

Метод лазерной доплеровской флоуметрии в оценке влияния лираглутида на микроциркуляцию у крыс с диет-индуцированным ожирением

© Э.Б. Попыхова, Т.Е. Пылаев, А.А. Абрамов, Ю.Ю. Васильев, Л.И. Высоцкий, А.В. Назарова, Э.К. Погосян

Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского,
410009 Саратов, Россия

e-mail: PopyhovaEB@mail.ru

Поступила в редакцию 13.01.2023 г.

В окончательной редакции 27.01.2023 г.

Принята к публикации 08.02.2023 г.

Методом лазерной доплеровской флоуметрии изучено состояние микроциркуляторного русла у крыс с ожирением, вызванным диетой кафетерия, на фоне терапии препаратом „Лираглутид“. Показано, что ожирение вызывает снижение показателя перфузии и нормированных амплитуд эндотелиальных и нейрогенных колебаний на коже тыла стопы экспериментальных животных. Терапия лираглутидом способствовала снижению избыточной массы тела и индекса Ли, результатом чего стало восстановление нарушенной микроциркуляции кожи тыла стопы крыс, а также нормализация функциональной активности органов-мишеней.

Ключевые слова: лазерная доплеровская флоуметрия, микроциркуляция, диета кафетерия, ожирение, лираглутид.

DOI: 10.21883/OS.2023.06.55920.120-23

Введение

Ожирение является хроническим заболеванием, распространенность которого растет во всем мире. Способствуют его распространению такие факторы, как нерегулируемая диета, диета с большим содержанием жиров и гиподинамия [1]. Ожирение характеризуется чрезмерным накоплением жировой ткани (ЖТ) в организме из-за дисбаланса между потреблением калорий и их расходом. Адипокины и цитокины, продуцируемые ЖТ, обладают про- и противовоспалительной активностью и, попадая через системный кровоток в органы-мишени (печень, сердце, почки), вызывают накопление в них избыточного жира, что способствует изменению их функций [2,3].

В клинической практике для лечения ожирения используется препарат „Лираглутид“. Это аналог глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1, GLP-1), который способен ингибировать перистальтику желудка и снижать скорость его опорожнения [4], вследствие чего происходит уменьшение потребления пищи и снижение массы тела. Также показано положительное влияние лираглутида на микроциркуляцию (МЦ) при экспериментальном сахарном диабете [5]. Доказано, что ожирение способствует возникновению и развитию сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), поэтому исследователи уделяют повышенное внимание изучению причинно-следственных связей между ожирением и нарушением функции МЦ сосудов. Установлено, что чрезмерная пищевая нагрузка приводит к воспалительной реакции в сосудистой стенке [6], в результате чего наблюдается развитие микрососудистой дисфункции [7]. Современные неинвазивные оптические

методы, одним из которых является метод лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), открывают возможности ранней диагностики нарушений МЦ, вызванных, в частности, ожирением. Так как они позволяют выявить наиболее информативные параметры как в клинике, так и на экспериментальных моделях

В связи с этим целью настоящего исследования было изучить с помощью метода ЛДФ состояние микроциркуляторного русла у крыс с алиментарным ожирением, вызванным диетой кафетерия на фоне терапии лираглутидом, а также влияние терапии на функцию органов-мишеней (печень, сердце, почки).

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 года). 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 30 белых беспородных крысах самках с массой 225 ± 25 g, которые были случайным образом разделены по 10 особей в каждой группе на следующие группы: 1) контрольная (интактные животные), 2) группа сравнения — животные с алиментарным ожирением, 3) опытная группа —

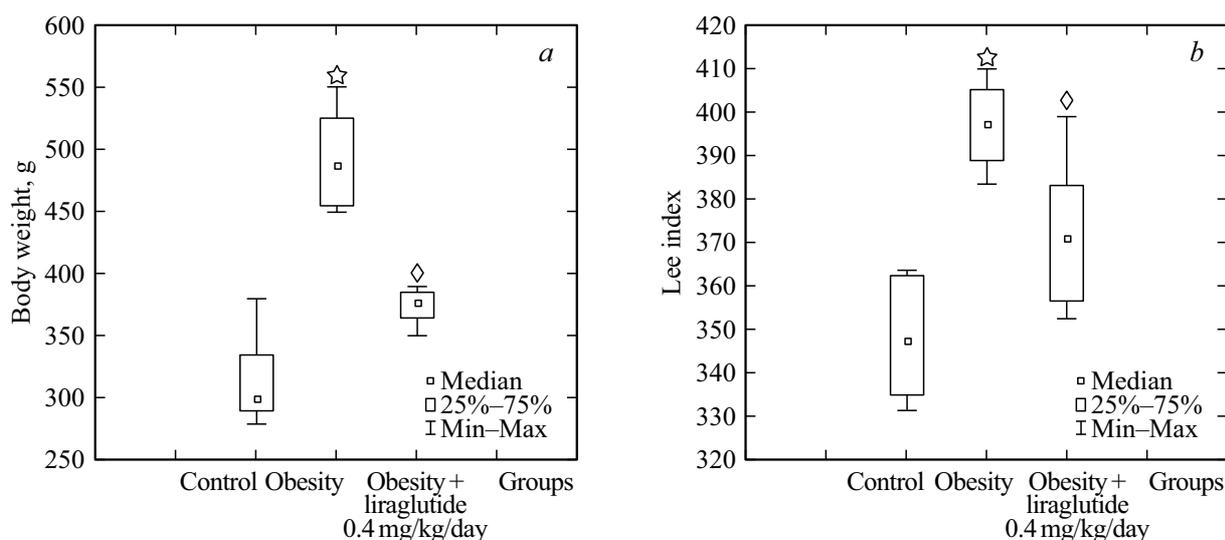


Рис. 1. Изменение массы тела (а) и индекса Ли (b) у животных с алиментарным ожирением, вызванным диетой кафетерия на фоне терапии лираглутидом. Отмечены достоверные отличия ($p < 0.05$): звездочка — по сравнению с контролем, ромб — относительно группы сравнения.

животные с алиментарным ожирением, которым ежедневно в течение 21 дня вводили лираглутид в дозе 0.4 mg/kg [8].

Развитие ожирения у животных вызывали с помощью диеты кафетерия [2,9]. Диагностику его развития, а также оценку антиожирительного эффекта лираглутида у крыс производили с помощью расчета индекса Ли ($1000 \times (3 \sqrt{\text{масса тела (g)}} / (\text{длина от кончика носа до ануса (cm)}))$) [9], поскольку он показывает корреляцию между ЖТ и массой тела [2], а также измерением массы тела. Функциональную активность органов-мишеней (сердце, печень, почки) оценивали по изменению их массы. В ходе исследования определяли массу тела у интактных и животных с ожирением в начале и в конце эксперимента, а у животных, получавших лечение лираглутидом, дополнительно контролировали массу тела перед началом терапии.

Микроциркуляцию изучали методом ЛДФ на анализаторе ЛАКК-ОП (ООО „Лазма“, Россия). Для проведения манипуляций животных анестезировали путем внутримышечного введения 0.1 ml/kg Телазола (Zoetis Inc, Испания) и 1 mg/kg Ксиланита (ООО „Нита-Фарм“, Россия). Регистрировали ЛДФ-граммы у животных всех групп. Запись осуществляли в течение 8 min путем фиксации датчика на коже дистального отдела задней конечности животного. Определяли показатель перфузии в перфузионных единицах (M, PU) и рассчитывали его среднеквадратичное отклонение с помощью программы LDF 3.0.2.395. Амплитудно-частотные характеристики, нормированные на среднеквадратичное отклонение (СКО), эндотелиальных (0.01–0.076 Hz), нейрогенных (0.076–0.2 Hz) и миогенных (0.2–0.74 Hz) вазомоций рассчитывали с помощью вейвлет-анализа и выражали их величину в условных единицах (CU). Расчет норми-

рованных амплитуд вазомоций проводили по формуле $(A/3СКО) \times 100$ [10].

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью программы „Statistica 10“ (StatSoft Inc., США). В случае отличия распределения значений в выборке от нормального вычисляли медиану и интерквартильный размах (Me [Q25; Q75]). Для определения различий показателей между группами использовали непараметрический критерий p Манна–Уитни. Различия считали достоверными при $p < 0.05$.

Результаты и обсуждение

Показано, что диета кафетерия в течение 6 месяцев вызывала у животных группы сравнения увеличение массы тела в 1.5 раза, а индекса Ли — на 33% относительно контроля, что свидетельствовало о развитии ожирения средней степени тяжести [2,9]. Подкожное введение крысам с избыточной массой тела в течение 21 дня лираглутида в дозе 0.4 mg/kg/day вызывало снижение их массы тела на 80% по отношению к животным группы сравнения, однако их масса тела превышала таковую у интактных животных на 23%. Соответственно на фоне терапии лираглутидом у животных имело место статистически значимое снижение индекса Ли относительно животных группы сравнения, и не наблюдались статистически значимые отличия относительно интактных животных (рис. 1).

Таким образом, результаты нашего исследования согласуются с литературными данными о способности лираглутида снижать массу тела [4].

Показано, что ожирение вызывает статистически значимое увеличение массы сердца в 1.4 раза, массы почек в 1.5 раза и массы печени в 1.2 раза по сравнению с

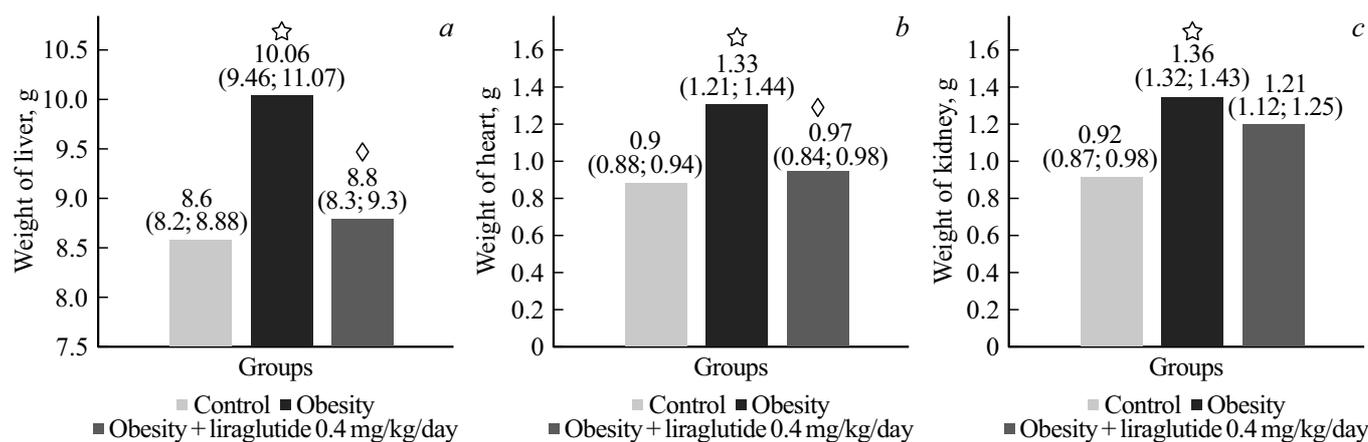


Рис. 2. Изменение массы печени (а), сердца (b) и почек (с) у животных с алиментарным ожирением, вызванным диетой кафетерия на фоне терапии лираглутидом. Отмечены достоверные отличия ($p < 0.05$): звездочка — по сравнению с контролем, ромб — относительно группы сравнения.

Изменение показателя перфузии и нормализованных амплитуд колебаний кровотока у животных с алиментарным ожирением, вызванным диетой кафетерия на фоне терапии лираглутидом

Показатель	Контроль	Группа сравнения (ожирение)	Экспериментальная группа (ожирение+лираглутид)
M, PU	12.7 (12.0; 13.0)	10.1 (9.5; 10.50) $p_1 = 0.00014$	14.61 (14.43; 15.94) $p_1 = 0.0018$ $p_2 = 0.000003$
A/ЗСКО Э, CU	17.7 (14.0; 20.0)	7.37 (6.87; 11.35) $p_1 = 0.002$	17.09 (15.55; 17.83) $p_1 = 0.15$ $p_2 = 0.00006$
A/ЗСКО Н, CU	11.2 (10.3; 14.3)	10.32 (9.18; 11.35) $p_1 = 0.043$	12.43 (10.71; 13.16) $p_1 = 0.983$ $p_2 = 0.05$
A/ЗСКО М, CU	10.3 (9.9; 10.5)	10.66 (8.07; 12.22) $p_1 = 0.908$	10.58 (6.85; 13.45) $p_1 = 0.65$ $p_2 = 0.99$
A/ЗСКО Д, CU	8.8 (7.7; 11.5)	6.33 (4.61; 8.24) $p_1 = 0.163$	7.74 (5.61; 10.94) $p_1 = 0.448$ $p_2 = 0.467$
A/ЗСКО С, CU	6.6 (5.5; 9.3)	5.13 (4.27; 6.81) $p_1 = 0.373$	6.36 (4.90; 7.86) $p_1 = 0.437$ $p_2 = 0.794$

Примечание. В каждом случае приведены медиана и интерквартильный размах, p_1 — критерий Манна–Уитни по сравнению с контролем, p_2 — критерий Манна–Уитни относительно группы сравнения (ожирение).

контролем. На фоне терапии лираглутидом отмечено статистически значимое снижение массы печени в 1.1 раза и сердца в 1.3 раза по отношению к животным группы сравнения, в результате масса данных органов

практически не отличалась от таковой у интактных животных. Масса почек имела тенденцию к снижению, однако это снижение не было статистически значимым (рис. 2).

Известно, что ожирение вызывает структурно-функциональные изменения в сердечной мышце [11]. Адаптация сердечной деятельности на фоне ожирения происходит за счет гипертрофии левого желудочка, что является предрасполагающим фактором к возникновению ССЗ [11,12]. Терапия лираглутидом вызвала снижение массы тела за счет уменьшения экспансии ЖТ. Нормализация массы тела способствовала снижению адаптационной нагрузки на миокард левого желудочка, о чем свидетельствует снижение массы органа-мишени.

Увеличение массы печени в ходе эксперимента свидетельствовало о развитии ожирения первой степени. Увеличение массы органа связано с повышением функциональной активности гепатоцитов, что является компенсаторной реакцией в ответ на диету кафетерия [13].

Известно, что ожирение способствует возникновению и развитию нефропатий „метаболического“ характера. Экспансия ЖТ приводит к тому, что общая площадь поверхности фильтрации нефрона не может постоянно инактивировать избыток биологически активных веществ, продуцируемых ЖТ. В результате в почках развивается состояние относительного дефицита массы нефронов, что вызывает гиперфильтрацию с последующей гипертрофией и гиперплазией гломерулярных клеток. При продолжающейся экспансии ЖТ происходит постепенное истощение функционального почечного резерва и фиброз [14]. Терапия лираглутидом вызывает снижение экспансии ЖТ и способствует сохранению функциональной активности почечной паренхимы.

У животных на фоне ожирения наблюдалось снижение тканевого кровотока, о чем свидетельствовало статистически значимое снижение M по сравнению с контролем (таблица). Вейвлет-анализ ЛДФ-грамм выявил снижение нормированных амплитуд эндотелиальных и нейрогенных колебаний у животных группы сравнения. Амплитудные значения миогенных колебаний статистически значимо не изменились (таблица).

Терапия лираглутидом в дозе 0.4 mg/kg/day вызвала повышение M на 40% по отношению к животным группы сравнения (таблица). Таким образом, экспериментально показано положительное влияние лираглутида на нейрогенный компонент сосудистого тонуса, что согласуется с ранее полученными данными, представленными в работе [5]. Установлено, что при диетиндуцированном ожирении лираглутид восстанавливает нарушенную эндотелий-зависимую дилатацию сосудов МЦ русла, оказывая, таким образом, эндотелиопротекторный эффект (таблица).

Заключение

Показано, что ожирение вызывает нарушение регуляции МЦ и снижение перфузии тканей, а также функциональную нагрузку на органы-мишени. Терапия лираглутидом в дозе 0.4 mg/kg/day способствует снижению массы тела и индекса Ли у животных с алиментарным ожирением и, таким образом, приводит к уменьшению

адаптационной нагрузки на органы-мишени. С помощью метода ЛДФ показано положительное влияние терапии лираглутидом на эндотелий-зависимую вазодилатацию и на снижение тонуса прекапиллярного звена МЦ русла, что свидетельствует о нормализации МЦ. Таким образом, лираглутид оказывает эндотелиопротекторный эффект, в связи с этим его целесообразно применять у пациентов с ожирением для предупреждения развития и прогрессирования эндотелиальной дисфункции.

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] 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(2020). DOI:10.17116/profmed202023051144 [A.I. Korolev, A.A. Fedorovich, A.Yu. Gorshkov, M.A. Mikhailova, V.A. Dadaeva, D.K. Vasilyev, D.U. Akasheva, O.M. Drapkina. The Russian Journal of Preventive Medicine, **23** (5),144 2020. DOI:10.17116/profmed202023051144].
- [2] D. Didek, M.M. Cordeiro, P.R. Ribeiro. Brazilian Archives of Biology and Technology. **62**, e19180563 (2019). DOI:10.1590/1678-4324-2019180563
- [3] Н.В. Болотова, С.В. Тимофеева, В.К. Поляков, А.П. Аверьянов, Э.Б. Попыхова, В.А. Коршунович. Доктор.Ру, **19** (2), 13 (2020). DOI:10.31550/1727-2378-2020-19-2-13-19 [N.V. Bolotova, S.V. Timofeeva, V.K. Polyakov, A.P. Averyanov, E.B. Popykhova, V.A. Korshunovich. Doctor.Ru, **19** (2), 13 (2020). DOI:10.31550/1727-2378-2020-19-2-13-19].
- [4] E.E. Ladenheim. Drug Des. Devel. Ther., **30** (9), 1867 (2015). DOI: 10.2147/DDDT.S58459
- [5] A.N. Ivanov, D.D. Lagutina, E.B. Popyhova, T.V. Stepanova, A.A. Savkina, T.E. Pylaev, N.A. Kuznetsova, M.S. Saveleva. Microvasc. Res., **138**, 104206 (2021). DOI: 10.1016/j.mvr.2021
- [6] 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/DM128726]
- [7] М.Л. Лындина, А.Н. Шишкин. Регионарное кровообращение и микроциркуляция, **17** (2), 20 (2018). DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-18-25 [M.L. Lyndina, A.N. Shishkin. Regional blood circulation and microcirculation, **17** (2), 20 (2018). DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-2-18-25]
- [8] L.B. Knudsen. Int. J. Clin. Pract. Suppl., **167**, 4 (2010). DOI:10.1111/j.1742-1241.2010.02499.x

- [9] 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]
- [10] A. Humeau, A. Ko'itka, P. Abraham. *Phys. Med. Biol.*, **49** (5), 843 (2004).
- [11] V. Sukumaran, H. Tsuchimochi, T. Sonobe, M.T. Waddingham, M. Shirai, J.T. Pearson. *Cardiovasc. Diabetol.*, **19** (1), 24 (2020). DOI:10.1186/s12933-020-01000-z
- [12] Е.А. Чернявская, В.В. Волина, В.Г. Бабийчук. *Проблемы криобиологии и криомедицины*, **28** (2), 108 (2018). DOI: 10.15407/cryo28.02.108 [E.A. Chernyavskaya, V.V. Volina, V.G. Babiichuk. *Probl. Cryobiol. Cryomed.*, **28** (2), 108(2018). DOI:10.15407/cryo28.02.108].
- [13] С.В. Мичурина, Д.В. Васендин, И.Ю. Ищенко *Вестник ИвГМА*, **19** (4), 19 (2014). [S.V. Michurina, D.V. Vasendin, I.Yu. Ishchenko. *Vestnik Ivanovskoj medicinskoj akademii*, **19** (4), 19 (2014)].
- [14] А.А. Вялкова, Е.Н. Лебедева, С.И. Красиков, И.В. Зорин, Е.П. Кулагина, С.Н. Николаева. *Нефрология*, **18** (3), 25 (2014). DOI:10.24884/1561-6274-2017-3-25-38 [A.A. Vyalkova, E.N. Lebedeva, S.N. Afonina, S.A. Chesnokova, L.V. Kutsenko, E.V. Lukerina. *Nephrology*, **18** (3), 25 (2014). DOI:10.24884/1561-6274-2017-3-25-38].