

Аллоксаны чихрийн шижинтэй хулганы нойр булчирхайн эдийн бүтцийг судалсан дүн

Д.Нямсүрэндэжид¹, А.Долгорсүрэн¹, Д.Амгаланбаатар¹, А. Авирмэд¹

¹АШУУИС, Био-АС, Анатомийн тэнхим

Цахим шуудан: nyansurendejid@mnums.edu.mn, Утас: 88088539

Түлхүүр үг:

чихрийн шижин,
аллоксан, амьтны
туршилтын загвар

Товч утга:

Үндэслэл: Аллоксан нь чихрийн шижингийн туршилтын амьтны загвар үүсгэхэд түгээмэл хэрэглэдэг химийн нэгдэл юм. 1943 онд Shaw Dunn and McLetchie нар аллоксан нь туршилтын амьтдын нойр булчирхайн β -эсэд өвөрмөц үхжил үүсгэдэг гэж мэдээлснээр аллоксаныг чихрийн шижин өвчинтэй холбон судлах болсон байна. Энэхүү судалгаагаар бид аллоксаноор үүсгэгдсэн чихрийн шижинтэй хулганы нойр булчирхайн эдийн бүтцийн өөрчлөлтийг үнэлсэн.

Зорилго: Аллоксаны чихрийн шижинтэй хулганы нойр булчирхайн эдийн бүтцэд гарах өөрчлөлтийг судлах

Арга, аргачлал: Чихрийн шижингийн эмгэг загвар үүсгэх протоколын дагуу C57BL/6 үүлдрийн 6-8 долоо хоногтой хулганад аллоксан моногидратыг хэвлийн хөндийд тарьж, чихрийн шижингийн эмгэг загварыг үүсгэн нойр булчирхайн эдийн бүтцийг үнэлсэн.

Үр дүн: Аллоксаны чихрийн шижинтэй (АЧШ) бүлгийн хулганы нойр булчирхайн арлуудын төвд хүчтэй дегенератив өөрчлөлтийг үүсгэсэн. Арлын хэлбэр зөв биш, арлын төв хэсгээр харьцангуй сийрэгжиж, үхэжсэн (кариолизис) эсүүд ажиглагдсан. Нойр булчирхайн гадаад шүүрлийн хэсэгт ацинусын бүтэц хадгалагдсан, ациноцит эсүүдийн бөөм тод хөх өнгөөр будагдсан, зарим нэг ациноцит эсүүдийн сийвэн бөөмийн харьцаа алдагдаж, сийвэндээ хоосовч агуулсан, таславч хоорондын зай олширсон, цайвар өнгөтэй харагдаж байлаа. Туршилтын 7 дахь хоногт АЧШ бүлгийн хулганы нойр булчирхайн арлын хэсэгт β -эсүүдийн эерэг илэрхийлэл эрүүл хяналтын (ЭХ) бүлгийн хулганатай харьцуулахад багсаж, үхжилийн талбай үүссэн дүр зураг ажиглагдсан. 28 дахь хоногт β -эсүүдийн эерэг илэрхийлэл арлын төв хэсгээр тодорч харагдсан. Лангергансын арлын эерэг будагдсан эсүүдийн чанарын үзүүлэлтийг тоон утгад шилжүүлэн эзлэх хувийг тооцоход инсулин эерэг будагдсан эсийн талбайн эзлэх хувь ЭХ-ын бүлэгт 13.37 ± 0.89 , АЧШ бүлэгт 6.01 ± 0.39 байв. Глюкагон эерэг будагдсан эсийн талбайн эзлэх хувь ЭХ-ын бүлэгт 15.27 ± 1.11 , АЧШ бүлэгт 5.01 ± 0.58 байв. АЧШ бүлгийн хулганы нойр булчирхайн Лангергансын арлын талбайг ЭХ-ын бүлэгтэй харьцуулахад арлын талбай ихэссэн дүр зураг ажиглагдаж байлаа.

Дүгнэлт: Үйл ажиллагааны сорилын үр дүнгээс харахад глюкоз хамааралт инсулины ялгарал туршилтын 28 хоногийн дараа идэвхтэй хэвээр байгааг тодорхойллоо. Аллоксаны нөлөөгөөр үүсч буй үхжил, апоптоз нь нойр булчирхайн Лангергансын арлын инсулин болон глюкагон эерэг будагдсан эсүүдийн эзлэх хувийг бууруулж байна.

Үндэслэл: Амьтанд үүсгэдэг чихрийн шижингийн загвар нь суурь болон эмнэлзүйн урьдал судалгаанд чухал ач холбогдолтой төдийгүй өвчний эмгэг жам, явцыг ойлгох, дүн шинжилгээ хийх боломжийг олгодог мөн эмчилгээний шинэ аргуудыг үнэлэхэд тусалдаг. ХХ зууны эхний хагаст туршилтын амьтанд чихрийн шижин өвчнийг химийн бодис ашиглан үүсгэж эхэлсэн. Аллоксан нь чихрийн шижингийн туршилтын амьтны загвар үүсгэхэд түгээмэл хэрэглэдэг химийн нэгдэл юм. Аллоксаны үйлчлэлээр үүссэн инсулинопени нь чихрийн шижин өвчний туршилтын нөхцөлийг үүсгэж байснаас үүдэн “Аллоксаны чихрийн шижин” гэж нэрлэжээ.¹ Олон арван жилийн турш явуулсан судалгааны үр дүнд аллоксаныг туршилтын амьтанд тарихад цусан дахь глюкозын олон шатлалт хариу урвалыг өдөөж, сийвэн дэх инсулины концентрацд харгалзах урвуу өөрчлөлтүүд гарч, мөн түүнчлэн нойр булчирхайн Лангергансийн арлын β-эсийн бүтцийн дараалсан өөрчлөлтүүд илэрч эцэст нь β-эсийг эсийн үхжилт үхэлд хүргэдэг гэсэн аллоксаны үйлчлэлийн механизмын талаарх нэгдсэн нэг тайлбарт хүрчээ.² Аллоксан бол гидрофил шинжтэй, маш тогтворгүй химийн нэгдэл бөгөөд глюкозтай маш төстэй молекулын бүтэцтэй байдаг. Гэхдээ аллоксаны молекул хэлбэр нь глюкозын хэлбэртэй маш төстэй тул β-эсийн плазмын мембран дахь глюкоз тээвэрлэгч GLUT-2 зөөвөрлөгч уураг нь энэ молекулыг глюкозын аналог байдлаар хүлээн авч цитозол руу шилжүүлдэг.^{3,4} Глюкозоор өдөөгдсөн инсулины шүүрлийг сонгомлоор дарангуйлах нь аллоксан, тиол (сульфгидрил) бүлгийн урвалын дүнд үүсдэг эмгэг физиологийн гол нөлөө нь юм. Аллоксаны молекулын 5-карбонил бүлэг нь тиолын бүлэгтэй маш идэвхтэй урвалд ордог.^{5,6} Аллоксан нь GLUT-2 зөөвөрлөгч уургаар нойр булчирхайн арлын β-эсэд орж глюкокиназаг саатуулан, инсулины ялгарлыг бууруулдаг. Аллоксан нь химийн маш тогтворгүй нэгдэл бөгөөд глюкатионы үйлчлэлээр диалуруны хүчил үүсгэнэ. Үүссэн диалуруны хүчил нь хүчилтөрөгчтэй нэгдэн аллоксаныг үүсгэдэг гинжин урвал явагдана. Диалуруны хүчил нь хүчилтөрөгчтэй нэгдэн аллоксаны радикалыг үүсгэнэ. Энэ нь хүчилтөрөгчөөс хүчилтөрөгчийн супероксидыг үүсгэдэг байна. Супероксид нь SOD ферментийн үйлчлэлээр устөрөгчийн хэт исэл үүсгэж, тэр нь төмрийн 2 валенттай ионуудтай харилцан үйлчлэлцэн гидроксидын радикал үүсгэдэг байна. Эдгээр хэт исэлдэх урвалуудын үр дүнд үүссэн хүчтэй исэлдүүлэгчид болон хүчилтөрөгчийн хэт ислийн радикалууд эсийн мембраны липидүүд, эсийн уургууд болон ДНХ-г исэлдүүлж гэмтээдэг байна.³⁻⁶ Судлаачид аллоксанаар өдөөгдсөн бета эсийн гэмтэл нь бета эсийн үхжилд хүргэдэг гэдэгтэй санал нийлдэг.⁷⁻⁹ Апоптоз нь бета эсийн гэмтлийн гол механизм гэдгийг нотолсон.¹⁰ Нойр булчирхайн дотоод болон гадаад шүүрлийн эсийн өсөлт, шилжилт хөдөлгөөн, ялгарал, үхэл зэрэг үндсэн

үйл явцыг тайлбарласан нарийвчилсан мэдээлэл дутмаг байгаа нь энэхүү судалгааг хийх үндэслэл боллоо.

Зорилго: Аллоксаны чихрийн шижинтэй хулганы нойр булчирхайн эдийн бүтцэд гарах өөрчлөлтийг судлах

Арга, аргачлал: Энэхүү судалгааг АШУУИС-ийн Судалгааны ёс зүйн хяналтын хорооны ёс зүйн зөвшөөрөлийн дагуу, туршилтын амьтантай харьцах ёс зүйн удирдамжийг баримтлан туршилт судалгааны аргаар хийж гүйцэтгэв. Судалгаанд C57BL/6 үлдрийн 6-8 долоо хоногтой хулганыг санамсаргүйгээр хоёр бүлэгт хуваан эхний бүлгийн хулганыг туршилтын 1-р бүлэг-эрүүл хяналтын бүлэгт оруулж үлдсэн хулгануудад Аллоксан моногидратийг 200mg/kg тунгаар бодож 1 удаа хэвлийн хөндийд тарьж чихрийн шижин өвчний эмгэг загвар үүсгэсэн. Аллоксан тарьснаас хойш цусан дахь глюкозын хэмжээ тогтмол 200 мг/дл (11.1 ммоль/л) ба түүнээс дээш болсон тохиолдолд чихрийн шижин өвчний эмгэг загвар үүссэн гэж үзэн туршилтыг эхэлсэн. Эдийн шинжилгээнд нойр булчирхайн бичил бэлдмэлийг Гематоксиллин-Эозин будгуудаар будаж, микроскоп (Olympus BX53, Japan)-оор харж эмгэг эд судлалын шинжийг тодорхойлон зураг (DP2-SAL; Olympus, Japan) авсан. Эд судлалын аргаар бэлтгэсэн бичил бэлдмэлд эримоногистохимийн автомат будалтын аргаар (Ventana benchmark GX систем) стандарт протоколын дагуу анти-инсулин болон анти-глюкагон эсрэгбиеийг ашиглан шинжилгээг хийж, микроскопоор (Nikon DS-Fi2, DS-L3) харж ажиглалт явуулж зураг авсан. Эерэг будагдсан эсүүдийн чанарын үзүүлэлтийг тоон утганд шилжүүлэхийн тулд Amscore 3.7 программ (AmScope Irvine, USA) ашиглан бэтта эсийн эзлэх хувийг тооцсон. Эерэг будагдалтыг J score үнэлгээний аргаар, (0)-будагдаагүй, (1+)-будагдсан<1%, (2+)-1%<будагдсан<10%, (3+)-будсан>10% тогтоож будгийн үнэлгээг, сөрөг-0 оноо, тодорхойгүй-1 эсвэл 2 оноо, эерэг-3 оноо гэж тооцсон. Статистик боловсруулалтын математик үйлдлүүдийг SPSS 21.0 (IBM Corp., USA), Microsoft Office Excel болон GraphPad Prism 9.0 (GraphPad, La Jolla, USA) программыг ашиглан хийж гүйцэтгэв.

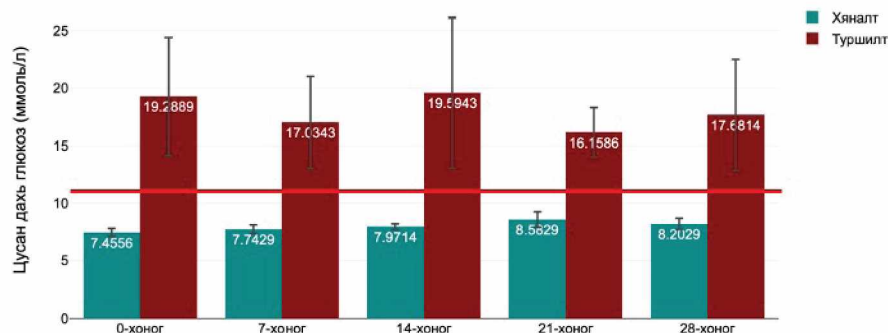
Үр дүн: Бид C57BL/6 үлдрийн хулганыг эрүүл хяналт (ЭХ), аллоксаны чихрийн шижинтэй (АЧШ) бүлэгт хуваан туршилт судалгаа хийн хулганы биеийн жин, ийлдэсийн глюкоз, инсулин, глюкоз толеранс тестийг үзэж үр дүнг тодорхойллоо. АЧШ хулгануудад биеийн жингийн алдагдал болон цусан дахь глюкозын хэмжээ ихэссэн нь ажиглагдсан. (Хүснэгт 1, Зураг 1) Туршилтын эхэнд бүх бүлгийн хулгануудын биеийн жин 20.37 ± 2.43 гр, 20.18 ± 2.36 гр байсан. Дөрвөн долоо хоногийн туршилтын дараа АЧШ туршилтын бүлгийн хулгануудын биеийн жингийн алдагдал 20.77% (АЧШ 17.58 ± 1.63 гр) болсон. (Хүснэгт 1)

Хүснэгт 1. Аллоксаны чихрийн шижинтэй хулганы биеийн жин (грамм)-гийн үзүүлэлтийг тодорхойлсон дүн

	Хяналтын бүлэг	Туршилтын бүлэг
0	20.37±2.43	20.18±2.36
7 хоног	20.58±1.96	17.72±2.19***
14 хоног	21.35±2.15	18.36±2.75***
21 хоног	22.12±1.5	17.66±2.82***
28 хоног	22.19±1.54	17.58±1.63***

Тайлбар: ($\pm SD$), * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

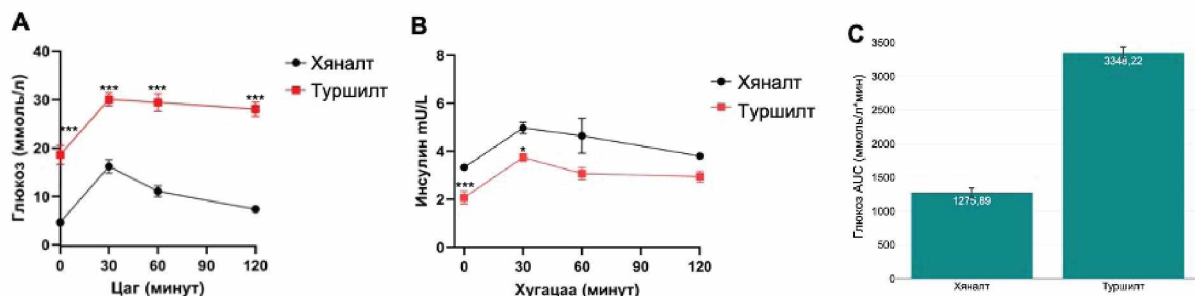
АЧШ туршилтын бүлгийн хулгануудын цусан дахь глюкозын хэмжээ ЭХ бүлэгтэй харьцуулахад харьцангуй их байгаа нь тодорхойлогдлоо (ЭХ 8.2 ± 0.66 ммоль/л, АЧШ 17.68 ± 6.51 ммоль/л, $P < 0.001$). Энэ үзүүлэлт дөрвөн долоо хоногийн туршилтын эцэс хүртэл хадгалагдсаар байсан. (Зураг 1)



Зураг 1. Цусан дахь глюкоз (ммоль/л)-ын үзүүлэлтийг судалсан дүн

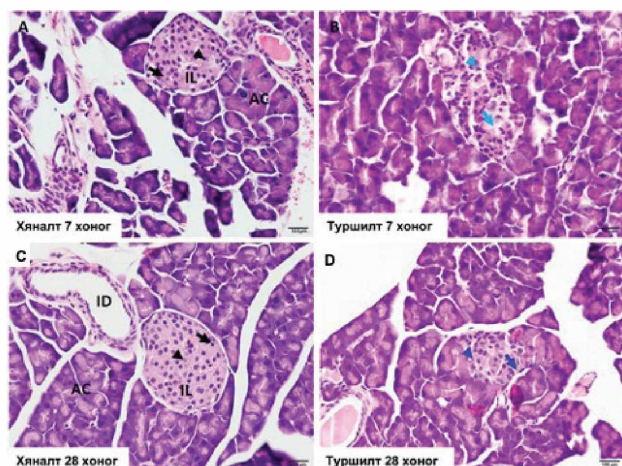
Туршилтын хоёр бүлгийн хулгануудын цусан дахь глюкозын хэмжээ глюкозыг (2 г/кг БЖ) тарьсны дараах 30 минутад хамгийн дээд түвшинд (ЭХ 16.21 ± 1.37 ммоль/л, АЧШ 30.08 ± 1.39 ммоль/л) хүрч, хугацааны явцад тогтмол буурч буй дүр зураг харуулсан. (Зураг 2А) Глюкоз толеранс тестийн 120 минутад чихрийн шижинтэй хяналтын бүлгийн хулгануудын цусан дахь глюкозын түвшин эрүүл хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад үнэн магадтай их байсан (АЧШ

28.04 ± 1.44 ммоль/л, ЭХ 7.38 ± 0.45 ммоль/л, $P < 0.001$). (Зураг 2В) Ийлдэсийн инсулины түвшин глюкозыг тарьсны дараах 30 минутад нэмэгдсэн (3.74 ± 0.15 mU/L, Туршилт; $P < 0.05$) 120 минут хүртэл жигд ихсэж байсан ч бүлгүүдийн хооронд статистик ялгаа ажиглагдаагүй. ЭХ бүлгийг АЧШ туршилттай харьцуулахад муруй доорх талбай 61.88% (Туршилт, AUC) ихэссэн ($P < 0.001$) ялгаатай үр дүн харуулсан. (Зураг 2С)



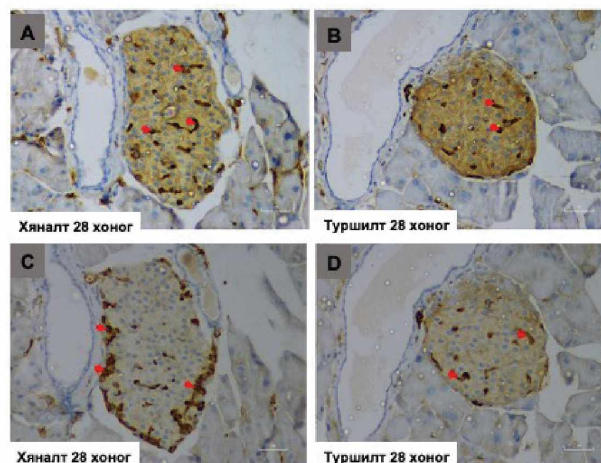
Зураг 2. Аллоксаны чихрийн шижинтэй хулганы цусан дахь глюкоз ба ийлдэсийн инсулины түвшинд гарах үр нөлөө. А. Цусан дахь глюкозын хэмжээ. В. Ийлдэсийн инсулины түвшин. С. Муруй доорх талбай (AUC). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.001$.**

Гематоксилин-Эозин будгаар будсан хяналтын бүлгийн хулганы нойр булчирхайн эдэд Лангергансын арал дугуй болон зуувандуу зөв хэлбэртэй, бүтэц хадгалагдсан гадуураа маш нимгэн тод бүрхүүлээр гадаад шүүрлийн хэсгээс тусгаарлагдсан хүчилсэг будагдсан эсүүд арлын захаар, суурилаг эсүүд арлын төв хэсэгт бүтэц хэвийн зураглалтай, ацинусын бүтэц хадгалагдсан харагдаж байлаа. (Зураг 3А, С). Аллоксаны чихрийн шижинтэй туршилтын бүлгийн хулганы нойр булчирхайн арлуудад, голчлон арлуудын төвд дегенератив өөрчлөлтийг үүсгэсэн. Арлын хэлбэр зөв биш, арлын төв хэсгээр харьцангуй сийрэгжиж, үхэжсэн (кариолизис) эсүүд ажиглагдсан. Гадаад шүүрлийн хэсэгт ацинусын бүтэц хадгалагдсан, ациноцит эсүүдийн бөөм тод хөх өнгөөр будагдсан, зарим нэг ациноцит эсүүдийн сийвэн бөөмийн харьцаа алдагдаж сийвэндээ хоосовч агуулсан, таславч хоорондын зай олширсон, цайвар өнгөтэй харагдаж байлаа. (Зураг 3В, D).



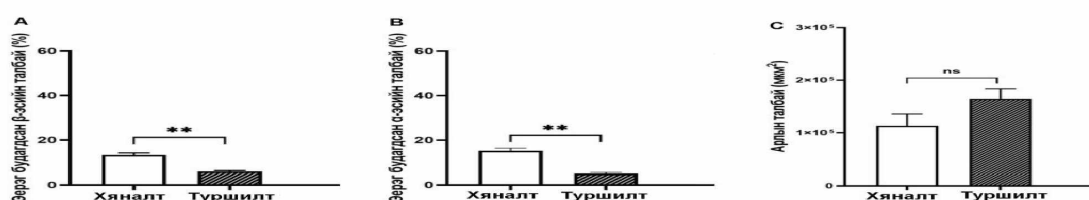
Зураг 3. Н&Е-ээр будсан хулганы нойр булчирхайн хэсгүүдийн бичил бүтцийн фото зураг. А. Хяналтын бүлэг (7-хоног). В. Туршилтын бүлэг (7-хоног). С. Хяналтын бүлэг (28-хоног). D. Туршилтын бүлэг (28-хоног). Будаг: Гематоксилин-Эозин, Өсгөлт: x400, scale bar = 100µm.

Нойр булчирхайн Лангергансын арлын инсулин ялгаруулдаг эсүүд буюу β-эсүүд нь арлын гол эсийн ихэнхийг төлөөлдөг бөгөөд ЭХ-ын бүлэгт эдгээр эсүүдийн эерэг илэрхийлэл арлын төв хэсгээр байрлаж байлаа. Инсулины эерэг илэрхийлэл нь β-эсийн цитоплазмд байдаг хар хүрэн мөхлөг хэлбэрээр, бөөм цэнхэр өнгөөр харагдсан. (Зураг 4А, В) Глюкагон эерэг илэрхийлэл нь α-эсийн цитоплазмд байдаг хар хүрэн мөхлөг хэлбэрээр, бөөм цэнхэр өнгөөр харагдсан. (Зураг 4С, D)



Зураг 4. Нойр булчирхайн арлын иммуногистохимийн будгийн бичил бүтцийн фото зураг, туршилтын 28 дахь хоногт. А. Хяналтын бүлэг (инсулин эерэг). В. Туршилтын бүлэг (инсулин эерэг). С. Хяналтын бүлэг (глюкагон эерэг). D. Туршилтын бүлэг (глюкагон эерэг). Будаг: Anti-glucagon immunostain, Өсгөлт: x400, scale bar = 100µm.

Инсулин эерэг будагдсан эс (β-эсийн эерэг илэрхийлэл)-ийн талбайн эзлэх хувь ЭХ-ын бүлэгт 13.37 ± 0.89 , АЧШ туршилтын бүлэгт 6.01 ± 0.39 , байв. (Зураг 5А) Глюкагон эерэг будагдсан эс (α-эсийн эерэг илэрхийлэл)-ийн талбайн эзлэх хувь ЭХ-ын бүлэгт 15.27 ± 1.11 , АЧШ туршилтын бүлэгт 5.01 ± 0.58 байв. (Зураг 5В)



Зураг 5. Нойр булчирхайн Лангергансын арал болон арлын эерэг будагдсан эсийн талбайн үзүүлэлт. А. Эерэг будагдсан β-эсийн талбайн эзлэх хувь. В. Эерэг будагдсан α-эсийн талбайн эзлэх хувь. С. Лангергансын аралын талбайн үзүүлэлт. (Dunnett's multiple comparisons test one-way ANOVA), *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001

Хэлцэмж: А.А.Титова (2019) нарын судалгааны морфометрийн үр дүнгээс харахад нойр булчирхайн арлын инсулин эерэг будагдсан эсийн тоогнийтэсийнтоондхарьцуулсанхарьцаа81.33% байсан ба энэ үзүүлэлт аллоксан тарьснаас 12, 24, 48 цагийн дараа 56.32 %, 58.39%, 4.67% болж буурсан ($p<0.05$). Мөн глюкогаоны эсрэг эсрэгбиеээр будагдсан нойр булчирхайн арлын глюкогон эерэг эсийн хувийг эрүүл хяналтын бүлэг (35.46%)-тэй харьцуулахад аллоксаны чихрийн шижинтэй бүлэгт аллоксан тарьснаас 12, 24, 48 цагийн дараа 60.01%, 55.87%, 61.91% болж нэмэгдсэн ($p<0.05$) байна. Инсулин эерэг эсийн эзлэх хувь буурах үед глюкогон эерэг эсийн эзлэх хувь нэмэгдэх төлөвтэй байгаа хэдий ч α болон β -эсийн нийлбэр хувь нь 12 ба 24 цагийн үед 100%-иас дээш байсан нь нойр булчирхайн арлын зарим эсүүд инсулин ба глюкогаоныг хамт илэрхийлж (co-expression) байна гэж судлаач А.А.Титова (2019) нар үзсэн байна. Мөн нойр булчирхайн арлын талбай эрүүл хяналтын бүлэгт 9181.82 мкм² байсан нь аллоксан тарьснаас 12, 24, 48 цагийн дараа 15418.88 мкм², 20469.12 мкм²,

17398.59 мкм² болж нэмэгдсэн байна.¹¹ Бидний судалгаагаар инсулин эерэг будагдсан эсийн талбайн эзлэх хувь ЭХ-ын бүлэгтэй харьцуулахад АЧШ туршилтын бүлэгт буурсан нь А.А.Титова (2019) нарын судалгааны үр дүнтэй ойролцоо байлаа. Харин глюкогон эерэг будагдсан эсийн талбайн эзлэх хувь ЭХ-ын бүлэгтэй харьцуулахад аллоксаны АЧШ туршилтын бүлэгт буурсан байсан нь ялгаатай байлаа. АЧШ туршилтын бүлгийн хулганы нойр булчирхайн Лангергансын арлын талбайг ЭХ-ын бүлэгтэй харьцуулахад арлын талбайн хувь ихэссэн нь А.А.Титова (2019) нарын судалгааны үр дүнтэй ойролцоо байлаа.

Дүгнэлт:

1. Үйл ажиллагааны сорилын үр дүнгээс харахад глюкоз хамааралт инсулины ялгарал туршилтын 28 хоногийн дараа идэвхтэй хэвээр байгааг тодорхойллоо.

2. Аллоксаны нөлөөгөөр үүсч буй үхжил, апоптоз нь нойр булчирхайн Лангергансын арлын инсулин болон глюкогон эерэг будагдсан эсүүдийн эзлэх хувийг бууруулж байна.

Ном зүй:

1. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*. Feb 2008;51(2):216-226.
2. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological research*. 2001;50(6):537-546.
3. Lenzen S, Tiedge M, Jörns A, Munday R. Alloxan derivatives as a tool for the elucidation of the mechanism of the diabetogenic action of alloxan. In: Shafir E, ed. *Lessons from Animal Diabetes VI: 75th Anniversary of the Insulin Discovery*. Boston, MA: Birkhäuser Boston; 1996:113-122.
4. Tasaka Y, Inoue Y, Matsumoto H, Hirata Y. Changes in plasma glucagon, pancreatic polypeptide and insulin during development of alloxan diabetes mellitus in dog. *Endocrinologia japonica*. Jun 1988;35(3):399-404.
5. Jörns A, Munday R, Tiedge M, Lenzen S. Comparative toxicity of alloxan, N-alkylalloxans and ninhydrin to isolated pancreatic islets in vitro. *The Journal of endocrinology*. Nov 1997;155(2):283-293.
6. Lenzen S, Panten U. Alloxan: history and mechanism of action. *Diabetologia*. Jun 1988;31(6):337-342.
7. Ben Abdallah Kolsi R, Bkhairia I, Gargouri L, et al. Protective effect of Sargassum vulgare sulfated polysaccharide against molecular, biochemical and histopathological damage caused by alloxan in experimental diabetic rats. *Int J Biol Macromol*. 2017;105 (Pt1):598–607. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.07.079.
8. Mir SH, Darzi MM. Histopathological abnormalities of prolonged alloxan-induced diabetes mellitus in rabbits. *Int J Exp Pathol*. 2009;90(1):66–73. doi:10.1111/j.1365-2613.2008.00615.x.
9. Ezejirofor AN, Orish CN, Orisakwe OE. Morphological changes in the pancreas and glucose reduction of the aqueous extract of *Costus afer* leaf on alloxan-induced diabetic rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2015;26 (6):595–601. doi:10.1515/jbcpp-2014-0033.
10. Kikumoto Y, Sugiyama H, Inoue T, et al. Sensitization to alloxan-induced diabetes and pancreatic cell apoptosis in acatalasemic mice. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1802(2):240–246. doi:10.1016/j.bbdis.2009.10.009.
11. Titova AA, Mavlikeev MO, Kaligin MS, et al. Early ultra- and microstructural alterations in rat pancreas in alloxan-induced diabetes mellitus. *Ultrastructural pathology*. Jan 2 2020;44(1):61-70.

Results of a study of changes in pancreatic tissue structure in alloxan-induced diabetic mice

Nyamsurendejid D¹, Dolgorsuren A¹, Amgalanbaatar D¹, Avirmed A¹

¹Department of Anatomy, School of Biomedicine, MNUMS

E-mail: nyamsurendejid@mnumns.edu.mn, Tel: +976-88088539

Keywords:

diabetes, alloxan,
experimental animal

Background: Alloxan is a chemical compound commonly used in experimental animal models of diabetes. In 1943, Shaw Dunn and Mc-Letchie reported that alloxan causes specific necrosis of pancreatic β -cells in experimental animals, which led to the study of alloxan in relation to diabetes. In this study, we evaluated the structural changes in the pancreatic tissue of diabetic mice induced by alloxan.

Aim: To study the structural changes in the pancreatic tissue of diabetic mice induced by alloxan.

Materials and Methods: According to the protocol for establishing a diabetic model, alloxan monohydrate was injected intraperitoneally into 6- to 8-week-old C57BL/6 mice to develop a diabetic model and evaluate the structure of pancreatic tissue.

Results: Alloxan induced severe degenerative changes in the centers of the pancreatic islets of mice in the diabetic group. The islet shape was irregular, and the central part was relatively sparse; dead (karyolysis) cells were observed. In the exocrine part of the pancreas, the acinar structure was preserved; the nuclei of acinar cells were stained bright blue. The plasma-particle ratio of some acinar cells was lost, the plasma contained vacuoles, and the interstitial spaces were enlarged and appeared pale. On the 7th day of the experiment, the positive expression of β -cells in the pancreatic islets of mice in the diabetic group was reduced compared to the control group, and a necrotic area was observed. On the 28th day, the positive expression of β -cells was visible in the central part of the islet. When the qualitative characteristics of the positively stained cells of the islets of Langerhans were converted into quantitative values, the percentage of the area of insulin-positive stained cells was $13.37\% \pm 0.89\%$ in the control group and $6.01\% \pm 0.39\%$ in the diabetic group. The percentage of glucagon-positive stained cells in the control group was $15.27\% \pm 1.11\%$, and in the diabetic group was $5.01\% \pm 0.58\%$. The islet area of the pancreatic islets of Langerhans in the diabetic group was observed to be increased compared to the control group. This is thought to be due to the swelling of the islet cells and the formation of empty spaces created by necrotic cells.

Conclusion: The results of the functional assay showed that glucose-dependent insulin secretion was still active after 28 days of the experiment. Alloxan-induced necrosis and apoptosis reduced the percentage of insulin- and glucagon-positive cells in the islets of Langerhans.
