучавшие состояние α -клеток поджелудочной железы, носят единичный характер [8]. Установлено, что при естественном течении СД 2-го типа имеет место гиперплазия и гиперфункция α -клеток с развитием гипергликемии [14, 15]. Один из возможных механизмов гиперплазии хроническое воспаление, которое характеризуется гиперпродукцией провоспалительных цитокинов, включая интерлейкин-6 (ИЛ-6), который, согласно ряду исследований, является ключевым регулятором численности и функции α -клеток [16, 17]. В нашей работе не изучалась экспрессия ИЛ-6 в клетках поджелудочной железы, но использованная модель с высокожировой нагрузкой, которая, согласно данным литературы, стимулирует продукцию ИЛ-6, позволяет предположить у

Таблица

Объемная доля эндокриноцитов (в %) по отношению к площади островка поджелудочной железы

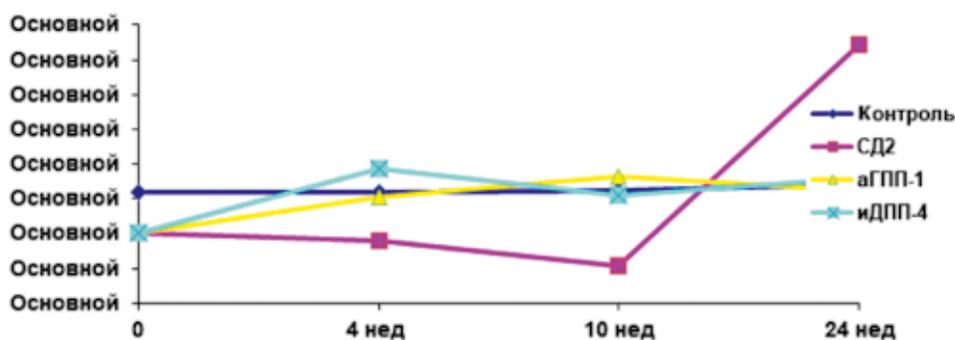
Группа животных	Тип клеток	Длительность наблюдения, нед		
		4	10	24
1-я (контроль), n=15	α	15,9±0,3	16,3±1,1	17,1±1,7
	β	69,0±0,7	68,9±2,5	63,6±5,3
2-я, n=15	α	9,0±0,1*	5,4±0,4*	37,1±1,6*
	β	39,9±0,9*	51,6±1,5*	41,2±1,0*
3-я, n=15	α	19,0±0,1*+	15,5±0,5 +	18±1,8 +
	β	50,4±0,4*+	59,3±0,9 +	57,0±0,8 +
4-я, n=15	α	15,2±0,4+o	18,2±0,9 +o	16,3±1,5 +
	β	60,7±0,5*+o	66±0,8 +o	68,5±3,8 +

Примечание. * $p < 0,05$ при сравнении с 1-й группой контроля; + $p < 0,05$ при сравнении со 2-й группой (СД 2-го типа без лечения); o $p < 0,05$ при сравнении с 3-й группой (СД 2-го типа, получавшая вилдаглиптин).

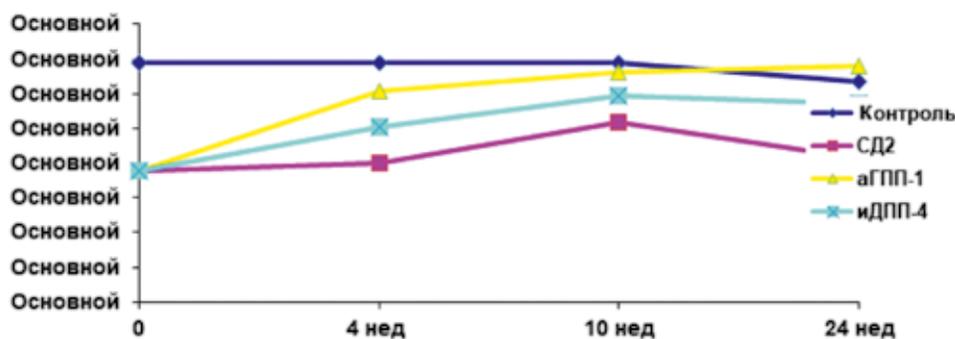
животных с СД 2-го типа повышенную продукцию ИЛ-6 [16]. Имеются сведения, демонстрирующие, что снижение уровня интерлейкина-1 (ИЛ-1) и ИЛ-6 сопровождается улучшением функции β -клеток и, вероятно, α -клеток [13, 17, 18]. Согласно данным литературы, инкретиномиметики снижают выработку провоспалительных цитокинов [19, 20], таким образом, возможно, влияя на функцию и численность α - и β -клеток. Второй возможный механизм гиперплазии α -клеток – это нарушение паракринной регуляции в поджелудочной железе. Известно, что клетки поджелудочной железы (α , β и δ) находятся в паракринных взаимодействиях, регулируя число и функцию друг друга. В некоторых исследованиях выявлено, что активация β -клеток приводит к ингибированию активности α -клеток и это опосредованно через δ -клетки [21]. Кроме того, согласно данным литературы, при гибели β -клеток существенное снижение уровней антител к глутаматдекарбоксилазе (serum anti-glutamic acid decarboxylase antibody (GAD)), гамма-ами-

нобутановой кислоты (ГАМК) и инсулина сопровождается активацией рецепторов рапамицина (phosphorylated mammalian target of rapamycin (p-mTOR)) и увеличением массы α -клеток [29].

Механизмы влияния инкретинов и инкретиномиметиков на пролиферацию и апоптоз α - и β -клеток продолжают активно изучаться. В отношении эффектов нативного глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП1), многочисленные исследования свидетельствуют, что он увеличивает массу β -клеток, стимулирует пролиферацию и индукцию неогенеза островков [23]. В отношении влияния лираглутида (ГПП1) на α -клетки поджелудочной железы установлено, что ГПП1 значительно снижает секрецию глюкагона α -клетками и одновременно увеличивает секрецию соматостатина. Тот факт, что блокада рецепторов соматостатина увеличивает секрецию глюкагона, полностью устраняя ингибирующий эффект инкретиномиметика ГПП1, свидетельствует о том, что влияние ГПП1 на α -клетки опосредуется со-



а



б

Рис. 3. Содержание α - и β -клеток островков поджелудочной железы в зависимости от продолжительности эксперимента.

а – процент α -клеток островков поджелудочной железы в зависимости от продолжительности эксперимента; б – процент β -клеток островков поджелудочной железы в зависимости от продолжительности эксперимента. Точка 0 – количество α/β клеток островков поджелудочной железы после индукции диабета 2-го типа и до начала терапии.

матостатином [24]. аГПП1, включая лираглутид, также стимулируют пролиферацию β -клеток, увеличивая клеточную массу и неогенез островков, что было продемонстрировано у крыс разных возрастов и на разных моделях сахарного диабета [18, 25, 26]. Для вилдаглиптин (идПП4) были продемонстрированы те же эффекты. В отличие от аГПП1 идПП4 за счет блокады активности ДПП4 сохраняют как ГПП1, так и гастроинтестинальный полипептид (ГИП), но активация рецепторов ГПП1 значительно менее выражена, чем на аГПП1. Согласно данным литературы, ГИП оказывает протекторное действие на β -клетки и способствует нормализации функции α -клеток [27]. Наше исследование показало, что число α -клеток у животных с СД 2-го типа, получавших инкретиномиметики, нормализовалось уже на ранних сроках наблюдения (4 нед). Количество β -клеток также становилось сопоставимым с группой контроля, но при длительности терапии 10 нед для аГПП1 или 24 нед для идПП4.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют в пользу того, что терапия инкретиномиметиками способствует нормализации пула как α -, так и β -клеток поджелудочной железы. Тот факт, что нормализация количества α -клеток происходила в равные сроки на аГПП1 (лираглутид) и идПП4 (вилдаглиптин), но нормализация количества β -клеток на аГПП1 произошла уже к 10-й неделе наблюдения, а на идПП4 – только к 24-й неделе, может свидетельствовать о большем вкладе ГПП1 в нормализацию количества β -клеток. С учетом вышеописанных механизмов действия инкретинов можно предполагать, что нормализация количества β -клеток происходит в основном за счет повышения их пролиферации под воздействием ГПП1.

Работ, изучавших влияние различной длительности терапии инкретиномиметиками на количество α -клеток в эксперименте у возрастных животных, в доступной литературе мы не встретили. В исследовании A.S. Akarte у крыс с СД 2-го типа при терапии вилдаглиптином в течение 8 нед отмечалось увеличение β -клеток, но не α -клеток. В нашем исследовании, напротив, отмечалась более ранняя нормализация количества α -клеток (к 4-й неделе). Это может быть связано с тем, что мы изучали динамику клеточного состава у возрастных животных. Имеющиеся к настоящему времени исследования продемонстрировали увеличение числа α -клеток с развитием их гиперплазии в пожилом возрасте [28]. Помимо вышеупомянутых исследований, *in vitro* была продемонстрирована способность вилдаглиптина инициировать дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток (adipose tissue-derived mesenchymal stem cells, ASCs), полученных из жи-

ровой ткани в инсулинпродуцирующие клетки (insulin-producing cells (IPCs) [29]. Этот механизм тоже может быть вовлечен в нормализацию количества β -клеток на идПП4. На данном этапе работы дизайн выполненного фрагмента не позволяет точно установить механизм нормализации числа α -клеток. Для его уточнения необходимы дальнейшие исследования с оценкой уровня ИЛ-6, экспрессии его рецептора в эндокриноцитах поджелудочной железы, экспрессии рецепторов ГПП1 и ГИП в эндокриноцитах, а также с оценкой пула δ -клеток (антитела к соматостатину). Ограничением данного исследования является невозможность в условиях эксперимента воспроизвести все факторы, влияющие на процессы пролиферации и апоптоза эндокриноцитов поджелудочной железы при СД 2-го типа в клинике. Между тем использованная модель СД 2-го типа отражает наиболее значимые факторы, в частности высокожировая диета обеспечивает липотоксическое воздействие, а включение животных в возрасте 12 мес позволяет оценить состояние эндокриноцитов в возрасте, наиболее типичном для развития СД 2-го типа. Полученные данные могут быть экстраполированы в клинические исследования с оценкой функционального состояния α -клеток в процессе долговременной терапии инкретиномиметиками.

Литература

(п.п. 2-4; 6-12; 14-27; 29 см. References)

1. Дедов И.И. Russian Association of Endocrinologists expert consensus document on initiation and intensification of antihyperglycaemic therapy in type 2 diabetes mellitus. *Сахарный диабет*. 2011; 14(4): 6-17.
5. Снигур Г.Л. Особенности повреждения и регенерации бета-клеток панкреатических островков при экспериментальном сахарном диабете. *Сборник научных трудов VIII Всероссийской конференции по патологии клетки*. Москва; 2010; 232-3.
13. Байрашева В.К., Бабенко А.Ю., Дмитриев Ю.В. Новая модель сахарного диабета 2 типа и диабетической нефропатии у крыс. *Трансляционная медицина*. 2016; 3(4): 44-55.
28. Волков И.П. Функциональная морфология α -клеток островков Лангерганса поджелудочной железы в возрастном аспекте. *Инновации в науке: сборник статей по материалам XXXIX международной научно-практической конференции*. Новосибирск. Сибак. 2014; 11(36).

References

1. Dedov I.I. The Russian Association of Endocrinologists Expert on Consensus document on initiation and intensification of diabetes mellitus. *Sacharniy diabet*. 2011; 14(4): 6-17. (In Russian)
2. F.Brereton M., Rohm M., Shimomura K., Holland C., Tornovsky-Babeay S., Dadon D. et al. Hyperglycaemia induces metabolic dysfunction and glycogen accumulation in pancreatic b-cells. *Nat Commun*. 2016; 24(7): 13496.

3. Maedler K., Carr R., Bosco D., A. Zuellig R., Berney T., Donath M. Sulfonylurea Induced β -Cell Apoptosis in Cultured Human Islets. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2004; 90(1): 501–6.
4. Butler A., Janson J., Bonner-Weir S. β -Cell deficit and increased β -Cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2003; 52: 102–10.
5. Snigur G.L. *Features of damage and regeneration of beta cells of pancreatic islets in experimental diabetes mellitus. [Osobennosti povregdeniya i regeneratsii beta-kletok pankreaticheskikh ostrovkov pri eksperimentalnom sakharnom diabete. Sbornic nauchnykh trudov VIII Vserossiyskoy konferentsii po patologii kletki]*. Moscow. 2010; 232–3. (In Russian)
6. Pick A., Clark J., Kubstrup C., Levisetti M., Pugh W., Bonner-Weir S., Polonsky K.S. Role of apoptosis in failure of β -cell mass compensation for insulin resistance and β -cell defects in the male Zucker diabetic fatty rat. *Diabetes*. 1998; 47(3): 358–64.
7. Coon P.J., Rogus E.M., Drinkwater D., Muller D.C., Goldberg A.P. Role of body fat distribution in the decline in insulin sensitivity and glucose tolerance with age. *J Clin Endocrinol Metab*. 1992; 75: 1125–32.
8. Kim J., Kang S., Seo B. Anti-diabetic activity of SMK001, a polyherbal formula in streptozotocin induced diabetic rats: therapeutic study. *Biol. Pharm. Bull.* 2006; 29(3): 477–82.
9. Xu G., Staffers D.A., Habener J.F., Bonner-Weir S. Exendin-4 stimulates both β -cell replication and neogenesis, resulting in increased β -cell mass and improved glucose tolerance in diabetic rats. *Diabetes*. 1999; 48: 2270–6.
10. Farilla L., Bulotta A., Hirdberg B., Li Calzi S., Khoury N., Noshmeh H., et al. Glucagon-Like Peptide 1 Inhibits Cell Apoptosis and Improves Glucose Responsiveness of Freshly Isolated Human. *Islets Endocrinology*. 2003; 144(12): 5149–58.
11. Perfetti R., Zhoy J., Doyle M., Egan J. Glucagon-Like Peptide-1 Induces Cell Proliferation and Pancreatic-Duodenum Homeobox-1 Expression and Increases Endocrine Cell Mass in the Pancreas of Old, Glucose-Intolerant Rats. *Endocrinology*. 2000; 141: 4600–5.
12. Butler A. Marked Expansion of Exocrine and Endocrine Pancreas With Incretin Therapy in Humans With Increased Exocrine Pancreas Dysplasia and the Potential for Glucagon-Producing Neuroendocrine Tumors. *Diabetes*. 2016; 62: 2595–604.
13. Bayrasheva V.K., Babenko A.Yu., Dmitriev Yu.V. A new model of type 2 diabetes and diabetic nephropathy in rats. *Translyatsionnaya meditsina*. 2016; 3(4): 44–55. (In Russian)
14. Yoon K.H., Ko S.H., Cho J.H., Lee J.M., Ahn Y.B., Song K.H. et al. Selective β -cell loss and α -cell expansion in patients with type 2 diabetes mellitus in Korea. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88: 2300–8.
15. Gromada J., Franklin I., Wollheim C.B. α -cells of the endocrine pancreas: 35 Years of research but the enigma remains. *Endocr Rev*. 2007; 28: 84–116.
16. Spranger J., Haastert B., Müller-Scholze S., Koenig W., Thorand B., Holle R. et al. Association of systemic chemokine concentrations with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes: Results from the Cooperative Health Research in the Region of Augsburg Survey S4 (KO-RA S4). *Diabetes*. 2003; 54: 11–7.
17. Ellingsgaard H., Ehses J.A., Hammar E.B. Interleukin-6 regulates pancreatic α -cell mass expansion. *PNAS*. 2008; 105(35): 13163–8.
18. Tourrel C., Bailbe D., Meile M.-J., Kergoat M., Portha B. Glucagon-like peptide-1 and exendin-4 stimulate β -cell neogenesis in streptozotocin-treated newborn rats resulting in persistently improved glucose homeostasis at adult age. *Diabetes*. 2001; 50: 1562–70.
19. Courreges J.P., Vilsboll T., Zdravkovic M., Le-Thi T., Krarup T., Schmitz O., et al. Beneficial effects of once-daily liraglutide, a human glucagon-like peptide-1 analogue, on cardiovascular risk biomarkers in patients with Type 2 diabetes. *Diabet Med*. 2008; 25(9): 1129–31.
20. Akarte A.S., Srinivasan B.P., Gandhi S. Vildagliptin selectively ameliorates GLP-1, GLUT4, SREBP-1c mRNA levels and stimulates β -Cell proliferation resulting in improved glucose homeostasis in rats with streptozotocin-induced diabetes. *J. Diabetes and Its Complications*. 2012; 26: 266–74.
21. Briant J.B., Reinbothe T.M., Spiliotis I., Miranda C., Rodriguez B., Rorsman P. δ -cells and β -cells are electrically coupled and regulate α -cell activity via somatostatin. *The Journal of Physiology*. 2018; 596(2): 197–215.
22. Feng A.L., Yun-Yan Xiang., Le Gui., Kaltsidis G., Feng Q., Wei-Yang Lu. Paracrine GABA and insulin regulate pancreatic α cell proliferation in a mouse model of type 1 diabetes. *Diabetologia*. 2017; 60: 1033–42.
23. Drucker D.J. Glucagon-Like Peptides: Regulators of Cell Proliferation, Differentiation, and Apoptosis. *Molecular Endocrinology*. 2003; 17(2): 161–71.
24. Orggaard A., Holst J.J. The role of somatostatin in GLP-1-induced inhibition of glucagon secretion in mice. *Diabetologia*. 2017; 60(9): 1731–9.
25. Perfetti R., Zhou J., Doyle M.E., Egan J.M. Glucagon like peptide-1 induces cell proliferation and pancreatic duodenum homeobox-1 expression and increases endocrine cell mass in the pancreas of old, glucose intolerant rats. *Endocrinology*. 2000; 141: 4600–5.
26. Tourrel C., Bailbe D., Lacorne M., Meile M.J., Kergoat M., Portha B. Persistent improvement of type 2 diabetes in the Goto-Kakizaki rat model by expansion of the β -cell mass during the prediabetic period with glucagon-like peptide-1 or exendin-4. *Diabetes*. 2002; 51: 1443–52.
27. Yanagimachi T., Fujita Y., Takeda Y., Honjo J., Atageldiyeva K.K., Takiyama Y. et al. Pancreatic glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) (1–30) expression is upregulated in diabetes and PEGylated GIP(1–30) can suppress the progression of low-dose-STZ-induced hyperglycaemia in mice. *Diabetologia*. 2016; 59(3): 533–41.
28. Volkov V. P. Functional morphology of A-cells of the islets of Langerhans of the pancreas in the age aspect. *Innovatsii v nauke: sbornik statey po materialam XXXIX mezhdunarodnoy nauchno-practicheskoy konferentsii. Novosibirsk. Sibak*. 2014; 11(36). (In Russian)
29. Karimi S., Ai J., Khorsandi L., Nejad D.B., Saki G. Vildagliptin Enhances Differentiation of Insulin Producing Cells from Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Cell Journal (Yakhteh)*. 2019; 4: 477–82.

Сведения об авторах:

Тучина Таисия Павловна, аспирант, мл. науч. сотр. НИЛ диабетологии Института эндокринологии ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова», e-mail: tayka_91@mail.ru;

Рогоза Ольга Владимировна, биолог патологоанатомической лаб. ЛРК-1 ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова»;

Скотникова Ксения Петровна, ординатор по специальности эндокринология ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова»;
Лебедев Денис Андреевич, аспирант, мл. науч. сотр. НИЛ диабетологии Института эндокринологии ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова»;

Грозов Роман Викторович, канд. мед. наук, зав. отд-нием патоморфологии ЛРК-1 ФГБУ «НМИЦ им.В.А. Алмазова»;

Бабенко Алина Юрьевна, доктор мед. наук, гл. науч. сотр. НИЛ диабетологии Института Эндокринологи ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова»;

Галагудза Михаил Михайлович, член-корр. РАН, доктор мед. наук, директор Института экспериментальной медицины, гл. науч. сотр. НИО микроциркуляции и метаболизма миокарда, зав. каф. патологии ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова».