

ВЛИЯНИЕ НОКАУТА ГЕНА β -АРРЕСТИНА 2 НА ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ СТАТУС МЫШЕЙ В УСЛОВИЯХ СТРЕПТОЗОТОЦИН-ВЫЗВАННОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА

А. А. Волкова^{1,2} ✉, А. С. Гладкова²

¹ Институт физиологии, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

² Биологический факультет, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия

Сахарный диабет (СД) сопровождается системным воспалением и нейровоспалением, однако роль β -аррестина 2 в этих процессах изучена недостаточно. Цель экспериментального исследования — изучить влияние дефицита β -аррестина 2 на провоспалительный статус мышей в условиях стрептозотоцин-вызванного сахарного диабета. Самцов мышей линии C57BL/6J и мышей с глобальным нокаутом гена β -аррестина 2 (*Arb2*^{-/-}) разделили на четыре группы: животные дикого типа без диабета (WT, $n = 8$) и с диабетом (WTd, $n = 8$), нокаутные животные без диабета (KO, $n = 8$) и с диабетом (KOd, $n = 9$). Показано, что нокаут гена *Arb2* замедляет развитие гипергликемии: к 39-му дню эксперимента уровень глюкозы у животных WTd составлял $22,3 \pm 8,09$ ммоль/л, у KOd — $14,37 \pm 7,65$ ммоль/л ($p < 0,05$). У мышей *Arb2*^{-/-} был повышен системный воспалительный фон: базальная доля нейтрофилов в крови у KO животных была в 2,6 раза выше, чем у WT ($p < 0,0001$). С 18-го дня эксперимента у KOd мышей доля нейтрофилов была значимо выше по сравнению с KO и WTd ($p < 0,05$). Дефицит β -аррестина 2 сопровождался усилением экспрессии мРНК генов провоспалительных цитокинов и рецепторов, активируемых протеазами. Наиболее выраженные изменения включали статистически значимое повышение экспрессии мРНК *Il6* в гиппокампе у KO по сравнению с WT в 2,9 раза ($p < 0,01$), повышение экспрессии *Tnf* в коре (4,3 раза для KO/WT и 2,0 раза для KOd/WTd) и гиппокампе (3,2 и 2,3 раза соответственно) у *Arb2*^{-/-} животных по сравнению с соответствующими группами дикого типа ($p < 0,05$), а также увеличение экспрессии *Par1* и *Par4* в коре и гиппокампе у *Arb2*^{-/-} мышей от 2,4 до 7,3 раза ($p < 0,01$). Полученные данные указывают на противовоспалительную роль β -аррестина 2 в центральной нервной системе и его участие в регуляции воспаления при СД.

Ключевые слова: диабет, β -аррестин 2, PAR, нокаут, воспаление

Финансирование: работа поддержана грантом РНФ №24-75-00164 «Роль бета-аррестина в развитии ишемии мозга на фоне сахарного диабета у мышей».

Вклад авторов: А. А. Волкова — идея работы и планирование эксперимента, сбор и обработка данных, написание и редактирование статьи; А. С. Гладкова — сбор и обработка данных, написание и редактирование статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н. И. Пирогова (протокол № 23/2021 от 13 декабря 2021 г.). Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации.

✉ Для корреспонденции: Анна Александровна Волкова
ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117997; volkova_aa4@rsmu.ru

Статья получена: 14.04.2026 Статья принята к печати: 30.04.2026 Опубликовано онлайн: 27.06.2026

DOI: 10.24075/vrgmu.2026.035

Авторские права: © 2026 принадлежат авторам. **Лицензиат:** РНИМУ им. Н. И. Пирогова. Статья размещена в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

β -ARRESTIN 2 KNOCKOUT MODULATES INFLAMMATORY RESPONSES IN A MOUSE MODEL OF STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES MELLITUS

Volkova AA^{1,2} ✉, Gladkova AS²

¹ Institute of Physiology, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

² Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Diabetes mellitus (DM) is associated with systemic inflammation and neuroinflammation, but the role of β -arrestin 2 in these processes remains poorly understood. The experimental study aimed to assess the effect of β -arrestin 2 deficiency on the pro-inflammatory state of mice with streptozotocin-induced diabetes. Male C57BL/6J mice and mice with the global β -arrestin 2 gene knockout (*Arb2*^{-/-}) were divided into four groups: non-diabetic wild type mice (WT, $n = 8$), diabetic wild-type mice (WTd, $n = 8$), non-diabetic knockout mice (KO, $n = 8$) and diabetic knockout mice (KOd, $n = 9$). *Arb2* knockout delayed the development of hyperglycemia: on day 39, blood glucose levels were significantly higher in WTd mice than in KOd mice (22.3 ± 8.09 vs. 14.37 ± 7.65 mmol/L, $p < 0.05$). *Arb2*^{-/-} mice also showed increased systemic inflammatory markers: the baseline percentage of neutrophils in KO mice was 2.6-fold higher than in WT mice ($p < 0.0001$). Starting from day 18 KOd mice had significantly higher neutrophil counts compared to KO and WTd ($p < 0.05$). β -Arrestin 2 deficiency was associated with increased mRNA expression of the genes encoding pro-inflammatory cytokines and protease-activated receptors. The most pronounced changes included a significant increased *Il6* mRNA expression in the hippocampus of KO compared to WT (2.9-fold, $p < 0.01$), increased *Tnf* expression in the cerebral cortex (4.3-fold for KO/WT and 2.0-fold for KOd/WTd) and the hippocampus (3.2- and 2.3-fold, respectively) of *Arb2*^{-/-} animals compared to appropriate wild type groups ($p < 0.05$), as well as the increased *Par1* and *Par4* expression in the cerebral cortex and hippocampus of *Arb2*^{-/-} mice (2.4–7.3-fold, $p < 0.01$). These findings suggest that β -arrestin 2 deficiency is associated with a pro-inflammatory phenotype in the CNS and may contribute to inflammation dysregulation in DM.

Keywords: diabetes, β -arrestin 2, PAR, knockout, inflammation

Funding: the study was supported by the RSF grant No. 24-75-00164 "Role of beta-arrestin in cerebral ischemia against the background of diabetes mellitus in mice".

Author contribution: Volkova AA — study concept and planning the experiment, data acquisition and processing, manuscript writing and editing; Gladkova AS — data acquisition and processing, manuscript writing and editing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Pirogov Russian National Research Medical University (protocol No. 23/2021 dated December 13, 2021). All the procedures conducted during the study that involved animals were compliant with the ethical standards approved by legal acts of the Russian Federation, principles of Basel Declaration.

✉ Correspondence should be addressed: Anna A. Volkova
Ostrovityanova, 1, Moscow, 117997; volkova_aa4@rsmu.ru

Received: 14.04.2026 Accepted: 30.04.2026 Published online: 27.06.2026

DOI: 10.24075/brsmu.2026.035

Copyright: © 2026 by the authors. **Licensee:** Pirogov University. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Сахарный диабет (СД) — одна из ведущих неинфекционных патологий, распространенность которой продолжает увеличиваться во всем мире [1, 2]. СД ассоциирован с высоким риском сердечно-сосудистых осложнений, включая нарушения мозгового кровообращения, а также с повышенной вероятностью развития когнитивных нарушений и нейродегенеративных заболеваний [3, 4]. Одними из факторов, связывающих СД с развитием коморбидных патологий, являются системное воспаление и нейровоспаление, сопровождающие это заболевание [5, 6].

Одним из механизмов, связывающих хроническую гипергликемию с воспалительным ответом, является неферментативное гликирование белков и других молекул. При избытке глюкозы ее карбонильная группа вступает в реакцию со свободными аминогруппами, что приводит к образованию конечных продуктов гликирования (AGE) [7]. Взаимодействие AGE с рецепторами конечных продуктов гликирования (RAGE, receptor for advanced glycation end products) активирует сигнальные пути MAPK/ERK (митоген-активируемая протеинкиназа / киназа, регулируемая внеклеточным сигналом), TGF β (трансформирующий фактор роста β), JNK (с-Jun N-концевая киназа) и NF- κ B (ядерный фактор κ B), что сопровождается высвобождением провоспалительных медиаторов, включая интерлейкин-1 (IL1), интерлейкин-6 (IL6) и фактор некроза опухоли- α (TNF α) [8]. Кроме того, AGE/RAGE-взаимодействие и аутоокисление глюкозы усиливают образование активных форм кислорода (АФК), что дополнительно поддерживает воспалительный ответ при СД [9, 10]. Метаболические нарушения при СД также способствуют эндотелиальной дисфункции. В частности, инсулинорезистентность сопровождается снижением активности PI3K/Akt-сигнального пути (фосфоинозитид-3-киназа / протеинкиназа B) и компенсаторным усилением MAPK/ERK-зависимой сигнализации, что приводит к снижению продукции оксида азота (NO) и повышению образования эндотелина-1 в эндотелиальных клетках [11, 12]. На фоне эндотелиальной дисфункции, активации астроцитов и микроглии может нарушаться целостность гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), что способствует развитию нейровоспаления и нейродегенеративных изменений [13, 14].

Понимание молекулярных механизмов, связывающих диабет и воспаление, способствует поиску новых терапевтических стратегий, направленных на коррекцию воспалительных процессов при СД и профилактику неврологических осложнений. Одним из перспективных направлений является изучение роли β -аррестина — многофункциональных белков, участвующих в регуляции сигнальных путей, связанных с метаболизмом глюкозы и воспалительными процессами [15].

β -Аррестин 2 впервые был описан из-за его ключевой роли в десенсибилизации рецепторов, связанных с G-белками (GPCR) [16]. Однако, помимо регуляции GPCR, β -аррестин 2 выполняет важную адаптерную функцию, участвуя в передаче сигналов с помощью каскадов как связанных (активация ERK, JNK и p38-киназ) [17], так и не связанных с G-белками (Wnt, Notch, TGF β , Hedgehog) [18]. β -Аррестин 2 необходим для нормальной секреции инсулина β -клетками поджелудочной железы [19]. Кроме того, он ингибирует проведение сигнала рецепторов глюкокагона и способствует поддержанию эугликемии [15]. Однако, по литературным данным, β -аррестин 2 оказывает разнонаправленное влияние на воспалительный процесс, выступая как про-, так и противовоспалительным фактором.

При воспалении у мышей с глобальным нокаутом гена β -аррестина 2 (*Arb2*, arrestin beta 2) была усилена экспрессия провоспалительных маркеров IL6, IL1 β , TNF α и ингибитора киназы β NF- κ B (IKK β) [20]. Однако в фибробластах мыши экспрессия β -аррестина 2 необходима для активации NF- κ B через рецептор лизофосфатидной кислоты (LPA) [21]. β -Аррестин 2 стимулирует пролиферацию и миграцию гладкомышечных клеток (ГМК) из медиа в интиму, увеличивая размер атеросклеротического поражения [22].

Таким образом, цель данной работы — оценить провоспалительный статус мышей нокаутных по гену β -аррестина 2 на фоне длительного стрептозотоцин-вызванного диабета.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования

Эксперименты проводили на самцах мышей линии C57BL/6J и мышей с глобальным нокаутом гена *Arb2* (*Arb2*^{-/-}), полученных на генетическом фоне C57BL/6J, массой 15–25 г в возрасте 8 недель. Животных содержали в стандартных условиях вивария при температуре 22 °C, 12-часовом световом режиме и свободном доступе к пище и воде. Используемая линия *Arb2*^{-/-} ранее была верифицирована методами ПЦР и вестерн-блот анализа [23].

Моделирование СД

Животные были случайным образом разделены на четыре группы. Контрольные группы без диабета: животные дикого типа (WT) и с нокаутом по гену *Arb2* (KO), и опытные группы с диабетом: также дикого типа (WTd) и с нокаутом *Arb2* (KOd). Для моделирования СД животным внутривенно (в/в) вводили стрептозотоцин (STZ) в течение 5 дней подряд. За 4 ч до инъекции доступ животных к корму прекращали. Затем опытным группам WTd и KOd в/в вводили STZ (Sigma Aldrich Co., США), растворенный в свежеприготовленном 50 mM натрий-цитратном буфере (pH 4,5), в дозе 55 мг/кг. Контрольным группам WT и KO в/в вводили эквивалентный объем цитратного буфера.

Животным измеряли уровень глюкозы с помощью глюкометра Diacont Classic 2598 (Тайвань) на 1, 5, 10, 18, 25, 32 и 39 дне от начала введения STZ. В те же дни проводили мониторинг веса животных. Каплю крови для анализа отбирали пункцией боковой хвостовой вены. Перед измерением уровня глюкозы прекращали доступ к корму на 4 ч.

Оценка уровня системного воспаления

Для оценки уровня системного воспаления у животных определяли соотношение нейтрофилов в мазках крови из боковой хвостовой вены. Взятие мазка проводили в те же дни, что и измерение уровня глюкозы. Мазки фиксировали метанолом (FisherChemical, Германия), окрашивали красителем Гимзы («ПанЭко», Россия) в течение 10–15 мин и анализировали при увеличении 400 $\times$. Перед микроскопическим анализом препараты кодировали; исследователь, проводивший подсчет лейкоцитарной формулы, не имел информации о принадлежности образца к экспериментальной группе. Подсчет клеток проводили вручную с использованием программы WBC Counter (Kazuyoshi Sasaoka, Япония) до достижения общего числа лейкоцитов, равного 100, после чего рассчитывали

Таблица. Праймеры, использованные для ОТ-ПЦР

Ген	Прямой праймер (5'–3')	Обратный праймер (5'–3')
<i>Il6</i>	AGGACCAAGACCATCCAATTCA	CGCACTAGGTTTGCCGAGTA
<i>Par1</i>	GTCGCTTCCACGAAAGTCCT	CACAGACAGAACACGGGACA
<i>Par4</i>	CAGCCCTAGACACCCTGATT	AGACACCCATCATCCTTTGGC
<i>Il1b</i>	GCCTGTGTTTTCTCCTTGC	GCTGCCTAATGTCCCCTTGA
<i>Tnf</i>	ACCTGGCCTCTCTACCTTGT	GATTACAGTCACGGCTCCCG
<i>Actb</i>	ACTCTGTGTGGATTGGTGGC	GAAAGGGTGTAACGACGCTC

процент нейтрофилов. Референсными значениями для взрослых мышей линии C57BL/6J считали следующие: сегментоядерные нейтрофилы — 8–20%, лимфоциты — 76–91% [24]. Для анализа динамики нейтрофильного звена долю нейтрофилов дополнительно нормировали на индивидуальное значение, полученное у того же животного на 1-й день эксперимента.

Измерение уровня экспрессии мРНК провоспалительных цитокинов и рецепторов PAR

Уровень экспрессии генов провоспалительных цитокинов (*Il6*, *Il1b*, *Tnf*) и рецепторов, активируемых протеазами 1 и 4 (*Par1*, *Par4*), оценивали с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в режиме реального времени (ОТ-ПЦР).

Образцы гиппокампа и коры правого полушария гомогенизировали в реагенте ExtractRNA («Евроген», Россия), тотальную РНК выделяли согласно протоколу производителя. Концентрацию и чистоту РНК оценивали с помощью спектрофотометра Nanodrop (Thermo Fisher Scientific, США); для дальнейшего анализа использовали образцы с $A260/280 = 1,8–2,0$ и $A260/230 = 1,8–2,2$. Для получения достаточного количества РНК часть образцов коры и гиппокампа объединяли в пулы.

После обработки ДНКазой I (Thermo Fisher Scientific, США) проводили синтез кДНК с использованием набора MMLV RT («Евроген», Россия). В реакции обратной транскрипции использовали смесь праймеров Random(dN)10 и Oligo(dT)15.

ПЦР в реальном времени проводили в амплификаторе CFX Connect Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, США) с использованием SYBR Green I (смесь 5x qPCRmix-HS SYBR; «Евроген», Россия). Специфичность амплификации контролировали по кривым плавления; в качестве отрицательного контроля использовали реакцию без матрицы. Последовательности праймеров представлены в таблице.

Эффективность всех пар праймеров составляла 95–105%. Уровень экспрессии рассчитывали методом $\Delta\Delta C_q$ с нормализацией на референсный ген β -актина (*Actb*). Все образцы анализировали в трех параллельных повторах.

Статистический анализ

Статистическую обработку результатов проводили в программе GraphPad Prism версии 8.0.1 (GraphPad Software Inc., США). Нормальность распределения полученных данных определяли с помощью критерия Шапиро–Уилка, выбросы — с помощью теста ROUT при $Q = 1\%$. Для оценки статистической значимости использовали непарный t -тест или двухфакторный дисперсионный анализ (two-way ANOVA) с апостериорным тестом Тьюки; при неравных размерах групп применяли поправку Тьюки–Крамера,

автоматически реализованную в GraphPad Prism. В рамках post-hoc-анализа оценивали влияние как диабета внутри каждого генотипа (WT/WTd и KO/KOd), так и генотипа в соответствующих условиях: WT/KO в контроле и WTd/KOd на фоне диабета. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. На рисунках отмечены только статистически значимые различия.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Влияние нокаута гена *Arb2* на формирование признаков диабета

Ключевым повреждающим фактором, определяющим развитие диабетических осложнений у экспериментальных животных, является хроническая гипергликемия. Используемый нами протокол введения STZ приводил к стойкому повышению уровня глюкозы у животных дикого типа на 10-й день эксперимента — концентрация глюкозы в крови составляла $17,06 \pm 4,41$ ммоль/л, что соответствует значениям тяжелой гипергликемии. Концентрация глюкозы в крови мышей из группы KOd статистически не отличалась от таковой у группы KO вплоть до 25 дня эксперимента. На 25-й день концентрация глюкозы в крови у мышей KOd достигала значения $12,93 \pm 5,93$ ммоль/л, что соответствует легкой форме гипергликемии, а тяжелая гипергликемия ($17,28 \pm 5,75$ ммоль/л) развивалась только на 32-й день. К концу эксперимента на 39-й день после первой инъекции STZ уровень глюкозы у животных WTd ($22,3 \pm 8,09$ ммоль/л) был значимо выше, чем у животных KOd ($14,37 \pm 7,65$ ммоль/л) (рис. 1).

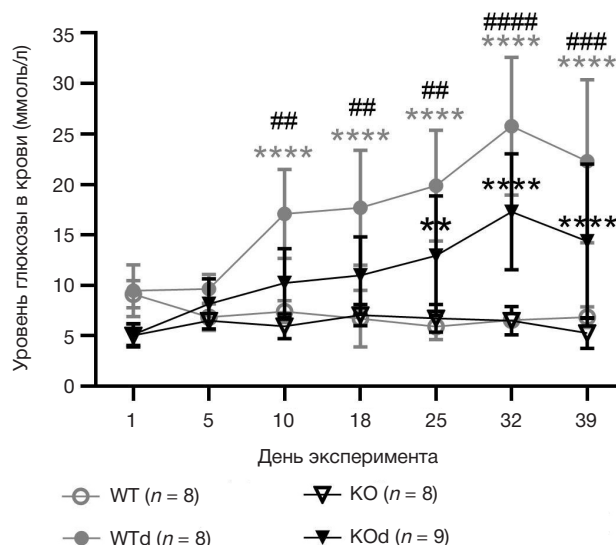


Рис. 1. Изменение уровня глюкозы в крови у мышей в контроле и при диабете. Two-way ANOVA, тест Тьюки. ** — $p < 0,01$; **** — $p < 0,0001$ (сравнение WT/WTd и KO/KOd); ## — $p < 0,01$; ### — $p < 0,001$; #### — $p < 0,0001$ (сравнение WTd/KOd).

Наряду с гипергликемией, другим симптомом, характерным для СД1, является снижение массы тела, поэтому данный параметр оценивали регулярно наряду с изменением концентрации глюкозы. В нашем исследовании во всех группах животных наблюдалось увеличение массы тела при сравнении 1 и 39 дней эксперимента. У животных WT и WTd увеличение составило $3,23 \pm 0,83$ г и $0,84 \pm 1,54$ г, у KO и KOd — $7,00 \pm 0,79$ г и $1,72 \pm 1,46$ г соответственно. Таким образом, диабет статистически значимо снижает прирост веса у мышей как дикого типа, так и с нокаутом гена *Arb2*. У нокаутных мышей при этом прирост веса на протяжении всего эксперимента как в отсутствие диабета, так и на его фоне был более чем в 2 раза выше в сравнении с диким типом (рис. 2). Также следует отметить наличие статистически значимых различий между животными дикого типа и нокаутными уже в начале эксперимента. На 1-й день наблюдения масса тела мышей дикого типа составляла $21,88 \pm 1,37$ г, тогда как у *Arb2*^{-/-} животных — $18,81 \pm 3,37$ г.

Влияние нокаута гена *Arb2* на уровень системного воспаления на фоне диабета

В качестве показателя системного воспаления мы подсчитывали долю нейтрофилов в мазках периферической крови с использованием окрашивания по Романовскому–Гимзе. Не было выявлено статистически значимых различий в уровне нейтрофилов между группами WT и WTd как на протяжении всего эксперимента, так и при сравнении начальных и конечных значений. В то же время у животных из группы KOd наблюдалось значимое повышение доли нейтрофилов на 18-й день эксперимента при сравнении со значениями первого дня в той же группе. Кроме того, у животных KOd уровень нейтрофилов был значимо выше по сравнению с животными KO (рис. 3A). Однако стоит отметить, что в начале эксперимента фоновое значение доли нейтрофилов в крови у мышей с нокаутом было в 2,6 раза выше, чем у животных дикого типа: $40,8 \pm 10,3\%$ против $15,6 \pm 5,3\%$ соответственно (рис. 3Б).

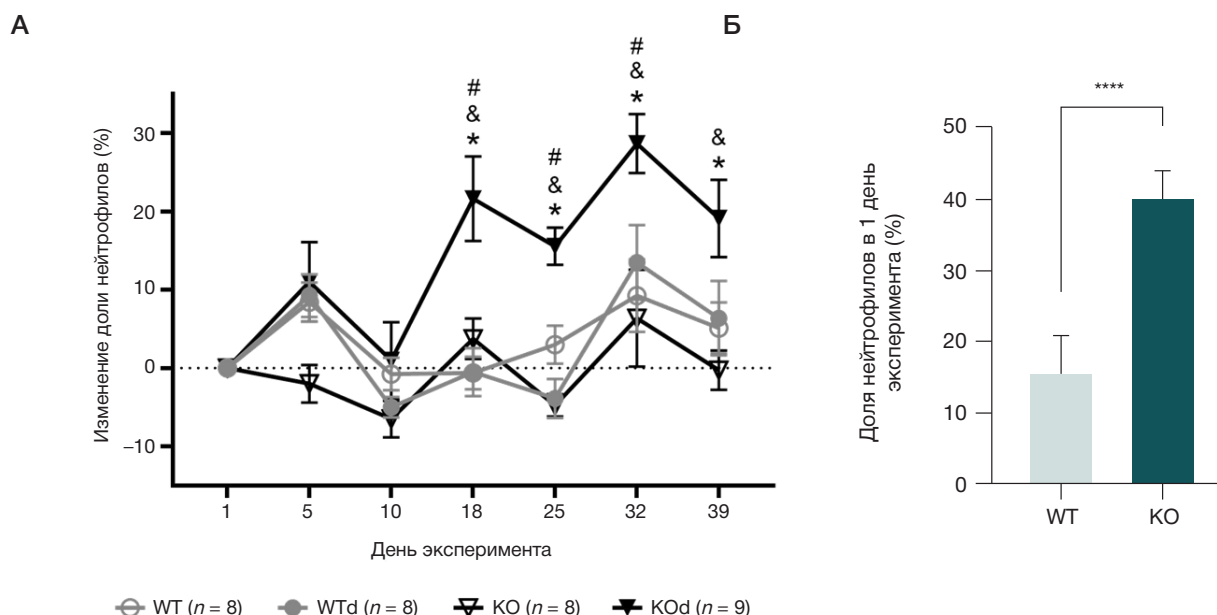


Рис. 3. Оценка уровня нейтрофилов у мышей на фоне диабета. **А.** Изменение доли нейтрофилов (данные нормированы на значения в первый день эксперимента внутри каждой группы) в крови у мышей в контроле и при диабете, индуцированном многократными низкими дозами STZ. **Б.** Доля нейтрофилов в крови у мышей дикого типа и с нокаутом гена *Arb2* в первый день эксперимента. Two-way ANOVA, тест Тьюки. * — $p < 0,05$ (сравнение KO/KOd); & — $p < 0,05$ (отличие в группе KOd по сравнению с первым днем в этой же группе); # — $p < 0,05$ (сравнение WTd/KOd). Данные представлены в виде среднего $\pm$ стандартное отклонение. Непарный t -тест. **** — $p < 0,0001$

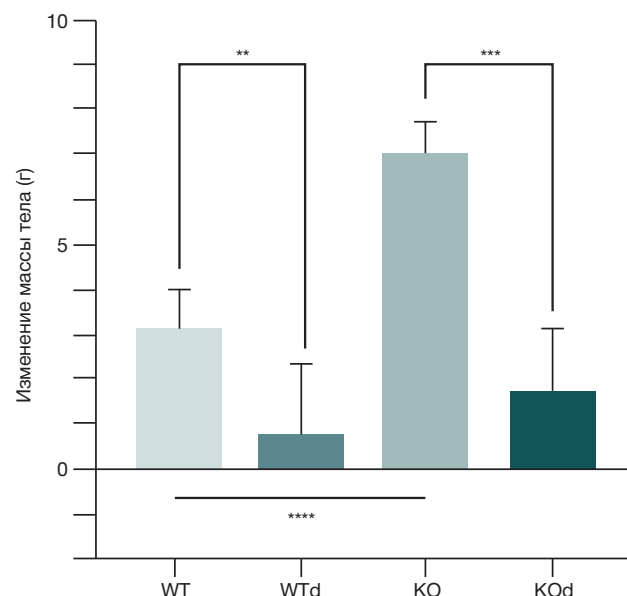


Рис. 2. Изменение массы тела животных исследуемых групп (разность между последним и первым днями эксперимента). Данные представлены в виде среднего $\pm$ стандартное отклонение. Two-way ANOVA, тест Тьюки. ** — $p < 0,01$; **** — $p < 0,0001$

Влияние нокаута гена *Arb2* на экспрессию мРНК генов *Il6*, *Il1b* и *Tnf* в коре и гиппокампе на фоне диабета

Для оценки уровня экспрессии генов провоспалительных цитокинов IL6, IL1 β и TNF α мы использовали метод ПЦР в реальном времени. Между группами WT и WTd статистически значимых различий в уровне экспрессии мРНК исследуемых генов в мозге не наблюдалось. В то же время у мышей KOd на фоне диабета была значимо повышена экспрессия мРНК генов *Il6* и *Il1b* в коре мозга по сравнению с группой KO. Кроме того, уровень экспрессии мРНК генов *Il6*, *Il1b* и *Tnf* в гиппокампе и *Tnf* в коре был значимо выше как у KO мышей, по сравнению с группой WT, так и у KOd по сравнению с WTd (рис. 4).

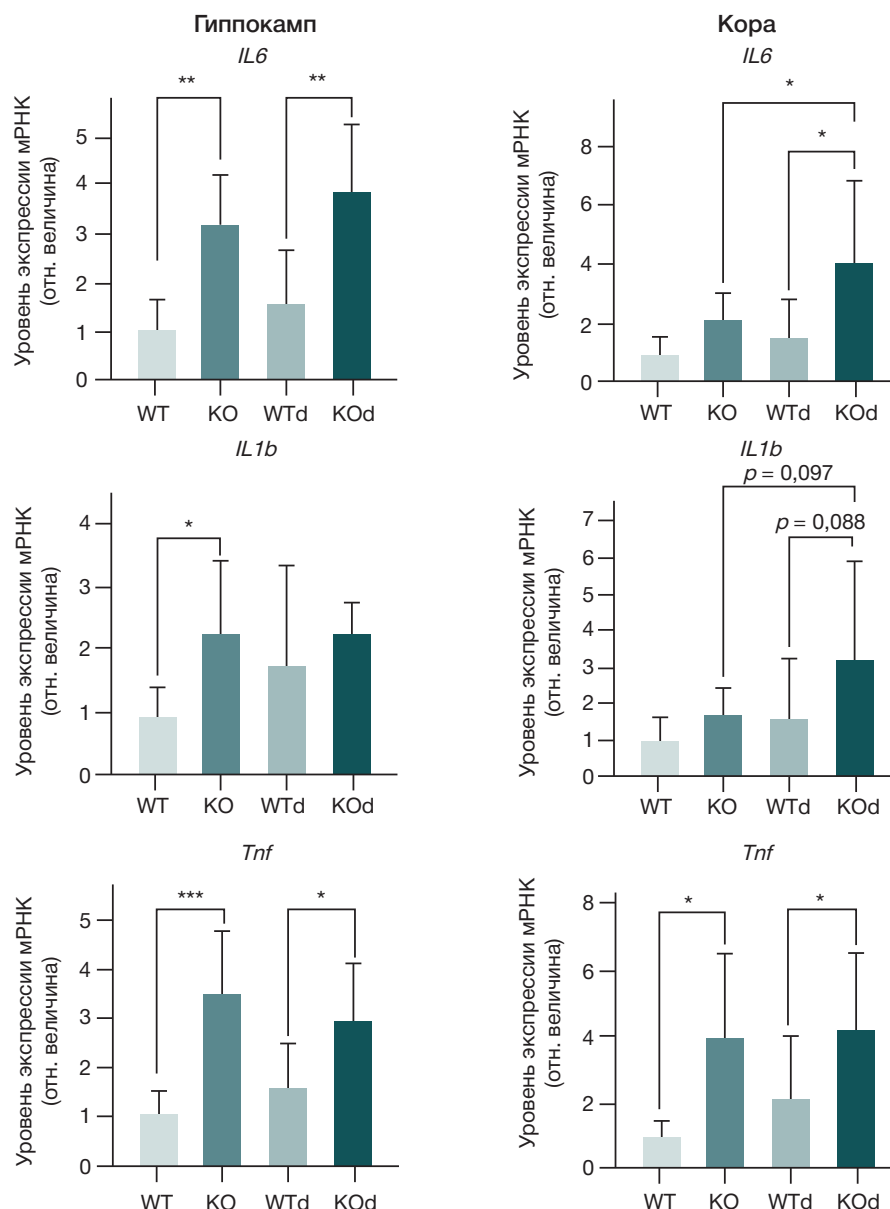


Рис. 4. Экспрессия мРНК генов *Il6*, *Il1b* и *Tnf* в гиппокампе и коре у мышей исследуемых групп. Данные представлены в виде значений, нормированных на уровень экспрессии референсного гена β -актина. WT ($n = 5-8$); WTd ($n = 5-8$); KO ($n = 5-8$); KOd ($n = 5-8$). Данные представлены в виде среднего $\pm$ стандартное отклонение. Two-way ANOVA, тест Тьюки. * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$

Влияние нокаута *Arb2* на экспрессию мРНК генов *PAR1* и *PAR4* в коре и гиппокампе на фоне диабета

Рецепторы, активируемые протеазами (PAR), играют важную роль в регуляции воспаления. Уровень экспрессии мРНК генов *Par1* и *Par4* в коре и гиппокампе был значимо повышен у мышей с нокаутом *Arb2* по сравнению с диким типом как в норме, так и на фоне диабета. Кроме того, у группы KOd было отмечено статистически значимое увеличение экспрессии мРНК *Par4* в гиппокампе по сравнению с группой KO (рис. 5).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Динамика повышения уровня глюкозы в крови у животных дикого типа на фоне введения STZ в нашем исследовании соответствовала описанной в литературе при использовании стандартного протокола [25]. Неожиданным наблюдением стало замедленное развитие гипергликемии у мышей с нокаутом гена *Arb2*, у которых тяжелая форма

диабета развивалась лишь к 32-му дню, а конечный уровень глюкозы был значимо ниже, чем у мышей дикого типа (рис. 1). Этот результат, казалось бы, противоречит известной роли β -аррестина 2 как позитивного регулятора глюкозо-зависимой секреции инсулина: в физиологических условиях данный белок участвует в активации кальмодулин-зависимой протеинкиназы II (CaMKII) в β -клетках и поддержании их нормальной функции [19, 26]. Однако в модели STZ-индуцированного диабета ключевым фактором прогрессирования гипергликемии является не столько функциональная недостаточность секреции инсулина, сколько повреждение и гибель β -клеток. STZ селективно захватывается β -клетками через низкоаффинный транспортер глюкозы GLUT2 и вызывает нитрозативный и окислительный стресс, активацию MAPK-зависимых сигнальных каскадов и повреждение ДНК [27]. Поэтому мы предполагаем, что протективный эффект нокаута *Arb2* связан не с улучшением функционального состояния β -клеток, а с повышением их устойчивости к цитотоксическому действию STZ.

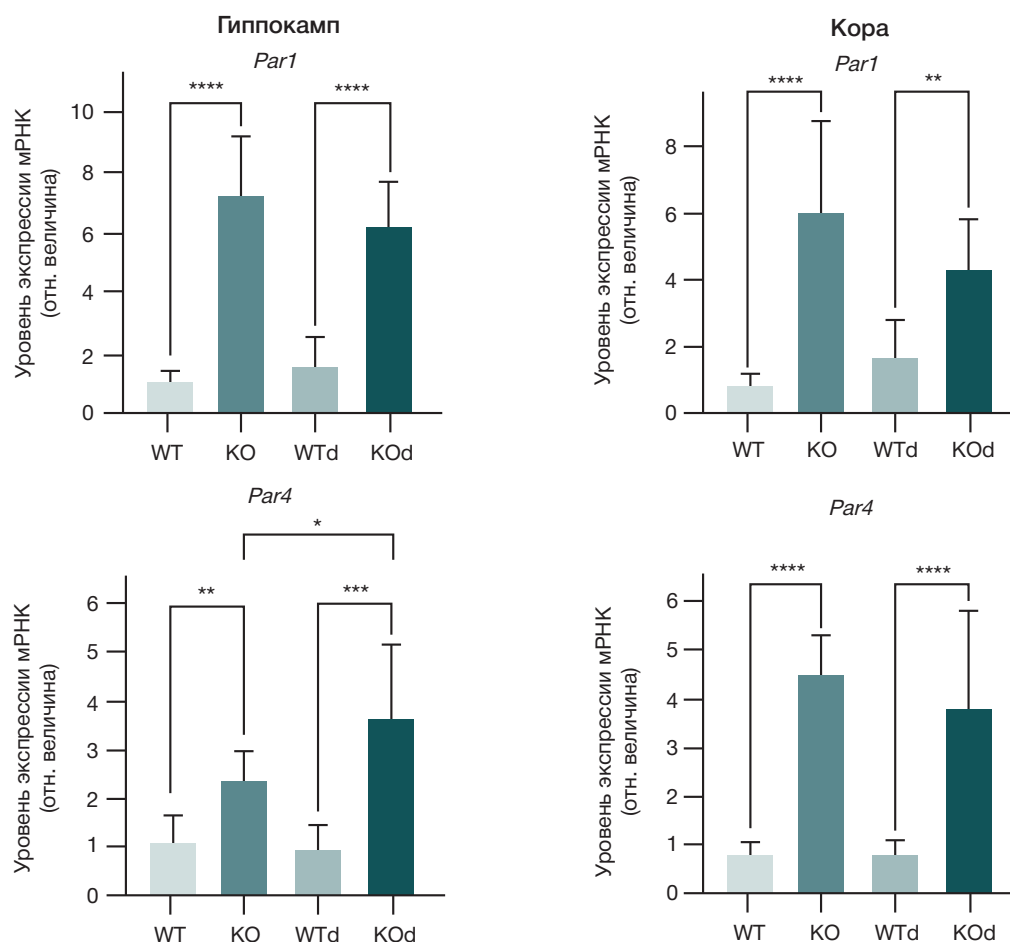


Рис. 5. Экспрессия мРНК генов *Par1* и *Par4* в гиппокампе и коре у мышей исследуемых групп. Данные представлены в виде значений, нормированных на уровень экспрессии референсного гена β -актина. WT ($n = 5-8$); WTd ($n = 5-8$); KO ($n = 5-8$); KOd ($n = 5-8$). Данные представлены в виде среднего $\pm$ стандартное отклонение. Two-way ANOVA, тест Тьюки. * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$; **** — $p < 0,0001$

Важную роль в замедленном развитии гипергликемии у нокаутных животных может играть модуляция окислительного стресса. Показано, что у *Arrb2*^{-/-} мышей развитие фиброза печени, вызванного CCl₄, сопровождалось менее выраженным воспалением и повреждением клеток, что авторы связывали со снижением уровня NADPH-оксидазы 4 (NOX4) [28]. NOX4 является одним из источников АФК в β -клетках, а ее ингибирование способствует их выживанию при диабете [29, 30]. Таким образом, отсутствие β -аррестина 2 могло снижать выраженность NOX4-зависимого окислительного повреждения, индуцированного STZ.

Другим возможным механизмом замедленного развития гипергликемии у нокаутных мышей является ослабление провоспалительной сигнализации в островках поджелудочной железы. Известно, что β -аррестин 2 образует комплекс с p38 MAPK и потенцирует ее активацию [31]. Этот сигнальный каскад также активируется под воздействием провоспалительных цитокинов и стимулирует разрушение β -клеток и развитие гипергликемии [32]. У мышей с нокаутом гена *Mkk3* (киназы MKK3, активирующей p38 MAPK) наблюдалось уменьшение цитотоксических эффектов STZ за счет снижения инфильтрации β -клеток лейкоцитами и выработки провоспалительных цитокинов [33]. Следовательно, у мышей *Arrb2*^{-/-} может быть нарушена активация каскада p38 MAPK в ответ на повреждение, что способствует сохранению функционально активных β -клеток.

Несмотря на то что в нашем исследовании у нокаутных мышей наблюдался повышенный уровень

системного воспаления в плазме крови, локальные эффекты в микроокружении островков Лангерганса могут отличаться. Возможно, снижение способности иммунных клеток к инфильтрации и активации (опосредованное механизмами p38 MAPK и NOX4) перевешивает системный провоспалительный фон. Кроме того, β -аррестин 2 участвует в хемотаксисе нейтрофилов через интернализацию рецепторов хемокинов [34], и его отсутствие могло нарушить рекрутирование иммунных клеток в островки.

Таким образом, замедленное развитие гипергликемии у мышей с *Arrb2*^{-/-} на модели STZ-диабета, вероятно, является следствием комбинации факторов: снижения окислительного стресса (через NOX4), ослабления p38 MAPK-зависимого воспаления и нарушения рекрутирования иммунных клеток к островкам. Это позволяет предположить, что β -аррестин 2 в условиях токсического стресса способствует гибели β -клеток, а его отсутствие оказывает защитное действие, несмотря на возможные нарушения в базальной секреции инсулина, описанные в физиологических условиях.

В нашем исследовании наблюдалось увеличение массы тела мышей во всех группах, что, вероятно, связано с продолжающимся ростом животных в период с 2-го по 3-й месяц жизни. Диабет статистически значимо снижал прирост массы у мышей обоих генотипов по сравнению с соответствующими контрольными группами (рис. 2), что согласуется с классическими представлениями о метаболических нарушениях при СД1. Следует отметить,

что после введения STZ в литературе описаны различные варианты динамики массы тела — от отсутствия изменений до увеличения или снижения [25].

Более выраженный прирост массы тела у нокаутных мышей следует интерпретировать с учетом исходных различий между группами — на начало эксперимента *Arrb2*^{-/-} животные имели статистически значимо меньшую массу тела по сравнению с мышами дикого типа. Кроме того, β -аррестин 2 является негативным регулятором сигнального пути $\beta 3$ -адренорецепторов ($\beta 3$ -AR) в адипоцитах, основные функции которого — стимуляция липолиза, термогенеза и усиление потребления кислорода митохондриями. Нокаут β -аррестина 2 приводит к пролонгированию $\beta 3$ -AR сигналинга и стимуляции образования бурой жировой ткани, что предположительно способствует снижению массы жировой ткани [35].

Более выраженный прирост массы тела у *Arrb2*^{-/-} мышей, вероятно, обусловлен совокупностью факторов. Во-первых, нокаутные животные исходно имели меньшую массу, что могло способствовать более высокому относительному приросту в фазе активного возрастного роста, характерной для мышей линии C57BL/6J в возрасте 5–12 недель [36, 37]. Во-вторых, развитие тяжелой гипергликемии у *Arrb2*^{-/-} животных было замедленным, что, вероятно, сопровождалось менее выраженными катаболическими эффектами диабета и способствовало лучшему сохранению массы тела. Таким образом, различия в динамике массы могут отражать не прямое влияние отсутствия β -аррестина 2 на процессы роста, а опосредованное влияние на метаболические процессы.

В нашем исследовании STZ-вызванный диабет не оказал значимого влияния на уровень нейтрофилов у мышей дикого типа (рис. 3А). Отсутствие выраженного нейтрофильного ответа у мышей WtD может быть связано с тем, что используемая модель, несмотря на развитие тяжелой гипергликемии, не сопровождается столь выраженным системным воспалительным ответом, как модели с высокожировой диетой или аутоиммунные модели СД1. Кроме того, сроки наблюдения (39 дней) могут быть недостаточными для развития хронического системного воспаления, регистрируемого по изменению лейкоцитарной формулы.

В отличие от эффекта диабета, фактор генотипа оказал существенное влияние на уровень нейтрофилов. Уже на первый день эксперимента мыши *Arrb2*^{-/-} имели значимо более высокую базальную долю нейтрофилов по сравнению с диким типом (рис. 3Б), а на фоне диабета у группы KOd наблюдалось дополнительное повышение этого показателя по сравнению с КО (рис. 3А). Полученные данные согласуются с известной ролью β -аррестина 2 как негативного регулятора системных воспалительных реакций. Показано, что β -аррестин 2 необходим для интернализации рецепторов хемокинов CXCR1 и CXCR2. У мышей *Arrb2*^{-/-} нарушение этого механизма приводит к усилению хемотаксиса нейтрофилов в очаги воспаления и повышению продукции IL8, IL6 и TNF α [38, 39]. Таким образом, отсутствие β -аррестина 2 создает провоспалительный фон, который в условиях диабета может дополнительно усиливаться.

Для понимания наших результатов важно отметить, что в литературе описаны разнонаправленные изменения нейтрофилов при диабете. При СД может повышаться продукция провоспалительных цитокинов нейтрофилами [40] и усиливаться рекрутирование лейкоцитов в очаг воспаления [41], однако в других условиях, включая ранние стадии СД1 [42] или при снижении HbA1c $\geq 1,5\%$ на

фоне терапии с помощью сахароснижающих препаратов, количество циркулирующих лейкоцитов и нейтрофилов может снижаться [43]. Эти данные подчеркивают сложность регуляции нейтрофильного звена при диабете и важность учета как модели заболевания, так и генетических факторов при интерпретации результатов.

Анализ экспрессии генов провоспалительных маркеров в тканях мозга выявил значимое повышение уровней мРНК генов *Il6*, *Il1b* и *Tnf* в коре и гиппокампе у мышей с нокаутом гена *Arrb2* как в контроле, так и на фоне диабета (рис. 4). У животных дикого типа индукция диабета не приводила к статистически значимым изменениям экспрессии мРНК исследуемых цитокинов. Полученные данные свидетельствуют о том, что ключевым фактором, определяющим провоспалительный статус в исследованных отделах мозга, является генотип, а отсутствие β -аррестина 2 создает базальный провоспалительный фон. Сходная закономерность наблюдалась и для рецепторов, активируемых протеазами (PAR). Экспрессия мРНК генов *Par1* и *Par4* была значимо повышена в коре и гиппокампе у мышей *Arrb2*^{-/-} по сравнению с диким типом как в контроле, так и на фоне диабета, с дополнительным увеличением экспрессии *Par4* в гиппокампе в группе KOd по сравнению с КО (рис. 5).

Полученные результаты согласуются с известной ролью β -аррестина 2 как негативного регулятора воспалительных реакций в ЦНС. Согласно литературным данным, β -аррестин 2 является важным негативным регулятором TLR4 (toll-подобный рецептор 4)-опосредованной продукции NLRP3 (белок семейства NOD-подобных рецепторов с пириновым доменом 3) [44]. Кроме того, β -аррестин 2 может напрямую связываться с TRAF6 и снижать фосфорилирование NF- κ B посредством ингибирования олигомеризации и убиквитинирования TRAF6 (фактор, ассоциированный с рецептором фактора некроза опухоли 6), что дополнительно ингибирует активацию пути NF- κ B [45]. β -Аррестин 2 подавляет также активацию астроцитов через G-белок независимый сигналинг дофаминовых рецепторов D2 и нарушает сборку NLRP3-инфламмосомы [46]. Показано, что у мышей *Arrb2*^{-/-} по сравнению с диким типом стимуляция LPS (липолисахариды) вызывает более выраженную гибель нейронов и активацию микроглии, сопровождающуюся повышением провоспалительных маркеров IL6, IL1 β , TNF α и Nos2 и снижением противовоспалительных маркеров Arg1, Ym-1 и Mrc1 [20].

PAR1 и PAR4 — рецепторы, сопряженные с G-белками и активируемые протеолитическим расщеплением. Тромбин является одним из основных физиологических активаторов данных рецепторов, при этом PAR1 имеет более высокую аффинность к тромбину, чем PAR4 [47]. PAR обнаружены как в нейронах, так и в глиальных клетках. В патофизиологических условиях активация PAR1 в астроцитах стимулирует выброс глутамата и выработку провоспалительных цитокинов TNF α , IL6, IL1 β и iNOS. PAR4 стимулирует секрецию TNF α , способствует активации транскрипционного фактора NF- κ B, вызывает длительное повышение внутриклеточного кальция, а также увеличивает продукцию АФК [48].

В совокупности полученные данные указывают на противовоспалительную функцию β -аррестина 2 в центральной нервной системе (ЦНС). Его отсутствие сопровождается повышением базальной экспрессии мРНК провоспалительных цитокинов и рецепторов PAR в коре и гиппокампе, что свидетельствует о формировании устойчивого провоспалительного фенотипа. На фоне

STZ-индуцированного диабета этот эффект в целом сохраняется, однако в гиппокампе нокаутных животных дополнительно увеличивается экспрессия *Par4*, что указывает на возможное вовлечение этого рецептора в ответ на диабетическую гипергликемию.

Совокупность полученных данных позволяет сформулировать единую гипотезу, объясняющую на первый взгляд противоречивые эффекты нокаута *Arrb2*. β -Аррестин 2 выступает двойственным регулятором с тканеспецифичными эффектами: в поджелудочной железе в условиях цитотоксического стресса он способствует гибели β -клеток через усиление NOX4-зависимого окислительного стресса и потенцирование p38 MAPK-сигналикации, тогда как в иммунных клетках и ЦНС выступает негативным регулятором воспалительных реакций. Отсутствие β -аррестина 2 одновременно повышает устойчивость β -клеток к STZ и снимает тормозной контроль над воспалительными каскадами, что проявляется как на системном уровне (в виде повышения доли нейтрофилов), так и локально в ЦНС (в виде усиления экспрессии мРНК провоспалительных цитокинов и рецепторов PAR). Мы предполагаем, что системный провоспалительный фон, формирующийся вследствие нарушения β -аррестина 2-зависимой интернализации хемокиновых рецепторов [39, 49], создает условия для усиленной активации глияльных клеток и повышенной экспрессии *Par1* и *Par4* в коре и гиппокампе. Таким образом, дефицит β -аррестина 2 смещает тканеспецифичный баланс его про- и противовоспалительных функций в зависимости от преобладающего патологического стимула, что определяет как протективный метаболический фенотип, так и усиленный провоспалительный статус в ЦНС.

Ограничения исследования

При интерпретации результатов следует учитывать ряд ограничений. Во-первых, использована модель

глобального нокаута гена *Arrb2*, что не позволяет разделить вклад β -аррестина 2 в отдельных типах клеток, включая β -клетки поджелудочной железы, иммунные клетки, нейроны и клетки глии. Во-вторых, предполагаемое участие NOX4-зависимого окислительного стресса, p38 MAPK-сигналикации и рекрутирования иммунных клеток не было оценено напрямую; также мы не проводили гистологический анализ поджелудочной железы с оценкой массы β -клеток, их апоптоза и инфильтрации островков Лангерганса. В-третьих, экспрессию провоспалительных цитокинов и рецепторов PAR оценивали на уровне мРНК без определения содержания соответствующих белков. Кроме того, диабетический фенотип характеризовали по уровню глюкозы крови и динамике массы тела без дополнительных метаболических тестов. Наконец, исследование выполнено только на самцах мышей, что не позволяет оценить возможные половые различия.

Выводы

В настоящей работе на модели стрептозотоцин-индуцированного диабета показано, что глобальный нокаут гена β -аррестина 2 приводит к замедлению развития гипергликемии. В то же время отсутствие β -аррестина 2 ассоциировано с повышением базального уровня системного воспаления и формированием провоспалительного фенотипа в ЦНС, характеризующегося усилением экспрессии мРНК генов *Il6*, *Il1b*, *Tnf* и рецепторов *Par1* и *Par4* в коре и гиппокампе. В условиях диабета у нокаутных животных выявлено дополнительное увеличение экспрессии *Par4* в гиппокампе, что указывает на возможную роль β -аррестина 2-PAR4-зависимых механизмов в развитии нейровоспаления при гипергликемии. Полученные данные открывают перспективы для дальнейшего изучения роли β -аррестина 2 в патогенезе диабетических осложнений.

Литература

1. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in diabetes prevalence and treatment from 1990 to 2022: a pooled analysis of 1108 population-representative studies with 141 million participants. *Lancet* (London, England). 2024; 404: 2077–93. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(24\)02317-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)02317-1).
2. Dedov II, Shestakova MV, Vikulova OK, Zheleznyakova AV, Isakov MA, Kutakova DV, et al. Epidemiology and key clinical and therapeutic indicators of diabetes mellitus in Russian Federation according to the World Health Organization's strategy goals. *Diabetes Mellit*. 2025; 28: 4–17. Available from: <https://doi.org/10.14341/DM13292>.
3. Mosenzon O, Cheng AY, Rabinstein AA, Sacco S. Diabetes and Stroke: What Are the Connections? *J Stroke*. 2023; 25: 26–38. Available from: <https://doi.org/10.5853/jos.2022.02306>.
4. Szablewski L. Associations Between Diabetes Mellitus and Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci*. 2025; 26: 542. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms26020542>.
5. Rocha KMA, Goulart A da S, Costa MT, Salgueiro ACF, Folmer V. The role of type 2 Diabetes mellitus as a risk factor for Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Res Soc Dev*. 2021; 10: e23410111673. Available from: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i1.11673>.
6. Rohm TV, Meier DT, Olefsky JM, Donath MY. Inflammation in obesity, diabetes, and related disorders. *Immunity*. 2022; 55 : 31–55. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.12.013>.
7. González P, Lozano P, Ros G, Solano F. Hyperglycemia and Oxidative Stress: An Integral, Updated and Critical Overview of Their Metabolic Interconnections. *Int J Mol Sci*. 2023; 24: 9352. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms24119352>.
8. Dong H, Zhang Y, Huang Y, Deng H. Pathophysiology of RAGE in inflammatory diseases. *Front Immunol*. 2022; 13. Available from: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.931473>.
9. Ighodaro OM. Molecular pathways associated with oxidative stress in diabetes mellitus. *Biomed Pharmacother*. 2018; 108: 656–62. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.09.058>.
10. Yarbeygi H, Atkin SL, Sahebkar A. A review of the molecular mechanisms of hyperglycemia-induced free radical generation leading to oxidative stress. *J Cell Physiol*. 2019; 234: 1300–12. Available from: <https://doi.org/10.1002/jcp.27164>.
11. Nedosugova LV, Markina YV, Bochkareva LA, Kuzina IA, Petunina NA, Yudina IY, et al. Inflammatory Mechanisms of Diabetes and Its Vascular Complications. *Biomedicine*. 2022; 10: 1168. Available from: <https://doi.org/10.3390/biomedicine10051168>.
12. Takeda Y, Matoba K, Sekiguchi K, Nagai Y, Yokota T, Utsunomiya K, et al. Endothelial Dysfunction in Diabetes. *Biomedicine*. 2020; 8: 182. Available from: <https://doi.org/10.3390/biomedicine8070182>.
13. Takata F, Nakagawa S, Matsumoto J, Dohgu S. Blood-Brain Barrier Dysfunction Amplifies the Development of Neuroinflammation: Understanding of Cellular Events in Brain Microvascular Endothelial Cells for Prevention and Treatment of BBB Dysfunction. *Front Cell Neurosci*. 2021; 15. Available from: <https://doi.org/10.3389/fncel.2021.661838>.
14. Rom S, Zuluaga-Ramirez V, Gajghate S, Seliga A, Winfield M, Heldt NA,

- et al. Hyperglycemia-Driven Neuroinflammation Compromises BBB Leading to Memory Loss in Both Diabetes Mellitus (DM) Type 1 and Type 2 Mouse Models. *Mol Neurobiol*. 2019; 56: 1883–96. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1195-5>.
15. Oliveira de Souza C, Sun X, Oh D. Metabolic Functions of G Protein-Coupled Receptors and β -Arrestin-Mediated Signaling Pathways in the Pathophysiology of Type 2 Diabetes and Obesity. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021; 12. Available from: <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.715877>.
 16. Wang H, Deng Q-W, Peng A-N, Xing F-L, Zuo L, Li S, et al. β -arrestin2 functions as a key regulator in the sympathetic-triggered immunodepression after stroke. *J Neuroinflammation*. 2018; 15: 102. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12974-018-1142-4>.
 17. Qi M, Chen T, Li L, Gao P, Li N, Zhang S, et al. Insight into the regulatory mechanism of β -arrestin2 and its emerging role in diseases. *Br J Pharmacol*. 2024; 181: 3019–38. Available from: <https://doi.org/10.1111/bph.16488>.
 18. Gu Y, Sun W, Zhang S, Wu J, Wei W. The emerging roles of β -arrestins in fibrotic diseases. *Acta Pharmacol Sin*. 2015; 36: 1277–87. Available from: <https://doi.org/10.1038/aps.2015.74>.
 19. Zhu L, Almaça J, Dadi PK, Hong H, Sakamoto W, Rossi M, et al. β -arrestin-2 is an essential regulator of pancreatic β -cell function under physiological and pathophysiological conditions. *Nat Commun*. 2017; 8: 14295. Available from: <https://doi.org/10.1038/ncomms14295>.
 20. Fang Y, Jiang Q, Li S, Zhu H, Xu R, Song N, et al. Opposing functions of β -arrestin 1 and 2 in Parkinson's disease via microglia inflammation and Nprl3. *Cell Death Differ*. 2021; 28: 1822–36. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41418-020-00704-9>.
 21. Sun J, Lin X. β -Arrestin 2 is required for lysophosphatidic acid-induced NF- κ B activation. *Proc Natl Acad Sci*. 2008; 105: 17085–90. Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.0802701105>.
 22. Kim J, Zhang L, Peppel K, Wu J-H, Zidar DA, Brian L, et al. β -Arrestins Regulate Atherosclerosis and Neointimal Hyperplasia by Controlling Smooth Muscle Cell Proliferation and Migration. *Circ Res*. 2008; 103: 70–9. Available from: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.108.172338>.
 23. Galkov MD, Ivanova AE, Gulyaev MV, Kiseleva EV, Savinkova IG, Gorbacheva LR. The Influence of β -Arrestin-2 Gene Knockout in Mice on Survival of Cultured Astrocytes Exposed to Thrombin and on the Cerebral Thrombosis Aftereffects In Vivo. *Biochem (Moscow), Suppl Ser A Membr Cell Biol*. 2020; 14: 17–23. Available from: <https://doi.org/10.1134/S1990747819060060>.
 24. Santos EW, Oliveira DC de, Hastreiter A, Silva GB da, Beltran JS de O, Tsujita M, et al. Hematological and biochemical reference values for C57BL/6, Swiss Webster and BALB/c mice. *Brazilian J Vet Res Anim Sci*. 2016; 53: 138. Available from: <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.v53i2p138-145>.
 25. Furman BL. Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats. *Curr Protoc*. 2021; 1. Available from: <https://doi.org/10.1002/cpz1.78>.
 26. Ravier MA, Leduc M, Richard J, Linck N, Varrault A, Pirot N, et al. β -Arrestin2 plays a key role in the modulation of the pancreatic beta cell mass in mice. *Diabetologia*. 2014; 57: 532–41. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00125-013-3130-7>.
 27. Goyal SN, Reddy NM, Patil KR, Nakhate KT, Ojha S, Patil CR, et al. Challenges and issues with streptozotocin-induced diabetes — A clinically relevant animal model to understand the diabetes pathogenesis and evaluate therapeutics. *Chem Biol Interact*. 2016; 244: 49–63. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.11.032>.
 28. Du J, Sun J, Li N, Li X, Sun W, Wei W. β -Arrestin2 deficiency attenuates oxidative stress in mouse hepatic fibrosis through modulation of NOX4. *Acta Pharmacol Sin*. 2021; 42: 1090–100. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41401-020-00545-9>.
 29. Elksnis A, Welsh N, Wikström P, Lau J, Carlsson P-O. The selective NOX4 inhibitor GLX7013159 decreases blood glucose concentrations and human beta-cell apoptotic rates in diabetic NMRI nu/nu mice transplanted with human islets. *Free Radic Res*. 2023; 1–10. Available from: <https://doi.org/10.1080/10715762.2023.2284637>.
 30. Elksnis A, Gen J, Wikström P, Carlsson P-O, Welsh N. Pharmacological Inhibition of NOX4 Improves Mitochondrial Function and Survival in Human Beta-Cells. *Biomedicines*. 2021; 9: 1865. Available from: <https://doi.org/10.3390/biomedicines9121865>.
 31. Pang Y, Zhu H, Xu J, Yang L, Liu L, Li J. β -arrestin-2 is involved in irisin induced glucose metabolism in type 2 diabetes via p38 MAPK signaling. *Exp Cell Res*. 2017; 360: 199–204. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2017.09.006>.
 32. Ou Y, Zheng Z, Niu B, Su J, Su H. Different MAPK signal transduction pathways play different roles in the impairment of glucose-stimulated insulin secretion in response to IL-1 β . *Mol Med Rep*. 2020. Available from: <https://doi.org/10.3892/mmr.2020.11366>.
 33. Fukuda K, Tesch GH, Yap FY, Forbes JM, Flavell RA, Davis RJ, et al. MKK3 signalling plays an essential role in leukocyte-mediated pancreatic injury in the multiple low-dose streptozotocin model. *Lab Investig*. 2008; 88: 398–407. Available from: <https://doi.org/10.1038/labinvest.2008.10>.
 34. Su Y, Raghuwanshi SK, Yu Y, Nanney LB, Richardson RM, Richmond A. Altered CXCR2 Signaling in β -Arrestin-2-Deficient Mouse Models. *J Immunol*. 2005; 175: 5396–402. Available from: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.8.5396>.
 35. Pydi SP, Barella LF, Meister J, Wess J. Key Metabolic Functions of β -Arrestins: Studies with Novel Mouse Models. *Trends Endocrinol Metab*. 2021; 32: 118–29. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tem.2020.11.008>.
 36. Gargiulo S, Gramanzini M, Megna R, Greco A, Albanese S, Manfredi C, et al. Evaluation of Growth Patterns and Body Composition in C57BL/6J Mice Using Dual Energy X-Ray Absorptiometry. *Biomed Res Int*. 2014; 2014: 1–11. Available from: <https://doi.org/10.1155/2014/253067>.
 37. Laboratory TJ. Body Weight Information for C57BL/6J. 2026. Available from: <https://www.jax.org/jax-mice-and-services/strain-data-sheet-pages/body-weight-chart-000664>.
 38. Feng M, Wang R, Deng L, Yang Y, Xia S, Liu F, et al. Arrestin beta-2 deficiency exacerbates periodontal inflammation by mediating activating transcription factor 6 activation and abnormal remodelling of the extracellular matrix. *J Clin Periodontol*. 2024; 51: 742–53. Available from: <https://doi.org/10.1111/jcpe.13952>.
 39. Sharma D, Parameswaran N. Multifaceted role of β -arrestins in inflammation and disease. *Genes Immun*. 2015; 16: 499–513. Available from: <https://doi.org/10.1038/gene.2015.37>.
 40. Hatanaka E, Monteagudo PT, Marrocos MSM, Campa A. Neutrophils and monocytes as potentially important sources of proinflammatory cytokines in diabetes. *Clin Exp Immunol*. 2006; 146: 443–7. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2006.03229.x>.
 41. Pettersson US, Christoffersson G, Massena S, Ahl D, Jansson L, Henriksnäs J, et al. Increased Recruitment but Impaired Function of Leukocytes during Inflammation in Mouse Models of Type 1 and Type 2 Diabetes. *PLoS One*. 2011; 6: e22480. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022480>.
 42. Harsunen M, Puff R, D'Orlando O, Giannopoulou E, Lachmann L, Beyerlein A, et al. Reduced Blood Leukocyte and Neutrophil Numbers in the Pathogenesis of Type 1 Diabetes. *Horm Metab Res*. 2013; 45: 467–70. Available from: <https://doi.org/10.1055/s-0032-1331226>.
 43. Fang X, Dorcely B, Ding X, Yin S, Son N-H, Hu S-L, et al. Glycemic reduction alters white blood cell counts and inflammatory gene expression in diabetes. *J Diabetes Complications*. 2018; 32: 1027–34. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2018.08.003>.
 44. Jiang M-P, Xu C, Guo Y-W, Luo Q-J, Li L, Liu H-L, et al. β -arrestin 2 attenuates lipopolysaccharide-induced liver injury via inhibition of TLR4/NF- κ B signaling pathway-mediated inflammation in mice. *World J Gastroenterol*. 2018; 24: 216–25. Available from: <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i2.216>.
 45. Wang Y, Tang Y, Teng L, Wu Y, Zhao X, Pei G. Association of β -arrestin and TRAF6 negatively regulates Toll-like receptor–interleukin 1 receptor signaling. *Nat Immunol*. 2006; 7: 139–47. Available from: <https://doi.org/10.1038/ni1294>.
 46. Zhu J, Hu Z, Han X, Wang D, Jiang Q, Ding J, et al. Dopamine D2 receptor restricts astrocytic NLRP3 inflammasome activation via enhancing the interaction of β -arrestin2 and NLRP3. *Cell Death Differ*. 2018; 25: 2037–49. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41418-018-0127-2>.
 47. Peach CJ, Edgington-Mitchell LE, Bunnett NW, Schmidt BL. Protease-activated receptors in health and disease. *Physiol Rev*. 2023; 103: 717–85. Available from: <https://doi.org/10.1152/physrev.00044.2021>.
 48. Luo W, Wang Y, Reiser G. Protease-activated receptors in the brain: Receptor expression, activation, and functions in neurodegeneration and neuroprotection. *Brain Res Rev*. 2007; 56: 331–45. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2007.08.002>.

49. Fong AM, Premont RT, Richardson RM, Yu YRA, Lefkowitz RJ, Patel DD. Defective lymphocyte chemotaxis in beta-arrestin2- and

GRK6-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002; 99: 7478–83. Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.112198299>.

References

1. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in diabetes prevalence and treatment from 1990 to 2022: a pooled analysis of 1108 population-representative studies with 141 million participants. *Lancet* (London, England). 2024; 404: 2077–93. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(24\)02317-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)02317-1).
2. Dedov II, Shestakova MV, Vikulova OK, Zheleznyakova AV, Isakov MA, Kutakova DV, et al. Epidemiology and key clinical and therapeutic indicators of diabetes mellitus in Russian Federation according to the World Health Organization's strategy goals. *Diabetes Mellit*. 2025; 28: 4–17. Available from: <https://doi.org/10.14341/DM13292>.
3. Mosenzon O, Cheng AY, Rabinstein AA, Sacco S. Diabetes and Stroke: What Are the Connections? *J Stroke*. 2023; 25: 26–38. Available from: <https://doi.org/10.5853/jos.2022.02306>.
4. Szablewski L. Associations Between Diabetes Mellitus and Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci*. 2025; 26: 542. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms26020542>.
5. Rocha KMA, Goulart A da S, Costa MT, Salgueiro ACF, Folmer V. The role of type 2 Diabetes mellitus as a risk factor for Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Res Soc Dev*. 2021; 10: e23410111673. Available from: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i1.11673>.
6. Rohm TV, Meier DT, Olefsky JM, Donath MY. Inflammation in obesity, diabetes, and related disorders. *Immunity*. 2022; 55: 31–55. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.12.013>.
7. González P, Lozano P, Ros G, Solano F. Hyperglycemia and Oxidative Stress: An Integral, Updated and Critical Overview of Their Metabolic Interconnections. *Int J Mol Sci*. 2023; 24: 9352. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms24119352>.
8. Dong H, Zhang Y, Huang Y, Deng H. Pathophysiology of RAGE in inflammatory diseases. *Front Immunol*. 2022; 13. Available from: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.931473>.
9. Ighodaro OM. Molecular pathways associated with oxidative stress in diabetes mellitus. *Biomed Pharmacother*. 2018; 108: 656–62. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.09.058>.
10. Yarbeygi H, Atkin SL, Sahebkar A. A review of the molecular mechanisms of hyperglycemia-induced free radical generation leading to oxidative stress. *J Cell Physiol*. 2019; 234: 1300–12. Available from: <https://doi.org/10.1002/jcp.27164>.
11. Nedosugova LV, Markina YV, Bochkareva LA, Kuzina IA, Petunina NA, Yudina IY, et al. Inflammatory Mechanisms of Diabetes and Its Vascular Complications. *Biomedicines*. 2022; 10: 1168. Available from: <https://doi.org/10.3390/biomedicines10051168>.
12. Takeda Y, Matoba K, Sekiguchi K, Nagai Y, Yokota T, Utsunomiya K, et al. Endothelial Dysfunction in Diabetes. *Biomedicines*. 2020; 8: 182. Available from: <https://doi.org/10.3390/biomedicines8070182>.
13. Takata F, Nakagawa S, Matsumoto J, Dohgu S. Blood-Brain Barrier Dysfunction Amplifies the Development of Neuroinflammation: Understanding of Cellular Events in Brain Microvascular Endothelial Cells for Prevention and Treatment of BBB Dysfunction. *Front Cell Neurosci*. 2021; 15. Available from: <https://doi.org/10.3389/fncel.2021.661838>.
14. Rom S, Zuluaga-Ramirez V, Gajghate S, Seliga A, Winfield M, Heldt NA, et al. Hyperglycemia-Driven Neuroinflammation Compromises BBB Leading to Memory Loss in Both Diabetes Mellitus (DM) Type 1 and Type 2 Mouse Models. *Mol Neurobiol*. 2019; 56: 1883–96. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1195-5>.
15. Oliveira de Souza C, Sun X, Oh D. Metabolic Functions of G Protein-Coupled Receptors and β -Arrestin-Mediated Signaling Pathways in the Pathophysiology of Type 2 Diabetes and Obesity. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021; 12. Available from: <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.715877>.
16. Wang H, Deng Q-W, Peng A-N, Xing F-L, Zuo L, Li S, et al. β -arrestin2 functions as a key regulator in the sympathetic-triggered immunodepression after stroke. *J Neuroinflammation*. 2018; 15: 102. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12974-018-1142-4>.
17. Qi M, Chen T, Li L, Gao P, Li N, Zhang S, et al. Insight into the regulatory mechanism of β -arrestin2 and its emerging role in diseases. *Br J Pharmacol*. 2024; 181: 3019–38. Available from: <https://doi.org/10.1111/bph.16488>.
18. Gu Y, Sun W, Zhang S, Wu J, Wei W. The emerging roles of β -arrestins in fibrotic diseases. *Acta Pharmacol Sin*. 2015; 36: 1277–87. Available from: <https://doi.org/10.1038/aps.2015.74>.
19. Zhu L, Almaça J, Dadi PK, Hong H, Sakamoto W, Rossi M, et al. β -arrestin-2 is an essential regulator of pancreatic β -cell function under physiological and pathophysiological conditions. *Nat Commun*. 2017; 8: 14295. Available from: <https://doi.org/10.1038/ncomms14295>.
20. Fang Y, Jiang Q, Li S, Zhu H, Xu R, Song N, et al. Opposing functions of β -arrestin 1 and 2 in Parkinson's disease via microglia inflammation and Nprl3. *Cell Death Differ*. 2021; 28: 1822–36. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41418-020-00704-9>.
21. Sun J, Lin X. β -Arrestin 2 is required for lysophosphatidic acid-induced NF- κ B activation. *Proc Natl Acad Sci*. 2008; 105: 17085–90. Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.0802701105>.
22. Kim J, Zhang L, Peppel K, Wu J-H, Zidar DA, Brian L, et al. β -Arrestins Regulate Atherosclerosis and Neointimal Hyperplasia by Controlling Smooth Muscle Cell Proliferation and Migration. *Circ Res*. 2008; 103: 70–9. Available from: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.108.172338>.
23. Galkov MD, Ivanova AE, Gulyaev MV, Kiseleva EV, Savinkova IG, Gorbacheva LR. The Influence of β -Arrestin-2 Gene Knockout in Mice on Survival of Cultured Astrocytes Exposed to Thrombin and on the Cerebral Thrombosis Aftereffects In Vivo. *Biochem (Moscow), Suppl Ser A Membr Cell Biol*. 2020; 14: 17–23. Available from: <https://doi.org/10.1134/S1990747819060060>.
24. Santos EV, Oliveira DC de, Hastreiter A, Silva GB da, Beltran JS de O, Tsujita M, et al. Hematological and biochemical reference values for C57BL/6, Swiss Webster and BALB/c mice. *Brazilian J Vet Res Anim Sci*. 2016; 53: 138. Available from: <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.v53i2p138-145>.
25. Furman BL. Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats. *Curr Protoc*. 2021; 1. Available from: <https://doi.org/10.1002/cpz1.78>.
26. Ravier MA, Leduc M, Richard J, Linck N, Varrault A, Pirot N, et al. β -Arrestin2 plays a key role in the modulation of the pancreatic beta cell mass in mice. *Diabetologia*. 2014; 57: 532–41. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00125-013-3130-7>.
27. Goyal SN, Reddy NM, Patil KR, Nakhate KT, Ojha S, Patil CR, et al. Challenges and issues with streptozotocin-induced diabetes — A clinically relevant animal model to understand the diabetes pathogenesis and evaluate therapeutics. *Chem Biol Interact*. 2016; 244: 49–63. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.11.032>.
28. Du J, Sun J, Li N, Li X, Sun W, Wei W. β -Arrestin2 deficiency attenuates oxidative stress in mouse hepatic fibrosis through modulation of NOX4. *Acta Pharmacol Sin*. 2021; 42: 1090–100. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41401-020-00545-9>.
29. Elksnis A, Welsh N, Wikström P, Lau J, Carlsson P-O. The selective NOX4 inhibitor GLX7013159 decreases blood glucose concentrations and human beta-cell apoptotic rates in diabetic NMRI nu/nu mice transplanted with human islets. *Free Radic Res*. 2023; 1–10. Available from: <https://doi.org/10.1080/10715762.2023.2284637>.
30. Elksnis A, Cen J, Wikström P, Carlsson P-O, Welsh N. Pharmacological Inhibition of NOX4 Improves Mitochondrial Function and Survival in Human Beta-Cells. *Biomedicines*. 2021; 9: 1865. Available from: <https://doi.org/10.3390/biomedicines9121865>.
31. Pang Y, Zhu H, Xu J, Yang L, Liu L, Li J. β -arrestin-2 is involved in irisin induced glucose metabolism in type 2 diabetes via p38 MAPK signaling. *Exp Cell Res*. 2017; 360: 199–204. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2017.09.006>.
32. Ou Y, Zheng Z, Niu B, Su J, Su H. Different MAPK signal transduction pathways play different roles in the impairment of glucose-stimulated insulin secretion in response to IL-1 β . *Mol Med Rep*. 2020. Available from: <https://doi.org/10.3892/mmr.2020.11366>.
33. Fukuda K, Tesch GH, Yap FY, Forbes JM, Flavell RA, Davis RJ,

- et al. MKK3 signalling plays an essential role in leukocyte-mediated pancreatic injury in the multiple low-dose streptozotocin model. *Lab Invest*. 2008; 88: 398–407. Available from: <https://doi.org/10.1038/labinvest.2008.10>.
34. Su Y, Raghuwanshi SK, Yu Y, Nanney LB, Richardson RM, Richmond A. Altered CXCR2 Signaling in β -Arrestin-2-Deficient Mouse Models. *J Immunol*. 2005; 175: 5396–402. Available from: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.8.5396>.
 35. Pydi SP, Barella LF, Meister J, Wess J. Key Metabolic Functions of β -Arrestins: Studies with Novel Mouse Models. *Trends Endocrinol Metab*. 2021; 32: 118–29. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tem.2020.11.008>.
 36. Gargiulo S, Gramanzini M, Megna R, Greco A, Albanese S, Manfredi C, et al. Evaluation of Growth Patterns and Body Composition in C57Bl/6J Mice Using Dual Energy X-Ray Absorptiometry. *Biomed Res Int*. 2014; 2014: 1–11. Available from: <https://doi.org/10.1155/2014/253067>.
 37. Laboratory TJ. Body Weight Information for C57BL/6J. 2026. Available from: <https://www.jax.org/jax-mice-and-services/strain-data-sheet-pages/body-weight-chart-000664>.
 38. Feng M, Wang R, Deng L, Yang Y, Xia S, Liu F, et al. Arrestin beta-2 deficiency exacerbates periodontal inflammation by mediating activating transcription factor 6 activation and abnormal remodelling of the extracellular matrix. *J Clin Periodontol*. 2024; 51: 742–53. Available from: <https://doi.org/10.1111/jcpe.13952>.
 39. Sharma D, Parameswaran N. Multifaceted role of β -arrestins in inflammation and disease. *Genes Immun*. 2015; 16: 499–513. Available from: <https://doi.org/10.1038/gene.2015.37>.
 40. Hatanaka E, Monteagudo PT, Marrocos MSM, Campa A. Neutrophils and monocytes as potentially important sources of proinflammatory cytokines in diabetes. *Clin Exp Immunol*. 2006; 146: 443–7. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2006.03229.x>.
 41. Pettersson US, Christoffersson G, Massena S, Ahl D, Jansson L, Henriksnäs J, et al. Increased Recruitment but Impaired Function of Leukocytes during Inflammation in Mouse Models of Type 1 and Type 2 Diabetes. *PLoS One*. 2011; 6: e22480. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022480>.
 42. Harsunen M, Puff R, D'Orlando O, Giannopoulou E, Lachmann L, Beyerlein A, et al. Reduced Blood Leukocyte and Neutrophil Numbers in the Pathogenesis of Type 1 Diabetes. *Horm Metab Res*. 2013; 45: 467–70. Available from: <https://doi.org/10.1055/s-0032-1331226>.
 43. Fang X, Dorcely B, Ding X, Yin S, Son N-H, Hu S-L, et al. Glycemic reduction alters white blood cell counts and inflammatory gene expression in diabetes. *J Diabetes Complications*. 2018; 32: 1027–34. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2018.08.003>.
 44. Jiang M-P, Xu C, Guo Y-W, Luo Q-J, Li L, Liu H-L, et al. β -arrestin 2 attenuates lipopolysaccharide-induced liver injury via inhibition of TLR4/NF- κ B signaling pathway-mediated inflammation in mice. *World J Gastroenterol*. 2018; 24: 216–25. Available from: <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i2.216>.
 45. Wang Y, Tang Y, Teng L, Wu Y, Zhao X, Pei G. Association of β -arrestin and TRAF6 negatively regulates Toll-like receptor–interleukin 1 receptor signaling. *Nat Immunol*. 2006; 7: 139–47. Available from: <https://doi.org/10.1038/ni1294>.
 46. Zhu J, Hu Z, Han X, Wang D, Jiang Q, Ding J, et al. Dopamine D2 receptor restricts astrocytic NLRP3 inflammasome activation via enhancing the interaction of β -arrestin2 and NLRP3. *Cell Death Differ*. 2018; 25: 2037–49. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41418-018-0127-2>.
 47. Peach CJ, Edgington-Mitchell LE, Bunnett NW, Schmidt BL. Protease-activated receptors in health and disease. *Physiol Rev*. 2023; 103: 717–85. Available from: <https://doi.org/10.1152/physrev.00044.2021>.
 48. Luo W, Wang Y, Reiser G. Protease-activated receptors in the brain: Receptor expression, activation, and functions in neurodegeneration and neuroprotection. *Brain Res Rev*. 2007; 56: 331–45. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2007.08.002>.
 49. Fong AM, Premont RT, Richardson RM, Yu YRA, Lefkowitz RJ, Patel DD. Defective lymphocyte chemotaxis in beta-arrestin2- and GRK6-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002; 99: 7478–83. Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.112198299>.