

Влияние однократного введения стрептозотоцина на метаболиты гиппокампа мышей линии NODSCID

Д.А. Тур, О.Б. Шевелев, М.Б. Шарапова, М.А. Золотых, А.Е. Акулов

Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

Значимое увеличение за последние годы числа людей с установленным диагнозом «сахарный диабет» выводит исследования, посвященные этой проблеме, в число наиболее актуальных. Продолжительная гипергликемия, сопровождающая развитие и течение сахарного диабета 1-го типа (СД1), может отразиться на функциональном и структурном уровне организации работы головного мозга. В основе подобных реакций может лежать изменение метаболизма. Общепринятым методом прижизненного выявления метаболических реакций в организме служит магнитно-резонансная спектроскопия (МРС). В настоящей работе для оценки влияния стрептозотоцина (СТЗ) и хронической гипергликемии, обусловленной отсроченным эффектом СТЗ, реализованным через гибель β -клеток поджелудочной железы, проведена МРС гиппокампа мышей линии NOD.CB17-Prkdc^{scid}/NcrCrl (NODSCID) через 4 и 60 дней после введения СТЗ. Модель СД1 с введением СТЗ – самая распространенная в мировой практике. Вместе с тем остается открытым вопрос – существует ли краткосрочный эффект введения СТЗ на уровень детектируемых с помощью МРС метаболитов гиппокампа животных. В результате сравнения опытной группы животных с контролем выявлено отсутствие влияния СТЗ на метаболиты гиппокампа мышей NODSCID на 4-й день после его введения. Однако в другом сравнении животных опыта и контроля через 60 дней после введения СТЗ отмечаются увеличение содержания аланина и таурина и снижение содержания лактата. Таким образом, введение самого СТЗ не сказывается на метаболизме гиппокампа. Использование МРС является перспективным методом для оценки влияния СД1 на метаболизм головного мозга животных.

Ключевые слова: сахарный диабет 1-го типа; мыши линии NOD.CB17-Prkdc^{scid}/NcrCrl; магнитно-резонансная спектроскопия; стрептозотоцин; гиппокамп.

The effect of a single administration of streptozotocin on hippocampus metabolites in NODSCID mice

D.A. Tur, O.B. Shevelev, M.B. Sharapova,
M.A. Zolotykh, A.E. Akulov

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia

The significant increase in the number of people diagnosed with diabetes mellitus in recent years makes studies of this problem topical. The persistent hyperglycemia accompanying the development and course of type 1 diabetes mellitus (T1DM) can affect the functional and structural levels of the organization of the central nervous system. These changes may be mediated by metabolic aberrations. Magnetic resonance spectroscopy (MRS) is a common method of intravital detection of metabolic reactions. In this study, MRS of the hippocampus of NOD.CB17-Prkdc^{scid}/NcrCrl mice (NODSCID) was performed 4 days after the administration of streptozotocin (STZ) to assess the effect of STZ itself, and 60 days after the administration of STZ to another group of animals to assess the effect of chronic hyperglycemia caused by the delayed effect of STZ, involving the death of pancreatic β -cells. The simulation of T1DM by STZ administration is used worldwide. Nevertheless, the question remains whether there is a short-term effect of the introduction of STZ at the level of hippocampal metabolites recorded by MRS. The comparison of experimental and control animal groups revealed no effect of STZ on metabolites in the hippocampus of NODSCID mice on day 4 after its administration. In contrast, another comparison of the experimental and control animals on day 60 after STZ administration showed elevated contents of alanine and taurine, and a reduced lactate content. Thus, the introduction of STZ itself does not affect the metabolism of the hippocampus, and MRS is a promising method for assessing the effect of T1DM on brain metabolism in animals.

Key words: type 1 diabetes mellitus; NOD.CB17-Prkdc^{scid}/NcrCrl mice; magnetic resonance spectroscopy; streptozotocin; hippocampus.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Тур Д.А., Шевелев О.Б., Шарапова М.Б., Золотых М.А., Акулов А.Е. Влияние однократного введения стрептозотоцина на метаболиты гиппокампа мышей линии NODSCID. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(5):600-605. DOI 10.18699/VJ18.400

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Tur D.A., Shevelev O.B., Sharapova M.B., Zolotykh M.A., Akulov A.E. The effect of a single administration of streptozotocin on hippocampus metabolites in NODSCID mice. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(5):600-605. DOI 10.18699/VJ18.400 (in Russian)

Сахарный диабет 1-го типа (СД1) – распространенное хроническое заболевание, в основе которого лежит нарушение секреции инсулина и обмена веществ. СД1, особенно на фоне слабого гликемического контроля, неблагоприятно влияет на мозг (van Harten et al., 2006), может приводить к многочисленным осложнениям, в частности к развитию диабетической энцефалопатии. Ее признаки могут проявляться в атрофии белого и/или серого вещества как всего головного мозга, так и отдельных его структур. При этом структурные и метаболические отклонения зачастую носят сопряженный характер.

Клинические и экспериментальные исследования показали, что диабетическая энцефалопатия связана с нарушениями мозгового метаболизма (Northam et al., 2009), а протонная магнитно-резонансная спектроскопия (МРС) успешно используется для оценки подобных нарушений (Sarac et al., 2005; Heikkila et al., 2009; Mangia et al., 2013). Большинство исследований *in vivo* нарушений мозгового метаболизма на животных моделях сосредоточено на МРС гиппокампа (Biessels et al., 2001; Duarte et al., 2009; Wang et al., 2012; Moshkin et al., 2014), что обусловлено особенностями его организации и повышенной реакцией на воздействия (Revsin et al., 2009). И несмотря на то, что МРС головного мозга обладает относительно слабой селективностью, определяемые в ходе исследования метаболиты регистрируются как в нейронах и клетках глии, так и в межклеточном пространстве, результаты исследований актуальны для решения многих практических задач. С этой точки зрения полученная в ходе МРС информация об уровне метаболитов, участвующих в разных процессах функционирования головного мозга, позволяет качественно оценить изменение метаболизма при СД1 или влиянии веществ, моделирующих его.

Как известно, основной характеристикой СД1 является разрушение β -клеток поджелудочной железы с последующей недостаточной продукцией инсулина. В моделях на животных такое состояние достигается посредством введения ряда химических агентов, в частности стрептозотцина (СТЗ). Химически индуцированная модель диабета относительно проста – диабет обычно индуцируют за пять-семь дней (King, 2012), и дешева (Dufrane et al., 2006) – СТЗ синтезируется *Streptomyces achromogenes*. После введения СТЗ в организм он с помощью белка-переносчика глюкозы GLUT2 накапливается в β -клетках поджелудочной железы и вызывает алкилирование ДНК (Szkudelski et al., 2001). Происходит истощение NAD⁺ и снижение клеточного АТФ (Sandler, Swenne, 1983). Кроме того, СТЗ провоцирует появление свободных радикалов, которые способствуют повреждению ДНК и гибели β -клеток (Lenzen et al., 2008). Селективность СТЗ к клеткам поджелудочной железы не является абсолютной, и хотя СТЗ не способен проникать через гематоэнцефалический барьер, его высокие дозы могут привести к повышенной проницаемости барьера (Huber et al., 2006). В связи с этим в исследованиях, посвященных оценке метаболизма тканей головного мозга, представляется необходимым проверка краткосрочных эффектов СТЗ на метаболиты головного мозга, особенно структур, имеющих наиболее уязвимый гематоэнцефалический барьер. Наряду с этим некоторые линии мышей имеют различную

чувствительность к СТЗ, например, DBA/2 более чувствительны, чем C57BL/6, а последние – восприимчивее линии BALB/c (Gurley et al., 2006). Использование конкретных линий мышей целесообразно при исследованиях осложнений, вызванных СД1 и ориентированных на изучение метаболических основ формирования диабетической энцефалопатии. В работе (Schmidt et al., 2003) выявлено, что для изучения нейропатий подходящей моделью могут стать мыши линии NODSCID (non-obese diabetes severe combined immunodeficiency). Введение СТЗ мышам NODSCID приводит к устойчивой гипергликемии, которая провоцирует дистрофические изменения в нейронах, что может быть следствием генетического дефекта этой линии, так как животные имеют пониженную способность к восстановлению разрывов двуцепочечных ДНК. В то же время остается открытым вопрос об изменениях концентрации нейрометаболитов в ранние и поздние сроки после введения СТЗ, т.е. при эугликемии и устойчивой гипергликемии.

В настоящей работе у мышей линии NODSCID посредством однократной прижизненной МРС исследованы метаболические изменения в гиппокампе на разных сроках после введения СТЗ.

Материалы и методы

Объект исследования и условия содержания. В качестве объекта исследования использовали самцов мышей линии NOD.CB17-Prkdc^{scid}/NcrCtrl (NODSCID). Возраст животных в начале эксперимента был равен восьми неделям. Животные были выращены в SPF-виварии Центра генетических ресурсов лабораторных животных Института цитологии и генетики СО РАН.

На протяжении всего исследования животных содержали в индивидуально-вентилируемых клетках (OptiMice, США) группами по два животных при следующих условиях: освещение: 14C:10T; температура 22–24 °C; относительная влажность 40–50 %; режим питания и потребления воды *ad libitum*. В качестве питания использовали стандартный автоклавированный корм ssniff® R/M-H autoclavable V1534-3 для содержания грызунов (Sniff, Германия), питья – очищенную стерильную воду с добавлением необходимого количества минеральных солей (минеральная добавка для воды «Северянка», Россия).

Схема исследования и манипуляции с животными. Проведена МРС гиппокампа одной группы животных через четыре дня после введения СТЗ – для оценки влияния самого СТЗ и другой группы через 60 дней после введения СТЗ – для оценки влияния хронической гипергликемии, обусловленной введением СТЗ и гибелью β -клеток поджелудочной железы.

В первой группе были контрольные и опытные животные по шесть особей. Перед исследованием у всех животных определяли массу тела и, исходя из нее, контрольным особям внутривенно вводили физиологический раствор, а опытным – СТЗ (Sigma, St. Louis, США) в дозе 150 мг/кг. Через четыре дня после введения всех животных подвергали процедуре МРС-сканирования.

Во второй группе были также контрольные и опытные животные по восемь особей. На животных проводили такие же манипуляции и тесты, как и в первой группе,

только МРС была проведена через 60 дней после введения СТЗ.

У всех животных измеряли концентрацию глюкозы в крови посредством электрохимического метода при помощи глюкометра Diacont (ООО «Диаконт», Москва, Россия) и индивидуальных тест-полосок этой же фирмы. Измерения проводили у всех животных до начала эксперимента, затем на 4-й день для первой группы животных и на 60-е сутки после введения СТЗ для второй группы. Забор крови осуществляли в искусственно созданный период отсутствия потребления корма из кончика хвоста животного, таким образом, она была смешанного типа, взятая натощак. По окончании МРС животных выводили из эксперимента методом цервикальной дислокации.

Все экспериментальные процедуры выполнены в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях, и одобрены Комиссией по биоэтике ИЦиГ СО РАН.

Магнитно-резонансная спектроскопия. Исследования проводили на горизонтальном томографе с напряженностью магнитного поля 11.7 Тесла (Bruker, BioSpec 117/16 USR, Германия). Животных наркотизировали с помощью изофлюрана в смеси кислорода (1.5%, скорость потока 300 мл/мин). Температуру тела поддерживали теплой водой (36 °С), циркулирующей через настольный лоток томографического сканера. Для контроля глубины анестезии использовали пневматический датчик дыхания (SA Instruments, Stony Brook, NY, США). Все изображения мозга и спектры были получены с использованием объемной ¹H радиочастотной катушки (500.3 МГц, диаметром 23 мм). Для правильного позиционирования спектроскопических вокселей, размер которых составлял 1.3 × 2.5 × 2.5 мм – 8.1 мм³, были получены T₂-взвешенные изображения (импульсная последовательность TurboRARE с параметрами: TE = 8 мс; TE_{eff} = 24 мс; TR = 2500 мс; RARE factor = 8, сканирование проведено в двух проекциях: аксиальной и сагиттальной, параметры изображений: толщина среза = 0.5 мм; расстояние между центрами срезов = 0.9 мм; поле зрения = 2 × 2 см; матрица = 256 × 256 пикселей; число усреднений = 5. Продолжительность сканирования для каждой проекции составила 6 мин 40 с. Размер вокселя позволил получить спектры с относительно высоким разрешением за приемлемое время регистрации – 10 мин. Все протонные спектры получены с помощью одновоксельной спектроскопии методом STEAM (Stimulated Echo Acquisition Mode Spectroscopy) с TE = 3 мс, TM = 20 мс и TR = 5000 мс, спектральной шириной 4000 Гц, числом точек 2048. Перед каждым спектроскопическим измерением сигнал воды подавляли с помощью переменной мощности импульса и оптимизированной задержки релаксации – VAPOR (Gruetter, 1993); проводили также настройку однородности магнитного поля в пределах выбранного вокселя с использованием методики FastMap (Bruker).

Спектры были обработаны специалистами разработанной программой, разработанной сотрудниками ИЦиГ СО РАН (Moshkin et al., 2014), по принципам аналогичной программному обеспечению LCModel (Provencher, 1993). Полученные спектры содержали пики следующих соеди-

нений: мио-инозитол, глицин, креатин, глутамат/глутамин, таурин, холиновые компоненты, аспарат, N-ацетил-аспарат, гамма-аминомасляная кислота (ГАМК), лактат, аланин, фосфорилэтанолламин.

Статистическая обработка данных. Все значения исследуемых параметров представлены в виде средней и стандартной ошибки (M ± SE). Нормальность распределения параметров проверяли критерием Колмогорова–Смирнова. Достоверность различий между группами: 1) контроль – опыт на 4-е сутки после введения СТЗ и 2) контроль – опыт на 60-е сутки после введения СТЗ, ввиду отсутствия множественного сравнения средних, оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента. Расчеты были выполнены с использованием программного пакета STATISTICA 6.0.

Результаты

В ходе проведения МРС получены данные по 12 метаболитам головного мозга. У животных на 4-е сутки после введения СТЗ уровни исследованных метаболитов достоверно не отличались от значений, зарегистрированных у контрольных особей (таблица). В начале исследования, перед введением СТЗ, концентрация глюкозы в крови у мышей в контроле составила 5.7 ± 0.2 ммоль/л, в опыте – 5.6 ± 0.2 ммоль/л. На 4-е сутки эти показатели были следующие: 6.0 ± 0.9 ммоль/л в контроле и 5.8 ± 0.9 ммоль/л в опыте.

Во второй группе животных у самцов опыта в сравнении с контролем обнаружены достоверные отличия: более высокие значения аланина и таурина и пониженное значение лактата (см. таблицу). У этих животных так же в начале исследования, перед введением СТЗ, произведены замеры концентрации глюкозы в крови: у мышей в контроле она составила 5.4 ± 0.3 ммоль/л, в опыте 5.6 ± 0.2 ммоль/л. На 60-е сутки эти показатели составляли: 6.8 ± 0.2 ммоль/л в контроле и 22.5 ± 2.0 ммоль/л в опыте.

Обсуждение

Полученные в результате исследования данные указывают на отсутствие эффектов СТЗ на метаболиты гиппокампа на 4-й день после введения, но наблюдаются эффекты на фоне развития гипергликемии. Так, в первой группе животных, в которой оценивалось непосредственное влияние СТЗ на метаболиты гиппокампа, не выявлено ни одного достоверного отличия в уровнях метаболитов между контрольными и опытными особями. Известно, что введение СТЗ в мировой практике – наиболее простой и удобный подход для получения устойчивой гипергликемии (King, 2012) и целесообразный для тестирования лекарств, методов лечения, а также работ, связанных с диабетическими осложнениями, включая диабетическую энцефалопатию (Jederstrom et al., 2005; Sheshala et al., 2009). Устойчиво гипергликемия формируется с 5–7-го дня после введения СТЗ. Несмотря на это, остается необходимость контроля возможного эффекта СТЗ на метаболизм головного мозга еще до наступления гипергликемии. Потенциально к таким эффектам может привести краткосрочное формирование гипогликемии в начальной стадии моделирования СД1 или неполное аккумуляирование СТЗ в панкреатических β-клетках. Однако в сравнении с аллоксаном – другим

Levels of hippocampus metabolites in NOD SCID mice determined by magnetic resonance spectroscopy *in vivo*

Metabolites	Day 4 after STZ			Day 60 after STZ		
	Control	STZ	<i>p</i>	Control	STZ	<i>p</i>
N-acetylaspartate	12.62 ± 0.29	13.11 ± 1.08	0.69	13.46 ± 0.49	13.08 ± 0.45	0.57
GABA	5.11 ± 0.61	5.08 ± 0.62	0.96	7.45 ± 0.26	7.07 ± 0.55	0.52
Alanine	3.17 ± 1.07	2.08 ± 1.55	0.59	4.04 ± 0.70	7.12 ± 0.95	0.01
Aspartate	0.38 ± 0.30	0.30 ± 0.07	0.79	1.69 ± 0.62	0.95 ± 0.31	0.31
Choline compounds	1.72 ± 0.17	1.73 ± 0.16	0.96	1.50 ± 0.15	1.47 ± 0.32	0.93
Creatine	10.73 ± 0.78	10.99 ± 2.39	0.92	12.03 ± 0.82	12.60 ± 1.17	0.69
Glutamate/Glutamine	11.45 ± 0.62	11.64 ± 1.51	0.91	8.69 ± 0.90	8.17 ± 0.66	0.64
myo-Inositol	1.54 ± 0.09	6.03 ± 4.61	0.38	6.71 ± 2.07	7.77 ± 2.09	0.72
Taurine	7.44 ± 0.35	7.37 ± 0.51	0.91	7.96 ± 0.58	10.25 ± 0.86	0.03
Glycine	18.70 ± 1.07	17.17 ± 6.65	0.83	13.92 ± 3.31	15.20 ± 3.14	0.78
Lactate	5.55 ± 1.04	3.56 ± 0.98	0.23	9.33 ± 1.37	4.23 ± 0.97	< 0.01
Phosphorylethanolamine	10.11 ± 1.94	9.28 ± 2.46	0.80	13.18 ± 1.46	12.07 ± 1.85	0.63

распространенным агентом для химически-индуцированного СД1 (у которого в фазу I уже в первые минуты после введения наблюдается гипогликемическая реакция как результат кратковременной повышенной стимуляции секреции инсулина) – при введении СТЗ эта гипогликемическая реакция не наблюдается, так как СТЗ не ингибирует глюкокиназу. Кроме того, СТЗ не имеет непосредственного прямого ингибирующего воздействия на транспорт глюкозы (Elsner et al., 2000) или фосфорилирование глюкокиназы (Lenzen et al., 1987). Вместе с тем СТЗ аналогичен по своему строению с глюкозой и переносится в клетку белком транспорта глюкозы GLUT2, но не распознается другими переносчиками глюкозы. Это объясняет его относительную селективную токсичность для β -клеток, поскольку они имеют высокие уровни GLUT2 (Schnedl et al., 1994). Поэтому наличие переносчика глюкозы GLUT2 в других органах приобретает особую значимость. Показано, что СТЗ потенциально способен приводить к повреждению почек или печени (Weiss, 1982; Qinna, Badwan, 2015), где также содержится GLUT2. Однако обеспечение GLUT2 увеличения пассивного транспорта СТЗ в этих органах ограничено из-за их низкой аффинности к глюкозе. Важно отметить, что головной мозг не имеет высокого уровня содержания GLUT2.

Результаты во второй группе животных во многом определены СД1 и формированием хронической гипергликемии, поскольку введение СТЗ со временем приводит как к необратимому некрозу β -клеток, так и к развитию периферической резистентности к инсулину. Метаболизм головного мозга при СД1 претерпевает серьезные изменения, которые наглядно демонстрируют данные МРС. По результатам нашей работы, у мышей опыта через 60 дней после введения СТЗ наблюдается достоверное повышение уровня таурина. Считается, что таурин вместе с креатином и мио-инозитолом участвует в осмотической регуляции мозга (Lien et al., 1990, 1991). Увеличение уровня таурина отмечается также в головном мозге крыс

с СТЗ-индуцированным сахарным диабетом (Rose et al., 2000). Подобная картина наблюдается и в клинической практике у пациентов с СД1 (Kreis, Ross, 1992; Geissler et al., 2003). Помимо этого, таурин, являясь одной из наиболее распространенных свободных аминокислот в центральной нервной системе, способствует улучшению энергетических процессов, стимулируя регенерацию при дистрофических заболеваниях и процессах, сопровождающихся значительным нарушением метаболизма (Timbrell et al., 1995; Hussy et al., 2000; Tanabe et al., 2010). Некоторые исследования показывают, что таурин может предотвратить или обратить церебральные и нейронные дисфункции, вызванные гипергликемией (Obrosova et al., 2001; Terada et al., 2011; Ito et al., 2012).

У животных после 60 дней с момента введения СТЗ происходит также снижение уровня лактата по отношению к контрольным особям. В литературе существуют противоречивые данные по уровню лактата на фоне СД1 и хронической гипергликемии. Некоторые исследователи отмечают повышение уровня лактата вплоть до возникновения гиперлактацидемической комы (Salceda et al., 1998). В других работах, наоборот, показано снижение уровня лактата (Lapidot, Haber, 2001; Wang et al., 2012). В нашем исследовании на фоне продолжительной гипергликемии мы наблюдаем, что аланин и лактат находятся в обратной связи.

По результатам полученных данных, можно отметить отсутствие влияния введения СТЗ на уровень метаболитов гиппокампа исследованных животных на 4-й день после введения. Наблюдается изменение в уровне метаболитов гиппокампа при продолжительном влиянии СТЗ, что реализуется не за счет самого СТЗ, но за счет токсичности СТЗ по отношению к β -клеткам поджелудочной железы, их гибели и формирования хронической гипергликемии. Таким образом, в модели химически-индуцированного сахарного диабета 1-го типа введение самого СТЗ не приводит к значительным изменениям уровня метаболитов

гиппокампа, а наблюдаемые на 60-й день после введения СТЗ изменения сопряжены с развитием хронической гипергликемии.

Acknowledgments

This study was supported by the Russian Science Foundation, project 17-75-10029. Use of the equipment of the Shared Access Center for Genetic Resources of Laboratory Animals (ICG SB RAS) was supported by project RFMEFI62117X0015.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Biessels G.J., Braun K.P., de Graaf R.A., van Eijdsden P., Gispen W.H., Nicolay K. Cerebral metabolism in streptozotocin-diabetic rats: an *in vivo* magnetic resonance spectroscopy study. *Diabetologia*. 2001; 44:346-353. DOI 10.1007/s001250051625.
- Duarte J.M., Carvalho R.A., Cunha R.A., Gruetter R. Caffeine consumption attenuates neurochemical modifications in the hippocampus of streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Neurochem*. 2009;111: 368-379. DOI 10.1111/j.1471-4159.2009.06349.x.
- Dufrane D., van Steenberghe M., Guiot Y., Goebbels R.M., Salliez A., Gianello P. Streptozotocin-induced diabetes in large animals (pigs/primates): role of GLUT2 transporter and beta-cell plasticity. *Transplantation*. 2006;15;81(1):36-45. DOI 10.1097/01.tp.0000189712.74495.82.
- Elsner M., Guldbakke B., Tiedge M., Munday R., Lenzen S. Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin. *Diabetologia*. 2000;43:1528-1533. DOI 10.1007/s001250051564.
- Geissler A., Frund R., Scholmerich J., Feuerbach S., Zietz B. Alterations of cerebral metabolism in patients with diabetes mellitus studied by proton magnetic resonance spectroscopy. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*. 2003;111(7):421-427. DOI 10.1055/s-2003-44289.
- Gruetter R. Automatic, localized *in vivo* adjustment of all first-and second-order shim coils. *Magn. Reson. Med*. 1993;29:804-811. DOI 10.1002/mrm.1910290613.
- Gurley S.B., Clare S.E., Snow K.P., Hu A., Meyer T.W., Coffman T.M. Impact of genetic background on nephropathy in diabetic mice. *Am. J. Physiol*. 2006;290(1):F214-F222. DOI 10.1152/ajprenal.00204.2005.
- Heikkilä O., Lundbom N., Timonen M., Groop P.H., Heikkinen S., Makimattila S. Hyperglycaemia is associated with changes in the regional concentrations of glucose and myo-inositol within the brain. *Diabetologia*. 2009;52:534-540. DOI 10.1007/s00125-008-1242-2.
- Huber J.D., VanGilder R.L., Houser K.A. Streptozotocin-induced diabetes progressively increases blood-brain barrier permeability in specific brain regions in rats. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol*. 2006;291(6):H2660-H2668. DOI 10.1152/ajpheart.00489.2006.
- Hussy N., Deleuze C., Desarménien M.G., Moos F.C. Osmotic regulation of neuronal activity: a new role for taurine and glial cells in a hypothalamic neuroendocrine structure. *Prog. Neurobiol*. 2000; 62(2):113-134. DOI 10.1016/S0301-0082(99)00071-4.
- Ito T., Schaffer S.W., Azuma J. The potential usefulness of taurine on diabetes mellitus and its complications. *Amino Acids*. 2012;42(5): 1529-1539. DOI 10.1007/s00726-011-0883-5.
- Jederstrom G., Grasjo J., Nordin A., Sjöholm I., Andersson A. Blood glucose-lowering activity of a hyaluronan-insulin complex after oral administration to rats with diabetes. *Diabetes Technol. Ther*. 2005; 7(6):948-957. DOI 10.1089/dia.2005.7.948.
- King A.J. The use of animal models in diabetes research. *Br. J. Pharmacol*. 2012;166(3):877-894. DOI 10.1111/j.1476-5381.2012.01911.x.
- Kreis R., Ross B.D. Cerebral metabolic disturbances in patients with subacute and chronic diabetes mellitus: detection with proton MR spectroscopy. *Radiology*. 1992;184(1):123-130. DOI 10.1148/radiology.184.1.1319074.
- Lapidot A., Haber S. Effect of endogenous beta-hydroxybutyrate on glucose metabolism in the diabetic rabbit brain: A C-13-magnetic resonance spectroscopy study of [U-C-13] glucose metabolite. *J. Neurosci. Res*. 2001;64(2):207-216. DOI 10.1002/jnr.1067.
- Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*. 2008;51(2):216-226. DOI 10.1007/s00125-007-0886-7.
- Lenzen S., Tiedge M., Panten U. Glucokinase in pancreatic B-cells and its inhibition by alloxan. *Acta Endocrinol*. 1987;115:21-29.
- Lien Y.H., Shapiro J.I., Chan L. Effects of hypernatremia on organic brain osmoles. *J. Clin. Invest*. 1990;85(5):1427-1435. DOI 10.1172/JCI114587.
- Lien Y.H., Shapiro J.I., Chan L. Study of brain electrolytes and organic osmolytes during correction of chronic hyponatremia. Implications for the pathogenesis of central pontine myelinolysis. *J. Clin. Invest*. 1991;88(1):303-309. DOI 10.1172/JCI115292.
- Mangia S., Kumar A.F., Moheet A.A., Roberts R.J., Eberly L.E., Seaquist E.R., Tkáč I. Neurochemical profile of patients with type 1 diabetes measured by 1H-MRS at 4T. *J. Cereb. Blood Flow Metab*. 2013;33:754-759. DOI 10.1038/jcbfm.2013.13.
- Moshkin M.P., Akulov A.E., Petrovski D.V., Saik O.V., Petrovskiy E.D., Savelov A.A., Koptuyg I.V. Proton magnetic resonance spectroscopy of brain metabolic shifts induced by acute administration of 2-deoxy-D-glucose and lipopolysaccharides. *NMR Biomed*. 2014;27:399-405. DOI 10.1002/nbm.3074.
- Northam E.A., Rankins D., Lin A., Wellard R.M., Pell G.S., Finch S.J., Werther G.A., Cameron F.J. Central nervous system function in youth with type 1 diabetes 12 years after disease onset. *Diabetes Care*. 2009;32:445-450. DOI 10.2337/dc08-1657.
- Obrosova I.G., Fathallah L., Stevens M.J. Taurine counteracts oxidative stress and nerve growth factor deficit in early experimental diabetic neuropathy. *Exp. Neurol*. 2001;172(1):211-219. DOI 10.1006/exnr.2001.7789.
- Provencher S.W. Estimation of metabolite concentrations from localized *in vivo* proton NMR spectra. *Magn. Reson. Med*. 1993;30(6):672-679. DOI 10.1002/mrm.1910300604.
- Qinna N.A., Badwan A.A. Impact of streptozotocin on altering normal glucose homeostasis during insulin testing in diabetic rats compared to normoglycemic rats. *Drug Des. Devel. Ther*. 2015;9:2515-2525. DOI 10.2147/DDDT.S79885.
- Revsin Y., Rekers N.V., Louwe M.C., Saravia F.E., De Nicola A.F., de Kloet E.R., Oitzl M.S. Glucocorticoid receptor blockade normalizes hippocampal alterations and cognitive impairment in streptozotocin-induced type 1 diabetes mice. *Neuropsychopharmacology*. 2009;34(3):747-758. DOI 10.1038/npp.2008.136.
- Rose S.J., Bushi M., Nagra I., Davies W.E. Taurine fluxes in insulin dependent diabetes mellitus and rehydration in streptozotocin treated rats. *Adv. Exp. Med. Biol*. 2000;483:497-501. DOI 10.1007/0-306-46838-7_55.
- Salceda R., Vilchis C., Coffe V., Hernandez-Munoz R. Changes in the redox state in the retina and brain during the onset of diabetes in rats. *Neurochem. Res*. 1998;23(6):893-897. DOI 10.1023/A:1022467230259.
- Sandler S., Swenne I. Streptozotocin, but not alloxan, induces DNA repair synthesis in mouse pancreatic islets *in vitro*. *Diabetologia*. 1983; 25(5):444-447.
- Sarac K., Akinci A., Alkan A., Aslan M., Baysal T., Ozcan C. Brain metabolite changes on proton magnetic resonance spectroscopy in children with poorly controlled type 1 diabetes mellitus. *Neuroradiology*. 2005;47:562-565. DOI 10.1007/s00234-005-1387-3.
- Schmidt R.E., Dorsey D.A., Beaudet L.N., Frederick K.E., Parvin C.A., Plurad S.B., Levisetti M.G. Non-obese diabetic mice rapidly develop

- dramatic sympathetic neuritic dystrophy a new experimental model of diabetic autonomic neuropathy. *Am. J. Pathol.* 2003;163(5):2077-2091. DOI 10.1016/S0002-9440(10)63565-1.
- Schnedl W.J., Ferber S., Johnson J.H., Newgard C.B. STZ transport and cytotoxicity. Specific enhancement in GLUT2-expressing cells. *Diabetes.* 1994;43(11):1326-1333. DOI 10.2337/diab.43.11.1326.
- Sheshala R., Peh K.K., Darwis Y. Preparation, characterization, and in vivo evaluation of insulin-loaded PLA-PEG microspheres for controlled parenteral drug delivery. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2009;35(11):1364-1374. DOI 10.3109/03639040902939213.
- Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol. Res.* 2001;50(6):537-546. DOI 10.1097/01.tp.0000189712.74495.82.
- Tanabe M., Nitta A., Ono H. Neuroprotection via strychnine-sensitive glycine receptors during post-ischemic recovery of excitatory synaptic transmission in the hippocampus. *J. Pharmacol. Sci.* 2010;113(4):378-386. DOI 10.1254/jphs.10150FP.
- Terada T., Hara K., Haranishi Y., Sata T. Antinociceptive effect of intrathecal administration of taurine in rat models of neuropathic pain. *Can. J. Anaesth.* 2011;58(7):630-637. DOI 10.1007/s12630-011-9504-8.
- Timbrell J.A., Seabra V., Waterfield C.J. The *in vivo* and *in vitro* protective properties of taurine. *Gen. Pharmacol.* 1995;26(3):453-462. DOI 10.1016/0306-3623(94)00203-Y.
- van Harten B., de Leeuw F.E., Weinstein H.C., Scheltens P., Biesels G.J. Brain imaging in patients with diabetes: a systematic review. *Diabetes Care.* 2006;29:2539-2548. DOI 10.2337/dc06-1637.
- Wang W.T., Lee P., Yeh H.W., Smirnova I.V., Choi I.Y. Effects of acute and chronic hyperglycemia on the neurochemical profiles in the rat brain with streptozotocin-induced diabetes detected using *in vivo* 1H MR spectroscopy at 9.4T. *J. Neurochem.* 2012;121:407-417. DOI 10.1111/j.1471-4159.2012.07698.x.
- Weiss R.B. Streptozocin: a review of its pharmacology, efficacy, and toxicity. *Cancer Treat. Rep.* 1982;66:427-438.