

ПЕРСПЕКТИВНОСТЬ НОВОЙ АЛИМЕНТАРНОЙ МОДЕЛИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА ДЛЯ ИММУНОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ У КРЫС

Мухлынина Е.А.¹, Созыкин К.О.², Гетте И.Ф.¹

¹ ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук,
г. Екатеринбург, Россия

² ООО «Ситилаб-Урал», г. Екатеринбург, Россия

Резюме. Исследование патогенеза метаболического синдрома и его осложнений, а также вклада клеток иммунной системы в эти процессы невозможно без релевантных моделей на лабораторных животных. Хорошо зарекомендовала себя для этих целей алиментарная модель на основе западной диеты. Она соотносится с характером питания современного человека, воспроизводит ожирение, нарушения обмена углеводов и липидов, низкоинтенсивное системное воспаление. Однако данная диета подразумевает использование коммерческих специализированных кормов, доступ к которым в настоящее время серьезно ограничен, что обуславливает необходимость разработки собственного рациона на основе предложенных в известных публикациях пропорций ингредиентов с оценкой эффективности выбранной модели. Таким образом, целью настоящего исследования был анализ перспективности новой модификации рациона на основе западной диеты для моделирования метаболического синдрома у крыс Wistar. В состав пищевого рациона экспериментальной группы крыс входило 30% стандартного корма, 25% свиного сала, 25% сахарозы, 2% соли, доля белка в рационе восполнялась путем добавления соевого протеина. Животные находились на западной диете на протяжении 18 недель, начиная с 8-недельного возраста. У животных проводилась оценка биометрических показателей, общего анализа крови, биохимический анализ плазмы крови, гистохимическое окрашивание срезов печени на липиды. По результатам исследования было установлено, что, начиная с 6 недель, крысы экспериментальной группы начинают значительно превосходить контрольных по массе тела. Через 18 недель у них отмечается значимое увеличение массы тела, окружности талии, массы висцерального жира по сравнению с контролем, гипергликемия натощак на фоне неизменного уровня гликированного гемоглобина, признаки дислипидемии (повышение уровня триглицеридов, холестерина ЛПНП и ЛПОНП, коэффициента атерогенности), повышение индекса инсулинорезистентности НОМА-IR. Воспроизвести развитие жирового гепатоза у экспериментальных крыс не удалось, что следует отнести к лимитирующим факторам предложенной модели. Алиментарная модель

Адрес для переписки:

Мухлынина Елена Артуровна
ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии»
Уральского отделения Российской академии наук
620049, Россия, г. Екатеринбург,
ул. Первомайская, 106.
Тел./факс: 8 (343) 374-00-70.
E-mail: elena.mukhlynina@yandex.ru

Address for correspondence:

Elena A. Mukhlynina
Institute of Immunology and Physiology,
Ural Branch, Russian Academy of Sciences
106 Pervomayskaya St
Yekaterinburg
620049 Russian Federation
Phone/fax: +7 (343) 374-00-70.
E-mail: elena.mukhlynina@yandex.ru

Образец цитирования:

Е.А. Мухлынина, К.О. Созыкин, И.Ф. Гетте
«Перспективность новой алиментарной модели
метаболического синдрома для иммунофизиологических
исследований у крыс» // Российский иммунологический
журнал, 2025. Т. 28, № 1. С. 13-18.
doi: 10.46235/1028-7221-16992-SOA

© Мухлынина Е.А. и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

E.A. Mukhlynina, K.O. Sozykin, I.F. Gette “Suitability
of a new diet-induced model of metabolic syndrome for
immunophysiological studies in rats”, Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2025,
Vol. 28, no. 1, pp. 13-18.
doi: 10.46235/1028-7221-16992-SOA

© Mukhlynina E.A. et al., 2025
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16992-SOA

метаболического синдрома на основе западной диеты наиболее полно отражает особенности питания современного человека. Применявшийся рацион и сроки экспозиции позволяют достигнуть развития у крыс основного (ожирение) и ряда дополнительных критериев (гипергликемия, дислипидемия) метаболического синдрома. Таким образом, выбранная модель может успешно применяться для исследования иммунофизиологических аспектов патогенеза метаболического синдрома. Однако следует принимать во внимание отсутствие жировой дистрофии печени у экспериментальных животных.

Ключевые слова: модель метаболического синдрома, западная диета, ожирение, инсулинорезистентность, дислипидемия, гипергликемия

SUITABILITY OF A NEW DIET-INDUCED MODEL OF METABOLIC SYNDROME FOR IMMUNOPHYSIOLOGICAL STUDIES IN RATS

Mukhlynina E.A.^a, Sozykin K.O.^b, Gette I.F.^a

^a Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

^b LLC Citilab Ural, Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract. Studying the pathogenesis of metabolic syndrome and its complications as well as contribution of immune cells to these processes is impossible without relevant laboratory animal models. The nutritional model based on the Western diet was proven to be applicable for these purposes. It correlates with the nutritional pattern of modern humans by reproducing obesity, carbohydrate and lipid metabolism disorders, and low-intensity systemic inflammation. However, this diet involves the use of specialized commercial food, which is currently in limited access, thus requiring the development of a native diet based on the ratio of food ingredients proposed in well-known publications, with efficiency assessment of the selected model. Therefore, the purpose of present study was to evaluate the perspectives of a novel dietary modification based on a Western diet for modeling metabolic syndrome in Wistar rats. The diet of experimental group of rats included 30% standard food, 25% lard, 25% sucrose, 2% salt. The protein fraction in the diet was replenished by adding soy protein. The animals were fed a Western diet for 18 weeks, starting at 8 weeks of age. The examination of animals was based on biometric parameters, general blood counts, biochemical analysis of blood plasma, and histochemical staining of liver sections for lipids. Results: It was found that, starting from 6 weeks, the rats from experimental group significantly exceeded the control ones in the body mass. After 18 weeks, they showed a significant increase in body weight, waist circumference, visceral fat mass compared to the controls, fasting hyperglycemia (with unchanged levels of glycated hemoglobin), along with signs of dyslipidemia (increased levels of triglycerides, LDL and VLDL cholesterol, atherogenic quotient), and increased insulin resistance index HOMA-IR. We could not, however, reproduce the development of fatty hepatosis in experimental rats, which should be considered a limiting factor of the proposed model. The nutritional model of metabolic syndrome based on the Western diet closely resembles the nutritional habits of modern humans. The proposed diet and the exposure time allowed us to achieve the development of the main signs (obesity) and several additional criteria of metabolic syndrome (hyperglycemia, dyslipidemia) in the rat model. Thus, the chosen experimental model may be successfully used to study the immunophysiological aspects of metabolic syndrome. However, the absence of fatty liver disease in experimental animals should be taken into account.

Keywords: metabolic syndrome model, Western diet, obesity, insulin resistance, dyslipidemia, hyperglycemia

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-25-00481, <https://rscf.ru/project/24-25-00481/>.

Введение

Метаболический синдром (МС), а также связанные с ним гипергликемия, инсулино-

резистентность (ИР), дислипидемия и ожирение имеют чрезвычайно широкое распространение в человеческой популяции, являются факторами риска спектра серьезных патологий, в том числе сахарного диабета, сердечно-сосудистых заболеваний. Несмотря на большое количество исследований в данной области, патогенез возникнове-

ния и прогрессирования МС до конца не изучен. Участие клеток иммунной системы в патогенезе МС активно обсуждается, однако единой общей концепции по данному вопросу в настоящий момент не сформировано. Макрофаги, тучные клетки, различные виды лейкоцитов являются важным компонентом микроокружения, могут оказывать как местные, так и системные эффекты, продуцируют цитокины, факторы роста, протеазы, могут влиять на ремоделирование тканей, вовлекаясь в патогенез МС и его осложнений. Так, например, выявлены корреляции между активностью тучных клеток в подкожной жировой клетчатке, висцеральной и эпикардиальной жировой ткани и уровнем глюкозы, лептина, ИР, маркерами фиброза и повреждения эндотелия [1, 4, 5, 6]. Моделирование МС на лабораторных животных – важный инструмент в поиске механизмов его развития, который, однако, имеет и ряд ограничений. Применение моделей, не всегда отражающих патогенез МС у человека, использование разных видов лабораторных животных, наличие гендерных особенностей приводит зачастую к противоположным выводам относительно вклада иммунных клеток в развитие компонентов МС [3, 7]. Западная диета с высоким содержанием животных жиров, простых сахаров, соли и дефицитом пищевых волокон зарекомендовала себя как эффективный способ моделирования МС у крыс [2], при этом она хорошо отображает особенности питания современного человека, а значит более точно воспроизводит патогенетические основы МС. Однако известные способы ее моделирования предполагают использование зарубежных коммерческих высокожировых и высокоуглеводных кормов, доступ к которым заметно осложнен в настоящее время. Все это обуславливает необходимость отработки метода моделирования МС у лабораторных животных на основе вестернизированного рациона питания с использованием самостоятельно приготовленных кормов.

Цель исследования – оценить перспективность новой модификации рациона на основе западной диеты для моделирования метаболического синдрома у крыс.

Материалы и методы

Работа выполнена на 15 самках крыс линии Wistar в возрасте 8 недель. Крыс содержали в стандартных условиях вивария ИИФ УрО РАН. Все манипуляции с животными выполняли в соответствии с этическими принципами и нормативными документами Директивы Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС. Исследование одобрено этическим

комитетом ИИФ УрО РАН (протокол № 01-23 от 27 марта 2023).

Крысы контрольной группы ($n = 7$) получали стандартный коммерческий рацион («Дельта Фидс» (Арт. Лбк 120 С-19), АО «БиоПро», Россия). Крысы экспериментальной группы ($n = 8$) получали комбинированное питание с высоким содержанием насыщенных жиров, сахара и соли (так называемая «западная диета» [2] с некоторыми авторскими модификациями). Экспериментальный рацион готовили самостоятельно. Он включал в себя 30% стандартного коммерческого корма «Дельта Фидс», 25% свиного сала, 25% простых сахаров в виде сахарозы, 2% соли. Содержание белка доводили до 19% соевым протеином в соответствии с количеством белка в стандартном корме. Все животные имели свободный доступ к корму и воде. Еженедельно оценивали массу тела животных.

Через 18 недель в утренние часы после 12-часового голодания у крыс под наркозом (2% ксилазин (1 мл/кг) и золетил (3 мг/кг)) проводили взятие периферической крови из хвостовой вены в пробирки с антикоагулянтом К3-ЭДТА для проведения гематологического анализа, биохимического определения содержания глюкозы, гликированного гемоглобина, альбумина, мочевины, креатинина, триглицеридов (ТГ), общего холестерина, липопротеидов низкой (ЛПНП) и очень низкой плотности (ЛПОНП), липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ). Рассчитаны коэффициент де Ритиса как отношение активности АСТ и АЛТ в плазме крови, холестериновый коэффициент атерогенности как отношение разности концентраций общего холестерина и ЛПВП к концентрации ЛПВП, индекс триглицеридов-глюкозы как частное от деления произведения концентрации глюкозы и триглицеридов на два. Также измеряли массу тела, окружность талии, массу висцеральной жировой ткани (ВЖТ) и печени. Для оценки уровня ИР также проводили измерение концентрации инсулина в плазме крови при помощи набора реагентов Rat Insulin ELISA Kit (Sigma, RAB0904, США) и ИФА-анализатора Lazurite (Dynex Technologies, США). Индекс инсулинорезистентности НОМА-IR рассчитан как частное от деления произведения концентрации инсулина (мкЕд/мл) на содержание глюкозы (ммоль/л) и числа 22,5. Общий анализ крови выполняли при помощи гематологического анализатора Mindray BC-2800Vet (Mindray, Китай). Для оценки степени жировой дистрофии печени проводили гистохимическое окрашивание криостатных срезов печени на липиды при помощи красителя Oil Red O (Acros Organics, США).

Анализ изображений проводили на микроскопе Leica DM2500 с видеокамерой Leica DFC420 при помощи программы Leica Application Suite v. 4.9. Подсчет количества липидных включений в гепатоцитах был проведен в 20 полях зрения у каждого животного.

Статистический анализ данных выполняли с помощью пакета прикладных статистических программ Statistica 10.0 (StatSoft, США). Данные представлены в виде среднего арифметического (М) и стандартной ошибки среднего (SEM). Для проверки гипотезы об однородности двух независимых выборок использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. При проверке статистических гипотез использовали 5%-ный уровень значимости.

Результаты и обсуждение

Полученные данные свидетельствуют, что применяемая экспериментальная диета с высоким содержанием насыщенных жиров, простых сахаров и соли вызывает повышение массы тела подопытных животных по сравнению с контролем с 6 недели экспозиции. Через 18 недель у крыс, получавших вестернизированное питание, масса тела, окружность талии, масса ВЖТ, индекс жировой ткани были значительно выше, чем у контрольных животных (табл. 1). При этом масса печени не изменяется. Развитие абдоминального ожирения принято считать главным критерием МС.

По результатам гематологического анализа периферической крови у крыс, получавших 18 недель специальное питание, было выявлено снижение относительного содержания моноци-

тов (с $4,07 \pm 0,5$ до $3,00 \pm 0,13$), абсолютного содержания эритроцитов (с $8,50 \pm 0,22$ до $7,86 \pm 0,16$) гемоглобина (с $182,71 \pm 1,97$ до $167,75 \pm 2,02$), гематокрита (с $47,97 \pm 0,82$ до $45,02 \pm 0,50$), показателя гетерогенности эритроцитов (с $10,83 \pm 0,14$ до $11,89 \pm 0,26$), среднего объема тромбоцитов (с $6,37 \pm 0,07$ до $5,96 \pm 0,06$) и показателя гетерогенности тромбоцитов (с $16,01 \pm 0,09$ до $15,65 \pm 0,06$). Выявленные отклонения показателей, однако, не выходят за пределы физиологических значений. Наблюдаемые явления в эритроцитарном ростке, вероятно, можно связать с формирующимися изменениями функции печени, что находит отражение в снижении эритропоэза и увеличении гемолиза эритроцитов.

Биохимический анализ выявил у крыс, сохранившихся на западной диете, признаки нарушения углеводного обмена в виде повышения уровня глюкозы натощак (табл. 2) без значимого влияния на уровень гликированного гемоглобина. По-видимому, гипергликемия у экспериментальных животных не была длительной. Также у крыс при моделировании МС определяются признаки нарушения липидного обмена: повышено содержание ТГ и триглицерид-глюкозного коэффициента, снижено количество холестерина ЛПВП на фоне увеличения ЛПНП, ЛПОНП, коэффициента атерогенности (табл. 2). Общий холестерин остается на уровне контроля. Наблюдаемые изменения липидного профиля и гипергликемия натощак относятся к дополнительным критериям МС и факторами риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. Содержание альбумина, АСТ, мочевины и креатинина в группе с западной диетой соответствуют контрольным значениям, что указывает на сохранение функ-

ТАБЛИЦА 1. БИОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА (M±m)

TABLE 1. BIOMETRIC PARAMETERS OF RATS UNDER METABOLIC SYNDROME MODELING (M±m)

Показатель Parameter	Контроль Control	Западная диета Western diet
Длина тела, см Body length, cm	20,97±0,17	21,15±0,09
Окружность талии, см Waist circumference, cm	17,57±0,18	19,09±0,24*
Масса печени, г Liver weight, g	8,11±0,52	8,33±0,40
Масса ВЖТ, г VAT weight, g	16,50±1,22	28,97±1,12*
ИЖТ, % Adiposity index, %	6,14±0,42	9,86±0,19*
Масса тела, г Body weight, g	268,29±5,68	293,38±7,20*

Примечание. * – различия с контролем достоверны (U-тест Манна–Уитни, $p < 0,05$).

Note. *, significant differences with control group (Mann–Whitney (U) test, $p < 0.05$).

ТАБЛИЦА 2. БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПЛАЗМЫ КРОВИ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА (M±m)

TABLE 2. BIOCHEMICAL PARAMETERS OF RAT BLOOD PLASMA UNDER METABOLIC SYNDROME MODELING (M±m)

Показатель Parameter	Контроль Control	Западная диета Western diet
Глюкоза, ммоль/л Glucose, mmol/L	5,79±0,26	9,31±0,25*
НbA1c, %	4,48±0,21	4,65±0,10
АСТ, мкмоль/мин × л AST, μmol/min × L	15,87±0,62	15,70±0,81
АЛТ, мкмоль/мин × л ALT, μmol/min × L	10,46±0,39	12,54±0,55*
АСТ/АЛТ, у. е. AST/ALT, с. у.	1,52±0,05	1,26±0,07*
Альбумин, г/л Albumine, g/L	40,49±0,85	41,74±1,00
Мочевина, мкмоль/л Urea, μmol/L	4,76±0,17	5,14±0,15
Креатинин, мкмоль/л Creatinine, μmol/L	70,87±2,80	75,84±2,80
ХС общий, ммоль/л Cholesterol, mmol/L	1,72±0,07	1,63±0,05
ТГ, ммоль/л Triglycerides, mmol/L	0,13±0,01	0,29±0,02*
ЛПВП, ммоль/л HDL, mmol/L	1,44±0,09	1,11±0,05*
ЛПОНП, ммоль/л VLDL, mmol/L	0,06±0,01	0,12±0,01*
ЛПНП, ммоль/л LDL, mmol/L	0,22±0,05	0,41±0,04*
Коэффициент атерогенности, у. е. Atherogenic index, с. у.	0,21±0,05	0,49±0,06*
ТГ-коэффициент, у. е. Triglycerides-Glucose index, с. у.	0,37±0,04	2,23±0,21*
Инсулин, Ед/мл Insuline, U/mL	2,87±0,14	2,65±0,08
НОМА-IR, у. е. НОМА-IR, с. у.	0,74±0,04	1,10±0,05*

Примечание. * – различия с контролем достоверны (U-тест Манна–Уитни, $p < 0,05$).

Note. *, significant differences with control group (Mann–Whitney (U) test, $p < 0.05$).

ций печени и почек. Несколько повышается АЛТ и, соответственно, снижается коэффициент де Ритиса (табл. 2), что может указывать на повреждение миокарда.

Специальная диета также приводит к снижению резистентности к инсулину, о чем свидетельствует повышение индекса НОМА-IR (табл. 2), хотя уровень инсулина натощак при этом остается в пределах нормы.

Применявшаяся диета не вызвала развития жирового гепатоза. Масса печени у крыс опыт-

ной группы не изменилась, биохимические и гистологические признаки цитолиза гепатоцитов, жировой дистрофии не были обнаружены.

Заключение

Используемая алиментарная модель МС на основе западной диеты наиболее полно отражает особенности питания современного человека. Выбранное соотношение компонентов и сроки экспозиции позволяют достигнуть развития у крыс абдоминального ожирения, повышения

уровня ТГ, ЛПНП, гипергликемии натощак, ИР. При этом используемая диета не подходит для моделирования жирового поражения печени, что является лимитирующим фактором ее применения. Однако основной критерий МС в виде центрального ожирения, а также дополнительные критерии (дислипидемия, нарушение толерантности к глюкозе) воспроизводятся достаточно успешно, соответственно, предложенная модель

перспективна для изучения функций иммунных клеток при развитии данных патологических изменений.

Благодарности

Авторы выражают благодарность ЦКП ИИФ УрО РАН за возможность использования научно-оборудования.

Список литературы / References

1. Altintas M.M., Azad A., Nayer B., Contreras G., Zaias J., Faul C., Reiser J., Nayer A. Mast cells, macrophages, and crown-like structures distinguish subcutaneous from visceral fat in mice. *J. Lipid. Res.*, 2011, Vol. 52, no. 3, pp. 480-488.
2. Bortolin R.C., Vargas A.R., Gasparotto J., Chaves P.R., Schnorr C.E., Martinello K.B., Silveira A.K., Rabelo T.K., Gelain D.P., Moreira J.C.F. A new animal diet based on human Western diet is a robust diet-induced obesity model: comparison to high-fat and cafeteria diets in term of metabolic and gut microbiota disruption. *Int. J. Obes. (Lond.)*, 2018, Vol. 42, no. 3, pp. 525-534.
3. Chmelař J., Chatzigeorgiou A., Chung K.J., Prucnal M., Voehringer D., Roers A., Chavakis T. No role for mast cells in obesity-related metabolic dysregulation. *Front. Immunol.*, 2016, Vol. 7, 524. doi: 10.3389/fimmu.2016.00524.
4. Divoux A., Moutel S., Poitou C., Lacasa D., Veyrie N., Aissat A., Arock M., Guerre-Millo M., Clément K. Mast cells in human adipose tissue: link with morbid obesity, inflammatory status, and diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2012, Vol. 97, no. 9, pp. E1677-E1685.
5. Gurung P., Moussa K., Adams-Huet B., Devaraj S., Jialal I. Increased mast cell abundance in adipose tissue of metabolic syndrome: relevance to the proinflammatory state and increased adipose tissue fibrosis. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2019, Vol. 316, no. 3, pp. E504-E509.
6. Liu J., Divoux A., Sun J., Zhang J., Clément K., Glickman J.N., Sukhova G.K., Wolters P.J., Du J., Gorgun C.Z., Doria A., Libby P., Blumberg R.S., Kahn B.B., Hotamisligil G.S., Shi G.P. Deficiency and pharmacological stabilization of mast cells reduce diet-induced obesity and diabetes in mice. *Nat. Med.*, 2009, Vol. 15, no. 8, pp. 940-945.
7. Uemura K., Kondo H., Ishii Y., Kobukata M., Haraguchi M., Imamura T., Otsubo T., Ikebe-Ebata Y., Abe I., Ayabe R., Saito S., Aoki K., Nagano-Torigoe Y., Akioka H., Shinohara T., Teshima Y., Masaki T., Yufu K., Nakagawa M., Takahashi N. Mast Cells play an important role in the pathogenesis of hyperglycemia-induced atrial fibrillation. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.*, 2016, Vol. 27, no. 8, pp. 981-989.

Авторы:

Мухлынина Е.А. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории морфологии и биохимии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Созыкин К.О. — врач клинической лабораторной диагностики ООО «Ситилаб-Урал», г. Екатеринбург, Россия

Гетте И.Ф. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории морфологии и биохимии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Authors:

Mukhlynina E.A., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Morphology and Biochemistry, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Sozykin K.O., Doctor for Clinical Laboratory Diagnostics, LLC Citilab Ural, Yekaterinburg, Russian Federation

Gette I.F., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Morphology and Biochemistry, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Поступила 15.05.2024
Принята к печати 31.07.2024

Received 15.05.2024
Accepted 31.07.2024