



Стрептозоцин-индуцированная болезнь Альцгеймера как самостоятельный фактор риска развития гипергликемии у крыс линии Вистар

© А.В. Ставровская^{1*}, Д.Н. Воронков¹, Е.А. Шестакова², А.С. Гушина¹, А.С. Ольшанский¹, Н.Г. Ямшикова¹

¹Научный центр неврологии, Москва, Россия;

²Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

Обоснование. В последние годы широко обсуждается тема взаимной связи болезни Альцгеймера (БА) и метаболических расстройств. Тем не менее остается неясным, является ли БА непосредственной причиной нарушений углеводного обмена или наличие классических факторов риска сахарного диабета 2-го типа (СД 2), в первую очередь ожирения, значительно повышает риск возникновения БА.

Цель: оценить раздельный вклад двух факторов в развитие нарушений углеводного обмена – 1) увеличения массы тела на фоне высококалорийного питания и 2) экспериментально вызванной БА.

Методы. Крысам-самцам линии Вистар были проведены стереотаксические операции по введению в латеральные желудочки мозга стрептозоцина (СТЗ) для моделирования БА либо физиологического раствора (ложнооперированные животные – ЛО). Спустя 2 нед животные были разделены на четыре группы: 1) группа ЛО, которой была назначена нормокалорийная (НКД) диета (ЛО+НКД); 2) группа ЛО, которой была назначена высококалорийная диета (ЛО+ВКД); 3) группа, которой была назначена НКД после введения СТЗ в латеральные желудочки мозга (СТЗ+НКД); 4) группа, которой была назначена ВКД после введения СТЗ (СТЗ+ВКД). Длительность нахождения животных на диете составила 3 мес. Перед началом диеты, а также спустя 3 мес животным были проведены интраперитонеальные глюкозотолерантные тесты. По окончании исследования была проведена морфологическая оценка тканей головного мозга, поджелудочной железы, печени.

Результаты. Через 3 мес после проведения оперативных вмешательств и введения диет характер гликемических кривых значительно различался в четырех исследуемых группах: нормогликемия сохранялась лишь в группе ЛО+НКД, тогда как ВКД и введение СТЗ сопровождалось развитием гипергликемии ($p=0,0001$). Группа СТЗ+НКД, отражавшая изолированное воздействие БА, также характеризовалась нарушениями углеводного обмена. Морфологическое исследование показало, что ВКД приводит к более выраженному эктопическому накоплению жира в ткани печени и поджелудочной железы, чем НКД. Введение СТЗ вне зависимости от диеты приводило к типичным для модели БА изменениям – увеличению размеров желудочков мозга, дегенерации белого вещества и накоплению β -амилоида в гипоталамусе.

Заключение: СТЗ-индуцированные повреждения структур головного мозга, характерные для БА, приводили к нарушениям углеводного обмена вне зависимости от получаемой диеты и являлись самостоятельным фактором риска развития гипергликемии.

Ключевые слова: болезнь Альцгеймера, сахарный диабет 2-го типа, гипергликемия, ожирение, стрептозоцин, гипоталамус, крысы.

Streptozocin-induced Alzheimer's disease as an independent risk factor for the development of hyperglycemia in Wistar rats

© Alla V. Stavrovskaya^{1*}, Dmitriy N. Voronkov¹, Ekaterina A. Shestakova², Anastasiya S. Gushchina¹, Artyom S. Olshansky¹, Nina G. Yamshikova¹

¹Research Center of Neurology, Moscow, Russia;

²Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

BACKGROUND: In recent years the theme of the relationship of Alzheimer's disease (AD) and metabolic disorders has been widely discussed. Nevertheless, it remains unclear whether AD is a direct cause of carbohydrate metabolism disorders or it is the presence of classical risk factors for type 2 diabetes mellitus (DM 2), primarily obesity, that significantly increases the risk of AD.

AIM: To evaluate the separate contribution of two factors to the development of disorders of carbohydrate metabolism: (1) weight gain due to a high-calorie diet and (2) experimental-induced AD.

METHODS: Male Wistar rats were injected with streptozocin (STZ) in the lateral ventricles of the brain to induce AD or saline (sham operated animals - SO) during stereotactic operations. After 2 weeks, the animals were divided into four groups: 1) the SO group, which was assigned to the normal calorie (NCD) diet (SO NCD); 2) the SO group, which was assigned to the high-calorie diet (SO HCD); 3) the group to which the norm-calorie diet was prescribed after the administration of STZ into the lateral ventricles of the brain (STZ NCD); 4) the group to which the HCD was assigned after the administration of STZ (STZ HCD). The animals were on a diet for 3 months. Intraperitoneal glucose tolerance tests were carried out before the diet and after 3 months. At the end of the study, a morphological assessment of brain tissue, pancreas, and liver was performed.

RESULTS: 3 months after surgical interventions and the appointment of diets, the glycemic curves significantly differed in the 4 studied groups: normoglycemia persisted only in the SO + NCD group, while HCD and the STZ administration were accompanied by the development of hyperglycemia ($p = 0.0001$). The STZ + NCD group, which represented the isolated effect of AD, was also characterized by impaired carbohydrate metabolism. A morphological study showed that HCD leads to a more pronounced ectopic accumulation of fat in the liver and pancreas tissue than NCD. The administration of STZ, regardless of the diet, led to changes typical for the AD model – an increase in the size of the ventricles of the brain, degeneration of white matter, and the accumulation of β -amyloid in the hypothalamus.

CONCLUSIONS: The STZ-induced brain damage typical for AD led to impaired carbohydrate metabolism regardless of diet and was an independent risk factor for hyperglycemia.

Keywords: Alzheimer disease, type 2 diabetes mellitus, hyperglycemia, obesity, streptozocin, hypothalamus, rats.

Обоснование

XX век был ознаменован появлением множества лекарственных препаратов для борьбы с инфекционными заболеваниями, в результате чего значительно увеличилась продолжительность жизни населения. В то же время начал наблюдаться неуклонный рост количества неинфекционных заболеваний [1]. К эпидемиям XXI века относят как метаболические расстройства (сахарный диабет 2-го типа (СД 2), ожирение), так и болезнь Альцгеймера (БА) [2]. БА — комплексное нейродегенеративное заболевание, в первую очередь характеризующееся когнитивным дефицитом, а на патоморфологическом уровне — прогрессирующей гибелью нейронов и накоплением сенильных бляшек и нейрофибриллярных клубков в результате агрегации β -амилоида. За последние годы накоплены многочисленные свидетельства взаимосвязи БА и метаболических расстройств. Нарушения секреции инсулина и его сигнальных путей являются общими механизмами для БА и СД 2 и провоцируют окислительный стресс, воспалительные процессы и накопление β -амилоида [3]. Однако остается неясным, является ли БА непосредственной причиной нарушений углеводного обмена или ассоциация деменции с развитием СД 2 обусловлена сочетанием БА с классическими факторами риска гипергликемии, такими как избыточная масса тела и возраст пациентов.

Цель

Оценка отдельного вклада двух факторов в развитие нарушений углеводного обмена: (1) увеличения массы тела на фоне высококалорийного питания и (2) экспериментально вызванной БА.

Методы

Дизайн исследования

Проведено одноцентровое экспериментальное проспективное контролируемое исследование с участием лабораторных животных.

Условия проведения

Исследование проведено в Лаборатории экспериментальной патологии нервной системы ФГБНУ «Научный центр неврологии» (Москва, Россия).

Продолжительность исследования

Суммарная продолжительность исследования составила 4 мес. После получения животных из питомника был введен карантин длительностью 2 нед. По окончании карантина животным проведены стереотаксические операции. Через 2 нед после оперативных вмешательств был проведен первый глюкозотолерантный тест (ГТТ) и введены нормо- (НКД) и высококалорийная (ВКД) диеты, повторный ГТТ проведен через 3 мес от исходного.

Описание медицинского вмешательства

Крысы-самцы линии Вистар были получены из питомника «Столбовая» в возрасте 3–3,5 мес. После окончания карантина животным были проведены стереотаксические операции по введению в латеральные желудочки мозга стрептозоцина (СТЗ) для моделирования БА либо физиологического раствора (ложнооперированные животные — ЛО). Спустя 2 нед животные были разделены на 4 группы:

- группа с введением физиологического раствора, которой была назначена НКД (ЛО+НКД);
- группа с введением физиологического раствора, которой была назначена ВКД (ЛО+ВКД);
- группа, которой была назначена НКД после введения СТЗ в латеральные желудочки мозга (СТЗ+НКД);
- группа, которой была назначена ВКД после введения СТЗ в латеральные желудочки мозга (СТЗ+ВКД).

Длительность нахождения животных на диете составила 3 мес. Перед началом диеты, а также спустя 3 мес животным были проведены интраперитонеальные ГТТ. По окончании исследования животных декапитировали и производили морфологическую оценку тканей головного мозга, поджелудочной железы, печени (рис. 1).

Рацион и содержание животных. Животные содержались в стандартных контролируемых условиях вивария при 12 ч световом цикле. НКД включала только полнорационный комбикорм для содержания лабораторных животных производства ООО «Лабораторкорм», из расчета 5 г на 100 г веса животного в 1 сут. Питье — фильтрованная вода. ВКД помимо комбикорма, в том же количестве включала в себя обогащение рациона, которое животные получали ежедневно. В данной работе использовалось 2 варианта обогащенной диеты, которые чередовались для гарантированного употребления экспери-

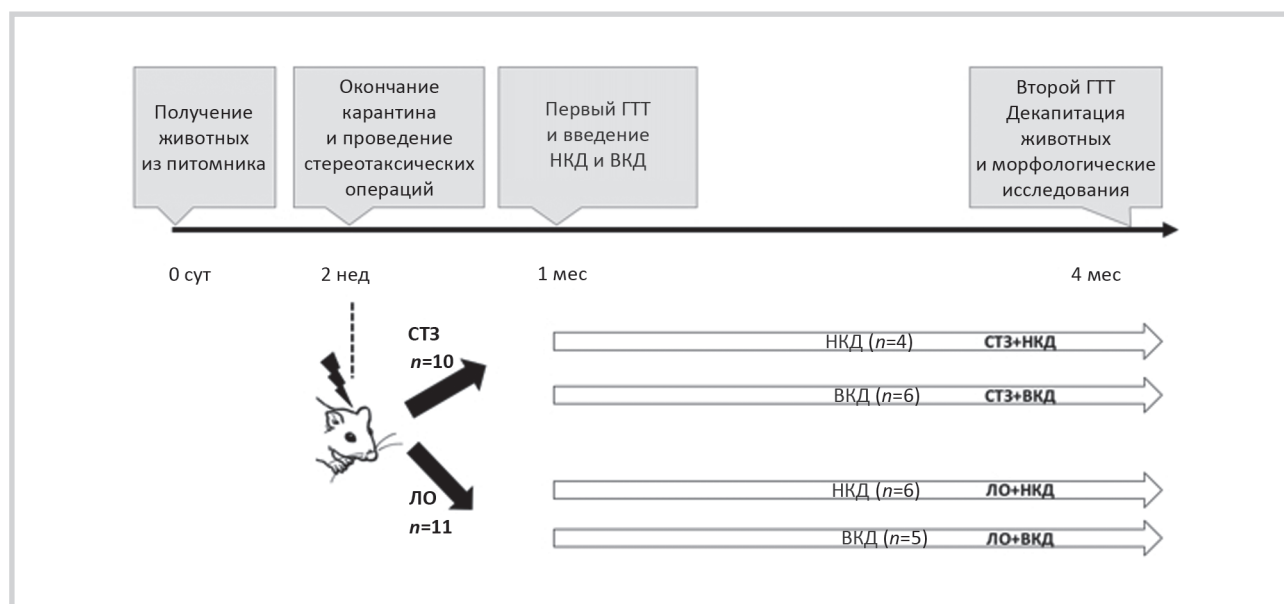


Рис. 1. Дизайн исследования.

ЛО – ложноперированные животные; СТЗ – стрептозоцин; НКД – нормокалорийная диета; ВКД – высококалорийная диета.

ментальными крысами предлагаемой им кормосмеси. Первый вариант смеси для обогащения рациона включал 6% белков, 31% жиров и 43% углеводов, пищевая ценность составляла 1143 ккал/100 г. Общая масса смеси равнялась 210 г на 10 животных в 1 сут. Дополнительно животные получали 3% раствор сахарозы в качестве питья. Второй вариант смеси для обогащения рациона включал 17,4% белков, 34% жиров и не включал углеводов, пищевая ценность составляла 1321 ккал/100 г. Общая масса смеси равнялась 210 г на 10 животных в 1 сут. Дополнительно животные получали 10% раствор сахарозы в качестве питья.

Хирургические процедуры. Для получения модели БА анестезированных крыс помещали на раму лабораторного СТЗ («Stoelting», США), надрезали скальп и через просверленные в черепе отверстия вводили раствор стрептозоцина («Abscam», США) с помощью микрошприца с иглой 26G/51 мм («Hamilton Bonaduz AG», Швейцария), закрепленного в стереотаксическом манипуляторе. Растворяли СТЗ в физиологическом растворе в дозе 3 мг/кг, по 5 мкл в каждый боковой желудочек мозга. Для стереотаксического введения использовали следующие координаты: AP=−0,8; L=1,5; V=3,5 [4]. В качестве анестезии применяли золетил 100 («Valdepharm», Франция; производитель растворителя – «Delpharm Tours», Франция) в дозе 3 мг/100 г и ксилу (Interchemie Werken «De Adelaar» B.V., Нидерланды) в дозе 3 мг/кг внутримышечно, для премедикации использовали атропин (ООО «ОЗ «ГНЦЛС», Украина) в дозе 0,04 мг/кг подкожно за 10–15 мин до введения ксиланита.

Основной исход исследования

Основным исходом исследования являлась оценка состояния углеводного обмена у крыс на фоне ВКД и в экспериментальной модели БА.

Дополнительные исходы исследования

Дополнительными исходами являлись изменение динамики массы тела животных, изменения морфометрических показателей плотности GFAP-позитивных астроцитов и дофаминергических нейронов в вентромедиальных структурах гипоталамуса. Кроме того, критерием оценки моделей служило выявление при морфологическом исследовании накопления β -амилоида в мозге (для стрептозоциновой модели БА), накопления липидов в ткани печени и поджелудочной железы и изменения островков поджелудочной железы.

Методы регистрации исходов

Основную конечную точку – динамику гликемии – регистрировали в ходе теста ГТТ на фоне внутрибрюшинного введения глюкозы (глюкоза 40% раствор для инъекций, ЗАО «Мосагроген», Россия) в дозе 1,5 мг/кг после 8–10-часовой пищевой депривации [5]. Концентрацию глюкозы измеряли с помощью глюкометра Акку-Чек Перформа («Roche Diabetes Care Inc.», США) электрохимическим методом в цельной крови из хвостовой вены, до углеводной нагрузки (исходно) и спустя 10, 30, 60 и 120 мин.

Вес животных определяли каждые 7 дней после начала эксперимента с помощью весов Sartorius L610D («Sartorius AG», Германия). В публикации

представлены данные по изменению веса через 1 и 3 мес от введения диет.

Морфологическое исследование. Крыс декапитировали гильотиной, извлекали мозг, правую долю печени и спленальную часть поджелудочной железы и фиксировали 48 ч погружением в 4% нейтральный раствор формалина. Образцы пропитывали 30% раствором сахарозы и замораживали в среде О.С.Т («Tissue Tek, Sakura», США), после чего на криостате Cryo 3 («Tissue Tek, Sakura», США) готовили срезы толщиной 10 мкм.

Для демаскировки антигенов срезы нагревали 15 мин в Трис-ЭДТА буфере (pH=9,0, «Dako», США), в пароварке. После остывания их промывали фосфатным буфером (0,01 М, pH=7,2), содержащем 0,2% Trton X100 («Sigma», Германия). Использовали антитела к глиофибрилярному белку (GFAP, каталожный номер C9205, «Sigma»), циклонуклеотидфосфатазе (CNP, AMab91068, «Sigma»), тирозингидроксилазе (TH, T8700, «Sigma»), β-амилоиду (anti-Aβ, поликлональные, CT695, «ThermoFisher», США) и хромогранину А (ChgA, Ab45179, «Abcam», Великобритания), разведение антител выбирали в соответствии с протоколами производителей. Срезы инкубировали во влажной камере, 18 ч при комнатной температуре, после чего промывали и инкубировали 4 ч с вторичными антителами. Для иммунофлюоресцентной детекции использовали вторичные антитела (F(ab')₂ фрагменты IgG, «Sigma») меченые флуорохромами CF488 или CF555. Ядра клеток докрашивали DAPI (диамидинофенилиндолом, «Sigma»). Для заключения срезов использовали среду Fluoro-shield («Sigma»).

Липиды выявляли окрашиванием 0,7% раствором масляного красного (OilRed O, O0625, «Sigma») в пропиленгликоле. Срезы проводили через 85% раствор пропиленгликоля, окрашивали 7 мин, дифференцировали окраску пропиленгликолем, ополаскивали дистиллированной водой, докрашивали гематоксилином («Биовитрум», Россия) и заключали в водорастворимую среду MountQuick («Bio-Optica», Италия).

Срезы исследовали и документировали с помощью микроскопов Nikon Eclipse Ni-u (Япония) с монохромной камерой Nikon DS-Qi для регистрации флуоресценции и микроскопа Leica DMLB (Германия) с цветной камерой Leica DC200 для светлого поля. Подсчет клеток производили в интересующей области при увеличении объектива ×20, на 5–10 полях зрения на срез, обрабатывая 6–12 срезов с каждого животного. Данные по каждому животному усредняли.

Этическая экспертиза

Исследование было проведено в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986); Приказом МЗ РФ №119 Н от 1 апреля 2016 г.

«Об утверждении Правил лабораторной практики», Principles of Good Laboratory Practice (OECD, ENV/MC/ CUEM (98)17, 1997); ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» (идентичен GLP OECD); со статьей 11 Федерального закона от 12 апреля 2010 г. №61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (ред. от 22.10.14). Были предприняты надлежащие меры по соблюдению биоэтических норм сокращения количества исследуемых животных [6].

Статистический анализ

Размер выборки предварительно не рассчитывался. Для статистической обработки данных применяли программу GraphPad Prism 7.0, используя одно- и двухфакторный дисперсионный анализ (ANOVA), а при отклонении данных от нормального распределения использовали тест Краскелла–Уоллиса ANOVA. Для сравнения между группами использовали апостериорные тесты Тьюки (Tukey test) или Данна (Dunn test). Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Объекты (участники) исследования

В исследование включены 21 крысы линии Вистар. Исходные характеристики животных к началу эксперимента составили: масса = $362,4 \pm 6,8$ г; концентрация глюкозы в плазме крови натощак = $5,40 \pm 0,11$ ммоль/л; концентрация глюкозы на 120-й минуте ГТТ = $6,56 \pm 0,23$ ммоль/л (данные представлены в виде $M \pm SEM$).

Основные результаты исследования

По результатам первого ГТТ у всех групп животных показатели гликемии значимо не различались. Также не было различий между группами по весу животных.

Через 3 мес после проведения оперативных вмешательств и введения диет характер гликемических кривых значимо различался в 4х исследуемых группах (**рис. 2**). Двухфакторный анализ ANOVA (факторы: «время» × «экспериментальная группа») показал значимые различия динамики гликемии ($F(12, 68) = 16,52, p = 0,0001$).

Группа ЛО+НКД демонстрировала нормальный паттерн гликемической кривой в ходе ГТТ: пик концентрации глюкозы в венозной крови приходился на 10–15 мин после пищевой нагрузки, далее наблюдалось постепенное снижение гликемии к 60-й минуте теста до $7,2 \pm 0,25$ ммоль/л (**см. рис. 2**). Данная группа имела наименьшую площадь под гликемической кривой, остальные три группы имели значимо больший прирост гликемии в ответ на углеводную нагрузку. Группа ЛО-ВКД ожидаемо характеризова-

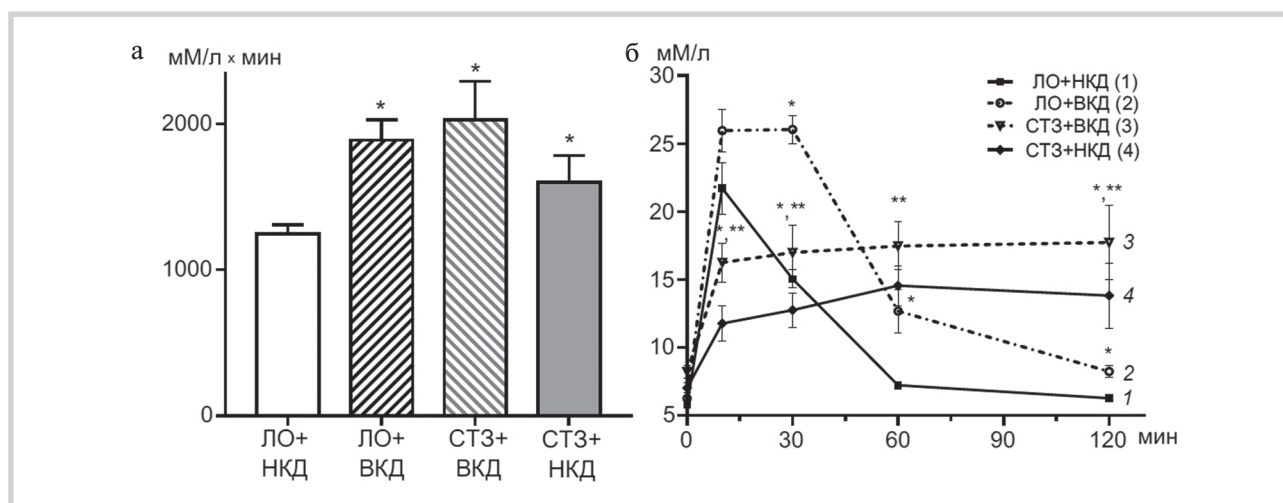


Рис. 2. Результаты интраперитонеального теста толерантности к глюкозе.

а — изменения площади под гликемической кривой (AUC, $M \pm SEM$); б — гликемическая кривая ($M \pm SEM$); 1) группа ЛО+НКД; 2) группа ЛО+БКД; 3) группа СТЗ+БКД; (4) группа СТЗ+НКД.

Примечание: * — значимые отличия ($p < 0,05$) от группы ЛО+НКД; ** — значимые отличия от группы ЛО+БКД (ANOVA, апостериорный тест Тьюки).

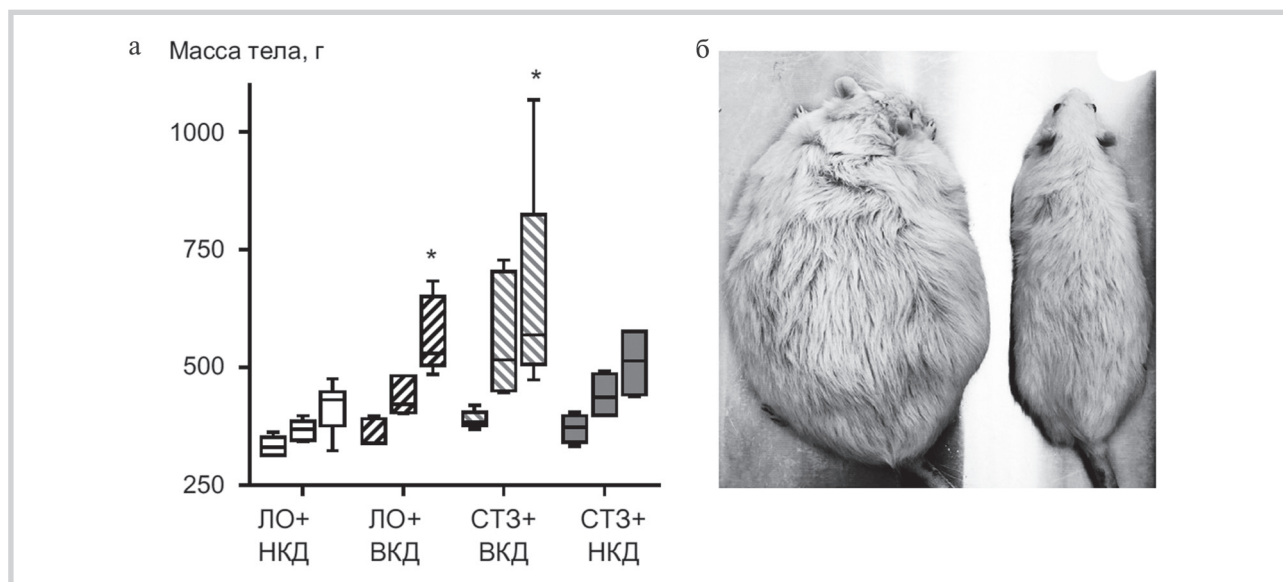


Рис. 3. Изменения массы тела животных.

а — измерения до проведения стереотаксических операций, спустя 1 и 3 мес после начала диет; б — внешний вид животного из группы СТЗ+БКД (слева) и получавшего НКД (справа).

Примечание: * — значимые отличия ($p < 0,05$) от группы ЛО+НКД в точке «3 мес».

лась более высокими значениями гликемии в раннем постпрандиальном периоде и менее быстрым снижением гликемии. Гликемическая кривая группы СТЗ-НКД отличалась менее выраженным подъемом гликемии в первые минуты теста (до $11,8 \pm 1,31$ ммоль/л к 10-й минуте ГТТ), однако в дальнейшем продолжался рост гликемии вплоть до 60-й минуты, также не происходило снижения гликемии к окончанию теста. Значимых отличий гликемической кривой между группами СТЗ+НКД и СТЗ+БКД не выявили.

Дополнительные результаты исследования

Изменение веса животных. Все животные демонстрировали прибавку в весе в течение эксперимента (рис. 3а), однако к концу эксперимента вес животных экспериментальных групп (Kruskal-Wallis ANOVA $H=11,49$, $df=3$, $p=0,0093$) значительно различался. Группа ЛО+НКД имела меньший вес по сравнению с группой ЛО+БКД ($p=0,039$, апостериорный тест Данна) и группой СТЗ+БКД ($p=0,013$), однако проведенный статистический анализ не выявил раз-

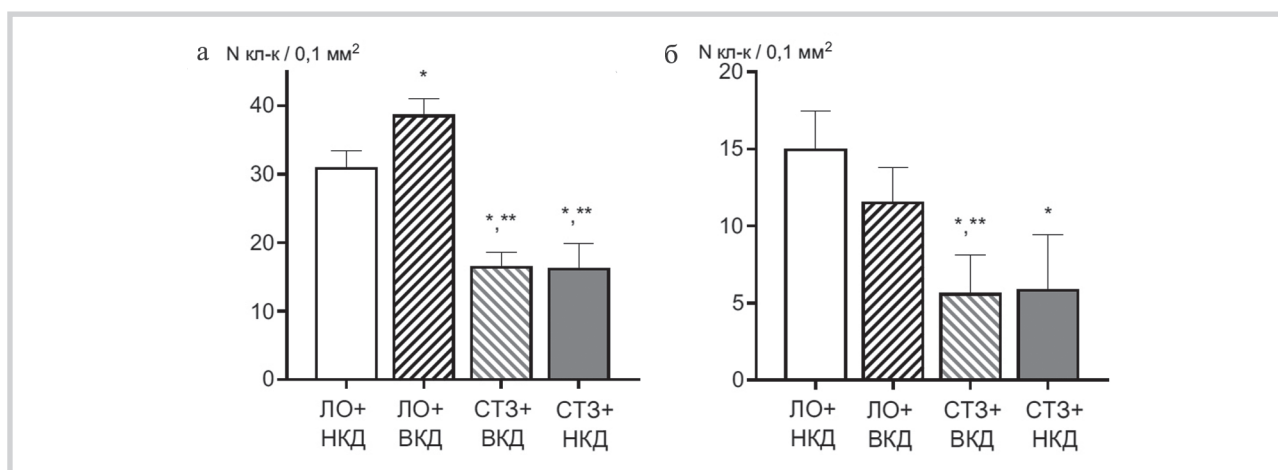


Рис. 7. Плотность GFAP-позитивных астроцитов (а) и дофаминергических нейронов (б) в аркуатном ядре гипоталамуса ($M \pm SD$; ANOVA, апостериорный тест Тьюки).

Примечание. * — значимые отличия ($p < 0,05$) от группы ЛО+НКД; ** — значимые отличия от группы ЛО+ВКД.

личий между обеими группами, получавшими ВКД. При этом группа СТЗ+ВКД характеризовалась наличием животных с аномально высокой массой (свыше 1 кг, рис. 3б), что давало больший разброс значений, чем у животных группы ЛО+ВКД. Медианное значение массы тела животных группы СТЗ+НКД к концу эксперимента составило 513,5 г [LQ = 445,5; HQ = 575,5], что значимо не отличалось от показателей группы ЛО+НКД.

Морфологические исследования. Морфологическая часть нашего исследования ставила перед собой две задачи: оценить возможные различия в эктопическом накоплении липидов в ткани печени и поджелудочной железы животных, а также определить выраженность дегенеративных изменений структур головного мозга, ассоциированных с развитием БА.

Группа ЛО+НКД характеризовалась отсутствием эктопического накопления липидов в печени. У обеих групп животных, получавших ВКД, была выявлена диффузная жировая дистрофия печени (рис. 4, и–м, см. раздел «Дополнительная информация»). Однако у животных группы ЛО+ВКД наблюдали мелко- и среднекапельное внутриклеточное накопление жира в гепатоцитах, тогда как у животных группы СТЗ+ВКД чаще выявляли диффузную средне- и крупнокапельную (у четырех животных из шести) жировую инфильтрацию, в том числе с образованием жировых кист, что согласуется с неравномерным распределением по весу в этой группе. В группе СТЗ+НКД накопление липидов в гепатоцитах было выражено в значительно меньшей степени, чем в группах, получавших ВКД.

Эктопическое накопление жира в поджелудочной железе преимущественно обнаруживалось у животных в группах, получавших ВКД (рис. 4, а–г, см. раздел «Дополнительная информация»), по сравнению с

животными на нормокалорийном питании. Иммуноморфологическое исследование с окрашиванием на хромогранин А показало гиперплазию островков поджелудочной железы, сопровождающуюся нарушением их регулярной формы в обеих группах, получавших ВКД (рис. 4, д–з, см. раздел «Дополнительная информация»), тогда как животные групп ЛО+НКД и СТЗ+НКД не имели особенностей формы и размеров островков.

Морфологическая оценка структур головного мозга у животных, которым был введен СТЗ, выявила выраженные дегенеративные изменения стенки III желудочка и прилежащих к нему структур — вентромедиального и аркуатного ядер гипоталамуса. В обеих группах (СТЗ+НКД и СТЗ+ВКД) наблюдали деформацию и резкое увеличение просвета III желудочка, повреждение эпендимоцитов, исчезновение GFAP-позитивной астроглии и α -таницитов и выраженное накопление β -амилоида в нейронах (рис. 5, 6, см. раздел «Дополнительная информация»). Окрашивание на циклонуклеотидфосфатазу (CNP, маркер олигодендроглии) выявило дегенерацию олигодендроглии, повреждение перивентрикулярного белого вещества под действием СТЗ (см. рис. 6, см. раздел «Дополнительная информация»). Кроме того, СТЗ вызвал снижение количества GFAP-позитивной глии и глиотические изменения сохранной астроглии — гипертрофию отростков и их поляризацию.

Подсчет плотности астроцитов (рис. 7) выявил значимые различия между экспериментальными группами (ANOVA, $F(3, 17) = 85,14$, $p < 0,0001$), причем изменения астроглии были разнонаправленными. У животных группы ЛО+ВКД в медиальных ядрах гипоталамуса наблюдали ее активацию, а в обеих группах с введением СТЗ — дегенерацию, наряду с реактивными изменениями отдельных астроцитов.

В группе ЛО+ВКД по сравнению с контролем плотность астроцитов возрастала ($p=0,001$, апостериорный тест Тьюки), а в обеих группах с введением СТЗ она была значимо снижена ($p<0,0001$, апостериорный тест Тьюки). Наряду с повреждением олигодендроглии и астроцитов СТЗ вызывал значимое снижение плотности ТН-позитивных нейронов в аркуатном ядре, по сравнению с группой ЛО+НКД (ANOVA $F(3, 17)=15,76$, $p<0,0001$, апостериорный тест Тьюки), тогда как у животных группы ЛО+ВКД изменения плотности нейронов не выявили. При этом, при сравнении с группой СТЗ+ВКД животные группы СТЗ+НКД не демонстрировали значимых отличий по средней плотности астроцитов в аркуатном ядре.

Нежелательные явления

На протяжении эксперимента общее состояние животных всех групп было удовлетворительным. У крыс обеих групп с ВКД шерстный покров гладкий, волос блестящий, удерживался хорошо, у крыс, получавших фиксированное количество нормокалорийного корма, шерстный покров поредевший, тусклый, подкожная клетчатка слабо развита.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

Наше исследование ставило перед собой цель оценить вклад таких факторов, как ожирение и БА, в развитие нарушений углеводного обмена. Для ответа на поставленный вопрос мы разделили животных на 4 группы, каждая из которых имела один из факторов риска или их комбинацию:

- ЛО+НКД – контроль (отсутствие вмешательства на головном мозге и нормокалорийное питание);
- ЛО+ВКД – изолированное воздействие высококалорийного питания и увеличения массы тела;
- СТЗ+НКД – изолированное воздействие СТЗ как способа моделирования БА;
- СТЗ+ВКД – совместное действие обоих факторов риска (увеличения массы тела и развития БА).

В нашем исследовании как воздействие ВКД, так и введение СТЗ приводило к нарушениям углеводного обмена у лабораторных животных, однако паттерн изменения гликемической кривой отличался у животных с СТЗ-моделированной БА и ожирением на фоне ВКД.

Обсуждение основного результата исследования

Роль ВКД в развитии ожирения и нарушений углеводного обмена хорошо известна. Увеличение потребления пищи с высоким содержанием жиров является одним из ключевых факторов, ответственных за рост числа пациентов с СД 2 по всему миру [7]. Кроме того, имеются многочисленные данные об увеличении риска развития СД 2 у пациентов с БА [8]. Однако остается непонятным, являются ли дегенеративные изменения структур головного мозга при

БА самостоятельной причиной развития нарушений углеводного обмена или тенденция к увеличению частоты развития СД 2 при деменции связана с тем, что пациенты с БА находятся в более пожилом возрасте и зачастую имеют увеличенную массу тела.

В проведенном исследовании мы постарались сформировать группы животных таким образом, чтобы было возможно разделить вклад увеличения массы тела с одной стороны и дегенеративных изменений головного мозга, типичных для БА, с другой. Возраст животных был одинаков, поэтому роль этого фактора была исключена.

В нашей работе ВКД приводила к выраженным метаболическим нарушениям у животных – ожирению и гипергликемии. Морфологически животные, получавшие диету с высоким содержанием жиров, имели закономерно более выраженное эктопическое накопление жира в ткани печени и поджелудочной железе, чем животные на нормокалорийном питании.

В то же время, введение СТЗ в латеральные желудочки головного мозга, приводило в нашем исследовании к развитию у животных изменений головного мозга, характерных для БА. Экспериментально БА моделируется интрацеребральным введением СТЗ, который увеличивает агрегацию β -амилоида и приводит к патоморфологическим и поведенческим изменениям, сходным с БА [9, 10]. В то же время СТЗ захватывается транспортером глюкозы (GLUT2), проявляет высокую токсичность по отношению к β -клеткам поджелудочной железы и используется для индукции СД у животных. Известно, что при системном введении СТЗ вызывает у животных диабет 1-го типа [11]. В зависимости от модели, дозы СТЗ варьируются от 30 до 100 мг/кг и более. Однократное системное введение СТЗ в высоких дозах (>50 мг/кг) вызывает практически полную гибель β -клеток поджелудочной железы и снижение продукции инсулина до неопределяемой концентрации, тогда как многократное системное введение малых доз СТЗ используют для моделирования умеренного повреждения β -клеток [11]. Важно, что однократное введение СТЗ в дозе 35 мг/кг крысам в сочетании с высокожирной диетой приводило к инсулинорезистентности, нарушая передачу сигнала через инсулиновый рецептор, тогда как эта же доза при нормокалорийной диете не вызывала значимых изменений [12]. В том же исследовании доза СТЗ в 25 мг/кг вне зависимости от диеты не приводила к изменениям базальной концентрации глюкозы и инсулина в плазме крови. Вместе с тем многократно показано, что интрацеребральное введение СТЗ, в дозах 1–3 мг/кг, не вызывающих диабета, приводит к когнитивному дефициту, локальному нарушению метаболизма глюкозы, окислительному стрессу и накоплению β -амилоида в структурах мозга, хотя механизмы действия СТЗ в мозге до кон-

ца не изучены [13]. Кроме того, полученные нами результаты согласуются с работой [14], выполненной на крысах линии Lewis, где продемонстрированы метаболические нарушения при внутрижелудочковом введении СТЗ, при отсутствии его влияния на β -клетки поджелудочной железы.

Мы можем говорить о том, что в обеих группах — СТЗ+НКД и СТЗ+ВКД — нам удалось создать модель БА. Но к изолированному воздействию СТЗ можно отнести только СТЗ+НКД; иными словами, эта группа являлась моделью БА без ожирения. Поэтому нарушения углеводного обмена, продемонстрированные в группе СТЗ+НКД, могли служить подтверждением влияния повреждения структур головного мозга на метаболический статус животных.

По результатам нашего исследования, группа животных СТЗ+НКД демонстрировала увеличение площади под гликемической кривой по сравнению с контрольной группой ЛО+НКД, что свидетельствует о вовлеченности пораженных СТЗ структур головного мозга в регуляцию системного метаболизма глюкозы. Мы предполагаем, что важным патогенетическим аспектом СТЗ-индуцированной модели БА является повреждение структур гипоталамуса. Это предположение подтверждается выявленной нами дегенерацией в аркуатном ядре гипоталамуса таницитов, астроглии и дофаминовых нейронов — клеточных популяций, модулирующих активность гипоталамических нейронов и непосредственно вовлеченных в системный энергетический гомеостаз [15, 16]. В мозге β -амилоид, по-видимому, ингибирует сигнальные каскады инсулина на разных уровнях [10, 17]. Так, на трансгенных мышах экспрессия мутантного APP (предшественника β -амилоида) в гипоталамусе вызвала местное снижение метаболизма глюкозы [18]. Важно, что действие олигомеров β -амилоида на ядра гипоталамуса, вовлеченные в энергетический метаболизм, вызывает периферические нарушения толерантности к глюкозе [19], на генетических моделях БА также отмечаются системные метаболические нарушения, связанные с дисфункцией гипоталамуса [20]. Все это указывает на участие в патогенезе БА не только локальной, внутрицеребральной, но и системной регуляции метаболизма глюкозы. Известно, что нейроны, танициты и астроглия гипоталамуса, в том числе аркуатного, дорсо- и вентромедиального гипоталамических ядер, участвуют в контроле пищевого поведения, гуморальных, симпатических и парасимпатических механизмов регуляции энергетического обмена [16, 21, 22]. В клинических испытаниях пациенты с БА демонстрируют нарушения, указывающие на дисфункцию гипоталамуса, — изменение веса, нейроэндокринные нарушения, нарушения цикла сон—бодрствование [17, 23]. Дегенерация ядер гипоталамуса при БА показана в прижизненных нейровизуализационных и посмертных аутопсийных исследованиях [20, 24].

Таким образом, продемонстрированные нами морфологические изменения структур гипоталамуса в группе СТЗ+НКД, могли самостоятельно приводить к системным нарушениям углеводного обмена.

В то же время хотелось бы обратить внимание на морфологические изменения головного мозга, наблюдаемые в группе ЛО+ВКД. Животные данной группы, в отличие от обеих групп СТЗ, демонстрировали активацию астроглии в аркуатном ядре гипоталамуса. Активация астроцитов и усиление экспрессии GFAP могут быть физиологическим, адаптационным ответом, отражающим участие глиальных популяций гипоталамуса в регуляции энергетического метаболизма. С другой стороны, пролиферация астроглии может отражать активацию провоспалительных реакций в ответ на изменение рациона. Так, существуют данные о влиянии высококалорийной диеты (обогащенной жирами и простыми углеводами) на метаболические процессы в различных областях головного мозга [2, 3, 25]. Диета, обогащенная жирными кислотами, вызывает нейровоспаление, сопровождающееся астроглиозом и активацией микроглии в гипоталамусе и, по-видимому, в других структурах мозга [26–28]. В свою очередь нейровоспаление провоцирует и отягощает накопление β -амилоида и нейродегенерацию при БА [29].

Взаимосвязь нарушений углеводного обмена и БА подтверждают и данные о том, что внутрижелудочковое введение аналога инсулина у крыс с СТЗ-индуцированной БА, приводило к уменьшению выраженности когнитивных нарушений [30]. И наоборот, у крыс с СД, вызванным СТЗ, протективные свойства в отношении когнитивных функций демонстрируют агонисты рецепторов глюкагоноподобного пептида 1-го типа — препараты, точкой приложения которых являются ядра гипоталамуса [31].

Вместе с тем ранее нами продемонстрированное защитное свойство избыточной массы тела на когнитивные функции у крыс линии Sprague-Dawley [32] в текущем эксперименте не было подтверждено. В нашем исследовании ВКД не приводила к улучшению состояния стенки желудочков мозга и прилежащих гипоталамических структур, поврежденных под действием СТЗ. Эти противоречия отражены и в работах других авторов: имеются данные о том, что под действием высокожирной диеты на генетических моделях БА происходило улучшение состояния гематоэнцефалического барьера и не менялось накопление β -амилоида в гиппокампе [33], а в другом исследовании было отмечено, что высокожирная диета увеличивает накопление β -амилоида [34].

Более полно роль нарушений углеводного обмена на стрептозотоциновой модели БА еще предстоит оценить. В нашей работе интрацеребральное введение СТЗ приводило к существенным нарушениям системного метаболизма глюкозы. Важно отметить,

что последующее содержание животных на нормо- или высококалорийной диете значимо не влияло на состояние углеводного обмена, что говорит о непосредственном вкладе интрацеребрального введения СТЗ как модели БА в развитие нарушений углеводного обмена.

Ограничения исследования

Ограничением исследования являлось определение гликемии с использованием глюкометра, что объясняется малым объемом циркулирующей крови животных и невозможностью сбора большего количества крови в ходе ГТТ. Возможным ограничением работы могут являться полученные нами результаты о неоднородности распределения по весу крыс, получавших СТЗ. Это может быть связано как с разной степенью повреждения гипоталамических структур, так и с индивидуальными особенностями животных, требует отдельного исследования и может изменять интерпретацию данных.

Заключение

В последние годы широко обсуждается взаимосвязь БА и метаболических расстройств. Тем не менее неясно, могут ли дегенеративные изменения структур головного мозга при БА быть непосредственной причиной развития СД 2-го типа. В нашей работе мы ставили перед собой цель оценить раздельный вклад двух факторов в развитие нарушений углеводного обмена: увеличения массы тела на фоне потребления высококалорийной диеты и дегенеративного поражения структур головного мозга, наблюдаемых при моделировании БА. В нашем исследовании внутрижелудочковое введение СТЗ вызвало характерные для модели БА изменения — увеличение размеров желудочков мозга, дегенерацию белого вещества и накопление β -амилоида в гипоталамусе. В ядрах гипоталамуса выявили выраженные нейродегенеративные изменения — гибель дофаминергических нейронов тубероинфундибулярной системы, таницитов и астроцитов. СТЗ в сочетании с любой диетой вызывал нарушение углеводного обмена у крыс, но именно группа животных, получавших нормокалорийное питание, представляла собой модель изолированного влияния поражения головного мозга под действием СТЗ на углеводный обмен. В данной группе отмечалась значимо более выраженная гипергликемия по сравнению с ложнооперированной группой на НКД, что говорит о самостоятельном вкладе дегенеративных изменений ядер гипоталамуса в системный метаболизм глюкозы. Токсическое действие СТЗ на β -клетки поджелудочной железы при интрацеребральном введении

минимально, в связи с отсутствием проникновения СТЗ через гематоэнцефалический барьер и крайне низкие используемые дозы СТЗ.

Таким образом, показанное в нашей работе непосредственное влияние повреждения структур головного мозга в модели БА на углеводный обмен свидетельствует в пользу общности патогенетических механизмов БА и СД 2. Наличие когнитивных нарушений может сопровождаться изменением центральной регуляции энергетического обмена.

Дополнительная информация

Дополнительные материалы к статье

Рис. 4. Морфологическая картина поджелудочной железы (а–з) и печени (и–м) у животных, получавших НКД (а, д, и), у группы ЛО+ВКД (б, е, к), группы СТЗ+ВКД (в, ж, л) и группы СТЗ+НКД (г, з, м): а–г, и–м — выявление липидов масляным красным; д–з — островки поджелудочной железы, выявление хромогранина А (зеленым), ядра докрасены DAPI (синий). Шкала: 1 мм — на рисунках а–г, 250 мкм — на рисунках д–з, 50 мкм — на рисунках и–м.

Доступен на цветной вклейке и в сети Интернет: <https://doi.org/10.14341/probl12126-4749>

Рис. 5. Изменения стенки III желудочка мозга и прилежащих структур гипоталамуса под действием СТЗ ($\times 40$): а, б — дегенерация GFAP-позитивных α -таницитов, повреждение стенки желудочка и снижение плотности астроглии (выявление GFAP); в, г — накопление β -амилоида в нейронах; введение физиологического раствора (а, в); внутрижелудочковое введение стрептозоцина (б, г); ядра докрасены DAPI (синий).

Доступен на цветной вклейке и в сети Интернет: <https://doi.org/10.14341/probl12126-4750>

Рис. 6. Изменения медиобазальных структур гипоталамуса под действием СТЗ ($\times 10$):

а, б, в — циклонуклеотидфосфатаза (CNP); г, д, е — глиофибрилярный белок (GFAP); ж, з, и — дофаминовые (TH-позитивные) нейроны аркуатного ядра. Обозначения: стрелки указывают области повреждения; ядра докрасены DAPI (синий).

Доступен на цветной вклейке и в сети Интернет: <https://doi.org/10.14341/probl12126-4751>

Источник финансирования. Исследование и публикация настоящей статьи осуществлены на личные средства авторского коллектива.

Конфликт интересов. Исследование и публикация настоящей статьи осуществлены в рамках государственного задания ФГБНУ НЦН.

Участие авторов: А.В. Ставровская — создание концепции исследования, проведение исследования, анализ результатов, участие в подготовке рукописи; Д.Н. Воронков — создание концепции исследования, проведение исследования, анализ результатов, написание рукописи; Е.А. Шестакова — анализ полученных результатов, написание рукописи; А.С. Гушина — проведение исследования, ветеринарное сопровождение лабораторных животных; А.С. Ольшанский — проведение исследования; Н.Г. Ямщикова — проведение исследования. Все авторы внесли значимый вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией.



ЛИТЕРАТУРА | REFERENCES

1. Benziger CP, Roth GA, Moran AE. The Global Burden of Disease Study and the Preventable Burden of NCD. *Glob Heart*. 2016;11(4):393–397. doi: <https://doi.org/10.1016/j.gheart.2016.10.024>
2. Суркова Е.В. Сахарный диабет и центральная нервная система // *Терапевтический архив*. — 2016. — Т.88. — №10. — С. 82–86. [Surkova EV. Diabetes mellitus and the central nervous system. *Ther arch*. 2016;88(10):82–86. (In Russ).] doi: <https://doi.org/10.17116/terarkh201688682-86>
3. Anjum I, Fayyaz M, Wajid A, et al. Does obesity increase the risk of dementia: a literature review. *Cureus*. 2018;10(5):e2660. doi: <https://doi.org/10.7759/cureus.2660>
4. Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. London: Academic Press; 2007. 456 p.
5. Горячева М.А., Макарова М.Н. Особенности проведения глюкозотолерантного теста у мелких лабораторных грызунов (мыши и крысы) // *Международный вестник ветеринарии*. — 2016. — №3. — С. 155–159. [Goryacheva MA, Makarova MN. Special aspects of glucose tolerance test in small laboratory rodents (mice and rats). *Mezhdunarodnii vestnik veterinarii*. 2016;3:155–159. (In Russ).]
6. Каркищенко Н.Н. *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях*. / Под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. — М.: Профиль, 2010. — 358 с. [Karkishchenko NN. *Rukovodstvo po laboratornym zhiivotnym i al'ternativnym modeliam v biomeditsinskikh issledovaniyakh*. Ed by NN Karkishchenko, SV Grachev. Moscow: Profil'; 2010, 358 p. (In Russ).]
7. Schwingshackl L, Hoffmann G, Lampousi AM, et al. Food groups and risk of type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Eur J Epidemiol*. 2017;32(5):363–375. doi: <https://doi.org/10.1007/s10654-017-0246-y>
8. Janson J, Laedtke T, Parisi JE, et al. Increased risk of type 2 diabetes in alzheimer disease. *Diabetes*. 2004;53(2):474–481. doi: <https://doi.org/10.2337/diabetes.53.2.474>
9. Kamat P. Streptozotocin induced Alzheimer's disease like changes and the underlying neural degeneration and regeneration mechanism. *Neural Regen Res*. 2015;10(7):1050–1052. doi: <https://doi.org/10.4103/1673-5374.160076>
10. Gupta S, Yadav K, Mantri SS, et al. Evidence for compromised insulin signaling and neuronal vulnerability in experimental model of sporadic Alzheimer's disease. *Mol Neurobiol*. 2018;55(12):8916–8935. doi: <https://doi.org/10.1007/s12035-018-0985-0>
11. Deeds MC, Anderson JM, Armstrong AS, et al. Single dose streptozotocin-induced diabetes: considerations for study design in islet transplantation models. *Lab Anim*. 2011;45(3):131–140. doi: <https://doi.org/10.1258/la.2010.010090>
12. Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, et al. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacol Res*. 2005;52(4):313–320. doi: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2005.05.004>
13. Grieb P. Intracerebroventricular Streptozotocin Injections as a Model of Alzheimer's Disease: in Search of a Relevant Mechanism. *Mol Neurobiol*. 2016;53(3):1741–1752. doi: <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9132-3>
14. Bloch K, Gil-Ad I, Vanichkin A, et al. Intracerebroventricular Streptozotocin induces obesity and dementia in Lewis rats. *J Alzheimers Dis*. 2017;60(1):121–136. doi: <https://doi.org/10.3233/JAD-161289>
15. Zhang X, van den Pol AN. Hypothalamic arcuate nucleus tyrosine hydroxylase neurons play orexigenic role in energy homeostasis. *Nat Neurosci*. 2016;19(10):1341–1347. doi: <https://doi.org/10.1038/nn.4372>
16. García-Cáceres C, Balland E, Prevot V, et al. Role of astrocytes, microglia, and tanycytes in brain control of systemic metabolism. *Nat Neurosci*. 2019;22(1):7–14. doi: <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0286-y>
17. Vercruysse P, Vieau D, Blum D, et al. Hypothalamic alterations in neurodegenerative diseases and their relation to abnormal energy metabolism. *Front Mol Neurosci*. 2018;11:2. doi: <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00002>
18. Zheng H, Zhou Q, Du Y, et al. The hypothalamus as the primary brain region of metabolic abnormalities in APP/PS1 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2018;1864(1):263–273. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2017.10.028>
19. Clarke JR, Lyra E Silva NM, Figueiredo CP, et al. Alzheimer-associated Aβ oligomers impact the central nervous system to induce peripheral metabolic deregulation. *EMBO Mol Med*. 2015;7(2):190–210. doi: <https://doi.org/10.15252/emmm.201404183>
20. Ishii M, Wang G, Racchumi G, et al. Transgenic mice overexpressing amyloid precursor protein exhibit early metabolic deficits and a pathologically low leptin state associated with hypothalamic dysfunction in arcuate neuro peptide neurons. *J Neurosci*. 2014;34(27):9096–9106. doi: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0872-14.2014>
21. Verberne AJ, Sabetghadam A, Korim WS. Neural pathways that control the glucose counterregulatory response. *Front Neurosci*. 2014;8:38. doi: <https://doi.org/10.3389/fnins.2014.00038>
22. Timper K, Brüning JC. Hypothalamic circuits regulating appetite and energy homeostasis: pathways to obesity. *Dis Model Mech*. 2017;10(6):679–689. doi: <https://doi.org/10.1242/dmm.026609>
23. Baloyannis SJ, Mavroudis I, Mitilneos D, et al. The hypothalamus in Alzheimer's disease: a Golgi and electron microscope study. *Am J Alzheimers Dis Other Dement*. 2015;30(5):478–487. doi: <https://doi.org/10.1177/1533317514556876>
24. Ishii M, Iadecola C. Metabolic and non-cognitive manifestations of Alzheimer's disease: the hypothalamus as both culprit and target of pathology. *Cell Metab*. 2015;22(5):761–776. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.08.016>
25. Боголепова А.Н. Болезнь Альцгеймера и сахарный диабет // *Медицинский совет*. — 2015. — №18. — С. 36–40. [Bogolepova AN. Alzheimer's disease and diabetes mellitus. *Meditsinskii sovet*. 2015;18:36–40. (In Russ).] doi: <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2015-18-36-40>
26. Tran DQ, Tse EK, Kim MH, Belsham DD. Diet-induced cellular neuroinflammation in the hypothalamus: mechanistic insights from investigation of neurons and microglia. *Mol Cell Endocrinol*. 2016;438:18–26. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mce.2016.05.015>
27. Guillemot-Legris O, Muccioli GG. Obesity-induced neuroinflammation: beyond the hypothalamus. *Trends Neurosci*. 2017;40(4):237–253. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tins.2017.02.005>
28. Rollins CP, Gallino D, Kong V, et al. Contributions of a high-fat diet to Alzheimer's disease-related decline: a longitudinal behavioural and structural neuroimaging study in mouse models. *Neuroimage Clin*. 2019;21:101606. doi: <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2018.11.016>
29. Rodriguez-Casado A, Toledano-Díaz A, Toledano A. Defective insulin signalling, mediated by inflammation, connects obesity to Alzheimer disease. Relevant pharmacological therapies and preventive dietary interventions. *Curr Alzheimer Res*. 2017;14(8):894–911. doi: <https://doi.org/10.2174/1567205014666170316161848>
30. Shingo AS, Kanabayashi T, Kito S, Murase T. Intracerebroventricular administration of an insulin analogue recovers STZ-induced cognitive decline in rats. *Behav Brain Res*. 2013;241:105–111. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.12.005>

31. Palleria C, Leo A, Andreozzi F, et al. Liraglutide prevents cognitive decline in a rat model of streptozotocin-induced diabetes independently from its peripheral metabolic effects. *Behav Brain Res*. 2017;321:157–169. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.01.004>
32. Шестакова Е.А., Ставровская А.В., Гушина А.С., и др. Оценка когнитивных функций и метаболических параметров зрелых крыс-самцов линии Sprague-Dawley на фоне высококалорийной и гипокалорийной диеты // *Ожирение и метаболизм*. — 2018. — Т.15. — №4. — С. 65–73. [Shestakova EA, Stavrovskaya AV, Gushchina AS, et al. Cognitive function and metabolic features in male Sprague-Dawley rats receiving high-fat and low-calorie diets. *Obesity and metabolism*. 2018;15(4):65–73. (In Russ).] doi: <https://doi.org/10.14341/OMET10022>
33. Goldman ES, Goez D, Last D, et al. High-fat diet protects the blood-brain barrier in an Alzheimer's disease mouse model. *Aging Cell*. 2018;17(5):e12818. doi: <https://doi.org/10.1111/acer.12818>
34. Lin B, Hasegawa Y, Takane K, et al. High-fat-diet intake enhances cerebral amyloid angiopathy and cognitive impairment in a mouse model of Alzheimer's disease, independently of metabolic disorders. *J Am Heart Assoc*. 2016;5(6). pii: e003154. doi: <https://doi.org/10.1161/JAHA.115.003154>

Рукопись получена: 12.11.2019

Одобрена к публикации: 20.12.2019

Опубликована online: 10.01.2020.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

*Ставровская Алла Вадимовна, к.б.н. [Alla V. Stavrovskaya, PhD, leading research associate]; адрес: Россия, 103064, Москва, пер. Обуха, 5 [address: 5 Obukha l., 103064 Moscow, Russia]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8689-0934>; eLibrary SPIN: 8013-7362; e-mail: alla_stav@mail.ru

Воронков Дмитрий Николаевич, к.м.н. [Dmitry N. Voronkov, PhD, senior researcher]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5222-5322>; eLibrary SPIN: 1576-8871; e-mail: voronkov@neurology.ru

Шестакова Екатерина Алексеевна, к.м.н. [Ekaterina A. Shestakova, MD, PhD, leading research associate]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6612-6851>; eLibrary SPIN: 1124-7600; e-mail: katiashestakova@mail.ru

Гушина Анастасия Сергеевна [Anastasiya S. Gushchina, researcher]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3026-0279>; eLibrary SPIN: 4017-5024; e-mail: anastaisha-2015@mail.ru

Ольшанский Артём Сергеевич, к.б.н. [Artyom S. Olshansky, PhD, senior Researcher]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5696-8032>; eLibrary SPIN: 7072-0721; e-mail: AS0769@yandex.ru

Ямщикова Нина Гавриловна, к.б.н. [Nina G. Yamshikova, PhD, leading researcher]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4387-2266>; eLibrary SPIN: 9385-5576; e-mail: nyamshikova@yandex.ru

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Ставровская А.В., Воронков Д.Н., Шестакова Е.А., Гушина А.С., Ольшанский А.С., Ямщикова Н.Г. Стрептозоцин-индуцированная болезнь Альцгеймера как самостоятельный фактор риска развития гипергликемии у крыс линии Вистар // *Проблемы эндокринологии*. — 2019. — Т. 65. — №5. — С. 351–361. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12126>

TO CITE THIS ARTICLE:

Stavrovskaya AV, Voronkov DN, Shestakova EA, Gushchina AS, Ol'shanskiy AS., Yamshikova NG. Streptozotocin-induced Alzheimer's disease as an independent risk factor for the development of hyperglycemia in Wistar rats. *Problems of Endocrinology*. 2019;65(5): 351–361. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12126>

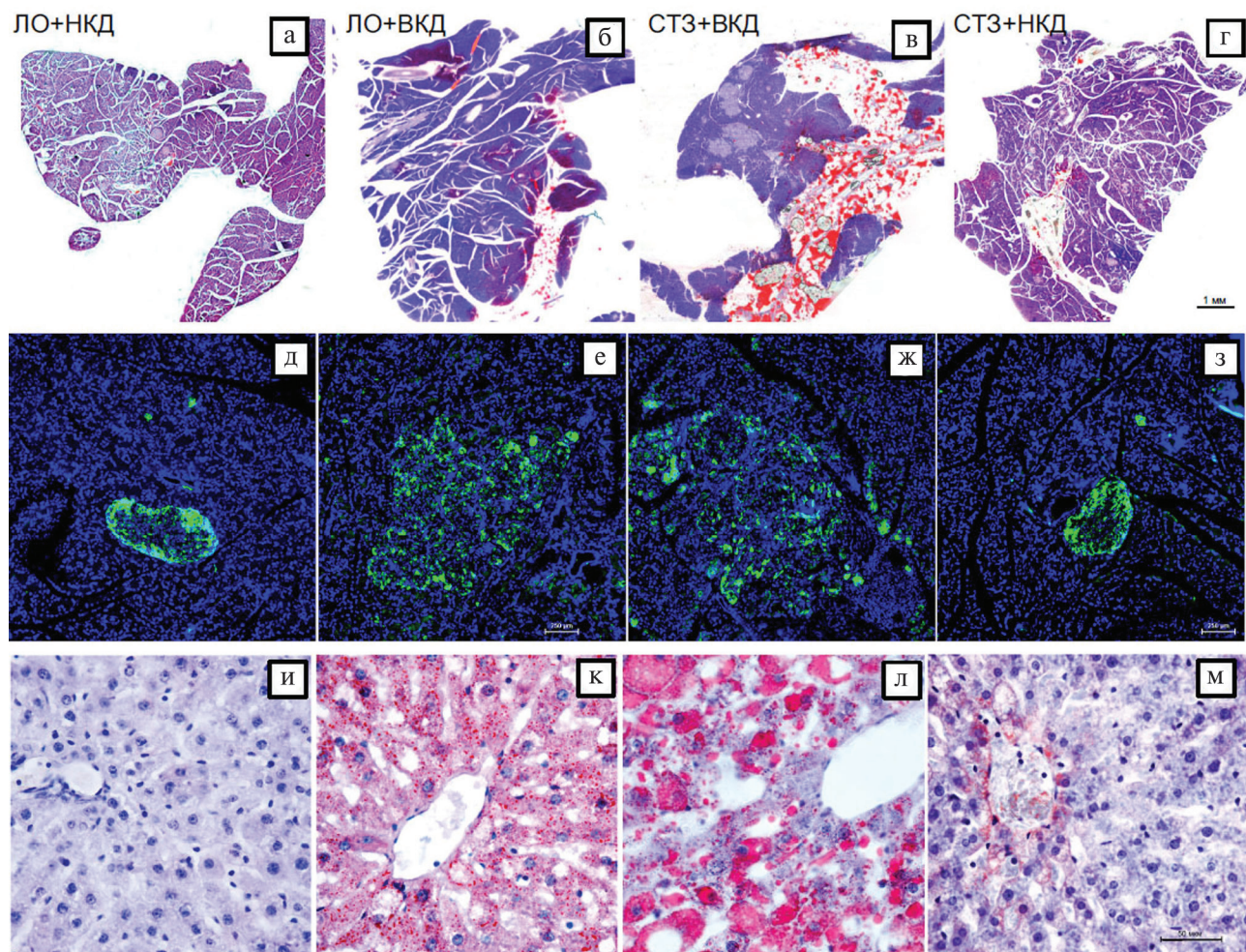


Рис. 4. Морфологическая картина поджелудочной железы (а–з) и печени (и–м) у животных, получавших нормокалорийную диету (а, д, и), у группы ЛО+ВКД (б, е, к), группы СТЗ+ВКД (в, ж, л) и группы СТЗ+НКД (г, з, м). а–г, и–м — выявление липидов масляным красным; д–з — островки поджелудочной железы, выявление хромогранина А (зеленым), ядра докрашены DAPI (синий). Шкала: 1 мм — на рисунках а–г, 250 мкм — на рисунках д–з, 50 мкм — на рисунках и–м.



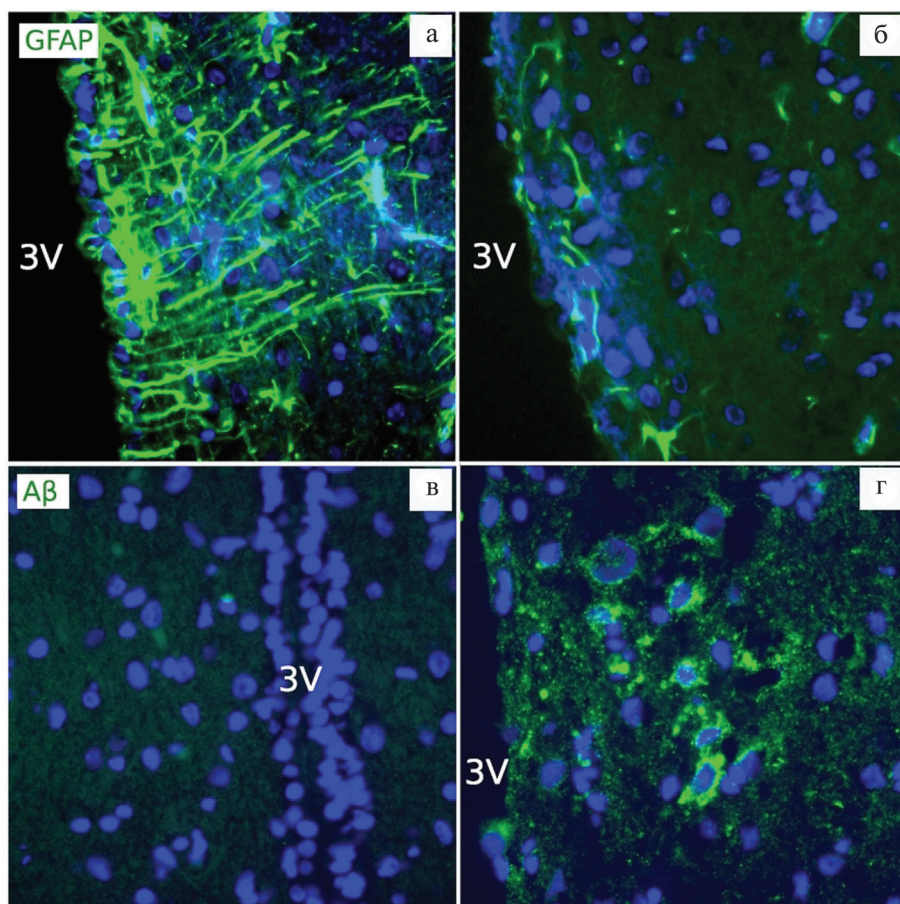


Рис. 5. Изменения стенки III желудочка мозга и прилежащих структур гипоталамуса под действием стрептозоцина (ув. $\times 40$).

а, б — дегенерация GFAP-позитивных α -таницитов, повреждение стенки желудочка и снижение плотности астроглии (выявление GFAP); в, г — накопление β -амилоида в нейронах; введение физиологического раствора (а, в); внутривентрикулярное введение стрептозоцина (б, г); ядра докрашены DAPI (синий).



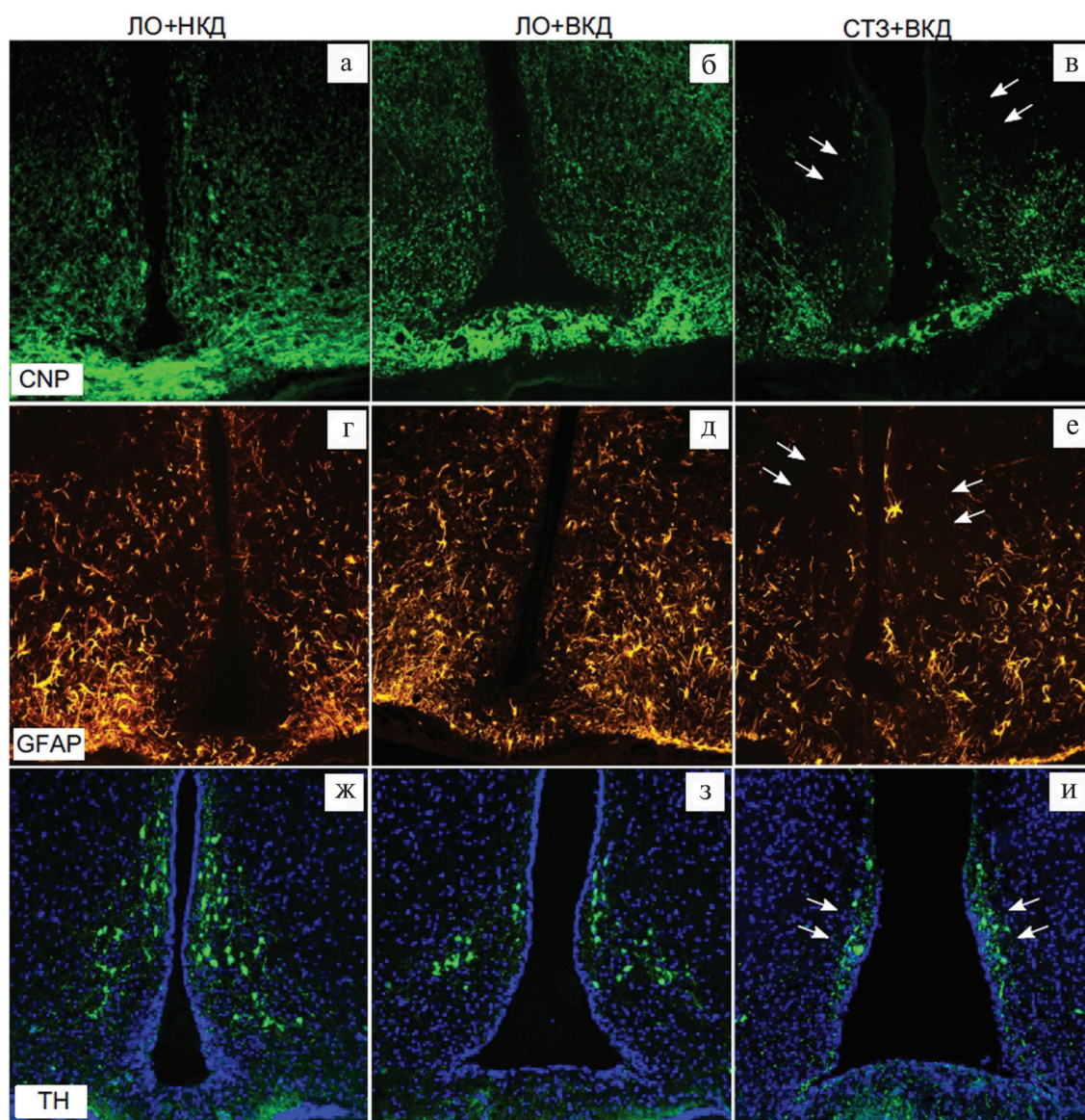


Рис. 6. Изменения медиобазальных структур гипоталамуса под действием стрептозоцина (ув. $\times 10$).
а, б, в – циклонуклеотидфосфатаза (CNP); г, д, е – глиофибрилярный белок (GFAP); ж, з, и – дофаминовые (TH-позитивные) нейроны аркуатного ядра.
Обозначения: стрелки указывают области повреждения; ядра докрашены DAPI (синий).