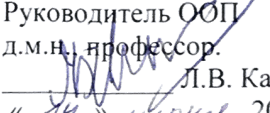


Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ (НИ ТГУ)
Факультет физической культуры
Кафедра спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ В ГЭК

Руководитель ООП

д.м.н., профессор.

 Л.В. Капилевич

« 14 » июня 20 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ
ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ДИНАМИЧЕСКОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ НА ОРГАНИЗМ
ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2 ТИПА У МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/6
по основной образовательной программе подготовки магистров
направление подготовки 49.04.01 – Физическая культура

Равцова Светлана Евгеньевна

Руководитель ВКР

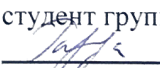
доцент, канд. биол. наук

 А. Н. Захарова

« 14 » июня 2019 г.

Автор работы

студент группы № 23713

 С. Е. Равцова

подпись

Томск–2019

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ (НИ ТГУ)
Факультет физической культуры
Кафедра спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины

УТВЕРЖДАЮ
Зав. кафедрой Л.В.Капилевич
« 11 » 09. 2019 г.

ЗАДАНИЕ

по подготовке ВКР _____ магистра _____
специалиста, бакалавра, магистра нужное вписать (напечатать)

студенту Равцовой Светлане Евгеньевне группы № 23713
фамилия, имя, отчество

1. Тема ВКР работы Оценка влияния физической нагрузки на организм при сахарном диабете 2 типа у мышей линии C57BL/6

2. Срок сдачи студентом выполненной ВКР:

а) на кафедре 05.06.2019

б) в ГАК 15.06.2019

3. Исходные данные к работе

Цель исследования: Оценить влияние динамической физической нагрузки на организм при сахарном диабете 2 типа сформированном у мышей линии C57BL/6 при помощи разработанной высокожировой диеты.

Задачи исследования:

- 1) Изучить теоретические аспекты формирования сахарного диабета 2 типа, средства и методы его лечения.
- 2) Оценить эффективность применения разработанной высокожировой диеты для формирования модели сахарного диабета 2 типа у мышей.
- 3) Изучить влияние динамической физической нагрузки на изменение массы тела, уровень глюкозы и инсулина в крови у мышей.

Объект исследования: лабораторные мыши разбитые на 4 групп с разным питанием и режимом физической активности.

Методы исследования:

- Анализ научно-методической литературы
- Наблюдение
- Сравнение
- Эксперимент

Методы оценки достоверности результатов: Статистическая обработка данных

4. Краткое содержание работы _____

В 1-ой главе идет обзор литературы, описаны теоретические аспекты формирования сахарного диабета 2 типа, перечислены модели ожирения и формирования сахарного диабета 2 типа у животных, изучено применение физической нагрузки для лечения и коррекции сахарного диабета 2 типа (февраль 2019 г.).

Во 2-ой главе описан процесс организации и методы исследования: объект исследования, диета, физическая нагрузка, методы сбора анализов, статистическая обработка данных (март 2019 г.).

В 3-ей главе описаны результаты исследования (апрель, май 2019 г.)

5. Указать предприятие, организацию, по заданию которого выполняется работа кафедра спортивно оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины факультета физической культуры НИ ТГУ

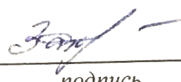
6. Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей)

7. Дата выдачи задания « 11 » 09 2018г.

Руководитель ВКР

кандидат биологических наук

(должность, место работы)

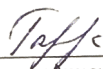


подпись

А. Н. Захарова

инициалы, фамилия

Задание принял к исполнению



дата, подпись студента

ОТЗЫВ НАУЧНОГО РУКОВОДИТЕЛЯ
на магистерскую диссертацию
магистранта Факультета физической культуры Томского государственного университета
Равцовой Светланы Евгеньевны
«Оценка влияния физической нагрузки на организм при сахарном диабете 2 типа у мышей
линии C57BL/6»

Равцова Светлана Евгеньевна обучалась в магистратуре факультета физической культуры с 2017 по 2019 гг. В период обучения активно занималась научной деятельностью и принимала участие в экспериментах на лабораторных животных. Исследование, проведенное в рамках магистерской диссертации, посвящено изучению влияния динамической физической нагрузки на организм при сахарном диабете 2 типа. Актуальность темы работы обусловлена широкой распространённостью сахарного диабета 2 типа и других факторов метаболического синдрома.

Диссертация Равцовой С.Е. является законченным научно-практическим трудом, выполненным на высоком уровне. Проведенные исследования и полученные на их основе выводы и положения обоснованы и достоверны. В диссертации проверена состоятельность экспериментальной модели создания сахарного диабета 2 типа у мышей на основе высокожировой диеты и изучено воздействие физической нагрузки на сформированный сахарный диабет 2 типа. Выполненные теоретические исследования достаточны для проверки диетической модели и для того, чтобы сделать верные выводы вследствие проведённого эксперимента с физической нагрузкой.

В процессе написания диссертации Равцова С.Е. проявила хорошие навыки работы с теоретическими материалами, а также навыки по анализу информации и ведению эксперимента. В ходе подготовки диссертации Равцова С.Е. проявила самостоятельность, дисциплинированность и инициативность.

Магистерская диссертация Равцовой Светланы Евгеньевны полностью отвечает требованиям, предъявляемым к магистерским диссертациям по направлению подготовки 49.04.01 «Физическая культура», и заслуживает оценки «отлично» с присвоением магистранту Равцовой Светлане Евгеньевне степени «магистр» по направлению подготовки 49.04.01 «Физическая культура».

Научный руководитель:
канд. биол. наук, доцент кафедры СОТСФим



Захарова А.Н.

«14» июня 2019 г.

РЕЦЕНЗИЯ

на магистерскую диссертацию
магистранта Факультета физической культуры Томского государственного университета
Равцовой Светланы Евгеньевны
«Оценка влияния физической нагрузки на организм при сахарном диабете 2 типа у мышей
линии C57BL/6»

Актуальность выбранной темы определяется распространённостью метаболического синдрома и сахарного диабета 2 типа в частности. На сегодняшний день ряд молекулярных механизмов в норме и в патологии остаётся недостаточно изученным, поиск способа лечения данного заболевания подходящий всем категориям больных остаётся актуальным. Особенно перспективным является направление поиска новых подходов к лечению с помощью экспериментальных моделей.

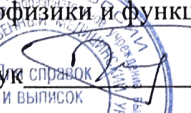
В диссертации Равцовой Светланы Евгеньевны верифицирована модель сахарного диабета 2 типа при помощи разработанной высокожировой диеты у мышей линии C57BL/6. Проведена оценка влияния динамической физической нагрузки (бег на беговой дорожке) на массу тела, показатели уровня глюкозы в крови и инсулина у мышей. Исследование проведено на высоком теоретическом и методологическом уровне. Материал в выпускной квалификационной работе изложен с соблюдением внутренней логики, между разделами прослеживается логическая взаимосвязь. Работа написана профессиональным языком и хорошо оформлена. Выводы в диссертации сформулированы грамотно.

Теоретические исследования в диссертации имеют глубокий уровень проработки, а разработанная в рамках диссертации модель формирования сахарного диабета 2 типа имеет практическую значимость в области поиска новых способов лечения и их апробации.

К недостаткам работы следует отнести относительно маленький срок исследования, возможно, стоило продлить срок воздействия на мышей жировой диеты для формирования дефектов не только в мышечной ткани, но и в клетках поджелудочной железы.

К положительным сторонам можно отнести высокий уровень проработки результатов применения высокожировой диеты. Описанные изменения могут быть полезны в широкой области исследования ожирения и резистентности к инсулину.

Магистерская диссертация Равцовой Светланы Евгеньевны полностью отвечает требованиям, предъявляемым к магистерским диссертациям по направлению подготовки 49.04.01 «Физическая культура», и заслуживает оценки «отлично» с присвоением магистранту Равцовой Светлане Евгеньевне степени «магистр» по направлению подготовки 49.04.01 «Физическая культура»,

Профессор кафедры биофизики и функциональной
диагностики СибГМУ
доктор медицинских наук  Носарев А.В.

Данные об авторе рецензии: Носарев Алексей Валерьевич – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры биофизики и функциональной диагностики, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет». Телефон: 8 (3822) 901-101 добавочный 1813. Адрес: г. Томск, ул. Московский тракт 2/7, блок Б, 2 этаж учебно-лабораторного корпуса СибГМУ.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	6
1.1 Теоретические аспекты формирования сахарного диабета 2 типа.....	6
1.2 Обзор моделей ожирения и формирования сахарного диабета 2-го типа у животных.....	13
1.3 Применение физических нагрузок для лечения и коррекции сахарного диабета 2 типа.....	20
ГЛАВА 2 ОРГАНИЗАЦИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	25
2.1 Описание объекта исследования.....	25
2.2 Описание диеты.....	26
2.3 Описание физической нагрузки.....	28
2.4 Методы исследования.....	30
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	33
3.1 Результат применения высокожировой диеты.....	33
3.2 Влияние физической нагрузки на исследуемые показатели.....	38
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	43
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	44

ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия основными факторами, определяющими трудоспособность и смертность населения развитых стран, являются заболевания, связанные с развитием и прогрессированием атеросклеротического процесса, — ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия и сахарный диабет 2-го типа (СД2). Одна из попыток объединить эти состояния привела к формированию понятия «метаболический синдром».

Впервые упоминание о кластере метаболических факторов риска, известном сегодня как метаболический синдром (МС), появилось в 1923 г. По разным данным, среди населения старше 30 лет распространенность МС составляет от 10 до 30% [8].

Метаболический синдром – это комплекс изменений, связанный с нарушением обмена веществ. Гормон инсулин перестает восприниматься клетками и не выполняет свои функции. В таком случае развивается инсулинорезистентность или нечувствительность к инсулину, что приводит к нарушению усвоения клетками глюкозы, а также патологическим изменениям всех систем и тканей.

На сегодняшний день, согласно 10-му международному классификатору болезней, метаболический синдром не считается отдельным заболеванием. Это состояние, когда организм одновременно страдает от четырех болезней:

- гипертонии;
- ожирения;
- ишемической болезни сердца;
- сахарного диабета 2-го типа.

Этот комплекс заболеваний приводит к очень тяжелым последствиям: атеросклерозу сосудов, снижению потенции и поликистозу яичников, инсульту и инфаркту.

Результатом заболеваний МС может стать:

- снижение трудоспособности;
- инвалидизация;
- снижение качества и продолжительности жизни.

В развитых странах, где большинство населения ведет малоподвижный образ жизни, 10-25% людей старше 30 лет страдают от данных нарушений. В старшей возрастной группе показатели возрастают до 40%. Так в Европе количество больных

превысило 50 млн человек. За ближайшие четверть века заболеваемость повысится на 50%.

За последние два десятилетия количество больных среди детей и подростков увеличилось до 6,5%. Такую статистику связывают с пристрастием к углеводной диете [12].

В основе развития метаболического синдрома лежит нечувствительность к инсулину – инсулинорезистентность. Медикаментозное лечение метаболического синдрома направленно на улучшение усвоения инсулина, стабилизацию уровня глюкозы и нормализацию жирового обмена.

Проведено немало исследований на тему влияния физической активности (ФА) на сахарный диабет 2-го типа, в которых выявлено как положительное, так и отрицательное влияние ФА на СД2. Это влияние зависит от интенсивности, объема и регулярности физической нагрузки. Чтобы подобрать правильную нагрузку необходимо выяснить механизм воздействия ФА на молекулярном уровне.

В данной работе было положено начало выявлению такого механизма. Была создана модель развития СД2 у лабораторных мышей, с помощью особой жировой диеты. Были проведены анализы, доказывающие наличие СД2 у экспериментальных особей. С помощью разработанной модели, последующее изучение механизмов влияния ФА на СД2 станет более быстрым, так как будет проводится на мышах.

Целью исследования является оценка влияния динамической физической нагрузки на организм при сахарном диабете 2 типа сформированном у мышей линии C57BL/6 при помощи разработанной высокожировой диеты.

Для достижения цели исследования потребовалось решить следующие **задачи**:

- изучить теоретические аспекты формирования сахарного диабета 2 типа, средства и методы его лечения;
- оценить эффективность применения разработанной высокожировой диеты для формирования модели сахарного диабета 2 типа у мышей;
- Изучить влияние динамической физической нагрузки на изменение массы тела, уровень глюкозы и инсулина в крови у мышей.

Объектом исследования являются лабораторные мыши линии C57BL/6 разбитые на 4 групп с разным питанием и режимом физической активности.

Предметом исследования является СД2 у мышей и изменение показателей определяющих СД2 при наличии физической нагрузки.

Гипотеза исследования: физическая нагрузка является эффективным средством противодействия развитию сахарного диабета 2 типа сформированном с помощью высокожировой диеты, физическая нагрузка позволяет сохранить чувствительность к инсулину, снизить гипергликемию и массу тела.

Новизна и научно-практическая значимость:

Метаболические нарушения – это сложное заболевание, при котором развиваются нарушения всех систем организма. Лечение данного заболевания комплексное и достаточно сложное, так как у больных, как правило, наблюдается наличие нескольких патологий и применение лекарственных препаратов ограничено противопоказаниями. Актуальным остается вопрос немедикаментозного лечения метаболических расстройств, в том числе и при помощи физических нагрузок. Новаторский характер исследования позволяет найти новые пути коррекции и лечения сахарного диабета 2 типа без лекарственных препаратов. В магистерской диссертации проведён первый этап исследования, в котором верифицирована модель формирования сахарного диабета 2 типа при помощи высокожировой диеты и проведена оценка влияния динамической физической нагрузки на показатели массы тела, глюкозы и инсулина в крови.

Структура диссертации:

Диссертация изложена на 45 странице машинописного текста и состоит из введения, трёх глав, заключения, списка литературы и приложений. Работа иллюстрирована 18 рисунками и 6 таблицами. Библиографический указатель включает 16 источников (из них 1 – на иностранном языке)

Глава 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Теоретические аспекты формирования сахарного диабета 2 типа

Метаболический синдром (МС) - сложное заболевание с высокой социально-экономической значимостью, которое считается мировой эпидемией. МС определяют как совокупность взаимосвязанных факторов, которые напрямую увеличивают риск ишемической болезни сердца (ИБС), других форм сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) и сахарного диабета 2-го типа (СД2) [9].

В 1988 г. G. Reaven описал комплекс симптомов назвав его синдром X, включавший гиперинсулинемию, нарушение толерантности к глюкозе (НТГ), гипертриглицеридемию, низкий уровень холестерина липопротеидов высокой плотности и артериальная гипертензия (АГ). Он впервые выдвинул гипотезу о том, что нарушения, объединенные синдромом, связаны единым происхождением – инсулинорезистентностью (ИР) и компенсаторной гиперинсулинемией, отметив важность описанных изменений для развития ИБС. В 1989 г. J. Kaplan дополнил комплекс симптомов МС абдоминальным ожирением. Более поздние работы G. Reaven и других исследователей подтвердили тесную связь абдоминального ожирения с ИР, другими гормональными и метаболическими нарушениями, которые в большинстве своем являются факторами риска развития СД 2-го типа и атеросклеротических заболеваний [10].

Исследования последних лет расширили компоненты метаболического синдрома, добавив к ним гиперурикемию, гомоцистеинемию, гиперандрогению у женщин, нарушения гемостаза. Наиболее часто в литературе используется термин «метаболический синдром» (метаболический синдром X), хотя прилагательное «дисметаболический» более точно отражает сущность патогенеза этого синдрома [16].

Среди важнейших метаболических нарушений выделяются следующие:

1. Нарушения углеводного обмена при отсутствии инсулина (или его действия) характеризуются гипергликемией, глюкозурией и гиперлактатацидемией.

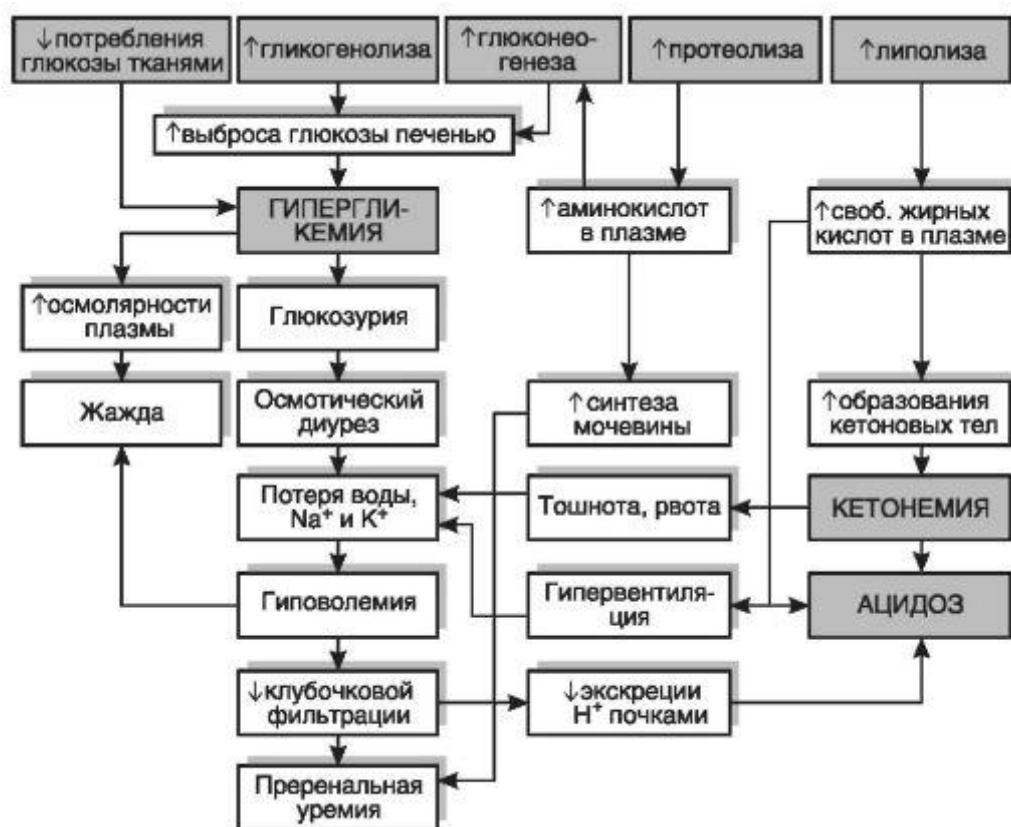


Рисунок 1 - Патогенез диабетического кетоацидоза.

Верхний ряд показывает основные метаболические эффекты при недостатке инсулина, которые вызывают все последующие изменения.

Гипергликемия обусловлена:

нарушением поступления глюкозы из крови внутрь клеток;

компенсаторным ускорением гликогенолиза;

активацией глюконеогенеза вследствие снятия репрессивного действия инсулина на синтез ключевых ферментов этого метаболического пути;

усилением секреции глюкокортикоидов, являющихся стимуляторами синтеза ключевых ферментов глюконеогенеза в печени и почках.

Глюкозурия и, как следствие, полиурия развиваются при достижении концентрации глюкозы в крови 9,9 ммоль/л, когда преодолевается почечный порог, и глюкоза появляется в моче.

2. Нарушения липидного обмена при отсутствии инсулина характеризуются усилением липолиза и снижением липогенеза.

3. Нарушения белкового обмена при отсутствии инсулина характеризуются преобладанием процессов катаболизма вследствие активации глюконеогенеза из глюкогенных аминокислот и снижения проницаемости клеточных мембран для

аминокислот, что приводит к недостатку в тканях свободных аминокислот и нарушению процесса синтеза белка. Стимулируется синтез мочевины, что характеризуется гиперазотемией и приводит к отрицательному азотистому балансу.

4. Нарушения кислотно-щелочного баланса организма развиваются в связи с накоплением кислых продуктов метаболизма в результате переключения аэробных путей утилизации глюкозы на анаэробный гликолиз с повышенной продукцией лактата и усиления кетогенеза. По мере истощения емкости буферных систем организма формируется декомпенсированный метаболический ацидоз.

5. Водно-солевой обмен и дегидратация клеток. Нарушения водного обмена при СД проявляются полиурией (суточный диурез достигает 4-10 л) и полидипсией (до 9 л воды в сутки), обусловленной гипогидратацией организма и гиперосмией крови в связи с гипергликемией, гиперазотемией, кетонемией, гиперлактатацидемией, повышением содержания отдельных ионов. Повышение осмотического давления крови сопровождается дегидратацией клеток, особенно чувствительны к этому клетки нервной ткани [14].

Выделение метаболического синдрома имеет огромное клиническое значение, поскольку, с одной стороны, это состояние является обратимым - при соответствующем своевременном лечении можно добиться исчезновения, или, по крайней мере, уменьшения выраженности основных его проявлений, а с другой стороны, оно предшествует возникновению сахарного диабета 2-го типа и атеросклероза – болезней, которые в настоящее время являются основными причинами смертности населения развитых стран [13].

Сахарный диабет – группа метаболических заболеваний, характеризующихся гипергликемией, которая является следствием дефектов секреции инсулина, действия инсулина или обоих этих факторов.

Гипергликемия – комплекс симптомов, вызванный абсолютной или относительной инсулиновой недостаточностью, сочетающийся со специфическими ангио- и нейропатиями на фоне хронической гипергликемии [2].

Нейропатия – расстройства нервной системы, связанные с поражением малых кровеносных сосудов. Патологический процесс затрагивает все нервные волокна: чувствительные, двигательные и вегетативные [3].

Ангиопатия – нарушение тонуса кровеносных сосудов, обусловленное расстройством нервной регуляции и проявляющееся склонностью к дистонии, преходящими спазмами и парезами сосудов [5].

Классификация СД:

- СД типа 1 - инсулинозависимый сахарный диабет, при котором имеет место резко выраженная недостаточность секреции инсулина β -клетками островков Лангерганса.

- При СД2 на первый план выступает недостаточность действия инсулина, развивается резистентность периферических тканей к инсулину.

Другие типы СД:

- Генетические дефекты функции β -клеток
- Генетические дефекты функции инсулина
- Заболевания экзокринной части поджелудочной железы
- Эндокринопатии
- СД, индуцированный лекарственными или химическими веществами
- Инфекции (Врожденная краснуха, цитомегаловирус)
- Необычные формы иммуноопосредованного диабета («Stiff-man»-синдром (синдром обездвиженности), аутоантитела к рецепторам инсулина, антитела к инсулину)
- Другие генетические синдромы, которые сочетаются с СД
- СД беременных или гестационный (возникает во время беременности).

Глюкоза – универсальный источник энергии для всех клеток организма, а для нейронов мозга единственный. Глюкоза поступает в организм из углеводов в пище, которые преобразуются под действием пищеварительных ферментов. В тонком кишечнике глюкоза всасывается в кровь и разносится по организму.

Чтобы глюкоза усвоилась клеткой, необходимо чтобы рецепторы инсулина на поверхности мембран этой клетки связались с инсулином, который вырабатывался специальными клетками поджелудочной железы, островками Лангерганса. В момент, когда рецептор инсулина связывается с инсулином, на поверхность клетки переносятся белки-транспортёры глюкозы, которые ранее были запасены в клетке. Белки-транспортёры захватывают глюкозу из крови, чтобы превратить её в энергию, которая либо сразу расходуется на нужды клетки, либо запасается в виде жира. На рисунке 2 показан механизм действия инсулина на клетку.

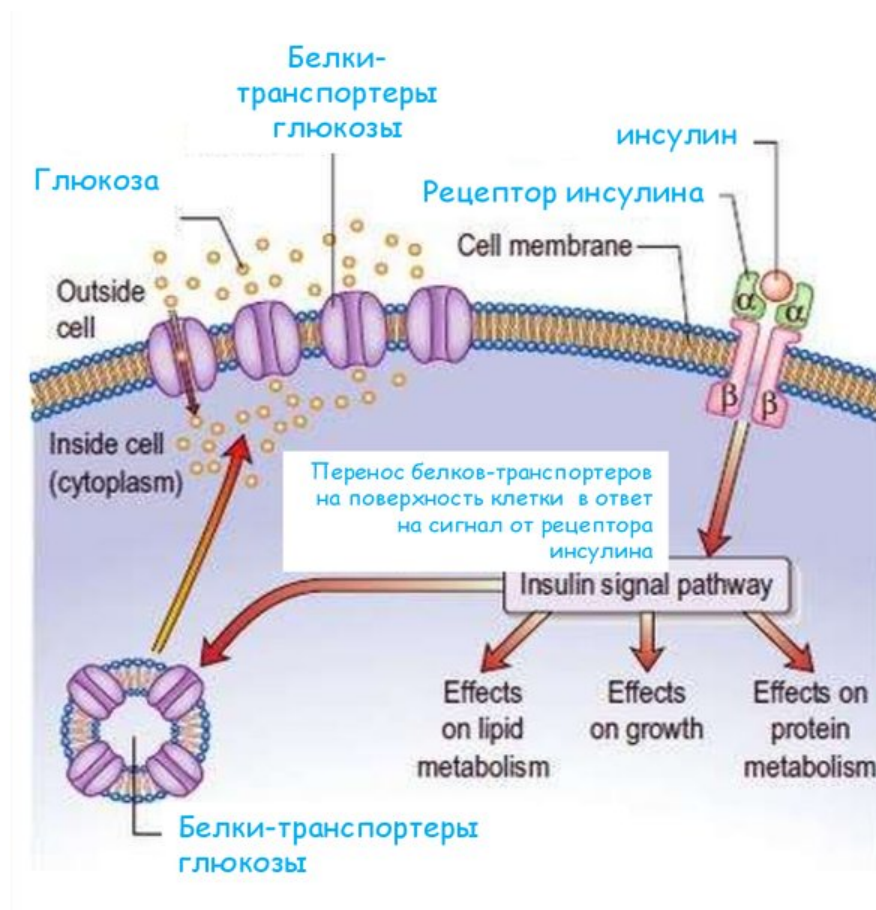


Рисунок 2 – Механизм действия инсулина на клетку

При СД1 этот механизм нарушается – островки Лангерганса перестают вырабатывать инсулин или вырабатывают его недостаточно, в результате чего глюкоза не может усвоиться клеткой. На рисунке 3 наглядно показан процесс образования СД1.

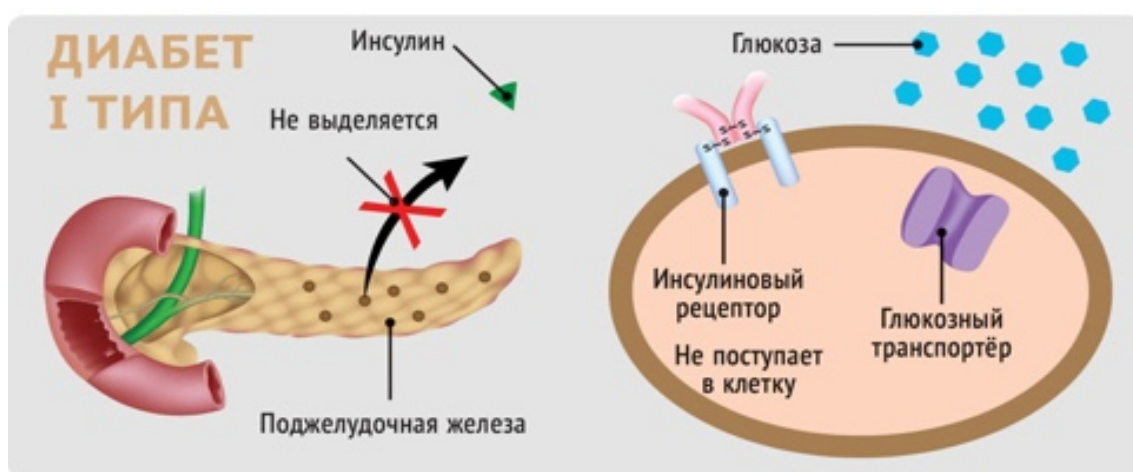


Рисунок 3 – Процесс образования СД1

При СД2 рецепторы инсулина перестают реагировать на поступление инсулина. Происходит это из-за большой выработки инсулина поджелудочной железой, что является

результатом переизбытка глюкозы в крови, которая не поступает в клетки. Поджелудочная железа получает от клеток сигнал, о нехватке глюкозы, и начинает работать ещё интенсивнее. В итоге потребность в инсулине растёт с каждым приёмом пищи [11]. Рисунок 4 наглядно показывает данный механизм.

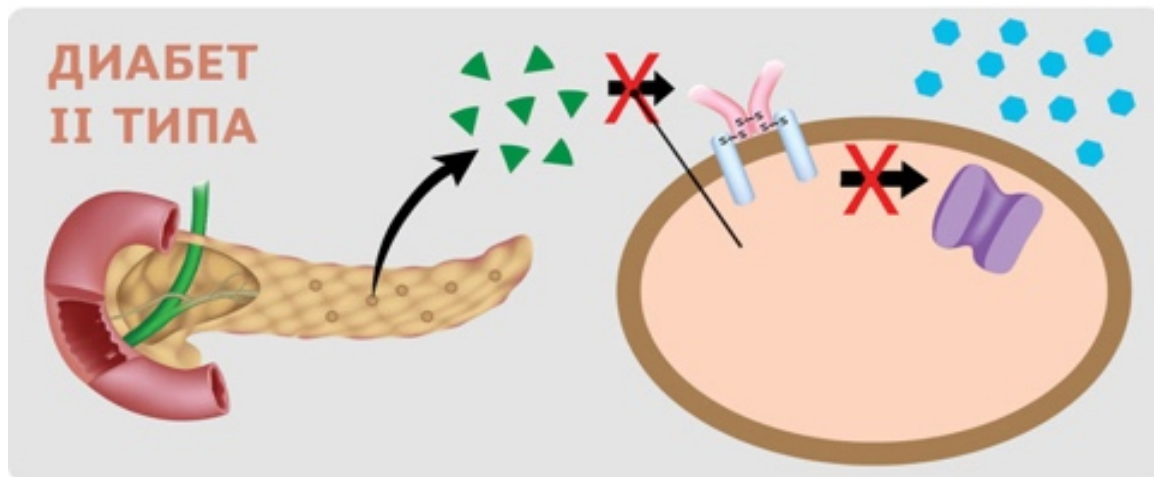


Рисунок 4 – процесс образования СД2

В таблице 1 приведено сравнение сахарного диабета 1 и 2 типов [2].

Таблица 1 – Сравнение сахарного диабета 1 и 2 типов

Признак	СД1	СД2
Пик манифестации	10-13 лет	40-60 лет
Этиология	Аутоимунное повреждение β -клеток островков Лангерганса	Инсулинорезистентность, большая выработка инсулина
Причины	Генетическая предрасположенность, действия триггерных факторов окружающей среды, активирующих механизмы прогрессирующего	Генетическая предрасположенность, особенности образа жизни: ожирение, гиподинамия, употребление в пищу большого количества рафинированных углеводов и низкое содержание клетчатки.

Продолжение таблицы 1 – Сравнение сахарного диабета 1 и 2 типов

Признак	СД1	СД2
	убывания β -клеток поджелудочной железы.	
Симптомы	Резкая потеря веса, сухость кожи, гнойничковые поражения кожи, ярко выраженная полидипсия, полиурия.	Висцеральное ожирение, быстрая утомляемость, постоянное чувство усталости, дневная сонливость, слабость. Кожа становится сухой, истончается, склонна к высыпаниям, грибковым поражениям.
Развитие заболевания	От нескольких часов (у детей) до нескольких недель	Пациенты приходят с последствиями СД2 через 5-8 лет после начала заболевания
Лечение	Диета, физические нагрузки, обучение пациента, самоконтроль и психологическая поддержка, гликемический контроль, препараты инсулина.	Диета, физические нагрузки, обучение пациента, самоконтроль и психологическая поддержка, гликемический контроль, препараты инсулина, сахаропонижающие препараты

Эпидемиологию СД в целом определяет СД2, поскольку на него приходится 90–95 % от всех случаев этого заболевания. Вклад СД1 в структуру СД составляет порядка 1,5–2 %, других специфических типов – около 1 % и гестационный СД вносит 2–3 %.

5–6 % населения Земли страдают СД. В Европе – около 4 % страдает от СД. При этом частота возникновения СД в значительной мере зависит от возраста. Так, заболеваемость СД у детей и подростков составляет 0,1–0,3 %, среди лиц моложе 50 лет – 1–2 % и в возрасте старше 65 лет – достигает 10 %. Каждые 10–15 лет в экономически развитых странах мира число людей с СД увеличивается в два раза.

1.2 Обзор моделей ожирения и формирования сахарного диабета 2-го типа у животных

В основе механизма возникновения СД 2 типа лежат две причины: инсулинорезистентность и дисфункция β -клеток.

Инсулинорезистентность бывает: пререцепторная, рецепторная и пострецепторная.

Пререцепторная инсулинорезистентность обусловлена такими механизмами как:

- 1) мутацией гена инсулина;
- 2) мутацией генов, контролирующих энергетический обмен в β -клетках и секрецию инсулина.

Рецепторная инсулинорезистентность связана с дефектом синтеза, ресинтеза или субстратной родственностью инсулиновых рецепторов на β -клетках и других клетках-мишенях, в основе которых лежат:

- 1) мутации гена инсулинового рецептора;
- 2) повышенное использование рецепторов инсулина;
- 3) уменьшение количества рецепторов инсулина на поверхности гипертрофированных клеток жировой ткани;
- 4) увеличение количества висцеральной жировой ткани, имеющей низкий уровень восприимчивости рецепторов к инсулину, что обуславливает ее изначальную инсулинорезистентность;
- 5) блокирование антителами инсулиновых рецепторов.

Пострецепторная инсулинорезистентность связана с патологией ассоциированных с рецепторами инсулина тирозинкиназы и глюкозных транспортеров. К этому могут привести:

- 1) повреждение внутриклеточной передачи инсулинового сигнала;
- 2) снижение чувствительности глюкозного транспортера 2 типа β -клеток поджелудочной железы к глюкозе;
- 3) снижение мембранной концентрации и активности глюкозного транспортера 4 типа в мышечной и жировой ткани;
- 4) снижение чувствительности глюкозного транспортера 2 типа к глюкозе в гепатоцитах;
- 5) нарушение обмена глюкозы в клетках-мишенях инсулина.

Наибольшее значение, вероятно, имеют рецепторная и пострецепторная инсулинорезистентность, которая по механизмам развития может быть первичной и вторичной.

Первичная инсулинорезистентность определяется генетическими механизмами перечисленными выше. Из-за этих нарушений повышается содержание инсулина в крови, это повышенное содержание сначала компенсируется, до тех пор пока поджелудочная железа способна увеличивать секрецию инсулина с тем, чтобы восполнить инсулинорезистентность тканей, толерантность к глюкозе остается в норме. В связи с этим самым ранним признаком СД2 является нарушение способности мышечных и жировых клеток проявлять реакцию на инсулин.

Постепенно β -клетки перестают поддерживать высокий уровень секреции инсулина, снижается толерантность к глюкозе, возникает дисфункция β -клеток что и приводит к развитию СД2. У больных СД2 имеет место нормальный или повышенный уровень инсулина, но его недостаточно для компенсации высокой гликемии.

Вторичную инсулинорезистентность связывают:

- с хронической гипергликемией, которая уменьшает чувствительность β -клеток, снижает их секреторную активность;
- с ожирением, в результате чего повышается продукция адипоцитами лептина;
- с нарушением количественного и качественного состава липопротеинов крови.

При развитии вторичной инсулинорезистентности дисфункция β -клеток с преобладанием дефекта секреции инсулина выходит на первый план.

Несмотря на различия патогенетических факторов, влияющих на инсулинорезистентность при развитии СД2, выделяют 3 уровня нарушений саморегуляции глюкозы:

- 1) нарушение восприятия глюкозы β -клетками поджелудочной железы и вследствие этого потеря первой фазы секреции инсулина.
- 2) инсулинорезистентность инсулинозависимых периферических тканей, что приводит к недостаточному транспорту и метаболизму глюкозы в клетках и гипергликемии.

3) увеличение уровня глюкозы натощак свидетельствует о повышении продукции ее печенью.

На рисунке 5 наглядно представлен патогенез СД 2.

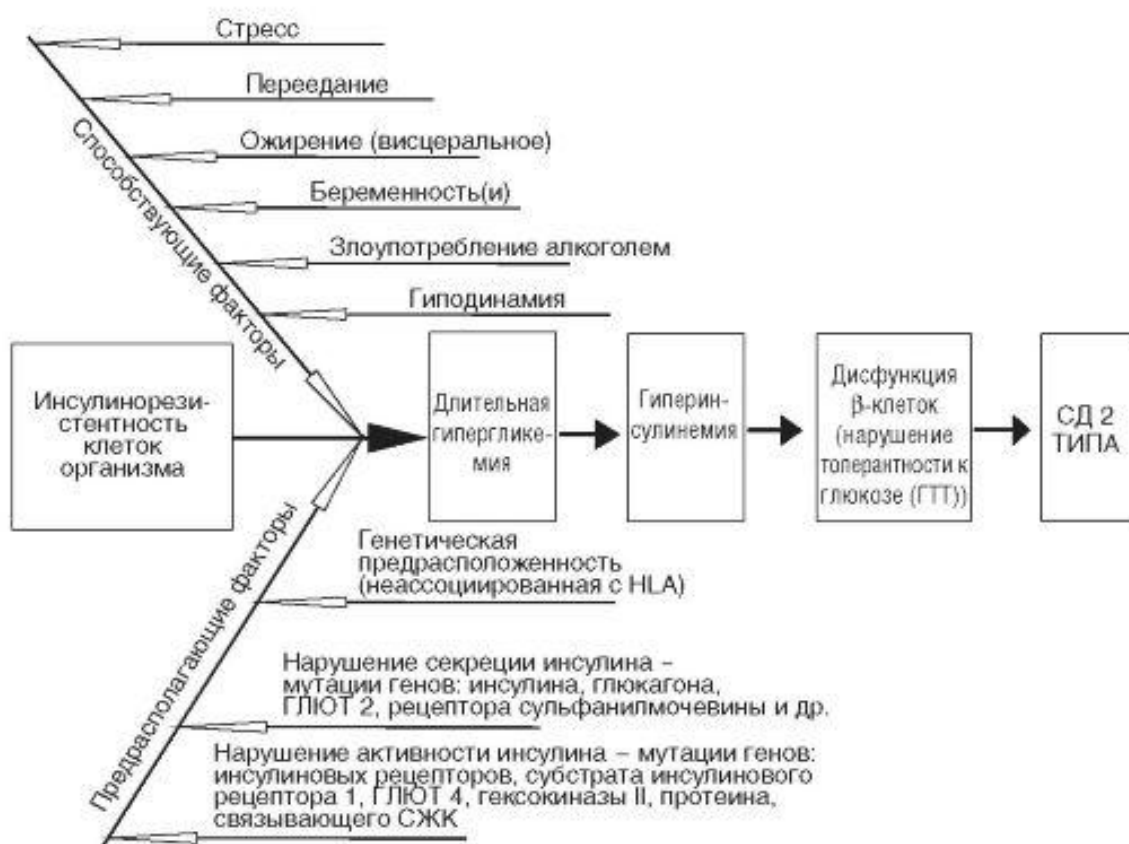


Рисунок 5 – Патогенез СД 2

Внешние факторы неблагоприятно влияющие на чувствительность тканей к инсулину, наибольшее значение имеют гиподинамия и избыточное потребление жира. Гиподинамия сопровождается снижением транслокации глюкозного транспортёра 4 типа в мышечных клетках и усиливает ИР мышечной ткани. Избыточное потребление животных жиров, содержащих насыщенные жирные кислоты, приводит к структурным изменениям мембранных фосфолипидов и нарушению экспрессии генов, контролирующих проведение инсулинового сигнала внутрь клетки (пострецепторные механизмы), что также усиливает ИР на уровне всего организма. Гипертриацилглицеролемиа, в особенности постпрандиальная, часто наблюдаемая у пациентов с висцеральным типом ожирения, сопровождается избыточным отложением липидов в мышцах, которое нарушает активность ферментов, участвующих в метаболизме глюкозы [15].

Метаболизм глюкозы у здоровых лиц и механизмы его нарушения.

В норме уровень глюкозы регулируется как инсулинозависимыми, так и инсулиннезависимыми процессами, которые вносят свой вклад как в ее регуляцию натощак, так и в постпрандиальном состоянии. Головной мозг и нервная система являются в основном инсулинонезависимыми; они автономно регулируют потребление глюкозы как энергетического источника с помощью транспортера глюкозы 1 типа. Мышечная и жировая ткани являются инсулинозависимыми. В качестве первичного источника энергии они могут использовать как глюкозу, так и кетоновые тела. То, какой вариант энергетического источника будет ими использоваться, первично определяется количеством инсулина, связанного с клеточными инсулиновыми рецепторами. В присутствии большого количества инсулина клетка преимущественно использует глюкозу, активно захватывая и метаболизируя ее или создавая запасы глюкозы в виде гликогена в мышцах или в виде жира в жировой ткани, при этом эффективно снижается уровень постпрандиальной гликемии. Когда уровень инсулина низкий, клетка переключается на метаболизм кетоны/свободные жирные кислоты со снижением утилизации глюкозы, вместо которой в качестве источника энергии используются свободные жирные кислоты, поступающие из кровотока. Желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) принимает участие в гомеостазе глюкозы, так как обеспечивает поступление глюкозы в организм при пищеварении. У больных с ИР или НТГ, дополнительное всасывание глюкозы в ЖКТ ухудшает уже нарушенные регуляторные механизмы гомеостаза глюкозы. Кроме того, в ЖКТ в ответ на прием пищи высвобождаются инкретины – гормоны, способствующие снижению постпрандиального уровня гликемии. Инсулин и глюкагон, секретируемые островковым аппаратом поджелудочной железы, регулируют гомеостаз глюкозы. Инсулин секретируется в качестве ответной реакции на повышение уровня глюкозы в плазме крови. Секретированный инсулин подавляет продукцию глюкозы печенью (гликогенолиз и глюконеогенез), стимулирует печеночную утилизацию и хранение глюкозы и регулирует утилизацию глюкозы в мышцах и, в меньшей степени, в жировой ткани. Печень осуществляет две основные функции, которые зависят от уровня инсулина. При низком уровне инсулина, например, при состоянии натощак, печень продуцирует глюкозу при гликогенолизе и глюконеогенезе и высвобождает ее для поддержания нормального уровня гликемии натощак. При умеренном или значительно повышенном уровне инсулина печень прекращает продукцию

глюкозы и захватывает глюкозу плазмы с последующим созданием ее запаса в виде гликогена.

В состоянии абсолютного голодания (этот термин употребляется в значении натошак) большая часть глюкозы метаболизируется инсулинонезависимыми тканями: 50% поглощает мозг и 25% утилизируется внутренними органами. Инсулинозависимые ткани, прежде всего мышцы, отвечают за утилизацию оставшихся 25% глюкозы. После поступления глюкозы в кишечник или парентерально этот баланс между утилизацией глюкозы тканями и продукцией глюкозы печенью нарушается. В этом случае поддержание нормального гомеостаза глюкозы зависит от трех очень точно скоординированных процессов: секреция инсулина, утилизации глюкозы тканями, подавление продукции глюкозы печенью.

Чувствительность периферических тканей к инсулину определяется наличием специфических рецепторов, функция которых опосредует стимулирующее влияние инсулина на утилизацию глюкозы тканями с участием глюкозных транспортеров. Связывание инсулина с рецептором приводит к широкому спектру клеточных реакций. Рецептор выполняет три основные функции: 1) с высокой специфичностью распознает в молекуле места связывания инсулина и осуществляет комплексообразование с последним с помощью α -субъединицы; 2) опосредует передачу соответствующего сигнала, направленного на активацию внутриклеточных процессов, путем конформационных изменений и активации тирозинкиназы β -субъединицы; 3) осуществляет эндоцитоз (погружение внутрь клетки) гормонорецепторного комплекса, что приводит к лизосомальному протеолизу инсулина с одновременным возвращением субъединицы к мембране клетки.

При СД2 в скелетных мышцах наблюдается нарушение активации инсулинового рецептора. Известно, что нарушение аутофосфорилирования инсулинового рецептора может приводить к прекращению дальнейшего каскада реакций, необходимого для действия инсулина, и ИР скелетных мышц.

После образования вторичного мессенджера активируется транспорт глюкозы. Это происходит с помощью транспортеров глюкозы – белков, расположенных на внутренней поверхности клеточных мембран и обеспечивающих перенос глюкозы внутрь клетки.

Как только глюкоза транспортировалась в клетку, инициируется ряд механизмов внутриклеточного метаболизма глюкозы. Глюкоза фосфорилируется глюкокиназой и гексокиназой и затем метаболизируется двумя путями: синтезом гликогена и гликолизом. Происходят эти процессы при участии ферментов, находящихся под контролем инсулина. Наиболее важными являются гликогенсинтаза (контроль образования гликогена) и пируватдегидрогеназа (регуляция окисления глюкозы). Во всех инсулинорезистентных состояниях, включая ожирение и СД2, снижение синтеза гликогена является основным внутриклеточным нарушением, ответственным за дефект действия инсулина. Причем при ожирении с нормальной или нарушенной толерантностью к глюкозе оно может быть частично компенсировано за счет гипергликемии. Дальнейшее прогрессирование нарушения толерантности к глюкозе с ожирением в СД2 связано с неспособностью гипергликемии компенсировать этот дефект в инсулинозависимой утилизации глюкозы тканями. Было также продемонстрировано снижение активности пируватдегидрогеназы в адипоцитах и мышцах больных СД2, хотя многие авторы считают это снижение вторичным по отношению к гипoinsулинемии и повышенному уровню свободных жирных кислот, другие не находят этому доказательств.

Можно предполагать, что у больных с нарушением толерантности к глюкозе и началом СД2 имеется слабовыраженная ИР, обусловленная уменьшением числа рецепторов к инсулину. У больных с высокой гипергликемией натощак и выраженной ИР преобладает пострецепторный дефект. Между двумя описанными проявлениями ИР при СД2 относительная значимость рецепторных и пострецепторных нарушений варьирует: по мере усиления ИР нарастает выраженность пострецепторного дефекта [6].

Несмотря на огромный прогресс молекулярно-генетических исследований, вопросы профилактики и лечения диабета до сих пор не разработаны на должном уровне. Учитывая неуклонно возрастающее число больных СД2, актуальной проблемой современной медицины продолжает оставаться разработка антидиабетических препаратов и других способов лечения, обладающих высокой терапевтической активностью и имеющих более совершенный профиль безопасности. Важным этапом разработки способов лечения СД или новых препаратов это - доклиническое исследование. Чтобы достоверно выявить механизм воздействия того или иного способа лечения на организм учеными разработано множество экспериментальных моделей формирования СД.

Различают генетические модели, химические, диетические, хирургические или модели сочетающие разные типы воздействия.

Генетическая модель

Примером генетически детерминированной формы инсулиннезависимого СД является диабет у мышей с ожирением C57BL/KsJ-db/db. В 1965 г. в Jackson Laboratory, USA у мышей инбредной линии C57BL/KsJ была выявлена аутосомнорецессивная мутация гена db (diabetes). У гомозигот по этому гену после подсосного периода развивается ожирение. Диабетический синдром характеризуется гиперфагией, полидипсией, полиурией, гипергликемией, временной гиперинсулинемией и прогрессирующей инсулинорезистентностью. В возрасте 5-8 месяцев у мышей отмечается выраженный некроз бета-клеток поджелудочной железы, инсулинопения и нарастающая гипергликемия. На протяжении нескольких недель уменьшается масса тела и животное погибает. Однако подобные генетические модели отличаются высокой стоимостью.

Химическая модель

Для воспроизведения СД 2 типа на грызунах разработаны модели на взрослых особях, индуцированные химическими цитотоксическими диабетогенными веществами – стрептозотоцином, дексаметазоном и др., а также нарушением диеты (например, содержание животных на рационе с высоким содержанием жиров). Цитотоксические агенты обладают различными механизмами повреждающего действия на бета-клетки поджелудочной железы, поэтому каждая модель имеет свои особенности и предназначена для тестирования фармакологических соединений, у которых предполагается тот или иной механизм лечебного действия. Стоит отметить, что в некоторые химические и комбинированных моделях наблюдается высокая летальность (до 50%).

Хирургическая модель

Для того, чтобы вызвать СД 2 типа у животных (крысы, собаки, свиньи, кролики) производят частичное удаление поджелудочной железы (до 90%). Такая модель характеризуется умеренной гипергликемией без существенных изменений в массе тела или уровнях инсулина крови. Поэтому, в настоящее время, частичная панкреоэктомия обычно сочетается с введением химических диабетогенных веществ (аллоксан, стрептозотин и др.). Кроме того, из-за способности поджелудочной железы к регенерации, эти экспериментальные модели обычно используются для исследований факторов трансплантации или регенерации [7].

Диетическая модель

Существуют модели, использующие только высокожировую диету для формирования СД2. При использовании диеты с высоким содержанием жира у грызунов развивается ожирение, гиперинсулинемия, инсулинорезистентность, и как следствие – сахарный диабет 2 типа. Вызванный таким способом СД2 более схож с заболеванием человека. Чтобы больше узнать о молекулярных механизмах, лежащих в основе СД2 требуются надежные и клинически значимые экспериментальные модели. Большинство моделей животных, однако, не отвечают таким требованиям, поскольку они основаны на моногенных нарушениях, имеющих мало отношения к диабету человека или на химическом разрушении β -клеток, что также имеет меньшую клиническую значимость [15].

Количество моделей постоянно возрастает, но не все они достаточно изучены. При этом также следует учитывать, что каждая экспериментальная модель воссоздает лишь определенные звенья патогенеза СД и не имеет полного соответствия с развитием и течением этого заболевания у человека. Поэтому во всем мире продолжают работы по модификации имеющихся и созданию новых, более совершенных моделей, наиболее полно отражающих изменения, присущие СД 2 типа у человека.

1.3 Применение физических нагрузок для лечения и коррекции сахарного диабета 2 типа

Эффективность физических нагрузок (ФН) в компенсации сахарного диабета известна давно. ФН применялись задолго до открытия и внедрения в клиническую практику инсулина. Но со временем, на фоне инсулинотерапии, назначение физических упражнений, как средства, снижающего уровень гликемии, стало формальным. Это было связано с появлением новых возможностей в лечении диабета и с тем, что физические нагрузки уже не рассматривались, как единственно необходимые. Влияние ФН на организм и самочувствие больного было не таким очевидным, как инъекции инсулина. Причем позитивный результат виден был не сразу. Более важной причиной потери интереса к физическим нагрузкам у инсулинзависимых больных стали случаи тяжелых гипогликемических состояний. Иногда ФН вели к повышению уровня сахара в крови и развитию кетоза. Появились мнения об отрицательном и даже вредном влиянии ФН при СД.

Однако со временем стало ясно, что лечение инсулином и медикаментозными препаратами у большинства больных не ведет к полной компенсации заболевания. В

последние десятилетия снова появился интерес к взаимосвязи физических нагрузок и метаболического контроля диабета.

В настоящее время физические упражнения входят в комплексное лечение СД и являются полноценным видом терапии у больных СД2. Врачи должны понимать и оценивать как риск, так и эффективность физической активности для больного. Важно уметь правильно назначать оптимальные виды ФУ для улучшения качества жизни и состояния сердечно-сосудистой системы и углеводного обмена у пациентов. Применение неадекватных нагрузок может не только усугубить течение болезни, но и спровоцировать развитие многих осложнений (гипогликемические или гипергликемические состояния, кровоизлияния в сетчатку глаза, инсульт, гипертонический криз, инфаркт миокарда).

На повышение и снижение гликемии влияют многие факторы: неадекватные дозы инсулина, некомпенсированная физическая нагрузка, повышение массы тела и т.д.

Наиболее физиологичный способ поддержания здоровья — это физическая нагрузка. Двигательная активность является одной из основных составляющих образа жизни человека, страдающего диабетом. Исследования диабетологов показали, что пациенты с СД, регулярно занимающиеся спортом, имеют более благоприятный прогноз в отношении развития таких осложнений как ретинопатия, нефропатия и нейропатия. Если они уже имеются, то при регулярных занятиях прогрессируют значительно медленнее.

ФН при СД способствует более быстрой нормализации обмена веществ. У больных уменьшается гипергликемия, глюкозурия и усиливается действие инсулина. Длительная нагрузка умеренной интенсивности снижает уровень гликемии. Это связано с механизмами потребления глюкозы, не требующие регуляции инсулина. Физические нагрузки вызывают изменения в ферментативном аппарате клеток, которые приводят к усилению утилизации глюкозы, не зависимо от уровня инсулина. Мышечная работа уменьшает потребность в секреции инсулина. Снижение гликемии на фоне нагрузки более выражено, по сравнению с состоянием покоя.

ФН ведут к увеличению числа рецепторов на каждой клетке, с которыми связывается инсулин. Он интенсивнее воздействует на поверхность отдельных клеток, повышая чувствительность организма к нему, что ведет к уменьшению дозы инсулина у больных диабетом или снижению приема сахароснижающих препаратов.

Систематическая физическая нагрузка усиливает процессы липолиза, утилизации свободных жирных кислот (СЖК), снижает концентрацию триглицеридов и уровень

холестерина в крови, увеличивает липопротеиды высокой плотности (ЛПВП). Повышает уровень контринсулярных (липолитических) гормонов, корректируют массу тела.

Дозированные нагрузки снижают АД, уменьшают риск развития ишемической болезни сердца, усиливают кровоток в сосудах сердца и антикоагулирующие свойства крови. У детей с СД, на фоне роста и развития, физические упражнения особенно необходимы для нормализации энерготрат. Нарушения энергетического обмена у больных диабетом тесно связаны с уменьшением объема мышечной деятельности. Успехи в диагностике и лечении сахарного диабета привели к увеличению продолжительности жизни пациентов, но вместе с этим возросло количество поздних осложнений заболевания.

Таким образом, регулярные, систематические занятия ФУ понижают риск возникновения сердечно-сосудистых заболеваний, инсультов и других осложнений сахарного диабета. Они помогают держать под контролем уровень гликемии и могут снизить необходимость в приеме лекарств. Физические нагрузки, активно влияя на уровень гликемии, при хорошей компенсации заболевания могут быть эффективным методом лечения сахарного диабета.

Основные задачи ФН при сахарном диабете:

- Нормализация окислительно-восстановительных процессов.
- Усиление компенсаторной перестройки обмена веществ.
- Компенсация относительной инсулиновой недостаточности.
- Регуляция и снижение гипергликемии.
- Повышение чувствительности мышечной и жировой ткани к инсулину.
- Предупреждение развития диабетических осложнений.
- Снижение и/или поддержание нормальной массы тела (увеличение мышечной и снижение жировой массы).
- Улучшение функционального состояния сердечно-сосудистой и дыхательной систем.
- Повышение толерантности к физическим нагрузкам.
- Улучшение психоэмоционального состояния пациента.

Показаниями к ФН являются все компенсированные формы сахарного диабета, отсутствие резких колебаний гликемии во время физической нагрузки, физиологическая,

адекватная реакция на нагрузку. При осложнении диабета ишемической болезнью сердца (ИБС), при проявлениях микро- и макроангиопатий методика ФН строится с их учетом.

Реакции гликемии на физическую нагрузку при СД.

Принято выделять четыре категории общей еженедельной ФН: отсутствие, низкий, средний и высокий уровни. Нагрузка, при которой сжигается 3,5-7 ккал/мин, считается ФН умеренной интенсивности. Физическая нагрузка высокой интенсивности (например, бег) предполагает сжигание >7 ккал/мин.

Проведенные эпидемиологические исследования показали, что 30 мин ФН умеренной интенсивности в день являются эффективными в профилактике ИБС. При наблюдении 74 000 женщин в постменопаузе в течение 3 лет было отмечено, что быстрая ходьба не менее 2,5 ч в неделю способствовала снижению риска ССЗ на 30%.

Исследования с участием мужчин выявили, что нагрузка высокой интенсивности приводит к большему снижению риска развития ССЗ, чем нагрузка средней интенсивности.

Согласно данным крупных эпидемиологических исследований, у физически активных людей на 30—50% снижается риск развития СД2. Физическая нагрузка способствует такому же снижению риска ИБС. Снижение рисков наблюдается уже при 30-минутной ФН умеренной интенсивности в день.

Под действием физической нагрузки у больного СД могут развиваться следующие состояния гликемии:

Уровень гликемии не изменяется или при повышенных значениях снижается до нормальных показателей. Такая реакция наблюдается при адекватной компенсации диабета и соответствует нормальной у здорового человека. В течение суток уровень инсулинемии соответствует уровню гликемии за счет диеты и инсулина. Равновесие затрат и продукции глюкозы обеспечивает стабильный уровень гликемии во время нагрузки.

Рабочая гипогликемия развивается у больных с лабильным течением сахарного диабета в результате передозировки инсулина и/или нерационального распределения действия инсулина в течение суток. То есть высокий уровень инсулинемии не соответствует низкому уровню гликемии. Это вызывает высокую абсорбцию глюкозы работающими мышцами и тормозит процесс продукции глюкозы печенью. Уровень гликемии во время ФН резко снижается. Это может привести к тяжелой гипогликемии,

постгликемической гипергликемии и кетозу. Небольшие запасы гликогена в печени, в связи с длительной декомпенсацией заболевания, усиливают отрицательную реакцию на ФН. Плохо перенося даже минимальные нагрузки, больные ведут «сидячий» образ жизни.

Третий тип реакции на ФН - рабочая гипергликемия, которая развивается при декомпенсированном СД, на фоне дефицита инсулина или несоответствия уровня инсулинемии высокому уровню гликемии. Физическая нагрузка ведет к нарушению процессов утилизации глюкозы мышцами и усилению продукции глюкозы печенью, что является причиной гипергликемии и недостаточного обеспечения энергетическим субстратом работающих мышц.

Таким образом, уровень гликемии при ФН зависит от:

- от исходной гликемии (определяется дозой инсулина и количеством съеденных углеводов);
- от длительности нагрузки;
- от интенсивности нагрузки;
- от тренированности организма, то есть от энергетических затрат на определенную работу.

Однако вплоть до настоящего времени остается не до конца изученным вопрос о целевой «дозе» ФН, т. е. о ее интенсивности, частоте и продолжительности, которая является наиболее оптимальной для коррекции основных компонентов МС как факторов риска развития СД2 и сердечно-сосудистых заболеваний [1].

ГЛАВА 2 ОРГАНИЗАЦИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Описание объекта исследования

В качестве объекта исследования использовались мыши-самцы линии C57bl/6. Мыши были получены из вивария ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга». Возраст мышей на момент начала эксперимента – 2 недели. Режим содержания животных: день/ночь:12/12, световой день начинается с 6:00, свободный доступ к пище и воде, температура в помещении 24С.

Эксперимент продолжался 16 недель. До 12 недели мыши были разделены на 2 группы:

Контрольная группа.

Экспериментальная группа.

На рисунке 6 изображена мышь экспериментальной группы, на рисунке 7 – мышь контрольной группы.



Рисунок 6 – Мышь экспериментальной группы



Рисунок 7 – Мышь контрольной группы

Начиная с 12-ой недели каждая группа была поделена на тренирующихся и не тренирующихся мышей. Контроль массы тела проводился в соответствии со схемой эксперимента, представленной на рисунке 8. Тест на толерантность к глюкозе проводился на 1-й, 4-ой, 8-ой и 16-й неделе. Измерение концентрации инсулина проводилось на 1-й и 16-й неделях.

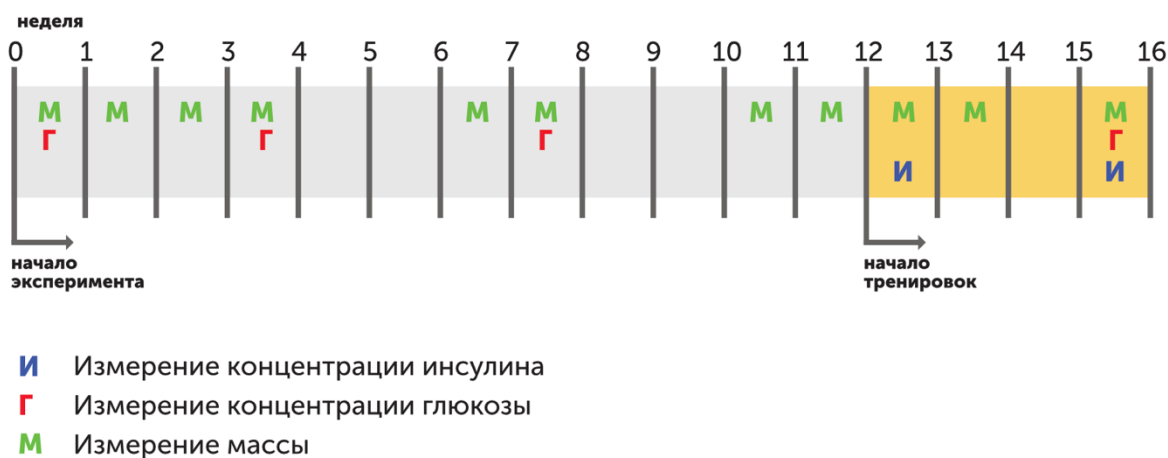


Рисунок 8 – Схема эксперимента

2.2 Описание диеты

Для формирования СД2 была использована модель с применением высокожировой диеты, которая была разработана коллективом специально для данного эксперимента. Экспериментальная группа мышей с начала эксперимента питалась специально приготовленным кормом с высокой калорийностью. Контрольная группа питалась кормом для лабораторных животных «Прокорм» (ЗАО «Биопро», Новосибирск), в котором на жиры приходилось 18% от общей калорийности. Состав корма: пшеница,

ячмень, отруби, глютен кукурузный, мука рыбная, белковая кормосмесь, масло подсолнечное, шрот соевый.

В таблице 2 представлен сравнительный состав диет экспериментальной и контрольной групп.

Таблица 2 – Характеристика диет для экспериментальной и контрольной групп

Характеристики	Экспериментальная группа	Контрольная группа
Калорийность, ккал/кг	5100	3000
В том числе % калорий на жиры	59%	18%
Состав:		
Жиры	33%	6%
В том числе животные жиры	20%	-
Углеводы		
В том числе: Сахар	15%	-
Крахмал	30%	61%
Сырая клетчатка	1,8%	3,6%
Белки	20%	23,9%
Лизин	0,8%	1,5%
Метионин + цистеин	0,5%	0,9%
Макроэлементы		
кальций	0,9%	1%
фосфор	0,7%	0,8%
Хлорид натрия	0,24%	0,34%
Витамины и микроэлементы	+	+
Антиоксидант, аминокислоты	+	+

Корм для экспериментальной группы был приготовлен из описанного выше корма «Прокорм» (50%), животного (свиной жир) (20%) и растительного (подсолнечное масло) (10%) жира, сахара (15%), сухого молока (5%). Продукты измельчались в блендере в гомогенную смесь, после чего масса формировалась в гранулы диаметром до 10 мм и

высушивалась в духовом шкафу при 30° С. Корм готовился на 5 дней и хранился при +4°С.

2.3 Описание физической нагрузки

Начиная с 12-ой недели мыши были разделены на 4 группы:

- 1) Экспериментальная группа без тренировок.
- 2) Экспериментальная группа, тренирующаяся вечером.
- 3) Контрольная группа без тренировок.
- 4) Контрольная группа тренирующаяся вечером.

У мышей тренировки проходили в период времени с 19:00 до 22:00. Живущие по соседству с человеком грызуны часто сохраняют активность в течение всего дня и даже при искусственном освещении. Но период активности мышей в природе – темное время суток, поэтому вечернее время было выбрано исходя из биологической активности мышей [4].

Время тренировок постепенно увеличивалось до 60 минут и не изменялось больше на протяжении следующих 3-х недель:

- 1 день – 10 минут;
- 2 день – 20 минут;
- 3 день – 30 минут;
- 4 день – 40 минут;
- 5 день – 50 минут;
- 6 день – 60 минут.

Один раз в неделю у мышей был день отдыха (на 7-ой день тренировок).

Каждую неделю изменялся угол наклона беговой дорожки и скорость её вращения. Данные представлены в виде схемы на рисунке 9.

неделя	12	13	14	15	16
угол наклона	0	5	10	10	
скорость	14	15	16	18	

Рисунок 9 – Схема тренировок мышей.

Для нормирования нагрузки была использована беговая дорожка для мышей BMELAB SID-TM10 изображенная на рисунке 10.



Рисунок 10 – Беговая дорожка для мышей

Принуждение к бегу осуществляется электрическим раздражением, напряжение подается на металлическую сетку, расположенную на задней стенке камеры. Дорожка имеет тумблер включения ленты, тумблер включения тока, диммер скорости движения ленты и диммер силы тока, рычаг изменения угла наклона ленты. Мыши на дорожке были изолированы друг от друга стенками из оргстекла. Покрытие движущейся ленты имело резиновую шероховатую поверхность. Сверху дорожка закрывалась прозрачной крышкой из оргстекла. На рисунке 11 изображена беговая дорожка (вид сверху) в процессе тренировки мышей.



Рисунок 11 – Беговая дорожка (вид сверху)

2.4 Методы исследования

Измерение массы тела проводились с помощью лабораторных весов. Каждая особь была измерена отдельно. Измерения проводились 11 раз за 16 недель. В таблице 3 представлен вес лабораторных мышей по отдельным возрастным группам. Эти показатели составлены на основе многолетнего их изучения в лаборатории и на основании данных ведущих мировых питомников [8].

Таблица 3 – Нормальный вес лабораторных мышей

Возраст, недели	Самцы
1	$3,7 \pm 0,2$
2	$5,8 \pm 0,1$
3	$8,3 \pm 0,6$
5	$12,9 \pm 0,7$
6	$14,3 \pm 0,7$
7	$16,7 \pm 0,9$

Продолжение таблицы 3 – Нормальный вес лабораторных мышей

Возраст, недели	Самцы
8	20,6±1,2
9	25,3±1,2
10	26,0±1,5
11	27,4±1,3
12	28,5±1,4
13	29,3±1,6
14	30,1±1,7
15	31,4±1,5
16	32,4±2,0
17	32,8±2,4
18	33,2±2,3
19	35,6±2,1
20	35,2±2,3

Тест на толерантность к глюкозе.

Измерение концентрации глюкозы в крови проводилось при помощи портативного глюкометра ПКГ-02.4 Сателлит Плюс (ООО «Компания «ЭЛТА, Россия»). Образцы крови получались пункцией хвостовой вены.

Для проведения теста на толерантность к глюкозе мышам не давали корм в течение 4 часов, сохраняя свободный доступ к воде, утром животных взвешивали и определяли концентрацию глюкозы в крови (0 мин). Затем животным внутрибрюшинно вводили раствор 40% глюкозы (2 г/кг массы тела) (углеводная нагрузка) [16]. Концентрация глюкозы в крови определялась через 15, 30, 60 и 120 минут после углеводной нагрузки. Оценивались максимальная достигаемая концентрация, время достижения максимума и время возврата к исходному уровню.

Измерение концентрации инсулина в плазме крови.

Образцы крови получались пункцией хвостовой вены. Кровь собиралась в капиллярные пробирки Microvette Sarstedt (Германия) 200 мкл с КЗЭДТА.

Центрифугирование образцов проводилось сразу после забора крови в течение 6 мин при 10000 об/мин при 4°C. Центрифугирование образцов крови проводилось при помощи лабораторной центрифуги Microfuge 16 с ротором FX 241.5P (Beckman Coulter, США). Плазма хранилась в замороженном виде при температуре –80°C не более месяца. Концентрации инсулина в плазме крови мышей определялась иммуноферментным методом с помощью набора Ultra sensitive mouse insulin ELISA Kit (CrystalChem, США). Для анализа использовались планшеты с общим числом плоскодонных лунок 96 (размер планшета 12x8 лунок). Все образцы разливались в двух экземплярах. Разведение образцов производилось в соответствии с инструкцией. Инкубация производилась на термощейкере для планшетов PST-60HL (Biosan, Латвия). Процедура промывки осуществлялась при помощи промывочного устройства Anthos Fluido 2 (Biochrom, Великобритания).

Измерение оптической плотности образцов проводилось при помощи микропланшетного спектрофотометра модель Anthos 2010 с фильтрами (400-750 нм) и программой ADAP+ (Biochrom, Великобритания). Для подготовки стандартов применялось серийное разведение высококонцентрированных растворов белков, прилагаемых в наборах. Расчет оптической плотности образцов производился при длине волны 450 нм, референсная длина волны 620 нм.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета статистического анализа STATISTICA 8.0. Достоверность рассчитывали по Kruskal-Wallis ANOVA test. Данные представлены в виде $\bar{X} \pm SE$.

Исследование было одобрено локальным этическим комитетом БИ ТГУ (протокол № 11 от 24 сентября 2015 года).

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Результат применения высокожировой диеты

В результате применения жировой диеты у мышей было выявлено формирование избыточной массы тела. Статистические данные по массе представлены в таблице 4. Динамика изменения массы тела в течение 16 недель у животных контрольной и экспериментальной групп представлена на рисунке 12. Статистически значимые различия с контрольной группой по массе наблюдаются с 7-ой недели с $p=0,02$, к 16-ой неделе различие приближается к 100% $p<0,001$.

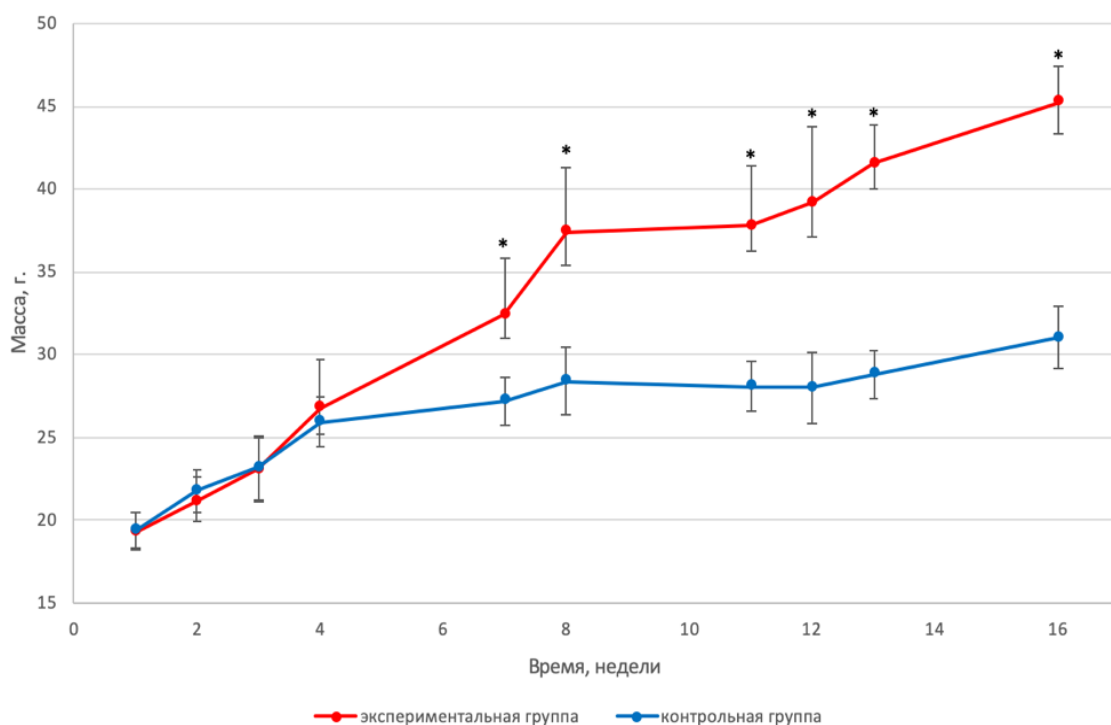


Рисунок 12 – Динамика изменения массы контрольной и экспериментальной групп.

* - статистически значимые различия с контрольной группой (от $p<0,02$ до $p<0,001$)

На первой неделе эксперимента был проведён тест на толерантность к глюкозе. Статистические данные по инсулину представлены в Таблице 5. Максимальный уровень глюкозы крови достиг на отметке в 15 минут и составил 12,35 ммоль/л у контрольной группы и 14,2 ммоль/л у экспериментальной группы. На 30-ой минуте уровень глюкозы был ниже, чем на 15-ой и к 120-ой минуте достиг значений приближенных к исходному уровню. На рисунке 13 представлен график изменения глюкозы крови на 1-ой неделе исследования.

Таблица 4 – Изменение массы мышеч в течении проводимого эксперимента

	1 измерение					2 измерение					3 измерение					4 измерение				
	До	15 мин	30 мин	60 мин	120 мин	До	15 мин	30 мин	60 мин	120 мин	До	15 мин	30 мин	60 мин	120 мин	До	15 мин	30 мин	60 мин	120 мин
Контрольная группа	6,97 ±1,09	9,10 ± 4,51	8,73 ±2,79	5,67 ± 2,55	6,70 ± 1,08	4,86 ± 1,40	11,83 ± 6,86	12,28 ± 5,27	8,43 ± 2,03	4,96 ± 1,38	4,40 ± 1,31	9,33 ± 2,17	8,74 ± 1,87	7,15 ± 1,30	5,23 ± 0,99	6,53 ± 1,19	15,29 ± 3,28	15,46 ± 2,48	12,45 ± 3,72	7,94 ± 2,10
Контрольная группа с тренировками	5,63 ± 1,62	14,75 ± 3,98	14,02 ± 2,39	7,08 ± 1,44	6,00 ± 1,28	5,01 ± 1,09	12,47 ± 1,61	10,78 ± 1,95	6,55 ± 1,99	5,14 ± 1,43	4,77 ± 1,37	10,19 ± 2,04	8,45 ± 2,40	6,50 ± 1,65	5,33 ± 1,07	6,08 ± 1,30	15,33 ± 2,94	14,38 ± 4,66	11,24 ± 5,29	7,11 ± 1,79
Экспериментальная группа	5,77 ± 1,85	14,20 ± 3,15	12,10 ± 3,43	7,93 ± 2,86	6,00 ± 1,48	6,60 ± 1,32	11,03 ± 1,54	10,14 ± 2,40	8,10 ± 1,94	6,53 ±1,64	6,63 ± 0,91 p1<0,05	13,93 ± 1,85 p1=0,01	16,85 ± 1,74 p1<0,001 p2<0,001	13,92 ± 4,10 p1=0,01 p2<0,01	9,15 ± 1,07 p1<0,001 p2<0,01	7,77 ± 1,43	17,55 ± 4,34	17,62 ±4,65	17,70 ± 6,53 p2=0,05	11,24 ± 4,59
Экспериментальная группа с тренировками						5,12 ± 1,27	11,45 ± 3,67	12,86 ±4,06	8,40 ± 1,75	4,70 ± 2,01	5,84 ± 1,66	11,55 ± 3,17	10,69 ± 3,18	8,52 ± 1,92	6,71 ± 1,86	6,92 ± 1,61	14,98 ± 4,33	18,03 ± 4,44	14,46 ± 5,02	8,35 ± 3,02

Примечания:

p1 – различия Контрольной группой

p2 – различия с Контрольной группой с тренировками

Таблица 5 – Изменение глюкозы в течении проводимого эксперимента

	1 неделя	2 неделя	3 неделя	4 неделя	7 неделя	8 неделя	11 неделя	12 неделя	13 неделя	16 неделя
Контрольная группа	19,33 ± 1,07	21,75 ± 1,25	23,17 ± 1,95	25,92 ± 1,53	27,17 ± 1,45	28,38 ± 2,04	28,03 ± 1,50	27,98± 2,12	28,78 ± 2,12	31,02 ± 1,86
Контрольная группа с тренировками	20,42 ± 1,16	21,88 ± 0,83	24,13 ± 1,25	25,58 ± 1,26	26,21 ± 1,23	27,29 ± 1,68	27,5 ± 1,50	27,42± 1,40	28,27 ± 1,73	30,13 ± 1,92
Экспериментальная группа	19,25 ± 1,22	21,13 ± 1,45	23,08 ± 1,93	26,75 ± 2,93	32,38 ± 3,46 p1=0,02 p2<0,001	37,42 ± 3,92 p1<0,001 p2<0,001	37,79 ± 3,58	40,29± 4,58 p1<0,001	41,53 ± 4,58 p1<0,001 p2<0,001	45,23 ± 6,16 p1<0,001 p2<0,001
Экспериментальная группа с тренировками	20,54 ± 0,66	21,5 ± 1,21	25,08 ± 0,95 p1<0,01 p3=0,02	26,27 ± 0,75	28,50 ± 1,15	34,23 ± 2,43 p1<0,01	37,35 ±3,50	39,72± 2,30 p1<0,001	40,11 ± 3,66 p1<0,001 p2<0,001	38,03 ± 3,83 P2<0,01

Примечания:

p1 – различия с Контрольной группой

p2 – различия с Контрольной группой с тренировками

p3 – различия с Экспериментальной группой

Таблица 6 – Изменение инсулина в течении проводимого эксперимента

	12 неделя, до введения глюкозы	12 неделя, ч/з 15 мин введения глюкозы	16 неделя, до введения глюкозы	16 неделя, ч/з 15 мин введения глюкозы
Контрольная группа	$0,96 \pm 0,37$	$1,17 \pm 0,53$	$0,76 \pm 0,32$	$1,15 \pm 0,55$
Контрольная группа с тренировками	$0,82 \pm 0,52$	$1,06 \pm 0,57$	$0,76 \pm 0,34$	$1,38 \pm 0,68$
Экспериментальная группа	$1,39 \pm 0,92$	$2,47 \pm 2,11$	$2,68 \pm 1,96$ $p1<0,01$	$3,6 \pm 2,6$ $p1<0,05$
Экспериментальная группа с тренировками	$1,47 \pm 0,68$ $p1=0,01$	$2,21 \pm 0,93$ $p1<0,01$	$1,2 \pm 0,76$	$2,03 \pm 0,89$

Примечания:

p1 – различия с Контрольной группой

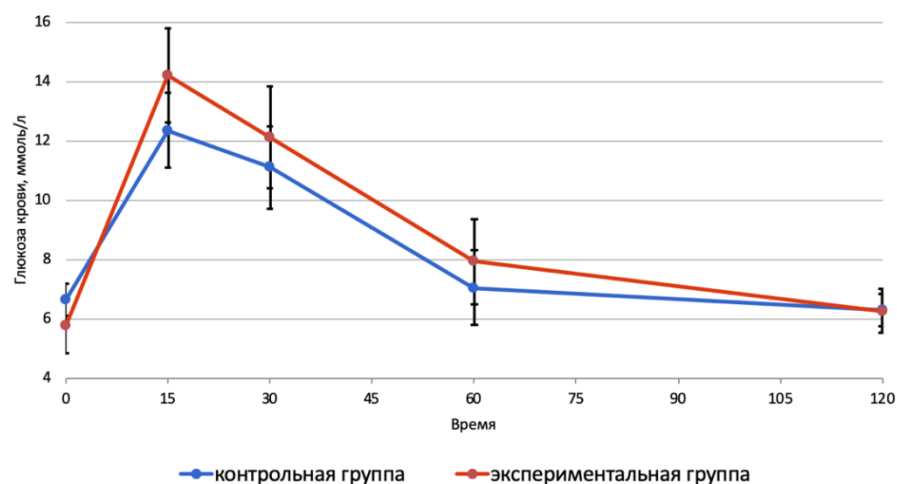


Рисунок 13 – Изменение глюкозы крови на 1-ой неделе для мышей экспериментальной и контрольной групп с разбросом значений.

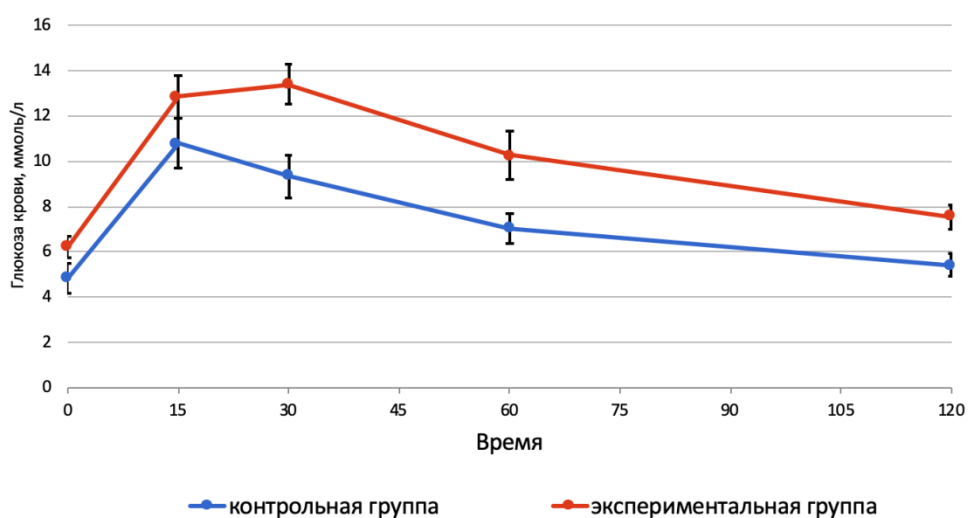


Рисунок 14 – Изменение глюкозы крови на 12-ой неделе для мышей экспериментальной и контрольной групп с разбросом значений.

К 12-й неделе эксперимента у экспериментальной группы мышей снизилась степень усвоения глюкозы. Статистические данные по глюкозе представлены в Таблице 6. Через 15 минут после углеводной нагрузки у мышей экспериментальной группы уровень глюкозы в крови достиг максимума – 123% от первоначального значения. Через 30 минут показатель глюкозы крови начал снижаться, опустившись до 93% от первоначального значения. В экспериментальной группе показатель глюкозы достиг максимума к 30 минуте, и к 120 минуте был больше первоначального значения на 12%, в отличии от показателя глюкозы на 120 минуте у экспериментальной группы – 22% от показателя

натошак. На рисунке 14 показан график изменения глюкозы крови на 12-ой неделе исследования.

Концентрация инсулина в плазме крови экспериментальных мышей на 12-ой недели до введения глюкозы составила 1,39 нг/мл. У мышей контрольной группы – 0,96 нг/мл. После введения глюкозы концентрация инсулина у экспериментальной группы возросла до 2,47 нг/мл, а у контрольной до 1,17 нг/мл. Эти значения отличаются более чем в 2 раза и показаны на рисунке 15.

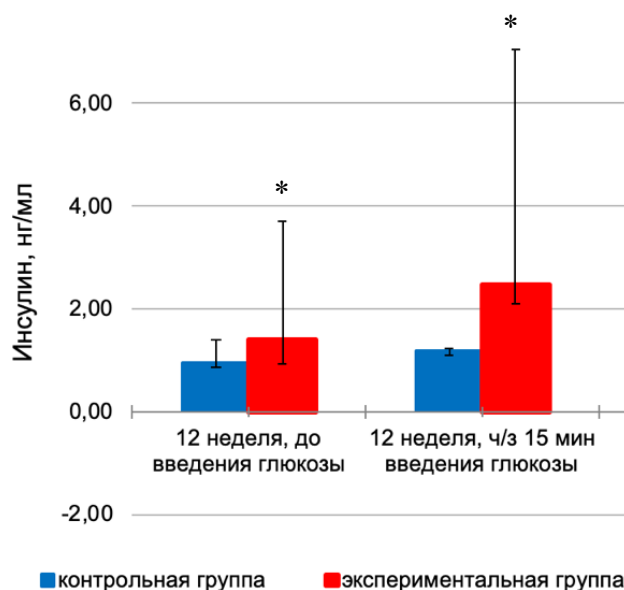


Рисунок 15 – Концентрация инсулина в плазме крови у экспериментальной и контрольной групп с разбросом значений

* - статистически значимые различия с контрольной группой ($p < 0,05$)

Концентрация глюкозы в крови продолжает расти, что способствует высвобождению большего количества инсулина. Резистентностью к инсулину как правило указывает на СД2.

Полученные результаты свидетельствуют, что использование высокожировой диеты у мышей приводит к увеличению массы тела и формированию ожирения, гипергликемии, снижению толерантности к глюкозе и гиперинсулинемии.

3.2 Влияние физической нагрузки на исследуемые показатели.

На 12-ой неделе мыши начали тренироваться на беговой дорожке. Масса тренирующихся мышей и питающихся жировым кормом начала снижаться по сравнению с не тренирующимися экспериментальными мышами. На 13-ой неделе разница составила 4%, на 16-ой неделе – 19% (7,2 г). В результате чего можно сделать вывод о положительном влиянии физической нагрузки на массу тела, которая за счет ВН

приближается к нормальной массе [8]. Динамика изменения массы показана на рисунке 16.

Масса контрольных групп с тренировками и без тренировок на 12-ой неделе различалась на 2%, к концу эксперимента стала различаться на 3%. Обе группы имели массу нормальную для данного возраста.

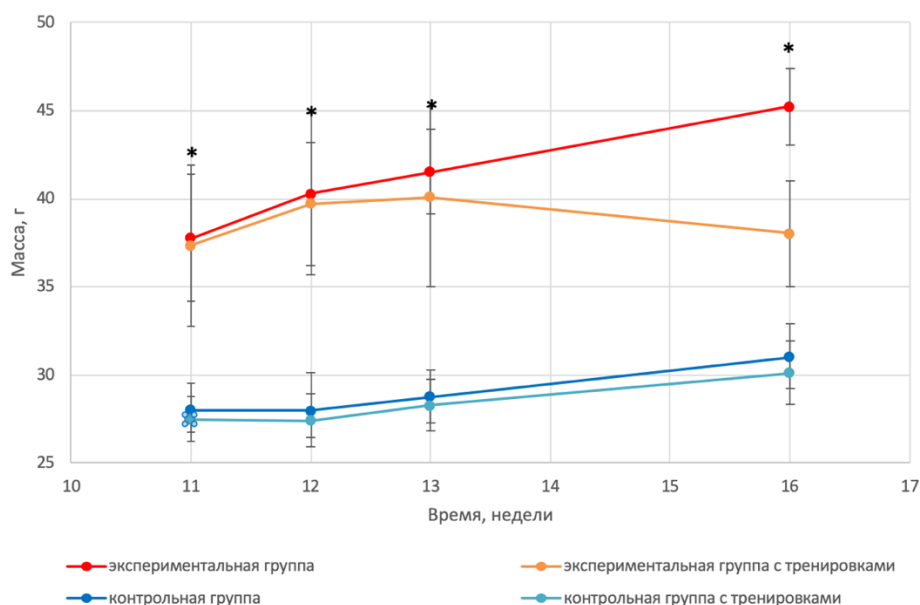


Рисунок 16 – Динамика изменения массы контрольной и экспериментальной групп с тренировками и без тренировок.

* - статистически значимые различия с контрольной группой (от $p < 0,02$ до $p < 0,001$)

Концентрация инсулина в плазме крови экспериментальных мышей на 16-ой недели до введения глюкозы составила 2,68 нг/мл. У мышей, тренирующихся из экспериментальной группы – 1,20 нг/мл. После введения глюкозы концентрация инсулина у экспериментальной группы возросла до 3,60 нг/мл, а у экспериментальной тренирующейся всего лишь до 2,03 нг/мл. Эти значения отличаются на 78% и показаны на рисунке 17.

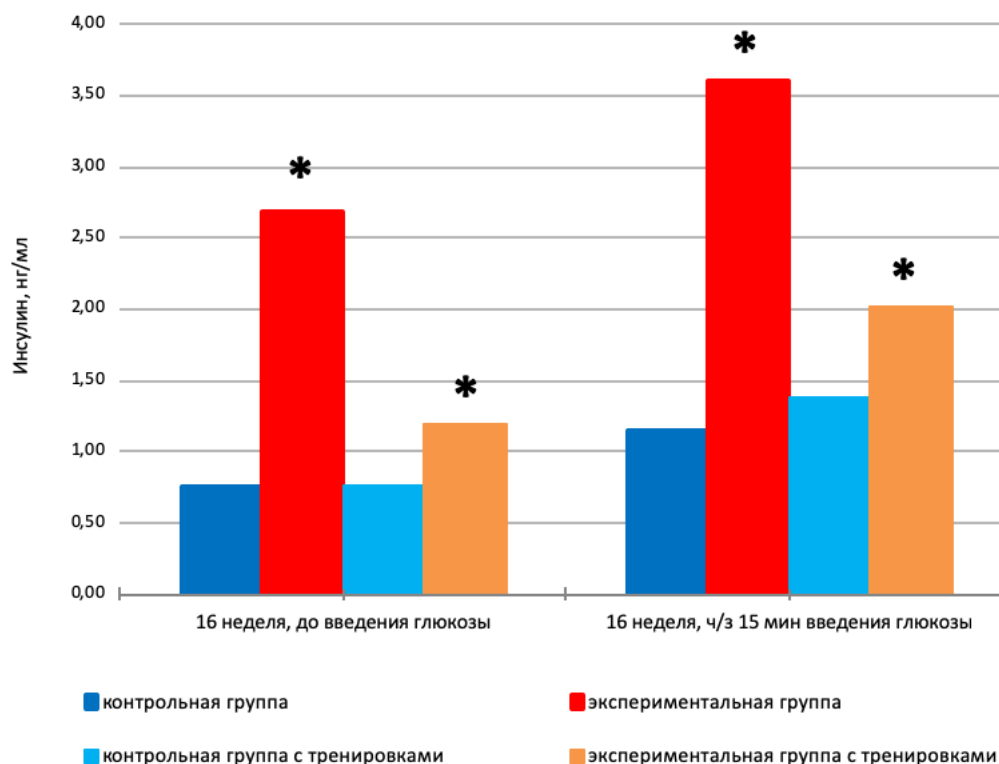


Рисунок 17 – Концентрация инсулина в плазме крови у экспериментальной и контрольной групп с тренировками и без

* - статистически значимые различия с контрольной группой ($p < 0,05$)

Сравнивая контрольные группы с тренировками и без, можно отметить повышенный уровень инсулина у тренирующейся группы по сравнению с контрольной группой не тренирующихся мышей – на 30% до введения глюкозы и на 50% после.

На рисунке 18 показана динамика изменения концентрации глюкозы крови после введения глюкозы.

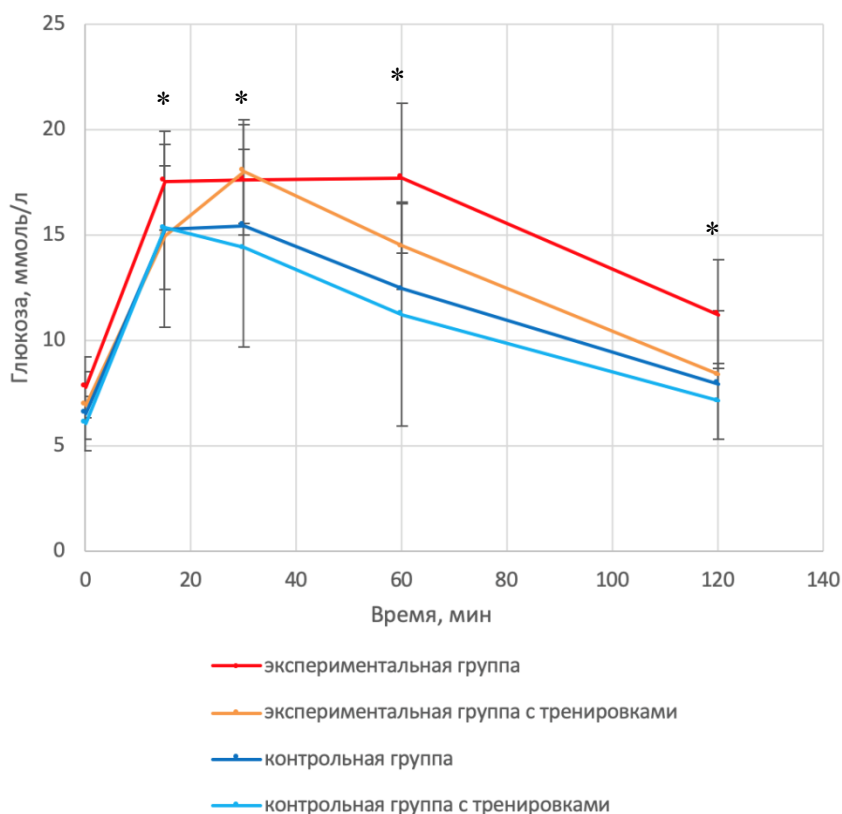


Рисунок 18 - Изменение глюкозы крови на 16-ой неделе для тренирующихся и не тренирующихся мышей экспериментальной и контрольной групп с разбросом значений.

* - статистически значимые различия с контрольной группой ($p < 0,05$)

К 16-ой неделе скорость усвоения глюкозы у тренирующихся мышей из экспериментальной группы увеличилась по сравнению с мышами, которые питаются жировым кормом без тренировок. На 60-ой минуте глюкоза крови у тренирующихся мышей опустилась до 14,46 ммоль/л, в то время как концентрация глюкозы у не тренирующихся мышей осталась на уровне 17 ммоль/л. К 120-ой минуте у тренирующихся мышей значение глюкозы крови приблизилось к первоначальному значению (6,92 ммоль/л) и составило 8,35 ммоль/л. У не тренирующейся группы эта разница составила 45%.

Гипогликемическая фаза косвенно отражает скорость выработки инсулина и чувствительность тканей к данному гормону. Пролонгация этой фазы характерна для сахарного диабета 2-го типа, что и наблюдалось у мышей экспериментальной группы в данном исследовании.

У мышей контрольной группы максимальный подъем концентрации глюкозы наблюдался на 30-ой минуте и составил 15,46 ммоль/л (137% от показателя натощак). Затем уровень глюкозы в крови начинает уменьшаться (гипогликемическая фаза), и к

концу второго часа наблюдения (к 120-й мин) приближается к исходному уровню в контрольной группе (7,94 ммоль/л). У тренирующихся мышей гипогликемическая фаза начинается ещё раньше – на 15-ой минуте начинает снижаться уровень глюкозы и к 120-ой минуте опускается до уровня 7,11 ммоль/л (17% от показателя натощак).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Физические нагрузки положительно влияют на организм больного, при правильно подобранном режиме нагрузок в соответствии с медикаментозной терапией. Сейчас физические упражнения входят в комплекс лечения сахарного диабета 2 типа, но не до конца изучена необходимая доза, продолжительность и регулярность физических нагрузок, способная без риска помочь больному. Поэтому дальнейший поиск механизмов формирования сахарного диабета и влияние физических нагрузок остаётся актуальным.

В результате проведённого исследования были сделаны выводы:

1. В ходе данного исследования были изучены теоретические аспекты формирования сахарного диабета 2 типа. При этом заболевании рецепторы инсулина перестают реагировать на его поступление из-за большой выработки его поджелудочной железой. Происходит это из-за неспособности глюкозы проникнуть в клетки и переизбытка её в крови.

Рассмотрены модели формирования сахарного диабета у мышей. Используют генетические модели – линии мышей с мутацией гена db, у которых с возрастом развивается диабет. Химические модели предполагают введение токсических веществ обладающих механизмом повреждающим бета-клетки. Хирургические модели реализуются на удалении части поджелудочной железы, и используются для изучения факторов трансплантации и регенерации органа. Диетические модели построены на высокожировых диетах, они вызывают ожирение, гиперинсулимию и инсулинорезистентность. Такие модели наиболее схожи с заболеванием человека.

2. В результате проведённого исследования была доказана эффективность применения модели формирования сахарного диабета 2 типа посредством высокожировой диеты. В ходе исследования у мышей, питающихся жировым кормом, увеличилась масса и сформировалось ожирение, нарушилась утилизация глюкозы – появилась гипергликемия, увеличилась секреция инсулина. По этим изменениям можно сделать вывод о формировании сахарного диабета 2 типа у мышей экспериментальной группы и признать эффективность модели с использованием высокожировой диеты.

3. Было изучено влияние физической нагрузки на сформированные жировой диетой нарушения. Было отмечено снижение массы, ускорение утилизации глюкозы, снижение уровня инсулина у тренирующихся мышей. В связи с чем можно сделать вывод о положительном влиянии физической нагрузки на сахарный диабет 2 типа.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Булнаева Г.И., Хамнуева Л.Ю., Хантакова Е.А. Лечебная физическая культура при сахарном диабете: учебное пособие. Иркутск. ИГМУ. 2010. 49 с.
2. Внутренняя медицина с клинической фармакологией: эндокринные болезни: учебное пособие / О. Ю. Бычкова, М. Ю. Горшунская, Н. В. Лысенко [и др.]. М., ХНУ имени В. Н. Каразина, 2016. 252 с.
3. Википедия [Электронный ресурс]: Диабетическая нейропатия URL: https://ru.wikipedia.org/wiki/Диабетическая_нейропатия (дата обращения 15.02.19)
4. Грин-полис [Электронный ресурс]: Жизнь и повадки мышей. URL: <http://green-polis.ru/descriptions/zhivut-myshi.html> (дата обращения 14.02.19)
5. Интернет-аптека МОСКОВСКИЕ ЛЕКАРСТВА [Электронный ресурс]: Ангиопатия URL: <http://medarticle.moslek.ru/articles/6267.htm> (дата обращения 15.02.19)
6. Майоров А.Ю. Инсулинорезистентность в патогенезе сахарного диабета 2 типа. М., Сахарный диабет. 2011. - №1. С. 35-43.
7. Моделирование сахарного диабета 2 типа для изучения лекарственных средств с антидиабетической активностью: учебное пособие / Г.Н. Чуканова, М. Дворацка, С.С. Исакова [и др.] // Наука и здравоохранение. 2014. № 4. С. 4-28.
8. СПРАВОЧНИК. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных. Т.В. Абрашова, Я.А. Гущин, М.А. Ковалева [и др.] СПб.: Изд-во «ЛЕМА», 2013.- 116 с.
9. BMC Medicine [Электронный ресурс]: Metabolic syndrome: definitions and controversies <https://bmcmmedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/1741-7015-9-48> (дата обращения 13.02.19)
10. Liki Ukraini [Электронный ресурс]: Метаболический синдром и ассоциированные с ним заболевания: критерии диагностики, принципы терапии URL: http://www.health-medic.com/articles/lik_i_ukr/2012-12-28/lec_1.pdf (дата обращения 14.02.19)
11. OYLA [Электронный ресурс]: Осторожно: Сахар URL: <https://oyla.xyz/article/ostorozno-sahar> (дата обращения 17.02.19)
12. Polismed [Электронный ресурс]: Метаболический синдром. Причины, симптомы и признаки, диагностика и лечение патологии URL: <https://www.polismed.com/articles-metabolicheskijj-sindrom-prichiny-simptomy-i-priznaki.html> (дата обращения 18.02.19)

13. Smed [Электронный ресурс]: Метаболический синдром URL:
<https://www.smed.ru/guides/63980> (дата обращения 15.02.19)
14. Sořhede Winzell M. A model for studying wechanisms and treatment of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes / M. Sořhede Winzell and Bo Ahre´n // Diabetes – 2004. - №53, P. 215-219
15. Studfiles [Электронный ресурс]: Метаболические осложнения сахарного диабета URL:
<https://studfiles.net/preview/5016572/page:5/> (дата обращения 15.02.19)
16. Studfiles [Электронный ресурс]: Сахарный диабет URL:
<https://studfiles.net/preview/5016572/page:4/> (дата обращения 14.02.19)

Обработан файл:
Ravtsova_dissertatsia_5.docx.

Год публикации: 2019.

Оценка оригинальности документа - **84.06%**

Процент условно корректных заимствований - **0.0%**

Процент некорректных заимствований - **15.94%**

[Просмотр заимствований в документе](#)

Время выполнения: 29 с.

