

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТКАНЯХ ПЕЧЕНИ И СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ У МЫШЕЙ ЛИНИИ DB/DB РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП

Т.М. Матузок^{1,*}, В.А. Приходько¹, В.Е. Карев², О.В. Буюклинская¹, С.В. Оковитый¹

¹ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет»
Минздрава России

197376, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14, лит. А

² ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России»
197022, Российская Федерация, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 9

Целью данной работы стало изучение патоморфологических изменений ткани печени и скелетных мышц у мышей линии C57Bl/Ks-db^{+/m} (db/db) разного возраста. Исследование было проведено на мышках-самках db/db в возрасте 3 мес. (n=7) и 7 мес. (n=5). По результатам гистоморфологического исследования не было обнаружено существенных различий между группами.

Ключевые слова: мыши db/db, печень, скелетные мышцы, старение, гистологический анализ

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Матузок Т.М., Приходько В.А., Карев В.Е., Буюклинская О.В., Оковитый С.В. Патоморфологические изменения в тканях печени и скелетных мышц у мышей линии db/db разных возрастных групп. *Биомедицина*. 2024;20(3E):197–201. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-20-3E-197-201>

Поступила 15.04.2024

Принята после доработки 05.08.2024

Опубликована 01.11.2024

PATHOMORPHOLOGICAL CHANGES IN LIVER AND SKELETAL MUSCLE TISSUE IN DB/DB MICE OF DIFFERENT AGES

Tatyana M. Matuzok^{1,*}, Veronika A. Prikhodko¹, Vadim E. Karev²,
Olga V. Buyuklinskaya¹, Sergey V. Okovityi¹

¹ Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health Care of Russia
197376, Russian Federation, St. Petersburg, Professora Popova Str., 14, lit. A

² Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases
of the Federal Medical and Biological Agency of Russia
197022, Russian Federation, St. Petersburg, Professora Popova Str., 9

The present study was aimed at exploring the pathomorphological changes in liver and skeletal muscle tissue in C57Bl/Ks-db^{+/m} (db/db) mice of different ages. The study was conducted in female db/db mice aged 3 (n=7) or 7 months (n=5). According to the results of histomorphological examination, no significant differences were found between the groups.

Keywords: db/db mice, liver, skeletal muscle, aging, histological analysis

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

For citation: Matuzok T.M., Prikhodko V.A., Karev V.E., Buyuklinskaya O.V., Okovitiy S.V. Pathomorphological Changes in Liver and Skeletal Muscle Tissue in db/db Mice of Different Ages. *Journal Biomed.* 2024;20(3E):197–201. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-20-3E-197-201>

Submitted 15.04.2024

Revised 05.08.2024

Published 01.11.2024

Введение

С увеличением числа пациентов с ожирением возрастает риск возникновения метаболических заболеваний, таких как неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) и сахарный диабет 2-го типа (СД-2) [1]. Мыши линии C57Bl/Ks-db^{+/+}m (db/db) в связи с мутацией в гене рецептора лептина имеют лептинрезистентность, поэтому для них характерны гиперфагия, гипометаболизм, ожирение, с формированием к 4 мес. жизни СД-2. Использование этой линии как модели связывают со схожестью патогенеза СД-2 у db/db и человека. В то же время ожирение и инсулинорезистентность являются одними из основных факторов развития НАЖБП и саркопении [2, 4].

На прогрессирование НАЖБП и саркопении, помимо сопутствующих патологий, влияет естественное старение. Возрастные изменения сопровождаются укорочением теломера, что приводит к необратимой остановке клеточного роста, нарушениям пролиферации и аутофагии, повреждению ДНК не только самих клеток, но и митохондрий, что вызывает усугубление оксидативного стресса — одного из важных факторов патогенеза заболеваний [4].

В связи с указанным **целью** данного исследования стало изучение влияния процессов старения на гистоморфологические изменения печени и скелетных мышц у мышей линии db/db как модели СД-2.

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 5 молодых взрослых (3 мес.; группа 3) и 7 взрослых (7 мес.; группа 7) мышах-самках линии C57Bl/Ks-db^{+/+}m массой 40–55 г, полученных из филиала «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России» (Московская обл.). Мыши 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*.

В течение 5 недель до конца эксперимента еженедельно измеряли массу тела мышей.

После проведения всех исследований животных выводили из эксперимента путём эвтаназии в атмосфере углекислого газа («Bioscape/Zoonlab GmbH», Германия) и забирали ткани печени и скелетных мышц нижней конечности для гистоморфологического анализа. Подготовленные образцы ткани окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином либо суданом III.

Для каждого образца ткани печени оценивали наличие и выраженность основных признаков поражения печени (воспаление по шкале METAVIR-A [2]; жировая дистрофия гепатоцитов; баллонная (белковая) дистрофия гепатоцитов; холестаз, некроз и фиброз), используя шкалу от 0 до 3, где 0 — отсутствие признака; 1 — слабовыраженный признак; 2 — умеренно выраженный признак; 3 — выраженный признак. В рамках оценки тяжести фибротических изменений по аналогичной шкале отдель-

но оценивали выраженность перипортального сегментарного фиброза, фиброза центральных вен, внутريدолькового перисинусоидального фиброза и наличие фиброзных септ. Стадирование фиброза печени осуществляли по шкале METAVIR-F [1]. Дополнительно оценивали наличие патологической клеточной инфильтрации паренхимы печени. Для каждого образца ткани скелетных мышц оценивали наличие и выраженность интерстициальной клеточной инфильтрации, пролиферативных изменений перимизия, интерстициального фиброза, некроза, дистрофических изменений и гипертрофии мышечных волокон, используя аналогичную шкалу.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы 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 отличном от нормального распределении — с помощью U-критерия Манна

— Уитни. Порог статистической значимости устанавливали на уровне $p < 0,05$. Числовые данные представлены в виде средних арифметических с указанием стандартной ошибки средних. Для анализа балльных значений использовали программную среду R 4.1.1 («R Foundation for Statistical Computing», Австрия) с интегрированной средой разработки RStudio 1.4.1717 («Rstudio, PBC», США), а также пакет функций RVAideMemoire 0.9-81 [3]. Значимость различий между распределениями частот встречаемости шкалированных оценок оценивали с помощью расширенного точного теста Фишера с поправкой Холма — Бонферрони по описанному ранее протоколу [5].

Суммы баллов на графиках представлены в виде медианы и 95%-ного доверительного интервала (95% ДИ). Порог статистической значимости устанавливали на уровне $p < 0,05$.

Результаты исследований

За 5 недель наблюдения за животными был обнаружен статистически значимый прирост средней массы тела животных

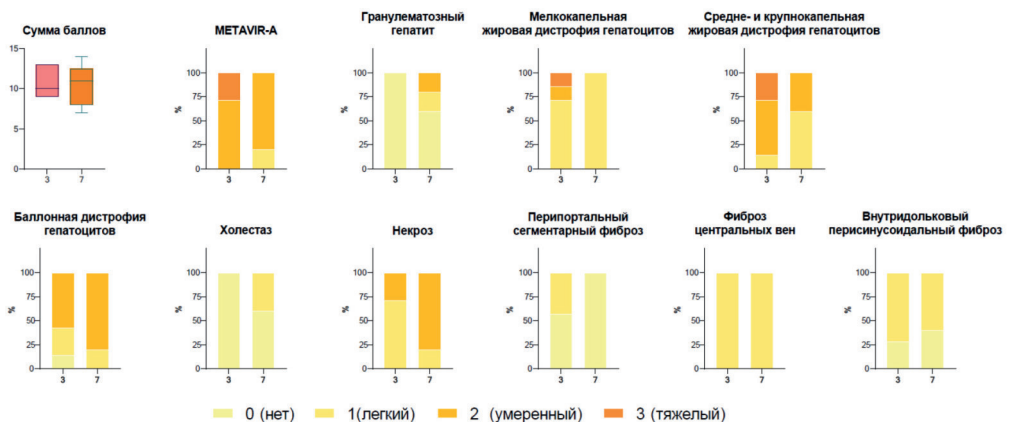


Рис. 1. Суммарные балльные оценки и распределение балльных оценок выраженности гистоморфологических признаков повреждения печени. 3 — группа мышей в возрасте 3 мес., 7 — группа мышей в возрасте 7 мес.
Fig. 1. Total scores and score distribution for the severity of histomorphological signs of liver damage. 3 — group of mice aged 3 months, 7 — group of mice aged 7 months.

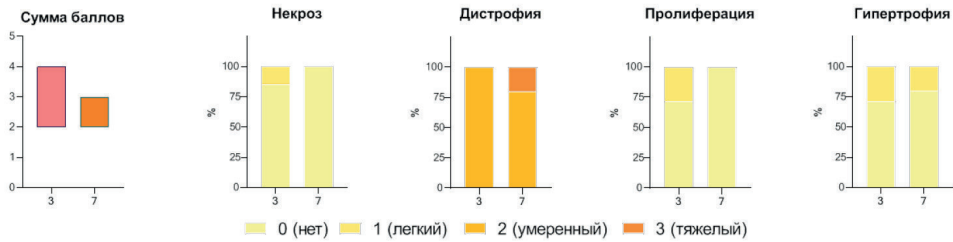


Рис. 2. Суммарные балльные оценки и распределение балльных оценок выраженности гистоморфологических признаков повреждения скелетных мышц нижних конечностей. 3 — группа мышей в возрасте 3 мес., 7 — группа мышей в возрасте 7 мес.

Fig. 2. Total scores and score distribution for the severity of histomorphological signs of damage to skeletal muscles of the lower extremities. 3 — group of mice aged 3 months, 7 — group of mice aged 7 months.

в группе 3 — с $42,92 \pm 1,66$ до $49,14 \pm 1,68$ г ($p < 0,05$) и в группе 7 — с $47,40 \pm 1,2$ до $52,76 \pm 1,36$ г ($p < 0,05$). Разница в массах между группами не была статистически значимой.

У всех животных наблюдалась баллонная (белковая) дистрофия гепатоцитов различной степени выраженности. В гепатоцитах большинства животных обнаруживались мелкие вакуоли, депонирующие нейтральные жиры, а также средне- и крупноклеточная жировая дистрофия гепатоцитов, наиболее выраженная у животных из группы 7. У всех испытуемых обнаружены различной степени выраженности повреждения паренхимы печени, условно соответствующие преимущественно умеренной и реже высокой гистологической активности гепатита. Также у большинства животных обеих групп отмечались явления фиброза, соответствующие 1 баллу по шкале METAVIR-F, преимущественно в виде нерезко выраженного расширения

стромы большинства портальных трактов. Медианная суммарная оценка в группе 3 составила 11 баллов (95% ДИ: 9–13), в группе 7 — также 11 баллов (95% ДИ: 7–14) (рис. 1).

Патологические изменения скелетных мышц прослеживались у большинства животных обеих групп. Жировая дистрофия с мелкогранулярной депозицией нейтральных жиров в саркомерме отмечалась у большинства животных, однако наиболее выраженной была в группе 3. Компенсаторная гипертрофия части мышечных волокон обнаруживалась редко. Медианная суммарная оценка в группе 3 составила 2 балла (95% ДИ: 2–4), в группе 7 — также 2 балла (95% ДИ: 2–3) (рис. 2).

Выводы

У мышей линии db/db в возрасте 3 и 7 мес. не выявлено значимых различий патоморфологических изменений печени и скелетных мышц нижних конечностей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Bedossa P., Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology*. 1996;24(2):289–293. DOI: 10.1002/hep.510240201
2. Dalbøge L.S., Almholst D.L., Neerup T.S., Vassiliadis E., Vrang N., Pedersen L., Fosgerau K., Jelsing J. Characterisation of age-dependent beta cell dynamics in the male db/db mice. *PLoS One*. 2013;8(12):e82813. DOI: 10.1371/journal.pone.0082813

3. Hervé M. RVAideMemoire: Testing and plotting procedures for biostatistics. R Package Version 0.9-81-2. *Available online*. 2021.
4. Ogawa S., Yakabe M., Akishita M. Age-related sarcopenia and its pathophysiological bases. *Inflamm Regen.* 2016;36:17. DOI: 10.1186/s41232-016-0022-5
5. Prikhodko V.A., Karev V.E., Sysoev Y.I., Ivkin D.Y., Okovityi S.V. A simple algorithm for semiquantitative analysis of scored histology data in the R environment, on the example of murine non-alcoholic steatohepatitis pharmacotherapy. *Livers.* 2022;2(4):412–424. DOI: 10.3390/livers2040031

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Матузок Татьяна Максимовна*, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;
e-mail: matuzok.tatyana@pharminnotech.com

Приходько Вероника Александровна, к.б.н., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;
e-mail: veronika.prihodko@pharminnotech.com

Карев Вадим Евгеньевич, д.м.н., проф., ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России»;
e-mail: vadimkarev@yandex.ru

Буюклинская Ольга Владимировна, д.м.н., доц., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;
e-mail: olga.buyklinskaya@pharminnotech.com

Оковитый Сергей Владимирович, д.м.н., проф., ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России;
e-mail: sergey.okovity@pharminnotech.com

Tatyana M. Matuzok*, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: matuzok.tatyana@pharminnotech.com

Veronika A. Prikhodko, Cand. Sci. (Biol.), Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: veronika.prihodko@pharminnotech.com

Vadim E. Karev, Dr. Sci. (Med.), Prof., Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: vadimkarev@yandex.ru

Olga V. Buyuklinskaya, Dr. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: olga.buyklinskaya@pharminnotech.com

Sergey V. Okovityi, Dr. Sci. (Med.), Prof., Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: sergey.okovity@pharminnotech.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author