

ВЛИЯНИЕ МАКРОФАГОВ НА ИНСУЛИН-СИНТЕЗИРУЮЩУЮ СИСТЕМУ В НОРМЕ И ПРИ АЛЛОКСАНОВОМ ДИАБЕТЕ

Булавинцева Т.С.¹, Юшков Б.Г.¹, Данилова И.Г.¹, Абидов М.Т.²

¹ ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

² Институт иммунопатологии и профилактической медицины, г. Любляна, Словения

Резюме. Инсулин-синтезирующие клетки (ИСК) поджелудочной железы локализованы как в ее островках, так и экзокринной части в виде одиночных клеток или агломератов. ИСК различаются своими морфофункциональными характеристиками в зависимости от особенностей микроокружения. В формировании их микроокружения участвуют в том числе резидентные макрофаги. Цель — оценить влияние функциональной активности макрофагов на инсулин-синтезирующую систему (панкреатический островок, агломераты и отдельно лежащие инсулин-синтезирующие клетки) в норме и при аллоксановом диабете.

Аллоксановый диабет вызывали у половозрелых крыс самцов линии «Вистар» внутрибрюшинным введением аллоксана (30 мг/100 г). Моделирование функциональной активности макрофагов осуществлялось противовоспалительным препаратом аминофталгидразида (АФГ). В крови экспериментальных животных анализировали содержание инсулина, глюкозы и гликозилированного гемоглобина. В гомогенате поджелудочной железы определяли уровень IL-1 α , TNF α и IFN γ . На гистологических препаратах органа подсчитывали содержание макрофагов в островковой и экзокринной частях, а также количество панкреатических островков, агломератов и одиночных ИСК. Определяли уровень пролиферации (insulin⁺Ki-67⁺), апоптоза (TUNEL⁺insulin⁺) и содержание инсулина (по интенсивности его флуоресценции) ИСК различной локализации. Все панкреатические островки были разделены на 3 типа по интенсивности флуоресценции инсулина — островки с высоким, средним и низким уровнем флуоресценции.

У здоровых крыс иммуномодуляция снижает общий уровень IL-1 α в паренхиме поджелудочной железы без изменения общих показателей углеводного обмена. В экзокринной части органа увеличивается содержание одиночных ИСК в протоковом эпителии и повышается пролиферация ИСК агломератов. В панкреатических островках растет интенсивность апоптоза β -клеток. Уменьшается доля островков с высоким уровнем флуоресценции инсулина и увеличивается доля со средним его уровнем. При этом в первых плотность макрофагов и пролиферация β -клеток ниже, а апоптоз выше чем у интактных животных. В островках с низким содержанием инсулина иммуномодуляция не вы-

Адрес для переписки:

Булавинцева Татьяна Сергеевна
ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии»
Уральского отделения Российской академии наук
620049, Россия, г. Екатеринбург,
ул. Первомайская, 106, к. 123.
Тел./факс: 8 (343) 374-00-70.
E-mail: bulavincevat@gmail.com

Address for correspondence:

Tatyana S. Bulavintseva
Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian
Academy of Sciences
106 Pervomaiskaya St, Room 123
Yekaterinburg
620049 Russian Federation
Phone/fax: +7 (343) 374-00-70.
E-mail: bulavincevat@gmail.com

Образец цитирования:

Т.С. Булавинцева, Б.Г. Юшков, И.Г. Данилова, М.Т. Абидов «Влияние макрофагов на инсулин-синтезирующую систему в норме и при аллоксановом диабете» // Медицинская иммунология, 2023. Т. 25, № 2. С. 287-300. doi: 10.15789/1563-0625-IOM-2534
© Булавинцева Т.С. и соавт., 2023
Эта статья распространяется по лицензии Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

T.S. Bulavintseva, B.G. Yushkov, I.G. Danilova, M.T. Abidov
“Influence of macrophages on the insulin-synthesizing system
under normal conditions and in alloxan diabetes”, *Medical
Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2023,
Vol. 25, no. 2, pp. 287-300.
doi: 10.15789/1563-0625-IOM-2534
© Bulavintseva T.S. et al., 2023
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.15789/1563-0625-IOM-2534

зывает изменений морфологических характеристик. Введение АФГ при аллоксановом диабете способствует значительному снижению концентрации $IFN\gamma$ в тканях железы, стабилизирует содержание $IL-1\alpha$, при этом уменьшается апоптоз ИСК и макрофагальная инфильтрация во всех отделах железы. В протоковом эпителии сохраняется большое количество одиночных ИСК с высокой синтетической активностью, увеличивается число агломератов и их клеточность. В островках увеличивается количество делящихся β -клеток.

Модуляция функциональной активности макрофагов поджелудочной железы в физиологических условиях оказывает разнонаправленное влияние на инсулин-синтезирующие клетки в зависимости от их локализации. В экзокринной части органа, где располагаются М2-макрофаги, наблюдается активация дифференцировки и пролиферации предшественников ИСК. В то время как в островках, где присутствуют М1-макрофаги, усиливается апоптоз β -клеток. При аллоксановом диабете иммуномодуляция способствует снижению деструкции инсулиноцитов на фоне высокой интенсивности их пролиферации. Гетерогенность реакции ИСК на изменение микроокружения зависит от их синтетической активности. У здоровых крыс в островках с высоким уровнем флюоресценции инсулина повышается уровень апоптоза и снижается пролиферация β -клеток, в то время как морфофункциональные характеристики островков с низким уровнем флюоресценции инсулина не меняются. При аллоксановом диабете в островках с высокими показателями флюоресценции преобладает апоптоз, а в островках с низким содержанием инсулина – пролиферация β -клеток.

Ключевые слова: макрофаги, инсулин-синтезирующая система, физиологические условия, аллоксановый диабет

INFLUENCE OF MACROPHAGES ON THE INSULIN-SYNTHESIZING SYSTEM UNDER NORMAL CONDITIONS AND IN ALLOXAN DIABETES

Bulavintseva T.S.^a, Yushkov B.G.^a, Danilova I.G.^a, Abidov M.T.^b

^a *Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation*

^b *Institute of Immunopathology and Preventive Medicine, Ljubljana, Slovenia*

Abstract. Insulin-synthesizing cells (ISCs) of pancreatic gland are localized both in its islets, and in exocrine portion, as single cells or cellular agglomerates. ISCs differ in their morphological and functional characteristics, depending on characteristics of the microenvironment. Resident macrophages are also involved into formation of their microenvironment. Our purpose was to assess the effect of functional macrophages upon the insulin-synthesizing system (pancreatic islets, cell agglomerates, and separately lying insulin-synthesizing cells) under normal conditions and in alloxan diabetes.

Alloxan diabetes was induced in mature male Wistar rats by intraperitoneal injection of alloxan (30 mg/100 g). Functional activity of macrophages was modeled with anti-inflammatory drug aminophthalhydrazide (AMP). Contents of insulin, glucose, and glycosylated hemoglobin were measured in blood of experimental animals. The levels of $IL-1\alpha$, $TNF\alpha$ and $IFN\gamma$ were determined in pancreatic homogenate. The number of macrophages was counted in histological preparations from the insular and exocrine parts of the organ, as well as the number of pancreatic islets, agglomerates, and single ISCs. The amounts of proliferating cells (insulin⁺Ki-67⁺), apoptotic forms (TUNEL⁺insulin⁺), and insulin content of ISCs at different sites (according to their fluorescence intensity) were determined. All pancreatic islets were divided into 3 types, according to intensity of insulin fluorescence, i.e., islets with high, median and low levels of fluorescence.

In healthy rats, immunomodulation reduced total level of $IL-1\alpha$ in pancreatic parenchyma, without changing the overall parameters of carbohydrate metabolism. In the exocrine part of pancreas, the content of single ISCs in ductal epithelium was increased. Likewise, proliferation of the ISC agglomerates became higher. The intensity of β -cell apoptosis increased in pancreatic islets. The proportion of islets with high-level insulin fluorescence was decreased, along with lower density of macrophages and proliferation rates of β -cells, and higher apoptosis rates, than in intact animals. We have also revealed there an increased ratio of cells with average insulin levels. In the islets with low insulin content, immunomodulation did not cause morphological changes. Administration of AMP in alloxan diabetes contributes to a significantly decreased concentration of $IFN\gamma$ in pancreatic tissues, stabilizes $IL-1\alpha$ content, along with reduced apoptosis of ISCs and macrophage

infiltration in all parts of the gland. In the ductal epithelium, a large number of single ISCs with high synthetic activity was observed, with retained number of agglomerates and their increased cellularity. The number of dividing β -cells is increased in pancreatic islets.

Modulation of the functional activity of pancreatic macrophages under physiological conditions provides a multidirectional effect on the insulin-synthesizing cells, depending on their localization. In exocrine part of the organ, where M2 macrophages are located, we have observed activated differentiation and proliferation of ISC precursors. Meanwhile, in the islets where M1 macrophages are present, apoptosis of β -cells was enhanced. In alloxan diabetes, immunomodulation was associated with reduced destruction of insulinocytes, along with high intensity of their proliferation. Heterogenous response of ISCs to the changes in the microenvironment depends on their synthetic activity. In healthy rats, the islets with high level of insulin fluorescence, the level of apoptosis is increased, and β -cell proliferation is reduced, while the morphological and functional characteristics of islets with low-level insulin fluorescence did not change. In alloxan diabetes, apoptosis prevailed in islets with high fluorescence values, whereas β -cell proliferation predominated in the islets with low insulin contents.

Keywords: macrophages, insulin-synthesizing system, physiological conditions, alloxan diabetes

Работа выполнена в рамках бюджетной темы № 122020900136-4 ИИФ УрО РАН.

Данная исследовательская работа проведена на базе Центра коллективного пользования Института иммунологии и физиологии УрО РАН в рамках Государственного задания № 122020900136-4.

Введение

Инсулин-синтезирующие клетки (ИСК) поджелудочной железы характеризуются выраженной гетерогенностью своих морфофункциональных характеристик. Основная масса ИСК – это β -клетки панкреатических островков, осуществляющих регуляцию углеводного обмена. И около 2% диффузно распределено в экзокринной части органа в виде одиночных ИСК в составе ацинарного или протокового эпителия и их агломератов [9]. Морфология вне островковых ИСК определяется местом, в котором они локализованы (ацинарный и/или протоковый эпителий). Считается, что агломераты ИСК представляют собой один из этапов эмбрионального формирования островков [32] из клеток-предшественников [18]. Во взрослом организме вне островковые ИСК также являются источником регенерации β -клеток в условиях дефицита ИСК и/или инсулина, как в физиологических условиях (беременность, ожирение), так и при патологии [18]. В то же время они осуществляют паракринную регуляцию экзокринной функции органа, секретировав инсулин в межклеточное пространство и протоки [6], а также участвуют в созревании секретированного β -клетками инсулина выделяя зимоген в кровотоки [7].

Помимо своей морфофункциональной гетерогенности ИСК обладают различной чувствительностью к повреждающим факторам, что обусловлено особенностями их микроокружения. В формировании, которого в числе прочего, участвуют резидентные макрофаги. Регулируя тка-

невый гомеостаз, они участвуют в координации эмбрионального развития [34], функционирования и регенерации / репарации инсулин-синтезирующей системы поджелудочной железы [16].

В физиологических условиях резидентные макрофаги, неоднородно распределенные в паренхиме поджелудочной железы, представляют собой долгоживущий самоподдерживающийся тип клеток, различающихся спектром функциональной активации в зависимости от их локализации. Большая часть резидентных макрофагов поджелудочной железы расположена в перидуктальной области и в базальной мембране ацинусов. Они демонстрируют M2-профиль активации, экспрессируя IL-10 [12, 13].

Макрофаги островков Лангерганса характеризуются M1 фенотипом, экспрессируя IL-1 α , β и TNF α и определяются в небольшом количестве в тесном контакте с β -клетками и кровеносными сосудами [12]. Это способствует фагоцитозу секреторных гранул β -клеток и их антигенной презентации T-лимфоцитам [13, 35]. Вместе с этим макрофаги участвуют в контроле уровня нутриентов в крови, (в постпрандиальный период) и, секретировав IL-1 β в ответ на повышение уровня глюкозы, могут стимулировать продукцию инсулина [15, 19].

В условиях развития сахарного диабета мононуклеарные фагоциты первыми активно инфильтрируют паренхиму поджелудочной железы [4, 14] и рассматриваются в качестве регуляторов аутоиммунной деструкции β -клеток [39]. В качестве хемоаттрактантов для макрофагов могут выступать белки стресса (например, кальгранулин (S100A8)) на поверхности мембраны β -клеток и IL-1 α секретлируемый последними в межклеточное пространство [22]. Более того, под действием этих белков стресса происходит активация синтеза провоспалительных цитокинов (IL-1 α , TNF α и IFN γ) инфильтрирующими макрофагами [30, 37], которые, наряду с деструкцией β -клеток, угнетают синтез и секрецию инсулина [22].

В то же время, активируя дифференцировку регуляторных Th2-лимфоцитов, макрофаги способны останавливать патологическую аутоиммунную реакцию [29]. А секретируемые ими противовоспалительные цитокины и ростовые факторы (IL-10, EGF, IGF и TGF) играют ключевую роль в стимуляции репаративной регенерации, растворении фибрина и ангиогенезе [36]. Существуют экспериментальные данные, подтверждающие, что альтернативно активированные макрофаги могут предотвращать деструкцию и стимулировать пролиферацию β -клеток в условиях сахарного диабета и тем самым восстанавливать регуляцию углеводного обмена и предотвращать развитие осложнений [36].

В настоящее время известно много исследований, посвященных роли макрофагов в регуляции развития, функции, патологии и регенерации островкового аппарата. Однако практически отсутствуют данные о том, как макрофаги, создавая специфическое микроокружение, влияют на функцию и взаимодействие ИСК различной локализации в поджелудочной железе в физиологических условиях и при развитии сахарного диабета.

Цель исследования — оценить влияние функциональной активности макрофагов на инсулин-синтезирующую систему (панкреатический островок, агломераты и отдельно лежащие инсулин-синтезирующие клетки) в норме и в условиях аллоксанового диабета.

Материалы и методы

Работа выполнена на 35 крысах самцах «Вистар» в возрасте 3 месяца. Исследование проведено в соответствии с этическими нормами, изложенными в «Правилах проведения работ с использованием экспериментальных животных» и Директиве 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях. На проведение исследования получено разрешение этического комитета ИИФ УрО РАН (протокол № 01/21 от 01.12.2021).

Моделирование аллоксанового диабета осуществляли путем трехкратного внутрибрюшинного введения аллоксана через день натошак в общей дозе 30 мг/100 г веса [5].

Для исследования влияния изменения секреторной активности макрофагов на морфофункциональные характеристики ИСК различной локализации использовали препарат натриевой соли 5-амино-2,3-дигидрофталазин-1,4-диона (АФГ). АФГ снижает секрецию клетками моноцитарно-макрофагального ряда провоспалительных цитокинов и активных форм радикалов [1, 23], а также повышает продукцию противовоспалительных факторов [28]. АФГ животным вводили внутримышечно в дозировке 2 мг/кг веса в

течение 30 дней по схеме, рекомендованной производителем: 5 дней каждый день, 5 дней через день и 5 дней через два дня.

Экспериментальные животные были разделены на 5 групп по 7 штук в каждой: 1 — интактные животные, 2 — здоровые животные с введением АФГ по схеме в течение 30 суток (АФГ 30 с.), 3 — животные на 30-е сутки после введения аллоксана (Ал 30 с.), 4 — животные на 60-е сутки после введения аллоксана (Ал 60 с.), 5 — животные, которым на 30-е сутки после введения аллоксана проводили инъекции АМФ по схеме в течение 30 суток (Ал 30 с. + АФГ).

Выведение животных из эксперимента на 30-е и 60-е сутки проведено натошак передозировкой золетила (15 мг/кг), предварительно взяв кровь из хвостовой вены.

Биохимические исследования

В периферической крови определяли концентрацию глюкозы (Novogluk-R; VektorBest, Россия) и относительное количество гликозилированного гемоглобина (Diabetes-test; Fosfosorb OJSC, Россия).

Иммуноферментный анализ осуществляли для определения концентрации инсулина (Insulin ELISA, Mercodia AB, Швейцария) в периферической крови крыс. Содержание провоспалительных цитокинов (IL-1 α , TNF α , IFN γ) в паренхиме поджелудочной железы оценивали путем проведения иммуноферментного анализа ее гомогената (Thermo Fisher, США). Подготовка гомогената ткани включала промывку ледяным фосфатно-солевым буфером (pH = 7,4) и гомогенизацию с помощью системы дезагрегации тканей (BD, США) [10].

Иммуногистохимическое окрашивание

Образцы ткани поджелудочной железы фиксировали в 10% забуференном формальдегиде, далее осуществляли стандартную подготовку образцов на автоматическом процессоре Leica EG 1160 с последующей заливкой в парафин.

Пролиферацию ИСК выявляли путем двойного непрямого последовательного иммунофлуоресцентного окрашивания [24] с использованием первичных антител к инсулину (Millipore, Германия) и маркеру пролиферации Ki-67 (BD, США). В качестве вторичных были использованы антитела, конъюгированные с Texas Red (Abcam, США) для визуализации Ki-67 и с Alexa Flore 488 (Abcam, США) для визуализации инсулина. Контрастное окрашивание ядер проводили красителем NucRed Dead 647 (Life Tec, Германия). Оценку апоптоза ИСК осуществляли путем выявления фрагментации ДНК методом TUNEL (ThermoFisher, США) с последующим иммунофлуоресцентным окрашиванием инсулина (Millipore, Германия) по выше описанному протоколу.

Макрофаги визуализировали также в ходе двойного непрямого последовательного имму-

нофлуоресцентного окрашивания [24], используя антитела к пан-макрофагальному антигену CD68 (BD, США) и инсулину (Millipore, Германия), вторичные антитела были конъюгированы с Texas Red (Abcam, США) и Alexa Flore 488 (Abcam, США) соответственно.

Негативный контроль окрашивания производили на аналогичных срезах поджелудочной железы по соответствующим протоколам, исключая первичные антитела [24].

Морфологическое исследование

На гистологических препаратах в 1 мм² паренхимы поджелудочной железы определяли количество (N/мм²) панкреатических островков, агломератов и отдельно лежащих инсулин-синтезирующих клеток в составе ацинарного и протокового эпителия, а также их общее количество. В качестве агломератов инсулин-синтезирующих клеток (ИСК) рассматривали скопления от 2 до 5 клеток, не окруженные капсулой из базальной мембраны [3, 9]. А также общее содержание макрофагов и их количественное распределение в панкреатических островках, ацинарной и перидуктальной частях поджелудочной железы.

Морфологическое исследование отдельных инсулин-синтезирующих структур включало подсчет количества ИСК в панкреатических островках и агломератах (1/мм² структуры), относительного количества (в проценте от общего их количества, %) пролиферирующих (insulin⁺Ki-67⁺) и вступивших в апоптоз (TUNEL⁺insulin⁺) ИСК различной локализации.

Функциональную активность ИСК оценивали по интенсивности флуоресценции инсулин-

позитивной области ИСК [17]. В зависимости от интенсивности флуоресценции инсулина все ПО были разделены на три типа: I тип – ПО с высоким содержанием инсулина (интенсивность флуоресценции инсулина от 41 усл. ед.); II тип – ПО со средним содержанием инсулина (интенсивность флуоресценции инсулина от 21 до 40 усл. ед.); III тип – ПО с низким содержанием инсулина (интенсивность флуоресценции до 20 усл. ед.).

Визуализацию изображения осуществляли на лазерном сканирующем конфокальном микроскопе LSM 710 (CARL ZEISS, Германия), а морфометрию с помощью программного обеспечения ZEN2010.

Статистический анализ

Полученные данные анализировали с помощью программы STATISTICA 10. Данные представлены в виде среднего арифметического и ошибки среднего. Поскольку численность выборки менее 10 достоверность различий между группами оценивали по непараметрическому критерию Манна–Уитни (U).

Результаты

Модуляция функциональной активности макрофагов в физиологических условиях

Введение АФГ интактным крысам не приводит к изменению биохимических показателей углеводного обмена (содержание инсулина, глюкозы и гликозилированного гемоглобина (Hb Aс1)) в периферической крови (рис. 1).

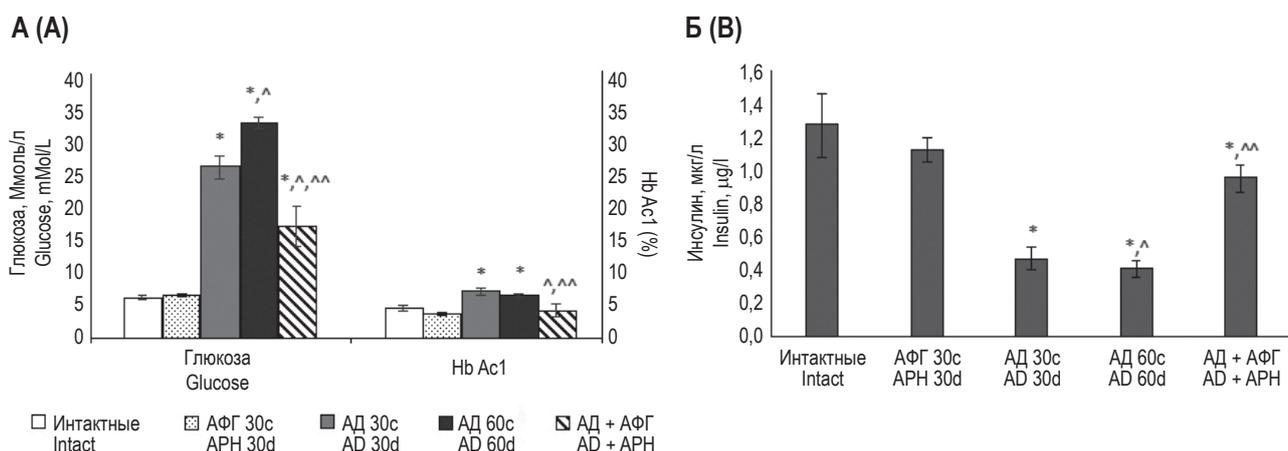


Рисунок 1. Биохимические показатели периферической крови экспериментальных животных. А – уровень глюкозы и гликозилированного гемоглобина (Hb Aс1); Б – концентрация инсулина

Примечание. Hb Aс1 – гликозированный гемоглобин; * – достоверные отличия от группы интактных животных ($p \leq 0,05$);

^ – достоверные отличия от группы животных с длительностью аллоксанового диабета 30 суток ($p \leq 0,05$); ^^ – достоверные отличия от группы животных с длительностью аллоксанового диабета 60 суток ($p \leq 0,05$).

Figure 1. Biochemical parameters of peripheral blood of experimental animals. A, the level of glucose and glycosylated hemoglobin (Hb Aс1); B, the concentration of insulin

Note. Hb Aс1, glycosylated hemoglobin; *, significant differences from the group of intact animals ($p \leq 0.05$); ^, significant differences from the group of animals with the duration of alloxan diabetes 30 days ($p \leq 0.05$); ^^, significant differences from the group of animals with the duration of alloxan diabetes 60 days ($p \leq 0.05$).

Общее содержание макрофагов в паренхиме поджелудочной железы не меняется (табл. 1), однако снижается концентрация ИЛ-1 α в ее ткани относительно интактных животных (табл. 2).

Согласно морфологическим исследованиям на фоне неизменного общего количества инсулин-синтезирующих структур, под влиянием АФГ отмечается значительное увеличение количества одиночных ИСК протокового эпителия

(табл. 3). При этом уровень их пролиферации и апоптоза (рис. 2) соответствует норме. Содержание инсулина в данном типе клеток повышается (табл. 5). Характеристика одиночных ИСК ацинарного эпителия соответствует интактным животным (рис. 2, табл. 3, 5).

Количество агрегатов ИСК (табл. 3) и их клеточность (табл. 4) не меняются, однако в них

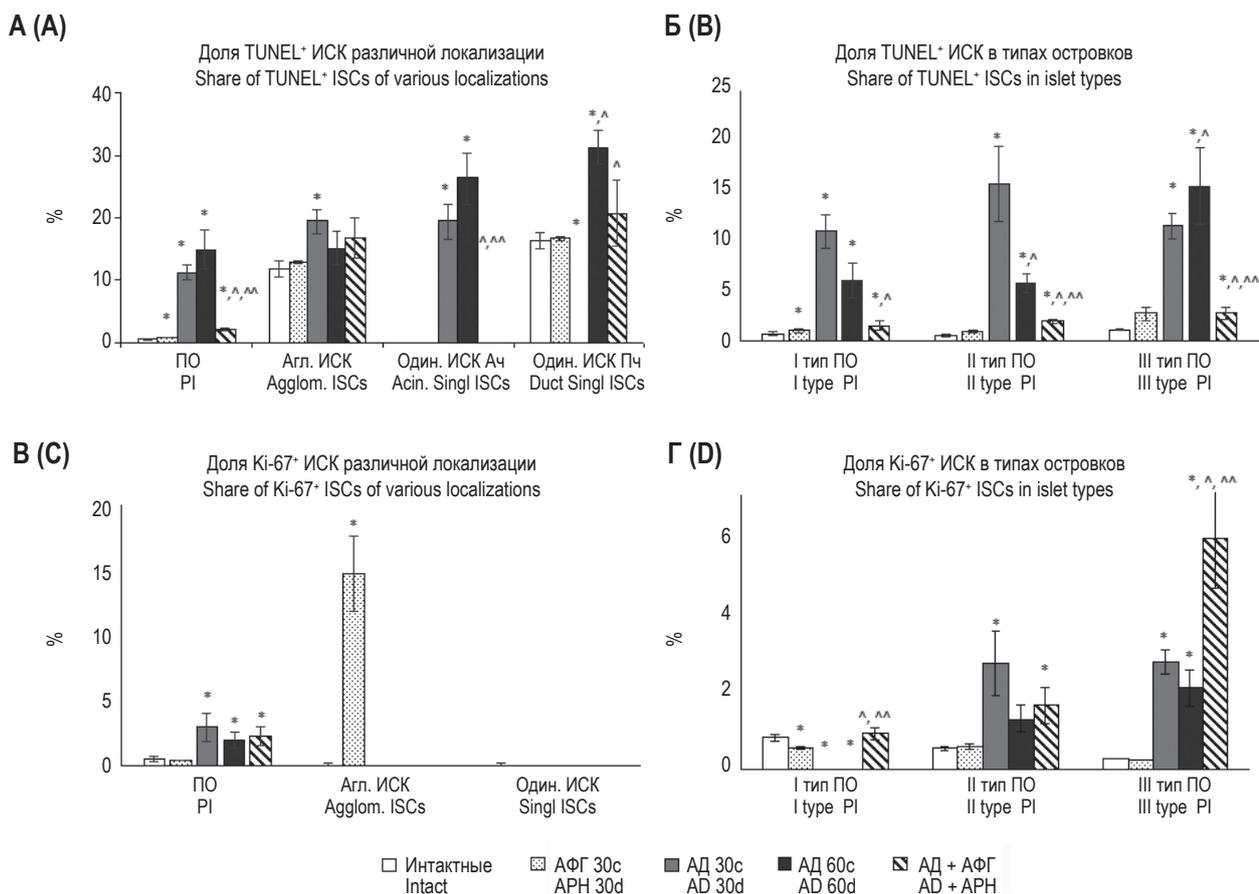


Рисунок 2. Интенсивность апоптоза (А, Б) и пролиферации (В, Г) ИСК различной локализации в поджелудочной железе. А – относительное количество апоптозирующих ИСК (TUNEL⁺ ИСК) в структурах; Б – относительное количество апоптозирующих ИСК (TUNEL⁺ ИСК) в островках с различным уровнем флюоресценции инсулин-позитивной области; В – относительное количество пролиферирующих ИСК (Ki-67⁺ ИСК) в структурах; Г – относительное количество пролиферирующих ИСК (Ki-67⁺ ИСК) в островках с различным уровнем флюоресценции инсулин-позитивной области

Примечание. ПО – панкреатический островок; I тип ПО – панкреатический островок с высоким уровнем флюоресценции инсулин позитивной области; II тип ПО – панкреатический островок со средним уровнем флюоресценции инсулин позитивной области; III тип ПО – панкреатический островок с низким уровнем флюоресценции инсулин позитивной области; * – достоверные отличия от группы интактных животных ($p \leq 0,05$); ^ – достоверные отличия от группы животных с длительностью аллоксанового диабета 30 суток ($p \leq 0,05$); ^^ – достоверные отличия от группы животных с длительностью аллоксанового диабета 60 суток ($p \leq 0,05$).

Figure 2. Intensity of apoptosis (A, B) and proliferation (C, D) of ISCs of different localization in the pancreas. A, relative number of apoptotic ISCs (TUNEL⁺ ISCs) in the structures; B, relative number of apoptotic ISCs (TUNEL⁺ ISCs) in islets with different levels of fluorescence in the insulin-positive region; C, the relative number of proliferating ISCs (Ki-67⁺ ISCs) in the structures; D, the relative number of proliferating ISCs (Ki-67⁺ ISCs) in islets with different levels of fluorescence in the insulin-positive region

Note. PO, pancreatic islet; Type I PO, pancreatic islet with a high level of fluorescence in the insulin-positive area; II type of PO, pancreatic islet with an average level of fluorescence of the insulin-positive region; Type III PO, pancreatic islet with a low level of fluorescence in the insulin-positive area; *, significant differences from the group of intact animals.

увеличивается доля пролиферирующих клеток (рис. 2).

В панкреатических островках средняя плотность β -клеток соответствует интактным животным (табл. 4), но, повышается уровень их апоптоза (рис. 2). При этом отмечается неоднородная реакция островков с различным содержанием инсулина на введение АФГ, уменьшается доля островков I типа (с высоким содержанием инсулина), а II типа (со средним содержанием инсулина) – увеличивается, доля островков III типа (с низким содержанием инсулина) сохраняется на уровне интактных животных (табл. 6).

В островках I типа снижается содержание резидентных макрофагов (табл. 1), и на фоне сохранения плотности β -клеток (табл. 4) снижается их пролиферативная активность, в то время как уровень апоптоза повышается (рис. 2).

Островки II типа также содержат меньше макрофагов (табл. 1), однако на фоне сохранения интенсивности пролиферации и апоптоза β -клеток (рис. 2) количество последних превышает норму (табл. 4).

Островки III типа по всем исследованным показателям соответствуют интактным животным (рис. 2, табл. 1, 4).

Влияние иммуномодуляции на инсулин-синтезирующую систему при аллоксановом диабете

Биохимический анализ периферической крови животных, которым вводили АФГ на фоне аллоксанового диабета, свидетельствует, о повышении концентрации инсулина (хотя и не до уровня нормы), снижение уровня глюкозы и нормализации относительного количества гликозилированного гемоглобина. Тогда как у «нелеченых»

ТАБЛИЦА 1. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ МАКРОФАГОВ В ПАРЕНХИМЕ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

TABLE 1. DISTRIBUTION OF MACROPHAGES IN THE PANCREATIC PARENCHYMA

	Интактные животные Intact animals	АФГ 30 с. APH 30 days	АД 30 с. AD 30 days	АД 60 с. AD 60 days	АД + АФГ AD + APH
Общее количество в паренхиме (N/1 мм² паренхимы) Total amount in parenchyma (N/1 mm ² of parenchyma)	19,8±1,4	19,4±2,8	74,6±9,4*	70,8±6,5*	18,0±3,2 [^] ^{^^}
Ацинарная часть (N/1 мм² паренхимы) Acinar part (N/1 mm ² of parenchyma)	6,9±0,8	7,1±1,0	40,6±3,9*	35,4±6,1*	5,8±1,0 [^] ^{^^}
Перидуктальная часть (N/1 мм² паренхимы) Periductal part (N/1 mm ² parenchyma)	12,4±1,0	12,0±1,9	32,5±4,8*	32,2±4,6*	12,9±0,9 [^] ^{^^}
ПО (N/1 мм² паренхимы) PI (N/1 mm ² parenchyma)	0,40±0,04	0,35±0,05	2,3±0,3*	2,1±0,3*	1,0±0,2* [^] ^{^^}
Содержание макрофагов в островках различных типов (N/1 мм² ПО) Content of macrophages in islets of different types (N/1 mm ² PI)					
ПО I типа (N/1 мм² ПО) PI I type (N/1 mm ² PI)	25±4	12±2*	376±60*	252±54*	107±22* [^] ^{^^}
ПО II типа (N/1 мм² ПО) PI II type (N/1 mm ² PI)	29±6	11±3*	252±36*	181±29*	110±15*
ПО III типа (N/1 мм² ПО) PI III type (N/1 mm ² PI)	36±7	29±4	161±17*	146±32*	78±7* [^] ^{^^}

Примечание. * – достоверные отличия от группы интактных животных ($p \leq 0,05$); [^] – достоверные отличия от группы животных с длительностью аллоксанового диабета 30 суток ($p \leq 0,05$); ^{^^} – достоверные отличия от группы животных с длительностью аллоксанового диабета 60 суток ($p \leq 0,05$).

Note. *, significant differences from the group of intact animals ($p \leq 0.05$); [^], significant differences from the group of animals with the duration of alloxan diabetes 30 days ($p \leq 0.05$); ^{^^}, significant differences from the group of animals with the duration of alloxan diabetes 60 days ($p \leq 0.05$).

ТАБЛИЦА 2. УРОВЕНЬ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ГОМОГЕНАТЕ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

TABLE 2. LEVEL OF PRO-INFLAMMATORY CYTOKINES IN THE HOMOGENATE OF THE PANCREAS

	Интактные животные Intact animals	АМФ 30 с. AMP 30 days	АД 30 с. AD 30 days	АД 60 с. AD 60 days	АД + АМФ AD + AMP
IL-1α (пг/мл) IL-1 α (pg/mL)	466 \pm 44	248 \pm 52*	3325 \pm 563*	5906 \pm 1498*	2091 \pm 64* ^^
TNFα (пг/мл) TNF α (pg/mL)	110 \pm 15	67 \pm 9	158 \pm 35	1606 \pm 451* ^	1820 \pm 175* ^
IFNγ (пг/мл) IFN γ (pg/mL)	3685 \pm 401	2549 \pm 368	22650 \pm 3218*	10270 \pm 1557* ^	5908 \pm 611* ^^

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

животных, отмечается уменьшение содержания инсулина и нарастание гипергликемии (рис. 1).

В паренхиме поджелудочной железы под действием АФГ отмечается нормализация общего количества макрофагов, а в панкреатических островках их плотность снижается в 2 раза относительно 30-х суток, хотя и остается выше нормы; в отличие от «не леченых» животных на 60-е сутки, где их количество остается высоким (табл. 1).

В тканях органа введение АФГ способствует снижению концентрации IFN γ и IL-1 α , в то время как содержание TNF α не меняется относительно «не леченых» животных на 60-е сутки наблюдения (табл. 2).

Общее количество инсулин-синтезирующих структур (островков, одиночных ИСК и их агломератов) сохраняется на уровне интактных животных, в отличие от крыс без АФГ, где их со-

ТАБЛИЦА 3. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ИНСУЛИН-СИНТЕЗИРУЮЩИХ СТРУКТУР В ПАРЕНХИМЕ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

TABLE 3. QUANTITATIVE DISTRIBUTION OF INSULIN-SYNTHESIZING STRUCTURES IN THE PANCREATIC PARENCHYMA OF EXPERIMENTAL ANIMALS

Количество в 1 мм² паренхимы Quantity in 1 mm ² of parenchyma	Интактные животные Intact animals	АМФ 30 с. AMP 30 days	АД 30 с. AD 30 days	АД 60 с. AD 60 days	АД + АМФ AD + AMP
Общее количество Total quantity	3,2 \pm 0,1	3,1 \pm 0,5	2,9 \pm 0,2	1,7 \pm 0,1* ^	3,1 \pm 0,4^^
Одиночные ИСК ацинарного эпителия Single ISCs of acinar epithelium	0,4 \pm 0,1	0,3 \pm 0,1	0,3 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1	0,3 \pm 0,1
Одиночных ИСК протокового эпителия Solitary ISCs of ductal epithelium	0,20 \pm 0,04	0,5 \pm 0,1*	0,5 \pm 0,1*	0,5 \pm 0,1*	0,4 \pm 0,1*
Агломерат ИСК Agglomerate ISK	0,6 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1	0,6 \pm 0,1	0,50 \pm 0,04	0,9 \pm 0,1^ ^^
Панкреатический островок Pancreatic islet	2,0 \pm 0,1	1,8 \pm 0,2	1,7 \pm 0,2	0,7 \pm 0,1* ^	1,2 \pm 0,1* ^^

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

держание уменьшается (табл. 3). Плотность распределения одиночных ИСК в ацинарном и протоковом эпителии соответствует 30-м суткам наблюдения, а содержание агломератов (табл. 3) и их клеточность увеличивается до значений здоровых животных (табл. 4). Доля апоптоза среди одиночных ИСК в ацинарном эпителии значительно снижается, а в протоковом – увеличивается до нормы (рис. 2). Однако пролиферирующие

клетки среди вне островковых ИСК не выявляются также как в норме и у животных с аллоксановым диабетом (рис. 2). Интенсивность флуоресценции инсулина во вне островковых ИСК сохраняется на уровне 30-х суток наблюдения, в отличие от животных без АМФ на 60-е сутки, где наблюдается ее снижение (табл. 5).

Под влиянием препарата АФГ, в панкреатических островках, сохраняется высокая доля про-

ТАБЛИЦА 4. ПЛОТНОСТЬ ИСК В ПАНКРЕАТИЧЕСКИХ ОСТРОВКАХ И АГЛОМЕРАТАХ (N/мм² СТРУКТУРУ)

TABLE 4. ISC DENSITY IN PANCREATIC ISLETS AND AGGLOMERATES (N/mm² STRUCTURE)

	Интактные животные Intact animals	АМФ 30 с. AMP 30 days	АД 30 с. AD 30 days	АД 60 с. AD 60 days	АД + АМФ AD + AMP
Агломерат ИСК Agglomerate ISK	12971±359	12406±477	9170±597*	10050±662*	13207±603 [^] ^^
Средний панкреатический островок Average pancreatic islet	6750±198	7558±394	2582±345*	1767±313* ^	4007±401* ^ ^^
ПО I типа PI I type	6800±229	7745±695	2994±254*	2995±594*	5203±559* ^ ^^
ПО II типа PI II type	6732±232	7928±358*	2985±163*	1964±370* ^	5208±335* ^ ^^
ПО III типа PI III type	7511±438	7544±536	2132±155*	1799±298* ^	4978±546* ^ ^^

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

ТАБЛИЦА 5. СИНТЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ИСК РАЗЛИЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ (усл. ед.)

TABLE 5. SYNTHETIC ACTIVITY OF ISCs OF DIFFERENT LOCALIZATION (conv. units)

	Интактные животные Intact animals	АМФ 30 с. AMP 30 days	АД 30 с. AD 30 days	АД 60 с. AD 60 days	АД + АМФ AD + AMP
Одиночные ИСК ацинарного эпителия Single ISCs of acinar epithelium	42,3±4,3	41,7±6,1	43,0±5,7	29,8±4,6*	42,3±4,3 ^{^^}
Одиночные ИСК протокового эпителия Single ISCs of ductal epithelium	29,7±2,9	40,5±4,8*	47,0±5,0*	29,9±3,5 [^]	41,1±2,7* ^^
ИСК агломерата ISCs of agglomerate	38,0±4,3	39,5±4,9	48,1±2,8	31,5±4,2	42,9±4,8 ^{^^}
β-клетки ПО β cells of PI	33,7±1,7	32,8±2,1	16,2±2,7*	22,0±2,9*	47,3±5,4* ^ ^^

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

ТАБЛИЦА 6. СООТНОШЕНИЕ ОСТРОВКОВ С РАЗЛИЧНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ ИНСУЛИНА (% ОТ ОБЩЕГО КОЛИЧЕСТВА)

TABLE 6. RATIO OF ISLETS WITH DIFFERENT LEVELS OF INSULIN (% OF THE TOTAL)

	Интактные животные Intact animals	АМФ 30 с. AMP 30 days	АД 30 с. AD 30 days	АД 60 с. AD 60 days	АД + АМФ AD + AMP
ПО I типа PI I type	36,8±2,5	19,9±3,7*	11,2±1,0*	10,8±2,9*	39,5±6,5 [^] ^^
ПО II типа PI II type	45,4±2,7	63,6±3,2*	49,7±2,5	43,9±5,5	38,1±4,0
ПО III типа PI III type	18,3±3,0	18,6±3,1	41,9±2,8*	44,2±6,7*	21,8±4,9 [^] ^^

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

лиферирующих β -клеток и в отличие от животных без введения АФГ на 60-е сутки, пятикратно снижается степень их деструкции относительно 30-х суток (рис. 2). Эти изменения приводят к двукратному увеличению плотности β -клеток (табл. 4) и предотвращают гибель островков (табл. 3).

Вместе с этим интенсивность флуоресценции инсулина в β -клетках увеличивается относительно не только крыс без АФГ, но и интактных животных (табл. 5).

Анализ морфофункциональных особенностей островков с различным содержанием инсулина продемонстрировал нормализацию их соотношения (табл. 6) и неоднородность реакции на введение АФГ на фоне аллоксанового диабета.

Островки I типа характеризуются снижением уровня макрофагальной инфильтрации (табл. 1) и апоптоза β -клеток относительно 30-х суток наблюдения, а количество Ki-67⁺ β -клеток увеличивается до значений интактных животных (рис. 2). Это приводит к повышению плотности β -клеток относительно 30-х суток (табл. 4), в отличие от группы животных без АФГ на 60-е сутки, где на фоне отсутствия пролиферации β -клеток (рис. 2) значительно снижается их количество (табл. 4).

В островках II типа степень макрофагальной инфильтрации (табл. 1) и доля пролиферирующих β -клеток сохраняется на уровне предыдущего срока наблюдения (рис. 2). А снижение интенсивности апоптоза β -клеток в 10 раз (рис. 2) приводит к увеличению плотности β -клеток относительно животных без АМФ на 60-е сутки наблюдения (табл. 4).

В панкреатических островках III типа наблюдается значительное уменьшение содержания макрофагов (табл. 1) и апоптотирующих β -клеток (рис. 2) относительно группы животных на 30-е

сутки. Тогда как количество β -клеток (табл. 4) и их пролиферация не меняется (рис. 2).

Обсуждение

Функциональная активность β -клеток поджелудочной железы как в физиологических условиях, так и при патологии во многом определяется состоянием их микроокружения, одно из центральных мест в котором занимают макрофаги. Так, у здоровых крыс препарат АФГ вызывает понижение активности M1-макрофагов (снижение общего уровня IL-1 α в паренхиме поджелудочной железы). Это не оказывает влияния на углеводный обмен в целом, но сопровождается ремоделированием инсулин-синтезирующих структур, характер которого зависит от поляризации макрофагов в микроокружении ИСК и синтетической активности последних. В протоках и агломератах отмечается активация пролиферации и дифференцировки инсулин-синтезирующих клеток-предшественников [9]. Это приводит к увеличению количества одиночных ИСК в протоковом эпителии и повышению пролиферации среди ИСК агломератов. Данная активация клеток-предшественников, возможно определяется влиянием M2-макрофагов в их микроокружении [13], которые усиливают секрецию IL-10 и VEGF под действием препарата АМФ [28]. В панкреатических же островках, где локализованы макрофаги с M1 профилем активации, исходно синтезирующие IL-1 α [12], снижение концентрации данного цитокина способствует повышению интенсивности апоптоза β -клеток. Данный цитокин необходим также для формирования панкреатических островков в эмбриональном периоде и глюкоз-зависимой секреции инсулина во взрослом организме [11, 15].

Неоднородность реакции ИСК на иммуномодуляцию выявлена и у панкреатических островков с различным содержанием инсулина. В части островков с высоким уровнем флюоресценции инсулина на фоне снижения количества макрофагов наблюдается падение базального синтеза инсулина β -клетками. Более того, снижение количества IL-1 α приводит к усилению апоптоза β -клеток, снижению их пролиферативной активности при сохранении общей плотности β -клеток. В результате уменьшается доля островков с высоким содержанием инсулина увеличивается доля островков со средним его количеством.

В островках с низким содержанием инсулина снижение концентрации IL-1 α не вызывает изменений их морфологических характеристик (плотность макрофагов и β -клеток, интенсивность апоптоза и пролиферации последних).

Гетерогенность отдельных образований ИСК проявляется и в их чувствительности к повреждению. Так, ИСК агломератов наиболее устойчивы к действию повреждающих факторов, поскольку в условиях аллоксанового диабета уровень их апоптоза не меняется и соответствует интактным животным. Показано также, что они устойчивы и к гипоксии [22]. В то время как β -клетки островков и ИСК ацинарного эпителия к повреждению наиболее чувствительны.

Активация апоптоза и секретируемые поврежденными клетками белки стресса (S100A8 и IL-1 α) [22] при аллоксановом диабете вызывают повышение макрофагальной инфильтрации паренхимы органа преимущественно в островковой и ацинарной частях, где и наблюдается наибольшая степень деструкции ИСК. Последняя приводит к формированию хронической гипергликемии, которая способствует активации M1-моноцитов/макрофагов [8] и повышению концентрации провоспалительных цитокинов (IL-1 α , IFN γ и TNF α) в гомогенате поджелудочной железы. Это в свою очередь вызывает нарушение микроциркуляции в органе, усиление апоптоза/некроза инсулиноцитов [25, 26] а также угнетение синтеза и секреции инсулина в ответ на глюкозу в результате ингибирования глюкокиназы [22, 33].

Введение в этих условиях противовоспалительного препарата АФГ способствует значительному снижению концентрации IFN γ в тканях железы, обладающего выраженным цитотоксическим действием, практически до нормальных значений, стабилизирует содержание IL-1 α , хотя и на более высоком уровне, чем у здоровых жи-

вотных, в то время как на увеличение уровня TNF α введение препарата не влияет.

Известно, что эффект исследованных цитокинов зависит от их комбинации [33]. Так, IFN γ значительно усиливает цитотоксическое действие IL-1 α и TNF α . В то время как их комбинация без IFN γ способствует ангиогенезу [2], что благотворно сказывается на репарации островков, обладающих высокой плотностью капилляров [22]. Кроме того, TNF α оказывает противодиабетическое действие [26], основанное на угнетении апоптоза и стимуляции пролиферации β -клеток [22, 31].

Эти изменения цитокинового профиля в тканях железы оказывают на ИСК сходное влияние вне зависимости от локализации. Значительно уменьшается уровень апоптоза ИСК и соответственно макрофагальной инфильтрации. При этом данные показатели в экзокринной части достигают уровня интактных животных, а в островках нет. Поскольку понижение концентрации IFN γ оказывает стимулирующее действие на функциональную активность β -клеток, а также на дифференцировку и созревание клеток-предшественников инсулиноцитов [26] в протоковом эпителии сохраняется большее количество одиночных ИСК с высокой синтетической активностью, а увеличение числа агломератов ИСК (рассматриваемых в качестве начальной стадии образования островков [9]) и их клеточности может свидетельствовать о новообразовании панкреатических островков.

У островков же в условиях аллоксанового диабета сохраняется различная чувствительность к действию регуляторных факторов. В островках с низким уровнем флюоресценции инсулина на фоне уменьшения апоптоза активируется пролиферация β -клеток, которая значительно превышает уровень их деструкции. В островках с высоким содержанием инсулина также отмечается увеличение количества делящихся β -клеток, но недостаточно для компенсации апоптоза. Вместе с этим рост количества инсулиноцитов может свидетельствовать о высоком уровне их трансдифференцировки из других типов островков, например α -клеток [27].

Заключение

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют, что в условиях сахарного диабета формируется порочный круг повреждение β -клеток \rightarrow повышение апоптоза β -клеток \rightarrow снижение продукции инсулина \rightarrow повышение уровня глюкозы в крови \rightarrow повышение апоптоза

β-клеток. Обычно в условиях клиники его раз-
рывают, понижая уровень глюкозы заместитель-
ным введением инсулина, фармакологической
стимуляцией его продукции или повышением
утилизации сахара тканями. Представленные
же данные свидетельствуют, что аналогично-
го эффекта торможения процессов апоптоза
ИСК можно добиться, воздействуя на макро-

фаги как компонент их микроокружения. Су-
ществует также второй вариант заместительной
терапии – это трансплантация панкреатических
островков. В этом случае необходимо учитывать
присущую гетерогенность морфофункциональ-
ных характеристик инсулин-синтезирующих
структур и различную их устойчивость к по-
вреждающим факторам.

Список литературы / References

1. Абидов М.Т. Иммунотропная активность тамерита // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2000. Приложение 3. С. 11-19. [Abidov M.T. Immunotropic activity of tamerite. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2000, app. 3, pp. 11-19. (In Russ.)]
2. Амчиславский Е.И., Соколов Д.И., Старикова Э.А., Фрейдлин И.С. Цитокиновый контроль ангиогенеза // Медицинская иммунология, 2003. Т. 5, № 5-6. С. 493-506. [Amtchislavski E.I., Sokolov D.I., Starickova E.A., Freidlin I.S. Cytokine control of angiogenesis. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2003, Vol. 5, no. 5-6, pp. 493-506. (In Russ.)]
3. Булавинцева Т.С., Юшков Б.Г., Данилова И.Г. Морфофункциональная характеристика инсулин-синтезирующих клеток различной локализации в поджелудочной железе интактных крыс // Цитология, 2022. Т. 64, № 1. С. 70-76. [Bulavintseva T.S., Yushkov B.G., Danilova I.G. Morphofunctional characteristic of insulin-producing cells of different localization in the pancreas of intact rats. *Tsitologiya = Tsitologiya*, 2022, Vol. 64, no. 1, pp. 70-76. (In Russ.)]
4. Булавинцева Т.С., Юшков Б.Г., Соколова К.В., Данилова И.Г. Особенности развития компенсаторных процессов в инсулинсинтезирующей системе при аллоксановом диабете // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова, 2018. Т. 104, № 11. С. 1291-1300. [Bulavintseva T.S., Ushkov B.G., Sokolova K.V., Danilova I.G. Compensatory processes in the production system in alloxan diabetes. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova = Russian Journal of Physiology*, 2018, Vol. 104, no. 11, pp. 1291-1300. (In Russ.)]
5. Медведева С.Ю., Булавинцева Т.С., Данилова И.Г., Гетте И.Ф., Сенцов В.Г. Токсическое действие аллоксана в динамике развития аллоксанового диабета // Вестник уральской медицинской академической науки, 2012. № 3. С. 30-33. [Medvedeva S.Yu., Bulavintseva T.S., Danilova I.G., Goethe I.F., Sentsov V.G. Toxic effect of alloxan in the dynamics of development of alloxan diabetes. *Vestnik uralskoy meditsinskoy akademicheskoy nauki = Bulletin of the Ural Medical Academic Science*, 2012, no. 3, pp. 30-33. (In Russ.)]
6. Можейко Л.А. Эндокринно-экзокринные взаимоотношения поджелудочной железы: история вопроса. Журнал Гродненского государственного медицинского университета, 2007. № 3. С. 7-11. [Mozheyko L.A. Interrelation between the exocrine and endocrine parts of the pancreas: history of the problem. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Journal of Grodno State Medical University*, 2007, no. 3, pp. 7-11. (In Russ.)]
7. Яглов В.В., Яглова Н.В. Актуальные проблемы биологии ациноостровковых клеток поджелудочной железы // Вестник Российской АМН, 2010. № 7. С. 28-35. [Yaglov V.V., Yaglova N.V. Actual problems of biology of pancreatic acino-insular cells. *Vestnik Rossiyskoy AMN = Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2010, no. 7, pp. 28-35. (In Russ.)]
8. Alrdahe S., Sadoun H.A., Torbica T., McKenzie E.A., Bowling F.L., Boulton A.J.M., Mace K.A. Dysregulation of macrophage development and phenotype in diabetic human macrophages can be rescued by Hoxa3 protein transduction. *PLoS One*, 2019, Vol. 14, no. 10, e0223980. doi: 10.1371/journal.pone.0223980.
9. Beamish C.A., Strutt B.J., Arany E.J., Hill D.J. Insulin-positive, Glut2-low cells present within mouse pancreas exhibit lineage plasticity and are enriched within extra-islet endocrine cell clusters. *Islets*, 2016, Vol. 8, no. 3, pp. 65-82.
10. Brammer R.D., Bramhall S.R., Eggo M.C. Endostatin expression in pancreatic tissue is modulated by elastase. *Br. J. Cancer*, 2005, no. 92, pp. 89-93.
11. Burke S.J., Batdorf H.M., Burk D.H., Martin T.M., Mendoza T., Stadler K., Alami W., Karlstad M.D., Robson M.J., Blakely R.D., Mynatt R.L., Collier J.J. Pancreatic deletion of the interleukin-1 receptor disrupts whole body glucose homeostasis and promotes islet β-cell de-differentiation. *Mol. Metab.*, 2018, Vol. 14, pp. 95-107.

12. Calderon B., Carrero J.A., Ferris S.T., Sojka D.K., Moore L., Epelman S., Murphy K.M., Yokoyama W.M., Randolph G.J., Unanue E.R. The pancreas anatomy conditions the origin and properties of resident macrophages. *J. Exp. Med.*, 2015, Vol. 212, no. 10, pp. 1497-1512.
13. Calderon B., Suri A., Miller M.J., Unanue E.R. Dendritic cells in islets of Langerhans constitutively present cell-derived peptides bound to their class II MHC molecules. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2008, Vol. 105, no. 16, pp. 6121-6126.
14. Carrero J.A., McCarthy D.P., Ferris S.T., Wana X., Hua H., Zinselmeyera B.H., Vomunda A.N., Unanue E.R. Resident macrophages of pancreatic islets have a seminal role in the initiation of autoimmune diabetes of NOD mice. *PANS*, 2017, Vol. 114, no. 48, pp. E10418-E10427.
15. Collier J.J., Batdorf H.M., Martin T.M., Rohli K.E., Burk D.H., Lu D., Cooley C.R., Karlstad M.D., Jackson J.W., Sparer T.E., Zhang J., Mynatt R.L., Burke S.J. Pancreatic, but not myeloid-cell, expression of interleukin-1 α is required for maintenance of insulin secretion and whole body glucose homeostasis. *Mol. Metab.*, 2021, Vol. 44, 101140. doi: 10.1016/j.molmet.2020.101140.
16. Cosentino C., Regazzi R. Crosstalk between macrophages and pancreatic β -Cells in islet development, homeostasis and disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, Vol. 22, no. 4, 1765. doi: 10.3390/ijms22041765.
17. de França Carvalho C.P., Martins J.C.R., da Cunha D.A., Boschero A.C., Collares-Buzato C.B. Histomorphology and ultrastructure of pancreatic islet tissue during *in vivo* maturation of rat pancreas. *Anat. Anz.*, 2006, Vol. 188, no. 3, pp. 221-234.
18. Desgraz R., Bonal C., Herrera P.L. β -cell regeneration: the pancreatic intrinsic faculty. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2011, Vol. 22, no. 1, pp. 34-43.
19. Dror E., Dalmas E., Meier D.T., Wueest S., Thévenet J., Thienel C., Timper K., Nordmann T.M., Traub S., Schulze F., Item F., Vallois D., Pattou F., Kerr-Conte J., Lavallard V., Berney T., Thorens B., Konrad D., Böni-Schnetzler M., Donath M.Y. Postprandial macrophage-derived IL-1 β stimulates insulin, and both synergistically promote glucose disposal and inflammation. *Nat. Immunol.*, 2017, Vol. 18, no. 3, pp. 283-292.
20. El-Gohary Y., Sims-Lucas S., Lath N., Tulachan S., Guo P., Xiao X., Welsh C., Paredes J., Wiersch J., Prasad K., Shiota C., Gittes G.K. Three-dimensional analysis of the islet vasculature. *Anatom. Record*, 2012, Vol. 295, no. 9, pp. 1473-1481.
21. Gaur U., Aggarwal B.B. Regulation of proliferation, survival and apoptosis by members of the TNF superfamily. *Biochem. Pharmacol.*, 2003, Vol. 66, pp. 1403-1408.
22. Inoue H., Shirakawa J., Togashi Y., Tajima K., Okuyama T., Kyohara M., Tanaka Y., Orime K., Saisho Y., Yamada T., Shibue K., Kulkarni R.N., Terauchi Y. Signaling between pancreatic β cells and macrophages via S100 calcium-binding protein A8 exacerbates β -cell apoptosis and islet inflammation. *J. Biol. Chem.*, 2018, Vol. 293, no. 16, pp. 5934-5946.
23. Jukić T., Abidov M., Ihan A. A tetrahydrophthalazine derivative “sodium nucleinate” exerts a potent suppressive effect upon LPS-stimulated mononuclear cells *in vitro* and *in vivo*. *Coll. Antropol.*, 2011, Vol. 35, no. 4, pp. 1219-1223.
24. Kumar G.L., Rudbeck L. Education guide. Immunohistochemical (IHC) staining methods. California: Dako North, 2009. 218 p.
25. Kumar P., Swain M.M., Pal A. Hyperglycemia-induced inflammation caused down-regulation of 8-oxoG-DNA glycosylase levels in murine macrophages is mediated by oxidative-nitrosative stress-dependent pathways. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2016, Vol. 73, pp. 82-98.
26. Lu J., Liu J., Li L., Lan Y., Liang Y. Cytokines in type 1 diabetes: mechanisms of action and immunotherapeutic targets. *Clin. Transl. Immunol.*, 2020, Vol. 9, no. 3, e1122. doi: 10.1002/cti2.1122.
27. Lu J., Jaafer R., Bonnavion R., Bertolino P., Zhang C.-X. Transdifferentiation of pancreatic α -cells into insulin-secreting cells: From experimental models to underlying mechanisms. *World J. Diabetes*, 2014, Vol. 5, no. 6, pp. 847-853.
28. Lungu G., Kuang X., Stoica G., Wong P.K. Monosodium luminol upregulates the expression of Bcl-2 and VEGF in retrovirus-infected mice through downregulation of corresponding miRNAs. *Acta Virol.*, 2010, Vol. 54, no. 1, pp. 27-32.
29. Luo X., Tarbell K.V., Yang H., Pothoven K., Bailey S.L., Ding R., Steinman R.M., Suthanthiran M. Dendritic cells with TGF- β 1 differentiate naïve CD4⁺CD25⁻T-cells into islet-protective Foxp3⁺ regulatory T-cells. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2007, Vol. 104, no. 8, pp. 2821-2826.
30. Maedler K., Sergeev P., Ris E., Oberholzer J., Joller-Jemelka H.I., Spinas G.A., Kaiser N., Halban P.A., Donath M.Y. Glucose-induced beta cell production of IL-1 β contributes to glucotoxicity in human pancreatic islets. *J. Clin. Invest.*, 2002, Vol. 110, no. 6, pp. 851-860.

31. Malka D., Vasseur S., Bödeker H., Ortiz E.M., Dusetti N.J., Verrando P., Dagorn J.C., Iovanna J.L. Tumor necrosis factor alpha triggers antiapoptotic mechanisms in rat pancreatic cells through pancreatitis-associated protein I activation. *Gastroenterology*, 2000, Vol. 119, no. 3, pp. 816-828.
32. Merkwitz C., Blaschuk O.W., Schulz A., Lochhead P., Meister J., Ehrlich A., Ricken A.M. The ductal origin of structural and functional heterogeneity between pancreatic islets. *Prog. Histochem. Cytochem.*, 2013, Vol. 48, pp. 103-140
33. Thomas H.E., Darwiche R., Corbett J.A., Kay T.W. Interleukin-1 plus gamma-interferon-induced pancreatic beta-cell dysfunction is mediated by beta-cell nitric oxide production. *Diabetes*, 2002, Vol. 51, no. 2, pp. 311-316.
34. van Gassen N., Staels W., van Overmeire E., de Groef S., Sojoodi M., Heremans Y., Leuckx G., van de Casteele M., van Ginderachter J.A., Heimberg H., de Leu N. Concise review: macrophages: versatile gatekeepers during pancreatic β -cell development, injury, and regeneration. *Stem Cells Transl. Med.*, 2015, Vol. 4, no. 6, pp. 555-563.
35. Vomund A.N., Zinselmeyer B.H., Hughes J., Calderon B., Valderrama C., Ferris S.T., Wan X., Kanekura K., Carrero J.A., Urano F., Unanue E.R. Beta cells transfer vesicles containing insulin to phagocytes for presentation to T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2015, Vol. 112, no. 40, pp. E5496-5502.
36. Xiao X., Gittes G.K. Concise review: new insights into the role of macrophages in β -cell proliferation. *Stem Cells Transl. Med.*, 2015, Vol. 4, pp. 655-658.
37. Xiu F., Stanojic M., Diao L., Jeschke M.G. Stress hyperglycemia, insulin treatment, and innate immune cells. *Int. J. Endocrinol.*, 2014, Vol. 2014, 486403. doi: 10.1155/2014/486403.

Авторы:

Булавинцева Т.С. — научный сотрудник ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Юшков Б.Г. — д.м.н., член-корр. РАН, заслуженный деятель науки РФ, заведующий лабораторией иммунофизиологии и иммунофармакологии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Данилова И.Г. — д.б.н., заведующая лабораторией морфологии и биохимии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Абидов М.Т. — д.м.н., директор Института иммунопатологии и профилактической медицины, г. Любляна, Словения

Authors:

Bulavintseva T.S., Research Associate, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Yushkov B.G., PhD, MD (Medicine), Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Honored Scientist of the Russian Federation, Head, Laboratory of Immunophysiology and Immunopharmacology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Danilova I.G., PhD, MD (Biology), Head, Laboratory of Morphology and Biochemistry, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Abidov M.T., PhD, MD (Medicine), Director, Institute of Immunopathology and Preventive Medicine, Ljubljana, Slovenia

Поступила 17.06.2022

Отправлена на доработку 27.06.2022

Принята к печати 04.10.2022

Received 17.06.2022

Revision received 27.06.2022

Accepted 04.10.2022