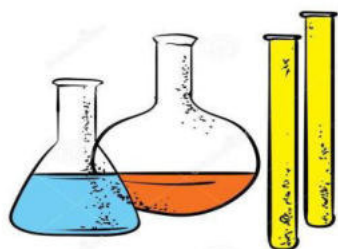
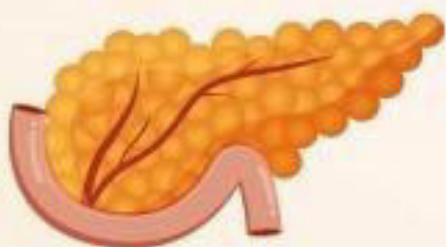


*Горбенко Н. І., Полтораєк В. В., Караченцев Ю. І.,
Кіпріч Т. В., Іванова О. В., Боріков О. Ю.,
Таран К. В., Літвінова Т. С., Місюра К. В.*

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИЙ ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ: патофізіологічна характеристика та особливості моделювання



Горбенко Н. І., Полторак В. В., Караченцев Ю. І.,
Кіприч Т. В., Іванова О. В., Боріков О. Ю.,
Таран К. В., Літвінова Т. С., Місюра К. В.

**Експериментальний
цукровий діабет:
патофізіологічна характеристика та
особливості моделювання**

Харків-2020

УДК 616.379-008.64:616-092.9

Е 41

Рекомендовано до друку науково-видавничою радою Національної академії медичних наук України, прот. № 5 від 23.09.2020 р.

Рецензенти:

- Бондаренко В. О. – зав. відділенням патології статевих залоз ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського Національної академії медичних наук України», д-р мед. наук, проф.;
- Тихонова Т. М. – зав. кафедри внутрішньої медицини Харківського національного університету ім. В. Н. Каразіна, д-р мед. наук, старш. наук. співр.;
- Тржецинський С. Д. – зав. кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету, д-р біол. наук, проф.

Е 41 Експериментальний цукровий діабет: патофізіологічна характеристика та особливості моделювання: Монографія / Горбенко Н. І., Полторак В. В., Караченцев Ю. І., Кіприч Т. В., Іванова О. В., Боріков О. Ю., Таран К. В., Літвінова Т. С., Місюра К. В. – Х.: ТОВ «Планета-Прінт» – 100 с.

ISBN 978-617-7751-95-2

Монографію присвячено особливостям моделювання цукрового діабету 1 та 2 типу різного генезу в експериментальних тварин. Розглянуто патофізіологічні характеристики зазначених експериментальних моделей, описано алгоритми моделювання, тривалість розвитку патології, супутні метаболічні ускладнення та їх тяжкість, чутливість до діабетогенних чинників в залежності від лінії тварин та їх статі. В монографії наведено практичні рекомендації щодо проведення як експериментальних досліджень патогенезу цукрового діабету, так і доклінічного етапу тестування потенційних антидіабетичних засобів.

Для науковців у галузі ендокринології, патофізіології, фармакології та клініцистів.

The monograph deals with the features of different models of type 1 and type 2 diabetes mellitus in experimental animals. The pathophysiological characteristics of these experimental models are considered, model algorithms, duration of pathology development, comorbid metabolic complications and their severity, sensitivity to diabetogenic factors depending on the line of animals and their sex are described. The monograph provides practical recommendations for conducting both experimental studies of the diabetes mellitus pathogenesis and the preclinical testing of potential antidiabetic drugs.

For scientists in the field of endocrinology, pathophysiology, pharmacology and clinicians.

ISBN 978-617-7751-95-2

УДК 616.379-008.64:616-092.9

ЗМІСТ

	С.
ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ ТА УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	5
ВСТУП	7
1. Індуковані моделі цукрового діабету	10
1.1. Хірургічний цукровий діабет	10
1.2. Хімічно індуковані моделі цукрового діабету	13
1.2.1. Хімічно індуковані моделі інсулінозалежного цукрового діабету	13
1.2.1.1. Алоксановий діабет	13
1.2.1.2. Високодозовий стрептозотоциновий діабет	16
1.2.1.3. Низькодозовий стрептозотоциновий діабет	19
1.2.1.4. Дитизоновий діабет	23
1.2.2. Хімічно індуковані моделі інсулінонезалежного цукрового діабету	27
1.2.2.1. Неонатальний стрептозотоциновий діабет	27
1.2.2.2. Стрептозотоциновий діабет з одночасним введенням нікотинаміду	31
1.2.2.3. Стрептозотоциновий діабет на тлі висококалорійної дієти	34
1.2.2.4. Дексаметазоновий діабет	40
1.3. Інсулінозалежний цукровий діабет, індукований вірусами	44
2. Генетично детерміновані форми цукрового діабету	48
2.1. Генетично детерміновані моделі інсулінозалежного цукрового діабету	48
2.1.1. Миші NOD	48
2.1.2. Щури BB	49
2.1.3. Щури LEW.1AR1/Ztm-iddm	51

2.1.4. Щури KDP	52
2.1.5. Миші Akita	53
2.2. Генетично детерміновані моделі інсулінонезалежного цукрового діабету	54
2.2.1. Миші ob/ob	55
2.2.2. Миші db/db	56
2.2.3. Щури Zucker fatty	58
2.2.4. Щури Zucker diabetic fatty	59
2.2.5. Щури Goto-Kakizaki	61
2.2.6. Щури OLETF	62
3. Інші моделі цукрового діабету	65
3.1. Інсулінонезалежний цукровий діабет, індукований дієтою	65
ЗАКЛЮЧЕННЯ	70
ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	72

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ ТА УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

BB	– BioBreeding (лінія щурів)
cJNK	– c-Jun N-terminal kinase (c-Jun N-термінальна кіназа)
CVB	– Coxsackievirus B (вірус Коксакі В)
db/db	– diabetes/diabetes (лінія мишей, гомозиготних за геном diabetes)
EMC	– encephalomyocarditis (енцефаломіокардит)
ER	– endoplasmic reticulum (ендоплазматичний ретикулюм)
GLUT2	– glucose transporter type 2 (глюкозний транспортер, тип 2)
IKK β	– inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit beta (інгібітор субодиниці бета ядерного фактора «каппа-бі»)
IRS2	– insulin receptor substrate 2 (субстрат 2 рецептора інсуліну)
KDP	– Komeda diabetes prone (лінія щурів Komeda, схильних до діабету)
KRV	– Kilham rat virus (вірус Kilham у щурів)
MHC	– main histocompatibility complex (головний комплекс гістосумісності)
NF- κ B	– nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (ядерний транскрипційний фактор «каппа бі»)
NO	– nitrogen oxide (оксид нітрогену)
NOD	– non obese diabetic (лінія мишей з діабетом без ожиріння)
ob/ob	– obese/obese (лінія мишей, гомозиготних за геном obese)
OLETF	– Otsuka Long Evans Tokushima fatty (лінія щурів)
PI3K	– phosphatidylinositide-3-kinase (фосфатидилінозитид-3-кіназа)
PPAR γ	– peroxisome proliferator-activated receptors γ (рецептори, що активуються проліфератором пероксисом, тип гамма)
SPF	– specific pathogen free (вільний від специфічних патогенів)
UCP2	– uncoupling protein 2 (мітохондріальний роз'єднуючий протеїн 2)
VAF	– virus antibody free (вільний від вірусних антитіл)
ZDF	– Zucker diabetic fatty (лінія щурів)
АТФ	– аденозинтрифосфат
АФО	– активні форми кисню
БУО	– бляшкоутворююча одиниця
ВЖД	– високожирова дієта
ВКД	– висококалорійна дієта
ГПП-1	– глюкагоноподібний пептид 1

ДНК	– дезоксирибонуклеїнова кислота
ЗАА	– загальна антиоксидантна активність
ЗХС	– загальний холестерин
ІІ	– інтерлейкін
ІФН	– інтерферон
КоА	– коензим А
мРНК	– матрична рибонуклеїнова кислота
НАД(Ф)	– нікотинамідаденіндинуклеотид(фосфат)
НЕЖК	– неестерифіковані жирні кислоти
ПОЛ	– перекисне окислення ліпідів
ТГ	– тригліцериди
ФАД	– флавінаденіндинуклеотид
ФНП- α	– фактор некрозу пухлин альфа
ХС ЛПВГ	– холестерин ліпопротеїдів високої густини
ХС ЛПДНГ	– холестерин ліпопротеїдів дуже низької густини
ХС ЛПНГ	– холестерин ліпопротеїдів низької густини
цАМФ	– циклічний аденозинмонофосфат
ЦД	– цукровий діабет

ВСТУП

Цукровий діабет (ЦД) залишається єдиним неінфекційним захворюванням, поширеність якого в кінці XX – на початку XXI століття набула характеру пандемії. За прогнозами Міжнародної Діабетичної Федерації (IDF), кількість хворих на ЦД до 2045 р. сягне 700 млн, тобто діабет буде діагностовано у кожного десятого мешканця планети [1].

Існують дві основні форми ЦД: інсулінозалежний (1 тип) виникає внаслідок аутоімунної деструкції панкреатичних β -клітин, що призводить до розвитку абсолютної інсулінової недостатності; інсулінонезалежний (2 тип) характеризується порушеною секрецією інсуліну і зниженою чутливістю тканин до дії гормону, складаючи при цьому 85–95 % всіх випадків захворювання на ЦД [3]. Серед причин пандемічного зростання, передусім ЦД 2 типу, окрім підвищеної генетичної чутливості певних етнічних груп, також називають фактори навколишнього середовища, малорухливий спосіб життя та надмірне харчування [3].

Одним із наслідків епідемічного характеру даного захворювання є значне підвищення матеріальних витрат як для пацієнтів, так і для системи охорони здоров'я, які зростають майже в два рази порівняно з особами без ЦД. Моральний та соціальний тягар ЦД в основному обумовлений розвитком пізніх судинних ускладнень, які значно знижують тривалість і якість життя хворих. Відомо, що ЦД викликає не тільки мікроангіопатії (пов'язані з трьома основними діабетичними ускладненнями, а саме – діабетичною ретинопатією, нефропатією та нейропатією), але також є одним із найважливіших факторів ризику для макроангіопатій, таких як ішемічна хвороба серця та цереброваскулярні захворювання [4].

Моделювання ЦД в експериментальних тварин має важливе значення як для поглиблення наших уявлень щодо патогенезу ЦД та його судинних ускладнень, так і для розробки нових методів профілактики та терапії даного захворювання.

Перевагою експериментальних досліджень на тваринах є усунення таких факторів, як етнічна приналежність, економічні та географічні чинники, взаємодія фармакологічних препаратів, дієта, статеві та вікові відмінності, які суттєво ускладнюють клінічні дослідження. Дійсно, застосування відповідних експериментальних моделей дозволило отримати важливу інформацію стосовно генетичних та епігенетичних чинників ризику діабету та допомогло з'ясувати окремі молекулярні механізми, які лежать в основі розвитку, прогресування та терапії даного захворювання [5].

Оскільки різні типи ЦД та його ускладнень включають складні гормонально-метаболічні порушення із залученням різних систем організму, необхідно ретельно підбирати експериментальну модель залежно від того, які аспекти захворювання вивчаються.

Зазвичай експериментальний ЦД у тварин індукують декількома методами, які включають: хімічні, хірургічні та генетичні (імунологічні) маніпуляції. Більшість експериментів із ЦД проводять на гризунах, хоча деякі дослідження все ще виконують на великих тваринах.

Експериментальні моделі, які використовують для дослідження патогенезу ЦД та скринінгу нових антидіабетичних сполук можуть бути розподілені на три основні групи: індуковані, генетично детерміновані та інші [6]:

А. Моделі індукованого експериментального ЦД:

- 1) хірургічний діабет (панкреатектомія);
- 2) діабет, індукований аллоксаном;
- 3) діабет, індукований стрептозотоцином;
- 4) діабет, індукований іншими діабетогенними сполуками;
- 5) гормонально індукований діабет;
- 6) діабет, спричинений вірусною інфекцією;
- 7) діабет, індукований антитілами до інсуліну.

В. Генетично детерміновані моделі:

- 1) спонтанно діабетичні щури;

- 2) спонтанно діабетичні миші;
- 3) китайські хом'яки;
- 4) інші види з успадкованими діабетичними симптомами;
- 5) трансгенні тварини.

С. Інші моделі:

- 1) моделі із застосуванням безхребетних тварин;
- 2) метаболічна дизрегуляція, індукована дієтою.

Необхідність складання патогенетично обґрунтованих показань для проведення клінічних досліджень нових антидіабетичних засобів обумовлює потребу застосування на доклінічній стадії різних моделей інсулінозалежного та інсулінонезалежного ЦД, які відтворюють провідні ланки патогенетичного процесу у людини. Беручи до уваги важливість генетичних факторів для реалізації специфічної дії антидіабетичних препаратів, вважається доцільним використання тварин як із хімічно індукованими, так і з генетично детермінованими формами абсолютної та відносної інсулінової недостатності. При цьому визначальним критерієм для вибору моделі є механізм дії нового антидіабетичного засобу, що передбачається, та максимальна патогенетична адекватність моделі до форми ЦД та стадії захворювання, що планується для клінічного вивчення препарату [7].

Дослідження необхідно проводити за умов додержання принципів гуманного ставлення до тварин, згідно з Європейською конвенцією із захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986 р.), та Директивою 2010/63/ЄС Європейського парламенту та Ради Європейського Союзу від 22 вересня 2010 р. про захист тварин, яких використовують в наукових цілях [8, 9].

Представлена монографія є продовженням багаторічної праці авторів щодо узагальнення та удосконалення методичних підходів до вивчення патогенетичних механізмів ЦД та розробки нових антидіабетичних засобів [7].

1. ІНДУКОВАНІ МОДЕЛІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

1.1. Хірургічний діабет

Хірургічний метод, як правило, полягає у повній або частковій панкреатектомії у тварин, що використовують для індукції інсулінозалежного та інсулінонезалежного ЦД відповідно. Проведення у 1890-х рр. повної панкреатектомії у собаки вважають першою моделлю діабету у тварин та рідко використовують у сучасній практиці. Натомість субтотальна (90–95 %) та часткова (до 90 %, часто 50–75 %) панкреатектомія в комбінації з іншими методами частіше застосовуються в експериментальних дослідженнях [10, 11].

Кількість видаленої панкреатичної тканини є важливим фактором під час моделювання хірургічного діабету. Резекція 70 % або 90 % підшлункової залози у більшості видів тварин (собаки, свині, кролі, щури) не призводить до тяжкої форми діабету і характеризується помірною гіперглікемією та відсутністю як зниження маси тіла, так і рівня інсуліну в плазмі крові [11]. Так, у самців щурів *CD 60 %*-а панкреатектомія не впливає на концентрацію глюкози та інсуліну в крові, а регенерація панкреатичної тканини є незначною [12]. Щури *Sprague-Dawley* із субтотальною (90 %) панкреатектомією мають дефект або селективне ослаблення інсулінової секреції, стимульованої глюкозою, проте залишаються інтактними до інших інсулінових секретогів (аргінін). У даних тварин упродовж шести тижнів після операції спостерігають помірну небазальну гіперглікемію, відсутність змін маси тіла та концентрації інсуліну в плазмі крові. Через 8–10 тижнів у щурів внаслідок регенерації підшлункової залози маса панкреатичного залишку становить 26 %, маса β -клітин – 42 %, маса не- β -клітин – 47 % від значень цілісної залози контрольної групи [13].

Сполучення часткової панкреатектомії та хімічного індуктора (алоксану, стрептозотоцину) дозволяє отримати більш виражену

гіперглікемію та стабільнішу форму діабету. Так, була розроблена модель стабільної форми ЦД 2 типу, яка представляє собою комбінацію 50%-ї панкреатектомії разом із введенням нікотинамідом (350 мг/кг) та стрептозотоцину (200 мг/кг) у десятитижневих самців мишей BALB/c. Нікотинамід вводили за 10 хв до та через 3 год після ін'єкції стрептозотоцину, а також додавали до питної води (1 %) тварин упродовж одного тижня. У мишей спостерігали втрату маси тіла, зниження рівня інсуліну в сироватці крові та підшлунковій залозі, базальну гіперглікемію (> 326 мг/дл), інтолерантність до глюкози [14].

Панкреатектомія є найстарішим методом дослідження регенеративних процесів у підшлунковій залозі. Крім того, застосовують перев'язку панкреатичних протоків. Остання призводить до загибелі ацинарних клітин і запалення в області, дистальної до перев'язки. Регенеративний процес за умов даної моделі залежить від виду тварин [10]. У щурів перев'язка хвостової частини підшлункової залози, що складає 50–60 % від загальної маси, призводить до масивної дегенерації даної частини органа. У самців щурів *Wistar*, яким було проведено дану процедуру, протягом одного тижня маса β -клітин у хвостовій частині залози майже подвоюється, що робить модель корисною для вивчення відновлення β -клітин. Гіперглікемія за умов даної моделі не розвивається, навпроти – рівень глюкози знижується через інвазивність процедури [15]. Проте у мишей (гібридна лінія *F1 B6129SF1/J* та інбредна лінія *BALB/c*) перев'язка протоку не змінює загальну масу підшлункової залози, що може свідчити про суттєві відмінності у щурів та мишей щодо механізмів β -клітинної регенерації [16].

Окрім операцій на підшлунковій залозі, для моделювання експериментального діабету застосовують інші хірургічні підходи. Наприклад, модель інсулінонезалежного ЦД у самиць щурів *Sprague-Dawley*, який було відтворено без зниження β -клітинної маси за допомогою комбінації білатерального електролітного ураження вентромедіального гіпоталамуса та

дієти з високим вмістом жирів та цукрози. Щури з ураженням вентромедіального гіпоталамуса та ожирінням характеризуються гіперінсулінемією натще, гіпертригліцеридемією, інсулінорезистентністю, ослабленою толерантністю до глюкози, базальною гіперглікемією (від помірної до виразної) та порушенням регуляції інсулінової секреторної відповіді, незважаючи на високу ємність інсулінової секреції. У тварин відзначають виражену гіперфагію, не дивлячись на підвищений рівень лептину (лептинорезистентність). Дана модель дозволяє відтворити основні характеристики ЦД 2 типу людини, асоційованого з ожирінням, а також кілька послідовних стадій прогресування патології, втім, потребує хірургічної вправності та досвіду роботи [17].

На сьогодні моделі часткової панкреатектомії в основному використовують у трансплантаційних дослідженнях, які проводять на великих тваринах (свині, примати), а також для вивчення факторів, що беруть участь у процесах відновлення панкреатичних острівців з метою розробки нових антидіабетичних засобів [10, 18].

Моделювання власне ЦД за допомогою хірургічного методу має низку серйозних обмежень: необхідність високої хірургічної компетенції, відповідного технічного забезпечення, потребу післяопераційного застосування у тварин антибіотиків через ризик виникнення інфекції та, можливо, замісної терапії ферментами підшлункової залози [19]. Крім того, більшість моделей панкреатектомії індукують гіперглікемію, інсулінорезистентність та порушену толерантність до глюкози, проте інформація про інші маркери ЦД 2 типу (дисліпідемія, ослаблення функції печінки) часто відсутня, а спостережуване зниження маси тіла тварин не є характерною ознакою ЦД 2 типу. Подібні моделі рідко валідують за допомогою антидіабетичних препаратів, а регенеративні процеси в підшлунковій залозі залишаються одним із головних обмежень відтворення стабільної форми ЦД [20].

1.2. Хімічно індуковані моделі цукрового діабету

1.2.1. Хімічно індуковані моделі інсулінозалежного цукрового діабету

1.2.1.1. Алоксановий діабет

Алоксан – це нестабільне похідне піримідину (2,4,5,6-тетраоксогексагідропіримідин), якому притаманна діабетогенна дія. У невеликій кількості дана сполука наявна в організмі ссавців та людини. Існують дані про можливість підвищення концентрації ендogenous алоксану в біологічних рідинах людини та тварин із ЦД, але його патогенетична роль залишається нез'ясованою [21, 22].

Під час моделювання діабету необхідно враховувати, що діабетогенний ефект алоксану залежить від швидкості та шляху введення (внутрішньовенно, підшкірно, внутрішньом'язово, внутрішньочеревно), концентрації розчину, а також видових особливостей тварин. За умов одноразового внутрішньовенного введення діабетогенні дози алоксану в мг/кг становлять: для мавп – 100–150, собак – 50–100, кролів – 150–200, щурів – 50–75; за умов підшкірного введення – 150–200 для щурів та 350–400 для мишей. Деякі види тварин (напр., мурчаки) є нечутливими до діабетогенної дії алоксану. Вищенаведені дози препарату призводять до розвитку діабету лише у молодих статевозрілих тварин, які голодували протягом 16–18 год. Крім того, слід відзначити широку варіабельність чутливості тварин до діабетогенного ефекту сполуки в межах одного виду [21, 23, 24].

Механізм дії алоксану пов'язаний зі структурою його молекули, яка є гідрофільною та глюкозоподібною, що дозволяє сполуці взаємодіяти з транспортером глюкози GLUT2 у плазматичній мембрані β -клітин підшлункової залози [24].

Після одноразового введення діабетогенної дози алоксану у тварин спостерігають розвиток три- або чотирифазної глікемічної кривої. Перша фаза

розвивається не у всіх видів тварин, триває до 30 хв і характеризується гіпоглікемією. Причиною останньої вважають взаємодію алоксану із тіоловими групами глюкокінази, інактивація якої в перші хвилини супроводжується короткою стимуляцією секреції інсуліну через зниження фосфорилування глюкози. Друга фаза починається через годину після введення препарату і представляє собою гіперглікемію упродовж 2–4 год, яка обумовлена пригніченням секреції інсуліну у зв'язку зі зниженням продукції АТФ. Третя фаза настає через 4–8 год після ін'єкції, характеризується тяжкою гіпоглікемією внаслідок вивільнення інсуліну зі зруйнованих β -клітин, триває приблизно добу і може завершитися смертю тварин. Нарешті, четверта фаза асоційована з формуванням вторинної стійкої гіперглікемії, яка свідчить про розвиток діабету через 1–2 доби [24, 25].

Встановлено, що до кінця першої години після введення алоксану морфологічні зміни у β -клітинах є мінімальними і потенційно зворотними [24]. Цитотоксичний вплив препарату пов'язують із дією гідроксильних радикалів, які через низку реакцій утворюються в циклі алоксану-диалурової кислоти та призводять до дегенеративного ушкодження і некрозу β -клітин, які не мають потужного антиоксидантного захисту [25, 26].

Показано, що дози алоксану 100–150 мг/кг, які зазвичай вводять мишам інтраперитонеально або внутрішньовенно для деструкції β -клітин шляхом прямої токсичної дії, є вищими, ніж потрібно, для більшості інбредних ліній; до того ж вони призводять до небажаних колатеральних ушкоджень, різкої втрати маси тіла та високої смертності за відсутності терапії інсуліном. Дози 50–80 мг/кг, як правило, є ефективними для індукції хронічної гіперглікемії, але необхідна кількість алоксану має бути встановлена емпіричним шляхом для будь-якої лінії та статі. Наприклад, одноразова доза алоксану 52 мг/кг виявилася достатньою, щоб відокремити резистентних мишей *ALR/LtJ*, виведених від лінії *ICR* в Японії спеціально для алоксанової резистентності, від чутливих мишей *ALS/LtJ*, також виведених спеціально. Аналіз

молекулярної бази чутливості даних ліній до дії алоксану показав, що резистентні миші *ALR* зберігали надзвичайно високий рівень системного антиоксидантного захисту. Незважаючи на великий геном, включаючи гени комплексу гістосумісності МНС, який миші *ALR* ділили із генетичною моделлю ЦД 1 типу аутоімунного генезу – мишами лінії *NOD* – резистентність мишей *ALR* до вільнорадикального ушкодження також перейшла їх панкреатичним β -клітинам як стійкість до руйнації від цитотоксичних Т-клітин лінії *NOD*, як *in vivo*, так й *in vitro* [27].

Чутливість інших інбредних ліній мишей до індукції гіперглікемії в межах 7 діб після ін'єкції у хвостову вену діабетогенної дози алоксану (40–50 мг/кг) розподіляється наступним чином:

- чутливі: *C57BLKS/J*, *ALS*, *DBA/2*, *NOD/Lt*, *NON/Lt* (частково: 1/5 самців та 2/5 самиць мають гіперглікемію на 7-у добу), *RR*;
- резистентні: *C3H*, *ALR*, *DDK*, *C57BL/6J*, *NC* [28].

Примітно, що у більшості випадків чутливі до алоксанового діабету лінії мишей є також чутливими до низькодозового стрептозотоцинового діабету (див. далі), так само, як резистентні до дії алоксану тварини є резистентними до низьких доз стрептозотоцину, хоча є і виключення [28].

Свого часу була розроблена модель низькодозового алоксанового діабету в інбредних щурів лінії *Dark August*, які мають підвищений рівень інтерлейкіну 2 (ІЛ-2). У даних тварин діабет індукують шляхом щоденних внутрішньовенних ін'єкцій алоксану в дозі 25 мг/кг маси тіла протягом п'яти діб. Розвиток помірної та стійкої гіперглікемії спостерігають через 15 діб після індукції патології. Відтворення даної моделі у щурів лінії *Albino Oxford*, які продукують знижений рівень ІЛ-2, показало, що тварини є резистентними до субдіабетогенних доз алоксану [29]. Подібно до інбредних ліній мишей, щури *Dark August* та *Albino Oxford* мають аналогічну чутливість та резистентність до низьких доз стрептозотоцину (див. далі).

До недоліків алоксанових моделей слід віднести відсутність селективної дії хімічного індуктора на β -клітини підшлункової залози. Як наслідок, токсичні зміни, не пов'язані з розвитком діабету, спостерігають і в інших органах, які також експресують транспортер GLUT2 (особливо, в нирках і печінці) [26, 30]. Крім того, має місце висока летальність, розвиток у окремих тварин інсулінонезалежного діабету, в деяких випадках – нестабільний перебіг ЦД (одужання) та індивідуальна нечутливість до алоксану в межах одного виду (зокрема, у щурів), яка не має пропорційної залежності від розміру дози [11, 23, 25].

Слід наголосити, що моделі алоксанового діабету дозволяють відтворити абсолютну інсулінову недостатність. У зв'язку з цим вони не можуть бути використані для дослідження специфічної активності цукрознижуючих засобів, які проявляють ефект тільки за наявності залишкової секреторної функції β -клітин (напр., похідні сульфонілсечовини або бігуаніди).

1.2.1.2. Високодозовий стрептозотоциновий діабет

Стрептозоточин [2-дезоксид-2-({[метил(нітросо)аміно]карбоніл}аміно)- β -D-глюкопіраноза] – це антибіотик широкого спектру, який спричиняє специфічний ефект на панкреатичні β -клітини. Встановлено, що компонент препарату метилнітрососечовина має ДНК-алкілюючу активність і відповідальна за токсичну дію препарату, а 2-дезоксиглюкоза – за селективність ефекту відносно β -клітин [31, 32, 33]. Подібно до алоксану, стрептозоточин потрапляє в клітини за участі транспортеру GLUT2 [34]. У порівнянні з алоксаном стрептозоточин є більш ефективним в індукції діабету. В панкреатичних β -клітинах стрептозоточин викликає розриви у молекулах ДНК. Це призводить до активації процесів репарації за допомогою ферменту полі(АДФ-рибоза)-полімерази, який використовує НАД⁺ як кофермент і у такий спосіб сприяє вичерпанню його запасів у β -клітинах та

критично знижує вміст АТФ [35]. Даний механізм вважають головною причиною загибелі β -клітин, проте обговорюються також дані про внесок у цей процес метилювання стрептозотоцином внутрішньоклітинних протеїнів та його здатність бути донором оксиду нітрогену (NO) і генерувати активні форми кисню (АФО) [36, 37].

Після введення стрептозотоцину зміни концентрації глюкози крові мають трифазний характер. Початкова, характерна для алоксану, коротка гіпоглікемічна фаза не розвивається через відсутність впливу стрептозотоцину на глюкокіназу. Далі, як правило, спостерігають ту саму послідовність фаз, що мають місце за умов використання алоксану. Стійка гіперглікемія розвивається приблизно через 24 год після ін'єкції та є ознакою стрептозотоцинового діабету [36].

Високодозовий стрептозотоциновий діабет моделюють шляхом одноразового внутрішньочеревного або внутрішньовенного введення препарату. Враховуючи високу нестабільність стрептозотоцину у водному розчині, ін'єкцію роблять не пізніше, ніж через п'ять хвилин після розчинення сполуки в цитратному буфері (рН 4,5). Після ін'єкції тварини мають бути забезпечені водою та їжею у достатній кількості з метою уникнення розвитку гіпоглікемічної коми. Діабетогенна доза стрептозотоцину для мишей становить 200 мг/кг маси тіла за умов внутрішньочеревного введення, а для щурів – 50–70 мг/кг маси тіла за умов внутрішньовенного введення. Під впливом стрептозотоцину у мишей та щурів виразна гіперглікемія спостерігається через 24–72 год і зберігається упродовж тривалого часу [37, 38].

Так, у самців щурів *Wistar* внутрішньочеревне введення 60–70 мг/кг стрептозотоцину через дві доби призводить до підвищення базальної глікемії вище 14 ммоль/л, що зберігається упродовж дев'яти тижнів [39, 40]. Уже через сім діб після індукції діабету в мітохондріях печінки тварин відзначають пригнічення процесів окисного фосфорилування, інтенсифікацію

перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), підвищення активності системи антиоксидантного захисту [39, 41]. Через два місяці після індукції у щурів спостерігають виразну глюкозурію, посилення катаболічних процесів, оксидативний стрес та ознаки порушення функції нирок: збільшення екскреції альбуміну, зниження кліренсу креатиніну, ультраструктурні зміни [40].

Стать, вік тварин та стан харчування мають важливе значення для реалізації діабетогенних ефектів стрептозотоцину. Найбільшу чутливість спостерігають у молодих статевозрілих самців, які напередодні голодували. Показано, що у гризунів одноразова висока доза стрептозотоцину поряд із деструкцією β -клітин може викликати неспецифічні порушення в α -клітинах, які синтезують глюкагон [38].

Подібно до алоксану, стрептозоточин має токсичний вплив на інші органи, які експресують транспортер GLUT2. Проте механізм дії стрептозотоцину, на відміну від алоксану, дозволяє уникнути тяжких колатеральних ушкоджень та є більш ефективним відносно β -клітин підшлункової залози [18, 28]. Таким чином, застосування стрептозотоцину дозволяє відтворити більш довгострокову модель. Разом із тим, характерна онкогенна дія стрептозотоцину сприяє розвитку інсулінóm у підшлунковій залозі та нирках, що за умов тривалого есперименту може призводити до спонтанної ремісії захворювання [42]. Встановлено також, що стрептозоточин може викликати лімфопенію, що необхідно враховувати під час інтерпретації результатів досліджень імунотолерантності до трансплантатів [18].

За гормонально-метаболічними змінами високодозовий стрептозотоциновий діабет багато в чому подібний до ЦД 1 типу людини. Але слід пам'ятати, що в даному випадку абсолютна інсулінова недостатність розвивається внаслідок прямого токсичного ураження β -клітин без участі аутоімунних механізмів деструкції, які мають місце в патогенезі ЦД 1 типу людини.

1.2.1.3. Низькодозовий стрептозотоциновий діабет

У мишей та щурів повторне внутрішньочеревне введення субдіабетогенних доз (20–40 мг/кг маси тіла) стрептозотоцину протягом п'яти діб призводить до повільного розвитку інсулінозалежного ЦД із виразним аутоімунним компонентом, який за провідними патогенетичними ознаками подібний до ЦД 1 типу людини [43, 44]. Найбільш чутливими до повторних ін'єкцій субдіабетогенних доз стрептозотоцину є молоді статевозрілі самці, які попередньо голодували 16 год. Після введення останньої дози стрептозотоцину протягом кількох днів спостерігається зростання інсулінової залежності, яке завершується некрозом β -клітин та тяжкою гіперглікемією. Розвиток первинної гіперглікемії супроводжується інтенсивною інфільтрацією панкреатичних острівців макрофагами та лімфоцитами (інсуліт), подібно до тієї, яку спостерігають у молодих осіб із ЦД 1 типу на ранніх стадіях захворювання. У мишей *Charles River CD-1* максимальну виразність інсуліту відзначають на 12–14 добу після першої ін'єкції стрептозотоцину [43]. Було встановлено, що за умов даної моделі у тварин, як і у хворих на ЦД 1 типу, виявляються антитіла до поверхневих та цитоплазматичних антигенів острівцевих клітин, аберантна експресія в них *Ia* антигенів та інші реакції органоспецифічного (проти β -клітин) аутоімунітету [45, 46].

У самців мишей *СВА* через вісім діб після першої ін'єкції стрептозотоцину в дозі 40 мг/кг підвищується базальна глікемія (10 ммоль/л) та порушується толерантність до глюкози. У період від 12 до 15 доби продовжується стрімке зростання базальної глікемії (до 30 ммоль/л) та суттєве зниження базальної інсулінемії (до 50 % від показників інтактних мишей). Через два тижні від початку індукції більшість тварин мають інсуліт підшлункової залози, коефіцієнт функції панкреатичних β -клітин є зниженим у 50 разів [47]. В печінці даних мишей відзначають інтенсифікацію

вільнорадикального окислення ліпідів та стимуляцію системи антиоксидантного захисту [48].

Упродовж тривалого часу не було єдиної думки, що представляє собою інсуліт за умов даної моделі: вторинну відповідь на запалення, індуковане прямою β -цитотоксичною дією стрептозотоцину, чи аутоімунну деструкцію, ініційовану або опосередковану Т-клітинами, яку спостерігають у мишей лінії *NOD* зі спонтанним інсулінозалежним ЦД? Встановлено, що «пересадка» Т-клітин від предіабетичних або діабетичних мишей *NOD* до імунодефіцитних за Т- і В-лімфоцитами мишей *NOD/LtSz-scid/scid* супроводжується розвитком в останніх інсулінозалежного ЦД, в той час як Т-клітини від молодих самців *NOD/Lt*, яким моделювали низькодозовий стрептозотоциновий діабет, не здатні на подібний ефект [49]. Той факт, що імунодефіцитні за Т- і В-лімфоцитами миші *NOD*, як і миші *C.B.-17-scid/scid*, є високочутливими до повторних низьких доз стрептозотоцину, свідчить на користь прямої β -цитотоксичності як головного патогенетичного фактора за умов даної моделі [49, 50]. Відомо, що стрептозоточин алкілує ДНК та спричиняє в ній дволанцюгові розриви, а мутація *scid* робить неможливим репарацію розірваних кінців ДНК. Відповідно, висока чутливість мишей *scid* у даному випадку може бути результатом шкідливого синергізму дії хімічного індуктора та генетичної мутації. Таким чином, Т-лімфоцити, аутореактивні до панкреатичних β -клітин, відіграють вторинну роль у хімічно індукованій моделі. Виявлено, що Т-клітини можуть брати участь у розвитку запального ушкодження, яке спостерігають в аутбредних самців мишей *CD-1* із низькодозовим стрептозотоциновим діабетом, проте їх присутність в інбредних ліній зовсім необов'язкова [28].

Дослідження кінетики імунних процесів під час повторного введення низьких доз стрептозотоцину у самців мишей *CD-1* показало, що пропорції дендритних клітин та В-клітин збільшуються на ранній стадії розвитку патології (третья доба після першої ін'єкції), що в подальшому опосередковує

активацію інших імунних клітин, таких як В1-а-лімфоцити, Т-хелпери 1 та цитотоксичні Т-клітини, які мігрують із вторинних лімфоїдних органів у панкреатичні острівці. Таким чином, активація вроджених імунних клітин передуює адаптивній імунній відповіді за умов низькодозового стрептозотоцинового діабету [51].

Виявлено, що застосування антагоністу рецептора ІЛ-1 або дефіциту індукцибельної NO-синтази (iNOS) у мишей попереджує/ослаблює розвиток діабету за умов даної моделі, демонструючи важливу роль цитокінів та NO в ушкодженні панкреатичних β-клітин [52, 53]. В той же час, у щурів розвиток низькодозового стрептозотоцинового діабету тісно пов'язаний із Т-хелперами 1, що секретують розчинні молекули, які активують макрофаги та сприяють деструкції β-клітин через NO та неопосередковані NO механізми [44].

Слід відзначити, що для гризунів характерні виразні відмінності в чутливості різних ліній до субдіабетогенних доз стрептозотоцину. За умов відтворення патології шляхом щодобового введення 40 мг/кг стрептозотоцину протягом п'яти діб, виділяють наступні за чутливістю лінії мишей:

- високочутливі (глюкоза в плазмі крові > 500 мг/дл через 16 діб після останньої ін'єкції): *CD-1*, *NOD/Lt*, *NON/Lt*, *ALS/Lt*, *C57BLKS/J*, *C3H.SW/SnJ*, *CBA/J*;
- помірно чутливі (глюкоза в плазмі крові – 300–400 мг/дл через 16 діб після останньої ін'єкції): *C57BL/6J*, *C57BL/10J*, *C3H/HeJ*, *C3H/OUJ*, *BALB/cByJ*, *DBA/2J*, *ALR/Lt*;
- резистентні (глюкоза в плазмі крові < 250 мг/дл через 16 діб після останньої ін'єкції): *FVB/N*, *SWR/J*, *BALB/cJ*, *A/J* [28].

Під час досліджень генетичного впливу головного комплексу гістосумісності МНС (комплекс H-2) на розвиток даної моделі було показано, що миші з гаплотипом k комплексу H-2 (лінія *B10.BR*) розвивали виразну

гіперглікемію (17 ммоль/л), миші ліній *B10.A* (Н-2а), *C57BL/10* (Н-2b) та *B10.D2* (Н-2d) мали помірну гіперглікемію (11,5–15,5 ммоль/л), в той час як миші лінії *B10.S* (Н-2s) виявилися резистентними до розвитку діабету [54]. Втім, подальші дослідження мишей із однаковими гаплотипами Н-2 на різних генетичних базах (В10, С3Н, А) довели, що генетичну чутливість тварин до даної моделі визначають не лише гени МНС [55].

Чутливість щурів до низькодозового стрептозотоцинового діабету також відрізняється. Так, чутлива лінія – щури *Dark August*, які мають високу продукцію ІЛ-2 та інтерферону γ (ІФН- γ), резистентна лінія – щури *Albino Oxford*, що мають низькі рівні продукції цитокінів Т-хелперами 1 [56, 57].

Таким чином, розвиток трансгенних технологій дозволив розробити модель інсулінозалежного цукрового діабету, в якій активація імунної системи у відповідь на хімічне ушкодження панкреатичних β -клітин є головною патогенетичною подією. З огляду на те, що деструкція інсуліно-продукуючих клітин за умов низькодозового стрептозотоцинового діабету може відбуватися за відсутності Т-лімфоцитів, результати досліджень, отримані за допомогою даної моделі, слід інтерпретувати обережно та переважно використовувати її у поєднанні зі спонтанними аутоімунними моделями β -клітинної деструкції.

1.2.1.4. Дитизоновий діабет

Дитизон представляє собою 1,5-дифенілтіокарбазон, який здатний утворювати хелатні комплекси з цинком та індукувати інсулінозалежний ЦД у кролів. Відзначають також можливість відтворення дитизонового діабету в мишей, золотистих хом'яків, котів, собак, щурів, морських свинок, проте в даних тварин діабетогенна активність дитизону виражена значно менше, ніж у кролів, через нижчий вміст цинку в панкреатичних β -клітинах [58, 59, 60].

Для пояснення розвитку інсулінової недостатності під впливом дитизону *К. Okamoto* у 1949 р. сформулював «цинкову теорію», згідно з якою цинк у панкреатичних острівцях взаємодіє із вищеозначеним діабетогенним чинником, утворюючи токсичні комплекси, що призводить до незворотних деструктивних змін у β -клітинах підшлункової залози [61].

Більшість досліджень свідчать про те, що цинк бере активну участь у процесах синтезу, депонування та секреції інсуліну. Так, за допомогою гістохімічних методів було показано, що цинк зв'язаний з інсуліном у вигляді нерозчинних комплексів у гранулах депонованого гормону. Під впливом стимуляторів секреції інсуліну відбувається зміна характеру зв'язку і комплекс цинк-інсулін стає розчинним. Введення глюкози супроводжується зменшенням кількості цинку в β -клітинах [62]. Встановлено, що хелатоутворюючі сполуки, які у своїй хімічній структурі не мають подвійних зв'язків, здатних до кон'югації (диетилдитіокарбамат натрію, цистеїн, відновлений глутатіон, гістидин та ін.), на відміну від дитизону, не володіють діабетогенною активністю та утворюють із цинком міцні нетоксичні комплекси [63].

З роками «цинкова теорія» була розширена *проф. Я. А. Лазарисом* гіпотезою про існування двох фракцій цинку в β -клітинах. Окрім іонів цинку, зв'язаних з інсуліном у депонованих гранулах, що утворюють оборотний зв'язок із дитизоном, передбачалась наявність цинку, зв'язаного з активним центром ферментів, які беруть участь у синтезі інсуліну. Припускають, що

дитизон необоротно блокує цинк другої фракції, порушуючи у такий спосіб інсуліногенну функцію острівцевих клітин [36].

Вивчення механізму діабетогенності дитизону було доповнене дослідженнями за допомогою молекулярних модельних систем. Показано, що утворення дитизоном комплексів із цинком, яке супроводжується вивільненням протонів, значно підкислює рН всередині фосфоліпідних везикул. Вважають, що подібний процес відбувається і у β -клітинних гранулах з інсуліном, коли зв'язування дитизоном цинку переводить інсулін у розчинну форму. В результаті значна зміна рН може призводити до осмотичного стресу і як наслідок – до розриву гранули [64].

У тварин абсолютну інсулінову недостатність прямого β -цитотоксичного генезу викликають за допомогою внутрішньовенної ін'єкції дитизону в середній дозі 30–35 мг/кг самцям кролів масою 2,5–3 кг, які попередньо голодували протягом 16–18 год. Вже на другу добу після ін'єкції у тварин спостерігають різке підвищення базальної глікемії (до 15–20 ммоль/л), яке продовжується наступні п'ять діб і залишається на досягнутому високому рівні упродовж тривалого часу. Базальна гіперглікемія також супроводжується зниженням концентрації інсуліну на 50 % у сироватці крові тварин [65–68].

Встановлено, що у першу добу після введення дитизону відбувається трифазне коливання концентрації глюкози в крові, аналогічно до змін на тлі введення алоксану. Дослідження за допомогою електронної мікроскопії показали, що до кінця першої доби значна частина β -клітин повністю руйнується, що ймовірно є морфологічною основою для інсулінової недостатності, яка розвивається у цей період [63, 65].

Через сім діб після ін'єкції дитизону (35 мг/кг) кролям породи *Chinchilla*, в екзокринній частині підшлункової залози тварин спостерігають помірну та виразну атрофію і склеризацію. Залишкові β -клітини гіпертрофовані та дегранульовані, нерідко – в стані вакуольної дистрофії. За

даних умов коефіцієнт функції β -клітин є зниженим у 77 разів порівняно з інтактними тваринами [69].

Через місяць після індукції діабету кролі мають стабільну базальну гіперглікемію (18 ммоль/л), зниження базальної інсулінемії в три рази та знижену чутливість до інсуліну, виразну інтолерантність до глюкози, підвищення концентрації HbA_{1c} у два рази та збільшення рівня фруктозаміну в сироватці крові втричі. Про інтенсифікацію ПОЛ свідчить підвищення концентрації його первинних продуктів у сироватці крові. Збільшення рівня перекисного гемолізу еритроцитів, зниження – відновленого глутатіону та загальної антиоксидантної активності (ЗАА) в сироватці підтверджують ослаблення антиоксидантної системи захисту. Концентрація неетерифікованих жирних кислот (НЕЖК) та тригліцеридів (ТГ) у даних тварин є збільшеною в 4–6 разів [67, 70].

Показники ліпідного профілю кролів із дитизоновим діабетом через три місяці після індукції засвідчують атерогенні зміни, характерні для діабетичної дисліпідемії: істотне підвищення рівнів загального холестерину (ЗХС), ТГ, холестерину ліпопротеїдів низької густини (ХС ЛПНГ), НЕЖК, зниження – холестерину ліпопротеїдів високої густини (ХС ЛПВГ) в сироватці крові збільшують атерогенний індекс в три рази порівняно з інтактним контролем. Крім того, відзначають високий рівень процесів ПОЛ та зниження показників антиоксидантного захисту на тлі базальної гіперглікемії та гіпоінсулінемії [71, 72]. Проведення електрокардіограми у даних тварин встановило наявність в серцевому м'язі дифузних змін різної етіології [70]. Вищенаведені дані свідчать на користь можливого використання дитизонової моделі для досліджень метаболічних проявів макросудинної патології за умов абсолютної інсулінової недостатності.

Разом із тим, дитизонова модель має особливу практичну цінність для дослідження діабетичної ретинопатії, оскільки, на відміну від стрептозотоцинового діабету у щурів *Wistar* та мишей *CBA/C57BlxK/F1*,

введення дитизону кролям дозволяє через 16–17 тижнів досягти розвитку характерних для інсулінозалежного діабету дегенеративних змін у сітківці ока [73, 74]. Крім того, в нирках кролів із дитизоновим діабетом через чотири місяці після ін'єкції спостерігають ознаки ранньої стадії діабетичної нефропатії: екскрецію альбуміну з сечею (29,4 мг/24 год), зниження концентрації креатиніну в сечі в чотири рази, збільшення маси нирок та ультраструктурні зміни в них (зокрема, потовщення в два рази гломерулярної базальної мембрани та мембрани дистального і проксимального каналців) [75, 76].

Слід підкреслити, що за умов дитизонової моделі відтворюється тільки абсолютний дефіцит інсуліну без участі аутоімунного компоненту, притаманного ЦД 1 типу людини. В той же час, застосування даної моделі не призводить до загибелі значної кількості тварин (кролів), що підходить для проведення довгострокових досліджень, зокрема, для відтворення діабетичних ускладнень.

Незважаючи на те, що зв'язок між діабетом та порушеннями метаболізму цинку спостерігають як в експериментальних тварин, так і у людини, його роль у патогенезі ЦД 1 типу залишається не до кінця з'ясованою. Інтерес до моделей ЦД, індукованих сполуками з хелатоутворюючими властивостями (дитизон, 8-гідроксихінолін та ін.), зростає у зв'язку з техногенним забрудненням навколишнього середовища, яке може підвищувати ризик розвитку абсолютної інсулінової недостатності прямого β -цитотоксичного генезу.

1.2.2. Хімічно індуквані моделі інсулінонезалежного цукрового діабету

1.2.2.1. Неонатальний стрептозотоциновий діабет

Інсулінонезалежна форма ЦД розвивається у двомісячних щурів *Wistar*, яким у неонатальному віці було введено стрептозототин. В основному використовують два варіанти індукції неонатального стрептозотоцинового діабету у щурів *Wistar*:

- a) одноразове внутрішньочеревне введення стрептозототину на *другу добу* після народження (100 мг/кг);
- б) одноразове внутрішньочеревне введення стрептозототину *п'ятидобовим* щурят (80 мг/кг).

Стрептозототин, як і в попередніх випадках, розчиняють у цитратному буфері (рН 4,5). Контрольні тварини отримують аналогічний об'єм цитратного буферу. На 28-у добу після народження щурят відсаджують від матері. При введенні стрептозототину на *п'яту добу* після народження протягом найближчих трьох діб відмічається висока смертність (до 50 %), що необхідно враховувати під час формування груп тварин для дослідження цукрознижуючих сполук [77].

У щурів, яким вводять стрептозототин у *дводобовому* віці, через 3–5 діб розвивається гострий інсулінодефіцитний діабет: високий рівень глюкози в плазмі крові, знижений вміст інсуліну в підшлунковій залозі, гіпоінсулінемія, високий рівень глюкагону в плазмі крові при незмінному його рівні в підшлунковій залозі. Смертність становить менше 30 %. Завдяки швидкій спонтанній ремісії, яка супроводжується регенерацією β -клітин та накопиченням запасів інсуліну в підшлунковій залозі, поступово нормалізуються глікемія та інсулінемія. У 3–4-тижневому віці маса тіла та базальна глікемія у даних щурів не відрізняються від показників інтактного контролю [78]. Проте інтенсивність регенерації β -клітин не задовольняє

метаболічні потреби організму тварин, що ростуть й розвиваються, і відтак, починаючи з 6–8-тижневого віку, у піддослідних спостерігають помірну базальну гіперглікемію та порушену толерантність до глюкози [79]. При цьому відзначають зменшення вмісту інсуліну в підшлунковій залозі на 50 % без зміни концентрації глюкагону. Крім того, має місце суттєве зниження (майже до відсутності) секреторної реакції β -клітин на глюкозу на тлі збереженої реакції на неглюкозні секретагоги [80].

Морфометричний аналіз змін у панкреатичних острівцях восьмижневих щурів *Wistar*, яким вводили стрептозотоцин на *другу добу* після народження, свідчить, що кількість острівців в підшлунковій залозі та їх площа складають близько 30 % від контрольного рівня. В 90 % острівців спостерігають гіпертрофічне збільшення кількості β -клітин, які мають дегранульовану цитоплазму, острівцева капілярна сітка розширена та містить велику кількість елементів сполучної тканини [81].

Через 18 тижнів після індукції діабету у даних тварин зберігається помірна базальна гіперглікемія (8 ммоль/л), порушена толерантність до глюкози та відсутність змін у показниках базальної інсулінемії. В нирках відзначають екскрецію альбуміну з сечею (понад 32 мг/24 год) та ознаки дифузного гломерулосклерозу, що є підтвердженням початкової стадії діабетичної нефропатії [82]. Дослідження мікроструктури ока через 18 тижнів засвідчують наявність змін в оболонках ока, характерних для розвитку діабетичної ретинопатії (набряк нервових елементів сітківки, мікроплазматоз ендотелію її судин, потовщення базальної мембрани судин мікроциркуляторного русла та ін.) [75].

Більш тяжкий варіант патології розвивається за умов введення стрептозоточину *п'ятидобовим* щурят: після короточасного синдрому гострого дефіциту інсуліну для них характерний розвиток виразної базальної гіперглікемії та глюкозної інтолерантності, підвищення глікозильованого гемоглобіну, різке зменшення вмісту панкреатичного інсуліну, розвиток

інсулінової резистентності. При цьому, початок гіперглікемії та зниження інсулінової реакції у відповідь на підвищений рівень глюкози в плазмі спостерігають вже у *чотиритижневому* віці [78].

У щурів *Wistar*, яким на *п'яту* добу після народження вводили стрептозотоцин у дозі 150 мг/кг, через вісім тижнів спостерігають поліфагію, поліурію, полідипсію, глюкозурію, порушену толерантність до глюкози, знижену кількість рецепторів до глюкози в адипоцитах та ослаблену їх здатність до окислення глюкози й накопичення ліпідів [83].

Зміни ліпідного профілю за умов даної моделі можуть відрізнитися в залежності від дизайну експерименту: повідомляється як про характерні для інсулінонезалежного ЦД зміни (самці/самиці *Wistar*, *3–5-діб*, 60 мг/кг, на кінець сьомого тижня життя – підвищення ЗХС, ТГ, ХС ЛПНГ, незмінність/зниження ХС ЛПВГ у крові) [84], так і про надзвичайно мінімальні (самиці *Wistar*, *п'ять діб*, 70 мг/кг, на кінець четвертого місяця життя – зниження ХС ЛПВГ, решта показників – у межах норми) [85].

Виявлено, що серце щурів на тлі даної експериментальної моделі (самці *Wistar*, *дводобові*, 90 мг/кг; *Wistar albino*, *3–4-добові*, 65 мг/кг) характеризується розвитком метаболічних особливостей, внаслідок яких відновлення серцевого м'яза після моделювання ішемії-реперфузії є кращим, а розмір інфаркту міокарда – достовірно меншим, ніж у контрольних тварин [86, 87].

Виразність інсулінонезалежного ЦД у дорослих щурів після введення стрептозотоцину в неонатальному віці, окрім віку тварин на момент ін'єкції та дози, також залежить від лінії щурів, яких беруть в експеримент. Так, у самиць щурів *Sprague-Dawley*, яким вводили стрептозотоцин (90 мг/кг) у віці *двох діб*, тяжкість діабету була подібною до діабету щурів лінії *Wistar* після введення стрептозотоцину (80 мг/кг) на *п'яту добу* після народження [78].

Щодо статі тварин, встановлені відмінності у характері розвитку та виразності гіперглікемії у дорослих самців і самиць щурів ліній *Fischer 344* та

Spontaneously Hypertensive, яким вводили стрептозотоцин на другу добу після народження [88, 89]. Крім того, виразність діабету залежить від дієти. Наприклад, раціон із високим вмістом ліпідів погіршує стан глюкозного гомеостазу [78, 90].

Слід підкреслити, що за умов неонатального стрептозотоцинового діабету інсулінова недостатність розвивається в першу чергу внаслідок сполучення секреторної дисфункції β -клітин та зниження їх маси, хоча інсулінорезистентність також має місце [83, 91].

Таким чином, вищенаведена модель інсулінонезалежного ЦД забезпечує можливість для характеристики цукрознижуючої дії біологічно активних сполук, особливо за умов їх тривалого застосування. Наявність у діабетичних щурів специфічної недостатності секреторної інсулінової відповіді на глюкозу на тлі збереження реакції на інші секретагоги є подібною до порушень реакції панкреатичних β -клітин у хворих на ЦД 2 типу.

Разом із тим, модель можна використовувати для дослідження сполук із потенційним впливом на механізми регенерації β -клітин та їх функціональне виснаження, на дефекти дії інсуліну [81, 92]. Вона підходить для вивчення ефектів модулюючих факторів, пов'язаних із появою та/або погіршенням інсулінонезалежного діабету, таких як ожиріння, вагітність, раціон харчування [93]. Повідомляється, що модель є корисною для дослідження довготривалого діабетичного невропатичного болю [94] та змін у кришталику ока, пов'язаних із порушеною толерантністю до глюкози [95].

1.2.2.2. Стрептозотоциновий діабет з одночасним введенням нікотинаміду

В основі створення даної моделі інсулінонезалежного ЦД лежить частковий захист панкреатичних β -клітин від цитотоксичної дії стрептозотоцину за допомогою відповідних доз нікотинаміду. Введення нікотинаміду в дозі 230 мг/кг маси тіла інтраперитонеально тримісячним щурам *Wistar* за 15 хв до внутрішньовенної ін'єкції стрептозотоцину (65 мг/кг) призводить до помірної та стабільної базальної гіперглікемії та збереження 40 % запасів панкреатичного інсуліну [96]. Аналіз патогістологічних змін панкреатичних острівців свідчить про розвиток змін, характерних для ЦД 2 типу, без ознак запальної інфільтрації [97].

Вищезначена модель характеризується інтолерантністю до вуглеводів, відносною недостатністю секреції інсуліну у відповідь на підвищений рівень глюкози та збереженням секреторної реакції на неглюкозні секретагоги (в тому числі на сульфаніламідні препарати) [96]. Втім показано, що у самців щурів *Wistar*, яким вводили нікотинамід в дозі 90 мг/кг перед ін'єкцією стрептозотоцину (60 мг/кг), через 4–6 тижнів після індукції діабету інсулінова секреція за присутності лейцину та глютаміну була зниженою, як і інсулінотропна дія 6,7 ммоль/л глюкози із форсколіном [98].

При введенні нікотинаміду в дозі 230 мг/кг до ін'єкції стрептозотоцину у щурів *Wistar* вже на другу добу відзначають помірну базальну гіперглікемію (близько 9 ммоль/л). Через місяць після індукції базальна гіперглікемія зберігається на досягнутому рівні, чутливість до інсуліну знижується вдвічі, розвивається інтолерантність до глюкози, коефіцієнт функції β -клітин знижується в чотири рази порівняно з контрольними тваринами. Оцінка оксидативного статусу засвідчує дворазове підвищення вмісту малонового діальдегіду, значне підвищення рівня дієнових, триєнових, оксидієнових, тетраєнових кон'югатів в гомогенаті печінки, а також збільшення концентрації НЕЖК в сироватці крові в три рази [99, 100].

Встановлено, що зв'язування інсуліну з мембранами клітин печінки за умов даної моделі прогресивно знижується, починаючи з 15-ї доби після індукції діабету, та сягає максимуму через 60 діб від початку експерименту, що призводить до розвитку вторинної інсулінорезистентності [101].

З метою відтворення ознак ЦД 2 типу, характерних для «західного» типу захворювання, активно досліджується сполучення даної моделі із високожировою дієтою (ВЖД). Так, порівняльне дослідження на самцях щурів *Sprague-Dawley* показало, що сполучення ВЖД (22 % жиру за масою) упродовж двох тижнів до ін'єкції та стрептозотоцину в дозі 40 мг/кг із попереднім введенням нікотинаміду (230 мг/кг) є більш ефективним, безпечним та достатнім для відтворення інсулінонезалежного діабету у тварин, ніж введення стрептозотоцину в дозі 65 мг/кг щурам, яких утримували на дієті з низьким вмістом жиру (2 % за масою) або комбінація ВЖД + стрептозоточин в дозі 30 мг/кг чи 50 мг/кг (доза нікотинаміду в усіх випадках – 230 мг/кг). За умов поєднання ВЖД і стрептозотоцину в дозі 40 мг/кг через 48–72 год після ін'єкції у щурів спостерігають глюкозу натще > 200 мг/дл, а через тиждень після індукції – небазальну глюкозу > 600 мг/дл, зниження концентрації інсуліну, інсулінорезистентність, дисліпідемію, підвищення глікогену в печінці [102].

Встановлено також, що відтворення даної моделі на самцях щурів *Wistar*, яким було проведено гемінефректомію та яких утримували упродовж п'яти тижнів до ін'єкції на ВЖД (20% жиру за масою), дозволяє через 10 тижнів після індукції діабету отримати надлишкову масу тіла, помірну гіперглікемію натще, інсулінорезистентність, дисліпідемію, альбумінурію та діабетичну нефропатію (аж до склеротичних змін у клубочках на 20-й тиждень після індукції), розвиток якої засвідчують зміни показників функції нирок в крові й сечі та дослідження світлової й електронної мікроскопії [103].

Окрім щурів, стрептозотоциновий діабет із одночасним введенням нікотинаміду моделюють на мишах. Введення шеститижневим самцям мишей

C57BL/6J після 16 год голодування стрептозотоцину в дозі 100 мг/кг двічі (в день «0» та «2») із попередньою ін'єкцією нікотинамідом призводить через 35 діб після індукції до розвитку гіперглікемії натще, зниження маси тіла і полідипсії. Вказані зміни є значно меншими, ніж у контрольних тварин, що не отримували нікотинамід, та залежать від дози останнього. Так, збереження панкреатичного інсуліну в мишей, яким вводили цитопротектор в дозі 120 мг/кг та 240 мг/кг становило 28 % та 43 % відповідно від нормального контролю. Коли мишам додатково призначили ВЖД (34 % жиру від загальних калорій, за один тиждень до ін'єкції і далі – до кінця експерименту), у тварин було виявлено значне збільшення маси тіла, ЗХС, ТГ та ХС ЛПВГ в крові, інтолерантність до глюкози та інсулінорезистентність [104].

Таким чином, наведена модель інсулінонезалежного діабету дозволяє відтворити головні патогенетичні ознаки ЦД 2 типу людини – помірне порушення секреції та дії інсуліну. Завдяки протективному впливу нікотинамідом, модель є значно безпечнішою для тварин порівняно з неонатальним стрептозотоциновим діабетом і має певні переваги для дослідження цукрознижуючого ефекту нових препаратів із різним механізмом дії.

Модель вважають корисною для дослідження діабетичних ускладнень, таких як нефропатія, нейропатія та серцево-судинні порушення [103, 105, 106]. Проте слід пам'ятати, що токсичний вплив стрептозотоцину, окрім підшлункової залози, поширюється також на інші органи, у зв'язку з чим відрізнити порушення діабетичного генезу від ушкоджень, обумовлених цитотоксичною дією стрептозотоцину, може бути складно. Крім того, нікотинамід (в залежності від дози) здатний попереджувати розвиток деяких патологічних змін, зокрема в нирках [107]. Все це необхідно враховувати під час вибору моделі для дослідження.

1.2.2.3. Стрептозотоциновий діабет на тлі висококалорійної дієти

Введення малих або помірних доз стрептозотоцину тваринам, яких попередньо утримували на висококалорійній дієті (ВКД), на сьогодні є одним із найпоширеніших методів моделювання інсулінонезалежного ЦД. Сполучення дієти та хімічного індуктора дозволяє досягти розвитку діабетичного стану, дуже подібного до ЦД 2 типу людей, за рахунок інсулінорезистентності, яка виникає внаслідок ВКД, та відносної інсулінової недостатності, індукованої введенням стрептозотоцину.

Модель стрептозотоцинового діабету на тлі ВЖД була вперше описана у 2000 р. *Reed M. J.* та ін., які годували семитижневих самців щурів *Sprague-Dawley* дієтою, що містила 40 % жиру від загальних калорій, протягом двох тижнів із подальшою індукцією діабету за допомогою інтраперитонеальної ін'єкції стрептозотоцину в дозі 50 мг/кг. В результаті тварини мали збільшену масу тіла, базальну гіперглікемію, підвищення концентрації інсуліну, НЕЖК і ТГ в сироватці крові. Крім того, за умов даної моделі щури проявляли чутливість до глюкозознижуючих ефектів двох антидіабетичних препаратів – метформіну та троглітазону [108].

Застосування низьких доз стрептозотоцину порівняно з помірними в поєднанні з ВЖД потребує більше часу для розвитку діабетичної патології, проте має свої переваги. Показано, що введення цитотоксику в дозі 15 мг/кг одноразово у хвостову вену самцям щурів *Sprague-Dawley*, яких утримували на харчовому раціоні з високим вмістом жирів (30 % від загальних калорій) протягом двох місяців, окрім ослабленої толерантності до глюкози через два місяці дієти, ще через два місяці після ін'єкції супроводжувалось базальною гіперглікемією, підвищенням концентрації в сироватці інсуліну, ТГ і ЗХС, та характеризувалось стійкістю діабетичного стану. За умов даної моделі діабетичні тварини обходилися без лікування інсуліном та пероральними цукрознижуючими препаратами щонайменше рік [109].

Апробація різних доз хімічного індуктора у самців щурів *Sprague-Dawley*, яких утримували на ВЖД (58 % від загальних калорій) протягом двох тижнів перед ін'єкцією, показала, що доза стрептозотоцину 35 мг/кг інтраперитонеально викликає патологічні зміни, характерні для пацієнтів із ЦД 2 типу: інтолерантність до глюкози, збільшення маси тіла, базальна гіперглікемія, підвищення концентрацій ТГ і ЗХС у плазмі крові; гіперінсулінемія на тлі ВЖД змінилася нормоінсулінемією після ін'єкції стрептозотоцину. Доза стрептозотоцину 25 мг/кг виявилася недостатньо ефективною, а дози 45 мг/кг та 55 мг/кг призводили до розвитку змін, притаманних ЦД 1 типу – зниження маси тіла, виразної гіперглікемії натще, дефіциту інсуліну. Застосування піоглітазону (інсуліносенситайзер) та гліпізиду (інсулінотропний агент) мало антидіабетичний ефект у тварин, яким вводили 35 мг/кг стрептозотоцину, проте не впливало на діабетичний стан щурів, які отримали 45 мг/кг та 55 мг/кг індуктора [110].

На сьогодні дизайн експериментальної моделі стрептозотоцинового діабету в поєднанні з ВЖД має багато варіантів. Кількісний та якісний склад дієти, її тривалість, а також доза, кількість ін'єкцій та шлях введення хімічного індуктора відрізняються у більшості опублікованих досліджень.

Слід відзначити, що найефективнішими є дієти, в яких вміст ліпідів збільшують додаванням до раціону жиру тваринного походження, як правило, свинячого вісцерального жиру. Ефективність такої дієти пояснюється надмірною кількістю в ній насичених жирних кислот, які на відміну від рослинних жирів, багатих на ненасичені жирні кислоти, мають високий потенціал до індукції інсулінорезистентності [111].

Окрім підвищеного вмісту жирів, дієту тварин за умов даної моделі нерідко доповнюють збільшеним вмістом у раціоні вуглеводів – фруктози або цукрози. Відомо, що за умов ВЖД стимулюється адипогенез і накопичення нейтральних ліпідів у клітинах м'язів та печінки. Підвищення внутрішньоклітинного рівня метаболітів НЕЖК, зокрема ацил-КоА і

диацилгліцеролів, безпосередньо, через активацію класичних ізоформ протеїнкінази С, або за рахунок збільшення продукції АФО мітохондріями і активації фактору ІКК β та/або кіназ с-JNK призводить до посиленого фосфорилування рецептора інсуліну та його субстрату за залишками серину, що в свою чергу обумовлює гальмування РІЗК–залежного інсулінового сигналіngu [112]. Окрім того, збільшення маси жирової тканини супроводжується посиленням синтезу і секреції прозапальних цитокінів, які активують NF- κ B- та с-JNK-залежні сигнальні шляхи в периферичних тканинах, що сприяє розвитку інсулінорезистентності [113]. У свою чергу, за умов високовуглеводної дієти підвищена концентрація фруктози призводить до лептинорезистентності в печінці, збільшення концентрації загальних ТГ та ТГ-ЛПДНГ в крові, посилення ектопічного транспорту ліпідів та порушення початкових етапів трансдукції інсулінового сигналу, зокрема, процесів фосфорилування інсулінового рецептора та його субстратів (IRS-1/2), що вносить свій вклад у розвиток резистентності до інсуліну [114, 115].

Показано, що ВКД, яка містить надлишок не тільки жирів, але й вуглеводів, індукує зміни генної експресії в основних метаболічних тканинах. Так, утримання 25-тижневих самців щурів *Wistar* на ВКД, що містила 20 % цукрози та 10 % жиру (свиняче сало), упродовж чотирьох тижнів призводило до підвищення рівнів мРНК двох рецепторів адипонектину, лептину, рецепторів PPAR γ , протеїну UCP2 в жировій тканині та зниження рівнів даних показників у печінці [116]. Таким чином, сполучення високовуглеводної та високожирової дієти, за «західним» зразком харчування, спричиняє розвиток інсулінорезистентності одночасно за кількома молекулярними напрямками.

Як зазначалося вище, застосування низьких доз стрептозотоцину, на відміну від середніх, за умов даної моделі призводить до розвитку помірної інсулінової недостатності, характерної для інсулінонезалежного ЦД, яка має тривалий характер і добре переноситься тваринами. Разом із тим,

застосування неодноразових ін'єкцій низьких доз цитотоксиків з інтервалом часу підвищує ефективність індукції патології та стабільність її перебігу.

Вищенаведені рекомендації поєднуються в наступному варіанті моделі. Шеститижневих самців щурів лінії *Wistar* протягом одного місяця утримували на ВКД, яка складалася із 15 % свинячого жиру, 25 % цукрози, 2,5 % холестеролу, 1 % солей жовчних кислот та 56,5 % стандартного раціону, після чого тваринам інтраперитонеально вводили стрептозотоцин в дозі 25 мг/кг маси тіла один раз на тиждень протягом двох тижнів. Через сім діб після останньої ін'єкції стрептозоточину у 82 % щурів (74 тварини із 90) було встановлено порушення толерантності до вуглеводів, розвиток інсулінорезистентності, підвищення концентрації інсуліну в крові натще. Після останньої ін'єкції тварини отримували ВКД ще два місяці. В кінці експерименту щури мали базальну гіперглікемію, дисліпідемію (підвищення концентрації ТГ і ЗХС, зниження ЛПВГ), порушення функції нирок [117].

Встановлено, що метаболічні зміни за умов стрептозотоцинового діабету на тлі ВКД мають статеві особливості. Застосування вищенаведеної моделі з незначними змінами (ВКД без холестеролу, тривалістю шість тижнів до першої ін'єкції) у щурів *Wistar* призводило до більш значного підвищення інтолерантності до вуглеводів, інсулінорезистентності, гіпертригліцеридемії та рівня загальних ліпідів у печінці самців порівняно з самицями. Виявлено суттєвіше зростання рівня первинних продуктів ПОЛ та зниження ЗАА сироватки крові, яке супроводжувалось більшою виразністю оксидативного стресу в серці діабетичних самців у порівнянні з самицями. За даної моделі ЦД 2 типу спричиняв різноспрямований вплив на стан антиоксидантної системи захисту в мітохондріях серця тварин, активуючи її у самців та пригнічуючи у самиць. Крім того, діабет призводив до більш значного зниження активності аконітази й сукцинатдегідрогенази в мітохондріях серця та більшої активації неспецифічної мітохондріальної пори (mPTP) у самців щурів. Показано, що ЦД 2 типу супроводжувався більшим зниженням

активності NO-синтази, підвищенням активності гемоксигенази, більш виразними порушеннями системи коагуляційного гемостазу та розвитком діастолічної дисфункції міокарда у самиць на відміну від самців щурів [118–121].

Окрім щурів, відтворення інсулінонезалежного ЦД за допомогою сполучення ВЖД та діабетогенних сполук (стрептозотоцину, алоксану та ін.) застосовують також у мишей. Утримання тритижневих самців мишей *ICR* на ВЖД (35,5 % тваринного жиру) упродовж трьох тижнів із подальшою одноразовою ін'єкцією стрептозотоцину в дозі 100 мг/кг інтраперитонеально призводило через чотири тижні до зниження споживання їжі, зменшення маси тіла, падіння рівня інсуліну в крові, виразної гіперглікемії. Апробація даного дизайну експерименту на мишах *C57BL/6J* виявилася успішною на тлі ВЖД, проте застосування антидіабетичних сполук, метформіну та толбутаміду, яке знижувало гіперглікемію у лінії *ICR*, не пливало на мишей *C57BL/6J*. Було зроблено висновок, що миші *ICR* краще підходять для роботи з даною моделлю, ніж лінія *C57BL/6J*, через швидший розвиток гіперглікемії та вищі показники концентрації глюкози. Разом із тим, зниження споживання їжі та зменшення маси тіла не є характерними ознаками ЦД 2 типу [122].

Інший варіант моделі на мишах був відтворений у шестимісячних тварин лінії *C57BL/6N*, які отримували ВЖД (60 % тваринного жиру) протягом місяця, після чого – 1–5 ін'єкцій стрептозотоцину в дозі 40 мг/кг в режимі 1 ін'єкція/1 день упродовж п'яти діб. Через чотири тижні від першої ін'єкції рівень інсуліну в крові знизився у тварин, які отримали не менше двох доз. Толерантність до вуглеводів була порушена у тварин, що отримали 2–4 дози стрептозотоцину, в той час як чутливість до інсуліну знизилася у всіх мишей, окрім тих, яким ввели одну дозу. Маса панкреатичних острівців не змінилася під впливом ВЖД, проте знизилася на 50 % у мишей, що отримали три ін'єкції діабетогенної сполуки. Зниження маси тіла, як і дисліпідемію, спостерігали у тварин, яким ввели чотири або п'ять доз індуктора. Таким

чином, комбінація ВЖД та трьох послідовних ін'єкцій стрептозотоцину (40 мг/кг) була визнана ефективною та мінімально достатньою для індукції діабету в *шестимісячних* мишей *C57BL/6N* [123].

Підсумовуючи вищевикладене, модель низькодозового стрептозотоцинового діабету на тлі дієти із високим вмістом жирів та вуглеводів дозволяє отримати у тварин розвиток основних патогенетичних складових ЦД 2 типу – інсулінорезистентності та відносної інсулінової недостатності. Модель є економічно вигіднішою порівняно з генетичними моделями та швидшою у відтворенні, ніж діабет, який отримують в результаті довготривалих ВЖД без застосування діабетогенної сполуки. Модель добре переноситься тваринами, що дозволяє проводити довгострокові дослідження. Крім того, низька доза стрептозотоцину максимально знижує його цитотоксичний вплив на інші органи, і тривалий строк експерименту робить можливим дослідження діабетичних ускладнень, які розвилися внаслідок власне гіперглікемії, гіперінсулінемії, гіперліпідемії.

Слід зазначити, що для роботи з даною моделлю більше підходять щури, ніж миші, оскільки перші не потребують специфічних ліній для розвитку патології та впевнено відтворюють всі основні метаболічні ознаки інсулінонезалежного ЦД (гіперглікемія, гіперінсулінемія, інтолерантність до глюкози, інсулінорезистентність, дисліпідемія).

1.2.2.4. Дексаметазоновий діабет

Відомо, що надмірні дози глюкокортикоїдів змінюють чутливість до інсуліну в печінці, скелетних м'язах і жировій тканині, сприяючи розвитку інтолерантності до глюкози. В той же час, глюкокортикоїди можуть викликати дисфункцію β -клітин підшлункової залози. Дія даних гормонів на панкреатичні острівці є в основному непрямою і залежить від дози, тривалості введення та індивідуальної чутливості.

Підшкірне введення синтетичного глюкокортикоїду дексаметазону в дозі 0,125 мг/кг протягом 13 діб 18-місячним щурам *Sprague-Dawley* призводить до помірної базальної гіперглікемії, дворазового зростання концентрації інсуліну та НЕЖК в сироватці крові експериментальних тварин. Крім того, у них відзначають погіршення толерантності до вуглеводів та зниження чутливості периферичних тканин до дії інсуліну [124]. Гістологічні дослідження підшлункової залози 18-місячних щурів показали, що на 14-у добу після першої ін'єкції загальна кількість панкреатичних острівців у полі зору знижена в 3,7 рази, їх розміри зменшені в 4,8 рази порівняно з контролем, а форма змінена до неправильної. Клітинний профіль острівців на одному зрізі – в 3,3 рази менший від нормального, більшість клітин – у стані некрозу [125].

Введення дексаметазону за аналогічною схемою тримісячним щурам також призводить до розвитку інтолерантності до глюкози, інсулінорезистентності та гіперінсулінемії, але на відміну від старих щурів не викликає змін в базальній глікемії, тобто відтворює стан предіабету [124].

Так, у тримісячних самців *Wistar* через 14 діб після першої ін'єкції дексаметазону спостерігають підвищення базальної інсулінемії в 1,6–3 рази, зниження коефіцієнту чутливості до дії гормону – в два рази, рівень базальної глікемії не змінюється. Крім того, введення дексаметазону призводить до дворазового зростання концентрації НЕЖК в сироватці крові тварин та індукції вільнорадикального окислення ліпідів, про що свідчить збільшення

вмісту як первинних, так і вторинних продуктів ПОЛ в печінці щурів [126, 127, 128].

При застосуванні дексаметазону необхідно враховувати, що на характер інсулінемії впливають доза, шлях та термін введення сполуки. Після інтраперитонеального введення тримісячним самцям щурів *Wistar* дексаметазону в дозі 1 мг/кг один раз на добу упродовж 10 діб, у тварин спостерігають зниження маси тіла, гіперглікемію, *гіпоінсулінемію*, зниження периферичної чутливості до інсуліну, збільшення вмісту глікогену та ліпідів у печінці [129]. Крім того, встановлено потенційний вплив статевих гормонів на інсулінорезистентність за умов даної моделі. Так, тримісячні самиці щурів *Wistar*, яким вводили дексаметазон інтраперитонеально в дозі 1 мг/кг упродовж п'яти діб, виявилися резистентними до розвитку інтолерантності до глюкози, на відміну від самців того ж віку, що отримували стероїд за аналогічною схемою [130].

Механізм розвитку патологічних процесів, індукованих дексаметазоном, ще до кінця не з'ясований. Відомо, що порушення гомеостазу глюкози, яке виникає після тривалого або надмірного застосування глюкокортикоїдів, розвивається внаслідок контрінсулярного характеру дії даних гормонів у вісцеральній жировій тканині, печінці та скелетних м'язах. Надлишок глюкокортикоїдів може призводити до гіперсекреції інсуліну, яка зазвичай виявляється недостатньою, щоб компенсувати знижену чутливість периферичних тканин до гормону, що спричиняє подальшу гіперактивацію панкреатичних острівців або інсулінопенію, залежно від індивідуальної чутливості [131].

Дослідження механізму дії дексаметазону на підшлункову залозу є складним, оскільки результати, отримані *in vitro*, часто не відтворюються у тварин, а за умов *in vivo* системні метаболічні наслідки введення стероїду (зміни циркулюючих рівнів глюкози, НЕЖК, гормонів) маскують опосередковані зміни в β -клітинах. Встановлено, що компоненти, які

лежать в основі інтенсифікації функції β -клітин на тлі введення дексаметазону, включають підвищення чутливості до глюкози за рахунок сполучення (“coupling”) процесів стимуляції та секреції (напр., підвищена острівцева генерація НАДФ та посилення мітохондріальної функції й сигналів внутрішньоклітинного Ca^{2+} у відповідь на глюкозу), активацію Ca^{2+} -залежних протеїнкіназ, посилення відповіді на холінергічні сигнали, неглюкозні інсулінові секретагоги (амінокислоти та НЕЖК) і неметаболичні сигнали, активацію цАМФ-залежних протеїнкіназ та інсулінових сигнальних протеїнів (напр., фосфорильований рецептор β інсуліну та його субстрат IRS-2, PI3K, фосфорильовані протеїнкіназа В та її субстрат (p-AS160)), підвищений вміст білка внутрішньоклітинної комунікації – конексину 36. В експериментальних тварин відзначають також зниження кліренсу інсуліну та активності печінкового ензиму, який здійснює деградацію інсуліну; можливе збільшення маси α -клітин та підвищення рівня циркулюючого глюкагону [132]. Виявлено, що після короткотривалої експозиції дексаметазону у щурів може розвиватися збільшення β -клітинної маси [133].

Показано, що обробка дексаметазоном підвищує у тварин продукцію острівцевого амیلіодного поліпептиду аміліну, який синтезується панкреатичними β -клітинами і є головною складовою частиною острівцевого амیلіоду, що утворюється у пацієнтів, хворих на ЦД 2 типу. Фізіологічне значення аміліну ще до кінця не вивчено, але його супресивний ефект щодо дії інсуліну в скелетних м'язах, печінці та гальмування секреції інсуліну в поєднанні з амیلіодогенними властивостями свідчать про можливу роль даного пептиду в патогенезі інсулінонезалежного ЦД [134, 135].

В цілому, на тлі введення дексаметазону майже всі адаптивні реакції панкреатичних острівців залежать від віку і статі тварини, дози і терміну введення сполуки та реципрокно пов'язані з відповідним зниженням периферичної чутливості до інсуліну. Гострий період введення дексаметазону (не більше п'яти діб) характеризується збереженням функціонального зв'язку

між інсуліночутливими тканинами та β -клітинами, що супроводжується гіперсекрецією інсуліну і може призвести або не призвести до інтолерантності до глюкози та гіперглікемії натще [132]. Подальший напрямок функціональних порушень в β -клітинах за умов надмірних доз глюкокортикоїдів можна спостерігати у чутливих тварин. Так, у щурів *Zucker*, яким вводили високі дози дексаметазону, розвивалася виразна інсулінопенія [136]. Так само, у мишей *ob/ob* з ожирінням, які отримували дексаметазон упродовж 1–2,5 доби в дозі 0,5 мг/кг, спостерігали зниження інсулінової секреції, стимульованої глюкозою [137]. Механізми виникнення інсулінопенії можуть включати α 2-адренергічні сигнали [138], а також безпосередню інактивацію мітохондріальної ФАД-гліцерофосфат-дегідрогенази – ферменту, який відіграє ключову роль у секреції інсуліну, індукованій глюкозою [139].

Таким чином, дексаметазоновий діабет у старих щурів *Wistar* дозволяє відтворити головні патогенетичні механізми (порушення секреції та дії інсуліну), що спостерігають у хворих на ЦД 2 типу. Варіант дексаметазонової моделі у молодих тварин доцільно використовувати для дослідження нових цукрознижуючих препаратів, механізм дії яких полягає в поліпшенні толерантності до вуглеводів та чутливості периферичних тканин до дії інсуліну (бігуаніди, тiazолідиндіони та ін.). Модель є швидкою у відтворенні та економічно вигідною. Проте варто підкреслити, що застосування надмірних доз глюкокортикоїдів, окрім інсулінорезистентності та гіперглікемії, може мати нехарактерний для ЦД 2 типу вплив на деякі органи та системи організму тварин, що необхідно враховувати під час інтерпретації результатів дослідження.

1.3. Інсулінозалежний цукровий діабет, індукований вірусами

Генетичні фактори вважають найважливішим компонентом розвитку ЦД 1 типу у людини. Разом із тим, все більше доказів свідчать, що навколишнє середовище може відігравати критичну роль в індукції діабетичного стану, впливаючи на гени, які визначають чутливість до діабету. Епідеміологічні дослідження показали, що серологічна реактивність до вірусної інфекції може бути асоційована зі стартом інсулінозалежного ЦД. Припускають, що деякі віруси (в першу чергу, *ентеровіруси*) відіграють роль діабетогенного каталізатора у генетично чутливих осіб [28, 140].

Розвиток ЦД 1 типу у людини асоціюють із великою кількістю вірусів, серед яких найбільше виділяють *ентеровірус Коксакі В (CVB)*, віруси *краснухи й епідемічного паротиту, цитомегаловірус, ротавірус*, вірус *Епштейна-Барр* [140, 141].

Виявлено, що у тварин індукція діабетичного стану може бути пов'язана з такими збудниками, як *CVB* у мишей та нелюдських приматів, вірус *енцефаломіокардиту (ЕМС)*, вірус *Менго, ретро- та реовіруси* у мишей, вірус *Kilham у щурів (KRV)*, вірус *ящуру* у свиней та великої рогатої худоби, вірус *краснухи* у хом'яків та кролів, збудник *вірусної діареї великої рогатої худоби, цитомегаловірус* у дегу [142].

Слід зазначити, що первинні ізоляти людських патогенів загалом не є панкреатропними або літичними до β -клітин тварин і потребують адаптації до розвитку в них шляхом щеплення підсосних тварин або шляхом послідовного пасажу в культурах тваринних β -клітин. Наприклад, пікорнавіруси (зокрема, *вірус Коксакі В4, CVB4*), що адаптовані до росту в організмі мишей, в основному є тропними до екзокринної тканини підшлункової залози та міокарда, але тропізм пікорнавірусів та реовірусів до β -клітин може бути збільшений шляхом серійного пасажу у первинних культурах мишиних ембріонних фібробластів або острівцевих клітин. Крім того, різні лінії тварин

мають різну генетичну чутливість до діабетогенної дії людських вірусів, адаптованих до росту у тваринних клітинах [28].

Встановлено, що віруси можуть викликати розвиток діабету щонайменше двома шляхами: 1) безпосереднього ушкодження інсулін-продукуючих β -клітин за допомогою цитолітичної інфекції (як висока доза вірусу *EMC-D* у генетично чутливих мишей *SJL/J*, *SWR*, *DBA/2*); 2) відіграючи роль тригера або сприятливого фактора в розвитку специфічного β -клітинного аутоімунітету (як вірус *KRV* у щурів *BB-DR*). Разом із тим, наявні дані, що віруси здатні виказувати протективний вплив на індукцію ЦД у спонтанно діабетичних щурів *BB* та мишей *NOD* [28, 142, 143].

Варіант *D* вірусу *EMC* (*EMC-D*) індукує інсулінозалежний діабет більше, ніж у 90 % інфікованих мишей. Тварини з тривалістю діабету 6 міс. мають дифузний та вузловий типи гломерулосклерозу, а також зміни в рогівці та судинах сітківки ока, характерні для хворих на ЦД 1 типу. Інфікування чутливих мишей *SJL/J* високим титром (5×10^5 БУО/тварину) вірусу *EMC-D* призводить до розвитку діабету упродовж чотирьох діб в результаті гострої деструкції β -клітин через реплікацію вірусу в них. При цьому встановлено, що макрофаги відіграють значну роль у процесі руйнування β -клітин у інфікованих тварин. Зараження мишей низькою дозою вірусу *EMC-D* (50–100 БУО/тварину) викликає на початковому етапі міграцію макрофагів у панкреатичні острівці з подальшою інфільтрацією їх іншими імуніцитами – Т-клітинами, натуральними кілерами (NK) та В-клітинами. Виявлено, що розчинні медіатори (ІЛ-1 β , ФНП- α , NO), які продукуються активованими макрофагами в даних тварин, відіграють критичну роль у деструкції залишкових β -клітин, хоча точний молекулярний механізм даного процесу нез'ясований [142].

На відміну від *EMC-D*, вірус *KRV* індукує розвиток діабету, викликаючи аутоімунну відповідь проти β -клітин. Зараження тритижневих резистентних до діабету щурів *BB-DR* (*BioBreeding diabetes-resistant*) вірусом *KRV*

супроводжується розвитком аутоімунного діабету упродовж 2–4 тижнів у 30 % тварин, та інсулітом без діабету ще у 30 % щурів. Захворюваність підвищують до 80–100 % шляхом введення поліінозинової:поліцитидилової кислоти (poly (I:C)) як імуностимулятора разом із *KRV*. Встановлено, що розвиток патології під впливом *KRV* відбувається внаслідок порушення імунного балансу, включаючи переважну активацію ефекторних Т-клітин, таких як Th1-подібні $CD45RC^+CD4^+$ Т-клітини і $CD8^+$ Т-клітини, та пригнічення Th2-подібних $CD45RC^-CD4^+$ і $CD4^+CD25^+$ Т-клітин [144].

В результаті експериментальних досліджень було показано, що взаємозв'язок вірусної інфекції з розвитком діабету є складним. Так, застосування вірусу *CVB* у мишей *NOD* мало суперечливі результати. У даних тварин вірус *CVB* призводить до активації реакцій аутоімунітету, що супроводжується деструкцією панкреатичних острівців [28, 140]. Було виявлено, що вірусний ефект залежить від певного моменту предіабетичної фази, в якій відбувається інфікування. Так, розвиток діабету виразно посилювався у восьмитижневих мишей *NOD*, інфікованих вірусом *CVB 4 типу (CVB4)*, але зараження більш молодих, шеститижневих, тварин не впливало на перебіг патології [145]. В той же час, інше дослідження не виявило суттєвої схильності *CVB4*, як і *CVB3*, до пришвидшення діабету у восьмитижневих мишей, навпроти – усі сім штамів *CVB3* та два штами *CVB4* пригнічували прогресування діабету порівняно з контрольними мишами у 2–10 разів. Серед факторів, які можуть впливати на *CVB*-індукований антидіабетичний ефект, було названо штам вірусу, фенотип його вірулентності, імунну відповідь мишей *NOD* як хазяїна на конкретну інфекцію та вік, у якому вперше відбувається інфікування *CVB* [146]. Подібні фактори обов'язково необхідно враховувати під час екстраполяції даних експериментальних досліджень на людину. Примітно, що інші віруси, які пов'язують з патогенезом інсулінозалежного ЦД у тварин, у деяких випадках також опосередковують захисні ефекти. Наприклад, якщо вірус *EMC-D*

викликає деструкцію β -клітин і подальший розвиток діабету у мишей без участі Т-клітин, то у мишей *NOD*, схильних до діабету, *EMC-D* здатний відмінити аутоімунні реакції [142, 147].

Коли епідеміологічні дослідження свідчать про те, що вірусна інфекція є потенційним чинником діабету, в моделях на тваринах докази індуктивної ролі вірусів зустрічаються так часто, як і докази їх протективної дії. Головними факторами, які визначають напрямок розвитку патогенетичних подій за умов вірусної інфекції, вважають природу вірусу (що включає структурну подібність збудника до β -клітинних антигенів, його тропізм до β -клітин, здатність індукувати хронічну інфекцію) та стан аутоімунітету організму під час інфекції (продукція достатньої кількості аутореактивних Т-клітин, кількісний та якісний склад цитокінового середовища в панкреатичних острівцях і в усьому організмі). Отже, вірус може стати причиною діабетичної патології у разі виникнення сприятливих умов, але також може порушити розвиток негативних подій [140].

Таким чином, моделі діабету вірусного генезу є непростими у відтворенні, оскільки результат експерименту залежить від генетичної чутливості тварин, ефективності самого збудника, зокрема його штаму, часу інфікування та багатьох інших факторів. Разом із тим, дані моделі підтвердили той факт, що віруси представляють собою важливий чинник ризику ЦД 1 типу, і розширили знання про патогенез інсулінозалежного діабету.

2. ГЕНЕТИЧНО ДЕТЕРМІНОВАНІ ФОРМИ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

2.1. Генетично детерміновані моделі інсулінозалежного цукрового діабету

На теперішній час виведені декілька ліній гризунів, для яких характерний спонтанний розвиток інсулінозалежного ЦД. Серед подібних моделей у науковій літературі можна зустріти як класичні – миші *NOD* і щури *BB*, так і менше відомі, але все частіше використовувані в роботі – щури *LEW.1ARI/Ztm-iddm*, щури *Komeda diabetes-prone*, миші *Akita*. Слід зазначити, що мишей *NOD* та щурів *BB* до сьогодні вважають найкращими моделями інсулінозалежного ЦД аутоімунного генезу.

2.1.1. Миші *NOD*

Інбредна лінія мишей *non-obese diabetic (NOD)* була отримана *S. Makino* шляхом селективного розведення мишей *Jcl:ICR* в *Aburahi Laboratories, Shionogi & Co.*, м. Осака, Японія, протягом 1974–1980 рр. [148].

Інсулінозалежний ЦД у мишей *NOD* розвивається спонтанно в середньому на 12–13-й тиждень життя. В момент маніфестації патологія характеризується полідипсією, глюкозурією, швидкою втратою маси тіла, гіперглікемією та, на відміну від інших моделей, стійкістю до розвитку кетоацидозу. Перед тим, як з'являється гіперглікемія, розвивається інсуліт в панкреатичних острівцях, прогресуюча деструкція β -клітин та зниження рівня інсуліну в плазмі крові, що призводить до формування інсулінової залежності. Без введення екзогенного інсуліну тварини гинуть протягом 4–8 тижнів від зневоднення. Клінічні, морфологічні та імунологічні характеристики у мишей *NOD* дуже подібні до ЦД 1 типу людини. Так само, як у людей, спостерігають тривалий латентний період захворювання, що є зручним для дослідження не тільки цукрознижуючих засобів, але й для

вивчення антидіабетичних препаратів, які запобігають або гальмують аутоімунну деструкцію панкреатичних β -клітин та стимулюють регенерацію останніх [27, 148, 149].

На відміну від хворих на ЦД 1 типу, для мишей *NOD* характерна одночасна інфільтрація імунocyтaми інших залоз та органів (слинна та щитовидна залози, наднирники), що спричиняє розвиток супутніх захворювань (тиреоїдит, сіалоаденіт, гемолітична анемія та ін.), а також виразний статевий диморфізм виникнення діабетичного синдрому – маніфестний діабет розвивається у 70–80 % самиць та у 10–20 % самців, при цьому важкість інсуліту у них однакова. Частоту маніфестації діабету можна підвищити до 100 % шляхом внутрішньочеревного введення тваринам у 20-добовому віці стрептозотоцину в дозі 20 мг/кг один раз на добу протягом 5 діб [149, 150].

Слід зазначити, що для ефективної індукції діабетичного стану миші *NOD* потребують утримання за SPF-умов (specific pathogen free). Тварини, яких утримують за звичайних умов, мають низьку частоту розвитку діабету або відстрочене виникнення глюкозурії [151].

Галузь експериментального застосування мишей *NOD* включає дослідження сполук з можливим гіпоглікемічним та імунокоригуючим ефектом (підвищення інсулінової забезпеченості організму та гальмування аутоімунної деструкції панкреатичних β -клітин), а також засобів, спрямованих на посилення регенерації інсулінопродукуючих клітин [18, 150, 152].

2.1.2. Щури BB

Тварини були виявлені в 1974 р. у *Bio Breeding Laboratories of Canada*, м. Оттава, Канада, серед щурів популяції *Wistar*, яких утримували за SPF-умов.

Інсулінозалежний ЦД у щурів *BioBreeding (BB)* характеризується

гіпоінсулінемією, гіперглікемією, полідипсією, поліурією, кетонурією. Частота діабету в базовій колонії коливалась в межах від 0 до 50 % (в середньому 8 %). У подальші роки шляхом селекції були отримані тварини, у яких частота діабету на 120-у добу від народження становила 25–59 %, а у щурів частково інбредної колонії *BB/w* – близько 70 %. Гіперглікемія у даних тварин розвивається з однаковою частотою як у самців, так і в самиць. Початок захворювання, як правило, гострий та важкий, характеризується виразною інфільтрацією імунокомпетентними клітинами навколо панкреатичних острівців та в них самих (інсуліт) зі швидкою втратою β -клітин, лімфоцитарним тиреоїдитом (до 50 % тварин) без порушень функції щитоподібної залози. Більшість щурів для підтримання життя потребує постійних ін'єкцій інсуліну (нестабільна форма), проте деякі тварини можуть тривалий час обходитися без інсулінотерапії (стабільна форма) [153, 154].

У щурів із маніфестним інсулінозалежним ЦД спостерігають селективне порушення секреції інсуліну, індукованої глюкозою. Втрата чутливості до глюкози притаманна також α - та δ -клітинам підшлункової залози. Результатом важкого дефіциту інсуліну є підвищений гліюконеогенез та глікогеноліз у печінці. У тварин відзначають підвищення концентрації НЕЖК та ТГ у крові та зниження загального вмісту жирів і білків в організмі. Для щурів *BB* характерне швидке прогресування діабетичного стану від норми до глибокої метаболічної декомпенсації протягом кількох діб, що закінчується загибеллю тварин в результаті кетоацидозу без інсулінотерапії. Існує низка доказів аутоімунного генезу діабетичного синдрому у щурів *BB*: панкреатичний інсуліт передуює маніфестації захворювання, існує можливість «переносу» (adoptive transfer) патології від діабетичних тварин до імуносупресивних і резистентних до діабету тварин-реципієнтів, а також можливість попередження виникнення клінічних ознак захворювання, як і морфологічних порушень, за допомогою імуносупресивної та імуномодулюючої терапії [154, 155].

Головним обмеженням моделі є наявність у щурів *BB* від народження тяжкої Т-клітинної лімфопенії, яка відсутня у людей, хворих на ЦД 1 типу, та мишей *NOD* [156]. Окрім того, щури *BB* подібно до мишей *NOD* потребують спеціальних умов утримання: за SPF-умов діабет розвивається раніше та має суттєво вищу частоту виникнення; VAF-умови (viral antibody free) також збільшують відсоток діабетичних тварин. Втім, вищезначене обмеження є водночас перевагою – щурів *BB* вважають ефективною моделлю для вивчення впливу факторів навколишнього середовища на розвиток ЦД [151].

Даних тварин використовують у дослідженнях сполук із потенційним гіпоглікемічним, імунокоригуючим та стимулюючим регенерацію інсуліно-продукуючих клітин ефектом. На стадії маніфестації захворювання щури *BB* є зручною моделлю для вивчення патогенезу та терапії діабетичних ангіопатій та поліендокринопатій [154, 157].

2.1.3. Щури *LEW.1A1/Ztm-iddm*

Модель *insulin-dependent diabetes mellitus (iddm)* з'явилася через спонтанну мутацію в колонії щурів *Lewis* із визначеним гаплотипом головного комплексу гістосумісності (МНС) *Lew.1A1* (інтра-МНС рекомбінація гаплотипів *a* та *u*), яких розводили в *Institute for Laboratory Animal Science of Hannover Medical School (Ztm)*, м. Ганновер, Німеччина; вперше описані у 2001 р. [158].

У даних тварин розвивається інсуліт, виражена маніфестація діабету спостерігається приблизно на 8–9-й тиждень життя. Якщо спочатку поширеність діабету в популяції складала 20 %, то із подальшим інбридингом кількість діабетичних щурів обох статей збільшилася до 60 %. Предіабетичний період з інфільтрацією панкреатичних острівців у тварин спостерігають приблизно за тиждень до розвитку гіперглікемії. Відносно короткий термін предіабету дозволяє проводити ефективний аналіз різних стадій інфільтрації імунними клітинами. На відміну від мишей *NOD* та щурів

BB, щури *LEW.1ARI/Ztm-iddm* не мають інших аутоімунних хвороб, а також характерної для щурів *BB* лімфопенії. Тварини також добре виживають після старту діабету і можуть бути використані для дослідження діабетичних ускладнень [158, 159].

Модель використовують для вивчення механізмів, які беруть участь в розвитку ЦД 1 типу, як генетичних, так і патогенетичних (інсуліт). Окрім того, із застосуванням лінії *LEW.1ARI/Ztm-iddm* проводять дослідження нових імуномодулюючих агентів як потенційних засобів у складі комплексної терапії ЦД 1 типу [18, 157].

2.1.4. Щури *KDP*

Щури *Komeda diabetes-prone (KDP)*, названі за прізвищем д-ра *K. Komeda*, були отримані від лінії *Long-Evans Tokushima Lean (LETL)*, яких селективно розводили з метою створення недіабетичної, але схильної до діабету з високою частотою лінії в *Animal Research Center, Tokyo Medical College*, м. Токіо, Японія, у 1990-х рр. [160].

У даних щурів розвиваються типові ознаки ЦД 1 типу: поліурія, гіперглікемія, втрата маси тіла на 60-у добу. Кумулятивна частота діабету для обох статей становить 70 % у віці 120 діб та сягає 82 % у віці 220 діб [160, 161]. Подібно до інших генетичних аутоімунних моделей ЦД 1 типу, причиною втрати панкреатичних β -клітин у щурів *KDP* є інсуліт, проте цитокіновий профіль дещо відрізняється – у *KDP* головними прозапальними цитокінами в імунному інфільтраті є ІФН- γ та ФНП- α , а не ІЛ- β [156]. Хоча дані тварини не є лімфопенічними (як щури *BB*), вони мають ознаки аутоімунітету до слинних та слізних залоз, виявлена лімфоцитарна інфільтрація щитоподібної залози та нирок [153, 160].

Щурів *KDP* майже не досліджували за межами Японії, і хоча модель вважають перспективною для експериментів різного профілю, до сьогодні тварин використовували переважно для вивчення генетичної складової

ЦД 1 типу. Як і у випадку з іншими моделями гризунів, було встановлено, що ІІ клас МНС відіграє важливу роль у розвитку діабету. Також було визначено інший не-МНС ген чутливості до діабету 1 типу (Casitas B-lineage lymphoma b), поліморфізм якого виявлений у людини [18, 161].

2.1.5. Миші *Akita*

Миші *Akita* (також відомі як миші *Ins2* та *MODY4*) були виведені наприкінці 1990-х рр. в м. Акіта, Японія, на базі лінії *C57Bl/6Nslc* зі спонтанною мутацією в гені 2 інсуліну (*Ins2*). На сьогодні комерційно доступними є *Akita* на базі інших генетичних ліній [18, 162].

Аутосомна домінантна міссенс-мутація гену *Ins2* призводить до порушення фолдингу проінсуліну-2. Показано, що у мишей *Akita* цей неправильно укладений протеїн утворює агрегати в ендоплазматичному ретикулюмі (ER), непридатні для секреції, накопичення яких супроводжується розвитком ER-стресу та апоптозом β -клітин підшлункової залози [162, 163]. Загибель β -клітин спричиняє розвиток інсулінозалежного діабету, що стартує на 3–4-й тиждень життя і характеризується відсутністю інсуліту, гіперглікемією, вторинною до гіпоінсулінемії, поліурією, полідипсією. Гіперглікемія має статевий диморфізм – у самиць її інтенсивність є нижчою, ніж у самців [27, 164]. Гомозиготні тварини, які не отримують інсулінотерапії, рідко доживають до 12 тижнів [165]. Проте, гетерозиготи обох статей виживають близько 6 міс. без щоденних ін'єкцій інсуліну, що вигідно відрізняє мишей *Akita* від мишей *NOD* [27]. Крім того, у лінії *Akita* розвиваються вищі рівні гіперглікемії, альбумінурії, кров'яного тиску та більш стійкі структурні зміни в нирках порівняно з тваринами, у яких діабетичну нефропатію індукують введенням стрептозотоцину [164].

Мишей *Akita* використовують для дослідження ЦД як 1, так і 2 типів. Виражена недостатність інсуліну в самців дає фенотип ЦД 1 типу і тварин застосовують для дослідження судинних ускладнень та діабетичної

нейропатії. Крім того, нездатність панкреатичних β -клітин до регенерації робить модель корисним інструментом для трансплантаційних досліджень. В той же час, роль β -клітинного ER-стресу у патогенезі захворювання представляє інтерес для дослідження ЦД 2 типу, модель використовують у дослідженнях потенційних інгібіторів ER-стресу в підшлунковій залозі [18, 157].

2.2. Генетично детерміновані моделі інсулінонезалежного цукрового діабету

Для дослідження інсулінонезалежного ЦД використовують різні генетичні моделі тварин – моногенні та полігенні, з ожирінням і без нього.

Серед моногенних моделей важливе місце посідають лінії гризунів, дефіцитні за гормоном лептином або його рецептором. Завдяки одногенним мутаціям, які спричиняють порушення функції «фактору насичення» лептину або його рецептору, у тварин спонтанно розвивається гіперфагія, що призводить до ожиріння та маніфестації ознак, характерних для ЦД 2 типу – інсулінорезистентності, гіперглікемії, дисліпідемії, деяких макро- та мікрovasкулярних ускладнень.

На сьогодні серед лептин-асоційованих моделей миші *ob/ob* та *db/db*, а також щури *Zucker fatty* та *Zucker diabetic fatty (ZDF)* є найбільш популярними для дослідження патогенезу ЦД 2 типу, ожиріння, лептинового сигналіngu та взаємодій між ними. У фармакологічних дослідженнях для оцінки ефективності цукрознижуючих засобів, інсуліносенситайзерів, інсулінових секретагогів та сполук від ожиріння частіше за інших використовують мишей *db/db* [166].

2.2.1. Миші *ob/ob*

Модель тяжкого ожиріння походить від спонтанної мутації, виявленої в колонії безпородних мишей у *Jackson Laboratory*, м. Бар Гарбор, Мен, США, у 1949 р. Згодом фенотип було виведено у мишей *C57Bl/6*, аж поки у 1994 р. мутований протеїн ідентифікували як лептин [167].

Аутосомна рецесивна мутація гену *obese* (ген лептину в шостій хромосомі, *Lep^{ob}*) призводить до того, що тварини мають фактичну недостатність функціонального лептину [166]. Гіперфагія та знижений рівень фізичної активності у гомозигот (*ob/ob*) спричиняють розвиток тяжкого ожиріння на 4-й тиждень після народження. У тварин виявлено порушення термогенезу, яке визначається вже у віці 10 діб. Діабет-подібний синдром характеризується гіперглікемією, помірною інтолерантністю до глюкози, вираженою гіперінсулінемією, гіперліпідемією, зниженою плодючістю та ослабленою здатністю до загоювання ран. У тварин лінії *C57Bl/6J* гіперглікемія є тимчасовою і ослаблюється на 14–16-й тиждень життя, в той час як у мишей *C57Bl/Ks* експресія гену *obese* спричиняє розвиток вираженого діабету з регресією панкреатичних острівців та ранньою смертю [11, 168].

У мишей *ob/ob* ожиріння супроводжується гіпертрофією та гіперплазією панкреатичних острівців [168]. Хоча відзначають порушення вивільнення інсуліну, острівці зберігають інсулінову секрецію, і відсутність повноцінної β -клітинної дисфункції означає, що діабет не є тяжким, а модель не є достатньо репрезентативною відносно ЦД 2 типу людини [167]. Гіперінсулінемія у даних тварин не розвивається раніше за збільшення маси тіла. Інсулінорезистентність асоційована з надмірною продукцією глюкози печінкою, підвищеною активністю ферментів глюконеогенезу, зниженою активністю гліколітичних та глікоген-синтетичних ензимів, підвищеним рівнем ліпогенезу в печінці. Концентрація глюкози в крові дорослих мишей *C57Bl/6J* (*ob/ob*) зберігається на нормальному рівні завдяки стійкій

гіперінсулінемії. На молекулярному рівні інсулінорезистентність пов'язана з низьким рівнем зв'язування інсуліну зі своїми рецепторами, порушенням їх аутофосфорилування та ослабленням сигнальної трансдукції [28, 168].

Слід зазначити, що введення лептину коригує більшість діабетичних ознак у мишей *ob/ob*, причому зниження гіперінсулінемії та гіперглікемії спостерігається раніше, ніж зменшення ожиріння [166].

З огляду на те, що етіологія й патогенез ожиріння та діабетичного синдрому у людини мають доволі відмінний характер від мишей з моногенною спадковою недостатністю лептину, модель має певні обмеження використання. Тим не менше, виражене ожиріння, гіперінсулінемія та інсулінорезистентність у мишей *ob/ob* упродовж життя дозволяють застосовувати їх для дослідження агентів, які знижують масу тіла та поліпшують периферичну інсулінорезистентність. У зв'язку з цим, інсуліносенситайзери, засоби від ожиріння, антигіперглікемічні сполуки та інші, що мають антидіабетичну активність, продовжують широко вивчатися за допомогою даної моделі [11].

2.2.2. *Muui db/db*

Аутомно-рецесивна мутація гену *diabetes* (ген лептинового рецептору в четвертій хромосомі, *Lepr^{db}*) була виявлена у мишей інбредної лінії *C57Bl/KsJ* у 1965 р. в *Jackson Laboratory*, США.

У гомозигот *db/db* розвивається ожиріння після підсосного періоду. Діабетичному синдрому притаманна гіперфагія, полідипсія, поліурія, гіперглікемія, тимчасова гіперінсулінемія, гіперглюкагонемія та прогресуюча інсулінова резистентність. У 5–8-місячному віці у тварин спостерігається виразний некроз панкреатичних β -клітин, інсулінопенія, різко наростаюча гіперглікемія, кетоз. Протягом декількох тижнів зменшується маса тіла і тварини помирають [28].

У мишей даної лінії виявлена підвищена чутливість до інфекції,

знижена здатність відторгати аlogenні трансплантати та розвивати цитотоксичні відповіді Т-клітин після сенсibilізації *in vivo*. Спостерігається рання інволюція тимусу, розвиток Т-лімфоцитопенії з дисбалансом субпопуляцій Т-клітин. Більшість із цих процесів є вторинними відносно метаболічних порушень (гіперінсулінемія, хронічна гіперглікемія, гіперліпідемія) [169]. Модель *db/db* також характеризується порушенням скорочувальної функції серця, яка маніфестує у тварин вже у віці 8–10 тижнів. Метаболічні зміни в міокарді включають перехід окислювального метаболізму від глюкози як головного енергетичного джерела переважно на жирні кислоти [170].

Мутація гену *db* діє самостійно як діабетогенний стрес, викликаючи інсулінову залежність. Сила відповіді на цей стрес залежить від генетичного фону, на якому експресується ген, та від дієти. Так, на відміну від чутливої до діабету інбредної лінії *C57Bl/KsJ*, тварини інбредної лінії *C57Bl/6J* є резистентними до мутації гену *db*. У них експресія даного гену характеризується гіперплазією панкреатичних β -клітин та гіперінсулінемією, достатньою для компенсації діабетогенного стресу (у цих мутантних мишей розвивається ожиріння без діабету) [28, 169].

Мишей *db/db* широко застосовують для дослідження патогенезу ЦД 2 типу, ожиріння, лептинового сигналіngu, в фармакології – для тестування інсуліносенситайзерів, інсулінових секретagogів, засобів проти ожиріння [169, 170]. Чітка тривалість діабетогенезу у лінії *C57Bl/KsJ-db/db* дозволяє використовувати даних тварин для характеристики цукрознижуючої дії нових сполук, а також речовин з позитивним впливом на регенерацію панкреатичних β -клітин на різних стадіях патологічного процесу (інтолерантність до глюкози, маніфестний інсулінонезалежний та маніфестний інсулінозалежний діабет). Крім того, модель можна використовувати для оцінки впливу хронічної терапії новими анти-діабетичними сполуками на спонтанну еволюцію інсулінової залежності.

2.2.3. Щури *Zucker fatty*

Тварини були виявлені вченими *L. M. Zucker* та *T. F. Zucker* під час схрещування щурів *Merck (M-лінія)* та щурів *Sherman* у *Harriet Bird Memorial Laboratory*, м. Стоу, Масачусетс, США, у 1961 р. [11].

Щури *Zucker fatty (fa/fa)* мають аутосомно-рецесивну мутацію гену *Lep^r^{fa}* у п'ятій хромосомі, яка призводить до того, що всі ізоформи лептинового рецептору, які досі продукуються в цій лінії, є нефункціональними [166]. Тварини характеризуються гіперфагією та раннім стартом ожиріння у віці 4 тижнів. Останнє асоціюється з гіперліпідемією, гіперхолестеролемією, гіперінсулінемією та помірною гіпертензією. У деяких джерелах повідомляється про наявність у щурів *Zucker fatty* слабкої або помірної гіперглікемії [11, 171, 172]. Рання інсулінорезистентність та інтолерантність до глюкози призводять до морфологічних та функціональних змін у панкреатичних острівцях [173]. Вважають, що порушена глюкозотолерантність у щурів *fa/fa* може бути спричинена метаболічними дефектами у печінці, оскільки кліренс глюкози у даних тварин є нормальним, натомість пригнічення продукції глюкози печінкою після її перорального прийому не знижується, а навіть стимулюється упродовж деякого часу [174].

У щурів *fa/fa* також відзначають підвищений рівень соматостатину в крові, незважаючи на гіперглікемію, в основному у дорослих гризунів, та знижені рівні гормону росту й пролактину [11]. Крім того, виявлено, що тварини мають прозапальний і протромботичний стан, про що свідчать підвищені рівні відповідних маркерів у циркуляторному руслі: плазміногену, активатору інгібітору плазміногену-1, С-реактивного білка [172].

Щури *Zucker fatty* є найвідомішою і найчастіше використовуваною моделлю генетичного ожиріння. Разом із тим, наявність гіперінсулінемії, гіпертригліцеридемії та помірної гіпертензії робить модель корисною для дослідження предіабетичного стану. Через характерні зміни ліпідного профілю (підвищені рівні ЛПДНГ і ТГ в циркуляції) щурів *fa/fa* часто

застосовують для дослідження гіперліпідемії, асоційованої із ЦД 2 типу. У фармакології модель широко використовують для скринінгу ефектів різних інсуліносенситайзерів та агентів від ожиріння, а також для тестування стимуляторів секреції інсуліну та інкретиноміметиків [172, 175].

2.2.4. Щури *Zucker diabetic fatty*

Щури *ZDF* – це результат селективного інбридингу щурів *Zucker fatty* з гіперглікемією, що був націлений на отримання моделі з характерними ознаками діабету. Селекцію розпочали у 1977 р., коли діабетичних тварин у колонії *Zucker* вперше виявив д-р *W. Shaw* (*Eli Lilly & Co*, м. Індіанаполіс, Індіана, США), а закінчили у 1980-х рр. виведенням інбредної лінії під керівництвом д-ра *R. Peterson* (*Indiana University School of Medicine*) [176].

Тварини мають аутомно-рецесивний дефект транскрипції в β -клітинах, який наслідуються незалежно від мутації гену *Lepr*. Ген, відповідний за дефект, не визначений, але встановлено, що дане порушення самостійно не здатне спричинити розвиток діабету і тільки сполучення із мутацією *Lepr^{ob}* призводить до гіперглікемії [166].

Діабет у щурів *ZDF* розвивається через неспроможність тварин адекватно компенсувати інсулінорезистентність. Вони не мають тяжкого ожиріння, але є більш інсулінорезистентними, ніж щури *Zucker fatty*. Самці більше, ніж самиці, схильні до розвитку діабету, який маніфестує у віці 7–10 тижнів. Натомість самиці мають ожиріння та інсулінорезистентність, але не є діабетичними, тому їх часто використовують як контроль [176, 177].

На відміну від щурів *fa/fa*, здатність до підвищеної секреції інсуліну з метою компенсації периферичної інсулінорезистентності у лінії *ZDF* є обмеженою: маса панкреатичних β -клітин знижена, самі β -клітини слабкі й легко піддаються тиску збільшеної секреції. Показано, що первинний дефект полягає не в проліферації β -клітин, а у підвищеному рівні їх апоптозу [178]. Тварини мають ослаблену інсулінову відповідь β -клітин на глюкозу, проте

залишаються інтактними до неглюкозних секретагів, напр., аргініну та агоністів пуринорецепторів [177, 179].

Недостатній рівень інсуліну у сполученні з негативною регуляцією β -клітинних транспортерів GLUT-2 у підшлунковій залозі є основною причиною гіперглікемії у щурів *ZDF*. Зниження транспорту глюкози спостерігається у жировій тканині та скелетних м'язах і асоційоване зі зниженим рівнем GLUT-4. Показаний ліпотоксичний вплив високих рівнів НЕЖК в циркуляції та ТГ у панкреатичних β -клітинах на функцію самих β -клітин [179].

Поміж іншим, у щурів *ZDF* відзначають наявність помірної гіпертензії та схильність до гідронефрозу. Структурні зміни в нирках включають розширення мезангіального матриксу, інфільтрацію макрофагами та інтерстиціальний фіброз [164].

Щури *ZDF* є однією із найчастіше використовуваних моделей для дослідження механізмів, пов'язаних з інсулінорезистентністю та дисфункцією β -клітин підшлункової залози за умов ЦД 2 типу. Даних тварин застосовують для вивчення впливу діабету на функцію нирок, очей, загоювання ран, швидкість нервової провідності [177]. У фармакологічних дослідженнях модель *ZDF* є зручним і корисним інструментом для оцінки впливу нових інсулінотропних сполук, інсуліносенситайзерів, засобів для зниження продукції глюкози печінкою, інгібіторів всмоктування вуглеводів у кишківнику та інших [180].

Слід зазначити, що головним обмеженням моделей із дефіцитом лептину або його рецептору є їх генетична моногенність, в той час як діабет гетерогенної людської популяції за своєю етіологією – полігенне, багатофакторне захворювання. Окрім того, на сьогодні відомо, що розвиток ЦД 2 типу пов'язаний із поліморфізмом майже чотирьох десятків генів, але гену лептину або його рецептору серед них немає [166]. Таким чином, вибір вищезначених моделей для дослідження ЦД 2 типу потребує зваженого

підходу з точки зору їх здатності адекватно відтворювати необхідні патогенетичні ланки захворювання.

Серед інших моделей, які застосовують для вивчення нових фармакологічних препаратів, спрямованих на лікування ЦД 2 типу – щури без ожиріння *Goto-Kakizaki* та щури з ожирінням *Otsuka Long Evans Tokushima Fatty (OLETF)*, що мають полігенний характер успадкування діабетичного синдрому.

2.2.5. Щури *Goto-Kakizaki*

Тварини були виведені *Y. Goto* та *M. Kakizaki*, *Hirosaki University School of Medicine*, м. Хіросакі, Японія, у 1970-х рр. шляхом селективного інбридингу щурів *Wistar* із порушеною толерантністю до глюкози [181].

Щури *Goto-Kakizaki* обох статей характеризуються відсутністю ожиріння, помірною стабільною базальною гіперглікемією, ослабленою секрецією інсуліну, інсулінорезистентністю, гіперліпідемією та раннім розвитком діабетичних ускладнень [182].

Дана лінія має неонатальний дефіцит β -клітинної маси, у дорослих щурів загальна маса панкреатичних β -клітин може бути зменшеною на 60 % поряд із відповідним зниженням запасів інсуліну. Вважають, що дефіцит β -клітинної маси та функції може бути результатом недостатності панкреатичних факторів росту упродовж гестації та вторинного зниження рівня диференціювання β -клітин внаслідок хронічного впливу гіперглікемії та гіперліпідемії (глюколіпотоксичність) упродовж поколінь (епігенетичні зміни). Окрім того, у щурів *Goto-Kakizaki* встановлено розвиток запальної відповіді навколо острівців підшлункової залози та підвищені рівні в них цитокінів/хемокінів і маркерів оксидативного стресу [183]. З віком структура панкреатичних острівців у даних щурів порушується – розвивається фіброз, який розділяє нитки ендокринних клітин і робить острівці схожими за формою на морські зірки [157].

Окрім дефекту β -клітин, у тварин встановлена знижена чутливість до інсуліну в печінці, скелетних м'язах та жировій тканині. Ослаблення секреції інсуліну та надмірна продукція глюкози печінкою розвиваються рано та роблять більший внесок у розвиток гіперглікемії, ніж периферичні тканини [184]. Незважаючи на відсутність ожиріння, у щурів *GK* виявлені ознаки хронічного запального процесу. Щодо діабетичних ускладнень, повідомляється про зміни структури та функції нирок, гіпертензію та кардіальну гіпертрофію, прояви діабетичної ретинопатії, нейропатії, остеопатії [182].

Не дивлячись на високий рівень інбредності, гомогенності, генетичної детермінованості та відсутність ожиріння, притаманного гетерогенній популяції хворих на ЦД 2 типу, щурів *Goto-Kakizaki* вважають однією з кращих моделей для дослідження етіології, патофізіології та прогресування ЦД 2 типу, а також діабетичних ускладнень (особливо нефропатії). Тварин часто використовують для вивчення взаємодії між змінами маси β -клітин та частотою ЦД 2 типу [182, 183]. В той же час, модель *Goto-Kakizaki* застосовують для дослідження фармакологічних ефектів та механізму дії майже всіх типів антидіабетичних сполук (похідні сульфонілсечовини, інгібітори α -глюкозидази, тiazолідиндіони, бігуаніди, інгібітори глюконеогенезу, аналоги глюкагоноподібного пептиду 1 (ГПП-1), інгібітори дипептидилпептидази 4, гліфлозини) [180].

2.2.6. Щури *OLETF*

Лінія *OLETF* була отримана *K. Kawano* шляхом селективного розведення спонтанно діабетичних щурів із колонії безпородних тварин *Long Evans* у розпліднику компанії *Otsuka Pharmaceuticals Co.*, м. Токушіма, Японія, у 1984 р. [185].

У щурів *OLETF* діабет розвивається після 18-го тижня життя і наслідується переважно самцями. Індукція патології асоційована з великою

кількістю рецесивних генів. Тварини мають вроджену поліфагію, інсулінорезистентність розвивається у віці 12–24 тижнів, згодом – помірне ожиріння, гіперглікемія, гіперінсулінемія, гіпертригліцеридемія, гіперхолестеролемія, гіпертензія, порушення функції нирок, полідипсія, поліурія. Перші зміни в панкреатичних острівцях щурів спостерігають у віці до 9 тижнів у вигляді помірної лімфоцитарної інфільтрації; гіперпластична стадія (гіперплазія та фіброз навколо та в самих острівцях) триває у період 10–40 тижнів. У віці після 40 тижнів острівці тварин дегенерують настільки, що розвивається синдром, характерний для діабету 1 типу [185, 186].

Встановлено, що лінія *OLETF* є нокаутною за рецептором холецистокініну-1. Пептид холецистокінін продукується в кишківнику та функціонує як периферичний сигнал насичення. Експерименти за участю саме щурів *OLETF* допомогли у вивченні ролі холецистокініну в метаболізмі та розумінні механізмів сигнальної трансдукції між кишківником та мозком [187].

Разом із тим показано, що розвиток діабету у щурів *OLETF* має безпосередній зв'язок із дефектами у проліферації панкреатичних β -клітин, оскільки тварини, яким було проведено панкреатектомію 70 % підшлункової залози мають стійку гіперглікемію через вкрай низьку здатність β -клітин до регенерації після хірургічного втручання. Застосування нікотинаміду сприяло підвищенню проліферації β -клітин та зниженню гіперглікемії [188].

Порушення функції нирок у лінії *OLETF* представляють виразну альбумінурію у віці 22 тижнів, а на 54-й тиждень життя у тварин спостерігають макроальбумінурію, вузлові ураження, дифузний гломерулосклероз та тубулоінтерстиціальний фіброз, подібні до діабетичної нефропатії у людини [164].

Щурів *OLETF* широко застосовують у фармакологічних дослідженнях цілої низки антидіабетичних та антигіпертензивних засобів, зокрема, антагоністів Ca^{2+} , похідних сульфонілсечовини, інгібіторів α -глюкозидази,

тіазолідиндіонів, бігуанідів, інгібіторів гліюконеогенезу, аналогів ГПП-1. Даних тварин також використовують для моделювання діабетичних ускладнень [180]. Так, модель *OLETF* вважають однією з найкращих для відтворення діабетичної нефропатії [164]. Крім того, тварин використовують для моделювання діабетичної нейропатії та катаракти [180, 189].

3. ІНШІ МОДЕЛІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

3.1. Інсулінонезалежний цукровий діабет, індукований дієтою

Відомо, що довготривале утримання гризунів на ВЖД або ВКД є ефективним методом індукції ожиріння в експериментальних тварин. В той же час, високоенергетичні дієти використовують для моделювання інсулінонезалежного ЦД, оскільки вони дозволяють відтворити механізм розвитку ЦД 2 типу людини, індукованого ожирінням.

Висококалорійні дієти у мишей та щурів

У мишей ожиріння індукують утриманням тварин на дієті, що містить приблизно від 35,8 % до 58 % жирів. За даних умов отримати розвиток виразного діабету, як правило, не вдається, проте інсулінорезистентність, яка супроводжується інтолерантністю до глюкози, є характерною ознакою подібних моделей [190, 191]. У такий спосіб звичайно відтворюють предіабетичний стан. Збільшення маси тіла у тварин, які отримують ВЖД, спостерігають уже через тиждень від початку дієти, проте виразне ожиріння, а також підвищення рівня глюкози, інсуліну, лептину в крові, інсулінорезистентність розвиваються приблизно на 10-й тиждень експерименту [20]. Слід зазначити, що чутливість до ожиріння, індукованого дієтою, може відрізнятись у різних ліній мишей та щурів. Так, миші *C57Bl/6* є чутливими до розвитку ожиріння та гіперглікемії за умов утримання на ВЖД [191, 192].

Серед щурів найчастіше використовують лінії *Sprague-Dawley* та *Wistar*, хоча повідомляється, що щури *Wistar* є більш чутливими для відтворення метаболічних фенотипів [193]. У щурів *Sprague-Dawley* застосування дієти з додаванням свинячого сала та цукрози (ВЖД + ВКД) призводить до змін маси тіла на 30-у добу. На 56-у добу відзначають розвиток виразного ожиріння, інсулінорезистентності та гіперглікемії [194]. Показано, що

утримання самців щурів *Wistar* на дієті з високим вмістом жирів (65 %) та низьким вмістом вуглеводів (10 %) дозволяє через 16 міс. отримати розвиток діабету, що характеризується гіперглікемією натще, інтолерантністю до глюкози, зниженою секрецією інсуліну, інсулінорезистентністю, а також підвищеними рівнями ТГ, НЕЖК, ЗХС і зниженим рівнем ХС ЛПВГ в плазмі крові тварин [195]. Проте, застосування ВЖД або високофруктоктозної дієти упродовж коротших термінів (2–4 міс.) як у самців, так і у самиць щурів *Wistar* моделює лише предіабетичний стан [196–199].

В експерименті комбінацію ВЖД та ВКД вважають найбільш адекватною для відтворення раціону людини, який сприяє розвитку ожиріння. Втім, збільшення кількості калорій у дієті тварин, як правило, впливає на добовий об'єм споживаної ними їжі, зменшуючи розмір порцій. Останнє може призводити до дефіциту протеїнів у раціоні, що необхідно контролювати.

Діабет, індукований дієтою, у пустельних гризунів

Мишоподібний гризун *денна піщанка* (*Psammomys obesus*, *Sand rat*), що мешкає в пустелі, у своєму природному середовищі має нормальну масу тіла, оскільки її раціон представлений низькокалорійною рослинною дієтою. Проте за умов лабораторного утримання, на тлі стандартної дієти, у гризуна розвивається ожиріння, гіперінсулінемія та гіперглікемія [200]. Даний ефект пов'язаний із низьким рівнем адаптації до надлишкового харчування і може бути використаний як модель «економного гену». Остання передбачає, що швидкий перехід від дефіциту їжі до її достатку в деяких країнах, що розвиваються, призвів до епідемії ЦД. У *денної піщанки* порушення нормального глюкозного метаболізму відбувається у чотири етапи: стадія А характеризується нормоглікемією та нормоінсулінемією, стадія В – нормоглікемією та гіперінсулінемією, стадія С – гіперглікемією та гіперінсулінемією, стадія D – гіперглікемією, інсулінопенією. Перші три

стадії піддаються корекції дієтою, але стадія D супроводжується виснаженням β -клітин і є незворотною [201].

Іншою моделлю ЦД 2 типу «природного» походження є *трав'яна миша* (*Arvicanthis niloticus*, *African grass rat*, *Nile rat*). Як і у денної піщанки, дієта *трав'яної миши* за звичайних умов представлена багатими на клітковину напівпустельними рослинами. Однак годування даних тварин стандартним кормом для гризунів індукує у них розвиток метаболічного синдрому, який поступово прогресує до ЦД 2 типу, що характеризується інсулінорезистентністю, гіперінсулінемією, абдомінальним ожирінням, гіпертонією, підвищенням рівня ТГ та зниженням – ЛПВГ, зрештою – гіперглікемією та виснаженням β -клітин, що призводить до інсулінової недостатності та діабету в кінцевій стадії з тяжким кетозом. Дисфункція β -клітин у *трав'яних мишей* розвивається за тією ж схемою, що і у хворих на ЦД 2 типу, причому її можна зупинити, якщо перевести тварин на корм для шиншил із високим вмістом клітковини. *Трав'яну мишу* вважають корисною моделлю для дослідження деяких діабетичних ускладнень, таких як катаракта і ниркова недостатність [202, 203].

Голчаста миша (*Acomys cahirinus*) – пустельний гризун, метаболізм якого пристосований до раціону з обмеженою калорійністю. Подібно до вищенаведених тварин, утримання за лабораторних умов із достатком харчування призводить у даного виду до розвитку гіперглікемії. Проте шлях індукції діабетичного стану не є типовим для людини, оскільки індукується високим вмістом жирів, а не вуглеводів. На високовуглеводній дієті у *голчастої миши* розвивається виражений ліпогенез в печінці, гіперліпідемія, підвищення рівня ЛПДНГ без ожиріння та діабету, хоча наявна гіпертрофія β -клітин. Утримання даних гризунів на ВЖД призводить до збільшення маси тіла й жирової тканини, що супроводжується гіперінсулінемією та гіперглікемією із непереносимістю глюкози [201, 203].

В цілому, патофізіологічні зміни, які відбуваються в організмі описаних гризунів за умов віварію, є характерними для багатьох пацієнтів із ЦД 2 типу, що дозволяє використовувати даних тварин як модель переїдання та розвитку адаптаційної недостатності β -клітин підшлункової залози.

Пренатальні дієти

Відомо, що у людини виникнення деяких метаболічних захворювань може бути пов'язане із порушенням обміну речовин на ранніх стадіях індивідуального розвитку. Достатній рівень поживних речовин у пренатальному віці є надзвичайно важливим фактором для нормального розвитку плода, і як дефіцит, так і надлишок нутрієнтів можуть призводити до порушень глюкозного гомеостазу в дорослому віці [204].

Самиці щурів, яких під час вагітності утримували на дієті з низьким вмістом протеїнів (5–8 % замість 20 %), народжують потомство з обмеженням росту та низькою масою тіла, у яких в подальшому розвиваються ознаки інсулінонезалежного ЦД. Після народження у щурів спостерігають період швидкого постнатального росту, що вважають важливим компонентом моделі. Спочатку чутливість до інсуліну посилюється, проте в дорослому віці розвивається інсулінорезистентність, яка супроводжується формуванням діабетичного фенотипу [205, 206]. Показано, що обмеження за вмістом білка раціону вагітних тварин викликає структурні зміни у панкреатичних острівцях потомства, а також метаболічні порушення у чутливих до дії інсуліну тканинах – печінці, жировій тканині, м'язах. Панкреатичні острівці таких новонароджених є меншими, ніж у контрольних тварин, та мають вищий рівень апоптозу [205–207].

Утримання вагітних самиць щурів на ВЖД (40 % переважно тваринного жиру) супроводжується народженням потомства, яке на 21-й день життя має знижену масу тіла та гіпоінсулінемію. При цьому, щурята, матері яких отримували ВЖД упродовж лише першого, другого або третього тижня гестації, мали гіперглікемію, зниження кількості та розмірів як β -, так і

α -клітин підшлункової залози. Натомість, щурята, матері яких отримували ВЖД протягом усього періоду гестації, мали нормальний розвиток панкреатичних β - та α -клітин [208]. Самиці щурів, які отримували ВЖД (20 % тваринного жиру) під час вагітності та у підсосний період, приводять потомство, яке у дорослому віці має гіперглікемію, інсулінорезистентність, β -клітинну дисфункцію. У даних нащадків встановлено також розвиток дисліпідемії та кардіоваскулярної дисфункції, якій передують зниження вмісту мітохондріальної ДНК в нирках і зниження експресії мітохондріального геному в аорті [209]. Утримання новонароджених самиць щурів на молочній суміші з високим вмістом вуглеводів (56 % від загальної кількості калорій в суміші проти 8 % в натуральному молоці щурів) призводить до хронічної гіперінсулінемії та ожиріння у дорослому віці, причому в подальшому даний фенотип передається їх потомству [210].

Таким чином, застосування високоенергетичних дієт у дорослих невагітних тварин упродовж помірного проміжку часу дозволяє отримати метаболічні зміни, етіологія та характер яких є аналогічними до предіабетичного стану людини, індукованого ожирінням. Проте, відтворення інсулінонезалежного ЦД за даних умов потребує або генетично чутливого виду чи лінії гризунів, або багато часу. Разом із тим, використання спеціалізованих дієт у трансгенних і нокаутних, а також вагітних тварин є корисним інструментом для визначення ролі окремих генів та факторів у порушенні адаптаційних можливостей панкреатичних острівців до чинників, що викликають ожиріння і зміни глюкозного гомеостазу.

ЗАКЛЮЧЕННЯ

Через збільшення поширеності ЦД в усьому світі зростає інтерес до експериментального моделювання даної патології, що відіграє важливу роль у з'ясуванні патогенезу діабету та його судинних ускладнень. Крім того, експериментальні моделі необхідні для проведення доклінічних досліджень нових антидіабетичних засобів та розробки ефективних терапевтичних стратегій, які дозволять зменшити прогресування діабетичних мікро- та макроангіопатій. Потрібно зазначити, що спектр існуючих на сьогодні експериментальних моделей інсулінової недостатності не обмежується тими формами, що були наведені вище, а їх кількість постійно зростає.

Усі доступні на сьогоднішній день експериментальні моделі на гризунах (хімічні, хірургічні та генетичні) мають як свої переваги, так і суттєві обмеження для застосування, що залежить від мети дослідження. У зв'язку з цим, пошуки нових моделей ЦД, які дозволять ідентифікувати основні механізми захворювання або провести коректне тестування терапевтичних втручань, необхідно продовжувати.

Оптимальна модель ЦД повинна відповідати наступним критеріям: 1) відтворювати основні патогенетичні ланки захворювання у людини та бути придатною для їх вивчення; 2) бути чутливою до дії антидіабетичних препаратів та придатною для проведення фармакологічного скринінгу і дослідження механізму антидіабетичної дії потенційних лікарських засобів.

Таким чином, моделі ЦД на експериментальних тваринах сьогодні розглядають як надзвичайно корисні інструменти для вивчення патофізіології та клінічних аспектів захворювання та завжди використовують на першому етапі дослідження нової перспективної терапії. Незважаючи на наявність багатьох відмінностей у фізіології тварин і людини та існування багатьох обмежень (розмір тварин, доступність, вартість тощо), експериментальні моделі ЦД широко застосовують в сучасній діабетології та фармакології. Це

обумовлено тим, що їх можна легко перевірити, отримати необхідний біологічний матеріал, обрати відомі генетичні та епігенетичні чинники, провести дослідження такого плану, які неможливі у людини. Проте, під час експериментів на тваринах необхідно завжди пам'ятати про етичні норми: використовувати тварин лише тоді, коли вони є незамінними для дослідження, уникати заподіяння їм болю, страждань і тривалої шкоди.

Подальші дослідження ЦД на різних моделях експериментальних тварин потрібні для кращого розуміння механізмів захворювання, виявлення нових мішеней для його фармакотерапії та коректної екстраполяції результатів доклінічних досліджень на людину.

ЛІТЕРАТУРА

1. IDF Diabetes Atlas [Electronic resource] / International Diabetes Federation. – 9th ed. – Brussels, Belgium : [s. n.], 2019. – 176 p. – Available from : <http://www.idf.org>.
2. Herman, W. H. Type 2 diabetes: an epidemic requiring global attention and urgent action [Text] / W. H. Herman, P. Zimmet // Diabetes Care. – 2012. – Vol. 35, №5. – P. 943–944.
3. Diabetes: an old disease, a new insight [Text] / ed. by S. I. Ahmad. – New York : Springer Science & Business Media, 2013. – 485 p.
4. Fowler, M. J. Microvascular and macrovascular complications of diabetes [Text] / M. J. Fowler // Clin. Diabetes. – 2008. – Vol. 26, № 2. – P. 77–82.
5. Cardiovascular complications in diabetes: lessons from animal models [Текст] / M. A. Potenza, C. Nacci, S. Gagliardi, M. Montagnani // Curr. Med. Chem. – 2011. – Vol. 18, № 12. – P. 1806–1819.
6. Acute and chronic animal models for the evaluation of anti-diabetic agents [Electronic resource] / S. Kumar, R. Singh, N. Vasudeva, S. Sharma // Cardiovasc. Diabetol. – 2012. – Vol. 11. – Article № 9. – 13 p. – Access mode : <http://www.cardiab.com/content/11/1/9>.
7. Полтора́к, В. В. Експериментальне вивчення нових гіпоглікемічних засобів [Текст] / В. В. Полтора́к, Н. І. Горбенко // Доклінічні дослідження лікарських засобів / під ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – С. 396–408.
8. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes [Electronic resource]. – Strasbourg : Council of Europe, 1986. – Access mode : <https://www.coe.int/ru/web/conventions/full-list/-/conventions/rms/090000168007a67b>.

9. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes [Electronic resource] / The European Parliament and the Council of the European Union // Official Journal of the European Union. – 2010. – Vol. 276. – P. 33–79. – Access mode : <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:0079:EN:PDF>.
10. Socorro, M. Pancreatic regeneration models, mechanisms, and inconsistencies [Electronic resource] / M. Socorro, F. Esni // Pancreapedia: exocrine pancreas knowledge base. – 2017. – 11 p. – Access mode : <http://dx.doi.org/10.3998/panc.2017.03>.
11. Srinivasan, K. Animal models in type 2 diabetes research: an overview [Text] / K. Srinivasan, P.Ramarao // Indian J. Med. Res. – 2007. – Vol. 125, № 3. –P. 451–472.
12. Leahy, J. L. Minimal chronic hyperglycemia is a critical determinant of impaired insulin secretion after an incomplete pancreatectomy [Text] / J. L. Leahy, S. Bonner-Weir, G. C. Weir // J. Clin. Invest. – 1988. – Vol. 81, № 5. – P. 1407–1414.
13. Bonner-Weir, S. Partial pancreatectomy in the rat and subsequent defect in glucose-induced insulin release [Text] / S. Bonner-Weir, D. F. Trent, G. C. Weir // J. Clin. Invest. – 1983. – Vol. 71, № 6. – P. 1544–1553.
14. Kurup, S. Combined effect of nicotinamide and streptozotocin on diabetic status in partially pancreatectomized adult BALB/c mice [Text] / S. Kurup, R. R. Bhonde // Horm. Metab. Res. – 2000. – Vol. 32, № 8. – P. 330–334.
15. Wang, R. N. Duct- to islet-cell differentiation and islet growth in the pancreas of duct-ligated adult rats [Text] / R. N. Wang, G. Kloppel, L. Bouwens // Diabetologia. – 1995. – Vol. 38, № 12. – P. 1405–1411.
16. β -Cells are not generated in pancreatic duct ligation induced injury in adult mice [Text] / M. M. Rankin, C. J. Wilbur, K. Rak [et al.] // Diabetes. – 2013. – Vol. 62, № 5. – P. 1634–1645.

17. The VMH-dietary obese rat: a new model of non-insulin-dependent diabetes mellitus [Text] / K. V. Axen, X. Li, K. Fung, A. Sclafani // Amer. J. Physiol. – 1994. – Vol. 266, № 3. – P. R921-R928.
18. King, A. Animal models of type 1 and type 2 diabetes mellitus [Text] / A. King, A. Austin // Animal models for the study of human disease / ed. by P. M. Conn. – 2nd edition. – Cambridge, UK : Academic Press, 2017. – P. 245–265.
19. Etuk, E. U. Animals models for studying diabetes mellitus [Text] / E. U. Etuk // Agric. Biol. J. N. Amer. – 2010. – Vol. 1, № 2. – P. 130–134.
20. Islam, M. S. Experimental rodent models of type 2 diabetes: a review [Text] / M. S. Islam, D. T. Loots // Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol. – 2009. – Vol. 31, № 4. – P. 249–261.
21. Lenzen, S. Alloxan: history and mechanism of action [Text] / S. Lenzen, U. Panten // Diabetologia. – 1988. – Vol. 31, № 6. – P. 337–342.
22. Корженевский, Д. А. Определение содержания эндогенного аллоксана в крови человека [Текст] / Д. А. Корженевский, А. А. Селищева, С. В. Савельев // Биомед. химия. – 2009. – Т. 55, № 3. – С. 343–349.
23. Induction of type-1 diabetes mellitus in laboratory rats by use of alloxan: route of administration, pitfalls, and insulin treatment [Text] / I. F. Federiuk, H. M. Casey, M. J. Quinn [et al.] // Comp. Med. – 2004. – Vol. 54, № 3. – P. 252–257.
24. Lenzen, S. The mechanisms of alloxan and streptozotocin induced diabetes [Text] / S. Lenzen // Diabetologia. – 2008. – Vol. 51, № 2. – P. 216–226.
25. Можейко, Л. А. Экспериментальные модели для изучения сахарного диабета. Часть I. Аллоксановый диабет [Текст] / Л. А. Можейко // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2013. – № 3. – С. 26–29.

26. Экспериментальные модели сахарного диабета 1-го типа [Текст] / М. И. Ярмолинская, Н. Ю. Андреева, Е. И. Абашова, Е. В. Мишарина // Журн. акушерства и женск. болезней. – 2019. – Т. 68, № 2. – С. 109–118.
27. Leiter, E. H. Genetic and Pharmacologic Models for Type 1 Diabetes [Text] / E. H. Leiter, A. Schile // Curr. Protoc. Mouse Biol. – 2013. – Vol. 3, № 1. – P. 9–19.
28. McNeill, H. J. Experimental models of diabetes / ed. by J. H. McNeill. – Boca Raton, Florida, USA : CRC Press, 1999. – 424 p.
29. Determinants of susceptibility to the induction of autoimmune diabetes in inbred strains of rats [Text] : abstract / N. Lalić, M. Mostarica-Stojković, M. Devecerski [et al.] // Glas Srp. Akad. Nauka Med. – 1991. – № 41. – P. 161–165.
30. Патогенез сахарного диабета 1 типа и экспериментальные модели на лабораторных грызунах [Текст] / И. Г. Гвазава, О. С. Роговая, М. А. Борисов [и др.] // Acta Naturae. – 2018. – Т. 10, № 1 (36). – С. 25–35.
31. Rakieten, N. Studies on the diabetogenic action of streptozotocin (NSC₃₇₉₁₇) [Text] / N. Rakieten, M. L. Rakieten, M. V. Nadkarni // Cancer Chemother. Rep. – 1963. – Vol. 29. – P. 91–98.
32. Bennett, R. A. Alkylation of DNA in rat tissues following administration of streptozotocin [Text] / R. A. Bennett, A. E. Pegg // Cancer Res. – 1981. – Vol. 41, № 7. – P. 2786–2790.
33. Site-specific DNA methylation and apoptosis: induction by diabetogenic streptozotocin [Text] / M. Murata, A. Takahashi, I. Saito, S. Kawanishi // Biochem. Pharmacol. – 1999. – Vol. 57, № 8. – P. 881–887.
34. Elsner, M. Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin [Text] / M. Elsner, B. Guldbakke, M. Tiedge [et al.] // Diabetologia. – 2000. – Vol. 43, № 12. – P. 1528–1533.

35. Yamamoto, H. Streptozotocin and alloxan induce DNA strand breaks and poly(ADP-ribose) synthetase in pancreatic islets [Text] / H. Yamamoto, Y. Uchigata, H. Okamoto // Nature. – 1981. – Vol. 294. – P. 284–286.
36. Можейко, Л. А. Экспериментальные модели для изучения сахарного диабета. Часть II. Хирургический, стрептозотоциновый и дитизоновый диабет [Текст] / Л. А. Можейко // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2013. – № 4. – С. 5–10.
37. Challenges and issues with streptozotocin-induced diabetes – a clinically relevant animal model to understand the diabetes pathogenesis and evaluate therapeutics [Text] / S. N. Goyal, N. M. Reddy, K. R. Patil [et al.] // Chem. Biol. Interact. – 2016. – Vol. 244. – P. 49–63.
38. Полторац, В. В. Стрептозотоциновый и вирусный инсулин-зависимый сахарный диабет (аутоиммунные аспекты) [Текст] / В. В. Полторац, К. О. Блох // Пробл. эндокринологии. – 1989. – Т. 35, № 3. – С. 81–88.
39. Горбенко, Н. И. Влияние фенсукцинала на показатели оксидативного стресса в митохондриях печени диабетических крыс [Текст] / Н. И. Горбенко // Пробл. эндокрин. патологии. – 2004. – № 2. – С. 91–95.
40. Горбенко, Н. І. Вплив таурин-вмісного препарату «Кратал» на розвиток діабетичної нефропатії у щурів [Текст] / Н. І. Горбенко, Т. С. Звягіна, А. С. Шаламай // Фармакол. та лікарськ. токсикол. – 2012. – № 1 (26). – С. 34–39.
41. Горбенко, Н. І. Вплив фенсукциналу на функціональний стан мітохондрій печінки щурів із стрептозотоциновим діабетом [Текст] / Н. І. Горбенко // Експерим. клін. фізіол. біохім. – 2003. – № 3. – С. 92–96.
42. Tumorigenic action of streptozotocin on the pancreas and kidney in male wistar rats [Text] / T. Kazumi, G. Yoshino, S. Fujii, S. Baba // Cancer Res. – 1978. – Vol. 38, № 7. – P. 2144–2147.

43. Like, A. A. Streptozotocin-induced pancreatic insulinitis: a new model of diabetes mellitus [Text] / A. A. Like, A. A. Rossini // *Science*. – 1976. – Vol. 193, № 4251. – P. 415–417.
44. Lukić, M. L. Effector mechanisms in low-dose streptozotocin-induced diabetes [Text] / M. L. Lukić, S. Stosić-Grujčić, A. Shahin // *Dev. Immunol.* – 1998. – Vol. 6, № 1–2. – P. 119–128.
45. Multiple low-dose streptozotocin-induced diabetes in the mouse. Evidence for stimulation of a cytotoxic cellular immune response against an insulin-producing beta cell line [Text] / R. C. McEvoy, J. Andersson, S. Sandler, C. Hellerström // *J. Clin. Invest.* – 1984. – Vol. 74, №3. – P. 715–722.
46. Modulation of low-dose streptozotocin-induced diabetes in mice by administration of antibodies to I-A, I-E and I-J determinants [Text] / U. Kiesel, M. Oschilewski, M. Taniguchi, H. Kolb // *Diabetologia*. – 1989. – Vol. 32. – P. 173–176.
47. Превентивний ефект фенсукциналу щодо розвитку абсолютної інсулінової недостатності аутоімунного генезу [Текст] / Н. І. Горбенко, В. В. Полтораєк, О. І. Гладких, О. В. Іванова // *Ліки*. – 2000. – № 3–4. – С. 106–110.
48. Горбенко, Н. І. Антиоксидантна активність похідного янтарної кислоти – фенсукциналу *in vitro* та *in vivo* [Текст] / Н. І. Горбенко // *Фізіол. актив. речовини*. – 2002. – Т. 34, № 2. – С. 83–86.
49. Multiple low-dose streptozocin-induced diabetes in NOD-scid/scid mice in the absence of functional lymphocytes [Text] / I. C. Gerling, H. Friedman, D. L. Greiner [et al.] // *Diabetes*. – 1994. – Vol. 43, № 3. – P. 433–440.
50. Reddy, S. Low dose streptozotocin causes diabetes in severe combined immunodeficient (SCID) mice without immune cell infiltration of the pancreatic islets [Text] / S. Reddy, D. Wu, R. B. Elliott // *Autoimmunity*. – 1995. – Vol. 20, № 2. – P. 83–92.

51. Kinetics of immune cell responses in the multiple low-dose streptozotocin mouse model of type 1 diabetes [Text] / Z. Luo, C. Soläng, M. Mejia-Cordova [et al.] // *FASEB Bioadv.* – 2019. – Vol. 1, № 9. – P. 538–549.
52. Interleukin-1 receptor antagonist prevents low dose streptozotocin induced diabetes in mice [Text] / J. O. Sandberg, A. Andersson, D. L. Eizirik, S. Sandler // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1994. – Vol. 202, № 1. – P. 543–548.
53. Reduced sensitivity of inducible nitric oxide synthase-deficient mice to multiple low-dose streptozotocin-induced diabetes [Text] / M. Flodström, B. Tyrberg, D. L. Eizirik, S. Sandler // *Diabetes.* – 1999. – Vol. 48, № 4. – P. 706–713.
54. Kiesel, U. Low-dose streptozotocin-induced autoimmune diabetes is under the genetic control of the major histocompatibility complex in mice [Text] / U. Kiesel, H. Kolb // *Diabetologia.* – 1982. – Vol. 23, № 1. – P. 69–71.
55. Kiesel, U. Genetic control of low-dose streptozotocin-induced autoimmune diabetes in mice [Text] / U. Kiesel, F. W. Falkenberg, H. Kolb // *J. Immunol.* – 1983. – Vol. 130, № 4. – P. 1719–1722.
56. Immunological basis of the strain differences in susceptibility to low-dose streptozotocin-induced diabetes in rats [Text] / M. L. Lukić, R. Al-Sharif, M. Mostarica [et al.] // *Lymphatic tissues and in vivo immune responses / ed. by B. A. Imhof [et al.]*. – New York : Marcel Dekker, 1991. – P. 643–647.
57. Shahin, A. Transforming growth factor β 3 and inteferon gamma modulate the development of Th-1 mediated autoimmunity in susceptible and resistant strains of rats [Text] / A. Shahin, T. A. Mahmoud, M. L. Lukić // *Transplant. Proc.* – 1995. – Vol. 27, № 2. – P. 1535–1536.
58. Goldberg, E. D. Diabetogenic activity of chelators in some mammalian species [Text] / E. D. Goldberg, V. A. Eshchenko, V. D. Bovt // *Endocrinologie.* – 1990. – Vol. 28, № 2. – P. 51–55.

59. Діабетогенна активність дитизону у тварин різних видів [Текст] / Н. В. Григорова, Ю. В. Єщенко, Є. Ю. Гороховський [та ін.] // Вісн. Запоріз. нац. ун-ту. – 2009. – № 2. – С. 85–89.
60. Содержание цинка в панкреатических островках при экспериментальном диабете, индуцированном хелатирующими агентами [Текст] / З. Е. Бавельский, Т. В. Завязкина, Ю. С. Моисеев, В. И. Медведев // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 1992. – Т. 33, № 3. – С.29–32.
61. Okamoto, K. Experimental studies on production and progress of diabetes mellitus by zinc reagents [Electronic resource] / K. Okamoto, T. Fujiwara, K. Sukenari [et al.] // Tohoku J. Exp. Med. – 1955. – Vol. 61, Suppl. III. – P. 1–35. – Access mode : https://www.jstage.jst.go.jp/article/tjem1920/61/supplIII/61_supplIII_1/_article/-char/ja/.
62. Мейрамова, А. Г. Диабетогенные цинксвязывающие β -цитотоксические соединения [Текст] / А. Г. Мейрамова // Пробл. эндокринологии. – 2003. – Т. 49, № 2. – С. 8–16.
63. Бавельский, З. Е. Хелатирование цинка панкреатических бета-клеток как один из механизмов нарушения продукции инсулина [Текст] : автореф. дис. ... д-ра мед наук : 14.00.03 / Бавельский Залман Евгеньевич ; Киев. НИИ эндокринологии и обмена вещ-в. – К., 1989. – 37 с.
64. Mechanism of action of diabetogenic zinc-chelating agents. Model system studies [Text] / R. M. Eprand, A. R. Stafford, M. Tyers, E. Nieboer // Molec. Pharmacol. – 1985. – Vol. 27, № 3. – P. 366–374.
65. Goldberg, E. D. The diabetogenic and acidotropic effects of chelators [Text] / E. D. Goldberg, V. A. Eshchenko, V. D. Bovt // Exp. Pathol. – 1991. – Vol. 42, № 1. – P. 59–64.

66. Протективний ефект фенсукцинала щодо розвитку дитизонового діабету у кролів [Текст] / Н. І. Горбенко, В. В. Полторак, О. І. Гладких, О. В. Іванова // Вісн. фармації. – 2000. – Т. 1, № 21. – С. 44–46.
67. Іванова О. В. Перспективність корекції інсулінорезистентності різного генезу похідними азолів та азолазинів (експериментальне дослідження) [Текст] : дис. ... канд. біол. наук : 14.01.14 : захищена 13.10.05 ; затв. 19.01.06 / Іванова Ольга Володимирівна. – Х., 2005. – 189 с.
68. Interaction of diabetogenic chelat active chemicals with Zn^{+2} -ions in pancreatic B-cells and its role for developing of death of pancreatic B-cells [Text] / G. G. Meuramov, A. A. Kikimbaeva, A. M. Aitkulov [et al.] // Вестн. Караганд. ун-та. – 2013. – № 1 (69). – С. 5–10.
69. Вплив нікотинаміду на глюкозний гомеостаз та оксидативний статус кролів з дитизоновим діабетом [Текст] / В. В. Полторак, Н. І. Горбенко, О. І. Гладких [та ін.] // Ендокринологія. – 2001. – Т. 6, № 2. – С. 167–171.
70. Горбенко, Н. І. Патогенетичне обґрунтування ефективності похідного янтарної кислоти – фенсукцинала в терапії цукрового діабету та його судинних ускладнень (експериментальне дослідження) [Текст] : дис. ... д-ра біол. наук : 14.01.14 : захищена 16.12.04 ; затв. 13.04.05 / Горбенко Наталія Іванівна. – Х., 2004. – 331 с.
71. Влияние фенсукцинала на липидный обмен, перекисное окисление липидов и активность антиоксидантной системы кроликов с дитизоновым диабетом [Текст] / Н. И. Горбенко, В. В. Полторак, А. И. Гладких, О. В. Иванова // Эксперим. клин. фармакол. – 2003. – Т. 66, № 4. – С. 39–42.
72. Влияние сочетанного применения витаминов Е и С на липидный профиль и активность параоксоназы в сыворотке крови кроликов с дитизоновым диабетом [Текст] / Н. И. Горбенко, В. В. Полторак,

- А. И. Гладких, О. В. Иванова // *Вопр. биол. мед. фарм. химии.* – 2002. – № 4. – С. 41–44.
73. Мальцев, Э. В. Новый дифференцированный подход к моделированию диабетической ретинопатии [Текст] / Э. В. Мальцев, А. В. Зборовская, А. Э. Дорохова // *Точка зрения. Восток-Запад.* – 2016. – № 1. – С. 109–110.
74. Изменения оболочек глаза при экспериментальном диабете и их фармакологическая коррекция [Текст] / Л. Т. Кашинцева, Э. В. Мальцев, Н. Е. Думброва [и др.] // *Офтальм. журн.* – 1997. – № 5. – С. 366–371.
75. Ренопротекторный эффект фенсукцинала у кролів з абсолютною інсуліновою недостатністю [Текст] / В. В. Полторац, Н. І. Горбенко, О. І. Гладких, О. В. Иванова // *Ендокринологія.* – 1999. – Т. 4, № 2. – С. 128–134.
76. Влияние витамина Е на развитие нефропатии у кроликов с дитизоновым диабетом [Текст] / В. В. Полторац, Н. И. Горбенко, А. И. Гладких, О. В. Иванова // *Пробл. эндокринологии.* – 2000. – Т. 46, № 6. – С. 41–44.
77. Diabetogenic effect of streptozotocin in the rat during the perinatal period [Text] / B. Portha, C. Levacher, L. Picon, G. Rosselin // *Diabetes.* – 1974. – Vol. 23, № 11. – P. 889–895.
78. Portha, B. Dynamic of glucose-induced insulin release during the spontaneous remission of streptozotocin diabetes induced in the newborn rat [Text] / B. Portha, M. Kergoat // *Diabetes.* – 1985. – Vol. 34, № 6. – P. 574–579.
79. Responses of neonatal rat islets to streptozotocin: limited B-cell regeneration and hyperglycemia [Text] / S. Bonner-Weir, D. F. Trent, R. N. Honey, G. C. Weir // *Diabetes.* – 1981. – Vol. 30, № 1. – P. 64–69.
80. Leahy, J. L. Unresponsiveness to glucose in a streptozocin model of diabetes: inappropriate insulin and glucagon responses to a reduction of glucose

concentration [Text] / J. L. Leahy, G. C. Weir // *Diabetes*. – 1985. – Vol. 34, № 7. – P. 653–659.

81. Влияние фенсукцинала на функциональное состояние панкреатических β -клеток у крыс с неонатально индуцированным стрептозотоциновым диабетом [Текст] / Н. И. Горбенко, В. В. Полторац, А. И. Гладких, О. В. Иванова // *Бюл. эксперим. биол. и медицины*. – 2001. – Т. 132, № 7. – С. 55–58.
82. Превентивний вплив фенсукциналу на розвиток нефропатії у щурів з інсулінонезалежним цукровим діабетом [Текст] / Н. І. Горбенко, В. В. Полторац, О. І. Гладких, О. В. Иванова // *Буковин. мед. вісн.* – 1999. – Т. 3, № 4. – С. 150–156.
83. Neonatal streptozotocin-induced diabetes mellitus: a model of insulin resistance associated with loss of adipose mass [Text] / J. Takada, M. A. Machado, S. B. Peres [et al.] // *Metabolism*. – 2007. – Vol. 56, № 7. – P. 977–984.
84. Ковалева, М. А. Фармакология хинонов природного происхождения, оцененная в экспериментальных моделях нарушений углеводного и липидного обмена [Текст]: дисс. ... канд. биол. наук: 14.03.06, 03.01.04 / Ковалева Мария Александровна; ЗАО «Санкт-Петербургский ин-т фармации». – СПб., 2015. – 133 с.
85. Neonatally-induced diabetes: lipid profile outcomes and oxidative stress status in adult rats [Text] / Y. K. Sinzato, P. H. Lima, K. E. Campos [et al.] // *Rev. Assoc. Med. Bras.* – 2009. – Vol. 55, № 4. – P. 384–388.
86. Streptozotocin-induced non-insulin-dependent diabetes protects the heart from infarction [Text] / Y. Liu, J. D. Thornton, M. V. Cohen [et al.] // *Circulation*. – 1993. – Vol. 88, № 3. – P. 1273–1278.
87. The effect of metformin on the myocardial tolerance to ischemia-reperfusion injury in the rat model of diabetes mellitus type II [Electronic resource] / E. Kravchuk, E. Grineva, A. Bairamov [et al.] // *Exp. Diabetes Res.* – 2011. –

Vol. 2011, Article ID 907496. – 5 p. – Access mode :
<https://dx.doi.org/10.1155%2F2011%2F907496>.

88. Hemmings, S. J. Neonatal STZ model of type II diabetes mellitus in the Fischer 344 rat: characteristics and assessment of the status of the hepatic adrenergic receptors [Text] / S. J. Hemmings, J. D. Spafford // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* – 2000. – Vol. 32, № 8. – P. 905–919.
89. Sex differences in diabetes induced by neonatal streptozotocin treatment in spontaneously hypertensive rats [Text] / M. Iwase, M. Kikuchi, K. Nuno [et al.] // *Diabetes Res. Clin. Pract.* – 1987. – Vol. 4, № 1. – P. 61–65.
90. Колбина, М. В. Метаболические и функциональные изменения сердца при сахарном диабете 2-го типа и абдоминальном ожирении у крыс [Текст] / М. В. Колбина, В. Т. Долгих, В. И. Чесноков // *Бюлл. сибир. медицины.* – 2003. – № 3. – С. 30–36.
91. Abnormal islet and adipocyte function in young B-cell-deficient rats with near-normoglycemia [Text] / D. F. Trent, D. J. Fletcher, J. M. May [et al.] // *Diabetes.* – 1984. – Vol. 33, № 2. – P. 170–175.
92. Стимулюючий вплив фенсукуциналу на регенерацію панкреатичних бета-клітин [Текст] / Н. І. Горбенко, В. В. Полторак, О. І. Гладких, О. В. Іванова // *Пробл. ендокрин. патології.* – 2002. – № 1. – С. 67–72.
93. The rat models of non-insulin dependent diabetes induced by neonatal streptozotocin [Text] / B. Portha, O. Blondel, P. Serradas [et al.] // *Diabetes Metab.* – 1989. – Vol. 15, № 2. – P. 61–75.
94. Evaluation of the neonatal streptozotocin model of diabetes in rats: evidence for a model of neuropathic pain [Text] / P. Barragán-Iglesias, V. H. Oidor-Chan, E. Loeza-Alcocer [et al.] // *Pharmacol. Rep.* – 2018. – Vol. 70, № 2. – P. 294–303.
95. Evaluation of neonatal streptozotocin induced diabetic rat model for the development of cataract [Electronic resource] / M. A. Patil,

- P. Suryanarayana, U. K. Putcha [et al.] // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2014. – Vol. 2014, Article ID 463264. – 10 p. – Access mode : <https://doi.org/10.1155/2014/463264>.
96. Experimental NIDDM: development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide [Text] / P. Masiello, C. Broca, R. Gross [et al.] // *Diabetes.* – 1998. – Vol. 47, № 2. – P. 224–229.
97. Экспериментальна ямодель сахарного діабета типа 2 [Текст] / А. А. Спасов, М. П. Воронкова, Г. Л. Снигур [и др.] // *Биомедицина.* – 2011. – № 3. – С. 12–18.
98. Szkudelski, T. Metabolic disturbances and defects in insulin secretion in rats with streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes [Text] / T. Szkudelski, A. Zywert, K. Szkudelska // *Physiol. Res.* – 2013 – Vol. 62, № 6. – P. 663–670.
99. Влияние фенсукцинала на развитие вторичной инсулино-резистентности у крыс со стрептозотоциновым диабетом [Текст] / Н. И. Горбенко, В. В. Полторак, А. И. Гладких, О. В. Иванова // *Експерим. клін. медицина.* – 2001. – № 3. – С. 8–10.
100. Иванова, О. В. Гальмуючий вплив речовини Л-2264 щодо розвитку вторинної інсулінової резистентності у щурів із стрептозотоциновим діабетом [Текст] / О. В. Иванова, В. В. Полторак, Н. І. Горбенко // *Експерим. клін. медицина.* – 2004. – № 4. – С. 40–43.
101. Delayed occurrence of insulin resistance in a new experimental model of NIDDM [Text] / M. Taouis, C. Broca, P. Masiello [et al.] // *Diabetologia.* – 1998. – Vol. 41, Suppl. 1. – P. A198.
102. Islam, S. Nongenetic model of type 2 diabetes: a comparative study [Text] / S. Islam, H. Choi // *Pharmacology.* – 2007. – Vol. 79, № 4. – P. 243–249.
103. Новая модель сахарного діабета 2-го типа и диабетической нефропатии у крыс [Text] / В. К. Байрашева, А. Ю. Бабаенко,

- Ю. В. Дмитриев [и др.] // Трансляц. медицина. – 2016. – Т. 3, № 4. – С. 44–55.
104. Establishment and pathophysiological characterization of type 2 diabetic mouse model produced by streptozotocin and nicotinamide [Text] / T. Nakamura, T. Terajima, T. Ogata [et al.] // Biol. Pharm. Bull. – 2006. – Vol. 29, № 6. – P. 1167–1174.
105. Sitagliptin, sitagliptin and metformin, or sitagliptin and amitriptyline attenuate streptozotocin-nicotinamide induced diabetic neuropathy in rats [Text] / A. K. Sharma, A. Sharma, R. Kumari [et al.] // J. Biomed. Res. – 2012. – Vol. 26, № 3. – P. 200–210.
106. Cardioprotective activity of pongamia pinnata in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats [Electronic resource] / S. L. Badole, S. M. Chaudhari, G. B. Jangam [et al.] // Biomed. Res. Int. – 2015. – Vol. 2015. – Article ID 403291. – 8 p. – Access mode : <https://doi.org/10.1155/2015/403291>.
107. Ghasemi, A. Streptozotocin-nicotinamide-induced rat model of type 2 diabetes (review) [Text] / A. Ghasemi, S. Khalifi, S. Jedi // Acta Physiol. Hung. – 2014. – Vol. 101, № 4. – P. 408–420.
108. A new rat model of type 2 diabetes: the fat-fed, streptozotocin-treated rat [Text] / M. J. Reed, K. Meszaros, L. J. Entes [et al.] // Metabolism. – 2000. – Vol. 49, № 11. – P. 1390–1394.
109. The rat model of type 2 diabetic mellitus and its glycometabolism characters [Text] / F. Zhang, C. Ye, G. Li [et al.] // Exp. Anim. – 2003. – Vol. 52, № 5. – P. 401–407.
110. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening [Text] / K. Srinivasan, B. Viswanad, L. Asrat [et al.] // Pharmacol. Res. – 2005. – Vol. 52, № 4. – P. 313–320.
111. Pereira-Lancha, L. O. Obesity: considerations about etiology, metabolism, and the use of experimental models [Text] / L. O. Pereira-Lancha,

- P. L. Campos-Ferraz, A. H. Lancha Jr. // *Diabetes Metab. Syndr. Obes.* – 2012. – Vol. 5. – P. 75–87.
112. Controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats [Text] / S. C. Woods, R. J. Seeley, P. A. Rushing [et al.] // *J. Nutr.* – 2003. – Vol. 133, № 4. – P. 1081–1087.
113. Adipokines in inflammation and metabolic disease [Text] / N. Ouchi, J. L. Parker, J. J. Lugus, K. Walsh // *Nat. Rev. Immunol.* – 2011. – Vol. 11, № 2. – P. 85–97.
114. A high fructose diet affects the early steps of insulin action in muscle and liver of rats [Text] / R. M. Bezerra, M. Ueno, M. S. Silva [et al.] // *J. Nutr.* – 2000. – Vol. 130, № 10. – P. 1531–1535.
115. Tappy, L. Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity [Text] / L. Tappy, K. A. Lê // *Physiol. Rev.* – 2010. – Vol. 90, № 1. – P. 23–46.
116. Low dose streptozotocin (STZ) combined with high energy intake can effectively induce type 2 diabetes through altering the related gene expression [Text] / H. J. Wang, Y. X. Jin, W. Shen [et al.] // *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* – 2007. – Vol. 16, Suppl. 1. – P. 412–417.
117. Preventive effect of taurine on experimental type II diabetic nephropathy [Text] / S. Lin, J. Yang, G. Wu [et al.] // *J. Biomed. Sci.* – 2010. – Vol. 17, Suppl. 1. – S. 46.
118. Статевий диморфізм порушень вуглеводного та ліпідного обміну у щурів із цукровим діабетом 2 типу [Текст] / Н. І. Горбенко, О. Ю. Боріков, О. В. Іванова [та ін.] // *Пробл. ендокрин. патології.* – 2018. – № 2. – С. 39–45.
119. Статеві особливості змін маркерів ендотеліальної дисфункції – NO-синтази та гемоксигенази, в щурів із цукровим діабетом 2 типу [Текст] / Н. І. Горбенко, О. Ю. Боріков, О. В. Іванова [та ін.] // *Пробл. ендокрин. патології.* – 2018. – № 4. – С. 37–43.

120. Вплив цукрового діабету на функціональний стан мітохондрій серця щурів різної статі [Текст] / Н. І. Горбенко, О. Ю. Боріков, О. В. Іванова [та ін.] // Пробл. ендокрин. патології. – 2019. – № 4. – С. 110–115.
121. Ivanova, O. V. The impact of type 2 diabetes on the cardiovascular system in male and female rats [Text] / O. V. Ivanova // Probl. Endocr. Pathol. – 2020. – № 3. – P. 104–108.
122. Nongenetic mouse models of non-insulin-dependent diabetes mellitus [Text] / J. Luo, J. Quan, J. Tsai [et al.] // Metabolism. – 1998. – Vol. 47, № 6. – P. 663–668.
123. Gilbert, E. R. Development of a nongenetic mouse model of type 2 diabetes [Electronic resource] / E. R. Gilbert, Z. Fu, D. Liu // Exp. Diab. Res. – 2011. – Vol. 2011. – Article ID 416254. – 12 p. – Access mode : <https://doi.org/10.1155/2011/416254>.
124. Effect of the age and dexamethasone treatment on insulin secretion from isolated perfused rat pancreas [Text] / M. Novelli, M. Barbera, V. Fierabracci [et al.] // Diabetologia. – 1996. – Vol. 39, Suppl. 1. – P. A124.
125. Вивчення гіпоглікемічної активності нанохрому цитрату в тварин з експериментальним цукровим діабетом 2 типу [Текст] / К. В. Садогурська, Р. Б. Косуба, І. М. Яремій, В. Г. Зеленьок // Фармакол. лікар. токсикологія. – 2017. – № 4–5 (55). – С. 82–88.
126. Влияние фенсукцинала на развитие экспериментальной инсулино-резистентности [Текст] / Н. И. Горбенко, В. В. Полторака, А. И. Гладких, О. В. Иванова // Бюл. эксперим. биол. мед. – 2000. – Т. 130, № 7. – С. 42–44.
127. Вплив метформіну на розвиток інсулінорезистентності, індукованої дексаметазоном у щурів [Текст] / В. В. Полторака, Н. І. Горбенко, О. В. Іванова, М. Ю. Горшунська // Ендокринологія. – 2000. – Т. 5, № 2. – С. 249–251.

128. Іванова, О. В. Превентивний ефект нового антиоксиданту ЛІ-2264 щодо розвитку інсулінорезистентності, індукованої дексаметазоном, у щурів [Текст] / О. В. Іванова // Ендокринологія. – 2002. – Т. 7, № 1. – С. 105–108.
129. Experimental model of glucocorticoid-induced insulin resistance [Text] / B. B. Martínez, A. C. Pereira, J. H. Muzetti [et al.] // Acta Cir. Bras. – 2016. – Vol. 31, № 10. – P. 645–649.
130. Age- and gender-related changes in glucose homeostasis in glucocorticoid-treated rats [Text] / C. Santos, F. B. Ferreira, L. M. Gonçalves-Neto [et al.] // Can. J. Physiol. Pharmacol. – 2014. – Vol. 92, № 10. – P. 867–878.
131. Rafacho, A. Functional and molecular aspects of glucocorticoids in the endocrine pancreas and glucose homeostasis [Electronic resource] / A. Rafacho, A. C. Boschero, H. Ortsäter // State of the art of therapeutic endocrinology / ed. by S. Magdeldin. – Rijeka, Croatia : InTech, 2012. – Ch. 6. – P. 121–152. – Access mode : <http://dx.doi.org/10.5772/50233>.
132. Pasiaka, A. M. Impact of glucocorticoid excess on glucose tolerance: clinical and preclinical evidence [Electronic resource] / A. M. Pasiaka, A. Rafacho // Metabolites. – 2016. – Vol. 6, № 3. – Article № 24. – 21 p. – Access mode : <https://dx.doi.org/10.3390%2Fmetabo6030024>.
133. High doses of dexamethasone induce increased β -cell proliferation in pancreatic rat islets [Text] / A. Rafacho, T. M. Cestari, S. R. Taboga [et al.] // Amer. J. Physiol. Endocrinol. Metab. – 2009. – Vol. 296, № 4. – P. E681–E689.
134. Islet amyloid: a critical entity in the pathogenesis of type 2 diabetes [Text] / R. L. Hull, G. T. Westermark, P. Westermark, S. E. Kahn // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2004. – Vol. 89, № 8. – P. 3629–3643.
135. Non-parallelism of islet amyloid polypeptide (amylin) and insulin gene expression in rats islets following dexamethasone treatment [Text] /

- H. Mulder, B. Ahrén, M. Stridsberg, F. Sundler // *Diabetologia*. – 1995. – Vol. 38, № 4. – P. 395–402.
136. Roles of insulin resistance and beta-cell dysfunction in dexamethasone-induced diabetes [Text] / A. Ogawa, J. H. Johnson, M. Ohneda [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 1992. – Vol. 90, № 2. – P. 497–504.
137. Glucocorticoid increases glucose cycling and inhibits insulin release in pancreatic islets of ob/ob mice [Text] / A. Khan, C. G. Ostenson, P. O. Berggren, S. Efendic // *Amer. J. Physiol.* – 1992. – Vol. 263, № 4. – P. E663–E666.
138. Aged transgenic mice with increased glucocorticoid sensitivity in pancreatic beta-cells develop diabetes [Text] / B. Davani, N. Portwood, G. Bryzgalova [et al.] // *Diabetes*. – 2004. – Vol. 53, Suppl. 1. – S51–S59.
139. Dexamethasone-induced changes in FAD-glycerophosphate dehydrogenase expression in human pancreatic islets [Text] / M. Fabregat, J. Fernandez-Alvarez, C. Franco [et al.] // *Diabetologia*. – 1999. – Vol. 42, Suppl. 1. – P. A141.
140. Filippi, C. M. Viral trigger for type 1 diabetes. Pros and cons [Text] / C. M. Filippi, M. G. Herrath // *Diabetes*. – 2008. – Vol. 57, № 11. – P. 2863–2871.
141. Viral infections and autoimmune diabetes [Electronic resource] / A. Alba, R. Planas, J. Verdager, M. Vives-Pi // *Inmunología*. – 2005. – Vol. 24, № 1. – P. 33–43. – Access mode : <https://www.inmunologia.org/Upload/Articles/6/4/649.pdf>.
142. Yoon, J. W. Viruses in type 1 diabetes: brief review [Text] / J. W. Yoon, H. S. Jun // *ILAR J.* – 2004. – Vol. 45, № 3. – P. 343–348.
143. Coppieters, K. T. Virus infections in type 1 diabetes [Electronic resource] / K. T. Coppieters, T. Boettler, M. Herrath // *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* – 2012. – Vol. 2, № 1. – Article a007682. – 14 p. – Access mode : <https://dx.doi.org/10.1101%2Fcshperspect.a007682>.

144. Yoon, J. W. Viruses cause type 1 diabetes in animals [Text] / J. W. Yoon, H. S. Jun // *Ann. NY Acad. Sci.* – 2006. – Vol. 1079. – P. 138–146.
145. Acceleration of type 1 diabetes by a coxsackievirus infection requires a preexisting critical mass of autoreactive T-cells in pancreatic islets [Text] / D. V. Serreze, E. W. Ottendorfer, T. M. Ellis [et al.] // *Diabetes.* – 2000. – Vol. 49, № 5. – P. 708–7011.
146. Toward testing the hypothesis that group B coxsackieviruses (CVB) trigger insulin-dependent diabetes: inoculating nonobese diabetic mice with CVB markedly lowers diabetes incidence [Text] / S. Tracy, K. M. Drescher, N. M. Chapman [et al.] // *J. Virol.* – 2002. – Vol. 76, № 23. – P. 12097–12111.
147. Paradoxical lessening of autoimmune processes in non-obese diabetic mice after infection with the diabetogenic variant of encephalomyocarditis virus [Text] / L. Hermitte, B. Vialettes, P. Naquet [et al.] // *Eur. J. Immunol.* – 1990. – Vol. 20, № 6. –P. 1297–1303.
148. Islet cell antibody and immunologic aspects of NOD mice [Text] / T. Toyota, S. Kataoka, J. Sato [et al.] // *Clinico-genetic genesis of diabetes mellitus: proceedings of an International Symposium on Clinico-genetic Genesis of Diabetes Mellitus, February 11-12, 1982, Kobe, Japan* / ed. by G. Mimura, S. Baba, Y. Goto, J. Kobberling. – Amsterdam : Excerpta Medica, 1982. –P. 185–192.
149. The non-obese diabetic (NOD) mouse as a model of human type 1 diabetes [Text] / K. Kachapati, D. Adams, K. Bednar, W. M. Ridgway // *Methods Molec. Biol.* – 2012. – Vol. 933. –P. 3–16.
150. Pearson, J. A. The importance of the Non Obese Diabetic (NOD) mouse model in autoimmune diabetes [Text] / J. A. Pearson, F. S. Wong, L. Wen // *J. Autoimmun.* – 2016. – Vol. 66. – P. 76–88.

151. Mullen, Y. Development of the nonobese diabetic mouse and contribution of animal models for understanding type 1 diabetes [Text] / Y. Mullen // *Pancreas*. – 2017. – Vol. 46, № 4. – P. 455–466.
152. Chen, Y. G. The role of NOD mice in type 1 diabetes research: lessons from the past and recommendations for the future [Electronic resource] / Y. G. Chen, C. E. Mathews, J. P. Driver // *Front. Endocrinol.* – 2018. – Vol. 9. – Article № 51. – 13 p. – Access mode : <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00051>.
153. Rat models of type 1 diabetes: genetics, environment, and autoimmunity [Text] / J. P. Mordes, R. Bortell, E. P. Blankenhorn [et al.] // *ILAR J.* – 2004. – Vol. 45, № 3. – P. 278–291.
154. Bortell, R. The BB rat as a model of human type 1 diabetes [Text] / R. Bortell, C. Yang // *Methods Molec. Biol.* – 2012. – Vol. 933. – P. 31–44.
155. Полтора́к, В. В. Аутоиммунный генез инсулин-зависимого сахарного диабета на модели крыс BB [Текст] / В. В. Полтора́к, К. О. Блох // *Иммунология*. – 1989. – № 3. – С. 5–10.
156. Islet infiltration, cytokine expression and beta cell death in the NOD mouse, BB rat, Komeda rat, LEW.1AR1-iddm rat and humans with type 1 diabetes [Text] / A. Jörns, T. Arndt, A. M. Vilsendorf [et al.] // *Diabetologia*. – 2014. – Vol. 57, № 3. – P. 512–521.
157. Experimental diabetes mellitus in different animal models [Text] / A. Al-Awar, K. Kupai, M Veszeka [et al.] // *J Diabetes Res.* – 2016. – Vol. 2016. – Article ID 9051426. – 12 p. – Access mode : <https://doi.org/10.1155/2016/9051426>.
158. The LEW.1AR1/Ztm-iddm rat: a new model of spontaneous insulin-dependent diabetes mellitus [Text] / S. Lenzen, M. Tiedge, M. Elsner [et al.] // *Diabetologia*. – 2001. – Vol. 44, № 9. – P. 1189–1196.
159. Immune cell infiltration, cytokine expression, and beta-cell apoptosis during the development of type 1 diabetes in the spontaneously

- diabetic LEW.1AR1/Ztm-iddm rat [Text] / A. Jörns, A. Günther, H. J. Hedrich [et al.] // *Diabetes*. – 2005. – Vol. 54, № 7. – P. 2041–2052.
160. Establishment of two substrains, diabetes-prone and non-diabetic, from Long-Evans Tokushima Lean (LETL) rats [Text] / K. Komeda, M. Noda, K. Terao [et al.] // *Endocr. J.* – 1998. – Vol. 45, № 6. – P. 737–744.
161. Establishment and characterization of the Komeda diabetes-prone rat as a segregating inbred strain [Text] / N. Yokoi, M. Namae, M. Fuse [et al.] // *Exp. Anim.* – 2003. – Vol. 52, № 4. – P. 295–301.
162. A mutation in the insulin 2 gene induces diabetes with severe pancreatic beta-cell dysfunction in the Mody mouse [Text] / J. Wang, T. Takeuchi, S. Tanaka [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 1999. – Vol. 103, № 1. – P. 27–37.
163. Ron, D. Proteotoxicity in the endoplasmic reticulum: lessons from the Akita diabetic mouse [Text] / D. Ron // *J. Clin. Invest.* – 2002. – Vol. 109, № 4. – P. 443–445.
164. Advances in murine models of diabetic nephropathy [Electronic resource] / L. Kong, H. Wu, W. Cui [et al.] // *J. Diabetes Res.* – 2013. – Vol. 2013. – Article ID 797548. – 10 p. – Access mode : <https://dx.doi.org/10.1155%2F2013%2F797548>.
165. Mathews, C. E. New mouse model to study islet transplantation in insulin-dependent diabetes mellitus [Text] / C. E. Mathews, S. H. Langley, E. H. Leiter // *Transplantation*. – 2002. – Vol. 73, № 8. – P. 1333–1336.
166. Wang, B. Leptin- and leptin receptor-deficient rodent models: relevance for human type 2 diabetes [Text] / B. Wang, P. C. Chandrasekera, J. J. Pippin // *Curr. Diabetes Rev.* – 2014. – Vol. 10, № 2. – P. 131–145.
167. King, A. J. F. The use of animal models in diabetes research [Text] / A. J. F. King // *Br. J. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 166, № 3. – P. 877–894.
168. Lindström, P. The physiology of obese-hyperglycemic mice [ob/ob mice] [Text] / P. Lindström // *Sci. World J.* 2007. – Vol. 7. – P. 666–685.

169. Leiter, E. H. Effect of immunodeficiency on diabetogenesis in genetically diabetic (db/db) mice [Text] / E. H. Leiter, M. Prochazka, L. D. Shultz // J. Immunol. – 1987. – Vol. 138, № 10. – P. 3224–3229.
170. Belke, D. D. Diabetes in mice with monogenic obesity: the db/db mouse and its use in the study of cardiac consequences [Text] / D. D. Belke, D. L. Severson // Methods Molec. Biol. – 2012. – Vol. 933. – P. 47–57.
171. Durham, H. A. Development of insulin resistance and hyperphagia in Zucker fatty rats [Text] / H. A. Durham, G. E. Truett // Amer. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2006. – Vol. 290, № 3. – P. R652–R658.
172. The obese Zucker rat model of the metabolic syndrome [Electronic resource] / T. R. Nurkiewicz, J. C. Frisbee, M. A. Boegehold // Comprehensive toxicology / ed. by C. A. McQueen. – 2nd ed. – Amsterdam : Elsevier science, 2010. – Vol. 6. Cardiovascular toxicology. – Access mode : <https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/zucker-fatty-rat>.
173. Pinhas-Hamiel, O. Prediabetes among obese youth [Electronic resource] / O. Pinhas-Hamiel, P. Zeitler // Global perspectives on childhood obesity. Current status, consequences and prevention / ed. by D. Bagchi. – Amsterdam : Academic press, 2011. – Ch. 8. – P. 87–93. – Access mode : <https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/zucker-fatty-rat>.
174. Mechanism of abnormal oral glucose tolerance of genetically obese fa/fa rats [Text] / F. Rohner-Jeanrenaud, J. Proietto, E. Ionescu, B. Jeanrenaud // Diabetes. – 1986. – Vol. 35, № 12. – P. 1350–1355.
175. Zucker obese (Zucker fatty) rat [Electronic resource] / D. R. Owens // The laboratory rat / ed. by M. A. Suckow, H. S. Weisbroth, C. L. Franklin. – 2nd ed. – Amsterdam : Academic Press, 2006. – Ch. 23. Spontaneous, surgically and chemically induced models of disease. – Access mode :

<https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/zucker-fatty-rat>.

176. Zucker diabetic fatty rat as a model for non-insulin-dependent diabetes mellitus [Text] / R. Peterson, W. Shaw, M. Neel [et al.] // *ILAR News*. – 1990. – Vol. 32, № 3. – P. 16–19.
177. Shiota, M. Diabetes in Zucker diabetic fatty rat [Text] / M. Shiota, R. L. Printz // *Methods Molec. Biol.* – 2012. – Vol. 933. – P. 103–133.
178. Role of apoptosis in failure of beta-cell mass compensation for insulin resistance and beta-cell defects in the male Zucker diabetic fatty rat [Text] / A. Pick, J. Clark, C. Kubstrup [et al.] // *Diabetes*. – 1998. – Vol. 47, № 3. – P. 358–364.
179. Capcarova, M. Zucker diabetic fatty rats for research in diabetes [Electronic resource] / M. Capcarova, A. Kalafova // *Animal models in medicine and biology* / ed. by E. Tvrdá, S. C. Yeniseti. – London : IntechOpen, 2020. – P. 75–92. – Access mode : <https://dx.doi.org/10.5772/intechopen.88161>.
180. Non-obese type 2 diabetes animals models [Text] / Y. Ishii, T. Ohta, T. Sasase // *Glucose Tolerance* / ed. by S. Chackrewarthy. – Rijeka, Croatia : IntechOpen, 2012. – Ch. 13. – P. 223–242. – Access mode : <https://dx.doi.org/10.5772/52712>.
181. Goto, Y. Production of spontaneous diabetic rats by repetition of selective breeding [Text] / Y. Goto, M. Kakizaki, N. Masaki // *Tohoku J. Exp. Med.* – 1976. – Vol. 119, № 1. – P. 85–90.
182. The GK rat: a prototype for the study of non-overweight type 2 diabetes [Text] / B. Portha, M. H. Giroix, C. Turrel-Cuzin [et al.] // *Methods Molec. Biol.* – 2012. – Vol. 933. – P. 125–159.
183. Akash, M. S. Goto-kakizaki rats: its suitability as non-obese diabetic animal model for spontaneous type 2 diabetes mellitus [Text] / M. S. Akash, K. Rehman, S. Chen // *Curr Diabetes Rev.* – 2013. – Vol. 9, № 5. – P. 387–396.

184. Impaired insulin secretion and excessive hepatic glucose production are both early events in the diabetic GK rat [Text] / F. Picarel-Blanchot, C. Berthelier, D. Bailbé, B. Portha // *Amer. J. Physiol.* – 1996. – Vol. 271, № 4. – P. E755–762.
185. Spontaneous long-term hyperglycemic rat with diabetic complications. Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) strain [Text] / K. Kawano, T. Hirashima, S. Mori [et al.] // *Diabetes.* – 1992. – Vol. 41, № 11. – P. 1422–1428.
186. OLETF (Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty) rat: a new NIDDM rat strain [Text] / K. Kawano, T. Hirashima, S. Mori, T. Natori // *Diabetes Res. Clin. Pract.* – 1994. – Vol. 24, Suppl. – P. S317–S320.
187. Obesity in the Otsuka Long Evans Tokushima Fatty rat: mechanisms and discoveries [Electronic resource] / S. Bi, T. H. Moran // *Front. Nutr.* – 2016. – Vol. 3. – Article № 21. – 5 p. – Access mode : <https://dx.doi.org/10.3389%2Ffnut.2016.00021>.
188. Shima, K. Pathoetiology and prevention of NIDDM lessons from the OLETF rat [Text] / K. Shima, M. Zhu, A. Mizuno // *J. Med. Invest.* – 1999. – Vol. 46, № 3–4. – P. 121–129.
189. Diabetic complications in obese type 2 diabetic rat models [Text] / Y. Katsuda, T. Ohta, K. Miyajima [et al.] // *Exp. Anim.* – 2014. – Vol. 63, № 2. – P. 121–132.
190. Diet-induced type II diabetes in C57BL/6J mice [Text] / R. S. Surwit, C. M. Kuhn, C. Cochrane [et al.] // *Diabetes.* – 1988. – Vol. 37, № 9. – P. 1163–1167.
191. Winzell, M. S. The high-fat diet-fed mouse: a model for studying mechanisms and treatment of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes [Text] / M. S. Winzell, B. Ahrén // *Diabetes.* – 2004. – Vol. 53, Suppl. 3. – P. S215–S219.

192. Diet-induced changes in uncoupling proteins in obesity-prone and obesity-resistant strains of mice [Text] / R. S. Surwit, S. Wang, A. E. Petro [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1998. – Vol. 95, № 7. – P. 4061–4065.
193. High-fat diet-induced obesity rat model: a comparison between Wistar and Sprague-Dawley rat [Text] / C. Marques, M. Meireles, S. Norberto [et al.] // Adipocyte. – 2015. – Vol. 5, № 1. – P. 11–21.
194. Nakajima, S. Postprandial glucagon-like peptide-1 secretion is increased during the progression of glucose intolerance and obesity in high-fat/high-sucrose diet-fed rats [Text] / S. Nakajima, T. Hira, H. Hara // Br. J. Nutr. – 2015. – Vol. 113, № 9. – P. 1477–1488.
195. The development of diabetes mellitus in Wistar rats kept on a high-fat/low-carbohydrate diet for long periods [Text] / Y. Wang, P. Y. Wang, L. Q. Qin [et al.] // Endocrine. – 2003. – Vol. 22, № 2. – P. 85–92.
196. Боріков, О. Ю. Вплив кверцетину на розвиток синдрому інсулінорезистентності у самців щурів за умов високожирової дієти [Текст] / О. Ю Боріков, Н. І. Горбенко // Пробл. ендокрин. патології. – 2009. – № 4. – С. 64–70.
197. Таран, К. В. Особливості розвитку метаболічного синдрому за умов дефіциту естрогенів та його фармакологічна корекція (експериментальне дослідження) [Текст]: дис. ... канд. біол. наук: 14.01.14: захищена 14.11.13; затв. 10.02.14 / Таран Катерина Вікторівна. – Х., 2013. – 189 с.
198. Вплив таурин-вмісного препарату «Кратал» на розвиток метаболічного синдрому, індукованого високожировою дієтою [Текст] / Т. С. Звягіна, Н. І. Горбенко, О. Ю. Боріков, А. С. Шаламай // Пробл. ендокрин. патології. – 2013. – № 2. – С. 67–73.
199. Моделювання метаболічного синдрому різного генезу в експериментальних тварин [Текст]: метод. рекомендації / Нац. акад. мед. наук України; [авт. Н. І. Горбенко, О. Ю. Боріков, О. В. Іванова,

- К. В. Місюра, Т. С. Літвінова, Т. В. Кіприч, К. В. Таран]. – Х.: Стиль-Издат, 2019. – 40 с.
200. Shafrir, E. Albert Renold memorial lecture: molecular background of nutritionally induced insulin resistance leading to type 2 diabetes--from animal models to humans [Text] / E. Shafrir // *Int. J. Exp. Diabetes Res.* – 2001. – Vol. 2, № 4. – P. 299–319.
201. Shafrir, E. Nutritionally induced diabetes in desert rodents as models of type 2 diabetes: *Acomys cahirinus* (spiny mice) and *Psammomys obesus* (desert gerbil) [Text] / E. Shafrir, E. Ziv, R. Kalman // *ILAR J.* – 2006. – Vol. 47, № 3. – P. 212–224.
202. Nutritional correlates and dynamics of diabetes in the Nile rat (*Arvicanthis niloticus*): a novel model for diet-induced type 2 diabetes and the metabolic syndrome [Electronic resource] / F. Chaabo, A. Pronczuk, E. Maslova, K. Hayes // *Nutr. Metab. (Lond.)*. – 2010. – Vol. 7. – Article № 29. – 21 p. – Access mode : <https://doi.org/10.1186/1743-7075-7-29>.
203. The Nile rat (*Arvicanthis niloticus*) as a superior carbohydrate-sensitive model for type 2 diabetes mellitus (T2DM) [Electronic resource] / A. Subramaniam, M. Landstrom, A. Luu, K. C. Hayes // *Nutrients.* – 2018. – Vol. 10, № 2. – Article № 235. – 32 p. – Access mode : <https://doi.org/10.3390/nu10020235>.
204. Levin, B. E. Synergy of nature and nurture in the development of childhood obesity [Text] / B. E. Levin // *Int. J. Obes. (Lond.)*. – 2009. – Vol. 33, Suppl. 1. – P. S53–S56.
205. Ozanne, S. E. Metabolic programming in animals [Text] / S. E. Ozanne // *Br. Med. Bull.* – 2001. – Vol. 60. – P. 143–152.
206. Low birthweight is associated with specific changes in muscle insulin-signalling protein expression [Text] / S. E. Ozanne, C. B. Jensen, K. J. Tingey [et al.] // *Diabetologia.* – 2005. – Vol. 48, № 3. – P. 547–552.

207. Prenatal and postnatal pathways to obesity: different underlying mechanisms, different metabolic outcomes [Text] / N. M. Thompson, A. M. Norman, S. S. Donkin [et al.] // *Endocrinology*. – 2007. – Vol. 148, № 5. – P. 2345–2354.
208. Compromised beta-cell development and beta-cell dysfunction in weanling offspring from dams maintained on a high-fat diet during gestation [Text] / M. E. Cerf, K. Williams, C. S. Chapman, J. Louw // *Pancreas*. – 2007. – Vol. 34, № 3. – P. 347–353.
209. Impaired glucose homeostasis and mitochondrial abnormalities in offspring of rats fed a fat-rich diet in pregnancy [Text] / P. D. Taylor, J. McConnell, I. Y. Khan [et al.] // *Amer. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2005. – Vol. 288, № 1. – P. R134–R139.
210. Maternal hyperinsulinemia predisposes rat fetuses for hyperinsulinemia, and adult-onset obesity and maternal mild food restriction reverses this phenotype [Text] / M. Srinivasan, R. Aalinkeel, F. Song [et al.] // *Amer. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2006. – Vol. 290, № 1. – P. E129–E134.

Наукове видання

Горбенко Н. І., Полторак В. В., Караченцев Ю. І., Кіприч Т. В.,
Іванова О. В., Боріков О. Ю., Таран К. В., Літвінова Т. С., Місюра К. В.

Експериментальний цукровий діабет:
патофізіологічна характеристика
та особливості моделювання

Монографія
(Українською мовою)

Формат видання 60x84/16. Ум.– друк. арк. 5,80
Тираж 100 прим. Зам. № 212269

Видавець ТОВ «ПЛАНЕТА-ПРІНТ»
вул. Багалія, 16, м. Харків, 61002,
свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4568 від 17.06.2013.

Виготовлювач ФОП Круглик О. М.
вул. Амосова, 1, кв. 316, м. Харків,