

Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского  
Биология. Химия. Том 11 (77). 2025. № 3. С. 3–34.

**УДК 616.379-008.64: 57.084.1**

**DOI 10.29039/2413-1725-2025-11-3-3-34**

### **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ САХАРНОГО ДИАБЕТА. ХИРУРГИЧЕСКИ И ХИМИЧЕСКИ ИНДУЦИРОВАННЫЙ САХАРНЫЙ ДИАБЕТ 1 ТИПА**

***Чуян Е. Н., Ливенцов С. Ю., Дворецкая Н. И., Муртазаева А. М.***

***ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», Симферополь,  
Республика Крым, Российская Федерация  
E-mail: elena-chuyan@rambler.ru***

Учитывая растущую распространенность сахарного диабета (СД) и его осложнений, исследование патогенеза заболевания, разработка и апробация новых методов терапии, являются одними из основных направлений исследований в области биомедицины. Модели на животных необходимы для изучения механизмов развития заболеваний, а также для тестирования новых терапевтических стратегий. Основной проблемой при переносе результатов лабораторных исследований в клиническую практику является отсутствие оптимальной доклинической модели, способной в полной мере воспроизводить СД у человека, у каждой модели есть свои преимущества и ограничения. Настоящий обзор посвящён структурированному анализу наиболее распространённых экспериментальных моделей СД 1 типа, включая хирургически и химически индуцированные. Каждая из моделей рассмотрена с точки зрения механизма формирования, применимости, преимуществ и недостатков, позволяющих оценить их актуальность в зависимости от целей исследования.

**Ключевые слова:** модели на животных, сахарный диабет, сахарный диабет 1 типа, сахарный диабет 2 типа, хирургически индуцированный сахарный диабет, химически индуцированный сахарный диабет, аллоксановый диабет, стрептозотоциновый диабет, дитизоновый «цинковый» диабет.

#### **ВВЕДЕНИЕ**

Одним из наиболее широко распространённых заболеваний неинфекционной природы, лидирующим по темпам роста заболеваемости, инвалидизации и смертности в современном обществе является сахарный диабет (СД). По данным Международной федерации диабета (IDF), СД стал серьёзной проблемой во всем мире не только для здоровья населения, но и для экономики. В 2023 году общее количество больных достигло 630 миллионов человек, что составляет около 10 % взрослого населения Земли. Прогнозируется, что к 2030 году число больных

увеличится до 643 миллионов, а к 2045 году эта цифра возрастёт до 783 миллионов во всем мире. По оценкам ВОЗ, в период с 2005 по 2030 год уровень смертности от СД удвоится, и в 2030 году это заболевание станет седьмой по распространённости причиной смертности в мире, что приведёт к медицинским и социальным издержкам в размере 622 миллиардов долларов. [1, 2]. При этом около 43 % случаев заболевания остаются не выявленными, что сказывается на своевременной терапии и увеличивает частоту развития осложнений [3, 4]. Указывается целый комплекс причин увеличения заболеваемости СД: старение населения, малоподвижный образ жизни, вредные привычки, неправильное питание и др. [5].

СД представляет собой группу хронических эндокринных заболеваний, связанных с нарушением усвоения глюкозы вследствие абсолютной или относительной (нарушение взаимодействия с клетками-мишенями) недостаточности гормона инсулина. Заболевание характеризуется хроническим течением, гипергликемией, нарушением всех видов обмена веществ: углеводного, жирового, белкового, минерального и водно-солевого. СД связан как с макрососудистыми, так и с микрососудистыми осложнениями, приводящими к диабетической нефропатии, ретинопатии, кардиомиопатии и нейропатии, и является наиболее распространённой причиной сердечно-сосудистых заболеваний, инсульта, слепоты, почечной недостаточности, ампутаций нижних конечностей [6–8].

С учетом этиологии и патогенеза СД в настоящее время выделяют несколько наиболее значимых форм заболевания: 1-го типа (СД1) или инсулинозависимый СД (ИЗСД, ювенильный); 2-го типа (СД2) или инсулиннезависимый СД (ИНСД, СД взрослых); гестационный; специфического патогенеза при заболеваниях экзокринной части поджелудочной железы (панкреатит, муковисцидоз), эндокринопатиях (синдром Кушинга, акромегалия), медикаментозного генеза (под влиянием глюкокортикоидов, нейролептиков,  $\alpha$ -интерферона, пентамидина), инфекциях, генетическом дефиците инсулина [9–11].

СД-1 и СД-2 являются наиболее распространёнными формами заболевания. Оба типа эндокринных нарушений представляют собой довольно сложные заболевания, затрагивающие различные системы организма. СД2 связан с резистентностью к инсулину и недостаточной компенсацией со стороны  $\beta$ -клеток, что приводит к относительному дефициту инсулина [12].

СД1 является аутоиммунным заболеванием, в основе которого лежит иммуноопосредованная или идиопатическая деструкция  $\beta$ -клеток поджелудочной железы, приводящая к абсолютной инсулиновой недостаточности [10], которое чаще всего встречается у детей и молодых людей, потому и носит название ювенильного [13]. Его распространённость составляет 5–10 % от общего числа выявленных случаев диабета, а заболеваемость среди детей в возрасте 14 лет постоянно растёт [14]. Это полигенное многофакторное заболевание, поскольку в его генезе участвуют как генетические, так и экзогенные факторы окружающей среды (вирусные инфекции, особенности питания и пр.), которые приводят к опосредованному Т-клетками разрушению, воспалительной инфильтрации островков Лангерганса (инсулиту) и избирательному разрушению  $\beta$ -клеток, вырабатывающих инсулин [15–19]. При СД1 уровень инсулина в плазме крови

существенно снижен, в то время как уровень глюкагона повышен. Лечение заболевания с помощью введения экзогенного инсулина является сложным и дорогостоящим процессом, который в сочетании с мониторингом уровня глюкозы в крови может привести к гипер- и гипогликемии, связанной с системными сопутствующими заболеваниями [20–22].

Несмотря на огромный прогресс современных молекулярно-генетических исследований, вопросы патогенеза и терапии СД1 до сих пор до конца не разработаны, а основным инструментом остаются исследования, проведенные на экспериментальных моделях как для понимания патогенеза диабета и его осложнений, поскольку позволяют сочетать генетическую и функциональную характеристику синдрома, так и для доклинических испытаний новых препаратов и терапевтических подходов. Невозможность воспроизвести заболевание человека в экспериментальных условиях приводит к значительным финансовым потерям, отсутствию инновационных методов лечения и невозможности их безопасного применения у пациентов.

Экспериментальные модели на животных отличаются по механизму формирования, длительности течения, тяжести осложнений СД. В зависимости от поставленной задачи для изучения ИЗСД и его осложнений используют генетические и негенетические модели, созданные с помощью различных механизмов – от разрушения бета-клеток с помощью хирургических приемов и химических веществ до генетических мутаций, которые спонтанно приводят к развитию аутоиммунного СД [9, 23–28]. Классификация экспериментальных моделей СД включает такие типы, как спонтанный (возникающий естественным образом), индуцированный (хирургическим методом, химическими веществами, вирусами) или вызванный генетическими изменениями (трансгенные модели) [26, 29–31] (рис. 1). Существующие экспериментальные модели позволяют воспроизводить у животных, в основном грызунов, но и более крупных животных как само заболевание, так и диабетические осложнения (рис. 2).

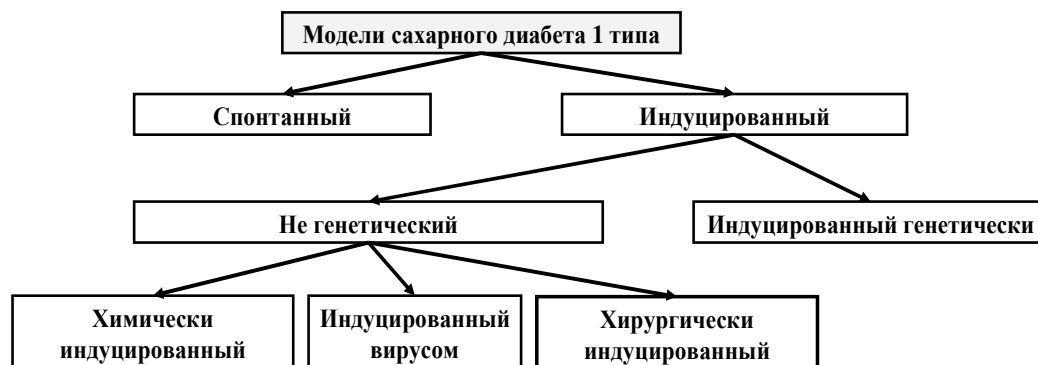


Рис. 1. Классификация моделей сахарного диабета 1 типа.

Для того, чтобы модель на животных была применима для изучения патофизиологических и молекулярных механизмов развития СД и его лечения, её характеристики должны отражать патофизиологию и естественное течение заболевания, либо у экспериментальных животных должны развиваться осложнения диабета, этиология которых сходна с таковой у человека. Безусловно, не существует модели на животных, которая обладала бы всеми этими характеристиками и представляла бы все фенотипические и/или генотипические изменения СД у человека, однако многие из существующих на сегодняшний день моделей в одном или нескольких аспектах очень похожи на СД1 у человека. Большинство модельных исследований СД сосредоточены на разработке стратегий профилактики и раннего лечения заболевания, однако в экспериментальной практике редко изучаются отдаленные осложнения СД, сопоставимые с теми, которые развиваются на поздних стадиях заболевания у людей, что связано с трудностями проведения длительных экспериментов на животных. Необходимо также отметить, что животные, на которых моделируют СД1, как правило, являются высокоинбредными и имеют ограниченное количество путей развития заболевания, поэтому целесообразность применения этих моделей для изучения СД1 у людей часто ставится под сомнение [32]. Одна из причин, по которой вероятность выхода нового препарата на рынок достаточно мала, заключается в том, что данные, полученные на животных, плохо соотносятся с клиническими данными [33].



Рис. 2. Экспериментальные модели для изучения диабетических осложнений [по 26].

Однако, несмотря на многие ограничения и недостатки, модели на животных, отражающие течение СД1 у человека, имеют большое значение как для фундаментальных, так и для доклинических исследований новых препаратов,

поскольку помогают не только понять механизм заболевания, но и оценить новые методы лечения. При выборе подходящей модели СД1 следует учитывать преимущества и недостатки каждой модели в соответствии с поставленной целью, вид, пол и даже возраст животных, поскольку они существенно влияют на течение экспериментального СД.

**Цель** данного обзора – обобщить имеющиеся данные о моделях хирургически и химически индуцированного СД1 на животных, проанализировать и критически осветить их недостатки и подчеркнуть преимущества.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Систематический обзор и анализ доступных литературных данных проводились авторами с использованием баз данных PubMed, Medline, EMBASE, Springer, Elsevier, Nature, Scopus, Google Scholar, BioMed Central (BMC), КиберЛенинка, Российская Государственная Библиотека, Центральная научная медицинская библиотека им. И.М. Сеченова (ЦНМБ). В стратегии поиска использовались как медицинские предметные рубрики, так и ключевые слова, указанные в аннотации.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Хирургически индуцированный СД1.** Хирургическая модель СД1 применяется в экспериментальной практике более пятидесяти лет и многие годы была единственной моделью СД у животных. Панкреатэктомический СД удалось получить у всех животных, у которых регуляция углеводного обмена осуществляется с помощью инсулина.

Для развития в послеоперационный период диабетических нарушений большое значение имеет количество сохраненной ткани поджелудочной железы, поэтому различают модели СД1 с тотальным или субтотальным удалением железы. При тотальном удалении органа диабет у крыс развивается через несколько часов. При удалении 97–98 % СД развивается через 2 недели, 95 % – через 3–5 месяцев, 80 % – через 9 месяцев [34]. Для получения хронического СД с длительно существующим высоким уровнем глюкозы в крови часто прибегают к субтотальной панкреатэктомии, которая позволяет значительно снизить число летальных исходов [35, 36]. Однако у половины животных (около 50 %) может наблюдаться временная нормализация уровня гликемии в течение 2–3 недель после операции, что, вероятно, связано с компенсаторной активностью сохранившихся островковых структур [37].

Основным механизмом развития СД1 при использовании данной экспериментальной модели является резкое снижение количества  $\beta$ -клеток и, как следствие – дефицит инсулина, т.е. абсолютная инсулиновая недостаточность.

Использование этой модели особенно на первом этапе развития экспериментальной диабетологии имело ряд преимуществ, в том числе позволило понять многие механизмы действия инсулина, нарушения обмена веществ при его дефиците, патогенез нарушений, развивающихся в организме экспериментальных животных [38]. Однако хирургический подход к моделированию СД довольно ограничен в применении из-за высокого процента летальности животных, необходимости владения высоким уровнем хирургического мастерства,

определенных требований к оборудованию, короткого периода длительности метаболических нарушений, высокого риска послеоперационного инфицирования, а, следовательно, применения антибиотиков, способных оказать влияние на изменение метаболических показателей. Кроме того, при панкреатэктомии происходит нарушение кишечного пищеварения, что требует медикаментозного замещения экскреторных функций железы [39]. Перечисленные недостатки хирургически индуцированного СД стимулировали поиск новых моделей, а с появлением неоперативных моделей применение этого метода резко снизилось. В последнее время его используют в некоторых случаях с целью тестирования синтетических и природных соединений с антидиабетической активностью, в том числе веществ, влияющих на секрецию инсулина и чувствительность к нему периферических тканей [23, 40].

**Химически индуцированный СД1.** В настоящее время химически индуцированный СД1 имеет весомое значение в экспериментальной практике поскольку эта модель достаточно легко воспроизводима, экономична и позволяет варьировать степень поражения  $\beta$ -клеток поджелудочной железы у грызунов и других животных [24, 27, 40]. Данный тип моделей реализуется с применением различных химических веществ, имеющих свойство избирательно поражать  $\beta$ -клетки, а, следовательно, нарушать секрецию эндогенного инсулина с последующим развитием гипергликемии (для достижения стабильной гипергликемии требуется, как правило, 5–7 дней) и потери веса. Наиболее широкое распространение получили соединения с выраженным диабетогенным эффектом – аллоксан, стрептозотозин (СТЗ), дитизон. СТЗ и аллоксан на сегодняшний день считаются наиболее сильнодействующими диабетогенными химическими веществами и применяются в качестве цитотоксических аналогов глюкозы, которые накапливаются в бета-клетках поджелудочной железы [41].

Химически индуцированный диабет применяется в тех случаях, когда необходимо повысить уровень глюкозы в крови за счёт избирательного разрушения только  $\beta$ -клеток поджелудочной железы, при этом другие альфа- и дельта-клетки остаются нетронутыми. Поэтому СД1, индуцированный с помощью химических веществ, используют с целью оценки лекарственных средств или терапевтических подходов, при которых снижение уровня глюкозы в крови не зависит от  $\beta$ -клеток, например, для тестирования новых форм инсулина [42, 43]. Эта модель подходит и для оценки эффективности трансплантационной терапии, которая также приводит к снижению уровня глюкозы в крови [44]. Для исключения спонтанной регенерации  $\beta$ -клеток необходимо проводить измерения количества инсулина и гистологическое исследование поджелудочной железы для определения инсулин-положительных клеток [45]. Однако с использованием химически индуцируемой модели СД1 было показано, что присутствие  $\beta$ -клеток не обязательно коррелирует с их функцией [46].

Для моделирования СД1 путём химического уничтожения бета-клеток поджелудочной железы чаще всего используются грызуны, которые обладают рядом преимуществ по сравнению с другими видами животных в качестве модели для изучения заболеваний человека и методов их лечения [24, 47, 48], а результаты этих исследований применимы к людям с этими заболеваниями. Кроме грызунов

для изучения диабета и его осложнений используются свиньи, кролики, макаки-резусы и рыбки данио. Более того, у разных видов животных химически индуцированный СД развивается в разном возрасте [49].

Основные сведения о видах животных, применяемых в моделях с химически индуцированным диабетом, а также требования к их возрасту и дозировке препаратов (СТЗ и аллоксана) представлены в таблице 1.

**Таблица 1**  
**Виды, возраст животных и требуемые дозы стрептозотоцина (СТЗ) и аллоксана, используемые в моделях химически индуцированного сахарного диабета [по 26].**

Химическое соединение	Вид животных	Возраст животных	Требуемая суммарная доза и способ введения	Кратность введения суммарной дозы
СТЗ	Крысы	8–12 недель	35–65 мг/кг внутривенно / внутрибрюшинно	однократно
	Мыши	8–12 недель	100–200 мг/кг внутривенно / внутрибрюшинно	однократно
	Свиньи, макаки-крабеды	Может быть разным, обычно молодой или юный	150 мг/кг внутривенно	однократно / множественно
Аллоксан	Крысы	8–12 недель	40–200 мг/кг внутривенно / внутрибрюшинно	однократно / множественно
	Мыши	8–12 недель	50–200 мг/кг внутривенно / внутрибрюшинно	однократно
	Кролики	Может быть разным, обычно молодой или юный	100 мг/кг внутривенно	однократно / множественно
	Юкатанский минисвин	Может быть разным, обычно молодой или юный	175 мг/кг внутривенно	однократно / множественно

Одним из существенных недостатков СД, индуцируемого химически, который существенно ограничивает использование этой модели и ее воспроизводимость, является токсичность химических веществ не только для поджелудочной железы, но и для других органов. Следует отметить, что после введения аллоксана и СТЗ были зарегистрированы изменения уровня экспрессии изоферментов Р450 в печени, почках, легких, кишечнике, семенниках и головном мозге. Этот факт необходимо учитывать при тестировании лекарственных препаратов на животных моделях [50].

**Аллоксановый диабет.** Аллоксан (2,4,5,6-тетраоксипиримидин; 2,4,5,6-пиримидинтетраон,  $C_4O_4H_2N_2$ ) – это гидрофильное нестабильное органическое соединение (период полураспада при нейтральном рН и 37 °С составляет около 1,5 минут и дольше при более низких температурах [41]), является производным оксигенированного пиримидина и барбитуровой кислоты, синтезируется путём окисления мочевой кислоты [51].

Первые исследования, проведённые в 40-х годах прошлого века, показали, что введение аллоксана кроликам вызывает селективный некроз  $\beta$ -клеток поджелудочной железы и формирование симптомов, характерных для СД1 [52]. С тех пор аллоксан широко используется в качестве животной модели ИЗСД.

Диабетогенные свойства аллоксана проявляются при парентеральном введении: внутрибрюшинном, внутривенном, подкожном и внутримышечном. Индуцирование инсулинопении с помощью аллоксана вызывает состояние экспериментального СД, называемое «аллоксановым диабетом», который характеризуется значительным повышением уровня глюкозы в плазме крови, нарушением всех видов обмена веществ, увеличением уровня маркеров повреждения почек и печени [53].

Эффективная доза вещества (см. табл. 1) может варьировать в зависимости от метода введения, а также вида, возраста, веса, индивидуальной чувствительности и условий питания животных [54]. При внутривенном введении диабетогенные дозы аллоксана составляют (в мг/кг): для обезьян – 100–150, собак – 50–100, кроликов – 150–200, крыс – 50–75, мышей – 50–150; при подкожном или внутрибрюшинном введении доза обычно выше: 150–200 для крыс, 350–400 для мышей, 500–800 для кроликов; при внутримышечном – 300 для хомяков [34, 51, 55]. Островковый аппарат человека значительно более устойчив к аллоксану, чем у грызунов. Перед введением аллоксана животных рекомендуется не кормить в течение 24 часов, тогда как повышенный уровень глюкозы в крови обеспечивает частичную защиту  $\beta$ -клеток [56].

Можно выделить две основные методики введения суммарной дозы аллоксана: однократное и дробное. Наиболее распространённый протокол аллоксан-индуцированного диабета у крыс и мышей включает однократное внутрибрюшинное введение вещества в дозе 150–200 мг/кг [34, 57–59], однако при однократном введении доз выше 200 мг/кг существенно возрастает риск гибели животных, тогда как дозы ниже 150 мг/кг могут не вызывать диабетогенного эффекта [60, 61]. Дробное введение аллоксана снижает токсическую нагрузку на органы, уменьшает летальность и, как показано в ряде работ, способствует сохранению части  $\beta$ -клеток с возможностью их частичной регенерации [62, 63]. В частности, показано, что дробное введение аллоксана в дозе 300 мг/кг привело к

наиболее выраженным нарушениям углеводного, жирового и белкового обмена на фоне статистически значимого снижения летальности крыс [53].

Аллоксан-индуцированный диабет у крыс и мышей может протекать в двух формах: острой и хронической. Острая форма характеризуется тяжёлым течением, стойкой гипергликемией (более 10 ммоль/л), выраженной глюкозурией (до 4–6 г/сутки) и высокой летальностью в течение 2–4 дней. Хроническая форма длится до 44 дней (мыши) и 3-х месяцев (крысы). У отдельных крыс после диабета разной продолжительности было отмечено выздоровление. Введение 5 % водного раствора аллоксана в маргинальную вену уха кроликов, как правило, сопровождается стойким диабетом. Подкожное введение 500 мг/кг вызывает один из указанных выше типов диабета с доброкачественным течением [34].

После введения аллоксана у большинства животных наблюдается последовательное изменение уровня гликемии, включающее три, а иногда и четыре фазы. Первая фаза развивается через несколько минут после введения препарата, продолжается до 30 минут и характеризуется транзиторной гипогликемией, обусловленной кратковременной стимуляцией секреции инсулина, что подтверждается повышением его концентрации в плазме и появлением светло-розового оттенка мочи [23, 41]. Предполагается, что гиперинсулинемия возникает на фоне временного повышения уровня АТФ, вызванного снижением фосфорилирования глюкозы из-за угнетения глюкокиназы. Однако некоторые исследователи ставят под сомнение наличие данной фазы, поскольку она не воспроизводится у всех видов животных [34]. После начальной гипогликемии развивается вторая фаза — кратковременная гипергликемия, обусловленная угнетением секреции инсулина на фоне повреждения  $\beta$ -клеток. Она сменяется третьей фазой, наступающей через 4–6 часов после введения аллоксана, и сопровождается повторной гипогликемией, продолжающейся до суток. В этот период происходит массовый выброс инсулина из разрушающихся  $\beta$ -клеток, поэтому для предотвращения летальных исходов рекомендуется введение раствора глюкозы [64–66].

У животных, переживших острый период, наступает заключительная фаза, характеризующаяся стойкой гипергликемией и формированием аллоксанового диабета [34]. В это время наблюдается полная дегрануляция и утрата целостности  $\beta$ -клеток, тогда как остальные эндокринные клетки поджелудочной железы остаются интактными, что подтверждает избирательное действие аллоксана [64–66].

**Механизм действия аллоксана** на  $\beta$ -клетки поджелудочной железы активно изучался преимущественно *in vitro* [51], однако, несмотря на значительное количество работ, посвящённых этим исследованиям, пока не существует общепринятой теории, всесторонне объясняющей этот феномен.

По мнению S. Lenzen с соавторами, аллоксан, являющийся цитотоксичным аналогом глюкозы, обладает двумя патофизиологическими эффектами: во-первых, избирательно подавляет секрецию инсулина, вызванную глюкозой, посредством специфического ингибирования глюкокиназы, сенсора глюкозы в бета-клетках, а, во-вторых, способен индуцировать образование активных форм кислорода (АФК), что приводит к избирательному некрозу  $\beta$ -клеток [41] (рис. 3).

Эти два механизма обусловлены специфическими химическими свойствами аллоксана, такими как избирательное поглощение клетками и накопление аллоксана в поджелудочной железе. Структурно молекула аллоксана сходна с глюкозой, она распознаётся транспортером GLUT2, экспрессируемым в мембране  $\beta$ -клеток, переносится через плазматическую мембрану в цитозоль, где и накапливается [51, 67]. Данный путь транспорта объясняет избирательную токсичность аллоксана, так как GLUT2 практически не экспрессируется в других эндокринных клетках поджелудочной железы [68, 69]. Однако эксперименты с липофильными производными вещества показали, что проницаемость через мембрану сама по себе не определяет диабетогенный эффект – он возникает после накопления вещества внутри клетки [70].

Основной причиной повреждения  $\beta$ -клеток аллоксаном может являться окисление тиоловых групп (SH-групп) [71]. Аллоксан реагирует с двумя SH-группами на связывающей сахар стороне глюкокиназы, что приводит к образованию дисульфидной связи и инактивации фермента, результатом чего является угнетение секреции инсулина (рис. 3). Глюкоза может защищать глюкокиназу от инактивации, препятствуя доступу аллоксана к SH-группам фермента [41, 72, 73].



Рис. 3. Механизм действия аллоксана [по 31, 74].

Примечание: ⊗ – ингибирование.

Второй механизм, объясняющий способность аллоксана разрушать  $\beta$ -клетки поджелудочной железы, связан с образованием АФК и свободных радикалов в ходе циклической окислительно-восстановительной реакции [26, 74]. Аллоксан, вступая в реакцию с тиоловыми группами белков, ферментов восстановленного глутатиона, цистеина способен генерировать АФК в циклической реакции с продуктом его восстановления – диалуровой кислотой (рис. 3, 4), что приводит к генерации супероксидных радикалов, перекиси водорода, промежуточного соединения аллоксанового радикала, а в финальной реакции, катализируемой железом, – гидроксильных радикалов и пероксида водорода [75, 76] (рис. 4), которые

считаются основными повреждающими агентами, приводящими к фрагментации ДНК  $\beta$ -клеток, вызывающими их некроз и последующее развитие инсулинозависимого аллоксанового диабета [41, 51, 59].

Предполагается, что сама молекула аллоксана или продукт её восстановления диалуровая кислота не являются цитотоксичными для инсулин-продуцирующих клеток, т. е. если предупредить окислительно-восстановительные реакции и образование АФК, то можно предотвратить разрушение  $\beta$ -клеток, а, следовательно, и развитие диабета [70]. Действительно, показано, что химические вещества, проявляющие антиоксидантные свойства (супероксиддисмутаза, каталаза, неферментативные поглотители гидроксильных радикалов могут ослаблять токсичность аллоксана [51, 77].

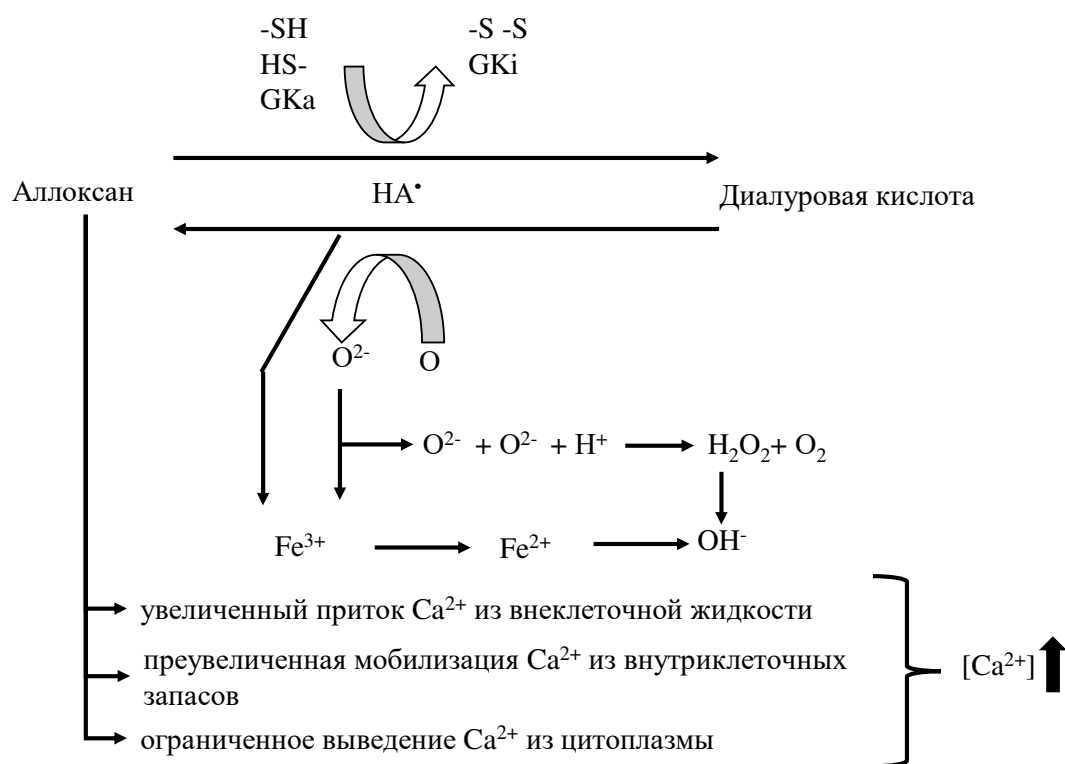


Рис. 4. Механизм образования активных форм кислорода под воздействием аллоксана в  $\beta$ -клетках поджелудочной железы крыс [по 51].

Примечание: GKa, GK<sub>i</sub> — активная и неактивная формы глюкокиназы соответственно;  $HA^\bullet$  — радикалы аллоксана;  $[Ca^{2+}]$  — внутриклеточная концентрация ионов кальция.

Существует мнение, что способность аллоксана взаимодействовать с SH-группами белков клеточной мембраны  $\beta$ -клеток приводит к нарушению мембранной проницаемости, утечке калия, коферментов и ферментов, а также проникновению

ионов натрия внутрь клетки, что вызывает её гибель. Несмотря на то, что данная гипотеза получила экспериментальное подтверждение *in vitro* [78], ряд её положений подвергался критическому пересмотру, в том числе по данным современных исследований [70, 79]. В работе К. С. Эльбекьян с соавторами [58] показано, что при аллоксан-индуцированном диабете в сыворотке крови животных нарушается соотношение между эссенциальными макро- и микроэлементами (натрий, калий, кальций, цинк, железо, медь и др.), однако не известно являются ли данные нарушения причиной или следствием патогенеза СД.

Высказано предположение, что нарушение внутриклеточного гомеостаза кальция ( $\text{Ca}^{2+}$ ) являются важным этапом диабетогенного действия аллоксана. Эта концепция была подтверждена экспериментами *in vitro* и *in vivo*, которые показали, что аллоксан повышает концентрацию свободного  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле  $\beta$ -клеток поджелудочной железы [80, 81] (рис. 4). Этот эффект возникает в результате нескольких процессов: аллоксан-индуцированный приток кальция из внеклеточной жидкости, усиленная мобилизация кальция из внутриклеточных хранилищ и его ограниченное выведение из цитоплазмы. Приток кальция может быть обусловлен способностью аллоксана деполяризовать клеточную мембрану  $\beta$ -клеток поджелудочной железы. Также было обнаружено, что аллоксан оказывает стимулирующее действие на отток  $\text{Ca}^{2+}$  из митохондрий и одновременно подавляет поглощение  $\text{Ca}^{2+}$  митохондриями [41]. Влияние аллоксана на концентрацию внутриклеточного кальция, по-видимому, опосредовано перекисью водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), поскольку перекись сама по себе оказывает аналогичное влияние на концентрацию кальция в  $\beta$ -клетках [81]. Результаты экспериментов с антагонистами кальциевых каналов подтвердили важную роль цитозольного кальция в цитотоксическом действии аллоксана. В частности, верапамил и дилтиазем (антагонисты кальциевых каналов) подавляли гипергликемию и развитие аллоксанового диабета у крыс, а предварительное введение крысам верапамила предотвращало вызванное аллоксаном повышение концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в  $\beta$ -клетках и устраняло стимулирующее действие аллоксана на высвобождение инсулина [80].

Как уже было отмечено, глюкоза противодействует цитотоксичности аллоксана *in vitro* и *in vivo*. Эта способность, однако, является не только результатом защиты глюкокиназы. Защитный эффект глюкозы относительно некротической гибели  $\beta$ -клеток может быть обусловлен взаимодействием глюкозы с её переносчиком GLUT2, что приводит к ограничению поглощения клеткой аллоксана [41, 51]. Было высказано предположение, что действие глюкозы также связано с её метаболизмом и с увеличением выработки НАДН и НАДФН, ускоряющих рециркуляцию глутатиона, который и обеспечивает защиту от свободных радикалов. Sakurai K, Ogiso T. [82] показали, что образование гидроксильных радикалов *in vitro* в присутствии аллоксана сильно зависит от концентрации глутатиона: глутатион в низких концентрациях способствовал образованию радикалов; глутатион в высоких концентрациях подавлял образование гидроксильных радикалов и напрямую нейтрализовал их. В эксперименте показано, что глюкоза, введенная крысам за 20 минут до приема аллоксана, частично ограничивала аллоксан-индуцированное повышение активности глутатионпероксидазы и уменьшала снижение небелковых

SH-групп печени (особенно восстановленного глутатиона), однако защитное действие глюкозы зависело от дозы глюкозы и аллоксана [83].

Безусловно, для выяснения механизмов действия аллоксана требуются дальнейшие исследования, однако в настоящее время установлено, что токсическое действие аллоксана на  $\beta$ -клетки поджелудочной железы, приводящее к их деструкции, уменьшению количества  $\beta$ -клеток и диабетогенному эффекту, представляет собой совокупность нескольких процессов, таких как ингибирование глюкокиназы, окисление SH-групп, образование свободных радикалов и нарушение внутриклеточного гомеостаза кальция.

Таким образом, модель аллоксан-индуцированного диабета достаточно хорошо изучена и имеет как преимущества перед другими экспериментальными моделями, обусловленные сравнительно хорошей изученностью, воспроизводимостью, финансовой доступностью и простотой исполнения, так и существенные недостатки, связанные с низкой стабильностью аллоксана и очень коротким периодом полураспада, тяжело протекающей гипогликемической фазой формирования диабета, повреждением других органов (прежде всего, печени и почки), что приводит к высокой смертности, значительному увеличению количества животных в эксперименте и существенно ограничивает применение аллоксана в диабетогенных дозах. Следует также отметить, что у животных, получавших аллоксан, зачастую наблюдается обратная динамика гипергликемии, связанная с регенерацией поджелудочной железы. Из-за этих ограничений аллоксан в настоящее время используется реже, чем СТЗ.

**Стрептозотоциновый диабет.** СТЗ (2-дезоксиг-2-(3-метил-3-нитрозомочевина)-D-глюкопираноз) (C<sub>18</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>) был выделен из штамма почвенных микроорганизмов *Streptomyces achromogens* в качестве нового антибиотика в 1956 году и применялся в качестве терапевтического средства для лечения метастатической инсулин-продуцирующей опухоли островковых клеток поджелудочной железы [24, 51, 84], однако позднее была установлена его диабетогенная активность, приводящая к развитию гипергликемии и ИЗСД [40]. Наблюдаемый инсулинемический синдром назвали «стрептозотоциновым диабетом», а СТЗ стали использовать для получения экспериментального СД.

Как и аллоксан, СТЗ является селективным цитотоксическим агентом, поражающим поджелудочную железу и вызывающим некроз  $\beta$ -клеток в результате воспалительного процесса и лимфоцитарной инфильтрации островков Лангерганса [26, 67]. Способность СТЗ вызывать диабет зависит от вида, пола, возраста и индивидуальной чувствительности животных, а также дозировки препарата [85]. В таблице 1 представлены диапазоны доз СТЗ, виды животных, используемые для индукции СД1.

СТЗ диабет получен у большинства лабораторных животных: крыс, мышей, морских свинок, кроликов, собак и обезьян. Однако различные виды животных, даже в пределах одного семейства, зачастую значительно различаются по чувствительности к препарату. Считается, что наиболее чувствительны к СТЗ грызуны, особенно крысы, а человек и рыбы максимально резистентны, при этом  $\beta$ -клетки человека значительно более устойчивы к СТЗ, чем  $\beta$ -клетки остальных человекоподобных приматов [86].

Данная закономерность имеет генетическую природу и обусловлена экспрессией различных видов транспортеров глюкозы на плазматической мембране, особенностями ферментативных систем окисления глюкозы в митохондриях и различиями в системе репарации ДНК [87]. Показано, что диабет, вызванный СТЗ, у кошек похож на СД 2-го типа, а у крыс – на СД 1-го типа [88].

В пределах одного вида также существуют значительные различия в чувствительности и резистентности животных к СТЗ. Инбредные линии крыс и мышей могут отличаться по чувствительности к СТЗ в несколько раз [89]. Показано, что среди крыс *Wistar* выделено три группы животных, обладающих различной чувствительностью/резистентностью к диабетогенным дозам СТЗ (1 группа характеризуется быстрым развитием гипергликемии, значительной деструкцией панкреатических островков и гибелью значительного количества  $\beta$ -клеток уже на начальных стадиях СД; 2 группа характеризуется длительным латентным течением патологического процесса; 3 группа отличается периодически возникающей гипергликемией) [87]. По мнению автора, выявленные индивидуально-типологические особенности связаны не с шириной нормы реакции, а с существованием изолированных групп животных с различной резистентностью к СТЗ. Диабетогенное действие СТЗ усиливается андрогенами и угнетается эстрогенами, что приводит к значительным различиям в чувствительности к СТЗ у самцов и самок [90].

Выбор оптимальной дозы СТЗ является критическим условием успешного моделирования СД. Доза подбирается в зависимости от формы препарата, вида животного, используемого штамма и массы тела животных (см. табл. 1). Низкая доза СТЗ, как правило, не даёт желаемого эффекта и полноценный СД не развивается, а более высокие дозы приводят к тяжёлым побочным эффектам, общей интоксикации и летальному исходу [91, 92].

Субдиабетогенная доза СТЗ для крыс составляет 25 мг/кг при оптимальной диабетогенной дозе порядка 35–75 мг/кг [26, 86, 93]. СД, вызванный СТЗ, бывает двух типов: взрослый и неонатальный [31]. При неонатальном типе СТЗ вводят 2–4-дневным крысам линии *Wistar* внутрибрюшинно в дозе 65–100 мг/кг, а новорожденных крыс держат с матерью до 4-й недели лактации [94]. Для других видов грызунов диабетогенные дозы СТЗ значительно выше и находятся в диапазоне от 100 до 200 мг/кг [26, 86].  $\beta$ -клетки рыб проявляют высокую резистентность к действию СТЗ, который даже в высоких дозах (350 мг/кг) вызывает лишь кратковременное нарушение синтеза и секреции инсулина без деструкции панкреатических островков, что связано с особенностями метаболизма  $\beta$ -клеток у этих животных.

СТЗ, также, как и аллоксан, рекомендуется вводить в виде однократной высокой дозы или многократных низких доз. При СД1, имитирующем аутоиммунный инсулит, предпочтительнее многократные низкие дозы. При низких дозах (многократно по 20–40 мг/кг/день) в результате высвобождения фермента декарбоксилазы глутаминовой кислоты СТЗ вызывает иммунологическую и воспалительную реакции. При аутоиммунном диабете этот фермент является ключевым аутоантигеном [95]. Однако следует отметить, что получить модель СД1 за счет развития аутоиммунного инсулита удастся лишь на немногих линиях мышей

с генетической предрасположенностью [86, 96]. Этот метод также не позволяет получить адекватную модель СД1 человека на других видах животных. Поэтому для развития патологического процесса с аутоиммунным компонентом рекомендованы однократные инъекции диabetогенных доз СТЗ, которые, завися от вида животного [86].

При высокодозном подходе к применению СТЗ животным внутривенно или внутривентально вводят однократную дозу (100–200 мг/кг для мышей или 35–65 мг/кг для крыс), что приводит к повышению уровня глюкозы в крови до  $> 500$  мг/дл в течение 48 часов, значительной гибели  $\beta$ -клеток поджелудочной железы, но практически не влияет на выработку инсулина [97–99]. Для развития диабетических осложнений у животных, таких как язвы и нейропатия, как правило, необходимо от 2 до 8 недель после постановки диагноза. Однократное введение высокой дозы СТЗ приводит к развитию гипергликемии, и экспериментальные модели, полученные таким путем, могут быть полезными при трансплантации и тестировании препаратов инсулина.

СТЗ устойчив лишь при низкой температуре в кислой среде, а в нейтральных и щелочных условиях он быстро в течение нескольких минут деградирует до неактивных метаболитов, не обладающих диabetогенным эффектом [100]. В связи с неустойчивостью и коротким периодом полураспада СТЗ самым надежным считается его внутривенное введение, однако для получения экспериментального СД применяют также внутривентальный способ введения и прямую инфузию в сосуды поджелудочной железы [40].

После введения СТЗ изменяется концентрация глюкозы в крови, а эти изменения, как и после введения аллоксана, носят фазный характер, однако в отличие от аллоксана, СТЗ не угнетает глюкокиназу. Через 1–2 часа после введения диabetогенной дозы СТЗ начинается первая гипергликемическая фаза, которая длится до 4 часов. Развитие ранней гипергликемии обусловлено угнетением секреции инсулина в результате токсического воздействия СТЗ на  $\beta$ -клетки поджелудочной железы [41], однако некоторые авторы связывают ее с повышением скорости печеночного гликогенолиза или рассматривают как вторичную по отношению к повышению содержания свободных жирных кислот [34, 101]. Показано, что в этой фазе уже наблюдаются ультраструктурные изменения синтетического и энергетического аппарата  $\beta$ -клеток, сопровождаемые нарушениями синтеза проинсулина и инсулина [102]. Через 4–8 часов наступает вторая гипогликемическая фаза, которая продолжается от нескольких часов до суток и считается следствием высвобождения инсулина из поврежденных  $\beta$ -клеток. Третья фаза гликемической кривой характеризуется устойчивой гипергликемией и развитием перманентного диабета через 24 часа после введения СТЗ и рассматривается как результат абсолютной инсулиновой недостаточности [41, 103]. Морфологический и ультраструктурный анализы подтверждают полную дегрануляцию и потерю целостности  $\beta$ -клеток в этой фазе СД. Таким образом, при развитии СД, индуцированном СТЗ, в отличие от аллоксанового диабета, не наблюдается выраженной ранней гипогликемической фазы, поскольку препарат не ингибирует глюкокиназу [41].

Пик гипергликемии приходится на 2–3-и сутки после введения СТЗ, затем наступает короткий период эугликемии, причиной которой является то, что  $\beta$ -клетки потенциально способны вступать в митоз под действием высокой концентрации глюкозы [87, 104]. Увеличение массы  $\beta$ -клеток приводит к снижению гликемии до физиологических значений и характеризует состояние неполной компенсации функции инсулярного аппарата поджелудочной железы. Неполюценность компенсаторной реакции проявляется в тесте толерантности к глюкозе. К 10–14-м суткам после введения СТЗ у животных наблюдается повторное повышение уровня гликемии [87]. Вероятно, в этот период происходит формирование развернутого аутоиммунного ответа на неоантигены панкреатических островков, ведущие к гибели основной массы  $\beta$ -клеток, фиброзу и склерозу островков, пролиферации альфа-клеток. В сохранившихся  $\beta$ -клетках в значительной степени нарушена индуцированная глюкозой секреция инсулина.

**Механизм действия СТЗ** связан с избирательной токсичностью по отношению к  $\beta$ -клеткам поджелудочной железы [26, 67]. Высокая гидрофильность СТЗ затрудняет его проникновение через плазмолемму различных клеток и гематоэнцефалический барьер мозга, а его тропность к  $\beta$ -клеткам определяется остатком глюкозы в составе его молекулы [105], благодаря которой он селективно связывается с трансмембранным белком-переносчиком глюкозы GLUT2 и транспортируется в цитоплазму [67] (рис. 5).

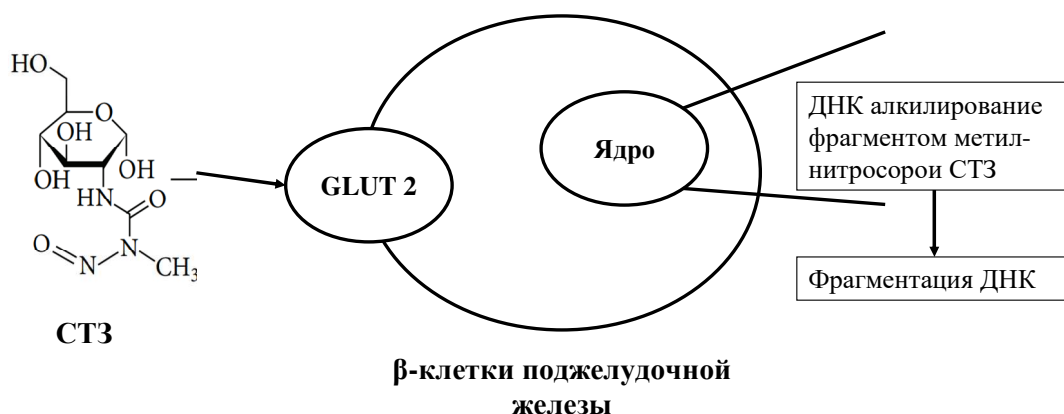


Рис. 5. Механизм действия стрептозотоцина (СТЗ) на  $\beta$ -клетки [по 32].

*Примечание:* GLUT2 – переносчик глюкозы.

Таким образом, чувствительность клеток к СТЗ зависит от экспрессии переносчиков GLUT2, которые у большинства животных экспрессируются исключительно  $\beta$ -клетками панкреатических островков. Поэтому инсулинпродуцирующие клетки, не экспрессирующие переносчик глюкозы, устойчивы к СТЗ и становятся чувствительными к токсическому действию препарата только после экспрессии GLUT2 в плазматической мембране [106]. Поскольку переносчик GLUT2 также экспрессируется в гепатоцитах и эпителиоцитах почечных

канальцев, СТЗ способен вызывать сопутствующие токсические поражения печени и почек. Поэтому при введении животным высоких доз СТЗ наблюдаются не только развитие СД, но и развитие диабетической нефропатии [101, 108].

После проникновения в клетку препарат вызывает множественные повреждения [98], приводящие к нарушению целостности клеточных мембран, энергетического обмена, возникновению мутаций в ДНК, некрозу  $\beta$ -клеток, а, следовательно, к угнетению секреции и синтеза инсулина.

В научной литературе выдвигается несколько теорий, лежащих в основе механизма развития СТЗ-индуцированного СД (рис. 6).

Во-первых, внутриклеточное действие СТЗ приводит к метилированию ДНК в  $\beta$ -клетках поджелудочной железы, а затем к её фрагментации [41, 67], а решающую роль в токсическом эффекте СТЗ в отношении  $\beta$ -клеток играет его способность вызывать энергетический дефицит в клетках [100, 107, 109, 110]. Разрыв цепи ДНК в клетках островков поджелудочной железы и последующая активация ядерной поли(АДФ-рибозо)-полимеразы (PARP) приводят к снижению уровня внутриклеточного никотинамидадениндинуклеотида (НАД) и аденозинтрифосфата (АТФ) (рис. 6). При этом угнетение аконитазы, участвующей в цикле Кребса, на фоне гиперактивации поли(АДФ-рибозо)-полимеразы, приводит к полному истощению внутриклеточных запасов НАД и АТФ, что и является непосредственной причиной некроза  $\beta$ -клеток. Следует отметить, что при индуцированной СТЗ гибели  $\beta$ -клеток процессы апоптоза оказываются также блокированными из-за полного истощения внутриклеточных запасов АТФ и НАД [111, 112].

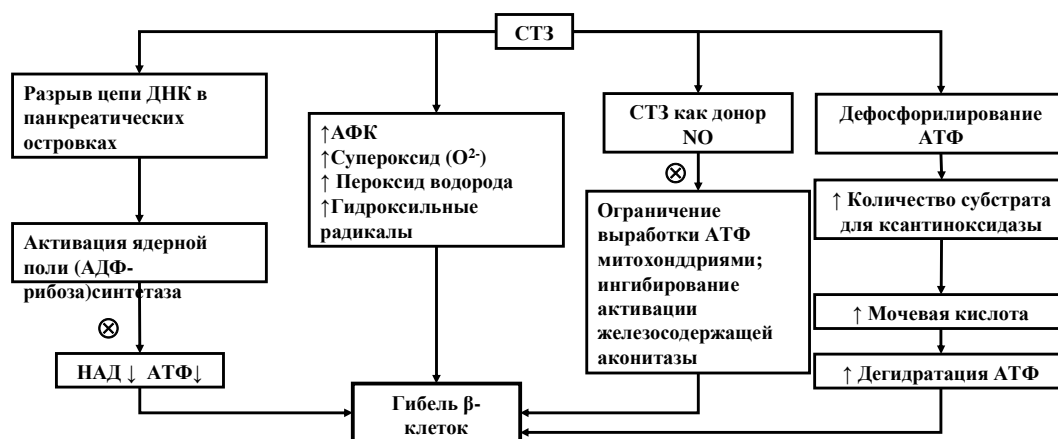


Рис. 6. Механизм действия стрептозотоцина [по 107].

*Примечание:* СТЗ – стрептозотоцин; АФК – активные формы кислорода; НАД – никотинамидадениндинуклеотид; АТФ – аденозинтрифосфат; NO – оксид азота; ⊗ - ингибирование.

Другой теорией, объясняющей механизм диабетогенного действия СТЗ, является чрезмерное образование АФК, таких как супероксид ( $O_2^{\cdot-}$ ), перекись

водорода и гидроксильные радикалы [107] (рис. 6). АФК могут образовываться в процессе генерации мочевой кислоты как финального продукта деградации АТФ ксантиноксидазой или гипоксантином. Косвенное доказательство участия АФК получено в экспериментах [113].

Альтернативной гипотезой, объясняющей механизм действия СТЗ на  $\beta$ -клетки поджелудочной железы, является его способность неферментативно высвобождать свободный оксид азота (NO), который частично опосредует ограничение выработки АТФ митохондриями, связывается с железосодержащей митохондриальной аконитазой (фермент из семейства гидратаз) и ингибирует её активацию, что ведет к нарушению аэробного окисления глюкозы и, как следствие – подавлению стимулируемой глюкозой секреции и синтеза инсулина [96, 114] (рис. 6). При достижении высокой концентрации NO быстро превращается в пероксинитрат, что ведет к активации процессов свободнорадикального окисления и, как результат – нарушению целостности клеточных мембран, снижению эффективности окислительного фосфорилирования в митохондриях [96, 115], возникновению мутаций в ДНК [87, 116]. Однако показано, что алкилирующий агент метил метансульфонат, один из самых токсичных соединений, не является донором NO, тем самым доказывая, что NO не обязателен для токсического действия алкилирующих агентов, включая соединение СТЗ. Таким образом, NO и свободные нитрозные радикалы (пероксинитриты) могут усугублять токсичность действия СТЗ, но NO, по-видимому, не является решающим фактором для его токсического действия на  $\beta$ -клетки [67].

Существует также гипотеза, объясняющая диабетогенность СТЗ усиленным дефосфорилированием АТФ (рис. 6), которое приводит к увеличению количества субстрата для ксантиноксидазы (молибден-содержащая оксидоредуктаза, фермент, катализирующий окисление гипоксантина в ксантин и ксантина в мочевую кислоту) и способствует увеличению выработки мочевой кислоты – конечного продукта распада АТФ [107]. Затем ксантиноксидаза катализирует реакцию, в ходе которой образуется супероксиданион, а затем перекись водорода и гидроксильные радикалы [117, 118]. Экспериментально показано, что ингибирование ксантиноксидазы аллопурином ограничивает цитотоксический эффект СТЗ *in vitro*, а предварительная обработка  $\beta$ -клеток этим ингибитором предотвращает СТЗ-индуцированное снижение секреции инсулина [117].

Исходя из существующих теорий, объясняющих механизм повреждающего действия СТЗ на  $\beta$ -клетки, можно констатировать, что алкилирующие свойства СТЗ являются основной причиной его токсичности, а синергическое действие NO и АФК может способствовать фрагментации ДНК и другим диабетогенным эффектам. Причем NO и АФК могут действовать как самостоятельно, так и образовывать высокотоксичный пероксинитрат. Поэтому внутриклеточные антиоксиданты или поглотители NO существенно снижают токсичность СТЗ. Следовательно, можно заключить, что модель СТЗ диабета этиологически и патогенетически в значительной степени близка к СД1 человека.

Таким образом, модель СД1, индуцированная СТЗ, является надежной, хорошо воспроизводимой, однако, как и в случае с аллоксан-индуцированным диабетом, сопровождается высокой летальностью животных. Следует отметить, что у СТЗ-

индуцированного СД есть ряд преимуществ перед аллоксановым, таких как длительная гипергликемия, более длительный период полураспада (15 минут) и развитие хорошо изученных диабетических осложнений с меньшим количеством случаев кетоза и смертности. Именно поэтому СТЗ в настоящее время используется чаще, чем аллоксан. Однако существенным недостатком данной модели, ограничивающим её использование в длительных хронических экспериментах, является то, что уже через несколько недель у животных может восстановиться нормальный уровень глюкозы.

**Дитизоновый «цинковый» диабет.** Дитизон (дифенилтиокарбазон, 2-фенилгидразид фенилазотиомуравьиной кислоты,  $C_6H_5N=N-C(S)-NHNHC_6H_5$ ) – это хелатное соединение, способное связывать цинк, который является важным компонентом инсулинсодержащих гранул  $\beta$ -клеток и участвует в стабилизации инсулин-цинкового комплекса.

Впервые К. Okamoto описал, что некоторые химические соединения (дитизон, производные хинолина) могут блокировать в островках поджелудочной железы металлы (цинк), в результате чего происходит разрушение  $\beta$ -клеток [113].

Наилучшим объектом для моделирования дитизонового диабета являются кролики, хотя удалось вызвать его и у мышей [119]. Дитизон вводят в виде водного раствора аммиака в дозе 25–50 мг/кг после предварительного голодания животных на протяжении 1–2 суток, что усиливает их чувствительность к дитизону, как и к остальным диабетогенным веществам. Уже через 2–5 минут после введения препарат связывается с панкреатическим цинком, формируя комплекс дитизон-цинк. Дитизон очень быстро исчезает из сосудистого русла и через 20 минут в крови обнаруживаются только его следы.

В первые сутки после введения диабетогенной дозы дитизона происходит трехфазное колебание концентрации глюкозы в крови, аналогичное таковому при аллоксановом диабете, которое сопровождается структурными изменениями  $\beta$ -клеток. Через 15 минут после введения препарата наблюдается очаговое опустошение цитоплазмы и разрушение гранул  $\beta$ -клеток. С помощью электронной микроскопии установлено, что в первую очередь повреждаются оболочки  $\beta$ -гранул, которые вслед за этим разрушаются. Первоначально формируются единичные очаги, каждый из которых возникает на месте 2–4 разрушенных гранул. Через 1–2 часа зона опустошения с поврежденными органоидами занимает большую часть клетки. К концу суток значительная часть  $\beta$ -клеток полностью разрушается, что, по-видимому, и является морфологической основой возникающей к этому периоду инсулиновой недостаточности [120].

Первоначально представление о **механизме «цинкового» диабета** было сформулировано К. Okamoto [113], которое связано со способностью дитизона формировать комплексные соли с ионами цинка в  $\beta$ -клетках, в результате чего они разрушаются. Биологическое значение цинка обусловлено тем, что он является составной частью каталитически активного центра целого ряда ферментов – дегидрогеназы, карбоксипептидазы, трансфорилазы и содержится в панкреатических островках человека, кроликов, собак, мышей, крыс, котов и других животных, исключая морских свинок.

В настоящее время теория К. Okamoto значительно уточнена и расширена [119–122]. С помощью гистохимических методов доказано значение блокирования цинка в развитии диабета и показано, что цинк находится в тесной функциональной связи с инсулином непосредственно в секреторных гранулах, образуя специфические нерастворимые комплексы депонированного гормона. Под влиянием стимуляторов секреции инсулина происходит изменение характера связи и нерастворимый комплекс цинк-инсулин становится растворимым. При введении глюкозы количество цинка в  $\beta$ -клетках уменьшается, почти полностью исчезая при длительной нагрузке глюкозой. Установлено, что любые вещества, вступающие в соединения с цинком и нарушающие его связь с инсулином, могут обладать диабетогенным действием [122].

Результаты диабетогенного действия дитизона, хинолина и их производных были прослежены в течение длительного срока (до нескольких месяцев), что дало возможность достаточно полно охарактеризовать особенности вызываемого ими заболевания. В результате возникла гипотеза, согласно которой существует две фракции цинка в  $\beta$ -клетках. Одна из них –соединенная с инсулином в депонирующих гранулах и делающая инсулин нерастворимым. Дитизон образует с этим цинком обратимую связь (комплекс быстро распадается и освобождающийся цинк соединяется с повторно вводимым дитизоном). Вторая фракция цинка  $\beta$ -клеток может быть связана с активным центром ферментов, участвующих в синтезе инсулина. Дитизон необратимо блокирует этот цинк, а потому нарушает инсулиногенную функцию островных клеток [121]. Однако эта гипотеза не подкреплена прямыми экспериментальными доказательствами.

Можно заключить, что «цинковые» формы диабета являются удобной моделью вследствие простоты их получения, незначительных побочных эффектов хелатообразующих веществ на другие органы и ткани. Однако существенным недостатком этой модели является ограниченный выбор животных. Поэтому, несмотря на давнюю историю использования, данная модель не получила такого широкого распространения, как аллоксановый или стрептозотоциновый диабет и применяется ограниченно.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом, экспериментальные модели на животных необходимы для изучения механизмов развития СД и разработки и тестирования новых препаратов и терапевтических стратегий. Основной проблемой при переносе результатов лабораторных исследований в клиническую практику является отсутствие оптимальной доклинической модели, способной в полной мере воспроизводить СД1 у человека, у каждой модели есть свои преимущества, недостатки и ограничения.

Использование хирургической модели в экспериментальной практике способствовало пониманию механизмов действия инсулина, однако хирургический подход к моделированию СД1 довольно ограничен в применении из-за высокого процента летальности животных, определенных требований к навыкам экспериментаторов и оборудованию, короткого периода длительности метаболических нарушений, высокого риска послеоперационного инфицирования.

Поэтому в настоящее время более весомое значение в экспериментальной практике имеет химически индуцированный СД 1 типа.

Индукция экспериментального СД у животных с использованием химических веществ, которые избирательно разрушают  $\beta$ -клетки поджелудочной железы достаточно удобна, проста в исполнении и воспроизведении, хорошо изучена, даёт возможность в зависимости от задач и условий эксперимента получить разные формы болезни, начиная от самых тяжелых, сопровождающихся полным выпадением инкреторной функции островков, и заканчивая относительно легкими формами, завершающимися выздоровлением. Среди существующих моделей экспериментального химически индуцированного СД1 предпочтение в настоящее время отдается стрептозотоциновому и аллоксановому, которые позволяют воспроизвести клиническую картину, сходную с развитием ИЗСД у человека. К ограничениям химических моделей относят вариабельность индивидуальной чувствительности животных, риски системной токсичности, высокую летальность, а также неполное соответствие механизмов разрушения  $\beta$ -клеток клиническому патогенезу СД у человека.

### Список литературы

1. Ogurtsova K. IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040 / K. Ogurtsova, J. D. da Rocha Fernandes, Y. Huang [et al.] // *Diabetes Research and Clinical Practice*. – 2017. – Vol. 128. – P. 40–50.
2. Rowley W. R. Diabetes 2030: Insights from Yesterday, Today, and Future Trends / W. R. Rowley, C. Bezold, Y. Arikian [et al.] // *Population Health Management*. – 2017. – Vol. 20, No. 1. – P. 6–12.
3. Sun H. IDF diabetes atlas: global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045 / H. Sun, P. Saeedi, S. Karuranga [et al.] // *Diabetes Research and Clinical Practice*. – 2022. – Vol. 183. – P. 109119.
4. Ong K. L. Global, regional, and national burden of diabetes from 1990 to 2021, with projections of prevalence to 2050: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021 / K. L. Ong, L. K. Stafford, S. A. McLaughlin [et al.] // *The Lancet*. – 2023. – Vol. 402, No. 10397. – P. 203–234.
5. Zheng Y. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications / Y. Zheng, S. H. Ley, F. B. Hu // *Nature Reviews Endocrinology*. – 2018. – Vol. 14, No. 2. – P. 88–98.
6. Дедов И. И. Сахарный диабет. Многообразие клинических форм / И. И. Дедов, М. В. Шестакова. – Москва : МИА, 2016. – 224 с.
7. Harding J. L. Global trends in diabetes complications: a review of current evidence / J. L. Harding, M. E. Pavkov, D. J. Magliano [et al.] // *Diabetologia*. – 2019. – Vol. 62. – P. 3–16.
8. Yu M. G. Protective Factors and the Pathogenesis of Complications in Diabetes / M. G. Yu, D. Gordin, J. Fu [et al.] // *Endocrine Reviews*. – 2024. – Vol. 45, No. 2. – P. 227–252.
9. King A. J. The use of animal models in diabetes research / A. J. King // *British Journal of Pharmacology*. – 2012. – Vol. 166, No. 3. – P. 877–894.
10. Дедов И. И. Сахарный диабет типа 1. Реалии и перспективы / И. И. Дедов, М. В. Шестакова. – Москва : МИА, 2016. – 504 с.
11. Petersmann A. Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus / A. Petersmann, M. Nauck, D. Müller-Wieland [et al.] // *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*. – 2018. – Vol. 126, No. 07. – P. 406–410.
12. Solomon T. P. J. Exercise and diet enhance fat oxidation and reduce insulin resistance in older obese adults / T. P. J. Solomon, S. N. Sistrun, R. K. Krishnan [et al.] // *Journal of Applied Physiology*. – 2008. – Vol. 104, No. 5. – P. 1313–1319.
13. Bluestone J. A. Genetics, pathogenesis and clinical interventions in type 1 diabetes / J. A. Bluestone, K. Herold, G. Eisenbarth // *Nature*. – 2010. – Vol. 464, No. 7293. – P. 1293–1300.

14. Roden M. [Diabetes mellitus: definition, classification and diagnosis] / M. Roden // Wiener Klinische Wochenschrift. – 2016. – Vol. 128, Suppl. 2. – P. S37–S40.
15. Kerner W. Definition, classification and diagnosis of diabetes mellitus / W. Kerner, J. Brückel // Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes. – 2014. – Vol. 122, No. 07. – P. 384–386.
16. Nyaga D. M. The genetic architecture of type 1 diabetes mellitus / D. M. Nyaga, M. H. Vickers, C. Jefferies [et al.] // Molecular and Cellular Endocrinology. – 2018. – Vol. 477. – P. 70–80.
17. Skyler J. S. Differentiation of diabetes by pathophysiology, natural history, and prognosis / J. S. Skyler, G. L. Bakris, E. Bonifacio [et al.] // Diabetes. – 2017. – Vol. 66, No. 2. – P. 241–255.
18. Noble J. A. Fifty years of HLA-associated type 1 diabetes risk: history, current knowledge, and future directions / J. A. Noble // Frontiers in Immunology. – 2024. – Vol. 15. – P. 1457213.
19. Atkinson M. A. Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment / M. A. Atkinson, G. S. Eisenbarth // The Lancet. – 2001. – Vol. 358, No. 9277. – P. 221–229.
20. Ben Nasr M. The rise, fall, and resurgence of immunotherapy in type 1 diabetes / M. Ben Nasr, F. D'Addio, V. Uselli [et al.] // Pharmacological Research. – 2015. – Vol. 98. – P. 31–38.
21. Zaccardi F. Pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus: a 90-year perspective / F. Zaccardi, D. R. Webb, T. Yates [et al.] // Postgraduate Medical Journal. – 2016. – Vol. 92, No. 1084. – P. 63–69.
22. Bollon A. P. Recombinant DNA products: Insulin, interferon and growth hormone. / Bollon A. P. – Boca Raton : CRC Press, 2017. – ISBN 978-13-510762-58.
23. Можейко Л. А. Экспериментальные модели для изучения сахарного диабета часть II. Хирургический, стрептозотоциновый и дитизоновый диабет / Л. А. Можейко // Журнал ГрГМУ. – 2013. – № 4 (44).
24. Rashmi P. Rodent models for diabetes / P. Rashmi, A. Urmila, A. Likhith [et al.] // 3 Biotech. – 2023. – Vol. 13. – P. 80.
25. Thanigaimani S. Animal models of ischemic limb ulcers: a systematic review and meta-analysis / S. Thanigaimani, J. Phie, J. Golledge // BMJ Open Diabetes Research & Care. – 2020. – Vol. 8, No. 1. – P. e001676.
26. Athmuri D. N. Experimental diabetic animal models to study diabetes and diabetic complications / D. N. Athmuri, P. A. Shiekh // MethodsX. – 2023. – Vol. 11. – P. 102474
27. Martín-Carro B. Experimental Models to Study Diabetes Mellitus and Its Complications: Limitations and New Opportunities / B. Martín-Carro, J. Donate-Correa, S. Fernández-Villabrille [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Vol. 24, No. 12. – P. 10309.
28. Pandey S. Future Perspective of Diabetic Animal Models / S. Pandey, M. C. Dvorakova // Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets. – 2020. – Vol. 20, No. 1. – P. 25–38.
29. Graham M. L. Validity of animal models of type 1 diabetes, and strategies to enhance their utility in translational research / M. L. Graham, H.-J. Schuurman // European Journal of Pharmacology. – 2015. – Vol. 759. – P. 221–230.
30. Perlman R. L. Mouse models of human disease an evolutionary perspective / R. L. Perlman // Evolution, Medicine, and Public Health. – 2016. – Vol. 2016, No. 1. – P. 170–176.
31. Al-Awar A. Experimental Diabetes Mellitus in Different Animal Models / A. Al-Awar, K. Kupai, M. Veszelka [et al.] // Journal of Diabetes Research. – 2016. – Vol. 2016. – P. 9051426.
32. Phillips B. Current state of type 1 diabetes immunotherapy: incremental advances, huge leaps, or more of the same? / B. Phillips, M. Trucco, N. Giannoukakis // Clinical and Developmental Immunology. – 2011. – Vol. 2011. – P. 432016.
33. Singh M. P. Animal models for biological screening of anti-diabetic drugs: An overview / M. P. Singh, K. Pathak // European Journal of Experimental Biology. – 2015. – Vol. 5, No. 4. – P. 37–48.
34. Баранов В. Г. Экспериментальный сахарный диабет: монография. / Баранов В. Г. – Л. : Наука, 1983. – 240 с.
35. Masiello P. Animal models of type 2 diabetes with reduced pancreatic  $\beta$ -cell mass / P. Masiello // The International Journal of Biochemistry and Cell Biology. – 2006. – Vol. 38. – P. 873–893.
36. Maqbool M. Animal models in diabetes mellitus: an overview / M. Maqbool [et al.] // Journal of Drug Delivery and Therapeutics. – 2019. – Vol. 9, No. 1-s. – P. 472–475.
37. Thisted L. Rat pancreatectomy combined with isoprenaline or uninephrectomy as models of diabetic cardiomyopathy or nephropathy / L. Thisted, M. V. Østergaard, A. A. Pedersen [et al.] // Scientific Reports. – 2020. – Vol. 10. – P. 16130.

38. Qamar F. Animal models for induction of diabetes and its complications / F. Qamar, S. Sultana, M. Sharma // *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. – 2023. – Vol. 22. – P. 1021–1028.
39. Etuk E. U. Animals models for studying diabetes mellitus / E. U. Etuk // *Agriculture and Biology Journal of North America*. – 2010. – Vol. 1, No. 2. – P. 130–134.
40. Гвазава И. Г. Патогенез сахарного диабета 1 типа и экспериментальные модели на лабораторных грызунах / И. Г. Гвазава, О. С. Роговая, М. А. Борисов [и др.] // *ACTA NATURAE*. – 2018. – Т. 10, № 1 (36). – С. 25–35.
41. Lenzen S. The mechanisms of alloxan and streptozotocin induced diabetes / S. Lenzen // *Diabetologia*. – 2008. – Vol. 51. – P. 216–226.
42. Makhoul L. Importance of hyperglycemia on the primary function of allogeneic islet transplants / L. Makhoul // *Transplantation*. – 2003. – Vol. 76, No. 4. – P. 657–664.
43. Sheshala R. Preparation, characterization, and in vivo evaluation of insulin-loaded PLA-PEG microspheres for controlled parenteral drug delivery / R. Sheshala // *Drug Development and Industrial Pharmacy*. – 2009. – Vol. 35, No. 11. – P. 1364–1374.
44. Baeyens L. In vitro generation of insulin-producing beta cells from adult exocrine pancreatic cells / L. Baeyens // *Diabetologia*. – 2005. – Vol. 48, No. 1. – P. 49–57.
45. Yang H. Human  $\beta$  cells are exceedingly resistant to streptozotocin in vivo / H. Yang // *Endocrinology*. – 2002. – Vol. 143, No. 7. – P. 2491–2495.
46. Hayashi K. Strain differences in the diabetogenic activity of streptozotocin in mice / K. Hayashi // *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. – 2006. – Vol. 29, No. 6. – P. 1110–1119.
47. Sharma P. Animal model used for experimental study of diabetes mellitus: an overview / P. Sharma, A. Garg, S. Garg, V. Singh // *Asian Journal of Biomaterial Research*. – 2016. – Vol. 2, No. 4. – P. 99–110.
48. Philip M. Iannaccone Rats! / Iannaccone M. Philip, Jacob J. Howard // *Dis Model Mech*. – 2009. – Vol. 2, No. 5–6. – P. 206–210.
49. Azushima K. Modelling diabetic nephropathy in mice / K. Azushima, S. B. Gurley, T. M. Coffman // *Nature Reviews Nephrology*. – 2017. – Vol. 14, No. 1. – P. 48–56.
50. Srinivasan K., Ramarao P. Animal models in type 2 diabetes research: an overview / K. Srinivasan // *Indian journal of medical research*. – 2007. – Т. 125, № 3. – С. 451–472.
51. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas / T. Szkudelski // *Physiological Research*. – 2001. – Vol. 50, No. 6. – P. 537–546.
52. Dunn J. S. Experimental alloxan diabetes in the rat / J. S. Dunn, N. G. B. McLetchie // *The Lancet*. – 1943. – Vol. 245, No. 6325. – P. 384–387.
53. Чуян Е. Н. Особенности изменения биохимических показателей крови крыс в условиях разных экспериментальных моделей аллоксан-индуцированного диабета / Е. Н. Чуян, С. Ю. Ливенцов, Н. И. Дворецкая // *Учёные записки КФУ им. В. И. Вернадского. Серия: Биология. Химия*. – 2025. – Т. 11 (77), № 2. – С. 281–302.
54. Kottaisamy C. P. D. Experimental animal models for diabetes and its related complications—a review / C. P. D. Kottaisamy, D. S. Raj, V. Prasanth Kumar [et al.] // *Laboratory Animal Research*. – 2021. – Vol. 37, No. 1. – P. 1–14.
55. Wang J. Creating a long-term diabetic rabbit model / J. Wang [et al.] // *Experimental Diabetes Research*. – 2010. – Vol. 2010. – P. 289614.
56. Radenković M. Experimental diabetes induced by alloxan and streptozotocin: the current state of the art / M. Radenković, M. Stojanović, M. Prostran // *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. – 2016. – Vol. 78. – P. 13–31.
57. Macedo C. S. Experimental model of induction of diabetes mellitus in rats / C. S. Macedo [et al.] // *Plastic surgery, laboratory of plastic surgery: Sao Paulo - Paulista School of Medicine*. – 2005. – P. 2–5.
58. Эльбекьян К. С. Особенности протекания аллоксан-индуцированного сахарного диабета у экспериментальных крыс / К. С. Эльбекьян, А. Б. Ходжаян, Ф. А. Биджиева [и др.] // *Медицинский вестник Северного Кавказа*. – 2019. – Т. 14, № 1.2. – С. 264–267.
59. Fajarwati I. Administration of alloxan and streptozotocin in sprague dawley rats and the challenges in producing diabetes model / I. Fajarwati, D. D. Solihin, T. Wresdiyati, I. Batubara // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. – 2023. – Vol. 1174, No. 1. – P. 012035.

60. Chougale A. D. Optimization of Alloxan Dose is Essential to Induce Stable Diabetes for Prolonged Period / A. D. Chougale, S. N. Panaskar, P. M. Gurao, A. U. Arvindek // *Asian Journal of Biochemistry*. – 2007. – Vol. 2, No. 6. – P. 402–408.
61. Писарев В. Б. Ультраструктурные изменения  $\beta$ -клеток панкреатических островков при сахарном диабете на фоне введения БАД диабета / В. Б. Писарев, Г. Л. Снигур, А. А. Спасов [и др.] // *Морфологические ведомости*. – 2010. – № 1. – С. 78–81.
62. Джафарова Р. Э. К. Сравнительное исследование различных моделей аллоксан-индуцированного сахарного диабета / Р. Э. К. Джафарова // *Казанский медицинский журнал*. – 2013. – № 6.
63. Данилова И. Г. Способ моделирования аллоксанового диабета / И. Г. Данилова, И. Ф. Гетте : Патент на изобретение RU № 2534411C1; заявл. 27.11.2013; опубл. 27.11.2014. – Бюл. № 33.
64. Jorns A. Comparative toxicity of alloxan, N-alkylalloxans and ninhydrin to isolated pancreatic islets in vitro / A. Jorns [et al.] // *Journal of Endocrinology*. – 1997. – Vol. 155. – P. 283–293.
65. Federiuk I. Induction of type 1 diabetes mellitus in laboratory rats by use of alloxan: route of administration, pitfalls, and insulin treatment / I. F. Federiuk [et al.] // *Comparative Medicine*. – 2004. – Vol. 54, No. 3. – P. 252–257.
66. Lenzen S. Alloxan derivatives as a tool for the elucidation of the mechanism of the diabetogenic action of alloxan / S. Lenzen, M. Tiedge, A. Jöns, R. Munday // *Rev.Ser.Advs.Research Diab.Animals*. – Vol. 6. – 1996.
67. Elsner M. Importance of the GLUT2 glucose transporter for pancreatic beta cell toxicity of alloxan / M. Elsner [et al.] // *Diabetologia*. – 2002. – Vol. 45, No. 11. – P. 1542–1549.
68. Gorus F. K. Selective uptake of alloxan by pancreatic B-cells / F. K. Gorus, W. J. Malaisse, D. G. Pipeleers // *Biochemical Journal*. – 1982. – Vol. 208, No. 3. – P. 513–515.
69. Viswanathaswamy A. H. Antihyperglycemic and antihyperlipidemic activity of plectranthus amboinicus on normal and alloxan-induced diabetic rats / A. H. Viswanathaswamy [et al.] // *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2011. – Vol. 73, No. 2. – P. 139–145.
70. Elsner M. Relative importance of cellular uptake and reactive oxygen species for the toxicity of alloxan and dialuric acid to insulin-producing cells / M. Elsner, E. Gurgul-Convey, S. Lenzen // *Free Radic Biol Med*. – 2006. – Vol. 41, No. 5. – P. 825–834.
71. Im Walde S. S. Molecular target structures in alloxan-induced diabetes in mice / S. S. Im Walde, C. Dohle, P. Schott-Ohly, H. Gleichmann // *Life Sciences*. – 2002. – Vol. 71, No. 14. – P. 1681–1694.
72. Lenzen S. Alloxan: history and mechanism of action / S. Lenzen, U. Panten // *Diabetologia*. – 1988. – Vol. 31, No. 6. – P. 337–342.
73. Tiedge M. Importance of cysteine residues for the stability and catalytic activity of human pancreatic beta cell glucokinase / M. Tiedge, T. Richter, S. Lenzen // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. – 2000. – Vol. 375, No. 2. – P. 251–260.
74. Kaur M. Rodent animal models: from mild to advanced stages of diabetic nephropathy / M. Kaur, O. Bedi, S. Sachdeva [et al.] // *Inflammopharmacology*. – 2014. – Vol. 22, No. 5. – P. 279–293.
75. Das J. Taurine exerts hypoglycemic effect in alloxan-induced diabetic rats, improves insulin-mediated glucose transport signaling pathway in heart and ameliorates cardiac oxidative stress and apoptosis / J. Das, V. Vasan, P. C. Sil // *Toxicology and Applied Pharmacology*. – 2012. – Vol. 258, No. 2. – P. 296–308.
76. Winterbourn C. C. Glutathione-mediated redox cycling of alloxan. Mechanisms of superoxide dismutase inhibition and of metal-catalyzed OH $\cdot$  formation / C. C. Winterbourn, R. Munday // *Biochem Pharmacol*. – 1989. – Vol. 38, No. 2. – P. 271–277.
77. Ebelt H. Influence of melatonin on free radical-induced changes in rat pancreatic beta-cells in vitro / H. Ebelt, D. Peschke, H. J. Bromme [et al.] // *Journal of Pineal Research*. – 2000. – Vol. 28, No. 2. – P. 65–72.
78. Watkins D. Effect of sulfhydryl reagents on permeability of toadfish islet tissue / D. Watkins, S. J. Cooperstein, A. Lazarow // *American Journal of Physiology*. – 1970. – Vol. 219, No. 2. – P. 503–509.
79. Тильченко Д. А. Сравнительная характеристика влияния нового производного пиридина на течение сахарного диабета в четырех экспериментальных моделях / Д. А. Тильченко, Е. Ю. Бибик, К. А. Фролов [и др.] // *Международный научно-исследовательский журнал*. – 2022. – № 9 (123).
80. Kim H. R. Role of Ca $^{2+}$  in alloxan-induced pancreatic beta-cell damage / H. R. Kim, H. W. Rho, J. W. Park [et al.] // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*. – 1994. – Vol. 1227, No. 1-2. – P. 87–91.

81. Park B. H. Protective mechanism of glucose against alloxan-induced pancreatic beta-cell damage / B. H. Park, H. W. Rho, J. W. Park [et al.] // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 1995. – Vol. 210, No. 1. – P. 1–6.
82. Sakurai K. Inhibitory effect of glutathione on the generation of hydroxyl radicals in the reaction system of glutathione-alloxan / K. Sakurai, T. Ogiso // *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. – 1991. – Vol. 39, No. 3. – P. 737–742.
83. Gorray K. C. Cytotoxic effect of alloxan treatment in vitro on monolayer cultures of neonatal rat pancreas / K. C. Gorray, D. G. Baskin, W. Y. Fujimoto // *American Journal of Physiology*. – 1983. – Vol. 254, No. 4. – P. 417–423.
84. Eleazu C. O. Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential risk to humans / C. O. Eleazu, K. C. Eleazu, S. Chukwuma, U. N. Essien // *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. – 2013. – Vol. 12, No. 1. – P. 60.
85. Dufrane D. Streptozotocin-induced diabetes in large animals (pigs/primates): role of GLUT2 transporter and  $\beta$ -cell plasticity / D. Dufrane [et al.] // *Transplantation*. – 2006. – Vol. 81, No. 1. – P. 36–45.
86. Kromann H. The low dose streptozotocin murine model of type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus: studies in vivo and in vitro of the modulating effect of sex hormones / H. Kromann // *Diabetologia*. – 1982. – Vol. 22, No. 3. – P. 194–198.
87. Орловский М. А. Панкреатические островки: некоторые аспекты морфологии, физиологии и процессов деструкции при сахарном диабете I типа / М. А. Орловский // *Патология*. – 2004. – Т. 1, № 1. – С. 21–26.
88. Nelson R. W. Animal models of disease: classification and etiology of diabetes in dogs and cats / R. W. Nelson, C. E. Reusch // *Journal of Endocrinology*. – 2014. – Vol. 222, No. 3. – P. T1–T9.
89. Wright J. R. Streptozotocin dose–response curve in tilapia, a glucose-responsive teleost fish / J. R. Wright // *General and Comparative Endocrinology*. – 1999. – Vol. 114, No. 3. – P. 413–440.
90. El-Seweid M. M. Effect of age receptor blocker and/or anti-inflammatory coadministration in relation to glycation, oxidative stress and cytokine production in stz diabetic rats / M. M. El-Seweid // *Pharmacological Research*. – 2000. – Vol. 45, No. 5. – P. 391–398.
91. Eizirik D. L. Exposure of pancreatic islets to different alkylating agents decreases mitochondrial DNA content but only streptozotocin induces longlasting functional impairment of B-cells / D. L. Eizirik [et al.] // *Biochemical Pharmacology*. – 1991. – Vol. 42, No. 12. – P. 2275–2282.
92. Rasschaert J. Long term in vitro effects of streptozotocin, interleukin-1, and high glucose concentration on the activity of mitochondrial dehydrogenases and the secretion of insulin in pancreatic islets / J. Rasschaert, D. L. Eizirik, W. J. Malaisse // *Endocrinology*. – 1992. – Vol. 130, No. 6. – P. 3522–3528.
93. Sharma B. R. // *Journal of Traditional Chinese Medicine*. – 2016. – Vol. 36, No. 1. – P. 71–77.
94. Kravchuk E. The effect of metformin on the myocardial tolerance to ischemia-reperfusion injury in the rat model of diabetes mellitus type II / E. Kravchuk, E. Grineva, A. Bairamov [et al.] // *Experimental Diabetes Research*. – 2011. – Vol. 2011. – P. 907496.
95. Thayer T. C. Use of nonobese diabetic mice to understand human type 1 diabetes / T. C. Thayer, S. B. Wilson, C. E. Mathews // *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*. – 2010. – Vol. 39, No. 3. – P. 541–561.
96. Furman B. L. Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats / B. L. Furman // *Current Protocols in Pharmacology*. – 2015. – Vol. 70. – P. 5.47.1–5.47.20.
97. Gai W. Differential target molecules for toxicity induced by streptozotocin and alloxan in pancreatic islets of mice in vitro / W. Gai // *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*. – 2004. – Vol. 112, No. 1. – P. 29–37.
98. Снигур Г. Л. Сравнительные аспекты ультраструктурных изменений инсулоцитов панкреатических островков при экспериментальном сахарном диабете / Г. Л. Снигур // *Волгоградский научно-медицинский журнал*. – 2012. – № 1. – С. 108–111.
99. Induction of diabetes by streptozotocin in rats / A. Akbarzadeh [et al.] // *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. – 2007. – Vol. 22, No. 2. – P. 60–64.
100. Lee J. H. Pharmacokinetics of drugs in rats with diabetes mellitus induced by alloxan or streptozocin: comparison with those in patients with type I diabetes mellitus / J. Lee // *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. – 2010. – Vol. 62, No. 1. – P. 1–23.

101. Mythili M. D. Effect of streptozotocin on the ultrastructure of rat pancreatic islets / M. D. Mythili // *Microscopy Research and Technique*. – 2004. – Vol. 63, No. 5. – P. 274–281.
102. Imai Y. Insulin secretion is increased in pancreatic islets of neuropeptide Y-deficient mice / Y. Imai // *Endocrinology*. – 2007. – Vol. 148, No. 12. – P. 5716–5723.
103. West K. M. Glucose tolerance, nutrition, and diabetes in Uruguay, Venezuela, Malaya, and East Pakistan / K. M. West, M. K. John // *Diabetes*. – 1966. – P. 9–18.
104. Никонова Т. В. Современные аспекты патогенеза сахарного диабета 1 типа / Т. В. Никонова // *Сахарный диабет*. – 2006. – № 3. – С. 59–64.
105. Dekel Y. Novel fibrillar insulin formulations for oral administration: formulation and in vivo studies in diabetic mice // *Journal of controlled release* / Y. Dekel // *Lab Animal (NY)*. – 2009. – Vol. 38, No. 2. – P. 55–60.
106. Wada R. Nitric oxide generation and poly (ADP ribose) polymerase activation precede beta-cell death in rats with a single high-dose injection of streptozotocin / R. Wada // *Virchows Archiv*. – 2004. – Vol. 444, No. 4. – P. 375–382.
107. Kaur M. Rodent animal models: from mild to advanced stages of diabetic nephropathy / M. Kaur, O. Bedi, S. Sachdeva [et al.] // *Inflammopharmacology*. – 2014. – Vol. 22, No. 5. – P. 279–293.
108. Strandell E. Functional characteristics of cultured mouse pancreatic islets following exposure to different streptozotocin concentrations / E. Strandell, D. L. Eizirik, O. Korsgren, S. Sandler // *Mol Cell Endocrinol*. – 1988. – Vol. 59, No. 1–2. – P. 83–91.
109. Husseiny M. I. Tissue-specific methylation of human insulin gene and PCR assay for monitoring beta cell death / M. I. Husseiny // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9, No. 4. – P. e94591.
110. Akirav E. M. Circulating differentially methylated amylin DNA as a biomarker of  $\beta$ -cell loss in type 1 diabetes / E. M. Akirav // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2011. – Vol. 108, No. 47. – P. 19018–19023.
111. Fisher M. M. Elevations in circulating methylated and unmethylated preproinsulin DNA in new-onset type 1 diabetes / M. M. Fisher // *Diabetes*. – 2015. – Vol. 64, No. 11. – P. 3867–3872.
112. Szkudelski T. The relevance of AMP-activated protein kinase in insulin-secreting  $\beta$  cells: a potential target for improving  $\beta$  cell function? / T. Szkudelski // *Experimental Biology and Medicine (Maywood)*. – 2012. – Vol. 237, No. 5. – P. 481–490.
113. Okamoto H. Okamoto model for B-cell damage: recent advances / H. Okamoto // *Lessons from Animal Diabetes VI: 75th Anniversary of the Insulin Discovery*. – 1996. – P. 97–111.
114. Heitmeier M. R. Double-stranded RNA inhibits  $\beta$ -cell function and induces islet damage by stimulating  $\beta$ -cell production of nitric oxide / M. R. Heitmeier // *The Journal of Biological Chemistry*. – 1997. – Vol. 272, No. 21. – P. 13697–13704.
115. Baxter A. G. Models of type 1 (autoimmune) diabetes / A. G. Baxter // *Drug Discovery Today*. – 2004. – Vol. 4, No. 10. – P. 451–455.
116. Chaudhry Z. Z. Streptozotocin is equally diabetogenic whether administered to fed or fasted mice / Z. Z. Chaudhry // *Lab Animal*. – 2013. – Vol. 47, No. 4. – P. 257–265.
117. Nukatsuka M. Allopurinol protects pancreatic beta cells from the cytotoxic effect of streptozotocin: in vitro study / M. Nukatsuka, Y. Yoshimura, M. Nishida, J. Kawada // *Journal of Pharmacobio-Dynamics*. – 1990. – Vol. 13, No. 5. – P. 259–262.
118. Takasu N. Streptozotocin- and alloxan-induced H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation and DNA fragmentation in pancreatic islets. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> as mediator for DNA fragmentation / N. Takasu, I. Komiya, T. Asawa [et al.] // *Diabetes*. – 1991. – Vol. 40, No. 9. – P. 1141–1145.
119. Мейрамов Г. Г. Взаимодействие комплексообразующих веществ с ионами Zn<sup>2+</sup> в панкреатических В-клетках и их роль в разрушении В-клеток / Г. Г. Мейрамов [и др.] // *Вестник Карагандинского университета. Серия «Биология»*. – 2013. – № 1 (89). – С. 4–10.
120. Бавельский З. Е. Изменение инсулинпродуцирующих структур после введения дитизона / З. Е. Бавельский, Е. Л. Зуммеров // *Проблемы эндокринологии*. – 1984. – № 1. – С. 65–70.
121. Лазарис Я. А. К выяснению роли блокирования цинка в патогенезе дитизонного диабета / Я. А. Лазарис, Г. Г. Мейрамов // *Проблемы эндокринологии*. – 1974. – № 5. – С. 90–94.
122. Мейрамова А. Г. Диабетогенные цинк связывающие и цитотоксические соединения / А. Г. Мейрамова // *Проблемы эндокринологии*. – 2003. – Т. 49, № 2. – С. 8–16.

## EXPERIMENTAL MODELS OF DIABETES MELLITUS. SURGICALLY AND CHEMICALLY INDUCED TYPE 1 DIABETES MELLITUS

*Chuyan E. N., Liventsov S. Yu., Dvoretzkaya N. I., Murtazaeva A. M.*

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russian Federation*

*E-mail: elena-chuyan@rambler.ru*

Given the increasing prevalence of type 1 diabetes mellitus (DM) and its complications, the investigation of the disease pathogenesis, as well as the development and testing of novel therapeutic methods, are among the leading research directions in biomedicine. Experimental animal models are essential for studying the mechanisms underlying DM, also for designing and testing new therapeutic strategies. A major concern in transferring laboratory findings into clinical practice is the absence of an optimal preclinical model that is fully capable to recapitulate human DM; each existing model has its own advantages, disadvantages, and limitations. This review provides a structured analysis of the most common experimental models of type 1 diabetes mellitus, including surgically and chemically induced ones. Each model is examined in terms of induction mechanism, applicability, advantages, and limitations, allowing for an assessment of their relevance depending on research objectives.

A systematic review and analysis of the available literature were conducted by the authors using the databases PubMed, Medline, EMBASE, Springer, Elsevier, Nature, Scopus, Google Scholar, BioMed Central (BMC), CyberLeninka, the Russian State Library, and the Central Scientific Medical Library named after I.M. Sechenov (CSML). The search strategy employed both Medical Subject Headings (MeSH) and keywords.

The use of surgical model has contributed to understanding many mechanisms of insulin action, metabolic disturbances in its deficiency, and the pathogenesis of disorders developing in experimental animals with DM. However, the surgical approach to modeling DM is rather limited in its application due to a high animal mortality rate, the requirement for advanced surgical expertise, specific equipment needs, a short duration of metabolic disturbances, a high risk of infection, and consequently, the subsequent need for antibiotic therapy, which may influence metabolic parameters.

Currently, chemically induced DM type 1 models are of great importance in experimental practice, as they are easily reproducible, cost-effective, and allow to variate the degree of pancreatic  $\beta$ -cell damage in rodents and other animals. The most widely used diabetogenic compounds are alloxan, streptozotocin, and dithizone. This model is quite convenient, simple to perform and reproduce, well-studied, and provides the possibility of achieving different forms of the disease depending on the experimental goals and conditions, ranging from severe cases with a complete loss of islet endocrine function to relatively mild forms that may resolve spontaneously. Among the existing chemically induced models of experimental DM, preference is currently given to streptozotocin and alloxan models, which allow for the reproduction of clinical manifestations resembling type 1 DM in humans. Limitations of chemical models include variability in individual animal sensitivity, risks of systemic toxicity, high mortality, and an incomplete

correspondence of  $\beta$ -cell destruction mechanisms to the clinical pathogenesis of DM in humans.

**Keywords:** animal models, diabetes mellitus, type 1 diabetes mellitus, type 2 diabetes mellitus, surgically induced diabetes mellitus, chemically induced diabetes mellitus, alloxan-induced model diabetes, streptozotocin-induced model diabetes, dithizone-induced diabetes.

### References

1. Ogurtsova K., da Rocha Fernandes J. D., Huang Y. IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040, *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **128**, 40 (2017).
2. Rowley W. R., Bezold C., Arikan Y. Diabetes 2030: Insights from Yesterday, Today, and Future Trends, *Population Health Management*, **20**, 1, 6 (2017).
3. Sun H., Saeedi P., Karuranga S. IDF diabetes atlas: global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045, *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **183**, 109 (2022).
4. Ong K. L., Stafford L. K., McLaughlin S. A. Global, regional, and national burden of diabetes from 1990 to 2021, with projections of prevalence to 2050: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021, *The Lancet*, **402**, 10397, 203 (2023).
5. Zheng Y., Ley S. H., Hu F. B. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications, *Nature Reviews Endocrinology*, **14**, 2, 88 (2018).
6. Dedov I. I., Shestakova M. V. *Saharnyj diabet. Mnogoobrazie klinicheskikh form*, 224 (Moskva : MIA, 2016).
7. Harding J. L., Pavkov M. E., Magliano D. J. Global trends in diabetes complications: a review of current evidence, *Diabetologia*, **62**, 3 (2019).
8. Yu M. G., Gordin D., Fu J. Protective Factors and the Pathogenesis of Complications in Diabetes, *Endocrine Reviews*, **45**, 2, 227 (2024).
9. King A. J. The use of animal models in diabetes research, *British Journal of Pharmacology*, **166**, 3, 877 (2012).
10. Dedov I. I., Shestakova M. V. *Saharnyj diabet tipa 1. Realii i perspektivy*, 504 (Moskva : MIA, 2016).
11. Petersmann A., Nauck M., Müller-Wieland D. Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus, *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, **126**, 07, 406 (2018).
12. Solomon T. P. J., Sistrun S. N., Krishnan R. K. Exercise and diet enhance fat oxidation and reduce insulin resistance in older obese adults, *Journal of Applied Physiology*, **104**, 5, 1313 (2008).
13. Bluestone J. A., Herold K., Eisenbarth G. Genetics, pathogenesis and clinical interventions in type 1 diabetes, *Nature*, **464**, 7293, 1293 (2010).
14. Roden M. [Diabetes mellitus: definition, classification and diagnosis], *Wiener Klinische Wochenschrift*, **128**, 2, S37 (2016).
15. Kerner W., Brückel J. Definition, classification and diagnosis of diabetes mellitus, *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, **122**, 07, 384 (2014).
16. Nyaga D. M., Vickers M. H., Jefferies C. The genetic architecture of type 1 diabetes mellitus, *Molecular and Cellular Endocrinology*, **477**, 70 (2018).
17. Skyler J. S., Bakris G. L., Bonifacio E. Differentiation of diabetes by pathophysiology, natural history, and prognosis, *Diabetes*, **66**, 2, 241 (2017).
18. Noble J. A. Fifty years of HLA-associated type 1 diabetes risk: history, current knowledge, and future directions, *Frontiers in Immunology*, **15**, 1457213 (2024).
19. Atkinson M. A., Eisenbarth G. S. Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment, *The Lancet*, **358**, 9277, 221 (2001).
20. Ben Nasr M., D'Addio F., Uselli V. The rise, fall, and resurgence of immunotherapy in type 1 diabetes, *Pharmacological Research*, **98**, 31 (2015).
21. Zaccardi F., Webb D. R., Yates T. Pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus: a 90-year perspective, *Postgraduate Medical Journal*, **92**, 1084, 63 (2016).
22. Bollon A. P. *Recombinant DNA products: Insulin, interferon and growth hormone* (Boca Raton : CRC Press, 2017). ISBN 978-13-510762-58.

23. Mozhejko L. A. Eksperimental'nye modeli dlya izucheniya saharnogo diabeta chast' II. Hirurgicheskij, streptozotocinovyy i ditizonovyy diabet, *Zhurnal GrGMU*, **4**, 44 (2013).
24. Rashmi P., Urmila A., Likhit A. Rodent models for diabetes, *3 Biotech*, **13**, 80 (2023).
25. Thanigaimani S., Phie J., Golledge J. Animal models of ischemic limb ulcers: a systematic review and meta-analysis, *BMJ Open Diabetes Research & Care*, **8**, 1, e001676 (2020).
26. Athmuri D. N., Shiekh P. A. Experimental diabetic animal models to study diabetes and diabetic complications, *MethodsX*, **11**, 102474 (2023).
27. Martín-Carro B., Donate-Correa J., Fernández-Villabrille S. Experimental Models to Study Diabetes Mellitus and Its Complications: Limitations and New Opportunities, *International Journal of Molecular Sciences*, **24**, 12, 10309 (2023).
28. Pandey S., Dvorakova M. C. Future Perspective of Diabetic Animal Models, Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets, **20**, 1, 25 (2020).
29. Graham M. L., Schuurman H.-J. Validity of animal models of type 1 diabetes, and strategies to enhance their utility in translational research, *European Journal of Pharmacology*, **759**, 221 (2015).
30. Perlman R. L. Mouse models of human disease an evolutionary perspective, *Evolution, Medicine, and Public Health*, 2016, **1**, 170 (2016).
31. Al-Awar A., Kupai K., Veszelka M. Experimental Diabetes Mellitus in Different Animal Models, *Journal of Diabetes Research*, **2016**, 9051426 (2016).
32. Phillips B., Trucco M., Giannoukakis N. Current state of type 1 diabetes immunotherapy: incremental advances, huge leaps, or more of the same?, *Clinical and Developmental Immunology*, **2011**, 432016 (2011).
33. Singh M. P., Pathak K. Animal models for biological screening of anti-diabetic drugs: An overview, *European Journal of Experimental Biology*, **5**, 4, 37 (2015).
34. Baranov V. G. *Eksperimental'nyj saharnyj diabet: monografiya*, 240 (L. : Nauka, 1983).
35. Masiello P. Animal models of type 2 diabetes with reduced pancreatic  $\beta$ -cell mass, *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, **38**, 873 (2006).
36. Maqbool M. Animal models in diabetes mellitus: an overview, *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, **9**, 1-s, 472 (2019).
37. Thisted L., Østergaard M. V., Pedersen A. A. Rat pancreatectomy combined with isoprenaline or uninephrectomy as models of diabetic cardiomyopathy or nephropathy, *Scientific Reports*, **10**, 16130 (2020).
38. Qamar F., Sultana S., Sharma M. Animal models for induction of diabetes and its complications, *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, **22**, 1021 (2023).
39. Etuk E. U. Animals models for studying diabetes mellitus, *Agriculture and Biology Journal of North America*, **1**, 2, 130 (2010).
40. Gvazava I. G., Rogovaya O. S., Borisov M. A. Patogenez saharnogo diabeta 1 tipa i eksperimental'nye modeli na laboratornyh gryzunah, *ACTA NATURAE*, **10**, 1 (36), 25 (2018).
41. Lenzen S. The mechanisms of alloxan and streptozotocin induced diabetes, *Diabetologia*, **51**, 216 (2008).
42. Makhlouf L. Importance of hyperglycemia on the primary function of allogeneic islet transplants, *Transplantation*, **76**, 4, 657 (2003).
43. Sheshala R. Preparation, characterization, and in vivo evaluation of insulin-loaded PLA-PEG microspheres for controlled parenteral drug delivery, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, **35**, 11, 1364 (2009).
44. Baeyens L. In vitro generation of insulin-producing beta cells from adult exocrine pancreatic cells, *Diabetologia*, **48**, 1, 49 (2005).
45. Yang H. Human  $\beta$  cells are exceedingly resistant to streptozotocin in vivo, *Endocrinology*, **143**, 7, 2491 (2002).
46. Hayashi K. Strain differences in the diabetogenic activity of streptozotocin in mice, *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, **29**, 6, 1110 (2006).
47. Sharma P., Garg A., Garg S., Singh V. Animal model used for experimental study of diabetes mellitus: an overview, *Asian Journal of Biomaterial Research*, **2**, 4, 99 (2016).
48. Iannaccone M. P., Howard J. J. Rats!, *Dis Model Mech*, **2**, 5–6, 206 (2009).
49. Azushima K., Gurley S. B., Coffman T. M. Modelling diabetic nephropathy in mice, *Nature Reviews Nephrology*, **14**, 1, 48 (2017).
50. Srinivasan K., Ramarao P. Animal models in type 2 diabetes research: an overview, *Indian journal of medical research*, **125**, 3, 451 (2007).

51. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas, *Physiological Research*, **50**, 6, 537 (2001).
52. Dunn J. S., McLetchie N. G. B. Experimental alloxan diabetes in the rat, *The Lancet*, **245**, 6325, 384 (1943).
53. Chuyan E. N., Livencov S. Yu., Dvoreckaya N. I. Osobennosti izmeneniya biohimicheskikh pokazatelej krovi krysa v usloviyah raznykh eksperimental'nykh modelej alloksan-inducirovannogo diabeta, *Uchyonye zapiski KFU im. V. I. Vernadskogo. Seriya: Biologiya. Himiya*, **11** (77), 2, 281 (2025).
54. Kottaisamy C. P. D., Raj D. S., Prasanth Kumar V. Experimental animal models for diabetes and its related complications—a review, *Laboratory Animal Research*, **37**, 1, 1 (2021).
55. Wang J. Creating a long-term diabetic rabbit model, *Experimental Diabetes Research*, **2010**, 289614 (2010).
56. Radenković M., Stojanović M., Prostran M. Experimental diabetes induced by alloxan and streptozotocin: the current state of the art, *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, **78**, 13 (2016).
57. Macedo C. S. Experimental model of induction of diabetes mellitus in rats, 2 (Plastic surgery, laboratory of plastic surgery: Sao Paulo - Paulista School of Medicine, 2005).
58. El'bek'yan K. S., Hodzhayan A. B., Bidzhieva F. A. Osobennosti protekaniya alloksan-inducirovannogo saharnogo diabeta u eksperimental'nykh krysa, *Medicinskij vestnik Severnogo Kavkaza*, **14**, 1.2, 264 (2019).
59. Fajarwati I., Solihin D. D., Wresdiyati T., Batubara I. Administration of alloxan and streptozotocin in sprague dawley rats and the challenges in producing diabetes model, *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1174, **1**, 012035 (2023).
60. Chougale A. D., Panaskar S. N., Gurao P. M., Arvindek A. U. Optimization of Alloxan Dose is Essential to Induce Stable Diabetes for Prolonged Period, *Asian Journal of Biochemistry*, **2**, 6, 402 (2007).
61. Pisarev V. B., Snigur G. L., Spasov A. A. Ul'trastrukturnye izmeneniya  $\beta$ -kletok pankreaticheskikh ostrovkov pri saharnom diabete na fone vvedeniya BAD diabeta, *Morfologicheskie vedomosti*, **1**, 78 (2010).
62. Dzhafarova R. E. K. Sravnitel'noe issledovanie razlichnykh modelej alloksan-inducirovannogo saharnogo diabeta, *Kazanskij medicinskij zhurnal*, **6** (2013).
63. Danilova I. G., Gette I. F. *Sposob modelirovaniya alloksanovogo diabeta* : Patent RU № 2534411C1; zayavl. 27.11.2013; opubl. 27.11.2014. – Byul. 33.
64. Jorns A. Comparative toxicity of alloxan, N-alkylalloxans and ninhydrin to isolated pancreatic islets in vitro, *Journal of Endocrinology*, **155**, 283 (1997).
65. Federiuk I. F. Induction of type 1 diabetes mellitus in laboratory rats by use of alloxan: route of administration, pitfalls, and insulin treatment, *Comparative Medicine*, **54**, 3, 252 (2004).
66. Lenzen S., Tiedge M., Jörns A., Munday R. Alloxan derivatives as a tool for the elucidation of the mechanism of the diabetogenic action of alloxan, *Rev.Ser.Advs.Research Diab.Animals*, **6** (1996).
67. Elsner M., [et al.] Importance of the GLUT2 glucose transporter for pancreatic beta cell toxicity of alloxan, *Diabetologia*, **45**, 11, 1542 (2002).
68. Gorus F. K., Malaisse W. J., Pipeleers D. G. Selective uptake of alloxan by pancreatic B-cells, *Biochemical Journal*, **208**, 3, 513 (1982).
69. Viswanathaswamy A. H., [et al.] Antihyperglycemic and antihyperlipidemic activity of plectranthus amboinicus on normal and alloxan-induced diabetic rats, *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **73**, 2, 139 (2011).
70. Elsner M., Gurgul-Convey E., Lenzen S. Relative importance of cellular uptake and reactive oxygen species for the toxicity of alloxan and dialuric acid to insulin-producing cells, *Free Radic Biol Med*, 41, **5**, 825 (2006).
71. Im Walde S. S., Dohle C., Schott-Ohly P., Gleichmann H. Molecular target structures in alloxan-induced diabetes in mice, *Life Sciences*, **71**, 14, 1681 (2002).
72. Lenzen S., Panten U. Alloxan: history and mechanism of action, *Diabetologia*, **31**, 6, 337 (1988).
73. Tiedge M., Richter T., Lenzen S. Importance of cysteine residues for the stability and catalytic activity of human pancreatic beta cell glucokinase, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **375**, 2, 251 (2000).
74. Kaur M., Bedi O., Sachdeva S. [et al.] Rodent animal models: from mild to advanced stages of diabetic nephropathy, *Inflammopharmacology*, **22**, 5 (2014).
75. Das J., Vasan V., Sil P. C. Taurine exerts hypoglycemic effect in alloxan-induced diabetic rats, improves insulin-mediated glucose transport signaling pathway in heart and ameliorates cardiac oxidative stress and apoptosis, *Toxicology and Applied Pharmacology*, **258**, 2 (2012).
76. Winterbourn C. C., Munday R. Glutathione-mediated redox cycling of alloxan. Mechanisms of superoxide dismutase inhibition and of metal-catalyzed OH. formation, *Biochem Pharmacol*, **38**, 2 (1989).

77. Ebelt H., Peschke D., Bromme H. J. [et al.] Influence of melatonin on free radical-induced changes in rat pancreatic beta-cells in vitro, *Journal of Pineal Research*, **28**, 2 (2000).
78. Watkins D., Cooperstein S. J., Lazarow A. Effect of sulfhydryl reagents on permeability of toadfish islet tissue, *American Journal of Physiology*, **219**, 2 (1970).
79. Til'chenko D. A., Bibik E. Yu., Frolov K. A. [i dr.] Sravnitel'naya harakteristika vliyaniya novogo proizvodnogo piridina na techenie saharnogo diabeta v chetyrekh eksperimental'nyh modelyah, *Mezhdunarodnyj nauchno-issledovatel'skij zhurnal*, **9** (123) (2022).
80. Kim H. R., Rho H. W., Park J. W. [et al.] Role of  $\text{Ca}^{2+}$  in alloxan-induced pancreatic beta-cell damage, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, **1227**, 1-2 (1994).
81. Park B. H., Rho H. W., Park J. W. [et al.] Protective mechanism of glucose against alloxan-induced pancreatic beta-cell damage, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **210**, 1 (1995).
82. Sakurai K., Ogiso T. Inhibitory effect of glutathione on the generation of hydroxyl radicals in the reaction system of glutathione-alkoxan, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **39**, 3 (1991).
83. Gorray K. C., Baskin D. G., Fujimoto W. Y. Cytotoxic effect of alloxan treatment in vitro on monolayer cultures of neonatal rat pancreas, *American Journal of Physiology*, **254**, 4 (1983).
84. Eleazu C. O., Eleazu K. C., Chukwuma S., Essien U. N. Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential risk to humans, *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, **12**, 1 (2013).
85. Dufrane D. [et al.] Streptozotocin-induced diabetes in large animals (pigs/primates): role of GLUT2 transporter and  $\beta$ -cell plasticity, *Transplantation*, **81**, 1 (2006).
86. Kromann H. The low dose streptozotocin murine model of type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus: studies in vivo and in vitro of the modulating effect of sex hormones, *Diabetologia*, **22**, 3 (1982).
87. Orlovskij M. A. Pankreaticheskie ostrovki: nekotorye aspekty morfologii, fiziologii i processov destrukcii pri saharnom diabete I tipa, *Patologiya*, **1**, 1 (2004).
88. Nelson R. W., Reusch C. E. Animal models of disease: classification and etiology of diabetes in dogs and cats, *Journal of Endocrinology*, **222**, 3 (2014).
89. Wright J. R. Streptozotocin dose-response curve in tilapia, a glucose-responsive teleost fish, *General and Comparative Endocrinology*, **114**, 3 (1999).
90. El-Seweid M. M. Effect of age receptor blocker and/or anti-inflammatory coadministration in relation to glycation, oxidative stress and cytokine production in stz diabetic rats, *Pharmacological Research*, **45**, 5 (2000).
91. Eizirik D. L. [et al.] Exposure of pancreatic islets to different alkylating agents decreases mitochondrial DNA content but only streptozotocin induces longlasting functional impairment of B-cells, *Biochemical Pharmacology*, **42**, 12 (1991).
92. Rasschaert J., Eizirik D. L., Malaisse W. J. Long term in vitro effects of streptozotocin, interleukin-1, and high glucose concentration on the activity of mitochondrial dehydrogenases and the secretion of insulin in pancreatic islets, *Endocrinology*, **130**, 6 (1992).
93. Sharma B. R. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, **36**, 1 (2016).
94. Kravchuk E., Grineva E., Bairamov A. [et al.] The effect of metformin on the myocardial tolerance to ischemia-reperfusion injury in the rat model of diabetes mellitus type II, *Experimental Diabetes Research*, 2011, 907496.
95. Thayer T. C., Wilson S. B., Mathews C. E. Use of nonobese diabetic mice to understand human type 1 diabetes, *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, **39**, 3 (2010).
96. Furman B. L. Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats, *Current Protocols in Pharmacology*, **70** (2015).
97. Gai W. Differential target molecules for toxicity induced by streptozotocin and alloxan in pancreatic islets of mice in vitro, *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, **112**, 1 (2004).
98. Snigur G. L. Sravnitel'nye aspekty ul'trastrukturnykh izmenenij insulocitov pankreaticheskikh ostrovkov pri eksperimental'nom saharnom diabete, *Volgogradskij nauchno-medicinskij zhurnal*, **1** (2012).
99. Akbarzadeh A. [et al.] Induction of diabetes by streptozotocin in rats, *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, **22**, 2 (2007).
100. Lee J. H. Pharmacokinetics of drugs in rats with diabetes mellitus induced by alloxan or streptozocin: comparison with those in patients with type I diabetes mellitus, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **62**, 1 (2010).

101. Mythili M. D. Effect of streptozotocin on the ultrastructure of rat pancreatic islets, *Microscopy Research and Technique*, **63**, 5 (2004).
102. Imai Y. Insulin secretion is increased in pancreatic islets of neuropeptide Y-deficient mice, *Endocrinology*, **148**, 12 (2007).
103. West K. M., John M. K. Glucose tolerance, nutrition, and diabetes in Uruguay, Venezuela, Malaya, and East Pakistan, *Diabetes*, 9 (1966).
104. Nikonova T. V. Sovremennye aspekty patogeneza saharnogo diabeta 1 tipa, *Saharnyj diabet*, 3, 59 (2006).
105. Dekel Y. Novel fibrillar insulin formulations for oral administration: formulation and in vivo studies in diabetic mice, *Journal of Controlled Release / Lab Animal (NY)*, **38**, 2, 55 (2009).
106. Wada R. Nitric oxide generation and poly (ADP ribose) polymerase activation precede beta-cell death in rats with a single high-dose injection of streptozotocin, *Virchows Archiv*, **444**, 4, 375 (2004).
107. Kaur M., Bedi O., Sachdeva S. [et al.] Rodent animal models: from mild to advanced stages of diabetic nephropathy, *Inflammopharmacology*, **22**, 5, 279 (2014).
108. Strandell E., Eizirik D. L., Korsgren O., Sandler S. Functional characteristics of cultured mouse pancreatic islets following exposure to different streptozotocin concentrations, *Mol Cell Endocrinol*, **59**, 1-2, 83 (1988).
109. Husseiny M. I. Tissue-specific methylation of human insulin gene and PCR assay for monitoring beta cell death, *PLoS One*, **9**, 4, e94591 (2014).
110. Akirav E. M. Circulating differentially methylated amylin DNA as a biomarker of  $\beta$ -cell loss in type 1 diabetes, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **108**, 47, 19018 (2011).
111. Fisher M. M. Elevations in circulating methylated and unmethylated preproinsulin DNA in new-onset type 1 diabetes, *Diabetes*, **64**, 11, 3867 (2015).
112. Szkudelski T. The relevance of AMP-activated protein kinase in insulin-secreting  $\beta$  cells: a potential target for improving  $\beta$  cell function?, *Experimental Biology and Medicine (Maywood)*, **237**, 5, 481 (2012).
113. Okamoto H. *Okamoto model for B-cell damage: recent advances, Lessons from Animal Diabetes VI: 75th Anniversary of the Insulin Discovery*, 97–111 (1996).
114. Heitmeier M. R. Double-stranded RNA inhibits  $\beta$ -cell function and induces islet damage by stimulating  $\beta$ -cell production of nitric oxide, *The Journal of Biological Chemistry*, **272**, 21, 13697 (1997).
115. Baxter A. G. Models of type 1 (autoimmune) diabetes, *Drug Discovery Today*, **4**, 10, 451 (2004).
116. Chaudhry Z. Z. Streptozotocin is equally diabetogenic whether administered to fed or fasted mice, *Lab Animal*, **47**, 4, 257 (2013).
117. Nukatsuka M., Yoshimura Y., Nishida M., Kawada J. Allopurinol protects pancreatic beta cells from the cytotoxic effect of streptozotocin: in vitro study, *Journal of Pharmacobio-Dynamics*, **13**, 5, 259 (1990).
118. Takasu N., Komiya I., Asawa T. [et al.] Streptozotocin- and alloxan-induced H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation and DNA fragmentation in pancreatic islets. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> as mediator for DNA fragmentation, *Diabetes*, **40**, 9, 1141 (1991).
119. Mejramov G. G. [i dr.] Vzaimodejstvie kompleksobrazuyushchih veshchestv s ionami Zn<sup>2+</sup> v pankreaticheskikh V-kletkah i ih rol' v razrushenii V-kletok, *Vestnik Karagandinskogo universiteta. Seriya «Biologiya»*, **1** (89), 4 (2013).
120. Bavel'skij Z. E., Zummerov E. L. Izmenenie insulinproduciyushchih struktur posle vvedeniya ditizona, *Problemy endokrinologii*, **1**, 65 (1984).
121. Lazaris Ya. A., Mejramov G. G. K vyjasneniyu roli blokirovaniya cinka v patogeneze ditizonovogo diabeta, *Problemy endokrinologii*, **5**, 90 (1974).
122. Mejramova A. G. Diabetogennye cink svyazyvayushchie i citotoksicheskie soedineniya, *Problemy endokrinologii*, **49**, 2, 8 (2003).