

Оценка перспективы использования модели гестационного сахарного диабета для поиска средств фармакологической коррекции нарушений у потомства крыс

© Соломина А. С., Родина А. В., Качалов К. С., Захаров А. Д., Дурнев А. Д.

ФГБНУ «НИИ Фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Российская Федерация

Аннотация. Нарушение гомеостаза глюкозы в системе «мать–плацента–плод» при гестационном сахарном диабете (ГСД) ведёт к пре- и постнатальным отклонениям у потомства. Отсутствие общепризнанной модели ГСД осложняет поиск патогенетических средств предупреждения и коррекции отклонений у потомства. Одной из наиболее близких по причинам возникновения, механизмам развития и клинической картине представляется модель с использованием пищевой нагрузки (высококалорийной диеты) в комбинации с низкими дозами диабетогена стрептозотоцина (ВКД–СТЗ–модель). Отсюда возникла задача по отработке и оценке пригодности ВКД–СТЗ–модели ГСД с целью регистрации отклонений у потомства и последующим определением возможности их фармакологической коррекции. Объектом исследования служили крысы и плоды крыс. Моделирование ГСД предусматривало содержание крыс на высококалорийной диете (ВКД) в течение не менее 10 недель с последующим однократным введением низких доз стрептозотоцина (СТЗ) в первый день беременности. При ВКД в сочетании с СТЗ в дозе 25 мг/кг гипергликемия, характерная для ГСД, регистрируется менее чем у 40 % животных, что в дальнейшем не позволяет достоверно оценить нарушения антенатального и постнатального развития у потомства. Таким образом, использованная модель не перспективна для поиска средств фармакологической коррекции влияния ГСД на потомство.

Ключевые слова: гестационный сахарный диабет; высококалорийная диета; стрептозототин; антенатальное развитие; крысы

Для цитирования:

Соломина А. С., Родина А. В., Качалов К. С., Захаров А. Д., Дурнев А. Д. Оценка перспективы использования модели гестационного сахарного диабета для поиска средств фармакологической коррекции нарушений у потомства крыс. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2023;(2):45–53. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2023-2-45-53>

Поступила: 27 апреля 2023 г. **Принята:** 30 апреля 2023 г. **Опубликована:** 30 июня 2023 г.

Evaluating the prospects of using gestational diabetes mellitus model to find means of pharmacological correction of the disorders in rat offspring

© Anna S. Solomina, Anastasia V. Rodina, Kirill S. Kachalov, Aleksei D. Zakharov, Andrey D. Durnev

FSBI "Research Zakusov Institute of Pharmacology", Moscow, Russian Federation

Abstract. Imbalance of glucose homeostasis in the mother-placenta-fetus system in case of gestational diabetes mellitus (GDM) leads to pre- and postnatal abnormalities in offspring. Lack of universally recognized GDM-model complicates the search for pathogenetic means to prevent and correct abnormalities in offspring. A model using food load (high-calorie diet) in combination with low doses of diabetogen streptozotocin (HCD-STZ model) seems to be one of the closest in causes, mechanisms of development and clinical findings. Hence, the aim was to work out and assess the suitability of HCD-STZ model of GDM in order to register abnormalities in the offspring and determine the possibility of their pharmacological correction. Rats and its fetuses were the objects of the study. Modeling of GDM involved keeping rats on a high-calorie diet (NCD) for at least 10 weeks followed by a single injection of low-dose STZ on the first day of gestation. The hyperglycemia characteristic of GDM is recorded in less than 40 % of animals in HCD group combined with streptozotocin at a dose of 25 mg/kg. This fact does not allow a reliable assessment of abnormalities of antenatal and postnatal development of offspring. Thus, the model used is not promising for finding means of pharmacological correction of the effect of GDM on offspring.

Keywords: gestational diabetes mellitus; high-calorie diet; streptozotocin; antenatal development; rats

For citations:

Solomina AS, Rodina AV, Kachalov KS, Zaharov AD, Durnev AD. Evaluating the prospects of using gestational diabetes mellitus model to find means of pharmacological correction of the disorders in rat offspring. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2023;(2):45–53. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2023-2-45-53>

Received: April 27, 2023. **Accepted:** April 30, 2023. **Published:** June 30, 2023.

Введение / Introduction

Поддержанием гомеостаза глюкозы при беременности обеспечивается нормальное функционирование организма матери и развивающегося плода. Недостаточная секреция инсулина, вызванная адаптационными изменениями в организме женщины в период гестации и направленная на удовлетворения энергетических потребностей матери и плода, может приводить к развитию гестационного сахарного диабета (ГСД).

ГСД проявляется нарушением толерантности к глюкозе, при этом уровень глюкозы в крови может находиться в пределах нормы или повышаться умеренно [1].

Последствия ГСД многообразны. Со стороны материнского организма они проявляются патологиями родовой деятельности, повышенным риском развития сахарного диабета 2 типа (СД2), заболеваний сердечно-сосудистой и выделительной системы [2]. У потомства в пренатальном периоде на фоне ГСД выявляют дистресс

плода, дистоцию, эмбриофетопатию, фетопатию, мёртворождение. При рождении у детей от матерей с ГСД регистрируют макросомию, респираторный дистресс-синдром, гипогликемию, гипокальцемию, недоношенность [3, 4]. У детей в возрасте 1–2 лет наблюдаются снижение интеллектуального развития, расстройства аутистического спектра, синдром дефицита внимания и гиперактивности [5–8]. Отсроченные последствия ГСД у взрослого потомства проявляются ожирением, сахарным диабетом 2 типа, сердечно-сосудистыми патологиями и ранее указанными неврологическими нарушениями, существенно нарушая качество жизни и приводя к инвалидизации [9]. Таким образом, спектр выявляемых нарушений со стороны материнского организма и у потомства актуализирует необходимость поиска, исследования и подбора эффективных фармакологических корректоров.

ГСД возникает спонтанно, его патогенез малоизучен. Существует интерес к созданию экспериментальных моделей ГСД [10], однако общепризнанной и общепотребимой модели на данный момент не существует, что осложняет поиск патогенетических средств лечения и предупреждения пре- и постнатальных отклонений у потомства, возникающих вследствие ГСД. Важнейшим критерием адекватности модели является её схожесть по этиологии, патогенезу и клиническим проявлениям. По отдельным данным научной литературы, такими характеристиками обладает модель с использованием пищевой нагрузки, сочетающая в себе содержание грызунов на высококалорийной диете (ВКД) и введение низких доз диабетогена стрептозотоцина (СТЗ) (ВКД-СТЗ-модель) [11, 12].

Целью данного исследования явилась оценка пригодности ВКД-СТЗ-модели ГСД для выявления пре- и постнатальных нарушений потомства и их фармакологической коррекции.

Материалы и методы / Materials and methods

Биологическая тест-система, содержание, уход. Эксперименты выполнены на самках крыс *Wistar* ($n = 80$), в возрасте 8–10 недель, массой 200–220 г, поставленных из Филиал «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Содержание животных соответствовало правилам действующих нормативных документов в области надлежащей лабораторной практики [13–15]. Животные имели постоянный доступ к полнорационному экструдированному брикетированному корму и питьевой фильтрованной воде (фильтр Аквафор Кристалл Квадро [16], Россия).

Все манипуляции с животными были одобрены биоэтической Комиссией ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова». Адаптация крыс в лабораторном виварии осуществлялась в течение 5–7 дней до начала исследования, в период которой проводили ежедневный осмотр внешнего состояния животных и клинический осмотр до рандомизации. Животных распределяли по группам, используя

в качестве критерия массу тела, так, чтобы индивидуальное значение массы не отклонялось от среднего значения в пределах одного пола более чем на 10 %.

При проведении экспериментов на животных были приняты меры, позволяющие избежать излишних физических страданий или повреждений. Эвтаназию осуществляли методами декапитации.

Моделирование ВКД-СТЗ гестационного диабета.

Крыс содержали не менее 10 недель на высококалорийной диете (ВКД) с 57 % жиров и 12 % углеводов в рационе [17, 18]. Массу, потребление корма и воды фиксировали еженедельно на протяжении 10 недель. Крысы контрольной группы в эти же сроки потребляли полнорационный комбикорм. Через 2 месяца ВКД самок спаривали с интактными самцами, и в первый день беременности (ДБ) однократно внутрибрюшинно вводили цитратный буфер ($t = 4^\circ\text{C}$, $\text{pH} = 4,5$) или стрептозотоцин (СТЗ) (cat. # S0130-100MG, Sigma) в цитратном буфере ($t = 4^\circ\text{C}$, $\text{pH} = 4,5$) в дозах 20 мг/кг или 25 мг/кг, распределяя крыс по 4 группам:

1. Контрольная ($n = 12$): стандартный полнорационный корм, цитратный буфер внутрибрюшинно однократно;
2. Опытная 1 «ВКД» ($n = 9$): ВКД не менее 10 недель, цитратный буфер внутрибрюшинно однократно;
3. Опытная 2 «ВКД+СТЗ 20» ($n = 11$): ВКД не менее 10 недель, СТЗ 20 мг/кг внутрибрюшинно однократно;
4. Опытная 3 «ВКД+СТЗ 25» ($n = 11$): ВКД не менее 10 недель, СТЗ 25 мг/кг внутрибрюшинно однократно.

Выбор доз СТЗ проводили в соответствии с данными литературы, согласно которым его введение в сочетании с ВКД в дозе ниже 20 мг/кг не вызывает гипергликемии, а дозе 30 мг/кг уже приводит к гибели беременных крыс [11].

Схема исследования по отработке модели ВКД-СТЗ ГСД представлена на рис. 1.

Критерием развития ГСД являлся уровень глюкозы в крови в диапазоне 6,7–16,7 ммоль/л.

Потребление корма и воды. Определяли суммарно по группе (клетке) еженедельно до спаривания: накануне регистрировали исходную массу корма и объём воды, через сутки взвешивали оставшийся в кормушке корм и измеряли объём выпитой воды.

Масса тела. Регистрировали еженедельно до спаривания и на протяжении всей беременности (1-й, 7-й, 14-й и 20-й ДБ).

Измерение глюкозы. Измеряли в венозной крови натошак при помощи глюкометра One Touch Select Plus Flex («ЛайфСкан Юроп ГмбХ», Швейцария [19]) ежемесячно до спаривания и на 20-й ДБ.

Регистрация беременности у крыс. Во второй половине дня к каждому самцу подсаживали по 2 самки. На следующий день у самок специальной петлей брали соскоб из влагалища, наносили содержимое на предметное стекло в каплю воды и исследовали при увеличении $\times 10$. День обнаружения сперматозоидов в мазке принимали за первый ДБ.

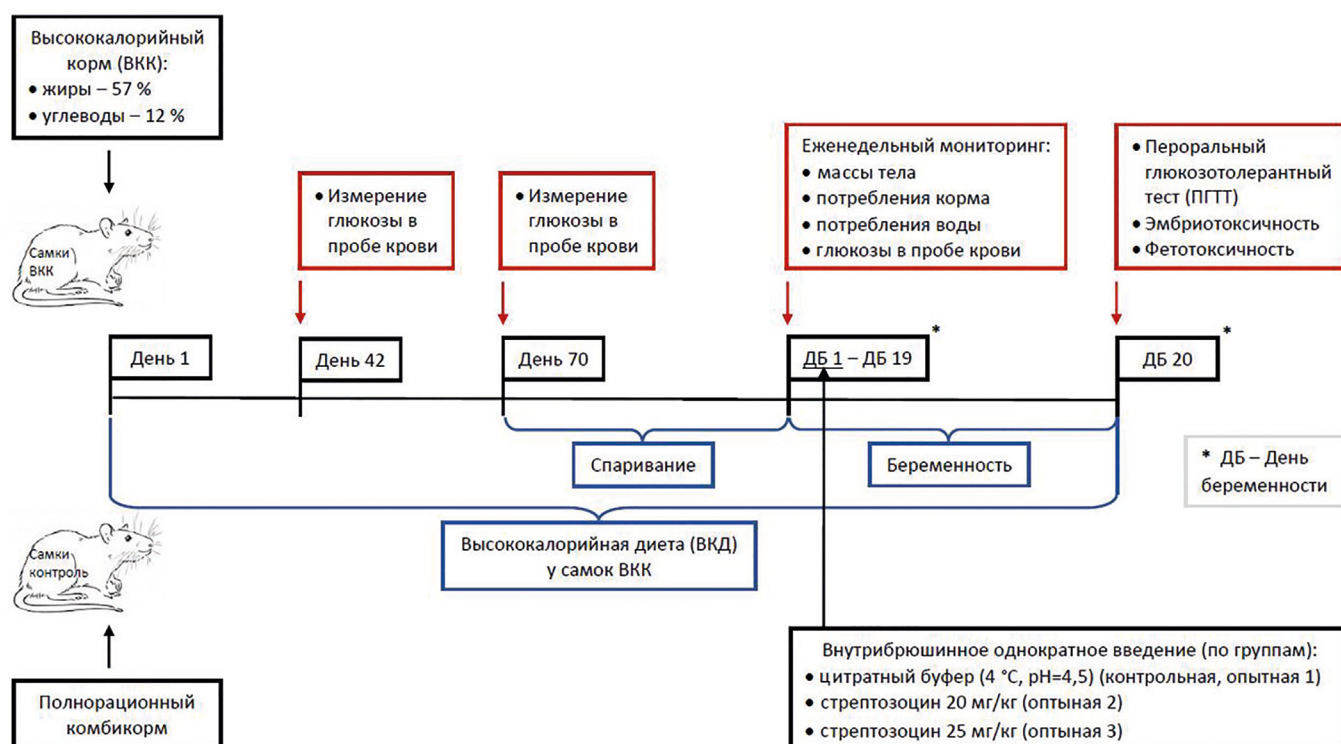


Рис. 1. Схема эксперимента по отработке модели ВКД-СТЗ ГСД

Fig. 1. The scheme of the experiment for testing the HCD-STZ GDM model

Пероральный глюкозотолерантный тест (ПГТТ).

Выполняли на 20-й ДБ в первой половине дня после 12-часового голодания. Образцы венозной крови отбирали в точках 0, 45, 90 и 120 минут после введения. Раствор D-глюкозы (ДиаЭМ, Россия [20]) вводили перорально однократно в дозе 2 г/кг сразу после забора в 0 точке. Уровень глюкозы в венозной крови измеряли при помощи глюкометра One Touch Select Plus Flex («ЛайфСкан Юроп ГмбХ», Швейцария [19]).

Оценка антенатального развития. На 20-й ДБ самок подвергали эвтаназии и некропии. Количество желтых тел беременности в яичниках подсчитывали с помощью лупы и тонкой иглы. После вскрытия матки определяли число живых, мёртвых, резорбированных плодов, количество мест имплантаций. Вычисляли показатель пред- и постимплантационной гибели эмбрионов. Живые плоды подвергали внешнему макроскопическому осмотру с помощью лупы от головы к хвосту. Фиксировали кранио-каудальный размер (см) и массу тела плодов (г).

Статистический анализ данных. Проводили согласно Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств [21]. Нормальность распределения данных проверяли с использованием критерия Шапиро–Уилкса. В случае не Гауссовского распределения данных применяли ранговый критерий Манна–Уитни и Краскела–Уоллиса для оценки раз-

ностей между. При сравнении частотных показателей зависимых выборок применяли точный критерий Фишера. Различия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение / Results and Discussion

При содержании на ВКД у крыс выявлены значимые различия по потреблению корма (табл. 1). Крысы опытной группы потребляли значимо больше корма на 2- и 10-й неделях диеты, в остальные сроки, с 3-й по 9-ю недели, крысы опытной группы ели достоверно меньше корма в сравнении с контрольными, что связано с его повышенной пищевой ценностью. Суммарное потребление высококалорийного корма крысами опытной группы было значимо меньше регистрируемого в контрольной группе (рис. 2).

Наблюдение за потреблением воды позволило установить достоверные различия между контрольной и опытной ВКД группами крыс (табл. 2). Самки, содержащиеся на ВКД, пили значимо больше воды в сравнении с контрольными практически на всех сроках регистрации, за исключением 4-й недели. Среднее суточное количество потребляемой воды у ВКД-крыс было достоверно выше наблюдаемого у контрольных (рис. 3).

Таблица 1

Мониторинг суточного потребления корма самками крыс при высококалорийной диете (ВКД)

Table 1

Monitoring of daily feed intake by female rats with a high-calorie diet (NCD)

Группа		Контрольная группа / полнораціонный комбикорм	Опытная группа / ВКД / высококалорийный корм
n		20	60
Недели эксперимента	2	17,0 [16,4÷17,7]	19,7* [17,7÷21,7]
	3	21,1 [20,5÷21,7]	20,0* [18,1÷21,2]
	4	19,9 [18,2÷21,6]	16,7* [15,4÷18,0]
	5	20,5 [19,8÷22,1]	21,9 [18,3÷24,3]
	6	18,5 [17,6÷19,4]	16,9* [15,2÷18,1]
	7	16,1 [15,4÷17,9]	14,9* [13,7÷17,4]
	8	16,4 [15,8÷18,0]	14,0* [13,2÷15,2]
	9	14,9 [14,1÷15,7]	12,1* [11,0÷14,3]
	10	11,5 [10,8÷11,8]	13,1* [11,8÷14,6]

Примечания: данные представлены в виде медиан групп и 25 % и 75 % квартилей; * — статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой (критерий Манна–Уитни); n — число животных в группе.

Notes: the data are presented in the form of median groups and 25 % and 75 % quartiles; * — statistically significant differences at $p < 0.05$ compared to the control group (Mann–Whitney test); n — the number of animals in the group.

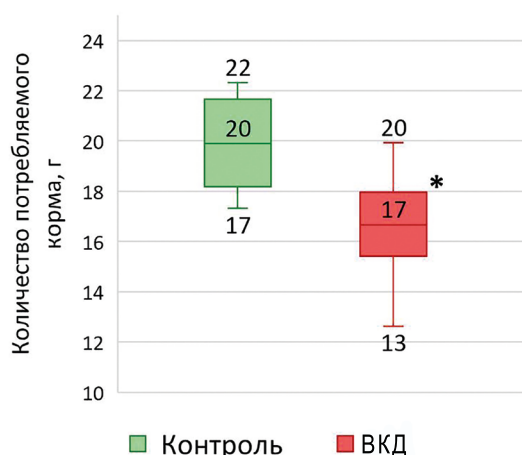


Рис. 2. Среднее суточное потребление корма с 1-й по 10-ю недели содержания крыс на высококалорийной диете
Fig. 2. Average daily feed intake from 1 to 10 weeks of keeping rats on a high-calorie diet

Примечание: * — статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой (критерий Манна–Уитни).

Note: * — statistically significant differences at $p < 0.05$ compared to the control group (Mann–Whitney test).

Таблица 2

Мониторинг суточного потребления воды самками крыс при высококалорийной диете (ВКД)

Table 2

Monitoring of daily water intake by female rats with a high-calorie diet (NCD)

Группа		Контрольная группа / полнораціонный комбикорм	Опытная группа / ВКД / высококалорийный корм
n		20	60
Недели эксперимента	2	28,0 [27,2÷30,8]	32,8* [31,4÷34,9]
	3	40,0 [38,7÷41,2]	44,6* [41,1÷7,6]
	4	40,3 [34,5÷43,9]	40,9 [38,8÷44,1]
	5	36,1 [34,7÷36,5]	40,7* [33,9÷42,7]
	6	34,7 [33,6÷36,0]	42,7* [37,6÷46,9]
	7	32,2 [29,7÷35,1]	36,8* [31,8÷40,7]
	8	35,7 [34,8÷38,4]	40,5* [37,0÷43,0]
	9	33,3 [32,4÷35,7]	32,7 [29,8÷37,2]
	10	29,5 [28,5÷31,4]	35,2* [32,2÷38,5]

Примечания: данные представлены в виде медиан групп и 25 % и 75 % квартилей; * — статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой (критерий Манна–Уитни); n — число животных в группе.

Notes: the data are presented as medians of groups and 25 % and 75 % quartiles; * — statistically significant differences at $p < 0.05$ compared to the control group (Mann–Whitney test); n — the number of animals in the group.

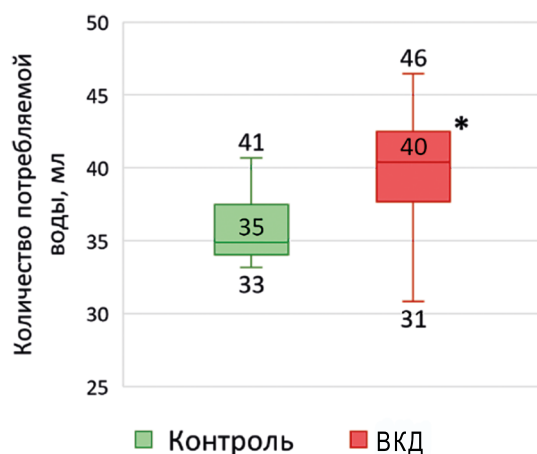


Рис. 3. Среднее суточное потребление воды с 1-й по 10-ю недели содержания крыс на высококалорийной диете (ВКД)
Fig. 3. Average daily water intake from 1 to 10 weeks of keeping rats on a high-calorie diet (NCD)

Примечание: * — статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой (критерий Манна–Уитни).

Note: * — statistically significant differences at $p < 0.05$ compared to the control group (Mann–Whitney test).

Данные по приросту массы тела самок крыс отражены в табл. 3. Потребление самками высококалорийного корма привело к достоверному увеличению прироста массы тела как на отдельных этапах наблюдения, так и суммарного прироста с 1-й по 6-ю недели и с 1-й по 10-ю недели ВКД по сравнению с контрольной группой (рис. 4).

Таблица 3

Еженедельный прирост массы самок крыс при высококалорийной диете (ВКД)

Table 3

Monitoring of daily water intake by female rats with a high-calorie diet (NCD)

Группа		Контрольная группа /полнора- ционный комбикорм	Опытная группа / ВКД /высококалорий- ный корм
n		20	60
Недели экспе- римента	0–1	18,0 [13,0÷20,5]	24,0* [17,5÷30,0]
	1–2	8,0 [6,0÷10,5]	9,0 [5,5÷14,0]
	2–3	11,0 [7,0÷16,0]	11,5 [8,0÷15,5]
	3–4	11,5 [8,5÷14,5]	10,0 [6,5÷16,0]
	4–5	7,0 [2,5÷8,5]	8,5* [5,0÷12,0]
	5–6	7,5 [4,5÷10,5]	8,0 [4,5÷12,0]
	6–7	2,0 [0,5÷4,5]	6,0* [2,5÷10,0]
	7–8	5,0 [2,5÷6,5]	5,0 [2,0÷7,0]
	8–9	4,0 [2,0÷6,0]	4,0 [2,0÷7,0]
	9–10	1,5 [0,0÷4,5]	3,0 [1,5÷7,0]
	0–10	70,0 [63,0÷87,0]	90,5* [74,0÷108,0]

Примечания: данные представлены в виде медиан групп и 25 % и 75 % квартилей; * — статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой (критерий Манна–Уитни); n — число животных в группе.

Notes: the data are presented as medians of groups and 25 % and 75 % quartiles; * — statistically significant differences at $p < 0.05$ compared to the control group (Mann–Whitney test); n — the number of animals in the group.

В табл. 4 представлены результаты измерения концентрации глюкозы в венозной крови крыс. Уровень глюкозы в крови у крыс опытной группы в конце первого месяца ВКД значимо не отличался от контрольной группы. Однако в конце второго месяца диеты у ВКД-крыс зафиксировано достоверное увеличение содержания глюкозы в венозной крови по сравнению со значениями контрольной группы (табл. 4).

После содержания крыс на ВКД в течение 2 месяцев самок крыс спаривали с интактными самцами. Беременных распределяли в 4 экспериментальные группы. Контрольной и опытной ВКД-группе в 1-й ДБ вводили однократно внутривентриально цитратный буфер. Опытным группам ВКД+СТЗ 20 и ВКД+СТЗ 25 в 1-й ДБ вводили однократно внутривентриально СТЗ в дозах 20 мг/кг или 25 мг/кг, соответственно. Животных опытных групп продолжали содержать на ВКД до момента забора биоматериала на 20-й ДБ, контрольная группа в эти же сроки потребляла стандартный полнорацционный корм.

Прирост массы тела беременных крыс представлен в табл. 5. У ВКД-крыс прирост массы тела в отдельные периоды наблюдения и суммарный прирост значимо не отличался от контрольной группы. В группе ВКД+СТЗ 20 отмечено достоверное увеличение массы с 7-й по 14-й и с 1-й по 20-й ДБ. У крыс ВКД+СТЗ 25 значимое повышение прироста массы тела установлено только с 7-й по 14-й ДБ. Показатель суммарного прироста массы крыс этой группы был выше наблюдаемого в контрольной, однако не был статистически значимым.

На 20-й ДБ уровень глюкозы, характерный для ГСД, отмечен у 11 % животных из группы, содержащейся на ВКД (1 крыса из 9), у 17 % крыс группы ВКД+СТЗ 20 (2 крысы из 12) и у 40 % крыс из группы ВКД+СТЗ 25 (4 крысы из 10) (рис. 5). Следует отметить, что содержание глюкозы в крови у беременных из группы ВКД+СТЗ 25 составило в среднем 14,7 ммоль/л (рис. 6),

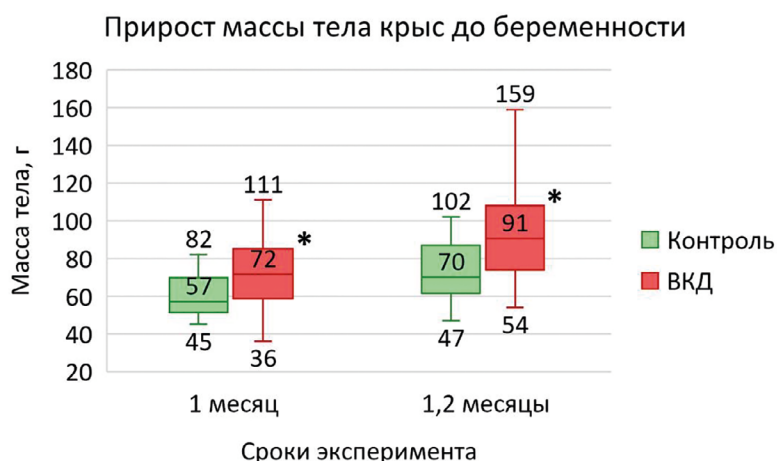


Рис. 4. Прирост массы тела в течение содержания крыс на высококалорийной диете (ВКД)

Fig. 4. Body weight gain during the maintenance of rats on a high-calorie diet (NCD)

Примечание: * — статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой (критерий Манна–Уитни).

Note: * — statistically significant differences at $p < 0.05$ compared to the control group (Mann–Whitney test).

Таблица 4

Результаты измерения глюкозы в пробе крови самок (ммоль/л)

Table 4

Results of glucose measurement in the blood sample of females (mmol/l)

Группа	n	Месяц эксперимента	
		1	2
Контрольная группа / полнорационный комбикорм	20	5,4 [4,9÷5,7]	5,8 [5,2÷6,4]
Опытная группа / ВКД / высококалорийный корм	60	5,4 [4,9÷5,8]	6,7* [6,3÷7,0]

Примечания: данные представлены в виде медиан групп и 25 % и 75 % квартилей; * — статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой (критерий Манна–Уитни); n — число животных в группе.

Notes: the data are presented as medians of groups and 25 % and 75 % quartiles; * — statistically significant differences at $p < 0.05$ compared to the control group (Mann–Whitney test); n — the number of animals in the group.

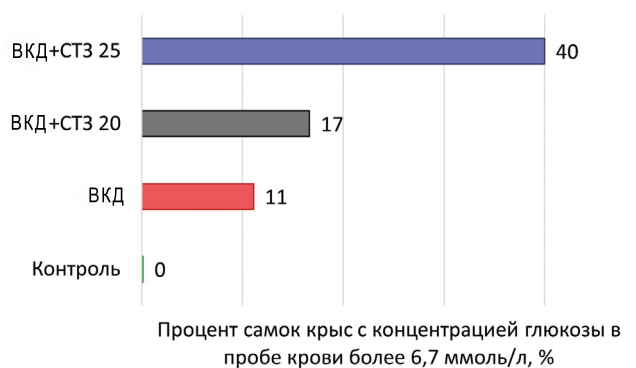


Рис. 5. Количество самок с уровнем глюкозы в крови, характерным при гестационном сахарном диабете (ГСД)

Fig. 5. The number of females with blood glucose levels characteristic of gestational diabetes mellitus (GDM)

Таблица 5

Прирост массы беременных крыс в ВКД-СТЗ модели

Table 5

Weight gain of pregnant rats in the HCD-STZ model

Группа	n	Дни беременности			
		1–7	7–14	14–20	14–20
Контрольная группа / полнорационный комбикорм	13	10,6 [10,6÷11,0]	14,9 [7,0÷14,9]	44,2 [31,0÷57,5]	69,7 [59,0÷83,0]
Опытная группа / ВКД / высококалорийный корм	9	18,0 [17,0÷21,0]	19,1 [16,0÷25,0]	35,4 [32,0÷37,0]	80,5 [70,0÷87,1]
Опытная группа / ВКД+СТЗ 20 / высококалорийный корм, СТЗ 20 мг/кг	12	13,5 [8,5÷14,5]	32,3* [29,0÷39,0]	42,9 [32,4÷53,0]	88,5* [83,0÷107,0]
Опытная группа / ВКД+СТЗ 25 / высококалорийный корм, СТЗ 25 мг/кг	10	10,8 [0,0÷16,0]	29,8* [26,0÷35,0]	32,3 [12,0÷48,0]	86,0 [52,0÷94,0]

Примечания: данные представлены в виде медиан групп и 25 % и 75 % квартилей; * — статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой (критерий Краскела–Уоллиса); n — число животных в группе.

Notes: the data are presented as medians of groups and 25 % and 75 % quartiles; * — statistically significant differences at $p < 0.05$ compared to the control group (Kruskal–Wallis test); n — the number of animals in the group.

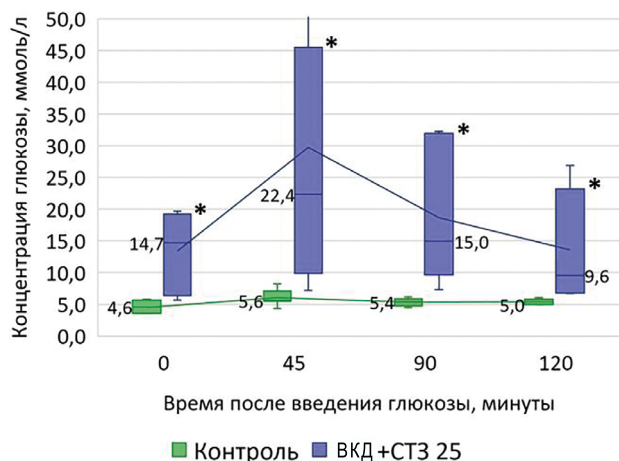


Рис. 6. Данные перорального глюкозотолерантного теста (ПГТТ) на 20-й день беременности (ДБ)

Fig. 6. Data of the oral glucose tolerance test (OGTT) on the 20th day of pregnancy (DP)

Примечание: * — статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой (критерий Манна–Уитни).

Note: * — statistically significant differences at $p < 0.05$ compared to the control group (Mann–Whitney test).

что характерно для тяжёлой степени диабета и существенно превышает показатели глюкозы при ГСД [16], которые могут быть в пределах нормы или повышаться умеренно.

В связи с низким числом животных с гипергликемией, характерной для ГСД, которое составило менее 40 %, не представилось возможным оценить постнатальное развитие потомства. Ниже представлены данные по ПГТТ и антенатальному развитию плодов от крыс из группы ВКД+СТЗ 25.

Результаты ПГТТ крыс группы ВКД+СТЗ 25 представлены на рис. 6 и характеризовались нарушением толерантности к глюкозе у этих животных.

Параметры антенатального развития потомства от 4 крыс в ВКД-СТЗ модели отражены в табл. 6 и 7. Содержание крыс на ВКД с последующим однократным введением стрептозотоцина в дозе 25 мг/кг не влияло на показатели спонтанной пред- и постимплантационной гибели эмбрионов, определяемой на основании подсчёта числа жёлтых тел, мест имплантаций, живых плодов.

Различий в кранио-каудальных размерах плодов от крыс опытной группы не зафиксировано, однако выявлено значимое снижение массы тела у плодов мужского

пола по сравнению с контрольной группой. Негативного влияния на параметры эмбрионального развития не установлено: плодные оболочки были правильно сформированы, амниотическая жидкость прозрачна, плацента полнокровна, без признаков склероза. При рассечении плодных оболочек и пересечении пуповины дыхание плодов становилось самостоятельным, кожные покровы были розового цвета. Поверхность кожи имела морщинистый, крупноскладчатый вид, спина была выпрямлена, глаза и уши закрыты. Однако важно отметить, что в связи с небольшой выборкой беременных крыс с гипергликемией ($n = 4$) сделать достоверное заключение по результатам эмбрионального развития плодов не представилось возможным.

Заключение / Conclusion

Таким образом, при содержании крыс на ВКД в течение не менее 10 недель с последующим однократным внутрибрюшинным введением стрептозотоцина в первый день беременности гипергликемия, характерная для ГСД, регистрируется менее чем у 40 % животных, что не позволяет достоверно оценить нарушения ан-

Таблица 6

Эмбриональное развитие плодов от ВКД-СТЗ крыс

Table 6

Embryonic development of fetuses from HCD-STZ rats

Группа	Число жёлтых тел на 1 самку	Число мест имплантаций на 1 самку	Предимплантационная гибель, %	Число живых плодов на 1 самку	Постимплантационная гибель, %
Контрольная группа /полнорационный комбикорм	12,5 [10,5÷13,5]	8,5 [5,5÷11,5]	0,3 [0,1÷,5]	6,5 [4,0÷10,0]	0,2 [0,1÷0,3]
Опытная группа /ВКД+СТЗ 25 / высококалорийный корм, СТЗ 25 мг/кг	11,0 [11,0÷14,0]	10,0 [10,0÷14,0]	0,1 [0,0÷0,1]	10,0 [5,0÷12,0]	0,1 [0,0÷0,2]

Примечания: данные представлены в виде медиан групп и 25 % и 75 % квартилей; * — статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой (критерий Манна–Уитни).

Notes: the data are presented in the form of medians of groups and 25 % and 75 % quartiles; * — statistically significant differences at $p < 0.05$ compared to the control group (Mann–Whitney criterion).

Таблица 7

Антенатальное развитие плодов от ВКД-СТЗ крыс

Table 7

Antenatal development of fetuses from HCD-STZ rats

Группа	Средняя масса плодов, г		Средний размер плодов, мм	
	Самцы	Самки	Самцы	Самки
Контрольная группа /полнорационный комбикорм	30,0 [30,0÷30,0]	29,0 [28,0÷30,0]	2,5 [2,4÷2,7]	2,5 [2,3÷2,6]
Опытная группа / ВКД+СТЗ 25 / высококалорийный корм, СТЗ 25 мг/кг	29,0* [28,0÷29,0]	29,0 [29,0÷29,0]	2,5 [2,4÷2,6]	2,5 [2,4÷2,7]

Примечания: данные представлены в виде медиан групп и 25 % и 75 % квартилей; * — статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой (критерий Манна–Уитни).

Notes: the data are presented as medians of groups and 25 % and 75 % quartiles; * — statistically significant differences at $p < 0.05$ compared to the control group (Mann–Whitney test).

тенатального и постнатального развития потомства на фоне ГСД. Кроме того, уровень глюкозы у крыс, содержащихся на высококалорийной диете в сочетании с однократным введением стрептозотоцина в дозе 25 мг/кг, соответствует тяжелой степени диабета. Полученные результаты показывают, что ВКД-СТЗ модель не перспективна для поиска средств фармакологической коррекции влияния ГСД на потомство.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ADDITIONAL INFORMATION

Конфликт интересов. У авторов отсутствует какой-либо конфликт интересов.

Conflict of interest. The authors do not have any conflict of interest.

Участие авторов. Соломина А. С., Дурнев А. Д. — разрабатывали дизайн исследования; Соломина А. С., Качалов К. С., Захаров А. Д. — руководили доклиническим этапом исследования; Родина А. В. — выполняла статистическую обработку полученных результатов; Соломина А. С., Родина А. В. — участвовали в оформлении рукописи; все авторы участвовали в обсуждении полученных результатов.

Participation of authors. Solomina AS, Durnev AD — developed the design of a preclinical research; Solomina AS, Kachalov KS, Zaharov AD — were responsible for the preclinical phase of the study; Rodina AV — performed statistical processing of the results; Solomina AS, Rodina AV — wrote the text of the manuscript; all the authors participated in the discussion of the results obtained.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Соломина Анна Сергеевна

Автор, ответственный за переписку

e-mail: solomina@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7048-4993>

SPIN-код: 7475-9613

к. б. н., с. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Российская Федерация

Anna S. Solomina

Corresponding author

e-mail: solomina@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7048-4993>

SPIN code: 7475-9613

PhD, Cand. Sci. (Biology), Senior Research Officer of the laboratory of drug toxicology FSBI “Zakusov Institute of Pharmacology”, Moscow, Russian Federation

Родина Анастасия Владимировна

e-mail: an.vl.rodina@gmail.com

SPIN-код: 1254-7322

м. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Российская Федерация

Anastasia V. Rodina

e-mail: an.vl.rodina@gmail.com

SPIN code: 1254-7322

Junior researcher of the laboratory of drug toxicology FSBI “Zakusov Institute of Pharmacology”, Moscow, Russian Federation

Качалов Кирилл Сергеевич

e-mail: kkachalov@mail.ru

SPIN-код: 2992-6789

аспирант, м. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Российская Федерация

Kirill S. Kachalov

e-mail: kkachalov@mail.ru

SPIN code: 2992-6789

graduate student, Junior researcher of the laboratory of drug toxicology FSBI “Zakusov Institute of Pharmacology”, Moscow, Russian Federation

Захаров Алексей Дмитриевич

e-mail: Alex.zakharov91@mail.ru

SPIN-код: 9013-6228

м. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Российская Федерация

Aleksei D. Zakharov

e-mail: Alex.zakharov91@mail.ru

SPIN code: 9013-6228

Junior researcher of the laboratory of drug toxicology FSBI “Zakusov Institute of Pharmacology”, Moscow, Russian Federation

Дурнев Андрей Дмитриевич

e-mail: durnev@academpharm.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0218-8580>

SPIN-код: 8426-0380

д. м. н., профессор, член-корр. РАН, зав. лабораторией лекарственной токсикологии, ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Российская Федерация

Andrey D. Durnev

e-mail: durnev@academpharm.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0218-8580>

SPIN code: 8426-0380

Dr. Sci (Med.), professor, corresponding member RAS, Head of the department of drug toxicology FSBI "Zakusov Institute of Pharmacology", Moscow, Russian Federation

Список литературы / References

1. niddk.nih.gov [Internet]. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases [доступ от 03.03.2023]. URL: <https://www.niddk.nih.gov/health-information/diabetes/overview/what-is-diabetes/gestational/management-treatment>.
2. Plows JF, Stanley JL, Baker PN, et al. The pathophysiology of gestational diabetes mellitus: a literature review. *Int J Mol Sci.* 2018;19(11):3342. DOI: 10.3390/ijms19113342.
3. Kc K, Shakya S, Zhang H. Gestational diabetes mellitus and macrosomia: a literature review. *Ann Nutr Metab.* 2015;66 Suppl 2:14–20. DOI: 10.1159/000371628.
4. Ornoy A. Prenatal origin of obesity and their complications: Gestational diabetes, maternal overweight and the paradoxical effects of fetal growth restriction and macrosomia. *Reprod Toxicol.* 2011 Sep;32(2):205–12. DOI: 10.1016/j.reprotox.2011.05.002.
5. Nahum Sacks K, Friger M, Shoham-Vardi I, et al. Prenatal exposure to gestational diabetes mellitus as an independent risk factor for long-term neuropsychiatric morbidity of the offspring. *Am J Obstet Gynecol.* 2016 Sep;215(3):380.e1–7. DOI: 10.1016/j.ajog.2016.03.030.
6. Su CH, Liu TY, Chen IT, et al. Correlations between serum BDNF levels and neurodevelopmental outcomes in infants of mothers with gestational diabetes. *Pediatr Neonatol.* 2021 May;62(3):298–304. DOI: 10.1016/j.pedneo.2020.12.012.
7. Chen S, Zhao S, Dalman C, et al. Association of maternal diabetes with neurodevelopmental disorders: autism spectrum disorders, attention-deficit/hyperactivity disorder and intellectual disability. *Int J Epidemiol.* 2021 May 17;50(2):459–474. DOI: 10.1093/ije/dyaa212.
8. Perea V, Urquiza X, Valverde M, et al. Influence of Maternal Diabetes on the Risk of Neurodevelopmental Disorders in Offspring in the Prenatal and Postnatal Periods. *Diabetes Metab J.* 2022 Nov;46(6):912–922. DOI: 10.4093/dmj.2021.0340.
9. Johns EC, Denison FC, Norman JE, Reynolds RM. Gestational Diabetes Mellitus: Mechanisms, Treatment, and Complications. *Trends Endocrinol Metab.* 2018 Nov;29(11):743–754. DOI: 10.1016/j.tem.2018.09.004.
10. Pasek RC, Gannon M. Advancements and challenges in generating accurate animal models of gestational diabetes mellitus. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2013 Dec 1;305(11):E1327–38. DOI: 10.1152/ajpendo.00425.2013.
11. Xu W, Tang M, Wang J, Wang L. Anti-inflammatory activities of puerarin in high-fat diet-fed rats with streptozotocin-induced gestational diabetes mellitus. *Mol Biol Rep.* 2020 Oct;47(10):7537–7546. DOI: 10.1007/s11033-020-05816-6.
12. Kiss AC, Lima PH, Sinzato YK, et al. Animal models for clinical and gestational diabetes: maternal and fetal outcomes. *Diabetol Metab Syndr.* 2009 Oct 19;1(1):21. DOI: 10.1186/1758-5996-1-21.
13. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 81 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств». [The Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission dated November 3, 2016 № 81 «Ob utverzhdenii pravil nadležashchei laboratornoi praktiki Evraziiskogo ekonomicheskogo soyuza v sfere obrashcheniya lekarstvennykh sredstv». (In Russ.)]. URL: https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01211928/cncd_21112016_81. Ссылка активна на 03.02.2023.
14. ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур» (Переиздание) [GOST 33215-2014 «Guidelines for accommodation and care of animals. Rules for the equipment of premises and the organization of procedures». (Reissue) (In Russ.)]. Межгосударственный стандарт: изд. офиц.: дата введения 2016-07-01 // Москва: Стандартинформ. 2019. 13 с.
15. ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами». (Переиздание). Межгосударственный стандарт: изд. офиц.: дата введения 2016-07-01. Москва: Стандартинформ. 2019. 10 с. [GOST 33216-2014 «Guidelines for accommodation and care of animals. Species-specific provisions for laboratory rodents and rabbits». (Reissue). Mezhgosudarstvennyj standart: izd. ofic.: data vvedeniya 2016-07-01. Moscow: Standartinform. 2019. (In Russ.)].
16. aquaphor.ru [Internet]. Российская компания Акфафор [доступ от 07.02.2023]. URL: <https://www.aquaphor.ru/>
17. Arafa EA, Hassan W, Murtaza G, Buabaid MA. Ficus carica and Sизигиум cumini Regulate Glucose and Lipid Parameters in High-Fat Diet and Streptozotocin-Induced Rats. *J Diabetes Res.* 2020 Oct 28;2020:6745873. DOI: 10.1155/2020/6745873.
18. Derkach KV, Bondareva VM, Chistyakova OV, et al. The Effect of Long-Term Intranasal Serotonin Treatment on Metabolic Parameters and Hormonal Signaling in Rats with High-Fat Diet/Low-Dose Streptozotocin-Induced Type 2 Diabetes. *Int J Endocrinol.* 2015;2015:245459. DOI: 10.1155/2015/245459.
19. lifescan.com [Internet]. Malvern: LifeScan, Inc.; [доступ от 05.02.2023]. URL: <https://www.lifescan.com/>.
20. dia-m.ru [Internet]. Российская компания Диаэм [доступ от 06.02.2023]. URL: <https://www.dia-m.ru/>.
21. Сергиенко В.И., Бондарева И.Б., Маевский Е.И. Методические рекомендации по статистической обработке результатов доклинических исследований лекарственных средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. / под ред. Мироснова А.Н. М.: Гриф и К; 2012. [Sergienko VI, Bondareva IB, Maevskii EI. Metodicheskie rekomendatsii po statisticheskoi obrabotke rezul'tatov doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Ed by Mironov AN. Moscow: Griff K; 2012. (In Russ.)].