

Лазерная доплеровская флуометрия в оценке функции микроциркулярного русла кожи у белых беспородных крыс на фоне диет-индуцированного ожирения

© Э.Б. Попыхова, Т.Е. Пылаев

Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского,
Саратов, Россия

e-mail: PopyhovaEB@mail.ru

Поступила в редакцию 14.11.2024 г.

В окончательной редакции 13.12.2024 г.

Принята к публикации 07.04.2025 г.

С помощью метода лазерной доплеровской флуометрии изучено состояние микроциркуляторного русла кожи дистальной части задней конечности белых беспородных крыс на фоне алиментарного ожирения, вызванного „диетой кафетерия“. Показано, что алиментарное ожирение способствует снижению показателя перфузии, а также вызывает развитие субклинического метаболического воспаления и дислипидемии, которые являются патогенетической основой эндотелиальной дисфункции и атеросклероза, повышающих риск сердечно-сосудистых заболеваний.

Ключевые слова: алиментарное ожирение, микроциркуляция, лазерная доплеровская флуометрия, воспаление, ангиогенез.

DOI: 10.61011/OS.2025.05.60786.19-25

Введение

Ожирение — широко распространенное многофакторное заболевание [1], патогенетической основой которого как у людей, так и у животных является генетическая предрасположенность [2], а также избыточное питание и гиподинамия [3]. В связи с существенным вкладом в развитие ожирения алиментарных факторов экспериментальные животные модели (грызуны, мини-свиньи и т.д.) позволяют достаточно точно моделировать картину болезни [4]. Учитывая этиологию алиментарного ожирения, его модели, вызванные диетой, наиболее близки к человеку.

В настоящее время доказано, что регулярная избыточная пищевая (липидная) нагрузка приводит к метаболической воспалительной реакции и микрососудистой дисфункции [5], вызывающей развитие эндотелиальной дисфункции (ЭД), лежащей в основе развития сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) [6]. Влияние ожирения на живой организм можно оценить с помощью антропометрических показателей [4], методов функциональной диагностики (например, лазерной доплеровской флуометрии, ЛДФ) [7] и биохимических показателей [8,9]. ЭД характеризуется функциональными изменениями сосудистой стенки, которые можно диагностировать с помощью неинвазивного метода ЛДФ, исследуя функцию эндотелия микроциркуляторного (МЦ) русла кожи [5,7].

В настоящее время исследователи проявляют повышенный интерес к изучению патогенетических механизмов, лежащих в основе дисфункции сосудов МЦ русла на фоне алиментарного ожирения. Несмотря на то, что известно влияние метаболического здоровья на

МЦ кровотока, вопрос о взаимосвязи и взаимообусловленности алиментарного ожирения и микрососудистой дисфункции остается открытым.

Цель настоящей работы — с помощью метода ЛДФ оценить влияние алиментарного ожирения и субклинического метаболического воспаления на функцию микроциркуляторного русла кожи дистального отдела задней конечности белых беспородных крыс.

Материалы и методы

Эксперименты на животных выполнены в соответствии с этическими стандартами, изложенными в „Хельсинкская декларация по медицинской этике“ (1964 г.) и „International guiding principles for biomedical Research involving animals“ (2012), а также рекомендациям этического комитета ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава РФ (протокол № 7 от 01.12.2022 г.). Животные содержались в стандартных условиях вивария, имели доступ к воде и пище *ad libitum* и на момент начала исследования были клинически здоровы.

Исследование было проведено на 20 белых беспородных крысах (самках) с массой 225 ± 25 г, которые были случайным образом разделены по 10 особей в каждой группе на следующие группы: 1) контрольная (интактные животные), 2) опытная группа — животные с алиментарным ожирением. Развитие ожирения у животных вызывали с помощью „диеты кафетерия“ [4,10].

Развитие ожирения у животных определяли по прибавке массы тела и индексу Ли, рассчитываемому по

формуле [4]

$$1000 \times (3 \times (\text{масса тела (g)})/(\text{длина от кончика носа до ануса (cm)})^{1/2},$$

который является показателем ожирения у грызунов. Нарушение липидного обмена фиксировали путем определения в сыворотке крови уровня общего холестерина (ХС), триглицеридов (ТГ), липопротеинов высокой (ЛПВП) и низкой плотности (ЛПНП) с помощью наборов реагентов фирмы Ольвекс (Россия) на биохимическом анализаторе ClimaMC-15 (Россия), а также рассчитывали коэффициент атерогенности (КА) по формуле

$$\text{КА} = (\text{ХС} - \text{ХС-ЛПВП})/(\text{ХС-ЛПВП}).$$

Субклиническое метаболическое воспаление оценивали по содержанию в сыворотке крови высокочувствительного С-реактивного белка (hs-СРБ), моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 (MCP-1). Ангиогенез оценивали по сывороточной концентрации фактора роста эндотелия сосудов (VEGF).

МЦ изучали методом ЛДФ на анализаторе ЛАККОП („Лазма“, Россия). За 10 min до манипуляций животных наркотизировали внутримышечным введением Телазола (Zoetis Inc, Испания) из расчета 0.1 ml/kg и Ксиланита (ООО „Нита-Фарм“, Россия) в дозе 1 mg/kg массы животного. Регистрация ЛДФ-грамм осуществлялась путем фиксации световодного зонда на коже тыльной поверхности стопы (дистальной части задней конечности) животного. Продолжительность записи сигнала составляла 8 min. ЛДФ-граммы регистрировались через 6 месяцев после содержания животных на рационе „диета кафетерия“. В качестве контроля использовали 10 ЛДФ-грамм интактных животных. Показатель перфузии определяли в перфузионных единицах (М, PU), а его среднее квадратичное отклонение рассчитывали с использованием программы ЛДФ 3.0.2.395. С помощью вейвлет-анализа определяли амплитуды (А) эндотелиальных (0.01–0.076 Hz), нейрогенных (0.076–0.2 Hz), миогенных (0.2–0.74 Hz), дыхательных (0.74–2.0 Hz) и сердечных (2.0–5.0 Hz) колебаний, нормированных на среднее квадратичное отклонение.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью программы „Statistica 10“ (StatSoft, США).

Результаты и обсуждение

Содержание животных на „диете кафетерия“ в течение 6 месяцев вызвало развитие алиментарного ожирения, о чем свидетельствовало увеличение массы тела в 1.5 раза и индекса Ли на 33% (рис. 1). Таким образом, результаты нашего исследования согласуются с литературными данными об использовании „диеты кафетерия“ для индукции алиментарного ожирения у животных [4].

Таблица 1. Изменение показателя перфузии и нормированных амплитуд у животных с алиментарным ожирением

Показатель	Интактный контроль	Экспериментальная группа (ожирение)
М (PU)	12.7 [12.0; 13.0]	10.1 [9.5; 10.5] $p_1 = 0.00014$
А/ЗСКО эндотелиальные	17.7 [14.0; 20.0]	7.37 [6.87; 11.35] $p_1 = 0.002$
А/ЗСКО нервные	11.2 [10.3; 14.3]	10.32 [9.18; 11.35] $p_1 = 0.043$
А/ЗСКО мышечные	10.3 [9.9; 10.5]	10.66 [8.07; 12.22] $p_1 = 0.908$
А/ЗСКО дыхательные	8.8 [7.7; 11.5]	6.33 [4.61; 8.24] $p_1 = 0.163$
А/ЗСКО сердечные	6.6 [5.5; 9.3]	5.13 [4.27; 6.81] $p_1 = 0.373$

В каждом случае указана медиана и интерквартильный размах, отмечены достоверные отличия ($p < 0.05$): p_1 — различия достоверны относительно контроля.

Таблица 2. Показатели липидного и углеводного обмена у исследуемых животных

Группа Показатель	Интактный контроль	Экспериментальная группа (ожирение)
ХС, mmol/l	1.91 [1.89; 2.44]	282* [2.69; 3.00] $p_1 \leq 0.01$
ТГ, mmol/l	0.73 [0.53; 0.81]	1.55* [1.39; 1.63] $p_1 \leq 0.003$
ЛПНП, mmol/l	0.22 [0.19; 0.28]	0.49* [0.40; 0.56] $p_1 \leq 0.004$
ЛПВП, mmol/l	0.43 [0.37; 0.46]	0.64* [0.58; 0.68] $p_1 \leq 0.003$
КА, arb. units	2.45 [1.69; 3.93]	3.54* [3.01; 4.11] $p_1 \leq 0.005$

В каждом случае приведены медиана и интерквартильный размах; отмечены достоверные отличия ($p < 0.05$): p_1 — различия достоверны относительно контроля; звездочка — по сравнению с контролем.

Нами было отмечено снижение тканевого кровотока у животных экспериментальной группы, о чем сви-

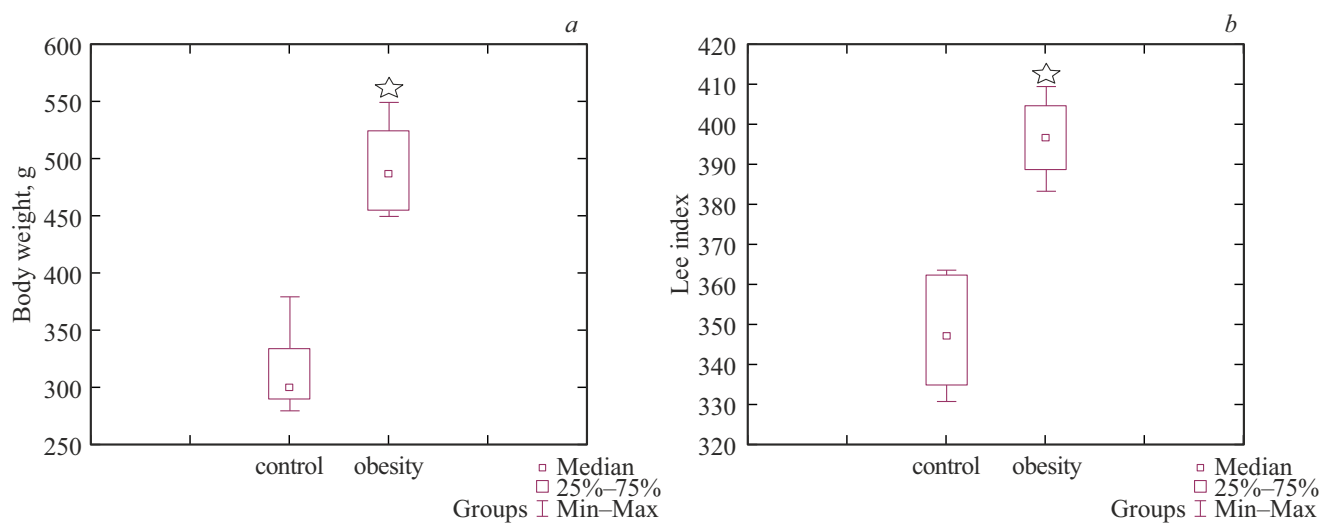


Рис. 1. Изменение массы тела (a) и индекса Ли (b) у животных с алиментарным ожирением, вызванным „диетой кафетерия“. Отмечены достоверные отличия ($p < 0.05$): звездочка — по сравнению с контролем.

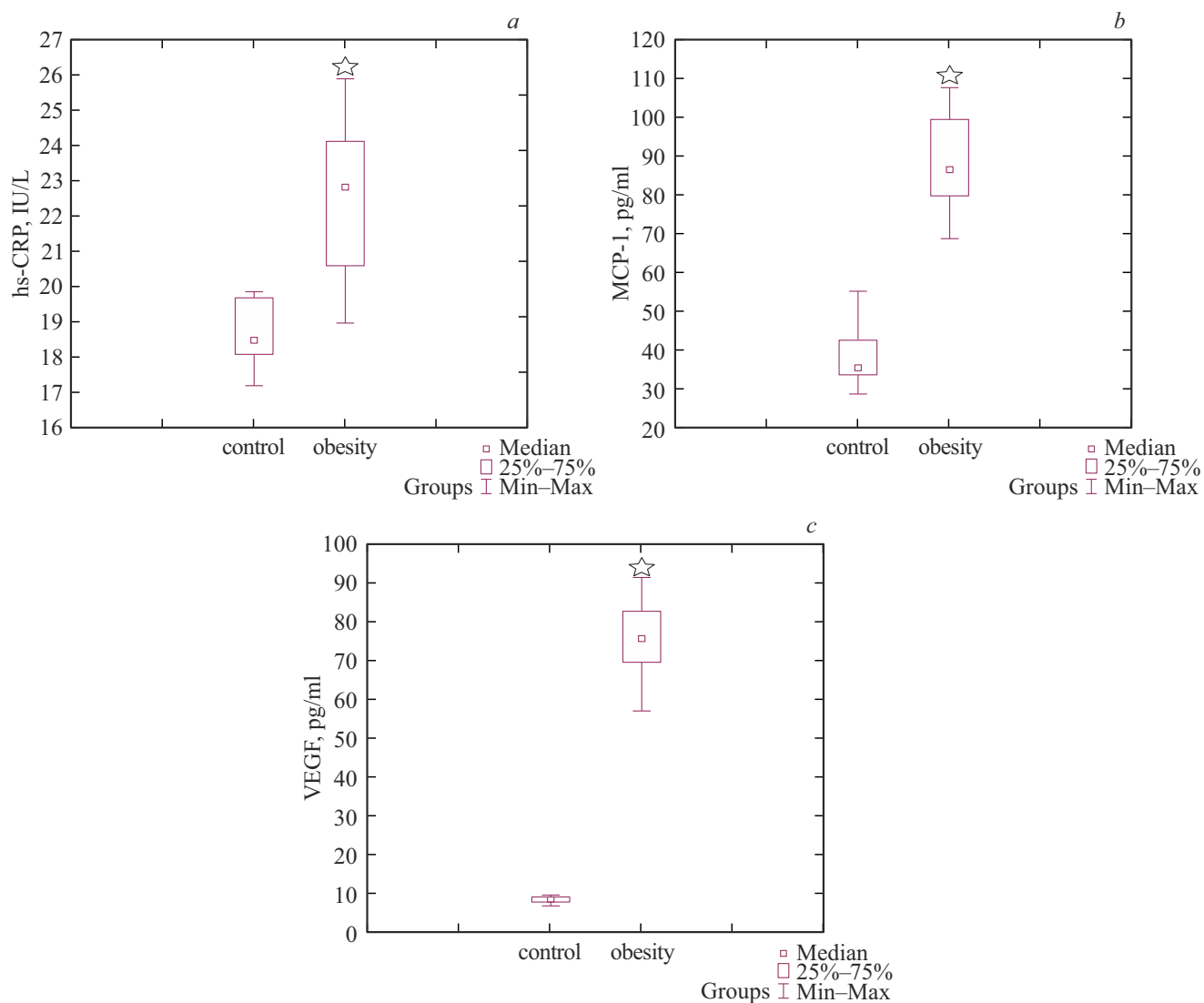


Рис. 2. Изменение hs-СРБ (a), MCP-1 (b) и VEGF (c) у животных с алиментарным ожирением, вызванным „диетой кафетерия“. Отмечены достоверные отличия ($p < 0.05$): звездочка — по сравнению с контролем.

детельствовало статистически значимое снижение М по сравнению с контролем (табл. 1). Вейвлет-анализ ЛДФ-грамм выявил снижение нормированных амплитуд эндотелиальных и нейрогенных колебаний у животных экспериментальной группы. Амплитудные значения мио-генных, дыхательных и сердечных колебаний статистически значимо не изменились (табл. 1).

Было показано, что высококалорийный рацион у животных способствовал увеличению уровня ХС и ТГ в 1.5 и 2 раза соответственно относительно контроля (табл. 2), что свидетельствовало о нарушении липидного обмена и развитии дислипидемии на фоне применения рациона „диета кафетерия“. Кроме того, увеличение КА (табл. 2) у животных экспериментальной группы в 1.4 раза относительно такового у животных интактного контроля демонстрировало высокий риск атеросклероза и ССЗ.

Нами было отмечено статистически значимое увеличение содержания hs-СРБ, MCP-1 и VEGF в сыворотке крови у животных опытной группы на фоне „диеты кафетерия“ (рис. 2).

Воспаление — это комплексный процесс, возникающий при альтерации или действии патогена и направленный на устранение вызывающих его факторов, а также приводящий к максимальному восстановлению в зоне повреждения. Оно является результатом дисбаланса между про- и противовоспалительными факторами [11]. При ожирении возникает устойчивый дисбаланс между про- и противовоспалительными факторами, приводящий к развитию хронического воспаления [12], которое, в свою очередь, рассматривают в качестве начальной стадии сосудистой дисфункции, прогрессирующей до сосудистых заболеваний, связанных с ожирением [6]. Сверхэкспрессия провоспалительных цитокинов с последующим снижением противовоспалительных маркеров при ожирении считается связующим звеном между воспалением, вызванным ожирением, и ЭД [8]. Инфильтрация ЖТ макрофагами является основным фактором воспаления, связанного с ЭД [8,9]. При ожирении белок MCP-1, продуцируемый макрофагами, способствует активации провоспалительных моноцитов, облегчает их миграцию в субэндотелий, где они, взаимодействуя с окисленной формой ЛПНП, образуют пенистые клетки, участвующие в формировании атеросклеротической бляшки [13].

При ожирении происходит быстрое увеличение массы ЖТ, что влияет на ее васкуляризацию [14]. Отсутствие кровеносных сосудов вызывает состояние гипоксии, что также способствует воспалению. Гипоксия индуцирует усиление экспрессии VEGF (рис. 2) и запускает каскад биохимических реакций, в результате которых повышается активность ферментов металлопротеаз [8,14], нарушающих целостность эндотелия и способствующих развитию ЭД с последующим образованием атеросклеротических бляшек.

Заключение

Алиментарное ожирение у белых беспородных крыс приводит к нарушению МЦ, которое может быть оценено с помощью неинвазивного метода ЛДФ. Возможными патогенетическими механизмами МЦ дисфункции являются нарушение липидного обмена, проявляющееся гиперхолестеринемией, гипертриглицеридемией, высоким КА, хроническим метаболическим воспалением и гипоксией, о чем свидетельствует повышенный уровень hs-СРБ, MCP-1 и VEGF.

Финансирование работы

Работа выполнена при финансовой поддержке Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского в рамках научного проекта № SSMU-2022-003.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- [1] В.И. Симаненков, С.В. Тихонов, И.Г. Ильяшевич. Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, **9** (1), 21(2017) [V.I. Simanenkova, S.V. Tihonov, I.G. Il'jashevich. Herald of the Northwestern State Medical University named after I.I. Mechnikov, **9** (1), 21(2017)].
- [2] T. Huang, F.B. Hu. BMC Med Genomics, **8** (1): S2 (2015). DOI: 10.1186/1755-8794-8-S1-S2
- [3] А.О. Разина, Е.Е. Ачкасов, С.Д. Руненко. Ожирение и метаболизм, **13** (1), 3-8(2016). DOI: 10.14341/OMET201613-8 [A.O. Razina, E.E. Achkasov, S.D. Runenko. Obesity and Metabolism, **13** (1), 3–8 (2016). DOI: 10.14341/OMET201613-8].
- [4] В.К. Байрашева, И.Ю. Пчелин, А.Э. Егорова, О.Н. Василькова, О.В. Корнюшин. Juvenis Scientia, **9** (10), 8 (2019). DOI: 10.32415/jscientia.2019.09-10.02 [V.K. Bayrasheva, I.Y. Pchelin, A.E. Egorova, V.N. Vasilkova, O.V. Korniyushin. Juvenis Scientia, **9** (10), 8 (2019). DOI: 10.32415/jscientia.2019.09-10.02].
- [5] А.И. Королев, А.А. Федорович, А.Ю. Горшков, М.А. Михайлова, В.А. Дадаева, Д.К. Васильев, Д.У. Акашева, О.М. Драпкина. Профилактическая медицина, **23** (5), 144–151 (2020). DOI: 10.17116/profmed202023051144 [A.I. Korolev, A.A. Fedorovich, A.YU. Gorshkov, M.A. Mihajlova, V.A. Dadaeva, D.K. Vasil'ev, D.U. Akasheva, O.M. Drapkina. Rus. J. Preventive Medicine, **23** (5), 144–151 (2020). DOI: 10.17116/profmed202023051144].
- [6] C. Koliaki, S. Liatis, A. Kokkinos. Metab. Clin. Exp., **92**, 98–107 (2019).
- [7] Э.Б. Попыхова, Т.Е. Пылаев, А.А. Абрамов, Ю.Ю. Васильев, Л.И. Высоцкий, А.В. Назарова, Э.К. Погосян. Опт. и спектр., **131** (6), 850–854 (2023). DOI: 10.21883/OS.2023.06.55920.120-23 [E.B. Popyhova, T.E. Pylaev, A.A. Abramov, YU.YU. Vasil'ev, L.I. Vysockij,

- A.V. Nazarova, E.K. Pogosyan. *Opt. Spectrosc.*, **131** (6), 850–854 (2023). DOI: 10.21883/OS.2023.06.55920.120-23].
- [8] I.K. Kwaifa, H. Bahari, Y.K. Yong, S.M. Noor. *Endothelial Biomolecules*, **10** (2), 291 (2020). DOI: 10.3390/biom10020291
- [9] Ю.Ю. Васильев. В сб.: *Человек и его здоровье*, под ред. А.М. Сараны (Сциентиа, Санкт-Петербург, 2024), т. XXVII, с. 569–570.
- [10] Э.Б. Попыхова, А.М. Напшева, Т.Е. Пылаев. В сб.: *Университетская наука: взгляд в будущее*, под ред. В.А. Липатова (изд. КГМУ, Курск, 2024), с. 676–677.
- [11] Т.Е. Пылаев, И.В. Смышляева, Э.Б. Попыхова. *Сахарный диабет*, **25** (4), 395 (2022). DOI: 10.14341/DM128726 [T.E. Pylaev, I.V. Smyshlyaeva, E.B. Popyhova. *Diabetes Mellitus*, **25** (4), 395 (2022). DOI:10.14341/DM12872].
- [12] Э.Б. Попыхова, Л.К. Василевич. В сб.: *Университетская наука: взгляд в будущее*, под ред. В.А. Липатова (изд. КГМУ, Курск, 2024), с. 673–674.
- [13] О.Г. Гилева, Е.Г. Бутолин, М.В. Терещенко, В.Г. Иванов. *Ожирение и метаболизм*. **19** (1), 47–52 (2022). DOI: 10.14341/omet12712 [O.G. Gileva, E.G. Butolin, M.V. Tereshchenko, V.G. Ivanov. *Obesity and Metabolism*, **19** (1), 47–52 (2022). DOI: 10.14341/omet12712].
- [14] Т.Е. Пылаев, И.В. Смышляева, В.М. Головченко, А.М. Абрамов, Ю.Ю. Васильев, Л.И. Высоцкий, А.В. Назарова, Э.К. Погосян, А.А. Дейханов, Э.Б. Попыхова. *Саратовский научно-медицинский журнал*, **18** (4), 618–625 (2022) [T.E. Pylaev, I.V. Smyshlyaeva, V.M. Golovchenko, A.M. Abramov, Yu.Yu. Vasil'ev, L.I. Vysockij, A.V. Nazarova, E.K. Pogosyan, A.A. Dejhanov, E.B. Popyhova. *Saratov J. Medical Scientific Research*, **18** (4), 618–625 (2022)].