

## МОДЕЛИРОВАНИЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА И ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕФРОПАТИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Байрашева В.К.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, e-mail: bayrasheva\_med@mail.ru;

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова Минздрава России, Санкт-Петербург

Учитывая неуклонно возрастающее во всем мире число больных сахарным диабетом, актуальной проблемой остаётся изучение патогенетических механизмов возникновения и прогрессии и способов профилактики одного из наиболее грозных осложнений заболевания – диабетической нефропатии. В этой связи важное значение имеет моделирование сахарного диабета с последующим развитием диабетической нефропатии у экспериментальных животных. Среди существующих на сегодняшний день генетических и негенетических моделей диабетической нефропатии наиболее изученными и подробно описанными, в силу их простоты реализации, относительно низкой затратности и возможности воспроизведения в любой экспериментальной лаборатории, являются модели диабетической нефропатии у грызунов со стрептозотоциновым сахарным диабетом, развивающие обратимые стадии диабетической болезни почек, наблюдаемые в клинической практике. В данном обзоре подробно описаны морфофункциональные изменения у крыс с диабетической нефропатией при сахарном диабете 1 и 2 типа, индуцированного введением стрептозотоцина, изложены механизмы его повреждающего действия и способы уменьшения цитотоксичности, описана методика приготовления раствора стрептозотоцина, проведён обзор значимых преимуществ и имеющихся недостатков описанных моделей.

Ключевые слова: сахарный диабет 1 тип и 2 тип, диабетическая нефропатия, почки, модели у животных, крысы, стрептозотоцин, никотинамид, геминефрэктомия, высокожировое питание.

## EXPERIMENTAL MODELING OF DIABETES AND DIABETIC NEPHROPATHY

Bayrasheva V.K.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Federal State Budgetary Institution «V. A. Almazov Federal North-West Medical Research Centre» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, e-mail: bayrasheva\_med@mail.ru;

<sup>2</sup>State Educational Institution of Higher Professional Education Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg

The worldwide prevalence of diabetes mellitus and its severe complications, such as diabetic nephropathy, are rising dramatically, and prevention and treatment are therefore becoming increasingly important. Appropriate experimental animal models are essential tools for understanding the pathogenesis of the onset and progression of the complication, and for testing of various therapeutic agents with nephroprotective properties. Among existing genetic and non-genetic models of diabetes, the most well studied and described, due to their practical simplicity, relatively low cost basis, and easy reproducibility in any laboratory, are models of diabetic nephropathy in rodents with streptozotocin-induced both type 1 and 2 diabetes resulting in renal morphofunctional changes with similarities to reversible stages of human diabetic kidney disease. This overview provides detailed analysis of the rat models of streptozotocin-induced diabetic nephropathy, with reference to their characteristic features, attractive benefits and significant disadvantages. In addition, the review describes the preparation of streptozotocin solution, its cytotoxicity mechanisms which could also affect the interpretation of morphofunctional renal findings, and approaches used for their prevention.

Keywords: diabetes mellitus type 1 and type 2, diabetic nephropathy, kidney, animal models, rats, streptozotocin, nicotinamide, heminephrectomy, high-fat diet.

Несмотря на достигнутые успехи в лечении пациентов с сахарным диабетом (СД), диабетическая нефропатия по-прежнему остаётся одной из основных причин заболеваемости и смертности пациентов с сахарным диабетом [1], как и десятилетие назад [5], принося национальной системе здравоохранения значительные социально-

экономические потери [4]. Являясь самостоятельной лидирующей причиной терминальной стадии хронической болезни почек в большинстве стран мира, диабетическая нефропатия (ДН), трактуемая с 2007 г. как диабетическая болезнь почек [3], с течением времени развивается по меньшей мере у трети пациентов с СД [13] и в своём классическом течении проходит прогрессию от стадии нормоальбуминурии через микроальбуминурию до макроальбуминурии / протеинурии и снижения скорости клубочковой фильтрации (СКФ) [34]. Важным с точки зрения понимания патофизиологических механизмов возникновения и прогрессирования ДН и разработки профилактических и лечебных подходов является использование адекватных моделей ДН у экспериментальных животных, максимально точно воспроизводящих стадии естественного течения этого микрососудистого осложнения СД у людей.

### **Типы моделей сахарного диабета у экспериментальных животных**

Поскольку для возникновения ДН необходимо наличие гипергликемии (о чём свидетельствует отсутствие подобных почечных изменений у пациентов без СД), в основе воспроизведения ДН как при СД 1 типа, так и при СД 2 типа у экспериментальных животных лежит индукция гипергликемического состояния.

Существует множество моделей спонтанного развития у грызунов СД 1 типа (биобридинговые, LETL, WBN/Kob крысы, NOD-мыши и др.) и 2 типа (крысы и мыши с дефектом синтеза лептина или лептинового рецептора и др.), полученные в результате передаваемых по наследству генетических мутаций или отобранные из аутбредных животных без диабета (например, крысы Goto-Kakizaki, мыши Tsumara Suzuki и др.) [7, 10]. СД может быть вызван хирургическим путём (посредством частичной или тотальной панкреатэктомии, классическим примером которой является эксперимент О. Минковского и Й. Меринга на собаках [8], фармакологическими препаратами (вызывающими деструкцию секретирующих инсулин бета-клеток поджелудочной железы [30]), посредством использования методов генной инженерии (технологии «нокаута» и трансгенной гиперэкспрессии специфических генов [7]), назначением специальных диетических рационов [6, 35], а также различными вариантами их сочетания.

Тем не менее, несмотря на довольно обширный выбор моделей СД у животных, во многих экспериментальных лабораториях для моделирования осложнений заболевания, в т.ч. ДН, используется введение диабетогенного цитотоксина стрептозотоцина (СТЗ) [43].

### **Механизм диабетогенного действия стрептозотоцина**

Стрептозотоцин является токсическим соединением из группы производных нитрозомочевины, связанным в С2 положении с D-глюкозой [29], избирательно проникающим в панкреатические бета-клетки посредством переносчика GLUT-2 [28].

Панкреатотоксичность СТЗ в значительной мере связывают с алкилирующей активностью его метильной группы, приводящей к фрагментации ДНК бета-клеток, в ответ на которую активируется участвующий в репарации поврежденной ДНК фермент поли (АДФ-рибоза) полимераза (PARP). Развивающийся в связи с этим дефицит запасов кофактора NAD<sup>+</sup>, а затем и энергетических субстратов в виде АТФ, неминуемо приводит, в конечном счёте, к некрозу бета-клеток [44]. Данный процесс усугубляется активацией свободнорадикального окисления, связанного с генерацией пероксинитрита из избыточно образующегося оксида азота, донатором которого является нитрозогруппа СТЗ [39].

Диабетогенный эффект СТЗ наблюдается у многих видов животных, включая мышей, собак, кошек, обезьян, морских свинок и др. Наиболее резистентными к действию СТЗ оказались кролики и свиньи, а максимальная сенсбилизация выявлена у крыс, при этом оптимальная диабетогенная доза СТЗ для крысы уменьшается по мере увеличения массы животного. [18, 22, 33] Также отмечено, что особи мужского пола при сопоставимой дозе развивают более выраженную гипергликемию [32].

#### **Технология приготовления цитратного буфера и раствора стрептозотоцина**

Порошок стрептозотоцина, который до использования должен храниться в защищённом от света пластиковом флаконе с осушителем при температуре -20° С, растворяют в натриевом цитратном буфере с рН 4,5. Для приготовления раствора цитратного буфера с требуемым рН 4,5 необходимо: 1) смешать 47 мл 0,1 М раствора лимонной кислоты (содержит 21,01 г/л моногидрата лимонной кислоты) и 53 мл 0,1 М раствора тринатриевой соли лимонной кислоты (содержит 29,41 г/л дигидрата тринатриевой соли); 2) довести содержимое раствора до 950-970 мл дистиллированной водой, перемешать мешалкой; 3) аккуратно довести объём раствора до 1000 мл, параллельно измеряя рН-метром рН получившегося раствора. 4) Если рН раствора выше 4,5, добавить несколько капель 0,1 М раствора лимонной кислоты (2,1 гр цитрата довести до объёма 10 мл), или добавить несколько капель водного раствора цитрата натрия, если рН ниже 4,5 [9]. Рекомендовано использовать свежеприготовленный или оттаянный после замораживания при -20° С буфер, порошок СТЗ должен быть растворён в светонепроницаемой стеклянной ёмкости и введён экспериментальному животному внутривенно или внутривентально в максимально ближайшие сроки.

#### **Негенетические модели диабетической нефропатии, воспроизводимые с помощью стрептозотоцина**

На текущий момент лишь в некоторых генетических моделях ДН у грызунов описаны изменения, более-менее соответствующие всем критериям идеальной модели этого осложнения [41, 46], приведённым на официальном сайте Американского консорциума по

моделям диабетических осложнений у животных (AMDCC) [16]. Тем не менее, значительные ограничения в использовании этих моделей, связанные с их высокой стоимостью, трудностями в воспроизведении, сложностями ухода, высокой степенью инбридинга и, зачастую, моногенным характером наследования СД [36], диктуют необходимость разработки, апробации и совершенствования негенетических моделей ДН у экспериментальных животных.

По данным проведённого обзора литературы, негенетические модели ДН наиболее часто воспроизводят с использованием СТЗ, вводимого аутбредным крысам. В зависимости от применяемой в эксперименте дозы цитотоксина и путей введения (внутрибрюшинно, внутривенно) у грызунов возможно моделирование различных по степени выраженности состояний углеводного обмена – от лёгких, преддиабетических изменений, до СД с абсолютной инсулиновой недостаточностью [25, 27]. При этом в большинстве используемых стрептозотоциновых моделей как СД 2 типа с умеренной гипергликемией, так и СД 1 типа с выраженной гипергликемией у крыс описывают лабораторные и морфологические признаки, характерные для ранних стадий классического течения ДН у людей [20], с не более чем 30-кратным повышением уровня альбуминурии. Однако, важность изучения патогенеза ДН и возможностей её коррекции и профилактики именно на ранних, морфофункционально обратимых стадиях, только увеличивает ценность достаточно легко воспроизводимых и относительно незатратных негенетических моделей ДН у крыс.

### **Моделирование диабетической нефропатии при стрептозотоциновом сахарном диабете 1 типа у крыс**

Модели ДН у аутбредных крыс со стрептозотоциновым СД наиболее часто воспроизводят на самцах крыс стоков Wistar и Sprague-Dawley, при этом для моделирования СД 1 типа половозрелым крысам в возрасте 8-10 нед. (масса 200-250 г) внутривенно вводится СТЗ, растворённый в цитратной буфере (в дозировке 60 мг/кг и 55 мг/кг, соответственно). [14, 40]. Считается, что интраперитонеальный путь введения требует большей дозы СТЗ. СТЗ вводится после 12-16 ч голода, поскольку введение препарата накормленным особям приводит к уменьшению диабетогенного эффекта СТЗ и может вызвать большой разброс экспериментальных данных из-за снижения восприимчивости животных к СТЗ на фоне постпрандиального повышения гликемии [23]. Принимая во внимание данные о возникновении выраженной отсроченной гипогликемии (вследствие временной «утечки» инсулина из разрушенных бета-клеток), возникающей через 4-8 ч после инъекции СТЗ [30], в течение 24-48 ч экспериментальные животные получают перорально 5 % раствор глюкозы. СД подтверждается при выявлении натощакового уровня гликемии выше 15 ммоль/л спустя 48 ч после инъекции СТЗ [40].

Через 8 нед. после возникновения СД наблюдается 3-4-кратное увеличение альбуминурии с одновременным снижением СКФ в 1,5 раза от первоначального, сопровождающееся появлением тубулоинтерстициального фиброза и 1,5-кратным увеличением толщины гломерулярной базальной мембраны (по данным электронной микроскопии) [26]. Длительность эксперимента в данном случае ограничивается развитием метаболических нарушений вследствие выраженной гипергликемии (более 30 ммоль/л) и инсулинопении.

С целью коррекции кетоацидоза рекомендовано назначение инсулинотерапии. Предпочтительнее применять непрерывное его введение с помощью пластыря или помпы, позволяющее добиться среднесуточного уровня глюкозы крови, близкого к нормогликемии [42]. Возможно ежедневное подкожное введение инсулина длительного действия в дозе 1-4 ед., приводящее к снижению гипергликемии до умеренных цифр (11,1-22,2 ммоль/л), что позволяет увеличить продолжительность исследования до 5-8 мес. [15, 24, 40,42]. При этом важно учитывать описанное в литературе снижение стойкого диабетогенного эффекта СТЗ, введённого в дозе 40-50 мг/кг, приводящее к спонтанной нормализации инсулин-секреторной функции при назначении инсулинотерапии в первую неделю после индукции СД [17].

Для ускорения наступления специфических диабетических изменений в почечной ткани используют хирургическую редукцию массы функционирующих нефронов. С этой целью крысам предварительно (за 3 нед. до инъекции СТЗ) производят правостороннюю нефрэктомия. В таком случае начальные признаки ДН выявляются уже в течение первого месяца после манифестации диабета, проявляющиеся гиперфильтрацией [15], значимое повышение АД отмечается на 8-й неделе, а после 8 мес. диабетического статуса – более чем 30-кратное повышение уровня экскреции альбумина с мочой относительно исходных данных, а также морфологические признаки диабетического гломерулосклероза различной степени выраженности [15, 40].

Тем не менее, данная стрептозотоциновая модель СД 1 типа у крыс имеет ряд существенных недостатков, ограничивающих её широкое использование с экспериментальной целью. Однократное введение СТЗ в высокой дозе приводит к возникновению выраженной инсулинопении и быстрой декомпенсации течения заболевания у крыс, что не позволяет проводить длительные хронические эксперименты на таких животных без введения инсулина, что существенно ограничивает её применение при исследовании сахароснижающих препаратов. Кроме того, СТЗ в высокой дозе, действуя через имеющийся в эпителиоцитах почечных канальцев вышеупомянутый глюкозный транспортёр GLUT 2, непосредственно вызывает повреждение ДНК клеток тубулярного

эпителия, сохраняющееся до 4-х нед. после введения препарата [29], что необходимо учитывать при планировании длительности эксперимента и времени определения маркеров повреждения почек.

### **Моделирование диабетической нефропатии при стрептозотоциновом сахарном диабете 2 типа у крыс**

Существенным недостатком модели ДН при стрептозотоциновом СД 1 типа является недостаточная её валидность при исследовании лекарственных средств для лечения СД 2 типа. К тому же отсутствует возможность наравне с гипергликемией оценить вклад таких серьёзных патогенетических компонентов СД 2 типа и ДН, как инсулинорезистентность, ожирение и дислипидемия. В связи с чем в экспериментальной диабетологии были разработаны несколько негенетических моделей ДН при СД 2 типа, воспроизводимого с использованием СТЗ у крыс.

Так, относительно недавно стали применяться модели геминефрэктомированных крыс с алиментарным ожирением (вызванным назначением высокожирового питания) и индукцией диабета посредством одно- или двукратного введения с недельным интервалом субдиабетических доз СТЗ (30-35 мг/кг) [21, 37]. СД 2 типа диагностируют спустя 1 нед после инъекции СТЗ посредством проведения орального глюкозотолерантного теста, в процессе которого крысам измеряют уровень гликемии натощак и через 30, 60, 90 и 120 мин. после внутривенного введения 40% раствора глюкозы в дозе 3 г/кг, и уровне гликемии от 9,0 до 14,0 ммоль/л. При этом авторы описывают развитие лабораторных и морфологических признаков поздних стадий ДН на 35-40 нед эксперимента (протеинурия, снижение СКФ, диффузный гломерулосклероз). Интересно отметить, что выраженность морфологических диабетических изменений в группе крыс, получавших высокожировое питание и двукратную инъекцию СТЗ, несмотря на умеренную гипергликемию оказалась значимо выше по сравнению с крысами с СД 1 типа [45]. Однако в пилотных исследованиях по отработке обозначенной методики нам не удалось зафиксировать пороговую для СД 2 типа гипергликемию у крыс (при введении рекомендуемой в этих работах низкой дозы СТЗ (30 мг/кг) при однократном введении), а при интервальном двукратном введении СТЗ наблюдалось развитие диабета, по уровню дефицита секреции инсулина, приближающегося к абсолютной инсулинопении [2]. В связи с чем нами была апробирована модель ДН у геминефрэктомированных крыс стока Wistar, получавших в течение 5 нед. высокожировое питание, с последующей индукцией никотинамид-стрептозотоцинового СД 2 типа, в которой к 28 нед. после индукции СД развивается значимая альбуминурия и морфологические признаки ДН, выявляемые при световой микроскопии (увеличение индекса мезангиальной экспансии, ангиофиброз, тубулоинтерстициальный фиброз), а на 16 нед., по

результатам электронной микроскопии, зафиксировано значимое утолщение гломерулярной базальной мембраны [19]. Внутривенное введение никотинамида в дозе 230 мг/кг за 15 мин. до инъекции СТЗ (65 мг/кг) минимизирует повреждающее действие цитотоксина как на бета-клетки поджелудочной железы, вызывая лишь частичную инсулинопению и стабилизацию других клинических проявлений СД [26] за счёт способности никотинамида ингибировать вышеупомянутый фермент PARP [38].

Стоит отметить, что модель стрептозотоцин-индуцированного СД 2 типа с предварительным введением никотинамида ранее успешно была применена на практике зарубежными исследователями [26] и нашими соотечественниками [11], однако, без высокожирового питания и нефрэктомии специфических лабораторно-морфологических признаков ДН у крыс в этих работах не выявлено.

Преимуществами данной модели ДН у крыс по сравнению с генетическими моделями являются широкая доступность, низкая затратность, а также относительно простая методика воспроизведения. По нашим наблюдениям, такие животные развивают ожирение, среднюю по выраженности гипергликемию, инсулинорезистентность, альбуминурию, дислипидемию и умеренную артериальную гипертензию, являющиеся основными компонентами патогенеза ДН при СД 2 типа [12].

### **Заключение**

Несмотря на большое разнообразие описанных на сегодняшний день моделей сахарного диабета у экспериментальных животных, негенетические модели стрептозотоцинового сахарного диабета по-прежнему остаются наиболее доступными, относительно легко реализуемыми и достаточно валидными, адекватно воспроизводящими обратимые стадии диабетической болезни почек у людей, когда воздействие фармакологических препаратов с нефропротективными свойствами может замедлить прогрессирование течения осложнения. Ряд имеющихся недостатков таких моделей (возможность разброса экспериментальных данных по уровню гликемии, потенциальная нефротоксичность стрептозотоцина, возможность спонтанной нормализации инсулин-секреторной функции) могут быть устранены путём правильного подбора диабетогенной дозы препарата, заблаговременного планирования протокола эксперимента и времени определения маркеров почечной дисфункции, а также посредством предварительного введения химических соединений, уменьшающих повреждающее действие цитотоксина на инсулин-секретирующие клетки (никотинамид). Кроме того, при использовании определённых схем введения стрептозотоцина у крыс с индуцированным алиментарным ожирением возможно моделирование умеренной гипергликемии, инсулинорезистентности и дислипидемии, т.е. ключевых патогенетических компонентов сахарного диабета 2 типа, а хирургическая

редукция массы функционирующей почечной паренхимы может способствовать ускорению манифестации гипертензии и лабораторно-морфологических признаков диабетической нефропатии.

*Работа выполнена в сотрудничестве с ресурсным центром «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ.*

### Список литературы

1. «Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом». Клинические рекомендации / Дедов. И.И., Шестакова М.В., Галстян Г.Р. и др. [под ред. И.И. Дедова, М.В. Шестаковой (7-й вып.)]. Проблемы эндокринологии. – 2015. – Т. 61, № 1(2). – С. 1-105.
2. Байрашева В.К., Бабенко А.Ю., Дмитриев Ю.В., Иванова А.Н., Шаталов И.С., Гринева Е.Н. // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 3; URL: [www.science-education.ru/123-20212](http://www.science-education.ru/123-20212) (дата обращения 2.07.2015).
3. Бондарь И.А., Климонтов В.В. Тубулоинтерстициальный фиброз при диабетической нефропатии: механизмы развития и подходы к лечению // Сахарный диабет. - 2008. - № 2. - С. 11-15.
4. Джигоева И.А. Клиническая и фармако-экономическая оценка лечения больных сахарным диабетом 2 типа // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 2-1; URL: [www.science-education.ru/122-17263](http://www.science-education.ru/122-17263) (дата обращения: 03.06.2015).
5. Добронравов В. А. Эпидемиология диабетической нефропатии: общие и региональные проблемы: Обзор // Нефрология. - 2002. – Т. 6, № 1. - С. 16-22.
6. Караман Ю.К. Механизмы адаптации организма к алиментарной высокожировой нагрузке: Автореф. дис. докт. биол. наук. – Владивосток, 2011. – 44 с.
7. Кроненберг Г.М., Мелмед Ш., Полонски К.С., Ларсен П.Р. Сахарный диабет и нарушения углеводного обмена. (Серия: Эндокринология по Вильямсу). [Перев. под ред. И.И. Дедова]. - М.: Рид Элсивер, ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 448 с
8. Оскар Минковский – открытие, изменившее мир // Сахарный диабет. – 2008. - № 4. – С. 102-103.
9. Практикум по биохимии: Учеб. пособие [Под ред. С.Е. Северина, Г.А. Соловьёвой]. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – 509 с.
10. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. [Под ред. А.Н. Миронова]. - М.: Гриф и К, 2012. - 944 с.

11. Спасов А.А., Воронкова М.П., Снигур Г.Л., Чепляева Н.И., Чепурнова М.В. Экспериментальная модель сахарного диабета типа 2 // Биомедицина. – 2011. - № 3. - С. 12-18.
12. Шестакова М.В., Дедов И.И. Сахарный диабет и хроническая болезнь почек. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2009. – 482 с.
13. Шестакова М.В., Сунцов Ю.И., Дедов И.И. Диабетическая нефропатия: состояние проблемы в мире и в России // Сахарный диабет. - 2001. - № 3. - С. 2-5.
14. Alhaider A.A., Korashy H.M., Sayed-Ahmed M.M., Mobark M., Kfoury H., Mansour M.A. // Chem. Biol. Interact. – 2011. - Vol. 192, № 3. – P. 233- 242.
15. Anderson S., Rennke H.G., Brenner B.M. Nifedipine versus fosinopril in uninephrectomized diabetic rats // Kidney Int. - 1992. – Vol. 41, № 4. – P. 891-897.
16. Animal Models of Diabetic Complications Consortium [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <http://www.amdcc.org> (дата обращения 05.06.2015).
17. Ar'Rajab A., Ahrén B. Long-term diabetogenic effect of streptozotocin in rats // Pancreas. – 1993. – Vol. 8, № 1. – P. 50-57.
18. Battell M.L., Yuen V.G., Verma S., McNeil J.H. Other models of type 1 diabetes. [In: McNeil J.H., editor. Experimental models of diabetes]. Florida, USA.: CRC Press. LLC, 1999. - P. 219–229.
19. Bayrasheva V., Grineva E., Babenko A., Dmitriev Yu., Chefu S., Shatalov I. Diabetes Technol. Ther. – 2015. – Vol. 17, S1. – P. A179.
20. Chen D., Wang M.W. Development and application of rodent models for type 2 diabetes // Diabetes Obes. Metab. – 2005. - Vol. 7, № 4. – P. 307- 317.
21. Danda R.S., Habiba N.M., Rincon-Choles H., Bhandari B.K., Barnes J.L., Abboud H.E., Pergola P.E. // Kidney Int. - 2005. - Vol. 68, № 6. – P. 2562-2571.
22. Dufrane D., van Steenberghe M., Guiot Y., Goebbels R.M., Saliez A., Gianello P. // Transplantation. - 2006. - Vol. 81. - P. 36–45.
23. Fröde T.S., Medeiros Y.S. Animal models to test drugs with potential antidiabetic activity // J. Ethnopharmacol. – 2008. - Vol. 115, № 2. – P. 173-183.
24. Gallego B., Flores O., López-Novoa J.M., Pérez-Barriocanal F. Renal effects of antihypertensive therapy in uninephrectomized diabetic rats // Res. Exp. Med.(Berl). – 1997. – Vol. 197, № 4. – P. 199-209.
25. Howarth C.F. , Qureshi A., Shahin A., Lukic M. L. Effects of single high-dose and multiple low-dose streptozotocin on contraction and intracellular Ca<sup>2+</sup> in ventricular myocytes from diabetes resistant and susceptible rats // Mol. Cell. Biochem. – 2005. - Vol. 269, № 1. – P. 103–108.

26. Islam S., Choi H. Nongenetic model of type 2 diabetes: A Comparative Study // *Pharmacology*.- 2007. - № 79. - P. 243–249.
27. Kannan Y., Tokunaga M., Moriyama M., Kinoshita H., Nakamura Y. // *Clin. Exp. Immunol.* – 2004. - Vol. 137, № 2. - P. 263–271.
28. Karunanayake E.H., Baker J.R., Christian R.A., Hearse D.J., Mellows G. // *Diabetologia.* – 1976. - Vol. 12. – P. 123–128.
29. Kraynak A.R., Storer R.D., Jensen R.D., Kloss M.W., Soper K.A., Clair J.H., DeLuca J.G., Nichols W.W., Eydeloth R.S. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 1995. – Vol. 135, № 2. – P. 279-286.
30. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes // *Diabetologia.* – 2008. – Vol. 51, № 2. – P. 216-226.
31. National Kidney Foundation. KDOQI Clinical Practice Guideline for diabetic and CKD: 2012 update // *Am. J. Kidney Dis.* - 2012. Vol. 60, №50. – P. 850-886.
32. Ostenson C.G., Grill V., Roos M. Studies on sex dependency of B-cell susceptibility to streptozotocin in a rat model of type II diabetes mellitus // *Exp. Clin. Endocrinol.* - 1989. - Vol. 93, № 2-3. – P.241-247.
33. Rees D.A., Alcolado J.C. Animal models of diabetes mellitus // *Diabetic Medicine.* – 2005. – Vol. 22. – P. 359–370.
34. Reutens A.T., Atkins R.C. Epidemiology of diabetic nephropathy // *Contrib. Nephrol.* -2011. Vol. 170. P. 1-7. doi: 10.1159/000324934.
35. Shafrir E., Ziv E., Mosthaf L. Nutritionally induced insulin resistance and receptor defect leading to b cell failure in animal models // *Ann. NY Acad. Sci.* – 1999. – Vol. 892. – P. 223-246.
36. Srinivasan K., Ramarao P. Animal models in type 2 diabetes research: an overview // *Indian J. Med. Res.* – 2007. - Vol. 125, № 3. – P. 451-472.
37. Sugano M., Yamato H., Hayashi T., Ochiai H., Kakuchi J., Goto S., Nishijima F., Iino N., Kazama J.J., Takeuchi T., Mokuda O., Ishikawa T., Okazaki R. // *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* – 2006. - Vol. 16, № 7. – P. 477-484.
38. Szkudelski T. Streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model // *Exp. Biol. Med.* – 2012. – Vol. 237, № 5. - P. 481-490.
39. Turk J., Corbett J.A., Ramanadham S., Bohrer A., McDaniel M.L. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1993. – Vol. 197. – P. 1458–1464.
40. Utimura R., Fujihara C.K., Mattar A.L., Malheiros D.M., Noronha I.L., Zatz R. // *Kidney Int.* – 2003. – Vol. 63. – P. 209–216.
41. Velasquez M.T., Kimmel P.L., Michaelis O.E. 4th. Animal models of spontaneous diabetic kidney disease // *FASEB J.* - 1990. – Vol. 4, № 11. – P. 2850-2859.

42. Wehbi G.J., Zimpelmann J., Carey R.M., Levine D.Z., Burns K.D. // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* - 2001 – Vol. 280, № 2. – P. 254 - 265.
43. Wei M., Ong L., Smith M.T., Ross F.B., Schmid K., Hoey A.J., Burstow D., Brown L. // *Heart Lung Circ.* - 2003. – Vol.12, №1. – P. 44-50.
44. Yamamoto H., Uchigata Y., Okamoto H. Streptozotocin and alloxan induce DNA strand breaks and poly(ADP-ribose) synthetase in pancreatic islets // *Nature.* – 1981. – Vol. 294. – P. 284–286.
45. Zhang M., Lv X.Y., Li J., Xu Z.G., Chen L. The characterization of high-fat diet and multiple low-dose streptozotocin induced type 2 diabetes rat model // *Exp. Diabetes Res.* - 2008;2008:704045.
46. Zheng S., Noonan W.T., Metreveli N.S., Coventry S., Kralik P.M., Carlson E.C., Epstein P.N. // *Diabetes.* - 2004. - Vol. 53, № 12. – P. 3248-3257.

**Рецензенты:**

Митрейкин В.Ф., д.м.н., профессор кафедры патологической физиологии с курсом клинической патофизиологии ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, г. Санкт-Петербург;

Гринева Е.Н., д.м.н., профессор, директор Института эндокринологии ФГБУ «СЗФМИЦ», г. Санкт-Петербург.