

МАРКЕРЫ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У КРЫС В МОДЕЛИ ДИЕТ-ИНДУЦИРОВАННОГО МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

Ю. Г. Бирулина [✉], О. В. Воронкова, В. В. Иванов, Е. Е. Буйко, М. М. Щербаклова, Н. А. Чернышов, Е. А. Мотлохова

Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия

Системное воспаление лежит в основе патогенеза многих хронических неинфекционных заболеваний, в том числе таких, как сахарный диабет 2-го типа, ожирение, метаболический синдром (МС). Целью работы было оценить изменения параметров системной воспалительной реакции у крыс в модели диет-индуцированного МС. Исследование выполнено на 33 крысах-самцах Wistar, распределенных на контрольную и экспериментальную группы. Крысы контрольной группы ($n = 15$) находились на стандартной диете. Крысы экспериментальной группы ($n = 18$) в течение 12 недель находились на высокожировой и высокоуглеводной диете. Для оценки интенсивности воспалительного процесса на фоне метаболических нарушений определяли общее количество и морфологический состав лейкоцитов крови, концентрацию общего белка, С-реактивного белка, концентрацию цитокинов IL6, IL10, TNF α , инсулина и лептина. В образцах жировой ткани оценивали уровень продукции активных форм кислорода. В результате проведенного эксперимента у крыс с МС были зарегистрированы общие признаки воспаления: реактивный лейкоцитоз, гиперпротеинемия, повышение концентрации С-реактивного белка в 2,6 раза ($p = 0,001$), IL10 — в 3,7 раза ($p = 0,029$), TNF α — в 4,2 раза ($p = 0,035$). Выявленные изменения происходили на фоне повышения метаболической активности висцеральной жировой ткани, о чем свидетельствовали гиперлептинемия и высокая интенсивность процессов свободнорадикального окисления. Были обнаружены положительные корреляционные взаимосвязи между уровнями лептина и инсулина в крови ($r = 0,701$; $p = 0,001$), а также между сывороточной концентрацией лептина и IL10 ($r = 0,523$; $p = 0,012$). Таким образом, высокожировая и высокоуглеводная диета наряду с метаболическими нарушениями позволяет воспроизвести ранние признаки системного воспаления, характерные для МС и ожирения.

Ключевые слова: метаболический синдром, инсулинорезистентность, ожирение, воспаление, С-реактивный белок, IL10, TNF α

Финансирование: исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-25-20039, <https://rscf.ru/project/22-25-20039/> и средств Администрации Томской области.

Вклад авторов: Ю. Г. Бирулина, О. В. Воронкова — разработка концепции и дизайна, написание рукописи; В. В. Иванов, Е. Е. Буйко — моделирование метаболического синдрома на животных, выполнение анализа биохимических показателей крови; М. М. Щербаклова — исследование цитокинов крови, Н. А. Чернышов — анализ литературы, исследование гемограммы; Е. А. Мотлохова — статистическая обработка результатов.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом СибГМУ (протокол № 8201 от 27 марта 2020 г.). Исследование выполнено с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации.

✉ **Для корреспонденции:** Юлия Георгиевна Бирулина
ул. Московский тракт, д. 2, строение 7, г. Томск, 634050, Россия; birulina20@yandex.ru

Статья получена: 11.08.2022 **Статья принята к печати:** 25.08.2022 **Опубликована онлайн:** 30.08.2022

DOI: 10.24075/vrgmu.2022.043

SYSTEMIC INFLAMMATION MARKERS OF DIET-INDUCED METABOLIC SYNDROME IN RAT MODEL

Birulina JG [✉], Voronkova OV, Ivanov VV, Buyko EE, Shcherbakova MM, Chernyshov NA, Motlokhova EA

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Chronic systemic inflammation is essential in many chronic non-infectious diseases, including type 2 diabetes, obesity and metabolic syndrome (MS). This study aimed at characterization of systemic inflammatory reaction as a component of diet-induced MS in rat model. Thirty-three male Wistar rats were distributed into two groups designated 'control' ($n = 15$) and 'experimental (MS)' ($n = 18$). The groups were fed, respectively, regular and high-fat/high-carbohydrate diets for 12 weeks. The intensity of systemic inflammatory process against the background of metabolic impairments was assessed by total and differential counts of white blood cells and serum levels of total protein, C-reactive protein, cytokines (IL6, IL10 and TNF α), insulin and leptin. We also assessed the production of reactive oxygen species in adipose tissue samples. The experiment revealed signs of systemic inflammation in MS as compared to control, including reactive leukocytosis, hyperproteinemia and increased serum levels of C-reactive protein (2.6-fold; $p = 0.001$), IL10 (3.7-fold; $p = 0.029$) and TNF α (4.2-fold; $p = 0.035$). The observed changes were accompanied by elevated metabolic activity of visceral adipose tissue, indicated by hyperleptinemia and increased free radical oxidation intensity. Pairwise positive correlations of serum levels were revealed for leptin and insulin ($r = 0.701$; $p = 0.001$) and leptin and IL10 ($r = 0.523$; $p = 0.012$). Thus, high-fat/high-carbohydrate diet promoted metabolic impairments concomitantly with early signs of systemic inflammation characteristic of MS and obesity.

Keywords: metabolic syndrome, insulin resistance, obesity, inflammation, C-reactive protein, IL10, TNF α

Funding: the study was supported by the Russian Science Foundation, Grant № 22-25-20039, <https://rscf.ru/project/22-25-20039/> and funds of the Tomsk Region Administration.

Author contribution: Birulina JG, Voronkova OV — concept and design, manuscript writing; Ivanov VV, Buyko EE — metabolic syndrome modeling, biochemical blood tests; Shcherbakova MM — blood cytokine assay; Chernyshov NA — literature analysis, hemogram tests; Motlokhova EA — statistical analysis.

Compliance with ethical standards: the study was approved by Ethical Review Board at SibSMU (Protocol № 8201 of 27 March 2020) and carried out in compliance with humanity principles stated in the 86/609 EEC Directive and the Declaration of Helsinki.

✉ **Correspondence should be addressed:** Julia G. Birulina
Moskovsky Trakt, 2, str. 7, Tomsk, 634050, Russia; birulina20@yandex.ru

Received: 11.08.2022 **Accepted:** 25.08.2022 **Published online:** 30.08.2022

DOI: 10.24075/brsmu.2022.043

Хроническое системное воспаление составляет патогенез многих многофакторных неинфекционных заболеваний, в том числе алиментарно-зависимых, таких как сахарный диабет 2-го типа, ожирение, метаболический синдром

(МС). В механизмах развития инсулинорезистентности хроническое низкоинтенсивное воспаление жировой ткани играет ключевую роль [1]. Метаболические условия (гипергликемия, гиперинсулинемия, гиперлипидемия)

способствуют формированию провоспалительного функционального фенотипа клеточных элементов жировой ткани. Макрофаги, инфильтрирующие жировую ткань, фенотипически меняются с противовоспалительных типа M2 на активированные провоспалительные макрофаги типа M1. Гипертрофированные адипоциты и поляризованные резидентные M1-макрофаги секретируют большое количество адипокинов (лептин, резистин и др.), провоспалительных цитокинов (IL6, TNF α , IL1 β и др.) и хемокинов (MCP-1, MIF, CCL-2 и др.), стимулируя инфильтрацию жировой ткани макрофагами-рекрутами [1, 2]. Это способствует самоподдержанию воспалительного процесса и потенцирует инсулинорезистентность адипоцитов.

Развитие хронического субклинического воспаления у пациентов с МС, ассоциированным с ожирением, уже не вызывает сомнений. При этом отсутствуют четкие клиничко-лабораторные критерии основных феноменов хронического системного воспаления, характеризующие варианты его развития, стадийность, выраженность реакций компенсации, повреждения и дезадаптации. Экспериментальные модели на животных — удобный инструмент для анализа ранних и поздних проявлений системной воспалительной реакции, а также механизмов развития хронического системного воспаления при заболеваниях, для которых характерно изменение многих параметров гомеостаза [3].

Одним из наиболее распространенных подходов к созданию животных моделей МС, ассоциированного с ожирением, является использование комбинированной высокожировой диеты с повышенным содержанием углеводов в режиме свободного доступа к корму [4, 5]. Такая диета в большой степени соответствует этиопатогенетическим особенностям алиментарно-конституционального ожирения у человека и, как правило, является устойчивой моделью соответствующих метаболических нарушений — инсулинорезистентности, гипергликемии, дислипидемии и др. Вместе с тем было отмечено, что лишь у части животных-моделей (60–80%) формирование индуцированного диетой ожирения сопровождается дальнейшим развитием спектра метаболических нарушений, в полной мере соответствующего критериям МС [6, 7]. В связи с этим при моделировании МС представляются важными выявление и анализ дополнительных параметров, которые могли бы выступить в качестве потенциальных валидных биомаркеров, адекватно характеризующих патогенез МС и ассоциированных с ним состояний, в том числе хроническое системное воспаление.

Целью исследования были оценка и анализ изменений параметров системной воспалительной реакции у крыс в модели диет-индуцированного МС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальная модель МС была создана на крысах-самцах Wistar (33 крысы, средняя масса 28,5–36,1 г, возраст на начало исследования — 6 недель). Животные для исследования были получены из вивария НИИФиРМ им. Е. Д. Гольдберга Томского НИМЦ (г. Томск, Россия). Крысы были рандомизированы на контрольную и экспериментальную группу (15 и 18 животных соответственно) и содержались в условиях вивария (температура воздуха — 20–26 °С, относительная влажность воздуха — 40–70%, световой режим — 12:12). Животных

содержали в клетках из полипропилена по три особи в каждой (площадь пола — 1612 см²). Критерии включения животных в эксперимент: отсутствие клинических признаков нарушения здоровья; отклонение массы тела не более 10% от среднего значения. Крысы контрольной группы находились на стандартной диете с соотношением белков, жиров и углеводов — 24% : 6% : 44% (корм «Дельта Фидс»; Биопро, РФ) со свободным доступом к пище и воде. Крысы экспериментальной группы в течение 12 недель находились на высокожировой и высокоуглеводной диете (ВЖВУД), содержащей стандартный лабораторный корм (66%), смешанный с топленым свиным салом (17%), фруктозой (17%), холестерином (0,25%, Cholesterol; Sigma, США) (соотношение белков, жиров и углеводов — 16%:21%:54%), с заменой питьевой воды на 20%-й раствор фруктозы.

Оценку состоятельности сформированной модели критериям МС проводили методами, описанными нами ранее [5, 8]. У животных экспериментальной группы (в сравнении с контрольными) анализировали следующие параметры: уровень артериального давления (система «Систола»; «Нейроботикс», Россия), массу тела (взвешивание на аналитических весах Pioneer PX224, ОНАУС, КНР), удельный вес висцеральной жировой ткани и печени (взвешивание на аналитических весах Pioneer PX224, ОНАУС, КНР; вычисление отношения массы ткани на 100 г массы тела крысы), а также результаты биохимических тестов: уровень глюкозы в крови натощак и в пероральном тесте на толерантность к глюкозе спектрофотометрическим методом с использованием ферментативных наборов (Chronolab; Испания), концентрацию триацилглицеролов, общего холестерина (ХС), холестерина в составе липопротеинов низкой (ХС-ЛПНП), очень низкой (ХС-ЛПОНП) и высокой плотности (ХС-ЛПВП) в сыворотке крови на автоматическом анализаторе Architect c4000 (Abbot; США).

Выведение животных из эксперимента осуществляли методом CO₂-асфиксии. Кровь отбирали из сердца в две пробирки: с активатором свертывания для получения сыворотки и последующего биохимического и иммуноферментного анализа, а также с антикоагулянтом для оценки количественных показателей белой крови.

Для оценки интенсивности воспалительного процесса определяли общее количество и морфологический состав лейкоцитов в крови при помощи автоматического анализатора BC-2800 Vet (Mindray; Китай), концентрацию общего белка методом Брэдфорд, высокочувствительного С-реактивного белка (Rat CRP ELISA Kit, Elabscience Biotechnology; Китай).

Методом иммуноферментного анализа оценивали содержание в сыворотке крови цитокинов IL6, IL10, TNF α (наборы Bender MedSystems GmbH; Австрия), концентрацию инсулина (Insulin Rat ELISA Kit, Thermo Fisher Scientific; США) и лептина (Leptin Rat ELISA Kit, Thermo Fisher Scientific; США). Гомеостатическую модель оценки инсулинорезистентности (HOMA-IR) рассчитывали по следующей формуле:

$$(\text{сывороточный инсулин}) \times (\text{сывороточная глюкоза}) / 22,5.$$

С целью оценки интенсивности локального воспаления в жировой ткани определяли уровень продукции активных форм кислорода (АФК) с помощью красителя с заблокированной флуоресценцией — 2,3-дигидродихлорфлуоресцеина диацетат (ДГХФ-ДА). Для этого фрагменты висцеральной жировой ткани массой 50 мг инкубировали в течение 60 мин в присутствии 10 мкМ

ДГХФ-ДА. Оценивали флуоресценцию при длине волны возбуждения 530 нм и длине волны испускания 485 нм с помощью микропланшетного ридера (Infinite 200 Pro M-plex, Tecan; Швейцария) [9].

Статистическую обработку данных проводили в программе SPSS Statistics 23 (IBM; США). Данные, подчиняющиеся нормальному закону распределения, представлены в виде среднего и стандартного отклонения ($M \pm SD$), не подчиняющиеся — медианы (Me) и межквартильного интервала (Q_{25} ; Q_{75}). Анализ различий между выборками выполняли при помощи t -критерия Стьюдента или U -критерия Манна-Уитни. Пороговое значение достигнутого уровня значимости (p) было принято равным 0,05. Для оценки статистической взаимосвязи между количественными показателями вычисляли коэффициент ранговой корреляции Спирмена или коэффициент парной корреляции Пирсона.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В результате высокожировой и высокоуглеводной диеты (ВЖВУД) продолжительностью 12 недель у животных экспериментальной группы формировались физиологические и лабораторные признаки метаболических нарушений. При сравнении анализируемых параметров у крыс опытной группы в отличие от интактных животных были зарегистрированы артериальная гипертензия, увеличение массы тела, повышение удельного веса печени и висцеральной жировой ткани. При проведении биохимических тестов было выявлено нарушение толерантности к глюкозе (увеличение площади под кривой «концентрация глюкозы–время» (AUC_{0–120})), гипергликемия натощак, а также изменения показателей липидного спектра, которые характеризовались повышением уровней ТАГ, общего ХС, ХС-ЛПНП и ХС-ЛПОНП (табл. 1). Выявленные изменения позволили сделать вывод о состоятельности воспроизведенной модели и ее пригодности для анализа дополнительных критериев МС.

В качестве критерия, свидетельствующего о формировании состояния инсулинорезистентности у экспериментальных животных, была определена концентрация инсулина в крови. У крыс с МС концентрация гормона более чем в 2 раза превышала значения показателя в контрольной группе, а индекс HOMA-IR составил $1,3 \pm 0,4$. У животных опытной группы оказался высоким и уровень гормона жировой ткани лептина, который превышал контрольные значения в среднем в 1,5 раза (табл. 1).

При анализе интенсивности процессов свободнорадикального окисления в висцеральной жировой ткани было установлено статистически значимое повышение продукции АФК у крыс с МС до 2,5 усл. ед., при уровне 1,2 усл. ед. в группе контроля ($p = 0,008$).

В результате биохимического анализа у животных экспериментальной группы было установлено повышение концентрации общего белка в крови в 1,3 раза, а также концентрации С-реактивного белка в среднем в 2,6 раза соответственно, по сравнению со значениями в группе контроля (табл. 1).

У животных опытной группы было зарегистрировано статистически значимое повышение общего числа лейкоцитов в крови. При анализе морфологического состава белой крови было обнаружено увеличение количественного содержания гранулоцитов — как относительного, так и абсолютного их числа (табл. 2).

Сывороточная концентрация IL10 и TNF α в крови у крыс с метаболическими нарушениями, индуцированными ВЖВУД, оказалась выше, чем у здоровых животных, в среднем в 3,7 и 4,2 раза соответственно (табл. 3). При этом повышение уровня IL6 в крови у животных опытной группы оказалось статистически недостоверным.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

К настоящему времени в экспериментальных медико-биологических исследованиях утверждены два основных методических подхода к моделированию МС на мелких грызунах: 1) использование специализированных линий животных, генетически предрасположенных к развитию сахарного диабета, ожирения и сердечно-сосудистых заболеваний; 2) использование различных диет с несбалансированным рационом белков, жиров и углеводов [4, 10]. Оба подхода основаны на индукции избыточного накопления в организме висцерального жира как одного из ключевых патогенетических факторов, опосредующего выраженные нарушения обмена веществ.

Несмотря на широкое использование диет с повышенным содержанием жиров и углеводов для моделирования МС у животных, некоторые исследователи отмечают определенные методические сложности, затрудняющие верификацию его основных проявлений. Например, трудной представляется оценка степени развивающегося висцерального ожирения, поскольку относительные показатели, применимые для человека, такие как индекс массы тела или относительная окружность талии, не позволяют оценить тип формируемого ожирения у экспериментальных животных. В ряде исследований было обнаружено, что эквиваленты МС, характерные для человека (артериальная гипертензия, дислипопропротеинемия, гипергликемия), у животных можно воспроизвести лишь частично [11, 12]. В ряде случаев причинами являются недостаточная продолжительность экспериментального воздействия диетой, возрастные, гендерные, генетические особенности инбредных и аутбредных линий экспериментальных животных, погрешности составления пищевого рациона и режима питания и т. д.

Одними из критериев для верификации МС у лабораторных животных могут служить параметры, характеризующие метаболическую активность жировой ткани. В экспериментах было показано наличие корреляционных взаимосвязей отношения концентрации лептин/грелин с изменениями массы тела, селезенки и жировой ткани у крыс линии Wistar в модели гиперлипидемии, а также уровнями цитокинов, участвующих в регуляции воспаления (MCP-1, M-CSF, IL18 и RANTES), что указывает на информативность данных критериев как биомаркеров направленности и тяжести обменных нарушений при МС и ожирении [13].

Один из патогенетических факторов метаболического синдрома — хроническое воспаление жировой ткани, развивающееся на фоне инсулинорезистентности, сопряженной с гипергликемией и дислипопропротеинемией [1, 2]. Высокоактивные вещества, вырабатываемые адипоцитами и клетками стромы (адипокины, провоспалительные цитокины), способствуют усилению макрофагальной инфильтрации жировой ткани и, таким образом, поддерживают локальное воспаление [14].

При анализе метаболической активности клеточных элементов висцерального жира крыс, находившихся на

Таблица 1. Физиологические показатели и биохимические маркеры метаболического синдрома у крыс, M ± SD

Параметр	Группа		p
	Контрольная, n = 15	Опытная, n = 18	
Масса тела, г	433,32 ± 39,4	489,1 ± 47,9	0,01
Систолическое АД, мм рт. ст.	130,4 ± 9,5	145,1 ± 8,7	0,01
Диастолическое АД, мм рт. ст.	86,5 ± 9,3	101,4 ± 12,2	0,028
Удельный вес жировой ткани, г	2,2 ± 0,22,2 ± 0,2	4,3 ± 0,64,3 ± 0,6	0,001
Удельный вес печени, г	3,1 ± 0,43,1 ± 0,4	4,2 ± 0,54,2 ± 0,5	0,001
Глюкоза натощак, ммоль/л	4,9 ± 0,5	7,6 ± 0,4	0,001
AUC ₀₋₁₂₀ , ммоль/л*120 минAUC ₀₋₁₂₀ , ммоль/л*120 мин	752,2 ± 50,4	940,9 ± 55,8	0,001
Общий ХС, ммоль/л	1,7 ± 0,2	2,3 ± 0,3	0,001
ХС-ЛПВП, ммоль/л	0,6 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,003
ХС-ЛПНП ммоль/л,	0,9 ± 0,2	1,4 ± 0,4	0,02
ХС-ЛПОНП ммоль/л,	0,3 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,03
ТАГ, ммоль/л	0,7 ± 0,2	1,7 ± 0,5	0,001
Инсулин, пмоль/л	11,2 ± 0,8	24,2 ± 5,6	0,001
НОМА-IR	0,4 ± 0,1	1,3 ± 0,4	0,004
Лептин, нг/мл	3,1 ± 0,3	4,5 ± 0,1	0,01
Общий белок, г/л	52,7 ± 3,4	66,7 ± 3,8	0,015
C-реактивный белок, нг/мл	4,0 ± 0,4	10,5 ± 1,3	0,001

Примечание: AUC₀₋₁₂₀ — площадь под кривой «концентрация глюкозы — время» в тесте толерантности к глюкозе; p — различия по сравнению с группой контроля.

12-недельной ВЖВУД, мы зарегистрировали усиление активности свободнорадикальных реакций — уровень спонтанной продукции АФК превышал соответствующие значения в группе контроля в 2 раза.

О высокой секреторной активности адипоцитов у крыс опытной группы можно судить и по уровню лептина в крови. В нашем исследовании концентрация гормона у животных экспериментальной группы превышала контрольные значения в среднем в 1,5 раза (табл. 1). При этом между сывороточными концентрациями лептина и инсулина была выявлена средняя прямая корреляционная зависимость ($r = 0,701$; $p = 0,001$).

Лептин преимущественно секретируют адипоциты белой жировой ткани, а его концентрация в крови коррелирует с объемом висцерального жира. В физиологических условиях лептин ингибирует секрецию инсулина поджелудочной железой [15]. Наиболее вероятно, что обнаруженная нами гиперлептинемия при МС носит компенсаторный характер на фоне инсулинорезистентности и повышении концентрации инсулина в крови. Известно также, что на фоне метаболических нарушений (гипергликемии и дислипидемии) происходит снижение экспрессии лептиновых рецепторов на клетках и развивается их резистентность [16, 17].

Структурные особенности лептина позволяют отнести его к семейству провоспалительных адипокинов. Лептин принимает участие в регуляции хемотаксиса и активации нейтрофилов, в процессах дифференцировки Т-лимфоцитов и поддержании пула NK-клеток. На гуморальном уровне лептин стимулирует продукцию TNF α и IL6. Повышенная секреция лептина адипоцитами способствует накоплению макрофагов и облегчает их проникновение в жировую ткань посредством стимуляции ангиогенеза [18].

Известно, что метаболические условия активации клеточных элементов жировой ткани, такие как

концентрация глюкозы, инсулина, жирных кислот, определяют ее цитокиновый профиль. Например, свободные жирные кислоты в высокой концентрации могут активировать рецепторы макрофагов TLR4 и опосредованно включать экспрессию генов, ответственных за наработку медиаторов воспаления [2, 14]. При этом в патогенезе воспаления жировой ткани формируется «порочный круг», так как системные эффекты некоторых провоспалительных цитокинов выражаются в активации синтеза жирных кислот и повышении их концентрации в крови за счет угнетения секреции адипонектина и регуляции продукции других цитокинов.

В нашем исследовании мы зарегистрировали статистически значимое повышение концентрации TNF α и IL10 в сыворотке крови у крыс опытной группы по сравнению с контрольной (табл. 3).

На ранних этапах воспаления баланс между защитно-приспособительными и патологическими воспалительными реакциями обеспечивают противовоспалительные цитокины (IL10, IL13, TGF β), которые ограничивают повреждение ткани, снижая экспрессию молекул главного комплекса гистосовместимости II класса, костимуляторных и других молекул на иммунокомпетентных клетках [19]. Вероятно, этим можно объяснить выявленное нами повышение уровня противовоспалительного IL10 в сыворотке крови у животных опытной группы на фоне метаболических нарушений. Косвенно подтверждает это выявленная средняя положительная корреляционная взаимосвязь между уровнем IL10 и концентрацией лептина ($r = 0,523$; $p = 0,012$).

Следует отметить, что при прогрессировании МС и ожирения наработка противовоспалительных цитокинов, а также гормонов, обладающих противовоспалительным эффектом (грелина, адипонектина) в жировой ткани может снижаться, что приводит к повышению инфильтрации жировой ткани мононуклеарами и усугубляет воспаление

Таблица 2. Гематологические показатели крыс контрольной и опытной групп, Me (Q₂₅; Q₇₅)

Параметр	Группа		p
	Контрольная, n = 15	Опытная, n = 18	
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	9,9 (9,4; 10,9)	13,7 (11,4; 15,0)	0,001
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	7,6 (5,9; 8,3)	7,1 (6,4; 8,5)	0,84
Моноциты, 10 ⁹ /л	0,4 (0,2; 0,4)	0,5 (0,3; 0,4)	0,166
Гранулоциты, 10 ⁹ /л	2,5 (1,7; 3,6)	3,9 (3,2; 4,4)	0,003
Лимфоциты, %	65,3 (64,2; 67,6)	64,2 (62,7; 66,2)	0,343
Моноциты, %	3,4 (3,0; 3,6)	3,5 (3,1; 4,0)	0,1
Гранулоциты, %	28,2 (25,9; 31,3)	33,2 (31,5; 34,2)	0,001

Примечание: p — различия по сравнению с группой контроля.

Таблица 3. Концентрация цитокинов в крови крыс контрольной и опытной групп, Me (Q₂₅; Q₇₅)

Параметр	Группа		p
	Контрольная, n = 15	Опытная, n = 18	
IL6, пг/мл	5,5 (2,3; 6,3)	7,8 (4,7; 14,1)	0,152
IL10, пг/мл	11,8 (6,0; 23,8)	43,3 (21,9; 54,7)	0,029
TNFα, пг/мл	2,6 (2,6; 5,2)	10,8 (6,4; 11,7)	0,035

Примечание: p — различия по сравнению с группой контроля.

[20, 21]. Как правило, это воспаление низкой интенсивности, ввиду того, что факторы противовоспалительной резистентности способны длительное время сдерживать развитие генерализованного процесса и препятствовать развитию феномена вторичного повреждения при хронической системной альтерации. Поэтому, в отличие от острого, для хронического воспаления характерна меньшая выраженность изменений системных показателей.

В процессе исследования мы оценивали изменения параметров, характеризующих общие проявления воспаления, ассоциированного с висцеральной жировой тканью. Наряду с изменением концентрации цитокинов у животных с МС были выявлены повышение общего числа лейкоцитов, увеличение в гемограмме содержания гранулоцитов, повышение концентрации общего и С-реактивного белка в сыворотке крови по сравнению с соответствующими параметрами у интактных животных.

Многие воспалительные состояния сопровождается повышенной продукцией белков острой фазы, в основном высвобождаемых гепатоцитами. Исследования показали, что при патологических состояниях адипоциты белой жировой ткани способны также генерировать высокий уровень С-реактивного белка, что усугубляет нарушение метаболизма глюкозы и резистентность к инсулину [22, 23].

Отдельные компоненты МС могут быть причиной реактивного лейкоцитоза. В экспериментах на животных показано, что диеты с высоким содержанием жиров приводят к миелоидной гиперплазии, особенно нейтрофильного клеточного паттерна [24]. В ряде исследований у людей с нарушением толерантности к глюкозе и ожирением была установлена положительная корреляционная взаимосвязь между антропометрическими и биохимическими показателями (индекс массы тела, артериальная гипертензия, гиперинсулинемия, дислиппротеинемия) и повышенным числом лейкоцитов в крови [25–27]. В механизмах развития лейкоцитоза обсуждается возможная роль лептина. Установлено, что

лептин и его рецепторы являются частью сигнального пути, стимулирующего гемопоэз в красном костном мозге [25].

Схожими эффектами в отношении гемопоэтических клеток и зрелых лейкоцитов обладают конечные продукты гликирования, АФК и провоспалительные цитокины. Последние являются важными индукторами лейкоцитоза, особенно нейтрофилии, посредством множества механизмов, включая демаргинацию внутрисосудистых нейтрофилов, ускорение высвобождения нейтрофилов из костного мозга и усиление гранулоцитопоэза в костном мозге [28, 29].

ВЫВОДЫ

В результате проведенного эксперимента у крыс с МС наряду с висцеральным ожирением и нарушениями углеводного и липидного обменов (гиперинсулинемией, гипергликемией, дислиппротеинемией) зарегистрированы общие признаки воспаления: реактивный лейкоцитоз, гиперпротеинемия, повышение концентрации в крови С-реактивного белка и цитокинов (TNFα, IL10). Выявленные изменения происходили на фоне повышения метаболической активности висцеральной жировой ткани, о чем свидетельствовали гиперлептинемия и повышение интенсивности процессов свободнорадикального окисления. Была обнаружена положительная корреляционная взаимосвязь между уровнями лептина и инсулина в крови, а также между сывороточной концентрацией лептина и IL10. Таким образом, экспериментальное воздействие на крыс ВЖВУД продолжительностью 12 недель наряду с метаболическими нарушениями позволяет воспроизвести ранние признаки системного воспаления, характерные для МС и ожирения. Мы считаем, что диет-индуцированные модели МС могут быть удобным инструментом для исследования механизмов развития ранних и поздних осложнений МС, опосредованных влиянием патогенетических факторов хронического системного воспаления.

Литература

1. Крюков Н. Н., Гинзбург М. М., Киселева Е. В. Современный взгляд на роль асептического воспаления жировой ткани в генезе ожирения и метаболического синдрома. Артериальная гипертензия. 2013; 19 (4): 305–310.
2. McCracken E, Monaghan M, Sreenivasan S. Pathophysiology of the metabolic syndrome. Clin Dermatol. 2018; 36 (1): 14–20.
3. Макарова М. Н., Макаров В. Г. Диет-индуцированные модели метаболических нарушений. Экспериментальный метаболический синдром. Лабораторные животные для научных исследований. 2018; 1. Доступно по ссылке: <https://labanimalsjournal.ru/2618723x-2018-01-08>.
4. Кравчук, Е. Н., Галагудза, М. М. Экспериментальные модели метаболического синдрома. Артериальная гипертензия. 2014; 20 (5): 377–83.
5. Бирулина Ю. Г., Иванов В. В., Буйко Е. Е., Трубачева О. А., Петрова И. В., Грецишников А. Ю. и др. Влияние высокожировой и высокоуглеводной диеты на клетки крови крыс. Бюллетень сибирской медицины. 2021; 20 (3): 6–12.
6. Чернышева М. Б., Цветков И. С., Диатроптов М. Е., Макарова О. В. Морфологические изменения внутренних органов и метаболические нарушения при экспериментальном алиментарном ожирении. Клиническая и экспериментальная морфология. 2016; 1 (17): 44–51.
7. Henning RJ. Obesity and obesity-induced inflammatory disease contribute to atherosclerosis: a review of the pathophysiology and treatment of obesity. Am J Cardiovasc Dis. 2021; 11 (4): 504–29.
8. Бирулина Ю. Г., Иванов В. В., Буйко Е. Е., Быков В. В., Носарев А. В., Ковалев И. В., Смаглий Л. В., Гусакова С. В., авторы. Способ моделирования диет-индуцированного метаболического синдрома. ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, патентообладатель. Патент РФ № №2740007 от 30.12.2020.
9. Liu L, Zou P, Zheng L, Linarelli LE, Amarell S, Passaro A, et al. Tamoxifen reduces fat mass by boosting reactive oxygen species. Cell Death Dis. 2011; 6 (1): e1586.
10. Байрашева В. К., Пчелин И. Ю., Егорова А. Э., Василькова О. Н., Корнюшин О. В. Экспериментальные модели алиментарного ожирения у крыс. Juvenis Scientia. 2019; 9–10: 8–13.
11. Lucero D, Olano C, Bursztyn M, Morales C, Stranges A, Friedman S, et al. Supplementation with n-3, n-6, n-9 fatty acids in an insulin resistance animal model: Does it improve VLDL quality? Food Funct. 2017; 8 (5): 2053–61.
12. Kwitek AE. Rat models of metabolic syndrome. Methods Mol Biol. 2019; 2018: 269–85.
13. Ригер Н. А., Шипелин В. А., Апятын С. А., Гмошинский И. В. Иммунологические маркеры алиментарно-индуцированной гиперлипидемии у крыс линии Вистар. Вопросы питания. 2019; 88 (3): 44–52.
14. Романцова Т. И., Сыч Ю. П. Иммунометаболизм и метавоспаление при ожирении. Ожирение и метаболизм. 2019; 16 (4): 3–17.
15. Ghadge AA, Khaire AA. Leptin as a predictive marker for metabolic syndrome. Cytokine. 2019; 121: 154735.
16. Gonzalez-Carter D, Goode AE, Fiammengo R, Dunlop IE, Dexter DT, Porter AE. Inhibition of Leptin-ObR Interaction Does not Prevent Leptin Translocation Across a Human Blood-Brain Barrier Model. J Neuroendocrinol. 2016; 28 (6). Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jne.12392>.
17. Kiernan K, MacIver NJ. The Role of the Adipokine Leptin in Immune Cell Function in Health and Disease. Front Immunol. 2021; 11: 622468.
18. Frühbeck G, Catalán V, Rodríguez A, et al. Normalization of adiponectin concentrations by leptin replacement in ob/ob mice is accompanied by reductions in systemic oxidative stress and inflammation. Scientific Reports. 2017; 7 (1): 2752.
19. Lee B-C, Lee J. Cellular and molecular players in adipose tissue inflammation in the development of obesity-induced insulin resistance. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — Molecular Basis of Disease. 2014; 1842 (3): 446–62.
20. Танянский Д. А., Денисенко А. Д. Влияние адипонектина на обмен углеводов, липидов и липопротеинов: анализ сигнальных механизмов. Ожирение и метаболизм. 2021; 18 (2): 103–11.
21. Ritchie IR, Dyck DJ. Rapid loss of adiponectin-stimulated fatty acid oxidation in skeletal muscle of rats fed a high fat diet is not due to altered muscle redox state. PLoS One. 2012; 7 (12): e52193.
22. Memoli B, Procino A, Calabrò P, Esposito P, Grandalano G, Pertosa G, et al. Inflammation may modulate IL6 and C-reactive protein gene expression in the adipose tissue: the role of IL6 cell membrane receptor. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2007; 293: E1030–E1035.
23. Kaneko H, Anzai T, Nagai T, Anzai A, Takahashi T, Mano Y, et al. Human C-reactive protein exacerbates metabolic disorders in association with adipose tissue remodeling. Cardiovasc Res. 2011; 1: 546–55.
24. do Carmo LS, Rogero MM, Paredes-Gamero EJ, Nogueira-Pedro A, Xavier JG, Cortezet M, et al. A high-fat diet increases interleukin-3 and granulocyte colony-stimulating factor production by bone marrow cells and triggers bone marrow hyperplasia and neutrophilia in Wistar rats. Exp Biol Med (Maywood). 2013; 238 (4): 375–84.
25. Purdy JC, Shatzel JJ. The hematologic consequences of obesity. Eur J Haematol. 2021; 106 (3): 306–19.
26. Farhangi MA, Keshavarz SA, Eshraghian M, Ostadrahimi A, Saboor-Yaraghi AA. White blood cell count in women: relation to inflammatory biomarkers, haematological profiles, visceral adiposity, and other cardiovascular risk factors. J Health Popul Nutr. 2013; 31 (1): 58–64.
27. Herishanu Y, Rogowski O, Polliack A, Marilus R. Leukocytosis in obese individuals: possible link in patients with unexplained persistent neutrophilia. European journal of haematology. 2006; 76 (6): 516–20.
28. Pini M, Rhodes DH, Fantuzzi G. Hematological and acute-phase responses to diet-induced obesity in IL6 KO mice. Cytokine. 2011; 56 (3): 708–16.
29. Netzer N, Gatterer H, Faulhaber M, Burtscher M, Pramsohler S, Pesta D. Hypoxia, oxidative stress and fat. Biomolecules. 2015; 5: 1143–50.

References

1. Kryukov NN, Ginzburg MM, Kiseleva EV. Sovremennyy vzglyad na rol' asepticeskogo vospaleniya zhirovoy tkani v geneze ozhireniya i metabolicheskogo sindroma. Arterial'naya gipertenziya. 2013; 19 (4): 305–10. Russian.
2. McCracken E, Monaghan M, Sreenivasan S. Pathophysiology of the metabolic syndrome. Clin Dermatol. 2018; 36 (1): 14–20.
3. Makarova MN, Makarov VG. Diet-inducirovannye modeli metabolicheskix narushenij. Ehksperimental'nyj metabolicheskij sindrom. Laboratornye zhivotnye dlya nauchnyx issledovanij. 2018; 1. Dostupno po ssylke: <https://labanimalsjournal.ru/2618723x-2018-01-08>. Russian.
4. Kravchuk EN, Galagudza MM. Ehksperimental'nye modeli metabolicheskogo sindroma. Arterial'naya gipertenziya. 2014; 20 (5): 377–83. Russian.
5. Birulina YuG, Ivanov VV, Buyko EE, Trubacheva OA, Petrova IV, Grechishnikova AYU, i dr. Vliyanie vysokozhirovoy i vysokouglevodnoj diety na kletki krovi krys. Byulleten' sibirskoj mediciny. 2021; 20 (3): 6–12. Russian.
6. Chernysheva MB, Tsvetkov IS, Diatropov ME, Makarova OV. Morfologicheskie izmeneniya vnutrennix organov i metabolicheskije narusheniya pri ehksperimental'nom alimentarnom ozhireni. Klinicheskaya i ehksperimental'naya morfologiya. 2016; 1 (17): 44–51. Russian.
7. Henning RJ. Obesity and obesity-induced inflammatory disease

- contribute to atherosclerosis: a review of the pathophysiology and treatment of obesity. *Am J Cardiovasc Dis.* 2021; 11 (4): 504–29.
8. Birulina YuG, Ivanov VV, Buyko EE, Bykov VV, Nosarev AV, Kovalev IV, Smaglij LV, Gusakova SV, avtory. Sposob modelirovaniya diet-inducirovannogo metabolicheskogo sindroma. FGBOU VO SibGMU Minzdrava Rossii, patentoobladatel'. Patent RF # #2740007 ot 30.12.2020. Russian
 9. Liu L, Zou P, Zheng L, Linarelli LE, Amarell S, Passaro A, et. al. Tamoxifen reduces fat mass by boosting reactive oxygen species. *Cell Death Dis.* 201; 6 (1): e1586.
 10. Bayrasheva VK, Pchelin IYu, Egorova AEh, Vasilkova ON, Kornushin OV. Ehksperimental'nye modeli alimentarnogo ozhireniya u krys. *Juvenis Scientia.* 2019; 9–10: 8–13. Russian.
 11. Lucero D, Olano C, Bursztyrn M, Morales C, Stranges A, Friedman S, et al. Supplementation with n–3, n–6, n–9 fatty acids in an insulin resistance animal model: Does it improve VLDL quality? *Food Funct.* 2017; 8 (5): 2053–61.
 12. Kwitek AE. Rat models of metabolic syndrome. *Methods Mol Biol.* 2019; 2018: 269–85.
 13. Riger NA, Shipelin VA, Apyratin SA, Gmoshinski IV. Immunologicheskie markery alimentarno-inducirovannoj giperlipidemii u krys linii Vistar. *Voprosy pitaniya.* 2019; 88 (3): 44–52. Russian.
 14. Romantsova TI, Sych YuP. Immunometabolizm i metavospalenie pri ozhireнии. *Ozhirenie i metabolizm.* 2019; 16 (4): 3–17. Russian.
 15. Ghadge AA, Khaire AA. Leptin as a predictive marker for metabolic syndrome. *Cytokine.* 2019; 121: 154735.
 16. Gonzalez-Carter D, Goode AE, Fiammengo R, Dunlop IE, Dexter DT, Porter AE. Inhibition of Leptin-ObR Interaction Does not Prevent Leptin Translocation Across a Human Blood-Brain Barrier Model. *J Neuroendocrinol.* 2016; 28 (6). Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jne.12392>.
 17. Kiernan K, MacIver NJ. The Role of the Adipokine Leptin in Immune Cell Function in Health and Disease. *Front Immunol.* 2021; 11: 622468.
 18. Frühbeck G, Catalán V, Rodríguez A, et al. Normalization of adiponectin concentrations by leptin replacement in ob/ob mice is accompanied by reductions in systemic oxidative stress and inflammation. *Scientific Reports.* 2017; 7 (1): 2752.
 19. Lee B-C, Lee J. Cellular and molecular players in adipose tissue inflammation in the development of obesity-induced insulin resistance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — Molecular Basis of Disease.* 2014; 1842 (3): 446–62.
 20. Tanyanskiy DA, Denisenko AD. Vliyanie adiponektina na obmen uglevodov, lipidov i lipoproteinov: analiz signal'nykh mexanizmov. *Ozhirenie i metabolizm.* 2021; 18 (2): 103–11. Russian.
 21. Ritchie IR, Dyck DJ. Rapid loss of adiponectin-stimulated fatty acid oxidation in skeletal muscle of rats fed a high fat diet is not due to altered muscle redox state. *PLoS One.* 2012; 7 (12): e52193.
 22. Memoli B, Procino A, Calabrò P, Esposito P, Grandaliano G, Pertosa G, et al. Inflammation may modulate IL6 and C-reactive protein gene expression in the adipose tissue: the role of IL6 cell membrane receptor. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007; 293: E1030–E1035.
 23. Kaneko H, Anzai T, Nagai T, Anzai A, Takahashi T, Mano Y, et al. Human C-reactive protein exacerbates metabolic disorders in association with adipose tissue remodeling. *Cardiovasc Res.* 2011; 1: 546–55.
 24. do Carmo LS, Rogero MM, Paredes-Gamero EJ, Nogueira-Pedro A, Xavier JG, Cortezet M, et al. A high-fat diet increases interleukin-3 and granulocyte colony-stimulating factor production by bone marrow cells and triggers bone marrow hyperplasia and neutrophilia in Wistar rats. *Exp Biol Med (Maywood).* 2013; 238 (4): 375–84.
 25. Purdy JC, Shatzel JJ. The hematologic consequences of obesity. *Eur J Haematol.* 2021; 106 (3): 306–19.
 26. Farhangi MA, Keshavarz SA, Eshraghian M, Ostadrahimi A, Saboor-Yaraghi AA. White blood cell count in women: relation to inflammatory biomarkers, haematological profiles, visceral adiposity, and other cardiovascular risk factors. *J Health Popul Nutr.* 2013; 31 (1): 58–64.
 27. Herishanu Y, Rogowski O, Polliack A, Marilus R. Leukocytosis in obese individuals: possible link in patients with unexplained persistent neutrophilia. *European journal of haematology.* 2006; 76 (6): 516–20.
 28. Pini M, Rhodes DH, Fantuzzi G. Hematological and acute-phase responses to diet-induced obesity in IL6 KO mice. *Cytokine.* 2011; 56 (3): 708–16.
 29. Netzer N, Gatterer H, Faulhaber M, Burtscher M, Pramsohler S, Pesta D. Hypoxia, oxidative stress and fat. *Biomolecules.* 2015; 5: 1143–50.