

УДК 616.379-008.64: 612.34: 57.084.1

Упрощенная стрептозотоциновая модель сахарного диабета у мышей Nude

И. Г. Гвазава^{1,3}, А. В. Косых^{1,3}, О. С. Роговая^{1,3}, О. П. Попова², К. А. Собянин³, А. К. Хрущев³, А. В. Тимофеев^{3*}, Е. А. Воротеляк^{1,3}

¹Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, 119334 Россия

²Национальный медицинский исследовательский центр «Лечебно-реабилитационный центр» Минздрава России, Москва, 125367 Россия

³Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, 117997 Россия

*E-mail: alvaltim@gmail.com

Поступила в редакцию 14.09.2020

Принята к печати 02.10.2020

DOI: 10.32607/actanaturae.11202

РЕФЕРАТ В доклинических исследованиях биомедицинских клеточных продуктов, предназначенных для трансплантационной терапии сахарного диабета типа 1, обязательно используют различные модели, в частности, стрептозотоциновые модели диабета у мышей. Эти модели должны быть фенотипически и патогенетически адекватными, т.е. должны имитировать клинические и метаболические проявления сахарного диабета типа 1 и быть сходными с этим заболеванием по механизмам патогенеза. Кроме того, поскольку биомедицинские клеточные продукты содержат клетки человека, моделировать диабет приходится на животных с иммунодефицитом. Нами описана максимально упрощенная стрептозотоциновая модель диабета у мышей Nude. Диабет индуцировали у 31 самца однократным внутрибрюшинным введением стрептозотоцина в 0.9% NaCl в дозе 150 мг/кг веса. Контрольным мышам (14 особей) вводили 0.9% NaCl. На протяжении 50 дней после введения стрептозотоцина периодически измеряли концентрацию глюкозы в плазме ($K_{гп}$) не натощак. Ни одна мышь не погибла на протяжении всего срока наблюдения. Через 15 дней после введения стрептозотоцина у 22 из 31 (71%) мышей развился стабильный диабет (критерии стабильного диабета: $K_{гп} \geq 15$ ммоль/л при всех измерениях и отсутствие ремиссии болезни). У мышей со стабильным диабетом средняя $K_{гп}$ за 35 дней равнялась 25.7 ммоль/л. На 50-й день средняя концентрация инсулина в плазме, среднее содержание инсулина в поджелудочной железе и среднее количество β -клеток в островках Лангерганса у мышей со стабильным диабетом были соответственно в 2.6, 8.4 и 50 раз меньше, чем у контрольных животных. Мы считаем, что наша модель диабета у мышей Nude фенотипически и патогенетически адекватна и может использоваться в доклинических испытаниях антидиабетических биомедицинских клеточных продуктов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА модель, мыши Nude, сахарный диабет, стрептозотоцин.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ БМКП – биомедицинский клеточный продукт; ВБТТГ – внутрибрюшинный тест на толерантность к глюкозе; $K_{гп}$ – концентрация глюкозы в плазме; ПЖ – поджелудочная железа; СД1 – сахарный диабет типа 1; СТЗ – стрептозотоцин.

ВВЕДЕНИЕ

За два последних десятилетия достигнуты немалые успехи в создании биомедицинских клеточных продуктов (БМКП) для трансплантационной терапии сахарного диабета типа 1 (СД1) [1]. Доклинические испытания таких БМКП обязательно включают оценку их антидиабетического (сахаропонижающего) эффекта на моделях диабета у животных. Наиболее популярны стрептозотоциновые модели диабета у мышей, что объясняется простотой, невысокой стоимостью и,

главное, патогенетической и фенотипической адекватностью этих моделей [2, 3]. Под патогенетической адекватностью понимается сходство механизмов развития стрептозотоцинового диабета у мышей и СД1 у человека: в обоих случаях болезнь обусловлена разрушением β -клеток и, как следствие, дефицитом инсулина. Под фенотипической адекватностью понимается сходство проявлений стрептозотоцинового диабета и СД1: у мышей развивается гипергликемия, резко уменьшается количество β -клеток в островках

Лангерганса, наблюдаются полиурия, полидипсия и потеря веса, падает жизнеспособность.

Есть два основных метода индукции стрептозотоцинового диабета у мышей: многократное введение низких доз стрептозотоцина (СТЗ) (40–60 мг/кг веса животного) на протяжении 4–5 дней либо однократное введение средних или высоких доз (100–250 мг/кг); первый метод несколько эффективней, но требует больших трудозатрат [2]. СТЗ вводят внутрибрюшинно или внутривенно – в одну из хвостовых вен либо (самцам) в вену полового члена. При внутрибрюшинном введении не исключены случайные проколы кишечника, что приводит к смерти животных, а возможное попадание СТЗ не в брюшинную полость, а в подкожную ткань ослабляет диабетогенное действие СТЗ [4]. Тем не менее внутрибрюшинное введение СТЗ, в силу своей простоты, применяется гораздо чаще, чем внутривенное.

Структурно и конформационно сходный с глюкозой СТЗ проникает в β -клетки мышей с помощью глюкозного транспортера GLUT2. Поскольку СТЗ конкурирует с глюкозой за захват этим транспортером, для повышения эффективности индукции диабета рекомендуется перед введением СТЗ не кормить животных в течение как минимум 4 ч [5]. Однако Chaudhry и соавт. в экспериментах на мышках C57BL/6 и NOD/SCID показали, что эффективность индукции диабета одинакова при введении СТЗ натощак и не натощак [6]. Введение СТЗ не натощак более предпочтительно, так как при этом исключается стресс, обусловленный голоданием.

Традиционно считается, что СТЗ быстро теряет активность в растворах с нейтральным pH, поэтому во многих протоколах индукции стрептозотоцинового диабета рекомендуется растворять СТЗ в цитратном буфере с pH 4–4.5 [5, 7]. Даже небольшой объем цитратного буфера с такими низкими значениями pH может вызвать раздражение брюшины и существенный сдвиг кислотно-щелочного равновесия. Поэтому многие исследователи используют для растворения СТЗ нейтральные среды – фосфатный солевой буфер, сбалансированный солевой раствор Хэнка, 0.9% NaCl [4, 6, 8].

Необходимо отметить, что после введения больших доз СТЗ (> 200 мг/кг) у мышей быстро развиваются дегидратация (обусловленная гипергликемией и общим токсическим действием СТЗ) и тяжелая гипогликемия (обусловленная массивным высвобождением инсулина из разрушающихся β -клеток). Для коррекции водно-электролитных нарушений животным подкожно вводят солевые растворы, а для купирования гипогликемии дают раствор сахарозы [5, 9]. Эти меры не нужны при использовании меньших доз СТЗ.

Изучение антидиабетического действия БМКП на мышках с диабетом сопряжено с рядом трудностей:

- для проявления эффекта БМКП обычно требуется довольно большое время: от недель до месяцев. На протяжении этих сроков у мышей должен сохраняться стабильный диабет, т.е. частота спонтанной ремиссии болезни должна быть как можно меньше;

- уровень глюкозы в крови у мышей с диабетом должен быть намного выше, чем у интактных животных. Только в этом случае можно с уверенностью выявить эффект БМКП;

- для исследования влияния разных доз БМКП и/или разных способов их трансплантации требуется много групп животных со стабильным диабетом, причем численность каждой группы должна обеспечивать статистическую надежность результатов. Поэтому эффективность индукции диабета (заболеваемость) должна быть максимальной, а смертность мышак с диабетом – минимальной;

- увеличение дозы СТЗ для повышения эффективности индукции диабета ведет к росту смертности мышак. Смертность удается уменьшить с помощью постоянной терапии небольшими дозами инсулина [9, 10], однако это усложняет работу с животными и затрудняет оценку эффектов БМКП;

- любой БМКП содержит клетки человека, ксеногенные по отношению к мышам-реципиентам. Поэтому в исследованиях антидиабетических БМКП приходится использовать животных, толерантных к ксеноантигенам, в частности мышак Nude. Данные о пригодности мышак Nude для моделирования диабета с помощью СТЗ довольно противоречивы. Некоторые исследователи считают, что эти мышак, в силу их генетической уязвимости, особенно уязвимы для токсического действия СТЗ [7]. Другие доказывают, что мышак Nude вполне подходят для создания стрептозотоциновых моделей диабета, но все же прибегают к инсулинотерапии для повышения выживаемости животных [9].

Целью нашей работы был поиск максимально простой и надежной модели диабета у мышак Nude. Основная проблема, которую требовалось разрешить перед началом работы, заключалась в выборе дозы СТЗ. Анализ опубликованных данных показал, что у мышак Nude из разных питомников стабильный диабет удавалось индуцировать путем однократного введения СТЗ в дозах от 160 до 240 мг/кг, однако при использовании таких доз наблюдали значительную смертность животных: от 7 до 100% на протяжении 30 дней после введения СТЗ [4, 9, 11, 12]. В связи с этим было решено использовать меньшую дозу СТЗ. В предварительных экспериментах на мышках C57BL/6 мы установили, что у этих животных СТЗ в дозе 150 мг/кг обеспечивает приемлемую заболе-

ваемость диабетом и почти стопроцентную выживаемость (неопубликованные данные). Именно такую дозу мы применили для индукции диабета у мышей Nude.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Животные

Использовали самцов мышей Nude Crl:NU(NCr)-Foxn1^{nu}; возраст 15–18 недель, средний вес 31.5 ± 3.3 г; питомник Charles River (Германия). Все работы с мышами выполняли в виварии барьерного типа. Животные получали стерилизованные корм и воду *ad libitum* и содержались при температуре 20–25°C и фоторежиме «12 ч света : 12 ч темноты». Работы проводили с разрешения Комиссии по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных РНИМУ им. Н.И. Пирогова от 27.03.2019 в соответствии с европейской Директивой по охране лабораторных животных 2010/63/EU.

Метод индукции диабета

Животных разделили на две группы – опытную (D, $n = 31$) и контрольную (C, $n = 14$). У мышей группы D индуцировали диабет однократным внутрибрюшинным введением СТЗ (Sigma S0130, США) в дозе 150 мг/кг; за 4 ч до введения мышей лишали корма. СТЗ растворяли в холодном 0.9% NaCl непосредственно перед введением, объем инъекции составлял 450–550 мкл. Мышам группы C вводили 0.9% NaCl.

Методы оценки диабетогенного действия СТЗ

У всех животных определяли $K_{ггг}$ не натощак до введения СТЗ (в нулевой день), на 8-й, 10-й дни и далее каждые 5 дней вплоть до 50-го дня после введения СТЗ, между 13:00 и 15:00. Для измерения $K_{ггг}$ использовали глюкометр Contour TS и соответствующие тест-полоски (Bayer, Швейцария; регистрационные удостоверения Росздравнадзора 2007/00570 и 2008/01121). Работоспособность глюкометра и тест-полосок периодически проверяли с помощью контрольных растворов Contour с низкой, нормальной и высокой концентрацией глюкозы. Кровь для измерений $K_{ггг}$ брали из надразов кончика хвоста. При $K_{ггг} > 33.3$ ммоль/л на дисплее глюкометра отображался символ High. В таких случаях $K_{ггг}$ считали равной 33.3 ммоль/л.

Диагноз диабета устанавливали при $K_{ггг} \geq 15$ ммоль/л при двух последовательных измерениях (например, на 8-й и 10-й дни). Диабет считали стабильным, если $K_{ггг} \geq 15$ ммоль/л регистрировалась при всех измерениях с 15-го по 50-й день наблюдения. Ремиссию диабета констатировали, если хотя бы

при одном измерении в период с 40-го по 50-й дни наблюдения $K_{ггг}$ была меньше 15 ммоль/л.

На 50-й день у мышей группы D со стабильным диабетом и у мышей группы C провели внутрибрюшинный тест на толерантность к глюкозе (ВБТТГ). Глюкозу вводили в дозе 2 г/кг, в 500 мкл 0.9% NaCl. На 0-й минуте (перед введением глюкозы), 15-й и 60-й минутах теста мышей наркотизировали изофлураном (Baxter Healthcare Corporation, США), проводили торакотомию и брали 200–400 мкл крови из камер сердца шприцем с иглой 25G в пробирку с гепаринатом лития (Microvette 500-LH, Sarstedt, Германия). В цельной крови измеряли $K_{ггг}$, затем пробу центрифугировали и измеряли уровень инсулина в плазме методом ИФА (тест-система 10-1249-01, Mercodia, Швеция). После взятия крови мышей умерщвляли цервикальной дислокацией.

Одновременно с взятием крови на 0-й минуте ВБТТГ у мышей забирали поджелудочную железу (ПЖ) и делили ее на три фрагмента. Первый фрагмент фиксировали в 10% нейтральном формалине (BioVitrum, Россия), заключали в парафин и готовили срезы толщиной 4–5 мкм. Срезы инкубировали с антителами мыши к инсулину 035K4884 (1 : 1000; Merck/Sigma, США). Инсулинпозитивные клетки выявляли с использованием набора реагентов EnVision FLEX (Agilent/Dako K8000, Дания). Второй фрагмент замораживали в жидком азоте и готовили криостатные срезы (4 мкм). Эти срезы последовательно инкубировали с антителами кролика к инсулину ab181547 (1 : 200; Abcam, Великобритания) и с антителами против иммуноглобулинов кролика (1 : 500; Invitrogen Alexa Fluor Plus 488, A32790; ThermoFisher Scientific, США) и покрывали защитной средой с флуоресцентным красителем ядер DAPI (Vectashield Antifade Mounting Medium, H-1200, Vector Laboratories, США). Иммуноморфологические исследования проводили под микроскопом Nikon Eclipse 80i (Nikon, Япония). Третий фрагмент ПЖ использовали для оценки содержания инсулина в ткани ПЖ. Этот фрагмент подсушивали, взвешивали, измельчали ножницами в минимальном объеме воды и обрабатывали ультразвуком. Из полученной суспензии экстрагировали инсулин смесью этанола и соляной кислоты [13]; концентрацию инсулина в экстракте измеряли методом ИФА и нормировали на вес фрагмента.

В начале и в конце срока наблюдения измеряли вес мышей всех групп.

Методы обработки и статистического анализа данных

Использовали программу MedCalc Statistical Software (version 19.4.0, MedCalc Software Ltd,

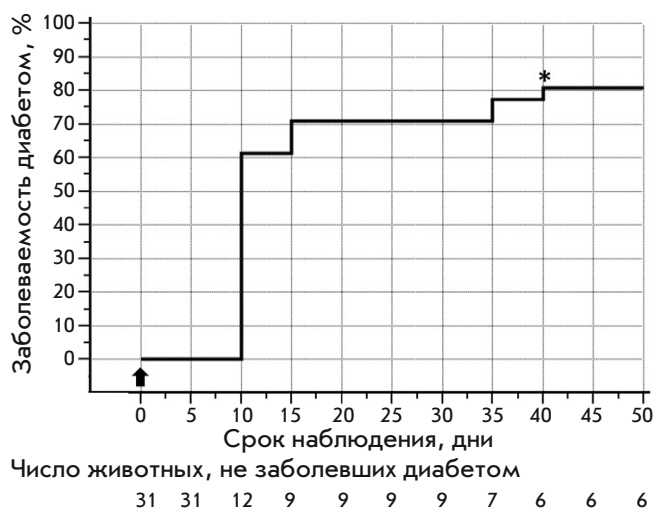


Рис. 1. Заболеваемость диабетом в группе D (анализ методом Каплана–Мейера). Стрелкой указан момент введения СТЗ. Звездочкой отмечено начало ремиссии у одного из животных

Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2020). Нормальность распределения данных проверяли методом Шапиро–Уилка. Межгрупповые различия при нормальном распределении данных и однородности их дисперсий анализировали с использованием двустороннего *t*-теста Стьюдента, при нормальном распределении данных и неоднородных дисперсиях – *t*-теста Уэлча. Во всех случаях уровень значимости различий выбирали равным 5% (α -ошибка 0.05). Для оценки заболеваемости применили графический метод Каплана–Мейера. Результаты измерений $K_{ГП}$, веса животных, уровней инсулина в плазме и содержания инсулина в ПЖ в тексте представлены в виде средних и стандартных отклонений с указанием 95-процентных доверительных интервалов для средних, на рисунках – в виде средних и стандартных отклонений.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Эффективность индукции диабета

За весь срок наблюдения диабет развился у 25 мышей группы D (рис. 1), однако стабильный диабет наблюдался только у 22 животных. Таким образом, эффективность индукции стабильного диабета составила 71%. У одной из мышей с поздним развитием диабета вскоре произошла ремиссия; ни у одной мыши со стабильным диабетом ремиссии не было. Медиана заболеваемости равнялась 10 (10–15) дням. Ни одно животное в группе D не погибло на протяжении 50 дней после введения СТЗ.

Наши данные об эффективности индукции диабета и выживаемости трудно сравнивать с результата-

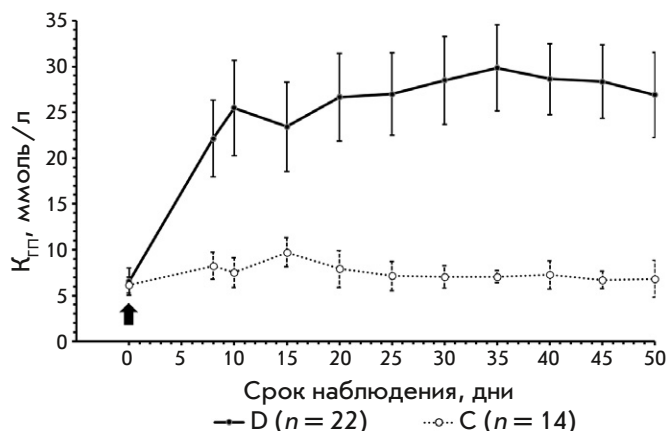


Рис. 2. Динамика $K_{ГП}$ у мышей группы D со стабильным диабетом и у мышей группы C на протяжении всего срока наблюдения. Стрелкой указан момент введения СТЗ

ми других исследований, поскольку в них использовали мышей Nude из иных питомников и применяли иные дозы СТЗ. Например, Deeds и соавт. проводили эксперименты на мышах из питомника Taconic Farms (США). После введения СТЗ в дозе 220 мг/кг у 92.5% животных уже на 5-й день развился тяжелый диабет, но при этом смертность к 20-му дню составила 20% [4]. В исследовании Graham и соавт. у мышей из питомника Charles River (США) стабильный диабет развился на 5-й день после введения 240 мг/кг СТЗ, а смертность к 30-му дню составила всего 8%. Однако такая низкая смертность была обусловлена тем, что животные на протяжении всего срока исследования получали инсулинотерапию [9]. В работе Zhao и соавт. эффективность индукции диабета у мышей из питомника Shanghai Slacass (Китай) на 8-й день после введения 200 мг/кг СТЗ составила 100%, но все мыши погибли на 30-й день [12]. Таким образом, наша «среднедозовая» модель диабета уступает «высокодозовым» моделям в эффективности индукции болезни, но выгодно отличается от них по такому важнейшему показателю, как выживаемость животных.

Динамика $K_{ГП}$

Гипергликемия в диабетическом диапазоне ($K_{ГП} \geq 15$ ммоль/л) наблюдалась у мышей группы D со стабильным диабетом, начиная с 8-го дня после введения СТЗ (рис. 2). Средние групповые $K_{ГП}$ за весь срок наблюдения у мышей группы D со стабильным диабетом и у мышей группы C составили 25.7 ± 3.5 (24.1–27.2) и 7.5 ± 0.3 (7.1–7.8) ммоль/л, а площади под кривыми $K_{ГП}$ за весь срок наблюдения составили 1258 ± 172 (1184–1332) и 365 ± 13 (349–382) ммоль/л \times 50 дней соответственно; в обоих случаях $P < 0.0001$;

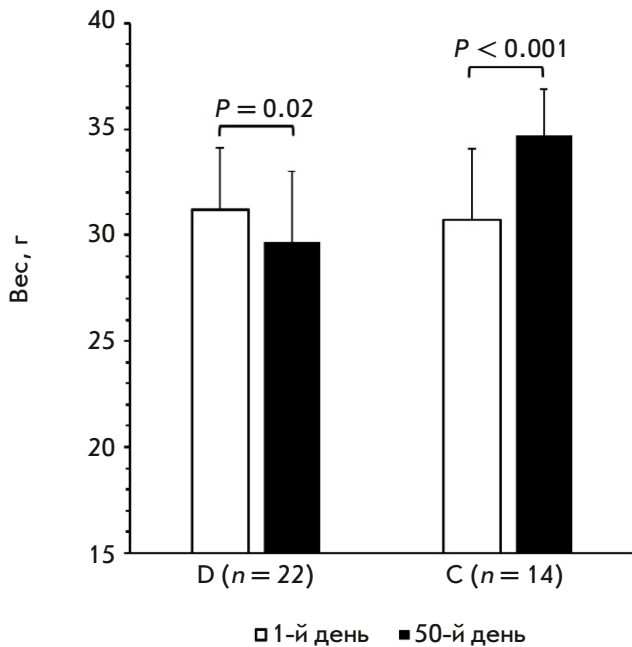


Рис. 3. Вес мышей группы D со стабильным диабетом и мышей группы C в начале и в конце срока наблюдения

t-тест Стьюдента. Наши результаты оценки $K_{гп}$ в группах D и C близки к результатам Deeds и соавт. [4]. В этом исследовании у мышей Nude средняя $K_{гп}$ не натощак в норме составляла 7.7 ± 1.1 ммоль/л, а через 7 дней после введения СТЗ повысилась до 28.6 ± 5.3 ммоль/л и сохранялась на этом уровне в течение 20 дней.

Изменения веса мышей

К концу срока наблюдения у мышей со стабильным диабетом вес снизился в среднем на $4.8 \pm 0.9\%$, тогда как в группе C вес увеличился на $13 \pm 5.8\%$ (рис. 3). Потеря веса у грызунов со стрептозотоциновым диабетом многократно описана и не нуждается в обсуждении.

Результаты внутрибрюшинного теста на толерантность к глюкозе (ВБТТГ)

Базальные уровни инсулина (на 0-й минуте ВБТТГ) у мышей группы D со стабильным диабетом были в 2.6 раза ниже, чем у мышей группы C, и составляли 67 ± 17 (49–85) и 174 ± 31 (141–207) пмоль/л соответственно; $P < 0.0001$; *t*-тест Стьюдента (рис. 4).

Площади под кривыми уровня глюкозы у мышей со стабильным диабетом и у интактных мышей составляли 1870 ± 108 (1757–1982) и 996 ± 160 (827–1163) ммоль/л \times 60 мин; площади под кривыми уровня инсулина составляли 3770 ± 849 (2879–



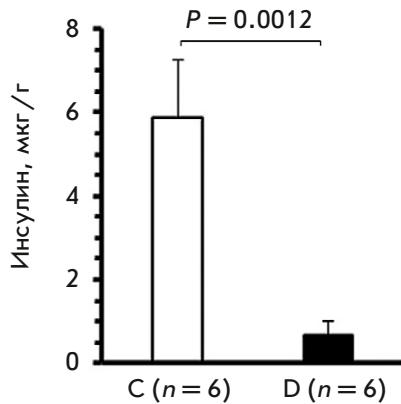
Рис. 4. Изменения $K_{гп}$ и уровней инсулина в плазме крови мышей группы D со стабильным диабетом и мышей группы C при ВБТТГ

4661) и 20008 ± 4052 (15755–24260) пмоль/л \times мин соответственно; в обоих случаях $P < 0.0001$; *t*-тест Стьюдента.

Наблюдавшаяся нами динамика $K_{гп}$ и уровней инсулина при ВБТТГ у интактных мышей Nude была сходна с динамикой этих показателей в аналогичных тестах, проводившихся как на мышах Nude, так и на мышах иных линий. Так, в работе Christoffersson и соавт. максимальная $K_{гп}$ у интактных мышей Nude, зарегистрированная через 15 мин после внутрибрюшинного введения глюкозы в дозе 2.5 мг/кг, составляла примерно 17 ммоль/л, а площадь под кривой уровня глюкозы равнялась примерно 800 ммоль/л \times 60 мин [14]. Nagrer и соавт. показали, что у интактных беспородных мышей из разных питомников уровни инсулина на 0-й минуте варьировали между 120 и 200 пмоль/л, а максимальные уровни инсулина регистрировались на 15-й минуте после введения глюкозы и варьировали между 165 и 280 пмоль/л [15].

В нашей работе у мышей со стабильным диабетом уровни инсулина в плазме были довольно существенными на всех сроках ВБТТГ. Следовательно, даже на фоне тяжелого диабета у мышей Nude сохраняется некоторое количество функционально активных β -клеток. Остаточная секреция инсулина наблюдается и у больных СД1 на протяжении нескольких лет после клинического проявления болезни [16]. Таким

Рис. 5. Содержание инсулина в ПЖ мышей группы D со стабильным диабетом и у мышей группы C на 50-й день наблюдения



образом, наличие инсулина в плазме мышей группы D со стабильным диабетом подтверждает фенотипическое сходство нашей модели диабета с СД1.

Содержание инсулина в поджелудочной железе

На 50-й день наблюдения среднее содержание инсулина в ПЖ мышей группы D со стабильным диабетом и у мышей группы C составляло соответственно 0.7 ± 0.3 (0.2–1.1) и 5.9 ± 0.6 (4.2–7.7) мкг/г веса железы, $P < 0.0001$, *t*-тест Уэлча (рис. 5).

Согласно опубликованным данным, содержание инсулина в ПЖ мыши колеблется в широких пределах: у здоровых животных – от 2.5 до 80 мкг/г, у животных со стрептозотоциновым диабетом – от 0.2 до 20 мкг/г веса ПЖ [3, 8, 12]. Такая вариабельность объясняется межлинейными, возрастными и половыми различиями животных, разной длительностью и тяжестью диабета, разнообразием материала (целая ПЖ, отдельные доли ПЖ) и методов экстракции инсулина. Но в конечном счете при оценке степени повреждения β -клеток важны не абсолютные количества инсулина в ПЖ больных и здоровых животных, а соотношение этих количеств. Например, в нашей работе содержание инсулина в ПЖ мышей со стабильным диабетом на 50-й день после введения СТЗ было в 8.9 раза меньше, чем у интактных животных, а в исследовании Zhao и соавт. на 25-й день после введения СТЗ в дозе 200 мг/кг содержание инсулина в ПЖ мышей с диабетом было в 18 раз меньше, чем у здоровых животных [12].

Патоморфологические исследования ПЖ

К 50-му дню наблюдения у животных со стабильным диабетом сильно снизилась численность β -клеток в островках, появились очаги интра- и периинсулярного склероза (рис. 6). Путем прямого подсчета β -клеток (рис. 7) мы уточнили, что их количество в островках мышей со стабильным диабетом уменьшается примерно в 50 раз по сравнению с контролем. Подобная патоморфологическая картина типична

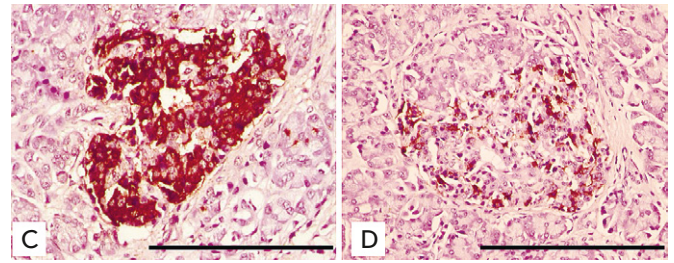


Рис. 6. Островки ПЖ мышей группы C и мышей группы D со стабильным диабетом на 50-й день наблюдения. Световая микроскопия, иммунопероксидазное окрашивание на инсулин, $\times 400$. Масштабный отрезок = 100 мкм

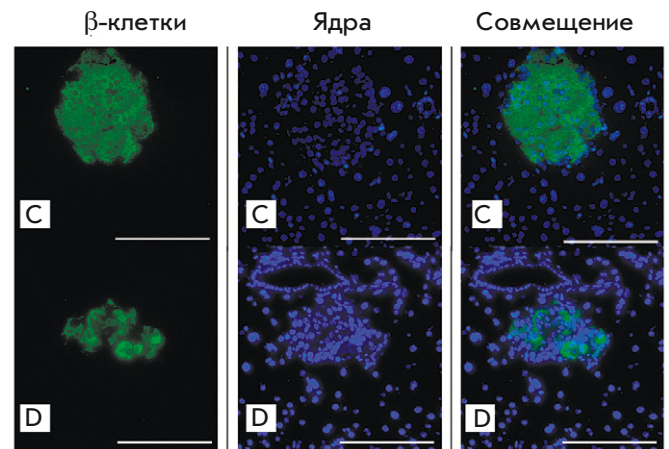


Рис. 7. Островки мышей группы C и мышей группы D со стабильным диабетом на 50-й день наблюдения. Флуоресцентная микроскопия, $\times 200$. β -Клетки: окрашивание на инсулин; ядра: окрашивание DAPI. Масштабный отрезок = 100 мкм

для диабета у мышей, индуцированного однократным введением средней или большой дозы СТЗ [4, 12].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Перечислим достоинства нашей модели диабета:

- использование мышей Nude позволяет трансплантировать животным ксеногенные БМКП, содержащие клетки человека;
- максимальное упрощение методики индукции диабета: СТЗ вводится однократно внутривенно;
- поскольку для растворения СТЗ используется 0.9% NaCl, а не буферный раствор с низким pH, исключено раздражение брюшины и снижен общетоксический эффект СТЗ;
- эффективность индукции диабета составляет примерно 71%, при этом выживаемость животных равна 100%. Это дает возможность формировать несколько опытных групп мышей с численностью, достаточной для получения статистически надежных экспериментальных результатов;

- использование средневысоких доз СТЗ не требует коррекции водно-электролитного баланса и поддерживающей инсулинотерапии;
- стабильный диабет сохраняется в течение длительного времени: с 15-го по 50-й день после введения СТЗ. Этот срок достаточен для оценки антидиабетического эффекта БМКП;
- измерения $K_{ГП}$ проводятся не натощак. Тем самым у животных исключен стресс, обусловленный длительным голоданием;
- у животных со стабильным диабетом $K_{ГП}$ намного выше, чем у контрольных животных, и нет спонтанной ремиссии болезни, что упрощает оценку антидиабетического эффекта БМКП;
- модель фенотипически и патогенетически сходна с СД1 у человека;
- модель позволяет проводить биохимические, гормональные и патоморфологические исследова-

ния, необходимые для оценки антидиабетического эффекта БМКП.

Мы считаем, что наша модель диабета у мышей Nude вполне подходит для доклинических испытаний антидиабетических БМКП и удобна для исследователей. Единственный недостаток нашей модели – сравнительно невысокая эффективность индукции диабета. Это обстоятельство нужно учитывать при расчете исходного количества животных. ●

*Исследование выполнено при поддержке гранта
Министерства науки и высшего образования
Российской Федерации
(соглашение № 075-15-2020-773).*

*Конфликт интересов: авторы заявляют
об отсутствии конфликта интересов.*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Loretelli C., Assi E., Seelam A.J., Ben Nas M., Fiorina P. // *Expert Opin. Biol. Ther.* 2020. № 3. P. 1744–1768.
2. Gvazava I.G., Rogovaya O.S., Borisov M.A., Vorotelyak E.A., Vasiliev A.V. // *Acta Naturae.* 2018. V. 10. № 1. P. 24–33.
3. King A.J.F., Estilles E., Montanya E. // *Methods Mol. Biol.* 2020. V. 2128. P. 135–147.
4. Deeds M.C., Anderson J.M., Armstrong A.S., Gastineau D.A., Hiddinga H.J., Jahangir A., Eberhardt N.L., Kudva Y.C. // *Lab. Anim.* 2011. V. 45. № 3. P. 131–140.
5. Diabetic Complications Consortium. High-dose streptozotocin induction protocol (mice). 2015. <https://www.diacomp.org/shared/protocols.aspx>.
6. Chaudhry Z.Z., Morris D.L., Moss D.R., Sims E.K., Chiong Y., Kono T., Evans-Molina C. // *Lab. Anim.* 2015. V. 47. № 4. P. 257–265.
7. Estilles E., Tellez N., Nacher M., Montanya E. // *Cell Transplant.* 2018. V. 27. № 11. P. 1684–1691.
8. Kintoko K., Xu X., Lin X., Jiao Y., Wen Q., Chen Z., Wei J., Liang T., Huang R. // *Arch. Med. Sci.* 2018. V. 14. № 5. P. 1163–1172.
9. Graham M.L., Janecek J.L., Kittredge J.A., Hering B.J., Schuurman H.J. // *Comp. Med.* 2011. V. 61. № 4. P. 356–360.
10. Cavelti-Weder C., Li W., Zumsteg A., Stemmann-Andersen M., Zhang Y., Yamada T., Wang M., Lu J., Jermendy A., Bee Y.M., et al. // *Diabetologia.* 2016. V. 59. № 3. P. 522–532.
11. Ricordi C., Kneteman N.M., Scharp D.W., Lacy P.E. // *World J. Surg.* 1988. V. 12. № 6. P. 861–865.
12. Zhao T., Luo D., Sun Y., Niu X., Wang Y., Wang C., Jia W. // *J. Mol. Histol.* 2018. V. 49. № 4. P. 419–428.
13. Mercodia Technical Note No 334-0137 v.4.0. Analysis of insulin, C-peptide or proinsulin from acid ethanol extractions from islets, cells or tissue. Mercodia AB, 2019.
14. Christoffersson G., Henriksnas J., Johansson L., Rolny C., Ahlstrom H., Caballero-Corbalan J., Segersvard R., Permert J., Korsgren O., Carlsson P.O., et al. // *Diabetes.* 2010. V. 59. № 10. P. 2569–2578.
15. Harper J.M., Durkee S.J., Smith-Wheelock M., Miller R.A. // *Exp. Gerontol.* 2005. V. 40. № 4. P. 303–314.
16. Miller R.G., Yu L., Becker D.J., Orchard T.J., Costacou T. // *Diabet. Med.* 2020. V. 37. № 8. P. 1386–1394.