



УДК 57.022

EDN BAYBPG

<https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-373-378>

Сравнение жидкой и сухой сахарозной диеты в развитии модели метаболического синдрома у крыс

Ю. А. Филиппов¹, А. В. Степанов¹, О. Ю. Карнишкина¹,
А. А. Панов¹, О. В. Чистякова¹, М. Г. Добрецов^{✉1}

¹ Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН,
194223, Россия, г. Санкт-Петербург, пр. Тореца, д. 44

Сведения об авторах

Юрий Алексеевич Филиппов, SPIN-код: [2478-1646](#), ResearcherID: [IKI-1629-2023](#), ORCID: [0009-0005-9028-4477](#),
e-mail: yuraf2@yandex.ru

Андрей Валентинович Степанов, SPIN-код: [2112-1988](#), Scopus AuthorID: [57200341668](#), ResearcherID: [ABA-7207-2020](#),
ORCID: [0000-0001-8788-1258](#), e-mail: botanik2407@gmail.com

Ольга Юрьевна Карнишкина, SPIN-код: [7738-1600](#), ORCID: [0000-0002-2242-4141](#), e-mail: ol.23-karnishkina-98@mail.ru

Александр Александрович Панов, Scopus AuthorID: [57195074834](#), e-mail: iaphb.lab35@gmail.com

Оксана Викторовна Чистякова, SPIN-код: [7399-4496](#), Scopus AuthorID: [15755360800](#), ResearcherID: [AAA-9028-2020](#),
ORCID: [0000-0002-2866-1017](#), e-mail: chiosana@yandex.ru

Максим Георгиевич Добрецов, SPIN-код: [1606-2408](#), Scopus AuthorID: [7004894923](#), ResearcherID: [U-9770-2018](#),
ORCID: [0000-0001-6007-9775](#), e-mail: dobretsovmaxim@gmail.com

Для цитирования: Филиппов, Ю. А., Степанов, А. В., Карнишкина, О. Ю., Панов, А. А., Чистякова, О. В.,
Добрецов, М. Г. (2023) Сравнение жидкой и сухой сахарозной диеты в развитии модели метаболического синдрома
у крыс. *Интегративная физиология*, т. 4, № 3, с. 373–378. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-373-378>
EDN BAYBPG

Получена 24 октября 2023; прошла рецензирование 16 ноября 2023; принята 19 ноября 2023.

Финансирование: Исследование выполнено при поддержке гранта Российского Научного Фонда, проект
№ 23-25-00260.

Права: © Ю. А. Филиппов, А. В. Степанов, О. Ю. Карнишкина, А. А. Панов, О. В. Чистякова, М. Г. Добрецов (2023).
Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ
на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Для моделирования метаболического синдрома (МС) у крыс широко используется сахарозная модель, в которой сахароза добавляется в рацион животных в составе питьевой воды. Однако раствор сахарозы является благоприятной средой для развития микроорганизмов и плесени. Целью работы была проверка предположения, что моделирование МС у животных путем сахарозной диеты с добавлением к корму кускового сахара может служить удобной альтернативой растворению сахара в питьевой воде. Исследовали самцов крыс *Wistar* массой 275–350 г. Крысы контрольной группы (К, n = 4) в течение эксперимента (14 недель) получали стандартный сухой корм и питьевую воду. Крысы одной опытной группы («жидкий сахар», ЖС, n = 4) имели свободный выбор между питьевой водой или водой, подслащенной сахаром (30% сахара); крысы другой опытной группы («твердый сахар», ТС, n = 4) имели свободный выбор между сухим кормом и кусковым сахаром (~30% от массы корма). Выявлено, что крысы группы ЖС потребляли больше сахара и калорий, чем крысы группы ТС, а также быстрее развивали толерантность к глюкозе и инсулинорезистентность. Сделан вывод, что сахарозная диета с использованием кускового сахара, хотя и более удобна в исполнении, чем диета с использованием раствора сахара, но менее эффективна для развития МС у крыс.

Ключевые слова: метаболический синдром, сахарозная диета, животные модели, крыса, инсулиновая резистентность

Comparison of liquid and dry sucrose diets in the development of a model of metabolic syndrome in rats

Yu. A. Filippov¹, A. V. Stepanov¹, O. Yu. Karnishkina¹,
A. A. Panov¹, O. V. Chistyakova¹, M. G. Dobretsov¹ ✉

¹ Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences,
44 Thorez Ave., Saint Petersburg 194223, Russia

Authors

Yuri A. Filippov, SPIN-код: 2478-1646, ResearcherID: JKI-1629-2023, ORCID: 0009-0005-9028-4477, e-mail: yuraf2@yandex.ru

Andrei V. Stepanov, SPIN: 2112-1988, Scopus AuthorID: 57200341668, ResearcherID: ABA-7207-2020, ORCID: 0000-0001-8788-1258, e-mail: botanik2407@gmail.com

Olga Yu. Karnishkina, SPIN: 7738-1600, ORCID: 0000-0002-2242-4141, e-mail: ol.23-karnishkina-98@mail.ru

Alexander A. Panov, Scopus AuthorID: 57195074834, e-mail: iephb.lab35@gmail.com

Oksana V. Chistyakova, SPIN: 7399-4496, Scopus AuthorID: 15755360800, ResearcherID: AAA-9028-2020, ORCID: 0000-0002-2866-1017, e-mail: chiosana@yandex.ru

Maxim G. Dobretsov, SPIN: 1606-2408, Scopus AuthorID: 7004894923, ResearcherID: U-9770-2018, ORCID: 0000-0001-6007-9775, e-mail: dobretsovmaxim@gmail.com

For citation: Filippov, Yu. A., Stepanov, A. V., Karnishkina, O. Yu., Panov, A. A., Chistyakova, O. V., Dobretsov, M. G. (2023) Comparison of liquid and dry sucrose diets in the development of a model of metabolic syndrome in rats. *Integrative Physiology*, vol. 4, no. 3, pp. 373–378. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2023-4-3-373-378> EDN BAYBPG

Received 24 October 2023; reviewed 16 November 2023; accepted 19 November 2023.

Funding: The work was supported by the Russian Science Foundation, grant No. 23-25-00260.

Copyright: © Yu. A. Filippov, A. V. Stepanov, O. Yu. Karnishkina, A. A. Panov, O. V. Chistyakova, M. G. Dobretsov (2023). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. The sucrose model, when sucrose is added to the animal's diet as a part of drinking water, is widely used to model metabolic syndrome (MS) in rats. However, a sucrose solution is a favorable environment for the development of microorganisms and mold. The purpose of the reported study was to test the assumption that modeling MS in animals using a sucrose diet with the addition of lump sugar to the feed can serve as a simple and convenient alternative to dissolving sugar in drinking water. Male Wistar rats weighing 275–350 g were studied. During the experiment (14 weeks), the rats of the control group (C, n = 4) received standard dry food and drinking water. The rats of one experimental group ("liquid sugar", LS, n = 4) had a free choice between drinking water or water sweetened with sugar (30% sugar); the rats of the other experimental group ("solid sugar", SS, n = 4) had a free choice between dry food and lump sugar (~30% of the total weight of food). It was revealed that the rats of the LS group consumed more sugar and calories than the rats of the SS group. Besides, the former developed glucose tolerance and insulin resistance faster. It is concluded that the sucrose diet using lump sugar, although more convenient to implement than the diet using sugar solution, is less effective in the development of MS in rats.

Keywords: metabolic syndrome, sucrose diet, animal models, rat, insulin resistance

Введение

Метаболический синдром (МС) — патологическое состояние, характеризующееся ожирением, нарушением липидного обмена, гипертензией и наличием признаков резистентности к инсулину (Rodríguez-Correa et al. 2020). Модели МС, вызванного высококалорийной диетой у грызунов, наиболее доступны и относительно хорошо воспроизводят МС человека (Байрашева и др. 2019; Rodríguez-Correa et al. 2020). Среди них наиболее просты модели, в которых крысам вместо или наряду с питьевой водой предоставлена вода, подслащенная

сахарозой (20–30% коммерческого сахара). Хотя животные, имеющие доступ к воде с сахарозой, значительно не увеличивают массу, уже в первые 10 недель эксперимента они развивают основные признаки раннего МС — нарушения толерантности к глюкозе и резистентность к инсулину (Rodríguez-Correa et al. 2020). Основная трудность, связанная с моделью, — регулярное обновление сахарозной воды и тщательное мытье поилок для предотвращения образования плесени. Добавление кускового сахара к корму могло бы решить эту проблему. Проверка этого предположения составляла задачу данного исследования.

Материалы и методы

Минимизация количества используемых самцов крыс *Wistar* — 12 голов — достигалась за счет стандартизации условий эксперимента и исключения факторов, увеличивающих разброс экспериментальных данных. Методом рандомизации (Altman, Bland 1999) животных распределяли на три группы по четыре в каждой. На начало эксперимента средняя масса животных (возраст 2–3 мес.) в группах не различалась и составляла 285–305 граммов (табл. 1). Крысы содержались в виварии ИЭФБ РАН в индивидуальных клетках. Крысы контрольной группы (К, $n = 4$) имели на протяжении всего эксперимента (14 недель) свободный доступ к обычной воде и сухому корму (ЛБК-120, Тосненский комбикормовый завод, Россия; 2,7 ккал/г). Крысам группы «жидкий сахар» (ЖС, $n = 4$) предоставляли выбор между обычной питьевой водой (поилка 1) или водой, подслащенной коммерческим сахаром (30% сахара; 3,7 ккал/г сахара, поилка 2). Крысам группы «твердый сахар» (ТС, $n = 4$) был предоставлен выбор между потреблением сухого корма и кускового сахара (~30% от общего веса корма), добавленных в одну кормушку. Потребление воды, корма, а также массу тела измеряли с интервалом в 2–3 дня. На 5-й, 8-й и 10-й неделях эксперимента проводили тест на толерантность к пищевой нагрузке (ТТПН), а на 14-й неделе проводили инсулин-глюкозотолерантный тест (ИГТТ). Тесты проводили после ~17 часов

голодания и измерения глюкозы натощак. В ТТПН каждой крысе предоставляли кусочек сухого корма из расчета 4,6 г/кг массы тела животного и давали 10 минут на его потребление (Romanovsky et al. 2008). В ИГТТ глюкозу в дозе 2 г/кг вводили внутривенно (в/в), инсулин (Humalog, США) в дозе 0,8 МЕ/кг — подкожно (Derkach et al. 2015). В каждом тесте измеряли уровень глюкозы в крови, взятой из хвостовой вены, на 0, 15, 30, 60 и 120 минутах теста (глюкометр «One Touch Ultra», США). Результаты тестов анализировали, рассчитывая площади под кривыми ТТПН и ИГТТ. Различия между средними величинами сравнивали между группами с использованием одно- или двухфакторного дисперсионного анализа с последующим сравнением групповых средних с помощью критерия Тьюки. Различия между средними считали значимыми при $p < 0,05$. Данные представлены как среднее значение \pm SEM.

Результаты и их обсуждение

В начале исследования потребление воды и сухого корма в экспериментальных группах не различалось (табл. 1). Однако с первого дня получения доступа к подслащенной воде или к кусковому сахару крысы снижали потребление сухого корма. На протяжении всего эксперимента ЖС и ТС группы потребляли примерно в два раза меньше сухого корма, чем К группа (рис. 1 А). Общее потребление воды в группах

Табл. 1. Масса тела, потребление корма и воды в начале эксперимента и уровень тощачевой глюкозы (ТГ) и площадь под кривыми в ТТПН и ИГТТ тестах на разных сроках эксперимента (среднее \pm SEM)

Параметр (неделя эксперимента)	Контроль, $n = 4$	ЖС, $n = 4$	ТС, $n = 4$
Масса крысы, г (0 нед)	305 \pm 15	305 \pm 15	285 \pm 15
Потребление корма, г/день/100 г массы тела (0 нед)	9,2 \pm 0,1	9,6 \pm 0,7	12,8 \pm 0,4
Потребление воды, г/день/100 г массы тела (0 нед)	14,6 \pm 1,3	10,0 \pm 0,7	13,0 \pm 0,7
Глюкоза натощак			
ТГ, мМ (5 нед)	4,8 \pm 0,2	4,7 \pm 0,2	4,7 \pm 0,1
ТГ, мМ (8 нед)	5,0 \pm 0,2	5,2 \pm 0,4	4,7 \pm 0,1
ТГ, мМ (10 нед)	4,6 \pm 0,3	5,0 \pm 0,3	5,5 \pm 0,1
ТГ, мМ (14 нед)	4,8 \pm 0,3	5,5 \pm 0,1	5,0 \pm 0,4
Площадь под кривой в ТТПН и ИГТТ тестах			
ТТПН, мМ*мин (5 нед)	729 \pm 23	784 \pm 20	760 \pm 32
ТТПН, мМ*мин (8 нед)	817 \pm 26	903 \pm 25*	765 \pm 35
ТТПН, мМ*мин (10 нед)	774 \pm 15	941 \pm 55#	871 \pm 21
ИГТТ, мМ*мин (14 нед)	804 \pm 15	1002 \pm 130	716 \pm 147

Примечание: # — достоверное отличие от контроля, * — достоверное отличие от ТС группы.

Table 1. Body weight, food and water consumption at the beginning of the experiment, the level of fasting glucose (FG) and area under the curves in the food tolerance test (FTT) and insulin-glucose tolerance test (IGTT) at different periods of the experiment (mean \pm SEM)

Parameter (week of experiment)	Control, n = 4	LS, n = 4	SS, n = 4
Entry rat weight, g	305 \pm 15	305 \pm 15	285 \pm 15
Entry food intake, g/day/100 g bwt	9.2 \pm 0.1	9.6 \pm 0.7	12.8 \pm 0.4
Entry water intake, g/day/100 g bwt	14.6 \pm 1.3	10.0 \pm 0.7	13.0 \pm 0.7
Fasting glucose			
FG, mM (5 weeks)	4.8 \pm 0.2	4.7 \pm 0.2	4.7 \pm 0.1
FG, mM (8 weeks)	5.0 \pm 0.2	5.2 \pm 0.4	4.7 \pm 0.1
FG, mM (10 weeks)	4.6 \pm 0.3	5.0 \pm 0.3	5.5 \pm 0.1
FG, mM (14 weeks)	4.8 \pm 0.3	5.5 \pm 0.1	5.0 \pm 0.4
Area under curve in FTT and IGTT tests			
FTT, mM*min (5 weeks)	729 \pm 23	784 \pm 20	760 \pm 32
FTT, mM*min (8 weeks)	817 \pm 26	903 \pm 25*	765 \pm 35
FTT, mM*min (10 weeks)	774 \pm 15	941 \pm 55 [#]	871 \pm 21
IGTT, mM*min (14 weeks)	804 \pm 15	1002 \pm 130	716 \pm 147

Note: # — indicates statistically significant difference from the control group mean, * — indicates statistically significant difference from the SS group mean.

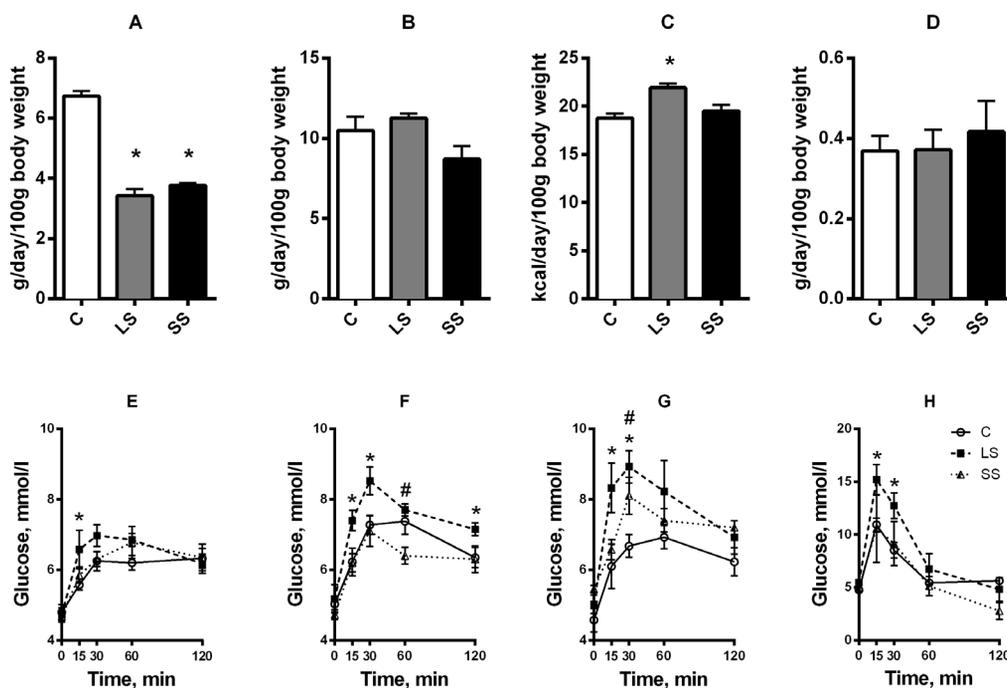


Рис. 1. Среднее потребление корма (A), воды (B), калорий (C), прирост массы тела (D) в течение всей длительности диеты; ТТПН, проведенный на 5-й (E), 8-й (F) и 10-й (G) неделях опыта; ИГТТ (H), проведенный в конце эксперимента (14 недель). * — различия между контролем (C) и ЖС (LS) животными; # — отличия между контролем и ТС (SS) животными; $p < 0,05$; однофакторный дисперсионный анализ (панели A–D) и двухфакторный дисперсионный анализ (панели E–H) с последующим сравнением групповых средних с помощью критерия Тьюки

Fig. 1. Average consumption of feed (A), water (B), calories (C), body weight gain (D) during the entire period of the diet; TTPN performed on the 5th (E), 8th (F) and 10th (G) weeks of the experiment; IGTT (H) performed at the end of the experiment (14 weeks). * — differences between control (C) and LS (LS) animals; # — differences between control and TS (SS) animals; $p < 0.05$; one-way ANOVA (panels A–D) and two-way ANOVA (panels E–H), followed by the comparison of group means using Tukey's test

не различалось (рис. 1 В). Снижение потребления сухого корма ЖС и ТС крысами соответствует данным литературы (Cruz et al. 2020; la Fleur et al. 2011), что является попыткой компенсировать избыток энергии, поступающей с высококалорийной диетой. Действительно, общее потребление энергии К, ЖС и ТС крысами различалось существенно меньше, чем потребление корма (рис. 1 С). Однако у ЖС, но не у ТС крыс, оно было статистически значимо выше, чем у К крыс. На ранних (до трех месяцев) сроках сахарозной модели МС различие потребления энергии не ведет ни к разнице прироста массы тела животных (рис. 1D), ни к различию уровней глюкозы натошак, измеренным на 5-й, 8-й, 10-й и 14-й неделях диеты (табл. 1). Однако у ЖС крыс нарушалась толерантность к глюкозе уже с 5-й недели эксперимента (рис. 1E-G). На 10-й неделе эксперимента площадь под кривой ТТПН у ЖС группы была статистически значимо больше, чем у К группы (95% CI различий средних значений: 28 — 306 мМ*мин). Также у ЖС группы уровни глюкозы, измеренные на 15-й и 30-й минутах ИГТТ теста, были значимо выше, чем у К группы (рис. 1 H). У ТС группы результаты ГТТ и ИГТТ не имели статистически значимых отличий от К группы (рис. 1 E–H).

Заключение

Полученные данные позволили заключить, что моделирование МС у самцов крыс *Wistar* проходит успешно при содержании животных на диете с повышенным содержанием сахарозы, получаемой с питьевой водой, но не с сухим кормом (в данной работе — добавление к корму кускового сахара).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Соответствие принципам этики

Эксперименты проводили в соответствии с правилами и требованиями, предусмотренными директивой 1986 г. Европейского парламента изложенными в «Руководстве по уходу и использованию лабораторных животных» (2010)

и протоколом по биоэтике ИЭФБ РАН № 1-23/2023 от 26.01.2023.

Ethics Approval

The experiments were carried out in accordance with the rules and requirements stipulated by the 1986 Directive of the European Parliament set out in the “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals” (2010) and the IEPHВ RAS bioethics protocol No. 1-23 /2023 dated 26 January 2023.

Вклад авторов

- a. Филиппов Юрий Алексеевич — сбор и анализ данных, проведение экспериментальных манипуляций, статистическая обработка данных, оформление статьи;
- б. Степанов Андрей Валентинович — проведение экспериментальных манипуляций, сбор и систематизация данных научной литературы;
- в. Карнишкина Ольга Юрьевна — сбор и анализ данных, проведение экспериментальных манипуляций;
- г. Панов Александр Александрович — измерение массы животных, оценка потребления корма, воды и сахара;
- д. Чистякова Оксана Викторовна — проведение экспериментальных манипуляций;
- е. Добрецов Максим Георгиевич — идея и планирование экспериментов, оформление статьи, обобщение результатов исследования, статистическая обработка данных.

Author Contributions

- a. Yuri A. Filippov — data collection and analysis, experimental manipulations, drafting the article, statistical data analysis;
- b. Andrei V. Stepanov — experimental manipulations, collecting and systematizing scientific literature data;
- c. Olga Yu. Karnishkina — data collection and analysis, experimental manipulations;
- d. Alexander A. Panov — measuring the weight of animals, assessing the consumption of feed, water and sugar;
- e. Oksana V. Chistyakova — experimental manipulations;
- f. Maxim G. Dobretsov — conceptualizing and planning experiments, formatting the article, generalization of research results, statistical data analysis.

Литература

- Байрашева, В. К., Пчелин, И. Ю., Егорова, А. Э. и др. (2019) Экспериментальные модели алиментарного ожирения у крыс. *Juvenis Scientia*, № 9-10, с. 8–13. <https://doi.org/10.32415/jscientia.2019.09-10.02>
- Altman, D. G., Bland, J. M. (1999) How to randomise. *British Medical Journal*, vol. 319, no. 7211, pp. 703–704. <https://doi.org/10.1136/bmj.319.7211.703>
- Cruz, E. M. S., de Moraes, J. M. B., da Rosa, C. V. D. et al. (2020) Long-term sucrose solution consumption causes metabolic alterations and affects hepatic oxidative stress in Wistar rats. *Biology Open*, vol. 9, no. 3, article bio047282. <https://doi.org/10.1242/bio.047282>
- Derkach, K. V., Bondareva, V. M., Chistyakova, O. V. et al. (2015) The effect of long-term intranasal serotonin treatment on metabolic parameters and hormonal signaling in rats with high-fat diet/low-dose streptozotocin-induced type 2 diabetes. *International Journal of Endocrinology*, vol. 2015, no. 6, article 245459. <https://doi.org/10.1155/2015/245459>
- la Fleur, S. E., Luijendijk, M. C. M., van Rozen, A. J. et al. (2011) A free-choice high-fat high-sugar diet induces glucose intolerance and insulin unresponsiveness to a glucose load not explained by obesity. *International Journal of Obesity*, vol. 35, no. 4, pp. 595–604. <https://doi.org/10.1038/ijo.2010.164>
- Rodríguez-Correa, E., González-Pérez, I., Clavel-Pérez, P. I. et al. (2020) Biochemical and nutritional overview of diet-induced metabolic syndrome models in rats: What is the best choice? *Nutrition & Diabetes*, vol. 10, no. 1, article 24. <https://doi.org/10.1038/s41387-020-0127-4>
- Romanovsky, D., Walker, J. C., Dobretsov, M. (2008) Pressure pain precedes development of type 2 disease in Zucker rat model of diabetes. *Neuroscience Letters*, vol. 445, no. 3, pp. 220–223. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.08.087>

References

- Altman, D. G., Bland, J. M. (1999) How to randomise. *British Medical Journal*, vol. 319, no. 7211, pp. 703–704. <https://doi.org/10.1136/bmj.319.7211.703> (In English)
- Bayrasheva, V. K., Pchelin, I. Yu., Egorova, A. E. et al. (2019) Eksperimental'nye modeli alimentarnogo ozhireniya u krys [Experimental models of alimentary obesity in rats]. *Juvenis Scientia*, no. 9-10, pp. 8–13. <https://doi.org/10.32415/jscientia.2019.09-10.02> (In Russian)
- Cruz, E. M. S., de Moraes, J. M. B., da Rosa, C. V. D. et al. (2020) Long-term sucrose solution consumption causes metabolic alterations and affects hepatic oxidative stress in Wistar rats. *Biology Open*, vol. 9, no. 3, article bio047282. <https://doi.org/10.1242/bio.047282> (In English)
- Derkach, K. V., Bondareva, V. M., Chistyakova, O. V. et al. (2015) The effect of long-term intranasal serotonin treatment on metabolic parameters and hormonal signaling in rats with high-fat diet/low-dose streptozotocin-induced type 2 diabetes. *International Journal of Endocrinology*, vol. 2015, no. 6, article 245459. <https://doi.org/10.1155/2015/245459> (In English)
- la Fleur, S. E., Luijendijk, M. C. M., van Rozen, A. J. et al. (2011) A free-choice high-fat high-sugar diet induces glucose intolerance and insulin unresponsiveness to a glucose load not explained by obesity. *International Journal of Obesity*, vol. 35, no. 4, pp. 595–604. <https://doi.org/10.1038/ijo.2010.164> (In English)
- Rodríguez-Correa, E., González-Pérez, I., Clavel-Pérez, P. I. et al. (2020) Biochemical and nutritional overview of diet-induced metabolic syndrome models in rats: What is the best choice? *Nutrition & Diabetes*, vol. 10, no. 1, article 24. <https://doi.org/10.1038/s41387-020-0127-4> (In English)
- Romanovsky, D., Walker, J. C., Dobretsov, M. (2008) Pressure pain precedes development of type 2 disease in Zucker rat model of diabetes. *Neuroscience Letters*, vol. 445, no. 3, pp. 220–223. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.08.087> (In English)