

Предлагаемое изобретение относится к медицине, в частности в экспериментальной эндокринологии, и может быть использовано для моделирования различных степеней тяжести иммунной формы сахарного диабета (ИЗСД I типа) для отработки разных способов лечения.

Известно несколько способов моделирования СД.

1. По одному из них экспериментальный СД вызывают путем введения различных химических веществ (аллоксан, стрептозотозин, дитизон, оксихинонины, дегидроаскорбиновая кислота). Химические повреждения островкового аппарата ПЖ позволяют воспроизвести СД в 85% случаев. Недостатком способа является токсичность препаратов в диабетогенной дозе, которые приводят к патологическим изменениям других паренхиматозных органов и в итоге наступают выраженные изменения гомеостаза. Кроме этого, отмечается различная индивидуальная и видовая чувствительность животных, вплоть до возникновения СД только у определенных видов животных, поэтому снижается ценность использования этой модели в эксперименте [1].

2. Экспериментальный СД вызывают также путем назначения синтетической диеты 30 - 60дн., включающей белки 18 - 20%, углеводы 58 - 60%, жиры 16 - 18%, эргокальциферона  $(7 - 8) \cdot 10^{-6}$ ; I токоферона ацетата  $(10 - 12) \cdot 10^{-3}$ ; ретинола ацетата  $(34 - 39) \cdot 10^{-5}$ ; витамина B<sub>12</sub>  $(20 - 22) \cdot 10^{-10}$ ; кормовые дрожжи 1,0 - 1,1г; солевая смесь по Бэсту 2,5 - 3,0. После 30 - 60дн. содержания на диете животным (крысам) 1 раз вводят внутривенно аллоксан в дозе 35 - 40мг/кг в физиологическом растворе. Далее животных содержали на этой диете весь период развития заболевания [2].

Недостатком способа является отсутствие четкости изменений органов на фоне поражения аллоксаном. Неизвестна тяжесть вызываемого СД, а следовательно и методы медикаментозного воздействия (инсулинозависимый или инсулинонезависимый тип).

3. Существует способ создания экспериментального СД путем облучения области живота. Доза облучения за фракцию от 5 до 10% гибели, но облучение осуществляют многократно с интервалом 30дн. (период восстановления от острых эффектов радиации), а количество фракций можно варьировать и определять исходя из данных, полученных при однократном тотальном облучении в дозах, вызывающих 100% гибель в острый период после лучевого воздействия. Для определения количества фракций дозу, вызывающую 100% гибель, делят на дозу за фракцию, либо к этому количеству фракций добавляют еще одну фракцию. Исследования проводят спустя 4 - 5 месяцев после облучения [3].

Недостатком способа является позднее развитие СД через 4 - 5мес. после лучевого воздействия, что удлиняет время эксперимента. Развивается тяжелая форма заболевания, быстро приводящая к летальному исходу, что сокращает время для апробации методов лекарственной коррекции. Наблюдаются сопутствующие тяжелые дистрофические изменения жизненно важных органов.

4. Наиболее близким к предполагаемому нами способу моделирования СД является получение СД в эксперименте путем длительного введения инсулина в терапевтических дозах [4]. При этом способе происходит снижение выработки эндогенного инсулина, снижение чувствительности периферических тканей к инсулину и выработка антител на инсулин. Образующиеся антитела к инсулину связывают свободный инсулин с последующим развитием инсулиновой недостаточности и проявлением СД [5].

Экспериментальный диабет достигается тем [4], что лабораторному животному совместно с подкожным введением ежедневно в высоких терапевтических дозах инсулина (1ЕД на кг) в течение месяца, в первый день опыта однократно вводят вакцину БЦЖ 0,1 - 0,2мг/кг массы тела, 0,5мл ланолина и 1,0мл вазелинового масла (полный адъювант Фрейнда (ПАФ) и ежедневно подкалывается В-активин, из расчета 0,04 - 0,1мл/кг массы в/мышечно в течение первой недели ежедневно. Этот способ взят нами в качестве прототипа.

Недостатком данного способа является длительность воспроизведения экспериментального диабета, введение больших доз инсулина. При данном способе, как правило, развивается тяжелая форма СД с первых дней, вплоть до развития диабетической комы, из-за чего животные часто погибают, что не дает возможность апробировать разные схемы лечения СД.

В основу изобретения поставлена задача создания способа моделирования иммунной формы СД различных степеней тяжести, в котором обеспечивается сокращение времени воспроизведения экспериментального диабета и за счет этого повышается возможность апробировать разные схемы лечения СД.

Поставленная задача решается тем, что в способе моделирования иммунной формы СД различных степеней тяжести, содержащем введение инсулина экспериментальным животным, согласно изобретению для моделирования легкой степени ИЗСД вводят инсулинцинксуспензию (ИЦС) в количестве 2ЕД/кг массы тела животного однократно. Большие дозы вызывают гипогликемические явления вплоть до гипогликемической комы. Ежедневно в течение 9 - х, 3 - х недель (время появления первых клинических проявлений сахарного диабета) вводят тот же инсулин в дозе 0,4ЕД/кг массы тела. Одновременно с инсулином в первый день вводят полный адъювант Фрейнда в дозе 0,05 - 0,06мг на 1кг массы тела (половина дозы, содержащейся в полном адъюванте Фрейнда, а для создания модели тяжелой формы ИЗСД вместо ИЦС вводят более аллергенный инсулин протаминцинксуспензию (ПЦИ) в той же дозе и полный адъювант Фрейнда в количестве 0,1 - 0,2мг/кг массы тела (в общеизвестной дозировке).

Способ осуществляют следующим образом.

Берут две группы щенков примерно одного возраста 3 - 4мес и массы тела по три щенка в каждой группе. В первой группе каждому щенку вводят по 2ЕД/кг массы тела инсулин ПЦИ (протаминцинксуспензия) с большим содержанием белка и одновременно адъювант Фрейнда 4мл. Затем ежедневно вводят тот же инсулин в дозе 0,4ЕД на 1кг массы тела. Во II группе (3 щенка) вводят вместо полного адъюванта Фрейнда, вакцину БЦЖ в дозе меньшей чем в ПАФ, а именно 0,03 - 0,05мг/кг и вместо аллергенного инсулина ПЦИ вводят менее аллергенный инсулинцинксуспензию (ИЦС) в той же дозировке.

Приводим конкретные примеры осуществления способа.

Пример 1. В I группе, состоящей из 3 родственных щенков одинакового возраста (3 - 4 мес), массой

тела 3 - 4кг вводился полный адъювант Фрейда американского производства 4мл с добавлением инактивированной вакцины БЦЖ из расчета 0,1мг/кг веса и подкожно пролонгированного отечественного инсулина с большим содержанием белка - 33% ПЦИ (протаминцинкинсулина) с последующей ежедневной подколкой 2ЕД этого инсулина. Сахар крови исследовался ежедневно химическим (ортотолуидиновым методом) и исследовался ИРИ. Один из самцов погиб на 3 день в связи с развитием гнойной инфекции в области вены левой ноги при СК (сахар крови) 14,2ммоль/л.

Пример 2. У второго щенка мужского пола сахарный диабет вызывался аналогичным образом, клиника прекомы развилась на 5 день при СК - 15ммоль/л (при N - 4,2ммоль/л в контрольной группе).

Пример 3. У третьего щенка также на 5 день остро развилась резкая слабость, жажда, полиурия, отказ от приема пищи СК 3,1ммоль/л (ИРИ - 10,2ммоль/л). Несмотря на трехкратное введение простого инсулина в дозе до 10 - 12ЕД состояние не улучшалось, под тиопенталовым наркозом взятые биоптаты поджелудочной железы, почек, сердца отправлены на электронно-микроскопическое исследование (изучение базальной мембраны сосудов сердца, почек и состояние В клеток поджелудочной железы).

Во второй группе трем щенкам - 2 самцам и одной самке того же возраста и массы тела вводился адъювант Фрейнда в той же дозировке, вводился менее аллергенный пролонгированный инсулин (ИЦС) цинк суспензия 6ЕД в первый день и 2ЕД ежедневно для развития более легкого течения сахарного диабета и возможности апробирования лечения. Сахар исследовался по той же методике.

Пример 4. У щенка сахарный диабет развился на 9 день заболевания с колебаниями показателей сахара крови от 7,2 до 10,4ммоль/л.

Пример 5. У пятого щенка сахарный диабет развился на 10 день с колебаниями СК от 7 до 11,2ммоль/л.

Пример 6. У шестого щенка, той же массы и возраста, сахарный диабет развился на 11 день с сахаром крови 6,6 - 12,4ммоль/л (ИРИ 92,3ммоль/л). На 9, 10, 11 день под тиопенталовым наркозом взяты биоптаты поджелудочной железы, почек и сердца экспериментальных животных. Метод прост в исполнении, доступен, легко выполним. Воспроизводство СД в 99% случаев.