

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-77-81>



## НАРУШЕНИЯ НЕЙРОМЫШЕЧНОЙ ПЕРЕДАЧИ У ЛЕПТИНРЕЗИСТЕНТНЫХ МЫШЕЙ

В.А. Приходько\*, Т.М. Матузок, С.В. Оковитый

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России  
197376, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. профессора Попова, 14, лит. А

ФГБУН Институт мозга человека им. Н.П. Бехтерева РАН  
197376, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12, лит. А

Целью работы стало изучение и описание основных параметров нейромышечной передачи у молодых взрослых лептинрезистентных мышей линии C57Bl/Ks-db<sup>+/m</sup> (db/db). Исследование проведено на 10 мышах-самцах db/db и 10 мышах-самцах дикого типа возрастом 4 мес. методом стимуляционной электронейромиографии с оценкой параметров М-ответов *m. gastrocnemius* и *m. biceps brachii*. В группе мышей db/db обнаружено снижение максимальных амплитуд, увеличение латентности и длительности М-ответов, указывающие на наличие сочетанного аксонально-демиелинизирующего поражения периферических нервов.

**Ключевые слова:** мыши db/db, лептинрезистентность, нейромышечная передача, нейропатии, электронейромиография

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

**Для цитирования:** Приходько В.А., Матузок Т.М., Оковитый С.В. Нарушения нейромышечной передачи у лептинрезистентных мышей. *Биомедицина*. 2023;19(3):77–81. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-77-81>

Поступила 20.03.2023

Принята после доработки 22.07.2023

Опубликована 10.09.2023

## NEUROMUSCULAR JOINT FUNCTION IMPAIRMENT IN LEPTIN-RESISTANT MICE

Veronika A. Prikhodko\*, Tatyana M. Matuzok, Sergey V. Okovityi

Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University of the Ministry of Health Care of Russia  
197376, Russian Federation, St. Petersburg, Professor Popov Str., 14A

N.P. Bechtereva Institute of the Human Brain of the Russian Academy of Sciences  
197376, Russian Federation, Saint Petersburg, Akad. Pavlova Str., 12A

The study was aimed at exploring and describing the main parameters of neuromuscular joint function in young adult leptin-resistant C57Bl/Ks-db<sup>+/m</sup> (db/db) mice. The experiment was carried out on 10 4-month-old male db/db mice and 10 male wild-type control mice, using stimulation electroneuromyography to assess M-wave parameters for *m. gastrocnemius* and *m. biceps brachii*. We discovered a decrease in maximal amplitudes along with an increase in the M-wave latency and duration, indicating the presence of combined axonal and demyelinating peripheral nerve injury.

**Keywords:** db/db mice, leptin resistance, neuromuscular joint function, neuropathies, electroneuromyography

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

**For citation:** Prikhodko V.A., Matuzok T.M., Okovityi S.V. Neuromuscular Joint Function Impairment in Leptin-Resistant Mice. *Journal Biomed.* 2023;19(3):77–81. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-3-77-81>

Submitted 20.03.2023

Revised 22.07.2023

Published 10.09.2023

## Введение

Мыши линии C57Bl/Ks-db<sup>+/+</sup>m (LepRdb/db; db/db) имеют мутацию в гене рецептора лептина (*LepR*, *ObR*) на 4-й хромосоме с аутосомно-рецессивным типом наследования. Лептин — пептидный гормон, секретируемый адипоцитами и энтероцитами, одной из основных функций которого является регуляция энергетического обмена.

Фенотип мышей линии db/db характеризуется наличием гиперфагии, прогрессирующим ожирением и развитием сахарного диабета II типа (СДII), гипергликемией с 8 нед., гиперинулинемией, нарушением толерантности к глюкозе, гипертриглицеридемией, гиперхолестеринемией и развитием органических поражений с 12–13 нед. жизни. Кроме того, отмечаются развитие стеатоза печени после 20 нед. жизни, стерильность и нарушение работы гипоталамо-гипофизарно-адренальной оси и щитовидной железы [6].

В ряде статей сообщается о развитии у мышей данной линии патологии скелетных мышц, включая атрофию мышечных волокон, нарушения аксональной возбудимости, снижения сократительной функции [1], замедления регенеративных процессов при повреждениях [3]. Тем не менее, данные об особенностях состояния мышечной системы и её функции у мышей db/db остаются неполными. В связи с этим **целью исследования** стало изучение состояния нейромышечной передачи у молодых взрослых мышей линии db/db.

## Материалы и методы

Исследование проводили в соответствии с принципами Базельской декларации

и Правилами надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств после одобрения биоэтической комиссией ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. Эксперименты были выполнены на 10 молодых взрослых (4 мес.) мышках-самцах линии C57Bl/6J массой 18–20 г (группа wild type, WT) и 10 молодых взрослых (4 мес.) мышках-самцах линии C57Bl/Ks-db<sup>+/+</sup>m (группа db/db) массой 45–50 г, полученных из филиала «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (Московская обл.) одной партией и прошедших карантин в течение 14 сут. Мыши содержались в стандартных условиях вивария, получали «Полнорационный комбикорм для лабораторных животных» (ООО «Лабораторкорм», Россия) и воду, соответствующую требованиям ГОСТ 2874-82 «Вода питьевая». Доступ к корму и воде был обеспечен *ad libitum*.

Исследование нейромышечной передачи и биоэлектрической активности скелетных мышц проводили методом стимуляционной электронейромиографии (ЭНМГ) с помощью 8-канального электронейромиографа Нейро-МВП-8 и программы Нейро-МВП.NET<sup>®</sup> 3.7.3.7 (ООО «Нейрософт», Россия). Перед проведением исследования животных наркотизировали хлоралгидратом («Millipore Sigma», США; 400 мг/кг, внутривенно). Регистрировали моторные ответы (М-ответы) икроножной мышцы *m. gastrocnemius* на стимуляцию седалищного нерва *n. ischiadicus* слева и двуглавой мышцы плеча *m. biceps brachii* на стимуляцию мышечно-кожного нерва *n. musculocutaneus* справа [4].

Стимуляцию нервных волокон осуществляли при прямоугольной форме стимула и длительности 0,1 мс в диапазоне сил тока от 1 до 10 мА с последовательным увеличением с шагом 1 мА до достижения супрамаксимальной величины. Для минимизации случайной погрешности для каждого животного проводили три повторные регистрации М-ответов с повторной установкой всех электродов. Измеряли средние значения максимальных амплитуд М-ответа (мВ); латентности М-ответа с максимальной амплитудой (максимального М-ответа) (мс); сил тока, вызывавших М-ответы с минимальной (пороговая сила тока) и максимальной амплитудами (мА); длительности (мс) и площади (мВ×мс) максимального М-ответа [4].

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программно-

го обеспечения Prism 9.0.0 («GraphPad Software», США). Нормальность распределения количественных признаков проверяли с помощью W-критерия Шапиро — Уилка. При нормальном распределении количественных признаков значимость различий оценивали с помощью t-критерия Стьюдента, при ненормальном распределении — с помощью U-критерия Манна — Уитни. Порог статистической значимости устанавливали на уровне  $p < 0,05$ . Числовые данные на графиках представлены в виде средних арифметических; планки погрешностей отражают стандартные ошибки средних.

### Результаты исследований

В группе мышей db/db наблюдалось статистически значимое снижение максимальной амплитуды ( $-31,0\%$ ;  $p < 0,01$ ),

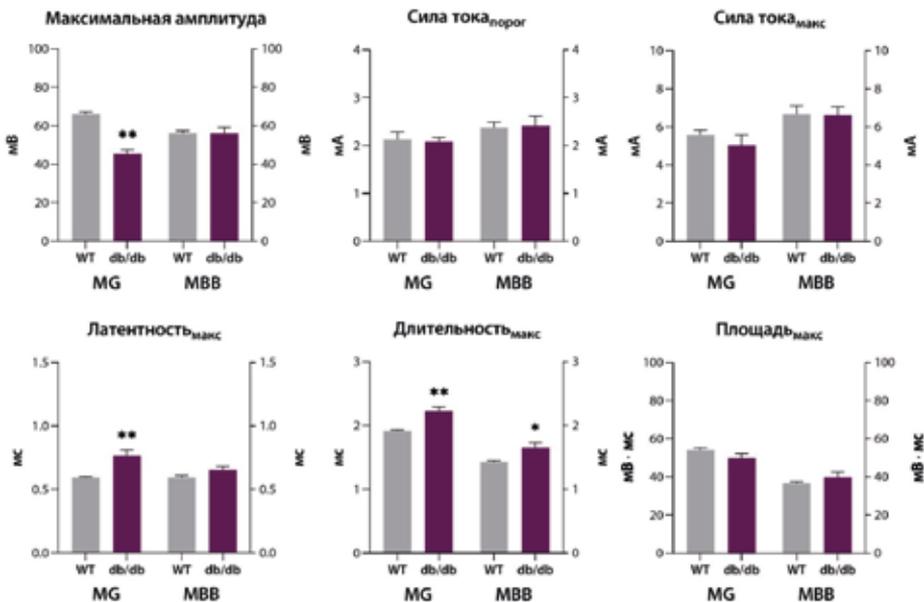


Рис. Основные параметры М-ответов мышц на электростимуляцию

Примечания: WT — дикый тип; MG — *m. gastrocnemius*; MBB — *m. biceps brachii*; порог — пороговое значение; макс — значение для М-ответа с максимальной амплитудой; \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$ .

Fig. Main parameters of M-waves induced by electrical nerve stimulation

Notes: WT — wild type; MG — *m. gastrocnemius*; MBB — *m. biceps brachii*; порог — threshold; макс — maximal-amplitude M-wave; \* —  $p < 0.05$ ; \*\* —  $p < 0.01$ .

увеличение латентности (+28,5%;  $p < 0,01$ ) и длительности (+16,3%;  $p < 0,01$ ) М-ответа *m. gastrocnemius*, а также увеличение длительности (+16,1%;  $p < 0,05$ ) М-ответа *m. biceps brachii*. Изменения остальных регистрируемых параметров не имели статистической значимости (рис.).

### Обсуждение результатов

Уменьшение амплитуды М-ответа может свидетельствовать о сокращении числа функционально активных моторных единиц, а также уменьшении их размеров. Сниженные максимальные амплитуды М-ответа обычно обнаруживаются при утрате аксонов, например, при нейропатии по аксональному типу. При аксональной полинейропатии характерным является более раннее поражение нижних конечностей по сравнению с верхними вследствие большей длины аксонов, что может объяснять наличие изменений М-ответов *m. gastrocnemius*, но не *m. biceps brachii* [5]. Нарушение иннервации вносит важный вклад в уменьшение мышечной силы наряду с атрофией и истощением миоцитов [2].

Увеличение латентности М-ответа отражает снижение скорости распростране-

ния электрического импульса по нервному волокну и может указывать на наличие демиелинизации нерва. Увеличение длительности М-ответа свидетельствует о его темпоральной дисперсии, что в свою очередь обусловлено десинхронизацией распространения возбуждения по эфферентным нервам и его передачи на мышечное волокно [5]. Сочетание снижения амплитуды и увеличения длительности М-ответа может являться признаком демиелинизирующего поражения *n. ischiadicus*, а изолированное увеличение длительности при постоянной амплитуде с наибольшей вероятностью является следствием увеличения латентности ответов.

### Выводы

Таким образом, результаты ЭНМГ-исследования указывают на наличие у мышей db/db периферической аксонально-демиелинизирующей нейропатии с преимущественным поражением нервов нижних конечностей. Полученные данные свидетельствуют о высокой клинической релевантности данной линии в качестве модели диабетической периферической полинейропатии.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Bayley J.S., Pedersen T.H., Nielsen O.B. Skeletal muscle dysfunction in the db/db mouse model of type 2 diabetes. *Muscle Nerve*. 2016;54(3):460–468. DOI: 10.1002/mus.25064.
2. Munier J.J., Pank J.T., Severino A., Wang H., Zhang P., Vergnes L., Reue K. Simultaneous monitoring of mouse grip strength, force profile, and cumulative force profile distinguishes muscle physiology following surgical, pharmacologic and diet interventions. *Sci. Rep.* 2022;12(1):16428. DOI: 10.1038/s41598-022-20665-y.
3. Nguyen M.H., Cheng M., Koh T.J. Impaired muscle regeneration in ob/ob and db/db mice. *Sci. World J.* 2011;11:1525–1535. DOI: 10.1100/tsw.2011.137.
4. Pollari E., Prior R., Robberecht W., Van Damme P., Van Den Bosch L. In vivo electrophysiological measurement of compound muscle action potential from the forelimbs in mouse models of motor neuron degeneration. *J. Vis. Exp.* 2018;(136):57741. DOI: 10.3791/57741.
5. Preston D.C. Approach to nerve conduction studies and electromyography. In: Preston D.C., Shapiro B.E., editors. *Electromyography and neuromuscular disorders*. 3<sup>rd</sup> ed. London: W.B. Saunders Publ., 2013.
6. Suriano F., Vieira-Silva S., Falony G., Roumain M., Paquot A., Pelicaen R., Régnier M., Delzenne N.M., Raes J., Muccioli G.G., Van Hul M., Cani P.D. Novel insights into the genetically obese (ob/ob) and diabetic (db/db) mice: Two sides of the same coin. *Microbiome*. 2021;9(1):147. DOI: 10.1186/s40168-021-01097-8.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

---

**Приходько Вероника Александровна\***, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России; ФГБУН Институт мозга человека им. Н.П. Бехтеревой РАН;

**[e-mail: veronika.prihodko@pharminnotech.com](mailto:veronika.prihodko@pharminnotech.com)**

**Veronika A. Prikhodko\***, Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University of the Ministry of Health Care of Russia; N.P. Bechtereva Institute of the Human Brain of the Russian Academy of Sciences;

**[e-mail: veronika.prihodko@pharminnotech.com](mailto:veronika.prihodko@pharminnotech.com)**

**Матузок Татьяна Максимовна**, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России; ФГБУН Институт мозга человека им. Н.П. Бехтеревой РАН;

**[e-mail: matuzok.tatyana@pharminnotech.com](mailto:matuzok.tatyana@pharminnotech.com)**

**Tatyana M. Matuzok**, Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University of the Ministry of Health Care of Russia; N.P. Bechtereva Institute of the Human Brain of the Russian Academy of Sciences;

**[e-mail: matuzok.tatyana@pharminnotech.com](mailto:matuzok.tatyana@pharminnotech.com)**

**Оковитый Сергей Владимирович**, д.м.н., проф., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России; ФГБУН Институт мозга человека им. Н.П. Бехтеревой РАН;

**[e-mail: sergey.okovity@pharminnotech.com](mailto:sergey.okovity@pharminnotech.com)**

**Sergey V. Okovityi**, Dr. Sci. (Med.), Prof., Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University of the Ministry of Health Care of Russia; N.P. Bechtereva Institute of the Human Brain of the Russian Academy of Sciences;

**[e-mail: sergey.okovity@pharminnotech.com](mailto:sergey.okovity@pharminnotech.com)**

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author