УДК 616.379

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ И АНАЛИЗ ФУНКЦИОНАЛЬНОСТИ ИЗОЛИРОВАННЫХ ОСТРОВКОВ ЛАНГЕРГАНСА

СЕРЁГИНА Е.С., ЛОКТИОНОВА Ю.И., ЖАРКИХ Е.В., ДРЁМИН В.В.
Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия,
e.s.seryogina@gmail.com

Сахарный диабет (СД) представляет собой хроническое заболевание, характеризующееся повышенным содержанием глюкозы в крови. Гипергликемия, или высокий уровень сахара в крови, обусловлена двумя основными факторами: недостаточным выделением инсулина поджелудочной железой и уменьшением чувствительности клеток к инсулину. Это состояние может вызывать осложнения, затрагивающие различные системы организма. В настоящее время активно исследуются возможности применения фотонных технологий в рамках, так называемой, концепции тераностики для диагностики и лечения осложнений СД. Для этого широко используются разнообразные клеточные и животные модели. Получение изолированных островков Лангерганса лабораторных животных, в том числе при моделировании различных патологий, является важным этапом исследований, связанных с оценкой эффективности терапевтических воздействий на β-клетки и ткани поджелудочной железы.

В рамках данного исследования был разработан протокол для создания отдельной культуры островков Лангерганса (ОЛ). Основная цель – получение жизнеспособной культуры для изучения влияния лазерного излучения и различных химических агентов на метаболизм β-клеток модельных животных в контексте разработки методов терапии и компенсации осложнений СД. Экспериментальный протокол получения изолированных ОЛ был одобрен этическим комитетом ОГУ имени И.С. Тургенева (протокол №18 от 21.02.2020) и соответствовал принципам надлежащей лабораторной практики и этическим нормам организации исследований с участием лабораторных животных.

Предварительно анестезированных животных подвергали срединной лапаротомии. В ткани поджелудочной железы через желчный проток вводили раствор 10 мг/мл коллагеназы, затем извлекали поджелудочную железу в отдельную пробирку для измельчения при помощи стерильных ножниц. После измельчения ткани помещали в отдельную пробирку для ферментации при 37 ºС. Очистку ОЛ выполняли путем многократной фильтрации и центрифугирования взвеси клеток. После завершения манипуляций ОЛ помещались на заранее подготовленные покровные стекла и вводились в эксперимент.

Для оценки жизнеспособности полученной культуры было произведено измерение уровня автофлуоресценции НАДН при различных концентрациях глюкозы (3,5 мМ, 8,5 мМ, 18,5 мМ и 38,5 мМ). Увеличение уровня автофлуоресценции НАДН в клетках поджелудочной железы мышей дикого типа при добавлении глюкозы указывает на активацию различных метаболических путей (в том числе, гликолиза). Данные процессы связаны с увеличенной продукцией энергии и поддержанием нормальной физиологии ОЛ, что свидетельствует о благоприятном состоянии культуры. В конце эксперимента добавляли протонофор FCCP (10 мкМ) и KCN (5 мМ) для изменения формы кофермента НАДН. Полученные результаты имеют широкое прикладное значение в контексте понимания метаболических процессов и разработки новых стратегий для лечения СД на основе комплексного анализа функционального состояния β-клеток на клеточных и животных моделях.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ №22-75-10088.

Список литературы

1. Lacy P.E., Kostianovsky M. Method for the Isolation of Intact Islets of Langerhans from the Rat Pancreas // Diabetes. – 1967. – Vol. 16. – № 1. – P. 35-39.

© Серёгина Е.С., Локтионова Ю.И., Жарких Е.В., Дрёмин В.В., 2023