

УДК 577.112:616.37:[618.2:616.379-009.64]:599.323.4

<https://doi.org/10.52420/umj.24.4.7><https://elibrary.ru/AVWQFN>

Анализ локализации коннексина 36 в эндокринной части ткани поджелудочной железы при моделировании различных подтипов гестационного сахарного диабета у крыс

Наталья Ивановна Волкова¹, Илья Юрьевич Давиденко^{1✉}, Сергей Николаевич Головин², Сергей Константинович Шебеко², Евгения Юрьевна Кириченко²

¹ Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия

² Донской государственный технический университет, Ростов-на-Дону, Россия

✉ Davidenko.iu@gmail.com

Аннотация

Введение. Согласно современным представлениям, гестационный сахарный диабет (ГСД) является гетерогенным заболеванием, включающим в себя несколько подтипов: с инсулинорезистентностью (ИР) и дисфункцией β -клеток поджелудочной железы. Выявлено, что клетки поджелудочной железы экспрессируют белок щелевых контактов — коннексин 36, — а содержащие этот белок щелевые контакты в норме координируют пульсирующую динамику Ca^{2+} и высвобождение инсулина; нарушение этого процесса может являться одним из патогенетических механизмов ГСД.

Цель работы — изучить распределение коннексина 36 в ткани поджелудочной железы при моделировании различных подтипов ГСД у крыс.

Материалы и методы. Проведено проспективное исследование на белых нелинейных крысах: 50 самках и 15 самцах. Крысы-самки после подтверждения были разделены на 3 группы: I — 15 беременных крыс (контрольная); II — 12 беременных крыс (модель подтипа с дисфункцией β -клеток поджелудочной железы); III — 12 беременных крыс (модель подтипа с ИР). Всем крысам проведено иммуногистохимическое исследование на парафиновых срезах с использованием первичных кроличьих поликлональных антител к коннексину 36 (Invitrogen, США).

Результаты. При исследовании образцов поджелудочной железы группы III отмечено резкое снижение уровня экспрессии коннексина 36. В образцах группы II выявлено, что в эндокринных участках железы мембранная реакция между клетками отрицательна. При морфометрическом исследовании определено достоверное снижение как удельной плотности иммунных комплексов, так и их средней площади в группах III и II ($p < 0,050$).

Обсуждение. Проведенное иммуногистохимическое исследование распределения коннексина 36 свидетельствует о снижении электротонической сообщаемости посредством щелевых контактов как в модели подтипа ГСД с преобладающей ИР, так и дисфункцией β -клеток поджелудочной железы.

Заключение. Полученные результаты позволяют предположить, что редукция коннексина 36 может сопровождать развитие патогенетических механизмов ГСД.

Ключевые слова: β -клетки, островка Лангерганса, коннексин 36, инсулин, щелевые контакты, гестационный диабет

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации (тема № 21052700088-0 от 27 мая 2021 г.).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Донского государственного технического университета (протокол № 3 от 19 сентября 2022 г.).

Для цитирования: Анализ локализации коннексина 36 в эндокринной части ткани поджелудочной железы при моделировании различных подтипов гестационного сахарного диабета у крыс / Н.И. Волкова, И.Ю. Давиденко, С.Н. Головин [и др.] // Уральский медицинский журнал. 2025. Т. 24, № 4. С. 7–18. DOI: <https://doi.org/10.52420/umj.24.4.7>. EDN: <https://elibrary.ru/AVWQFN>.

Analysis of the Localization of Connexin 36 in the Endocrine Part of Pancreatic Tissue in Modeling Various Subtypes of Gestational Diabetes Mellitus in Rats

Natalya I. Volkova¹, Ilya Yu. Davidenko^{1✉}, Sergey N. Golovin², Sergey K. Shebeko², Evgenia Yu. Kirichenko²

¹ Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

² Don State Technical University, Rostov-on-Don, Russia

✉ Davidenko.iu@gmail.com

Abstract

Introduction. Gestational diabetes mellitus (GDM) is heterogeneous disease that includes several subtypes: subtype with predominant insulin resistance (IR) and subtype with predominant dysfunction of β -cell of pancreas. It was revealed that pancreatic cells express a gap junction protein, connexin 36, and gap junctions containing this protein normally coordinate the pulsating dynamics of Ca^{2+} and the release of insulin, and disruption of this process may be one of the pathogenetic mechanisms of GDM.

The aim of work was to study distribution of connexin 36 in pancreatic tissue when modeling various subtypes of GDM in rats.

Materials and methods. Prospective study was conducted on white nonlinear rats: 50 females and 15 males. Female rats were divided into 3 groups: I — 15 pregnant rats (control); II — 12 pregnant rats (pancreatic β -cell dysfunction); III — 12 pregnant rats (IR). All rats underwent histomorphological examination on paraffin sections using primary rabbit polyclonal antibodies to connexin 36 (Invitrogen, USA).

Results. In study of pancreatic samples of group III, a sharp decrease in level of connexin 36 expression was noted. In samples of group II, it was revealed that in endocrine regions of gland, membrane reaction between cells is negative. Morphometric examination revealed a significant decrease in both the specific density of immune complexes and their average area in groups III and II ($p < 0.050$).

Discussion. An immunohistochemical study of the distribution of connexin 36 indicates a decrease in electrotonic connectivity through gap contacts both in model of GDM subtype with predominant IR and pancreatic beta-cell dysfunction.

Conclusion. Results obtained suggest that reduction of connexin 36 may accompany development of pathogenetic mechanisms of GDM.

Keywords: β -cells, Langerhans islet, connexin 36, insulin, slit contacts, gestational diabetes

Funding. Completed within the framework of the state assignment of the Ministry of Health of the Russian Federation (topic No. 21052700088-0 dated 27 May 2021).

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the Local Ethics Committee of the Don State Technical University (Protocol No. 3 dated 19 September 2022).

For citation: Volkova NI, Davidenko IYu, Golovin SN, Shebeko SK, Kirichenko EYu. Analysis of the localization of connexin 36 in the endocrine part of pancreatic tissue in modeling various subtypes of gestational diabetes mellitus in rats. *Ural Medical Journal*. 2025;24(4):7–18. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.52420/umj.24.4.7>. EDN: <https://elibrary.ru/AVWQFN>.

Введение

Гестационный сахарный диабет (ГСД) — одно из наиболее часто встречающихся осложнений, возникающих во время беременности. В 2021 г. примерно каждые 6-е роды происходили у женщины на фоне гипергликемии, в подавляющем большинстве вследствие ГСД. Согласно прогнозам, число таких пациенток будет критически увеличиваться во всем мире, как и число больных другими типами сахарного диабета (СД)¹.

Согласно современным представлениям, существует несколько подтипов ГСД: с преобладающей инсулинорезистентностью (ИР) и превалирующей дисфункцией β -клеток поджелудочной железы [1–10]. На сегодня проведен ряд исследований, изучающих фенотипические, биохимические различия этих подтипов, а также их влияние на риски краткосрочных осложнений [5]. Так, активно обсуждается, что подтип ГСД с преобладающей ИР имеет более неблагоприятный метаболический профиль, и, как результат, у таких беременных выше риск осложнений [6, 7]. Отдельно изучается вопрос эффективности возможных методов лечения в зависимости от подтипа ГСД, поскольку своевременно подобранная медикаментозная терапия улучшает прогнозы для матери и плода [3, 11]. Имеющиеся алгоритмы ведения беременных пациентов в настоящее время не учитывают возможную гетерогенность нарушений углеводного обмена во время гестации. Однако важным вопросом остается понимание патогенетических механизмов, лежащих в основе гетерогенности ГСД, изучение которых на беременных женщинах по этическим соображениям не представляется возможным.

Щелевые контакты (ЩК) занимают особое место среди различных типов межклеточных соединений, поскольку обеспечивают единственный путь прямого обмена биологически активными молекулами и продуктами метаболизма между цитоплазмами соседних клеток разных тканей. ЩК — это специализированные концентрирующие мембранные каналы, которые опосредуют обмен цитоплазматическими ионами и молекулами между контактирующими клетками [12, 13]. Каналы контактов состоят из гексаметрических ансамблей трансмембранных белков, называемых коннексинами, которые функционально связывают почти все типы клеток позвоночных, включая основные секреторные клетки экзокринной и эндокринной поджелудочной железы [14, 15]. Семейство белков ЩК, коннексинов, включает в себя более 20 белков. В поджелудочной железе грызунов экзокринные ацинарные клетки соединены коннексином 26 и коннексином 32, в то время как инсулинсекретирующие β -клетки панкреатических островков экспрессируют коннексин 36, совершенно другую изоформу коннексина [16]. Соответственно, коннексинзависимая сигнализация по-разному модулирует биосинтез, хранение и высвобождение специфических секреторных продуктов в экзокринной и эндокринной поджелудочной железе.

Особенностью ЩК, содержащих коннексин 36, является то, что они представляют собой соединения для электротонического проведения; примером таких контактов являются электрические синапсы головного мозга млекопитающих [17]. Показано, что клетки поджелудочной железы экспрессируют белок ЩК — коннексин 36, — а содержащие этот белок ЩК формируются между β -клетками островков Лангерганса. Такие ЩК координируют пульсирующую динамику Ca^{2+} и высвобождение инсулина. С учетом того, что одним из механизмов формирования ГСД является именно нарушение синтеза инсулина β -клетками островков Лангерганса, исследование экспрессии коннексина 36 при различных подтипах

¹ Altami Studio 4.0. Руководство пользователя. СПб : Альтами, 2024. 236 с. URL: <https://clck.ru/3N3p4X> (дата обращения: 02.04.2025).

ГСД может помочь в понимании патогенеза нарушений углеводного обмена во время беременности. Такие данные будут свидетельствовать о необходимости разработки стратегии восстановления содержащих коннексин 36 ЩК для восстановления функции островков во время гестации.

Цель работы — исследование распределения коннексина 36 в ткани поджелудочной железы крыс при моделировании различных подтипов ГСД у крыс.

Материалы и методы

Исследование проводилось на белых нелинейных крысах (50 самках и 15 самцах) в возрасте 2–3 мес. массой 180–220 г. Общее количество животных предложено с запасом на случай выведения из эксперимента незабеременевших самок или с нерегулярным циклом, самцов с утраченной репродуктивной функцией, а также животных без развившейся ИР. Животные содержались в виварии факультета «Биоинженерия и ветеринарная медицина» Донского государственного технического университета согласно санитарным правилам и на стандартном рационе.

Животные получали полнорационный гранулированный корм для грызунов (ООО «Лаб-ораторкорм», Россия; рецептура ПК-120), содержащий 5 % жиров, 48 % углеводов и 18 % белков с общей калорийностью 310 ккал на 100 г, а также высокожировую диету (ВЖД), содержащую 40 % жиров по общей калорийности [18].

Животные (самки) случайным образом отбирались в 2 предварительные опытные группы и после определения 2 стабильных эстральных циклов по вагинальным мазкам ссаживались с самцами в одну клетку в соотношении 4 : 1. Далее следовало определение уровня гликемии в венозной крови всех крыс-самок, подтверждение беременности и отсадка беременных самок в отдельную клетку. Подтверждение беременности происходило по наличию сперматозоидов в вагинальных мазках крыс. Беременные самки были разделены на 3 группы:

I (контрольная) — 15 беременных крыс, получавшие однократно физиологический раствор (ООО «Гротекс», Россия) и цитратный буфер (Servicebio, Wuhan Servicebio Technology Co., Ltd., Китай) внутривентрально (в/б) в одинаковых дозах по 5 мл/кг;

II (модель подтипа с дисфункцией β -клеток поджелудочной железы) — 12 беременных крыс на ВЖД, получавшие однократно никотинамид 110 мг/кг в/б и через 15 мин. стрепто-зотоцин 40 мг/кг в/б [19];

III (модель подтипа с ИР) — 12 беременных крыс на ВЖД, получавшие однократно физиологический раствор (ООО «Гротекс», Россия) и цитратный буфер (Servicebio, Wuhan Servicebio Technology Co., Ltd., Китай) в/б в одинаковых дозах по 5 мл/кг.

С 0-го по 19-й день гестации животных проводилась глюкометрия. Для теста на ИР проводились введение инсулина («Хумалог») подкожно в дозе 0,75 МЕ/кг, определение уровня гликемии в венозной крови до введения, через 15, 30, 60 и 120 мин. после введения у всех крыс экспериментальных групп. Для этого у иммобилизованного в рестрейнере животного получены образцы крови из надреза кончика хвоста, которые помещены в тест-полоску; определялась концентрация глюкозы с помощью глюкометра OneTouch Verio Reflect (LifeScan Europe GmbH, Швейцария) [20]. На 19-й день эксперимента животные выводились из него, производились забор и фиксация поджелудочной железы для гистоморфологических исследований. Фрагменты поджелудочной железы были мгновенно фиксированы в 10 %-м растворе нейтрального формалина. Далее материал дегидратировался в спиртах возрастающей концентрации и заливался в парафин. С парафиновых блоков были изго-

товлены срезы толщиной 2 мкм на полуавтоматическом ротационном микротоме HM 340E Thermo Scientific (США).

Иммуногистохимия на парафиновых срезах проводилась в соответствии с методикой Дж. Л. Кумара и Л. Рудбека (*англ.* G.L. Kumar and L. Rudbeck) [21] с использованием первичных кроличьих поликлональных антител к коннексину 36 (Invitrogen, США). В качестве вторичных использовались антитела, конъюгированные с пероксидазой хрена, — RTU EnVision/HRP anti-mouse, anti-rabbit (Dako, Дания). Проявление иммунных комплексов проводилось в свежеприготовленном буферном растворе с субстрат-хромогеном — 3,3-диаминобензидинтетрахлоридом- H_2O_2 . После постановки иммуногистохимической реакции ядра клеток докрашивались гематоксилином. Светооптическое исследование проводилось при помощи микроскопа BX53 (Olympus, Япония) со встроенной камерой E3ISPM09000KPA (Altami, Россия) с разрешением 9 Мп.

Для объективизации результатов иммуногистохимических исследований проводилась морфометрическая оценка микропрепаратов при помощи программного комплекса Altami Studio 4.0 (Altami, Россия)¹. При этом с помощью программных инструментов при $\times 400$ на единице площади микропрепарата, равной $0,064 \text{ мм}^2$ [22], путем подсчета количества иммунных комплексов в поле зрения микроскопа определялись их удельная плотность в ед./ мм^2 [23] и их общая площадь, а при соотношении с общим количеством рассчитывалась их средняя площадь. Полученные показатели определялись для контрольной и опытных групп и подвергались сравнительному анализу.

Полученные результаты обрабатывались методами описательной статистики, проверялись на нормальность по критерию Шапиро — Уилка и представлялись как среднее арифметическое $\pm$ стандартное отклонение при соответствии нормальному закону распределения или медиана с нижним и верхним квартилями в противоположном случае. Статистический анализ межгрупповых различий проводился методом дисперсионного анализа с апостериорным тестом Тьюки для нормально распределенных данных или по критерию Краскела — Уоллиса в противоположном случае. Вычисления производились с помощью программ IBM SPSS Statistics V22.0 (IBM Corp., США) и Microsoft Excel 2016 (Microsoft Corp., США). Различия показателей считались статистически значимыми при уровне вероятности $p < 0,050$ [24].

Результаты

Результаты исследования показали, что под воздействием ВЖД на протяжении 4 недель исследования происходило тенденциозное повышение уровня гликемии у животных, которое было наиболее выражено в группе II, где глюкоза крови увеличилась с $(6,3 \pm 0,2)$ ммоль/л до $(6,8 \pm 0,2)$ ммоль/л. После воспроизведения СД в группе II произошло резкое повышение гликемии, которое на 8-й день гестации достигло $(8,3 \pm 1,7)$ ммоль/л, 14-й — $(9,3 \pm 2,0)$ ммоль/л, 19-й — $(9,4 \pm 2,1)$ ммоль/л. В группе III тенденция повышения гликемии была менее выраженной. Этот показатель увеличивался до 14-го дня гестации, достигнув $(7,0 \pm 0,3)$ ммоль/л, далее недостоверно снизился до $(6,7 \pm 0,3)$ ммоль/л. Аналогичная картина наблюдалась с показателями ИР, которая достигла наибольшей степени в группе II на 19-й день гестации: снижение уровня гликемии через 15 мин. составило 3,2 %, 30 мин. — 19,1 %, 45 мин. — 28,6 %, 60 мин. — 38,1 %, 75 мин. — 47,6 %, 90 мин. — 57,1 %, 105 мин. — 66,7 %, 120 мин. — 76,2 %, 135 мин. — 85,7 %, 150 мин. — 95,2 %, 165 мин. — 104,8 %, 180 мин. — 114,3 %, 195 мин. — 123,8 %, 210 мин. — 133,3 %, 225 мин. — 142,9 %, 240 мин. — 152,4 %, 255 мин. — 161,9 %, 270 мин. — 171,4 %, 285 мин. — 180,9 %, 300 мин. — 190,5 %, 315 мин. — 200,0 %, 330 мин. — 209,5 %, 345 мин. — 219,0 %, 360 мин. — 228,6 %, 375 мин. — 238,1 %, 390 мин. — 247,6 %, 405 мин. — 257,1 %, 420 мин. — 266,7 %, 435 мин. — 276,2 %, 450 мин. — 285,7 %, 465 мин. — 295,2 %, 480 мин. — 304,8 %, 495 мин. — 314,3 %, 510 мин. — 323,8 %, 525 мин. — 333,3 %, 540 мин. — 342,9 %, 555 мин. — 352,4 %, 570 мин. — 361,9 %, 585 мин. — 371,4 %, 600 мин. — 380,9 %, 615 мин. — 390,5 %, 630 мин. — 400,0 %, 645 мин. — 409,5 %, 660 мин. — 419,0 %, 675 мин. — 428,6 %, 690 мин. — 438,1 %, 705 мин. — 447,6 %, 720 мин. — 457,1 %, 735 мин. — 466,7 %, 750 мин. — 476,2 %, 765 мин. — 485,7 %, 780 мин. — 495,2 %, 795 мин. — 504,8 %, 810 мин. — 514,3 %, 825 мин. — 523,8 %, 840 мин. — 533,3 %, 855 мин. — 542,9 %, 870 мин. — 552,4 %, 885 мин. — 561,9 %, 900 мин. — 571,4 %, 915 мин. — 580,9 %, 930 мин. — 590,5 %, 945 мин. — 600,0 %, 960 мин. — 609,5 %, 975 мин. — 619,0 %, 990 мин. — 628,6 %, 1005 мин. — 638,1 %, 1020 мин. — 647,6 %, 1035 мин. — 657,1 %, 1050 мин. — 666,7 %, 1065 мин. — 676,2 %, 1080 мин. — 685,7 %, 1095 мин. — 695,2 %, 1110 мин. — 704,8 %, 1125 мин. — 714,3 %, 1140 мин. — 723,8 %, 1155 мин. — 733,3 %, 1170 мин. — 742,9 %, 1185 мин. — 752,4 %, 1200 мин. — 761,9 %, 1215 мин. — 771,4 %, 1230 мин. — 780,9 %, 1245 мин. — 790,5 %, 1260 мин. — 800,0 %, 1275 мин. — 809,5 %, 1290 мин. — 819,0 %, 1305 мин. — 828,6 %, 1320 мин. — 838,1 %, 1335 мин. — 847,6 %, 1350 мин. — 857,1 %, 1365 мин. — 866,7 %, 1380 мин. — 876,2 %, 1395 мин. — 885,7 %, 1410 мин. — 895,2 %, 1425 мин. — 904,8 %, 1440 мин. — 914,3 %, 1455 мин. — 923,8 %, 1470 мин. — 933,3 %, 1485 мин. — 942,9 %, 1500 мин. — 952,4 %, 1515 мин. — 961,9 %, 1530 мин. — 971,4 %, 1545 мин. — 980,9 %, 1560 мин. — 990,5 %, 1575 мин. — 1000,0 %, 1590 мин. — 1009,5 %, 1605 мин. — 1019,0 %, 1620 мин. — 1028,6 %, 1635 мин. — 1038,1 %, 1650 мин. — 1047,6 %, 1665 мин. — 1057,1 %, 1680 мин. — 1066,7 %, 1695 мин. — 1076,2 %, 1710 мин. — 1085,7 %, 1725 мин. — 1095,2 %, 1740 мин. — 1104,8 %, 1755 мин. — 1114,3 %, 1770 мин. — 1123,8 %, 1785 мин. — 1133,3 %, 1800 мин. — 1142,9 %, 1815 мин. — 1152,4 %, 1830 мин. — 1161,9 %, 1845 мин. — 1171,4 %, 1860 мин. — 1180,9 %, 1875 мин. — 1190,5 %, 1890 мин. — 1200,0 %, 1905 мин. — 1209,5 %, 1920 мин. — 1219,0 %, 1935 мин. — 1228,6 %, 1950 мин. — 1238,1 %, 1965 мин. — 1247,6 %, 1980 мин. — 1257,1 %, 1995 мин. — 1266,7 %, 2010 мин. — 1276,2 %, 2025 мин. — 1285,7 %, 2040 мин. — 1295,2 %, 2055 мин. — 1304,8 %, 2070 мин. — 1314,3 %, 2085 мин. — 1323,8 %, 2100 мин. — 1333,3 %, 2115 мин. — 1342,9 %, 2130 мин. — 1352,4 %, 2145 мин. — 1361,9 %, 2160 мин. — 1371,4 %, 2175 мин. — 1380,9 %, 2190 мин. — 1390,5 %, 2205 мин. — 1400,0 %, 2220 мин. — 1409,5 %, 2235 мин. — 1419,0 %, 2250 мин. — 1428,6 %, 2265 мин. — 1438,1 %, 2280 мин. — 1447,6 %, 2295 мин. — 1457,1 %, 2310 мин. — 1466,7 %, 2325 мин. — 1476,2 %, 2340 мин. — 1485,7 %, 2355 мин. — 1495,2 %, 2370 мин. — 1504,8 %, 2385 мин. — 1514,3 %, 2400 мин. — 1523,8 %, 2415 мин. — 1533,3 %, 2430 мин. — 1542,9 %, 2445 мин. — 1552,4 %, 2460 мин. — 1561,9 %, 2475 мин. — 1571,4 %, 2490 мин. — 1580,9 %, 2505 мин. — 1590,5 %, 2520 мин. — 1600,0 %, 2535 мин. — 1609,5 %, 2550 мин. — 1619,0 %, 2565 мин. — 1628,6 %, 2580 мин. — 1638,1 %, 2595 мин. — 1647,6 %, 2610 мин. — 1657,1 %, 2625 мин. — 1666,7 %, 2640 мин. — 1676,2 %, 2655 мин. — 1685,7 %, 2670 мин. — 1695,2 %, 2685 мин. — 1704,8 %, 2700 мин. — 1714,3 %, 2715 мин. — 1723,8 %, 2730 мин. — 1733,3 %, 2745 мин. — 1742,9 %, 2760 мин. — 1752,4 %, 2775 мин. — 1761,9 %, 2790 мин. — 1771,4 %, 2805 мин. — 1780,9 %, 2820 мин. — 1790,5 %, 2835 мин. — 1800,0 %, 2850 мин. — 1809,5 %, 2865 мин. — 1819,0 %, 2880 мин. — 1828,6 %, 2895 мин. — 1838,1 %, 2910 мин. — 1847,6 %, 2925 мин. — 1857,1 %, 2940 мин. — 1866,7 %, 2955 мин. — 1876,2 %, 2970 мин. — 1885,7 %, 2985 мин. — 1895,2 %, 3000 мин. — 1904,8 %, 3015 мин. — 1914,3 %, 3030 мин. — 1923,8 %, 3045 мин. — 1933,3 %, 3060 мин. — 1942,9 %, 3075 мин. — 1952,4 %, 3090 мин. — 1961,9 %, 3105 мин. — 1971,4 %, 3120 мин. — 1980,9 %, 3135 мин. — 1990,5 %, 3150 мин. — 2000,0 %, 3165 мин. — 2009,5 %, 3180 мин. — 2019,0 %, 3195 мин. — 2028,6 %, 3210 мин. — 2038,1 %, 3225 мин. — 2047,6 %, 3240 мин. — 2057,1 %, 3255 мин. — 2066,7 %, 3270 мин. — 2076,2 %, 3285 мин. — 2085,7 %, 3300 мин. — 2095,2 %, 3315 мин. — 2104,8 %, 3330 мин. — 2114,3 %, 3345 мин. — 2123,8 %, 3360 мин. — 2133,3 %, 3375 мин. — 2142,9 %, 3390 мин. — 2152,4 %, 3405 мин. — 2161,9 %, 3420 мин. — 2171,4 %, 3435 мин. — 2180,9 %, 3450 мин. — 2190,5 %, 3465 мин. — 2200,0 %, 3480 мин. — 2209,5 %, 3495 мин. — 2219,0 %, 3510 мин. — 2228,6 %, 3525 мин. — 2238,1 %, 3540 мин. — 2247,6 %, 3555 мин. — 2257,1 %, 3570 мин. — 2266,7 %, 3585 мин. — 2276,2 %, 3600 мин. — 2285,7 %, 3615 мин. — 2295,2 %, 3630 мин. — 2304,8 %, 3645 мин. — 2314,3 %, 3660 мин. — 2323,8 %, 3675 мин. — 2333,3 %, 3690 мин. — 2342,9 %, 3705 мин. — 2352,4 %, 3720 мин. — 2361,9 %, 3735 мин. — 2371,4 %, 3750 мин. — 2380,9 %, 3765 мин. — 2390,5 %, 3780 мин. — 2400,0 %, 3795 мин. — 2409,5 %, 3810 мин. — 2419,0 %, 3825 мин. — 2428,6 %, 3840 мин. — 2438,1 %, 3855 мин. — 2447,6 %, 3870 мин. — 2457,1 %, 3885 мин. — 2466,7 %, 3900 мин. — 2476,2 %, 3915 мин. — 2485,7 %, 3930 мин. — 2495,2 %, 3945 мин. — 2504,8 %, 3960 мин. — 2514,3 %, 3975 мин. — 2523,8 %, 3990 мин. — 2533,3 %, 4005 мин. — 2542,9 %, 4020 мин. — 2552,4 %, 4035 мин. — 2561,9 %, 4050 мин. — 2571,4 %, 4065 мин. — 2580,9 %, 4080 мин. — 2590,5 %, 4095 мин. — 2600,0 %, 4110 мин. — 2609,5 %, 4125 мин. — 2619,0 %, 4140 мин. — 2628,6 %, 4155 мин. — 2638,1 %, 4170 мин. — 2647,6 %, 4185 мин. — 2657,1 %, 4200 мин. — 2666,7 %, 4215 мин. — 2676,2 %, 4230 мин. — 2685,7 %, 4245 мин. — 2695,2 %, 4260 мин. — 2704,8 %, 4275 мин. — 2714,3 %, 4290 мин. — 2723,8 %, 4305 мин. — 2733,3 %, 4320 мин. — 2742,9 %, 4335 мин. — 2752,4 %, 4350 мин. — 2761,9 %, 4365 мин. — 2771,4 %, 4380 мин. — 2780,9 %, 4395 мин. — 2790,5 %, 4410 мин. — 2800,0 %, 4425 мин. — 2809,5 %, 4440 мин. — 2819,0 %, 4455 мин. — 2828,6 %, 4470 мин. — 2838,1 %, 4485 мин. — 2847,6 %, 4500 мин. — 2857,1 %, 4515 мин. — 2866,7 %, 4530 мин. — 2876,2 %, 4545 мин. — 2885,7 %, 4560 мин. — 2895,2 %, 4575 мин. — 2904,8 %, 4590 мин. — 2914,3 %, 4605 мин. — 2923,8 %, 4620 мин. — 2933,3 %, 4635 мин. — 2942,9 %, 4650 мин. — 2952,4 %, 4665 мин. — 2961,9 %, 4680 мин. — 2971,4 %, 4695 мин. — 2980,9 %, 4710 мин. — 2990,5 %, 4725 мин. — 3000,0 %, 4740 мин. — 3009,5 %, 4755 мин. — 3019,0 %, 4770 мин. — 3028,6 %, 4785 мин. — 3038,1 %, 4800 мин. — 3047,6 %, 4815 мин. — 3057,1 %, 4830 мин. — 3066,7 %, 4845 мин. — 3076,2 %, 4860 мин. — 3085,7 %, 4875 мин. — 3095,2 %, 4890 мин. — 3104,8 %, 4905 мин. — 3114,3 %, 4920 мин. — 3123,8 %, 4935 мин. — 3133,3 %, 4950 мин. — 3142,9 %, 4965 мин. — 3152,4 %, 4980 мин. — 3161,9 %, 4995 мин. — 3171,4 %, 5010 мин. — 3180,9 %, 5025 мин. — 3190,5 %, 5040 мин. — 3200,0 %, 5055 мин. — 3209,5 %, 5070 мин. — 3219,0 %, 5085 мин. — 3228,6 %, 5100 мин. — 3238,1 %, 5115 мин. — 3247,6 %, 5130 мин. — 3257,1 %, 5145 мин. — 3266,7 %, 5160 мин. — 3276,2 %, 5175 мин. — 3285,7 %, 5190 мин. — 3295,2 %, 5205 мин. — 3304,8 %, 5220 мин. — 3314,3 %, 5235 мин. — 3323,8 %, 5250 мин. — 3333,3 %, 5265 мин. — 3342,9 %, 5280 мин. — 3352,4 %, 5295 мин. — 3361,9 %, 5310 мин. — 3371,4 %, 5325 мин. — 3380,9 %, 5340 мин. — 3390,5 %, 5355 мин. — 3400,0 %, 5370 мин. — 3409,5 %, 5385 мин. — 3419,0 %, 5400 мин. — 3428,6 %, 5415 мин. — 3438,1 %, 5430 мин. — 3447,6 %, 5445 мин. — 3457,1 %, 5460 мин. — 3466,7 %, 5475 мин. — 3476,2 %, 5490 мин. — 3485,7 %, 5505 мин. — 3495,2 %, 5520 мин. — 3504,8 %, 5535 мин. — 3514,3 %, 5550 мин. — 3523,8 %, 5565 мин. — 3533,3 %, 5580 мин. — 3542,9 %, 5595 мин. — 3552,4 %, 5610 мин. — 3561,9 %, 5625 мин. — 3571,4 %, 5640 мин. — 3580,9 %, 5655 мин. — 3590,5 %, 5670 мин. — 3600,0 %, 5685 мин. — 3609,5 %, 5700 мин. — 3619,0 %, 5715 мин. — 3628,6 %, 5730 мин. — 3638,1 %, 5745 мин. — 3647,6 %, 5760 мин. — 3657,1 %, 5775 мин. — 3666,7 %, 5790 мин. — 3676,2 %, 5805 мин. — 3685,7 %, 5820 мин. — 3695,2 %, 5835 мин. — 3704,8 %, 5850 мин. — 3714,3 %, 5865 мин. — 3723,8 %, 5880 мин. — 3733,3 %, 5895 мин. — 3742,9 %, 5910 мин. — 3752,4 %, 5925 мин. — 3761,9 %, 5940 мин. — 3771,4 %, 5955 мин. — 3780,9 %, 5970 мин. — 3790,5 %, 5985 мин. — 3800,0 %, 6000 мин. — 3809,5 %, 6015 мин. — 3819,0 %, 6030 мин. — 3828,6 %, 6045 мин. — 3838,1 %, 6060 мин. — 3847,6 %, 6075 мин. — 3857,1 %, 6090 мин. — 3866,7 %, 6105 мин. — 3876,2 %, 6120 мин. — 3885,7 %, 6135 мин. — 3895,2 %, 6150 мин. — 3904,8 %, 6165 мин. — 3914,3 %, 6180 мин. — 3923,8 %, 6195 мин. — 3933,3 %, 6210 мин. — 3942,9 %, 6225 мин. — 3952,4 %, 6240 мин. — 3961,9 %, 6255 мин. — 3971,4 %, 6270 мин. — 3980,9 %, 6285 мин. — 3990,5 %, 6300 мин. — 4000,0 %, 6315 мин. — 4009,5 %, 6330 мин. — 4019,0 %, 6345 мин. — 4028,6 %, 6360 мин. — 4038,1 %, 6375 мин. — 4047,6 %, 6390 мин. — 4057,1 %, 6405 мин. — 4066,7 %, 6420 мин. — 4076,2 %, 6435 мин. — 4085,7 %, 6450 мин. — 4095,2 %, 6465 мин. — 4104,8 %, 6480 мин. — 4114,3 %, 6495 мин. — 4123,8 %, 6510 мин. — 4133,3 %, 6525 мин. — 4142,9 %, 6540 мин. — 4152,4 %, 6555 мин. — 4161,9 %, 6570 мин. — 4171,4 %, 6585 мин. — 4180,9 %, 6600 мин. — 4190,5 %, 6615 мин. — 4200,0 %, 6630 мин. — 4209,5 %, 6645 мин. — 4219,0 %, 6660 мин. — 4228,6 %, 6675 мин. — 4238,1 %, 6690 мин. — 4247,6 %, 6705 мин. — 4257,1 %, 6720 мин. — 4266,7 %, 6735 мин. — 4276,2 %, 6750 мин. — 4285,7 %, 6765 мин. — 4295,2 %, 6780 мин. — 4304,8 %, 6795 мин. — 4314,3 %, 6810 мин. — 4323,8 %, 6825 мин. — 4333,3 %, 6840 мин. — 4342,9 %, 6855 мин. — 4352,4 %, 6870 мин. — 4361,9 %, 6885 мин. — 4371,4 %, 6900 мин. — 4380,9 %, 6915 мин. — 4390,5 %, 6930 мин. — 4400,0 %, 6945 мин. — 4409,5 %, 6960 мин. — 4419,0 %, 6975 мин. — 4428,6 %, 6990 мин. — 4438,1 %, 7005 мин. — 4447,6 %, 7020 мин. — 4457,1 %, 7035 мин. — 4466,7 %, 7050 мин. — 4476,2 %, 7065 мин. — 4485,7 %, 7080 мин. — 4495,2 %, 7095 мин. — 4504,8 %, 7110 мин. — 4514,3 %, 7125 мин. — 4523,8 %, 7140 мин. — 4533,3 %, 7155 мин. — 4542,9 %, 7170 мин. — 4552,4 %, 7185 мин. — 4561,9 %, 7200 мин. — 4571,4 %, 7215 мин. — 4580,9 %, 7230 мин. — 4590,5 %, 7245 мин. — 4600,0 %, 7260 мин. — 4609,5 %, 7275 мин. — 4619,0 %, 7290 мин. — 4628,6 %, 7305 мин. — 4638,1 %, 7320 мин. — 4647,6 %, 7335 мин. — 4657,1 %, 7350 мин. — 4666,7 %, 7365 мин. — 4676,2 %, 7380 мин. — 4685,7 %, 7395 мин. — 4695,2 %, 7410 мин. — 4704,8 %, 7425 мин. — 4714,3 %, 7440 мин. — 4723,8 %, 7455 мин. — 4733,3 %, 7470 мин. — 4742,9 %, 7485 мин. — 4752,4 %, 7500 мин. — 4761,9 %, 7515 мин. — 4771,4 %, 7530 мин. — 4780,9 %, 7545 мин. — 4790,5 %, 7560 мин. — 4800,0 %, 7575 мин. — 4809,5 %, 7590 мин. — 4819,0 %, 7605 мин. — 4828,6 %, 7620 мин. — 4838,1 %, 7635 мин. — 4847,6 %, 7650 мин. — 4857,1 %, 7665 мин. — 4866,7 %, 7680 мин. — 4876,2 %, 7695 мин. — 4885,7 %, 7710 мин. — 4895,2 %, 7725 мин. — 4904,8 %, 7740 мин. — 4914,3 %, 7755 мин. — 4923,8 %, 7770 мин. — 4933,3 %, 7785 мин. — 4942,9 %, 7800 мин. — 4952,4 %, 7815 мин. — 4961,9 %, 7830 мин. — 4971,4 %, 7845 мин. — 4980,9 %, 7860 мин. — 4990,5 %, 7875 мин. — 5000,0 %, 7890 мин. — 5009,5 %, 7905 мин. — 5019,0 %, 7920 мин. — 5028,6 %, 7935 мин. — 5038,1 %, 7950 мин. — 5047,6 %, 7965 мин. — 5057,1 %, 7980 мин. — 5066,7 %, 7995 мин. — 5076,2 %, 8010 мин. — 5085,7 %, 8025 мин. — 5095,2 %, 8040 мин. — 5104,8 %, 8055 мин. — 5114,3 %, 8070 мин. — 5123,8 %, 8085 мин. — 5133,3 %, 8100 мин. — 5142,9 %, 8115 мин. — 5152,4 %, 8130 мин. — 5161,9 %, 8145 мин. — 5171,4 %, 8160 мин. — 5180,9 %, 8175 мин. — 5190,5 %, 8190 мин. — 5200,0 %, 8205 мин. — 5209,5 %, 8220 мин. — 5219,0 %, 8235 мин. — 5228,6 %, 8250 мин. — 5238,1 %, 8265 мин. — 5247,6 %, 8280 мин. — 5257,1 %, 8295 мин. — 5266,7 %, 8310 мин. — 5276,2 %, 8325 мин. — 5285,7 %, 8340 мин. — 5295,2 %, 8355 мин. — 5304,8 %, 8370 мин. — 5314,3 %, 8385 мин. — 5323,8 %, 8400 мин. — 5333,3 %, 8415 мин. — 5342,9 %, 8430 мин. — 5352,4 %, 8445 мин. — 5361,9 %, 8460 мин. — 5371,4 %, 8475 мин. — 5380,9 %, 8490 мин. — 5390,5 %, 8505 мин. — 5400,0 %, 8520 мин. — 5409,5 %, 8535 мин. — 5419,0 %, 8550 мин. — 5428,6 %, 8565 мин. — 5438,1 %, 8580 мин. — 5447,6 %, 8595 мин. — 5457,1 %, 8610 мин. — 5466,7 %, 8625 мин. — 5476,2 %, 8640 мин. — 5485,7 %, 8655 мин. — 5495,2 %, 8670 мин. — 5504,8 %, 8685 мин. — 5514,3 %, 8700 мин. — 5523,8 %, 8715 мин. — 5533,3 %, 8730 мин. — 5542,9 %, 8745 мин. — 5552,4 %, 8760 мин. — 5561,9 %, 8775 мин. — 5571,4 %, 8790 мин. — 5580,9 %, 8805 мин. — 5590,5 %, 8820 мин. — 5600,0 %, 8835 мин. — 5609,5 %, 8850 мин. — 5619,0 %, 8865 мин. — 5628,6 %, 8880 мин. — 5638,1 %, 8895 мин. — 5647,6 %, 8910 мин. — 5657,1 %, 8925 мин. — 5666,7 %, 8940 мин. — 5676,2 %, 8955 мин. — 5685,7 %, 8970 мин. — 5695,2 %, 8985 мин. — 5704,8 %, 9000 мин. — 5714,3 %, 9015 мин. — 5723,8 %, 9030 мин. — 5733,3 %, 9045 мин. — 5742,9 %, 9060 мин. — 5752,4 %, 9075 мин. — 5761,9 %, 9090 мин. — 5771,4 %, 9105 мин. — 5780,9 %, 9120 мин. — 5790,5 %, 9135 мин. — 5800,0 %, 9150 мин. — 5809,5 %, 9165 мин. — 5819,0 %, 9180 мин. — 5828,6 %, 9195 мин. — 5838,1 %, 9210 мин. — 5847,6 %, 9225 мин. — 5857,1 %, 9240 мин. — 5866,7 %, 9255 мин. — 5876,2 %, 9270 мин. — 5885,7 %, 9285 мин. — 5895,2 %, 9300 мин. — 5904,8 %, 9315 мин. — 5914,3 %, 9330 мин. — 5923,8 %, 9345 мин. — 5933,3 %, 9360 мин. — 5942,9 %, 9375 мин. — 5952,4 %, 9390 мин. — 5961,9 %, 9405 мин. — 5971,4 %, 9420 мин. — 5980,9 %, 9435 мин. — 5990,5 %, 9450 мин. — 6000,0 %, 9465 мин. — 6009,5 %, 9480 мин. — 6019,0 %, 9495 мин. — 6028,6 %, 9510 мин. — 6038,1 %, 9525 мин. — 6047,6 %, 9540 мин. — 6057,1 %, 9555 мин. — 6066,7 %, 9570 мин. — 6076,2 %, 9585 мин. — 6085,7 %, 9600 мин. — 6095,2 %, 9615 мин. — 6104,8 %, 9630 мин. — 6114,3 %, 9645 мин. — 6123,8 %, 9660 мин. — 6133,3 %, 9675 мин. — 6142,9 %, 9690 мин. — 6152,4 %, 9705 мин. — 6161,9 %, 9720 мин. — 6171,4 %, 9735 мин. — 6180,9 %, 9750 мин. — 6190,5 %, 9765 мин. — 6200,0 %, 9780 мин. — 6209,5 %, 9795 мин. — 6219,0 %, 9810 мин. — 6228,6 %, 9825 мин. — 6238,1 %, 9840 мин. — 6247,6 %, 9855 мин. — 6257,1 %, 9870 мин. — 6266,7 %, 9885 мин. — 6276,2 %, 9900 мин. — 6285,7 %, 9915 мин. — 6295,2 %, 9930 мин. — 6304,8 %, 9945 мин. — 6314,3 %, 9960 мин. — 6323,8 %, 9975 мин. — 6333,3 %, 9990 мин. — 6342,9 %, 10005 мин. — 6352,4 %, 10020 мин. — 6361,9 %, 10035 мин. — 6371,4 %, 10050 мин. — 6380,9 %, 10065 мин. — 6390,5 %, 10080 мин. — 6400,0 %, 10095 мин. — 6409,5 %, 10110 мин. — 6419,0 %, 10125 мин. — 6428,6 %, 10140 мин. — 6438,1 %, 10155 мин. — 6447,6 %, 10170 мин. — 6457,1 %, 10185 мин. — 6466,7 %, 10200 мин. — 6476,2 %, 10215 мин. — 6485,7 %, 10230 мин. — 6495,2 %, 10245 мин. — 6504,8 %, 10260 мин. — 6514,3 %, 10275 мин. — 6523,8 %, 10290 мин. — 6533,3 %, 10305 мин. — 6542,9 %, 10320 мин. — 6552,4 %, 10335 мин. — 6561,9 %, 10350 мин. — 6571,4 %, 10365 мин. — 6580,9 %, 10380 мин. — 6590,5 %, 10395 мин. — 6600,0 %, 10410 мин. — 6609,5 %, 10425 мин. — 6619,0 %, 10440 мин. — 6628,6 %, 10455 мин. — 6638,1 %, 10470 мин. — 6647,6 %, 10485 мин. — 6657,1 %, 10500 мин. — 6666,7 %, 10515 мин. — 6676,2 %, 10530 мин. — 6685,7 %, 10545 мин. — 6695,2 %, 1

60 мин. — 20,2 %, 120 мин. — 26,6 %, что говорит о развитии значительной ИР. Это свидетельствует о развитии СД как в группе II, так и III. При этом в группе II СД имел более выраженный характер течения и сопровождался не только достоверным развитием гипергликемии, но и формированием ИР, что позволяет отнести его именно к СД 2-го типа [18, 19]. В группе III под воздействием ВЖД на фоне беременности также формируется СД, но с менее выраженным уровнем гипергликемии и меньшей ИР.

При проведении серий иммуногистохимических окрашиваний контрольной и опытных групп животных островки Лангерганса определялись в виде округлых структур с более бледно окрашенными, по сравнению с окружающими клетками, ядрами. По периферии островка обозначаются цепочки α -клеток, внутренняя часть островка содержит главным образом располагающиеся вдоль капилляров β -клетки с округлыми крупными ядрами, одним-двумя ядрышками. В контрольной группе животных локализация белка коннексина 36 выявлена в виде положительной специфической реакции как в экзокринной, так и эндокринной частях поджелудочной железы. На уровне островков Лангерганса иммунные комплексы обнаружены в виде четких ярких групп точек и полосок, пунктирных линий между отдельными группами клеток в срединной части структуры (рис. 1). Помимо этого, наблюдалась слабовыраженная гомогенная реакция в цитоплазме островковых клеток.

При исследовании образцов поджелудочной железы опытной группы животных, получавших ВЖД (группа III), отмечено резкое снижение уровня экспрессии коннексина 36. Уменьшается локализация коннексина 36 в виде точек и полосок. Реакция выражается в виде гомогенной цитоплазматической слабовыраженной реакции клеток островка. При большем увеличении отмечена положительная мембранная реакция в виде тончайших полосок и единичных бледно-коричневых мелких гранул между клетками островка препаратов этой группы животных (рис. 2). Такая картина свидетельствует о слабо выраженной, по сравнению с контролем, функциональной реализации коннексина 36 в виде образования щелевых контактов.

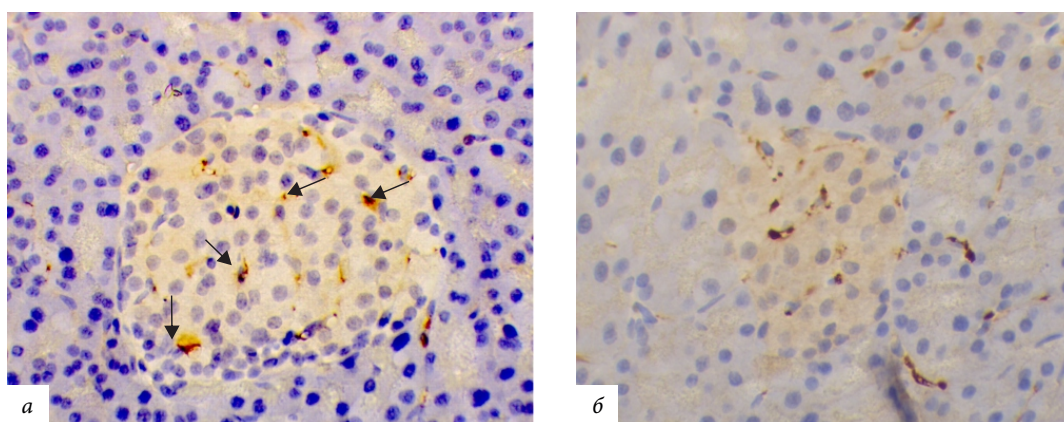


Рис. 1. Экспрессия коннексина 36 в эндокринной части поджелудочной железы контрольной группы животных (иммуногистохимия с антителами к коннексину 36, ядра докрашены гематоксилином Майера; $\times 400$):

- а — формирование ЩК между β -клетками островков Лангерганса (стрелки);
- б — локализация иммунных комплексов на мембранах клеток внутри островка

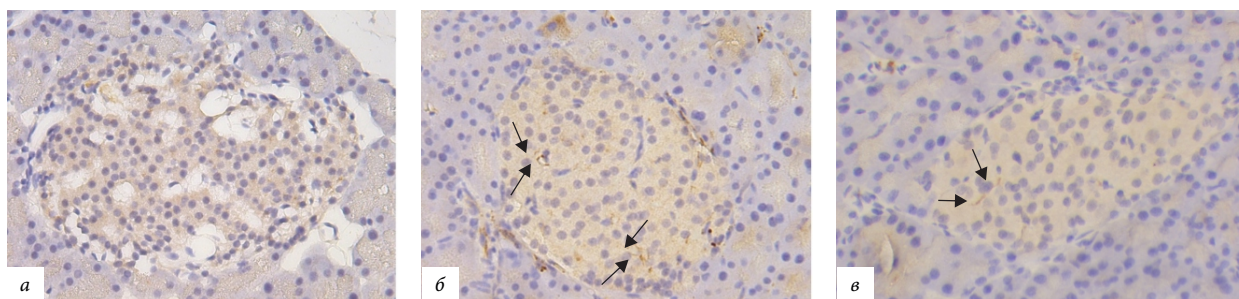


Рис. 2. Экспрессия коннексина 36 в эндокринной части поджелудочной железы группы животных, получавших ВЖД (группу III) (иммуногистохимия с антителами к коннексину 36, ядра докрашены гематоксилином Майера; $\times 400$):

а — бледная гомогенная цитоплазматическая реакция внутри островка;
б, в — мембранная локализация коннексина 36 на клетках островков

В образцах опытной группы животных, получавших ВЖД, никотинамид и стрептозоцин (группа II), отмечено, что в эндокринных участках железы мембранная реакция между клетками была отрицательной. В цитоплазме островковых клеток определена слабая гомогенная цитоплазматическая реакция в виде бледно-коричневого окрашивания (рис. 3).

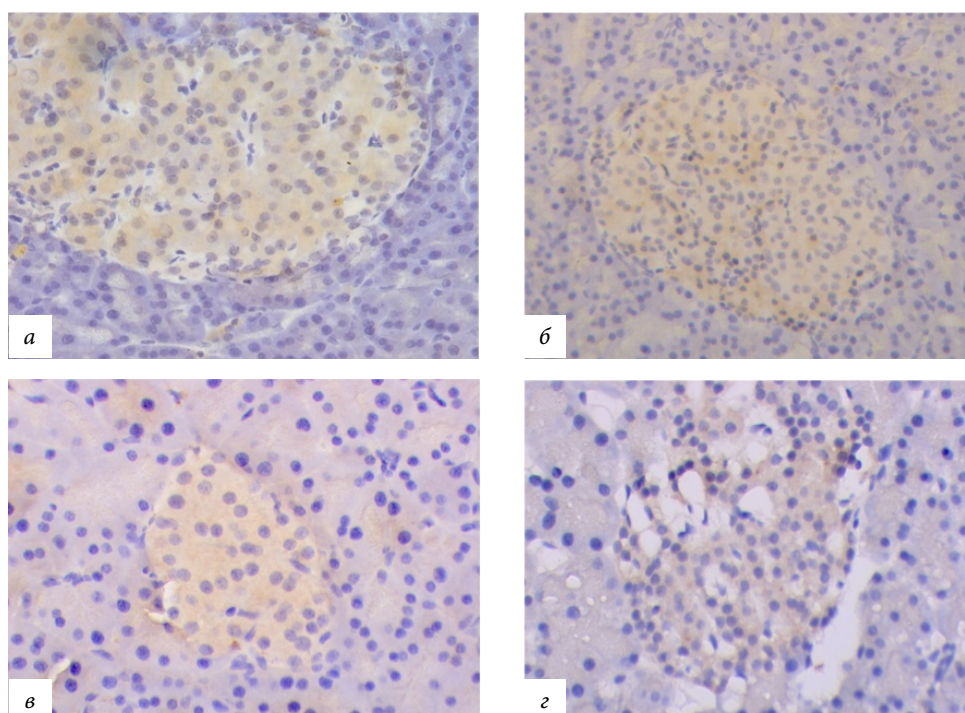


Рис. 3. Слабовыраженная гомогенная цитоплазматическая реакция коннексина 36 в островках Лангерганса в опытной группе животных с применением ВЖД, никотинамида и стрептозоцина (группа II) (иммуногистохимия с антителами к коннексину 36, ядра докрашены гематоксилином Майера; $\times 400$ (*а, в, г*), $\times 200$ (*б*)):

а — цитоплазматическая локализация белка в клетках крупного вытянутого островка; *б* — внутри островка располагаются цепочки клеток (как в центральной части, так и на периферии), цитоплазма которых содержит равномерное распределение коннексина 36; *в* — гомогенная цитоплазматическая реакция внутри небольшого округлого островка; *г* — слабовыраженная цитоплазматическая реакция во всех клетках островка

Морфометрические исследования производилось при помощи программного комплекса Altami Studio 4.0 (Altami, Россия). Рассчитывались показатели удельной плотности и средней площади иммунных комплексов в поле зрения микроскопа при $\times 400$ на единице площади микропрепарата, равной $0,064 \text{ мм}^2$. Подсчитано количество иммунных комплексов в контрольной и опытной группах. По результатам измерений получены следующие данные: удельная плотность иммунных комплексов в образцах контрольной группы животных составила $(502,0 \pm 62,8) \text{ ед./мм}^2$; группе III — $(375,0 \pm 33,8) \text{ ед./мм}^2$; группе II — $(218,8 \pm 25,2) \text{ ед./мм}^2$. Далее подсчитана общая площадь иммунных комплексов в поле зрения и получены следующие значения: в контрольной группе — $(1078,5 \pm 178,8) \text{ мкм}^2$; группе III — $(339,3 \pm 59,1) \text{ мкм}^2$; группе II — $(155,2 \pm 27,5) \text{ мкм}^2$. Это позволило рассчитать среднюю площадь иммунных комплексов в поле зрения, которая в контрольной группе животных составила $(33,6 \pm 2,5) \text{ мкм}^2$; группе III — $(14,1 \pm 1,7) \text{ мкм}^2$; группе II — $(11,0 \pm 1,1) \text{ мкм}^2$. При этом отмечено достоверное ($p < 0,050$) снижение удельной плотности иммунных комплексов в группе II на 42 % по сравнению с показателями животных группы III, а также тенденциозное уменьшение ($p > 0,050$) на 22 % средней площади иммунных комплексов. Результаты морфометрических исследований показали достоверное снижение как удельной плотности иммунных комплексов, так и их средней площади в группах III и II ($p < 0,050$), что соответствует уменьшению уровня экспрессии белка коннексина 36 в микропрепаратах животных соответствующих моделей ГСД.

Обсуждение

Инсулинпродуцирующие β -клетки островков Лангерганса лабораторных грызунов соединены между собой ЩК, состоящими из белков коннексина 36 и коннексина 30.2 [25]. Белок коннексин 36 концентрируется в липидных рафтовых доменах β -клеток — участках плазматических мембран, обогащенных гликофинголипидами и холестерином. Далее именно эта изоформа коннексина способна образовывать такие структуры, как коннексоны, или полуканалы, при состыковке которых формируется ЩК, или нексус. В связи с этим различные изоформы коннексина по-разному распределены в экзокринной и эндокринной частях поджелудочной железы человека. В нашем исследовании показано, что в модели подтипа ГСД с преобладающей дисфункцией β -клеток поджелудочной железы наблюдается достоверное снижение уровня экспрессии коннексина 36 (уменьшение общей и средней площади иммунных комплексов), а также исчезает характерная локализация этого белка в виде точек и черточек. Подобная картина соответствует резкому сокращению межклеточной сообщаемости посредством щелевых контактов и нарушению синхронизации электрохимического межклеточного обмена кальцием и инсулином. Таким образом, потеря белка коннексина 36 десинхронизирует β -клетки островков Лангерганса, приводя к секреторным дефектам, напоминающим те, что наблюдаются клинически при диабете 2-го типа. Потеря функционального коннексина 36 у животных способствует межклеточной десинхронизации индуцированных глюкозой кальциевых колебаний, что связано с потерей нормальной пульсативности выброса инсулина, повышенным базальным выбросом гормона, нулевым увеличением выброса инсулина в ответ на физиологически значимые концентрации глюкозы и замедленным возвращением β -клеток островков Лангерганса к базальной секреции по окончании такой стимуляции [26–28]. Более того, по литературным данным, подобные нарушения проницаемости коннексина 36 ЩК и динамика Ca^{2+} были выявлены в островках Лангерганса человеческих доноров СД 2-го типа, мышей db/db, а также островках, обра-

ботанных провоспалительными цитокинами (фактором некроза опухоли α , интерлейкином- 1β , интерфероном- α) или свободными жирными кислотами (пальмитатом) [29].

Проведенные ранее транскриптомные исследования показали, что уровни матричной рибонуклеиновой кислоты коннексина 36 коррелируют с экспрессией гена инсулина в островках как контрольной группы, так и больных диабетом 2-го типа [17]. Нарушение межклеточных соединений посредством ЩК могут провоцировать такие факторы, как провоспалительные цитокины, свободные жирные кислоты, сопровождающие процесс развития диабета. Также нарушение экспрессии коннексина 36 может быть связано с фосфорилированием С-концевого сайта коннексина 36 [30].

Восстановление или усиление связи ЩК, содержащих коннексин 36, может улучшить функцию островков при диабете. Одним из вариантов терапии в литературе рассматривается модуляция ЩК с использованием сверхэкспрессии коннексина 36 или фармакологической активации с помощью модафинила. Также обсуждается разработка пептидного миметика для регуляторного сайта коннексина 36, предназначенного для борьбы с его фосфорилированием [31].

Выявленное в нашем исследовании достоверное снижение коннексина 36 в качестве функционального белка ЩК при ВЖД в модели подтипа ГСД с преобладающей ИР может свидетельствовать о тесной связи такого снижения с динамикой и регуляцией высвобождения инсулина, а также о том, что нарушения этой связи могут привести к нарушениям углеводного обмена.

При сравнении уровня экспрессии коннексина 36 в двух моделях показано достоверное снижение удельной плотности иммунных комплексов в модели подтипа с дисфункцией β -клеток поджелудочной железы на 42 % по сравнению с таковым показателем у подтипа с преобладающей ИР. Также выявлено тенденциозное уменьшение средней площади иммунных комплексов на 22 % в подтипе с дисфункцией β -клеток по сравнению с подтипом с преобладанием ИР. Полученные результаты могут свидетельствовать о более выраженном патофизиологическом нарушении электротонической сообщаемости при моделировании подтипа ГСД с дисфункцией β -клеток поджелудочной железы у крыс.

Заключение

Белок коннексин 36 является нативным белком мембраны β -клеток островков Лангерганса, который, вероятно, играет важную роль в контроле выработки и секреции инсулина. Проведенное иммуногистохимическое исследование распределения коннексина 36 свидетельствует о достоверном снижении уровня этого белка и количества ЩК как в модели подтипа ГСД с преобладающей ИР, так и — в большей степени — в модели ГСД с дисфункцией β -клеток поджелудочной железы. Дальнейшие электрофизиологические исследования на переживающих срезах могут подтвердить предполагаемое нами снижение электротонической сообщаемости между β -клетками поджелудочной железы в различных моделях ГСД. Наши результаты позволяют предположить, что редукция коннексина 36 является важным элементом патогенеза ГСД. Сокращение ЩК может сопровождаться процессом нарушения углеводного обмена во время беременности. Проведение дальнейших исследований будет способствовать пониманию роли взаимодействия ЩК в функции островков и пониманию их биологии. Одним из перспективных подходов может быть компьютерное моделирование островков и изменений в системе ЩК, что будет прогнозировать изменение функционирования эндокринной части поджелудочной железы при нарушениях углево-

дного обмена. Также для разработки инструментов регуляции коннексина 36 необходимо проведение дальнейших молекулярно-биологических исследований белков, взаимодействующих с коннексином 36, таких как молекулы адгезии и актиновый цитоскелет, а также молекулы транспортировки коннексина 36 с помощью циклического аденозинмонофосфата, протеинкиназы А, глюкозы и др.

Список источников | References

1. Volkova NI, Davidenko IY, Degtiareva YS, Sorokina YA, Avrutskaya VV. Clinical characteristics of patients with different subtypes of gestational diabetes mellitus: Research results. *Diabetes Mellitus*. 2024;27(4):336–346. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.14341/DM13105>.
2. Volkova NI, Davidenko IYu, Degtyareva YuS. Gestational diabetes mellitus. *Obstetrics and Gynecology*. 2021;(9):174–179. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.18565/aig.2021.9.174-179>.
3. Benhalima K, Van Crombrugge P, Moyson C, Verhaeghe J, Vandeginste S, Verlaenen H, et al. Characteristics and pregnancy outcomes across gestational diabetes mellitus subtypes based on insulin resistance. *Diabetologia*. 2019;62:2118–2128. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00125-019-4961-7>.
4. Powe CE, Allard C, Battista MC, Doyon M, Bouchard L, Ecker JL, et al. Heterogeneous contribution of insulin sensitivity and secretion defects to gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2016;39(6):1052–1055. DOI: <https://doi.org/10.2337/dc15-2672>.
5. Liu Y, Hou W, Meng X, Zhao W, Pan J, Tang J, et al. Heterogeneity of insulin resistance and beta cell dysfunction in gestational diabetes mellitus: A prospective cohort study of perinatal outcomes. *Journal of Translational Medicine*. 2018;16(1):289. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12967-018-1666-5>.
6. Feghali M, Atlasi J, Ribar E, Caritis S, Simhan H, Scifres C. Subtypes of gestational diabetes mellitus based on mechanisms of hyperglycemia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2019;220(1 Suppl):S66. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2018.11.091>.
7. Layton J, Powe C, Allard C, Battista M, Doyon M, Bouchard L, et al. Maternal lipid profile differs by gestational diabetes physiologic subtype. *Metabolism*. 2019;91:39–42. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.11.008>.
8. Selen DJ, Edelson PK, James K, Corelli K, Hivert MF, Meigs JB, et al. Physiological subtypes of gestational glucose intolerance and risk of adverse pregnancy outcomes. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. 2022;226(2):241.e1–241.e14. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2021.08.016>.
9. Retnakaran R, Ye C, Hanley AJ, Connelly PW, Sermer M, Zinman B. Subtypes of gestational diabetes and future risk of pre-diabetes or diabetes. *eClinicalMedicine*. 2021;40:101087. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2021.101087>.
10. Wen L, Chen Y, Liu T, Wang Y, Baker PN, Qi H, et al. Different subtypes of gestational diabetes mellitus are associated with distinct perinatal outcomes in twin pregnancies. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2023;204:110920. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2023.110920>.
11. Volkova NI, Davidenko IY, Degtiareva YS. Treatment options for various subtypes of gestational diabetes mellitus. *Pharmateca*. 2024;(2):105–110. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.18565/pharmateca.2024.2.105-110>.
12. González-Nieto D, Gómez-Hernández JM, Larrosa B, Gutiérrez C, Muñoz MD, Fasciani I, et al. Regulation of neuronal connexin-36 channels by pH. *PNAS*. 2008;105(44):17169–17174. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0804189105>.
13. Saez JC, Berthoud VM, Branes MC, Martinez AD, Beyer EC. Plasma membrane channels formed by connexins: Their regulation and functions. *Physiological Reviews*. 2003;83(4):1359–1400. DOI: <https://doi.org/10.1152/physrev.00007.2003>.
14. Söhl G, Willecke K. Gap junctions and the connexin protein family. *Cardiovascular Research*. 2004;62(2):228–232. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2003.11.013>.
15. Michon L, Nlend Nlend R, Bavamian S, Bischoff L, Boucard N, Caille D, et al. Involvement of gap junctional communication in secretion. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2005;1719(1–2):82–101. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2005.11.003>.
16. Serre-Beinier V, Le Gurun S, Belluardo N, Trovato-Salinaro A, Charollais A, Haefliger JA, et al. Cx36 preferentially connects beta-cells within pancreatic islets. *Diabetes*. 2000;49(5):727–734. DOI: <https://doi.org/10.2337/diabetes.49.5.727>.
17. Serre-Beinier V, Bosco D, Zulianello L, Charollais A, Caille D, Charpantier E, et al. Cx36 makes channels coupling human pancreatic beta-cells, and correlates with insulin expression. *Human Molecular Genetics*. 2009;18(3):428–439. DOI: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddn370>.
18. Bayrasheva VK, Babenko AY, Dmitriev YuV, Bairamov AA, Chefu SG, Shatalov IS, et al. A novel model of type 2 diabetes and diabetic nephropathy in rats. *Translational Medicine*. 2016;3(4):44–55. EDN: <https://www.elibrary.ru/YMJGTJ>.

19. Gheibi S, Kashfi K, Ghasemi A. A practical guide for induction of type-2 diabetes in rat: Incorporating a high-fat diet and streptozotocin. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017;95:605–613. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.08.098>.
20. Cruz PL, Moraes-Silva IC, Ribeiro AA, Machi JF, de Melo MDT, dos Santos F, et al. Nicotinamide attenuates streptozotocin-induced diabetes complications and increases survival rate in rats: Role of autonomic nervous system. *BMC Endocrine Disorders*. 2021;21(1):133. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12902-021-00795-6>.
21. Kumar GL, Rudbeck L (eds.). *Education guide — immunohistochemical staining methods*. 5th ed. Carpenteria: Dako North America; 2009. VIII, 172 p.
22. Renne SL. How to measure your microscope's HPF. A critical guide for residents. *Pathologica*. 2023; 115(6):302–307. DOI: <https://doi.org/10.32074/1591-951X-900>.
23. Hiżewska L, Osiak-Wicha C, Tomaszewska E, Muszyński S, Dobrowolski P, Andres K, et al. Morphometric analysis of developmental alterations in the small intestine of goose. *Animals*. 2023;13(20):3292. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani13203292>.
24. Pagano M, Gauvreau K. Principles of biostatistics. 2nd ed. New York: Chapman and Hall/CRC; 2018. 584 p. DOI: <https://doi.org/10.1201/9780429489624>.
25. Pérez-Armendariz EM. Connexin 36, a key element in pancreatic beta cell function. *Neuropharmacology*. 2013;75:557–566. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.08.015>.
26. Ravier MA, Güldenagel M, Charollais A, Gjinovci A, Caille D, Söhl G, et al. Loss of connexin36 channels alters beta-cell coupling, islet synchronization of glucose-induced Ca²⁺ and insulin oscillations, and basal insulin release. *Diabetes*. 2005;54(6):1798–1807. DOI: <https://doi.org/10.2337/diabetes.54.6.1798>.
27. Wellershaus K, Degen J, Deuchars J, Theis M, Charollais A, Caille D, et al. A new conditional mouse mutant reveals specific expression and functions of connexin36 in neurons and pancreatic beta-cells. *Experimental Cell Research*. 2008;314(5):997–1012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2007.12.024>.
28. Speier S, Gjinovci A, Charollais A, Meda P, Rupnik M. Cx36-mediated coupling reduces beta-cell heterogeneity, confines the stimulating glucose concentration range, and affects insulin release kinetics. *Diabetes*. 2007;56(4):1078–1086. DOI: <https://doi.org/10.2337/db06-0232>.
29. St Clair JR, Westacott MJ, Miranda J, Farnsworth NL, Kravets V, Schleicher WE, et al. Restoring connexin-36 function in diabetogenic environments precludes mouse and human islet dysfunction. *The Journal of Physiology*. 2023;601(18):4053–4072. DOI: <https://doi.org/10.1113/JP282114>.
30. Tetenborg S, Wang HY, Nemitz L, Depping A, Espejo AB, Aseervatham J, et al. Phosphorylation of Connexin36 near the C-terminus switches binding affinities for PDZ-domain and 14–3–3 proteins in vitro. *Scientific Reports*. 2020;10(1):18378. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75375-0>.
31. Peng H, Zhang K, Miao J, Yang Y, Xu S, Wu T, et al. SnRNA-Seq of pancreas revealed the dysfunction of endocrine and exocrine cells in transgenic pigs with prediabetes. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(9):7701. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24097701>.

Информация об авторах

Наталья Ивановна Волкова — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой внутренних болезней № 3, Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия.

E-mail: volkova_n_i@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4874-7835>

Илья Юрьевич Давиденко — кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры внутренних болезней № 3, Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия.

E-mail: davidenko.iu@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8690-681X>

Сергей Николаевич Головин — старший преподаватель кафедры «Биоинженерия», факультет «Биоинженерия и ветеринарная медицина», Донской государственной технической университет, Ростов-на-Дону, Россия.

E-mail: labbiobez@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1929-6345>

Сергей Константинович Шебеко — доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой «Биотехнические и медицинские системы и технологии», факультет «Биоинженерия и ветеринарная медицина», Донской государственной технической университет, Ростов-на-Дону, Россия.

E-mail: shebeko_sk@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9350-7588>

Евгения Юрьевна Кириченко — доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры «Биоинженерия», факультет «Биоинженерия и ветеринарная медицина», Донской государственной технической университет, Ростов-на-Дону, Россия.

E-mail: kiriche.evgeniya@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4703-1616>

Information about the authors

Natalya I. Volkova — Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Head of the Department of Internal Medicine No. 3, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia.

E-mail: volkova_n_i@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4874-7835>

Ilya Yu. Davidenko [✉] — Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor, Associate Professor of the Department of Internal Medicine No. 3, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia.

E-mail: davidenko.iu@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8690-681X>

Sergey N. Golovin — Senior Lecturer of the Department of Bioengineering, Faculty of Bioengineering and Veterinary Medicine, Don State Technical University, Rostov-on-Don, Russia.

E-mail: labbiobez@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1929-6345>

Sergey K. Shebeko — Doctor of Sciences (Pharmaceutics), Professor, Head of the Department of Biotechnical and Medical Systems and Technologies, Faculty of Bioengineering and Veterinary Medicine, Don State Technical University, Rostov-on-Don, Russia.

E-mail: shebeko_sk@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9350-7588>

Evgenia Yu. Kirichenko — Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Professor of the Department of Bioengineering, Faculty of Bioengineering and Veterinary Medicine, Don State Technical University, Rostov-on-Don, Russia.

E-mail: kiriche.evgeniya@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4703-1616>

Рукопись получена: 4 сентября 2024. Одобрена после рецензирования: 14 мая 2025. Принята к публикации: 7 июля 2025.

Received: 4 September 2024. Revised: 14 May 2025. Accepted: 7 July 2025.