



ФОРМИРОВАНИЕ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИИ У МЫШЕЙ C57BL/6 НА ФОНЕ ВЫСОКОЖИРОВОЙ ДИЕТЫ

Н.А. Бороздина^{1,2,*}, И.Н. Гладких³

¹ Филиал ФГБУН ГНЦ РФ Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН
142290, Российская Федерация, Московская обл., Пущино, просп. Науки, 6

² Пущинский филиал ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет»
142290, Российская Федерация, Московская обл., Пущино, просп. Науки, 3

³ ФГБУН Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН
69004, Российская Федерация, Приморский край, Владивосток, просп. 100 лет Владивостоку, 159

Диабетическая нейропатия при сахарном диабете 2-го типа является одним из самых распространённых микрососудистых осложнений. Неконтролируемая гипергликемия приводит к формированию сосудистых аномалий, что в свою очередь вызывает ишемию нервных волокон. В нашем эксперименте мыши C57BL/6 содержались на высокожировой диете в течение 21 недели. На 17-й, 19-й и 21-й неделе у животных проводилось измерение концентрации глюкозы в крови и функциональное тестирование с использованием филламентов фон Фрея, горячей пластины и охлаждения конечностей ацетоном. В проведённом исследовании у мышей C57BL/6 на высокожировой диете наблюдалась повышенная чувствительность к механическому воздействию, охлаждению и нагреванию конечностей, что может свидетельствовать о развитии диабетической полинейропатии.

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа, мыши C57BL/6, диабетическая нейропатия, высокожировая диета

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа поддержана грантом Российского научного фонда № 21-74-20147.

Для цитирования: Бороздина Н.А., Гладких И.Н. Формирование диабетической нейропатии у мышей C57BL/6 на фоне высокожировой диеты. *Биомедицина*. 2024;20(3E):156–159. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-20-3E-156-159>

Поступила 15.04.2024

Принята после доработки 22.07.2024

Опубликована 01.11.2024

DEVELOPMENT OF DIABETIC NEUROPATHY IN C57BL/6 MICE IN THE SETTING OF A HIGH-FAT DIET

Natalya A. Borozdina^{1,2,*}, Irina N. Gladkikh³

¹ Branch of the Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry
of the Russian Academy of Sciences
142290, Russian Federation, Moscow Region, Pushchino, Nauki Ave., 6

² Pushchino Branch of the Russian Biotechnological University
142290, Russian Federation, Moscow Region, Pushchino, Nauki Ave., 3

³ G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch
of the Russian Academy of Sciences
690041, Russian Federation, Primorsky Krai, Vladivostok, 100 Let Vladivostoku Ave., 159

Diabetic neuropathy in type 2 diabetes mellitus is one of the most common microvascular complications. Uncontrolled hyperglycemia leads to the formation of vascular abnormalities, eventually causing ischemia of nerve fibers. In our experiment, C57BL/6 mice were maintained on a high-fat diet for 21 weeks. At week 17, 19, and 21, blood glucose concentrations were measured; functional testing was performed using von Frey filaments, hot plate and limb cooling with acetone. In the present study, C57BL/6 mice on a high-fat diet showed increased sensitivity to mechanical stimulus, limb cooling and heating, which may indicate the development of diabetic polyneuropathy.

Keywords: type 2 diabetes mellitus, C57BL/6 mice, diabetic neuropathy, high-fat diet

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

Funding: this work was supported by the Russian Science Foundation, grant No. 21-74-20147.

For citation: Borozdina N.A., Gladkikh I.N. Development of Diabetic Neuropathy in C57BL/6 Mice in the Setting of a High-Fat Diet. *Journal Biomed.* 2024;20(3E):156–159. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-20-3E-156-159>

Submitted 15.04.2024

Revised 22.07.2024

Published 01.11.2024

Введение

Сахарный диабет 2-го типа (СД2) характеризуется повышенным уровнем глюкозы в крови из-за дефицита концентрации и/или чувствительности к инсулину [1]. Неконтролируемая гипергликемия, возникающая при усилении инсулинорезистентности, провоцирует развитие микрососудистых и макрососудистых осложнений. Сосудистые аномалии, развивающиеся вследствие гипергликемии, способствуют ишемии нейронов. Нейропатия может включать широкий спектр клинических синдромов, включая паралич черепных нервов, мононейропатии и вегетативную дисфункцию [4]. Модели на мышах линии C57BL/6 демонстрируют развитие термической аллодинии, однако не все животные модели соответствуют этиологическим критериям формирования СД2 [3].

Целью работы являлось исследовать развитие различных видов сенсорных нарушений на модели сахарного диабета 2-го типа у мышей линии C57BL/6.

Материалы и методы

48 самцов мышей линии C57BL/6 в возрасте 4 недель массой 17–20 г со стату-

сом SPF были получены из НПП ФИБХ РАН питомника лабораторных животных «Пушино» (Московская обл.) и находились в комнате содержания животных барьерного типа лаборатории биологических испытаний ФИБХ РАН. В комнате содержания животных барьерного типа поддерживалась автоматическая 12-часовая смена дневного и ночного периода и как минимум 12-кратная смена воздушного объема комнаты в час. Температура и влажность находились под контролем системы мониторинга EVL. Вода Milli-RO (Millipore) давалась *ad libitum*. Экспериментальный протокол был одобрен Институциональной комиссией по контролю и использованию лабораторных животных ФИБХ РАН.

Моделирование СД2 проводилось путём содержания животных на высокожировой диете (ВЖД) в течение 21 недели, контрольная группа в это время получала стандартный гранулированный корм для содержания лабораторных грызунов SNIFF R1/M-H V1534-30 (автоклавируемый). Диеты давались *ad libitum*. ВЖД готовилась на основе стандартного гранулированного корма путём добавления к 700 г перемолотого корма 300 г свиного растопленного жира, воды (350 мл), пищевой соли (10 г) и глута-

мата натрия (28,5 г) [2]. На 17-й, 19-й и 21-й неделе исследования проводилось измерение концентрации глюкозы в капиллярной крови с помощью глюкометра Сателлит-экспресс (ЭЛТА) наощак, а также функциональные тесты для оценки изменения чувствительности животных к механическим стимулам, нагреванию и охлаждению. Чувствительность к охлаждению оценивалась в ацетоновом тесте, где животным наносили 50 мкл ацетона на правую заднюю конечность и оценивали продолжительность реакций. Чувствительность к механическим стимулам оценивалась прибором BIO-EVF («Bioseb», США) по методу фон Фрея путём постепенного надавливания филаментами на подушечку задних лап. Чувствительность животных к нагреванию оценивалась с помощью прибора «Hot-Plate

analgnesia meter» («Columbus Instruments», США). Животное помещали в камеру на нагретую площадку прибора ($50 \pm 0,1^\circ\text{C}$, $25,3 \times 25,3$ см) и регистрировали латентное время подпрыгивания. После проведения функциональных тестов животные подвергались эвтаназии в CO_2 -камере.

Выборки были проанализированы на нормальность в тесте Колмогорова — Смирнова. Для установления межгрупповых различий количественные данные были проанализированы в попарном сравнении с помощью теста Манна — Уитни для распределений, отличных от нормального, или с помощью t-критерия Стьюдента для групп с нормальным распределением. Статистический анализ проводили с использованием программы Prism 5.0 («GraphPad», США).

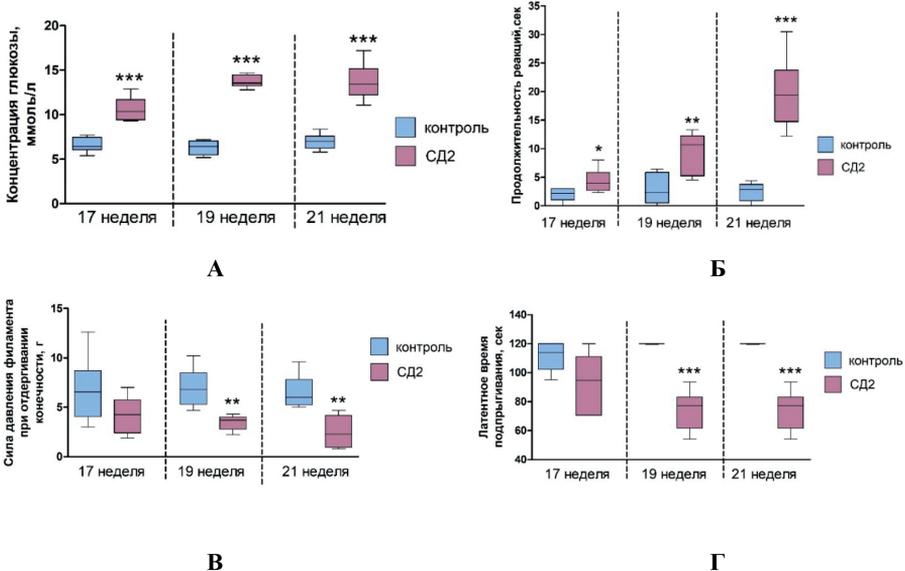


Рис. Физиологические и биохимические изменения у мышей C57BL/6 на 17-й, 19-й и 21-й неделе исследования: А — концентрация глюкозы в крови натощак; Б — продолжительность реакций после нанесения ацетона в тестировании чувствительности к охлаждению; В — чувствительность к механическому стимулу в тесте фон Фрея; Г — чувствительность к нагреванию в приборе Hot-Plate. * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$ в сравнении с контрольной группой.

Fig. Physiological and biochemical changes in C57BL/6 mice at week 17, 19, and 21 of the study: A — fasting blood glucose concentration; Б — duration of responses after acetone application in a cooling sensitivity test; В — sensitivity to mechanical stimulus in a von Frey test; Г — sensitivity to heating in a hot-plate test. * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$ compared to the control group.

Результаты исследований

У животных на ВЖД наблюдалась выраженная гипергликемия на 17-й неделе исследования, которая составляла в среднем 11 ммоль/л (рис., А). На 19-й и 21-й неделе исследования гипергликемия составляла в среднем 14 ммоль/л. На фоне гипергликемии у животных обнаружено повышение чувствительности к охлаждению, нагреванию и механическим стимулам (рис., А–Г). При нанесении ацетона на заднюю лапу у животных на ВЖД отмечалось значительное увеличение продолжительности реакций (рис., Б). Мыши, содержащиеся на ВЖД в течение 19-й и 21-й недели, демонстрировали более выраженную реакцию на механическую стимуляцию филламентами фон Фрея по сравнению

с контрольной группой (рис., В). Лагентное время подпрыгивания на горячей пластине было значительно снижено у мышей на ВЖД через 19-ю и 21-ю неделю по сравнению с контрольной группой (рис., Г).

Вывод

Содержание мышей линии C57BL/6 на высокожировой диете в течение 19 и 21 недели привело к значительному увеличению чувствительности конечностей к механическим стимулам, нагреванию и охлаждению. Такие изменения в функциональных тестах свидетельствуют о развитии диабетической нейропатии, которая возникает вследствие длительного гипергликемического состояния у животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Artasensi A., Pedretti A., Vistoli G., Fumagalli L. Type 2 diabetes mellitus: A review of multi-target drugs. *Molecules*. 2020;25(8):1987. DOI: 10.3390/molecules25081987
2. Borozdina N.A., Shaikhutdinova E.R., Slashcheva G.A., Goryacheva N.A., Zamyatina A.V., Sadovnikova E.S., Pakhomova I.A., Pavlov V.M., Perepechenova N.A., Severyukhina M.S., Fedotova A. Yu., Popkova D.V., Gladkikh I.N., Leichenko E.V., Dyachenko I.A. Characterization of risk factors for modeling of type 2 diabetes mellitus induced by a high-fat diet in C57BL/6 mice. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2024;176(4):461–465. DOI: 10.1007/s10517-024-06047-6
3. O'Brien P.D., Sakowski S.A., Feldman E.L. Mouse models of diabetic neuropathy. *ILAR J.* 2014;54(3):259–272. DOI: 10.1093/ilar/ilt052
4. Vithian K., Hurel S. Microvascular complications: pathophysiology and management. *Clin. Med. (Lond.)*. 2010;10(5):505–509. DOI: 10.7861/clinmedicine.10-5-505

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Бороздина Наталья Андреевна*, Филиал ФГБУН ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пушкинский филиал ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет»;
e-mail: borozdina@bibch.ru

Гладких Ирина Николаевна, к.х.н., ФГБУН Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН;
e-mail: irinagladkikh@gmail.com

Natalya A. Borozdina*, Branch of the Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Pushchino Branch of the Russian Biotechnological University;
e-mail: borozdina@bibch.ru

Irina N. Gladkikh, Cand. Sci. (Chem.), G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences;
e-mail: irinagladkikh@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author