

РОЛЬ МАКРОФАГОВ В ЛОКАЛЬНОЙ СИНТЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ИНСУЛИН- СЕКРЕТИРУЮЩИХ КЛЕТОК ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ АЛЛОКСАНОВОМ ДИАБЕТЕ

Булавинцева Т. С.^{1,2}, Данилова И. Г.^{1,2}, Шмакова С. Е.^{1,2}

¹Уральский Федеральный университет им. Б. Н. Ельцина; ²Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия

На модели аллоксанового диабета у крыс было показано, что воздействие на моноциты/макрофагов препаратом на основе дериватов аминофталгидрозида приводит к снижению моноцитарной инфильтрации и уровня IL-1a в поджелудочной железе. Что, способствует сохранению инсулин продуцирующих клеток и увеличению их синтетической активности.

Ключевые слова: аллоксановый диабет, макрофаги, цитокины, β -клетки

В последние годы под пристальным вниманием исследователей находится влияние макрофагов на регуляцию физиологических и репаративных процессов. Эти функции осуществляются ими посредством секреции цитокинов и различных факторов роста [1].

Цель исследования: оценить секреторную активность макрофагов в поджелудочной железе и ее влияние на функциональную активность инсулин синтезирующих клеток при аллоксановом диабете и на фоне иммуномодуляции.

Материалы и методы. Исследование проведено на половозрелых крысах – самцах Wistar (N=20) в соответствии с этическими нормами Директивы Совета ЕС 2010/63. Аллоксановый диабет был вызван путем введения раствора аллоксана в дозе 30 мг/100 г [2]. Иммуномодуляцию при помощи препарата (2 мг/кг веса животного) на основе дериватов аминофталгидрозида (АМФ) [3]. Экспериментальные животные (n=20) были разделены случайным образом на 4 экспериментальные группы: 1 – интактные животные, 2 – животные с длительностью аллоксанового диабета 30 суток, 3 – животные с длительностью аллоксанового диабета 60 суток, 4 – животные с иммуномодуляцией на фоне аллоксанового диабета.

В крови определяли уровень глюкозы, гликозилированного гемоглобина (HbA1c), и инсулина (Millipore; USA). Срезы поджелудоч-

ной железы толщиной 3-4 мкм окрашивали по протоколу двойного ИГХ исследования [3] для визуализации β -клеток (anti-insulin ab. clon E11D7, Millipore; USA) и моноцитов/макрофагов (MAC387, Abcam; USA), с визуализацией и оценкой интенсивности флюоресценции (усл.ед.) инсулин позитивной области клеток на лазерном сканирующем конфокальном микроскопе LSM 710 (ZEISS; Germany).

В ходе морфометрического исследования (анализ изображений ВидеоТест «Морфология» 5.0. (Санкт-Петербург)) подсчитывали общее количество инсулин-синтезирующих клеток и моноцитов/макрофагов в 1 мм² паренхимы органа (N/мм²). В гомогенате [4] поджелудочной железы путем ИФА определялось содержание (pg/ml) IL-1a и IGF-1 (Thermo scientific, USA). Данные представлены в виде $M \pm m$. Для статистического анализа использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни, программное обеспечение Statistica 6,0 фирмы StatSoft.

Основные результаты. В условиях аллоксанового диабета отмечается прогрессирующее увеличение концентрации глюкозы до $32,6 \pm 0,8$ ммоль/л; $p < 0,05$ (интактные животные $6,0 \pm 0,3$ ммоль/л; Аллоксановый диабет 30 суток $26,0 \pm 1,8$ ммоль/л), при этом HbA1c увеличивается к 30-м суткам наблюдения до $7,1 \pm 0,6\%$; $p < 0,05$ (интактные животные $5,1 \pm 0,2\%$), а концентрация инсулина снижает-

ся до $0,47 \pm 0,05$ мкг/л (интактные животные $1,28 \pm 0,19$ мкг/л; $p < 0,05$) и сохраняются до 60-х суток. В крови животных с иммуномодуляцией на фоне аллоксанового диабета отмечается снижение концентрации глюкозы до $17,0 \pm 3,0$ ммоль/л ($p < 0,05$) и HbA1c ($p < 0,05$) до $4,1 \pm 0,9\%$, а инсулин в крови увеличился ($p < 0,05$) до $0,72 \pm 0,07$ мкг/л.

Морфометрическое исследование поджелудочной железы свидетельствует о прогрессирующем снижении общей массы инсулин-синтезирующих клеток в условиях аллоксанового диабета, на 30-е сутки их количество составило 44 ± 8 N/1 мм² ($p < 0,05$), на 60-е сутки = $4,2 \pm 0,3$ N/1 мм² ($p < 0,05$) (интактные животные 109 ± 9 N/1 мм²). Вместе с этим отмечается снижение интенсивности флюоресценции инсулин-позитивной области клеток к 30-м суткам в два раза ($p < 0,05$) (интактные – 43 ± 4 усл.ед.) и сохранялась на этом уровне до 60-х суток. Модуляция функциональной активности макрофагов способствует росту количества инсулин-синтезирующих клеток (36 ± 7 N/1 мм²; $p < 0,05$) по сравнению с животными с аллоксановым диабетом 60 с., при этом интенсивность флюоресценции инсулиноцитов превышает уровень интактных животных на 10% ($p < 0,05$).

Развитие аллоксанового диабета сопровождается возрастанием количества макрофагов в поджелудочной железе к 30-м с. до 83 ± 14 N/1 мм² ($p < 0,05$) (интактные животные 15 ± 2 N/1 мм²). Одновременно с этим в 7 раз увеличивается ($p < 0,05$) уровень IL-1α в органе (интактные – 474 ± 51 pg/ml). На этом фоне компенсаторно возрастает содержание IGF-1 (интактные – 1558 ± 644 pg/ml;). Соотношение IL-1α / IGF-1 увеличивается до $0,79 \pm 0,12$ (интактные животные $0,52 \pm 0,13$ ($p < 0,05$)). На 60-е с. значительных изменений относительно предыдущего срока наблюдения не выявлено. Иммуномодуляция способствует снижению количества макрофагов в 4 раза ($p < 0,05$) относительно уровня групп с аллоксановым диабетом (20 ± 2 N/1 мм²). Уровень IL1α снизился до 2090 ± 64 pg/ml ($p < 0,05$). Соотношения IL-1α / IGF-1 снижается до уровня интактных животных.

В исследованиях *in vitro* было показано, что препарат АМФ снижает секрецию активированными макрофагами про-воспалительных цитокинов (TNF-α, IFN-γ и IL-6) и активных форм радикалов [5]. В нашем исследовании иммуномодуляцию осуществляли на фоне развившегося аллоксанового диабета (30 с. После введения аллоксана), что способствует снижению количества макрофагов, уровня IL-1α в поджелудочной железе и интенсивной секреции IGF-1. Более того, рассчитанное нами соотношение IL-1α / IGF-1 свидетельствует о смещении функциональной поляризации макрофагов в сторону альтернативной активации. Данные иммунологические изменения способствуют сохранению инсулин продуцирующих клеток и увеличению их синтетической активности на, что подтверждается повышением концентрации инсулина в крови.

Исследование выполнено в рамках программы УрО РАН для фундаментальных исследований № 15-3-4-17.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Type1 diabetes: Islet inflammation – the contribution of cytokines and beta-cells/ A.M. Gusdon, J.A. Corbett, C.E. Mathews// Drug Discovery Today: Disease Mechanisms.– 2006.– V3, № 13.– P. 367-372.
2. Morphological restructuring of myocardium during the early phase of experimental diabetes mellitus/ I.G. Danilova, P.A. Sarapultsev, S.U. Medvedeva, I.F. Gette, T.S. Bulavintceva, A.P. Sarapultsev// Anat. Rec. (Hoboken).– 2015.– V298, № 2.– P. 396-407. doi: 10.1002/ar.23052.
3. Kumar G. L. Education guide. Immunohistochemical (IHC) staining methods / G. L. Kumar – Carpinteria, California: Dako North America, 2009.– 224p.
4. Pulmonary injuries and cytokine levels after the intraperitoneal administration of pancreatic homogenates in rats/ G. Mozo, M. L. del Olmo, A. Caro-Patón, E. Reyes, L. Manzano, A. Belmonte, A. Almaraz, M. Álvarez-Mon // Rev. esp. enferm dig.– 2004.– V96., № 8.– P. 527-538.
5. A tetrahydrophthalazine derivative 'sodium nucleinate' exerts a potent suppressive effect upon LPS-stimulated mononuclear cells in vitro and in vivo/ T. Jukić, M. Abidov, A. Ihan// Coll. Antropol.– 2011.– V 35, № 4.– P.1219-23.

THE ROLE OF MACROPHAGES IN LOCAL REGULATION OF THE SYNTHETIC ACTIVITY OF INSULIN-SECRETING PANCREATIC CELLS IN ALLOXANE DIABETES

Bulavintseva T. S.^{1,2}, Danilova I. G.^{1,2}, Shmacova S. E.^{1,2}

¹Ural Federal University; ²Institute of Immunology and physiology UB RAS, Yekaterinburg, Russia

On the alloxan diabetes model in rats, it was shown that exposure to monocytes / macrophages with an aminophthalhydroside derived drug leads to a decrease in monocyte infiltration and IL-1a in the pancreas. That promotes the preservation of insulin-producing cells and increases their synthetic activity.

Key words: alloxan diabetes, macrophages, cytokines, β -cells

ОЦЕНКА ПЕРСПЕКТИВ КОМПЛЕКСНОГО ПРИМЕНЕНИЯ АНТИБИОТИКОВ И ПРОБИОТИКОВ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Володченко В. Ф., Садуллоева Т. И.

ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет»,
Оренбург, Россия

В статье представлены данные по изучению антибиотикопродуктивности и антибиотикорезистентности пробиотических штаммов бактерий рода *Bacillus*, а также изучение эффекта совместного применения антибиотиков и пробиотиков. В ходе проведенных исследований установлена родовая устойчивость бактерий рода *Bacillus* к цефтазидиму, азтреонаму, колистину и видовая устойчивость *B. cereus* и *B. licheniformis* 31 к пенициллину, цефиксиму, цефепиму, *B. subtilis* 534 к хлорамфениколу. При этом максимальная антагонистическая активность зарегистрирована в отношении *S. aureus*. Наиболее активным антагонистом является *B. subtilis* 534, а наименее активным *B. cereus* IP 5832. Изучение эффекта совместного применения в условиях *in vitro* позволяет судить о перспективе совместного использования *B. subtilis* 534 и *B. subtilis* 3 с пенициллином, *B. licheniformis* 31 и цефиксимом по отношению к *S. aureus*, *B. licheniformis* 31 с пенициллином в отношении *S. aureus*, *B. subtilis* 534 и *B. cereus* с цефиксимом – *S. aureus* и *S. enteritidis*, соответственно.

Ключевые слова: антибиотики, пробиотики, *Bacillus*, антагонизм

Основной проблемой последних лет является широкое распространение резистентных форм патогенных микроорганизмов и снижение эффективности ряда антибиотиков. Пробиотики, в отличие от антибиотиков, не оказывают отрицательного воздействия на нормальную микрофлору, поэтому их широко применяют для профилактики и лечения дисбактериозов.

Важной особенностью пробиотиков является их способность повышать противоинфекционную устойчивость организма [1, 2], оказывать в ряде случаев противоаллергенное действие,

регулировать и стимулировать пищеварение. В настоящее время в медицине уже широко используют лактобактерин, бифидум-бактерин, колибактерин, бификол, ацилакт [3] и другие пробиотические препараты.

Целью исследования было изучение антибиотикорезистентности и антибиотикопродуктивности микроорганизмов рода *Bacillus* в условиях *in vitro* для разработки подходов к совместному применению антибиотиков и пробиотиков.

В качестве объектов исследования использовались чистые культуры микроорганизмов: