

<https://doi.org/10.33647/2713-0428-20-3E-191-196>



## РЕПРОДУКТИВНЫЕ НАРУШЕНИЯ У МАТЕРЕЙ И ПОТОМСТВА КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ГЕСТАЦИОННОГО ДИАБЕТА ВЫСОКОКАЛОРИЙНОЙ ДИЕТОЙ В СОЧЕТАНИИ С ТИЛОКСАПОЛОМ

К.С. Качалов\*, А.С. Соломина, А.В. Родина

*ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских  
и фармацевтических технологий»*

*125315, Российская Федерация, Москва, Балтийская ул., 8*

Отсутствие общепринятой модели гестационного диабета актуализирует задачу по её поиску и разработке. В эксперименте установлено, что содержание крыс популяции линий Wistar на высококалорийной диете в сочетании с введением тилоксапола при различных режимах во второй половине беременности приводит к нарушению толерантности к глюкозе, увеличению уровня ДНК-повреждений в органах потомства и отклонениям в постнатальном периоде развития. Предложенная модель может использоваться для поиска средств фармакологической коррекции репродуктивных нарушений при гестационном диабете.

**Ключевые слова:** гестационный диабет, высококалорийная диета, тилоксапол, ДНК-кометы, потомство, крысы

**Конфликт интересов:** авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** Качалов К.С., Соломина А.С., Родина А.В. Репродуктивные нарушения у матерей и потомства крыс при моделировании гестационного диабета высококалорийной диетой в сочетании с тилоксаполом. *Биомедицина*. 2024;20(3E):191–196. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-20-3E-191-196>

*Поступила 15.04.2024*

*Принята после доработки 28.08.2024*

*Опубликована 01.11.2024*

## REPRODUCTIVE DISORDERS IN MOTHERS AND OFFSPRING OF RATS IN GESTATIONAL DIABETES MODELLED WITH A HIGH-CALORIE DIET IN COMBINATION WITH TYLOXAPOL

Kirill S. Kachalov\*, Anna S. Solomina, Anastasia V. Rodina

*Federal Research Center for Original and Promising Biomedical and Pharmaceutical Technologies  
125315, Russian Federation, Moscow, Baltiyskaya Str., 8*

The absence of a generally accepted model of gestational diabetes makes the task of its search and development highly relevant. The conducted experiments found that a high-calorie diet in combination with tyloxapol administration in various modes in the second half of pregnancy of Wistar rats leads to impaired glucose tolerance, an increase in the level of DNA damage in the organs of offspring, and deviations in the postnatal period of development. The proposed model can be used to search for pharmacological correction of reproductive disorders in gestational diabetes.

**Keywords:** gestational diabetes, high-calorie diet, tyloxapol, DNA comet assay, offspring, rats

**Conflict of interest:** the authors declare no conflict of interest.

**For citation:** Kachalov K.S., Solomina A.S., Rodina A.V. Reproductive Disorders in Mothers and Offspring of Rats in Gestational Diabetes Modelled with a High-Calorie Diet in Combination with Tyloxapol. *Journal Biomed.* 2024;20(3E):191–196. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-20-3E-191-196>

Submitted 15.04.2024

Revised 28.08.2024

Published 01.11.2024

## Введение

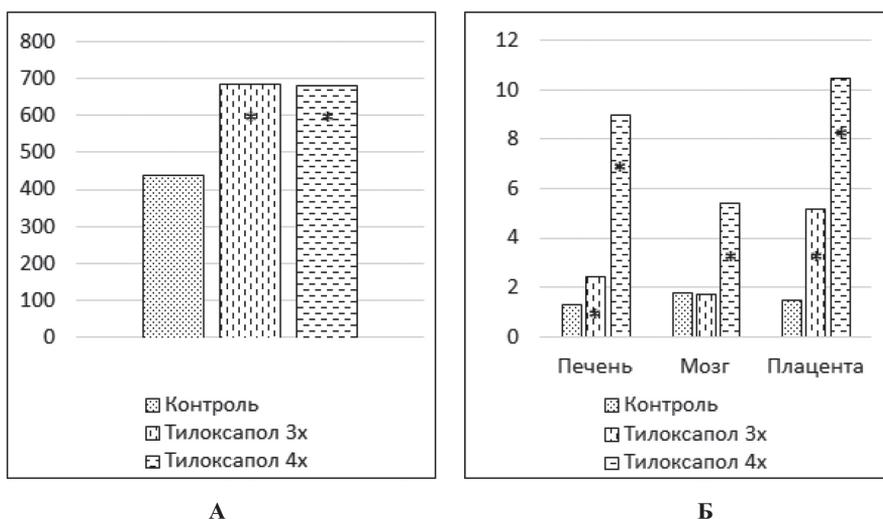
Гестационный сахарный диабет (ГСД) — нарушение обмена углеводов, впервые диагностируемое во время беременности и характеризующееся нарушением толерантности к глюкозе различной степени выраженности. По данным Международной Федерации диабета, ГСД ежегодно диагностируется у 17% беременных во всём мире [6]. К факторам риска развития ГСД относятся: сахарный диабет в семейном анамнезе или ГСД в анамнезе самой пациентки, малоподвижный образ жизни, высокоуглеводная диета, а также лишний вес и ожирение. Патогенез ГСД принципиально отличается от сахарного диабета 1-го и 2-го типа и связан с проходящими изменениями именно у беременных. Несмотря на обратимость гипергликемии при родоразрешении, ГСД индуцирует нарушения материнского организма (патологии родовой деятельности, риск развития заболеваний сердечно-сосудистой системы) и вызывает различные неврологические и метаболические отклонения у потомства [5, 7]. В основе указанных нарушений могут лежать выявляемые при ГСД первичные повреждения ДНК [2], которые в последнее время служат маркером различных патологий (в т. ч. сопровождающихся гипергликемией) и подлежат отдельной оценке.

На данный момент не существует общепринятой модели ГСД. Диабетогены аллоксан и стрептозотозин не позволяют воспроизвести поэтапность патогенеза и основные клинические проявления ГСД, что ставит задачу по изысканию новых путей для моделирования данного заболевания.

**Цель работы** — исследовать метаболические нарушения у матерей и фетотоксическое действие у потомства в антенатальном и постнатальном периоде при гестационном диабете, индуцированном высококалорийной диетой в сочетании с тилоксаполом.

## Материалы и методы

Исследование проведено на самках крыс популяции линий Wistar (n=42; возраст 14 недель; масса тела не менее 220 г), полученных из Филиала «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (Московская обл.). Животных содержали в виварии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» в соответствии с ГОСТ 33215-2014. В начале эксперимента животных случайным образом разделяли на группы. Контрольная группа животных содержалась на стандартном корме и воде. Животных опытных групп содержали на высококалорийной диете (состоящей из корма с 60% животного жира) и 10%-ном р-ре сахарозы в качестве единственного источника жидкости, не менее 4 недель до беременности и на протяжении периода беременности длительностью не менее 3 недель. С 14-го дня беременности (ДБ) животным контрольной группы внутрибрюшинно вводили фосфатно-солевой буфер (ФСБ) с рН=7,4. Животным опытных групп вводили тилоксапол (Triton WR-1339), моделирующий гиперлипидемию за счёт ингибирования липопротеинлипазы и увеличения активности ГмГ-КоА-редуктазы и обладающий способностью обратимо и умеренно повышать уровень глюкозы в крови



**Рис.** Внутривенный глюкозотолерантный тест: А — площадь под кривой (AUC) на 21-й день беременности; Б — ДНК-повреждения в тканях плодов.

**Примечание:** Тилоксапол 3× — трёхкратный режим введения тилоксапола в дозе 200 мг/кг; Тилоксапол 4× — четырёхкратный режим введения тилоксапола в дозе 200 мг/кг; данные представлены в виде медиан групп; \* — статистически значимые различия при  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой.

**Fig.** Intravenous glucose tolerance test: А — area under the curve (AUC) on the 21st day of pregnancy; Б — DNA damage in fetal tissues.

**Note:** Tyloxapol 3× — three-time regimen of administration of tyloxapol at a dose of 200 mg/kg; Tyloxapol 4× — four-time regimen of administration of tyloxapol at a dose of 200 mg/kg; data are presented in the form of group medians; \* — statistically significant differences at  $p < 0.05$  compared with the control group.

грызунов [4]. Тилоксапол использовали в дозе 200 мг/кг в ФСБ (рН=7,4) трёхкратно (на 14-й, 17-й, 20-й ДБ) или четырёхкратно (на 14-й, 16-й, 18-й и 20-й ДБ). На 20-й день животных всех групп животных ограничивали в доступе к корму и содержали только на воде. На 21-й ДБ животным измеряли уровень глюкозы натошак (глюкометр «Diasont») и проводили внутривенный глюкозотолерантный тест (ВГТТ) с последующим расчётом площади под кривой (AUC) [3]. Одну часть самок декапитировали, и в ходе некропсии из каждого рога матки извлекали по одному плоду вместе с плацентой. Уровень ДНК-повреждений оценивали в образцах плаценты, печени и мозга плодов методом ДНК-комет в щелочной версии (с вычислением % ДНК в хвосте кометы) [1]. Другую часть самок оставляли на роды и наблюдали за выживаемостью потомства и его психо-поведенче-

ским статусом после 60-го дня жизни (ДЖ) в тестах «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), «Распознавание нового объекта» (РНО), «Открытое поле» (ОП), «Экстраполяционное избавление» (ЭИ).

Для статистической обработки данных использовали ранговые критерии Манна — Уитни и Краскела — Уоллиса. Различия между группами считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты исследований

Содержание животных на ВКД в сочетании с тилоксаполом в дозе 200 мг/кг приводило к достоверному повышению уровня глюкозы в крови натошак при трёхкратном режиме до 5,6 ммоль/л, при четырёхкратном — до 7,6 ммоль/л (против 4,4 ммоль/л в контрольной группе). В результате проведения ВГТТ установлено сопоставимое нарушение толерантности к глюкозе

**Таблица.** Результаты проведения поведенческих тестов после 60-го дня жизни потомства  
**Table.** Results of behavioral tests following 60 days of offspring life

Измеряемый показатель	Группа	Самки	Самцы
Тест «Приподнятый крестообразный лабиринт»			
Нахождение в открытом рукаве, с	Контроль	136,9 [76,2+216,6]	80,7 [32,6+257,3]
	Тилоксапол 3×	52,1* [38,2+63,3]	21,7* [8,4+40,5]
Нахождение в закрытом рукаве, с	Контроль	83,7 [63,4+148,8]	168,0 [38,8+234,8]
	Тилоксапол 3×	230,9* [203,9+245,2]	268,7* [214,4+281,5]
Тест «Распознавание нового объекта»			
Индекс распознавания нового объекта	Контроль	63,5 [53,8+73,9]	61,9 [61,2+64,2]
	Тилоксапол 3×	49,5* [42,4+57,2]	52,3* [37,8+64,0]
Тест «Экстраполяционное избавление»			
Время принятия решения	Контроль	3,0 [2,43+9,1]	5,8 [3,8+7,9]
	Тилоксапол 3×	23,6* [5,0+60,0]	17,4* [13,3+31,7]
Тест «Открытое поле»			
Горизонтальная двигательная активность	Контроль	57,5 [45,0+67,0]	47,0 [39,0+52,0]
	Тилоксапол 3×	34,0* [29,0+47,0]	25,5* [13,0+33,0]

**Примечание:** с — секунды; Тилоксапол 3× — трёхкратный режим введения тилоксапола в дозе 200 мг/кг; данные представлены в виде медиан групп и 25% и 75% квартилей; \* — статистически значимые различия при  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой.

**Note:** s — seconds; Tyloxapal 3× — three-time regimen of administration of tyloxapal at a dose of 200 mg/kg; data are presented in the form of group medians and 25% and 75% quartiles; \* — statistically significant differences at  $p < 0.05$  compared with the control group.

в опытных группах на 21-й ДБ (рис., А). При оценке генотоксичности в результате трёхкратного введения тилоксапола было установлено значимое увеличение уровня ДНК-повреждений в плаценте и печени плодов, тогда как при четырёхкратном режиме введения тилоксапола показатель поврежденности ДНК был значимо выше во всех исследуемых тканях (рис., Б). Полученные данные согласуются с клиническими наблюдениями, указывающими на увеличение поврежденности ДНК у матерей и новорождённых на фоне ГСД [2].

В раннем постнатальном периоде выживаемость потомства составила 100% в контрольной группе, в модели ГСД на фоне трёхкратного введения тилоксапо-

ла выживаемость составила 75%. При четырёхкратном введении тилоксапола доля выживших крысят значимо снижалась (до 30%), что не позволило получить достаточное количество потомства обоего пола для проведения поведенческих тестов.

В модели ГСД при трёхкратном введении тилоксапола — на фоне отсутствия ДНК-повреждений в мозге плодов — и самки, и самцы потомства демонстрировали значимое увеличение тревожности в тесте ПКЛ, снижение индекса распознавания нового объекта в тесте РНО, уменьшение исследовательской и горизонтальной двигательной активности в тесте ОП и увеличение времени принятия решения в тесте ЭИ (табл.).

## Заключение

Сочетание высококалорийной диеты и тилоксапола в трёхкратном и четырёхкратном режиме вызывает значимую гипергликемию натощак и достоверное нарушение толерантности к глюкозе у самок крыс, увеличение уровня ДНК-повреждений в эмбриональных тканях и отклонения в пове-

дении у взрослого потомства. Полученные данные согласуются с клиническими проявлениями гестационного сахарного диабета, позволяя использовать предложенную модель для поиска и оценки эффективности фармакологических корректоров снижать репродуктивные нарушения при исследуемой патологии.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Дурнев А.Д., Меркулов В.А., Жанатаев А.К., Никитина В.А., Воронина Е.С., Середин С.Б. Методические рекомендации по оценке ДНК-повреждений методом щелочного гель-электрофореза отдельных клеток в фармакологических исследованиях. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая*. Под ред. А.Н. Миронова. М.: Гриф и К, 2012:115–128. [Durnev A.D., Merkulov V.A., Zhanataev A.K., Nikitina V.A., Voronina E.S., Seredenin S.B. Metodicheskie rekomendatsii po otsenke DNK-povrezhdeniy metodom shchelochnogo gel'-elektroforeza ot del'nykh kletok v farmakologicheskikh issledovaniyakh [Methodological recommendations for the assessment of DNA damage by alkaline gel electrophoresis of individual cells in pharmacological studies]. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast' pervaya* [Guidelines for conducting preclinical studies of medicines. Part One]. Ed. by A.N. Mironov. Moscow: Grif i K Publ., 2012:115–128. (In Russian)].
2. Ерёмин Н.В., Жанатаев А.К., Лисицын А.А., Дурнев А.Д. Генотоксические маркеры у больных сахарным диабетом (обзор литературы). *Экологическая генетика*. 2021;19(2):143–168. [Eremina N.V., Zhanataev A.K., Lisitsyn A.A., Durnev A.D. Genotoksicheskie markery u bol'nykh sakharnym diabetom (obzor literatury).] [Genotoxic markers in patients with diabetes mellitus (literature review)]. *Ecological Genetics*. 2021;19(2):143–168. (In Russian)].
3. Спасов А.А., Воронкова М.П., Снигур Г.Л., Тибирькова Е.В., Проскурина И.А. Методические рекомендации по доклиническому изучению пероральных лекарственных средств для лечения сахарного диабета. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая*. Под ред. А.Н. Миронова. М.: Гриф и К, 2012:672–686. [Spasov A.A., Voronkova M.P., Snigur G.L., Tibir'kova E.V., Proskurina I.A. Metodicheskie rekomendatsii po doklinicheskomu izucheniyu peroral'nykh lekarstvennykh sredstv dlya lecheniya sakharnogo diabeta [Methodological recommendations for the preclinical study of oral medicines for the treatment of diabetes mellitus]. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast' pervaya* [Guidelines for conducting preclinical studies of medicines. Part One]. Ed. by A.N. Mironov. Moscow: Grif i K Publ., 2012:672–686. (In Russian)].
4. De Sousa J.A., Pereira P., da Costa Allgayer M., Marroni N.P., Ferraz A.D.B.F., Picada J.N. Evaluation of DNA damage in Wistar rat tissues with hyperlipidemia induced by tyloxapol. *Exp. Mol. Pathol.* 2017;103(1):51–55. DOI: 10.1016/j.yexmp.2017.06.009
5. Plows J.F., Stanley J.L., Baker P.N., Reybolds C.M., Vickers M.H. The pathophysiology of gestational diabetes mellitus. *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19(11):3342. DOI: 10.3390/ijms19113342
6. International Diabetes Federation.
7. Кс К., Шакья С., Zhang H. Gestational diabetes mellitus and macrosomia: A literature review. *Ann. Nutr. Metab.* 2015;66(Suppl. 2):14–20. DOI: 10.1159/000371628

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Качалов Кирилл Сергеевич\*, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»;  
e-mail: [kachalov\\_ks@academpharm.ru](mailto:kachalov_ks@academpharm.ru)

Kirill S. Kachalov\*, Federal Research Center for Original and Promising Biomedical and Pharmaceutical Technologies;  
e-mail: [kachalov\\_ks@academpharm.ru](mailto:kachalov_ks@academpharm.ru)

**Соломина Анна Сергеевна**, к.б.н., ФГБНУ  
«Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»;  
**e-mail: [solomina\\_as@academpharm.ru](mailto:solomina_as@academpharm.ru)**

**Anna S. Solomina**, Cand. Sci. (Biol.), Federal Research Center for Original and Promising Biomedical and Pharmaceutical Technologies;  
**e-mail: [solomina\\_as@academpharm.ru](mailto:solomina_as@academpharm.ru)**

**Родина Анастасия Владимировна**, ФГБНУ  
«Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»;  
**e-mail: [rodina\\_av@academpharm.ru](mailto:rodina_av@academpharm.ru)**

**Anastasia V. Rodina**, Federal Research Center for Original and Promising Biomedical and Pharmaceutical Technologies;  
**e-mail: [rodina\\_av@academpharm.ru](mailto:rodina_av@academpharm.ru)**

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author