

УДК 611.127:616.127:613.25]-092.9  
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2025-4-49-58>

## Корреляция экспрессии рецептора-2 сосудистого эндотелиального фактора роста и морфологических изменений миокарда крыс на высокоуглеводной высокожировой диете

Логвинов С.В.<sup>1</sup>, Мустафина Л.Р.<sup>1</sup>, Фокин В.А.<sup>1</sup>, Акбашева О.Е.<sup>1</sup>, Герасимов А.В.<sup>1</sup>, Потапов А.В.<sup>1</sup>, Геренг Е.А.<sup>1</sup>, Ласукова Т.В.<sup>1</sup>, Тихоновская О.А.<sup>1</sup>, Нарыжная Н.В.<sup>2</sup>, Курбатов Б.К.<sup>2</sup>, Горбунов А.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт (НИИ) кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (НИМЦ)  
Россия, 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а

### РЕЗЮМЕ

**Цель:** с помощью иммуногистохимического метода оценить взаимосвязь экспрессии рецептора-2 сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGFR2) в миокарде с морфологическими изменениями кардиомиоцитов у крыс на высокоуглеводной высокожировой диете в возрастном аспекте.

**Материалы и методы.** Исследование проведено на самцах крыс линии Вистар в возрасте 5 и 18 мес, одна часть которых содержалась на стандартном пищевом рационе, другая – предварительно находилась на высокоуглеводной и высокожировой диете (ВУВЖД) в течение 90 дней. VEGFR2 выявляли при иммуногистохимическом окрашивании срезов миокарда, признаки повреждения миокарда оценивали по наличию перинуклеарного опустошения (отека) саркоплазмы и контрактурных изменений кардиомиоцитов, кариопикноза, изменений удельных объемов стромы.

**Результаты.** Увеличение удельного объема VEGFR2 иммуногистохимически позитивных кардиомиоцитов возникает у молодых (5 мес) крыс на ВУВЖД, у старых крыс (18 мес) на стандартной диете и, в наибольшей степени, у возрастных животных, содержавшихся на ВУВЖД. Изменение доли кардиомиоцитов, экспрессирующих VEGFR2, коррелирует с содержанием кардиомиоцитов с морфологическими признаками повреждения в виде кариопикноза, контрактуры и опустошения перинуклеарной зоны саркоплазмы. По данным множественного регрессионного анализа, у старых животных наибольший вклад во влияние на изменение экспрессии VEGFR2 в кардиомиоцитах оказали кариопикнотические нарушения.

**Заключение.** ВУВЖД вызывает закономерные изменения экспрессии VEGFR2 в кардиомиоцитах, зависящие от возраста и степени поражения миокарда. Результаты исследования позволяют предполагать, что протекторная направленность экспрессии VEGFR2 может быть нарушена при ВУВЖД и с возрастом.

**Ключевые слова:** возрастные изменения миокарда, высокоуглеводная высокожировая диета, рецептор-2 сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGFR2), контрактурные изменения кардиомиоцитов

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Работа выполнена в рамках фундаментального научного исследования № 122020300042-4.

**Соответствие принципам этики.** Исследование одобрено этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ (протокол № 201 от 30.07.2020).

✉ Мустафина Лилия Рамильевна, lrmustafina@yandex.ru

**Для цитирования:** Логвинов С.В., Мустафина Л.Р., Фокин В.А., Акбашева О.Е., Герасимов А.В., Потопов А.В., Геренг Е.А., Ласукова Т.В., Тихоновская О.А., Нарыжная Н.В., Курбатов Б.К., Горбунов А.С. Корреляция экспрессии рецептора-2 сосудистого эндотелиального фактора роста и морфологических изменений миокарда крыс на высокоуглеводной высокожировой диете. *Бюллетень сибирской медицины*. 2025;24(4):49–58. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2025-4-49-58>.

## Correlation of vascular endothelial growth factor receptor-2 expression and morphological changes in the myocardium of rats on a high-carbohydrate high-fat diet

Logvinov S.V.<sup>1</sup>, Mustafina L.R.<sup>1</sup>, Fokin V.A.<sup>1</sup>, Akbasheva O.E.<sup>1</sup>, Gerasimov A.V.<sup>1</sup>, Potapov A.V.<sup>1</sup>, Gereng E.A.<sup>1</sup>, Lasukova T.V.<sup>1</sup>, Tikhonovskaya O.A.<sup>1</sup>, Naryzhnaya N.V.<sup>2</sup>, Kurbatov B.K.<sup>2</sup>, Gorbunov A.S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Siberian State Medical University

<sup>2</sup> Moskovsky trakt, 634050 Tomsk, Russian Federation

<sup>2</sup> Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences  
111a Kievskaya St., 634012 Tomsk, Russian Federation

### ABSTRACT

**Aim.** To evaluate the relationship between the expression of vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR2) in the myocardium and its association with morphological changes in cardiac muscle cells in rats on a high-carbohydrate high-fat diet with regard to the age using the immunohistochemical method.

**Materials and methods.** The study was conducted on male Wistar rats aged 5 and 18 months, some of which were kept on a standard diet, while the other was previously kept on a high-carbohydrate and high-fat diet (HCHFD) for 90 days. VEGFR2 was detected by immunohistochemical staining of myocardial sections, signs of myocardial damage were assessed by the presence of perinuclear depletion (edema) of the sarcoplasm and contracture changes in cardiac muscle cells, karyopyknosis, and changes in the specific volumes of the stroma.

**Results.** An increase in the specific volume of VEGFR2 immunohistochemically positive cardiomyocytes occurs in young (5 months old) rats on HCHFD, in old (18 months old) rats on a standard diet, and, to the greatest extent, in aged animals receiving HCHFD. The change in the proportion of cardiomyocytes expressing VEGFR2 correlates with the content of cardiomyocytes with morphological signs of damage in the form of karyopyknosis, contracture, and depletion of the perinuclear zone of sarcoplasm. According to multiple regression analysis, karyopyknotic disorders made the greatest contribution to the effect on the change in VEGFR2 expression in cardiomyocytes in older animals.

**Conclusion.** HCHFD induces predictable changes in VEGFR2 expression in cardiac muscle cells, depending on age and the severity of myocardial damage. The study results suggest that the protective effect of VEGFR2 expression may be disrupted in HCHFD and with age.

**Keywords:** age-related myocardial changes, high-carbohydrate high-fat diet, vascular endothelial growth factor receptor-2 (VEGFR2), contracture changes in cardiac muscle cells

**Conflict of interest.** The authors declare no obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** This work was conducted as part of fundamental scientific research project No. 122020300042-4.

**Conformity with the principles of ethics.** The study was approved by the Ethics Committee of the Cardiology Research Institute of Tomsk NRMС RAS (Minutes No. 201 dated July 30, 2020).

**For citation:** Logvinov S.V., Mustafina L.R., Fokin V.A., Akbasheva O.E., Gerasimov A.V., Potapov A.V., Gereng E.A., Lasukova T.V., Tikhonovskaya O.A., Naryzhnaya N.V., Kurbatov B.K., Gorbunov A.S. Correlation of vascular endothelial growth factor receptor-2 expression and morphological changes in the myocardium of rats on a high-carbohydrate high-fat diet. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2025;24(4):49–58. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2025-4-49-58>.

## ВВЕДЕНИЕ

Сердечно-сосудистые заболевания во многом являются результатом неправильного образа жизни, включая несбалансированное питание с повышенным уровнем жиров и углеводов, что оказывает влияние как на общий метаболизм, так и на метаболизм эндотелия в частности [1, 2]. Ключевым звеном в этом процессе выступает нарушение ангиогенеза и эндотелиальная дисфункция, что было показано в экспериментах с метаболическими нарушениями у животных: снижение плотности микрососудов и экспрессии рецептора-2 сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGFR2) лежало в основе процесса нарушения передачи сигналов по пути VEGF/VEGFR в эндотелиальных клетках сердца [2, 3]. При этом дисбаланс в системе VEGF, выступающей ключевым регулятором ангиогенеза и выживаемости кардиомиоцитов, может усугублять течение сердечно-сосудистых заболеваний [4]. Важность пути VEGF/VEGFR подчеркивается тем, что двунаправленная сигнализация между эндотелиальными клетками и кардиомиоцитами через VEGFR2 координирует физиологический рост сердца, а его нарушение способствует переходу к патологической гипертрофии и сердечной недостаточности [2].

В миокарде источником VEGF, наряду с эндотелием, являются кардиомиоциты [4]. При перегрузке насыщенными жирными кислотами усиливается апоптоз кардиомиоцитов *in vitro* [5], в то же время липотоксические эффекты на миокард нивелируются за счет сверхэкспрессии VEGF, благодаря чему жизнеспособность кардиомиоцитов в значительной степени восстанавливается. Защитное действие VEGF в борьбе с апоптозом кардиомиоцитов может определять терапевтические цели при заболеваниях, обусловленных стрессом жирных кислот [6].

Вместе с тем влияние высокоуглеводной высокожировой диеты (ВУВЖД) на экспрессию VEGFR2 в миокарде остается неизученным. Выявление этого звена является критически важным для полного понимания патогенеза и разработки новых стратегий лечения и профилактики сердечно-сосудистых осложнений при нарушениях метаболизма, связанных с избыточным употреблением насыщенных жирных кислот и углеводов, что и определяет высокую актуальность настоящего исследования.

Цель настоящей работы – с помощью иммуногистохимического метода оценить взаимосвязь экспрессии VEGFR2 в миокарде с морфологическими изменениями кардиомиоцитов у крыс на ВУВЖД в возрастном аспекте.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на самцах крыс линии Вистар в возрасте 2 и 15 мес. Все процедуры соответствовали Директиве Европейского парламента 2010/63/EU и заявлению FASEB о принципах использования животных в исследованиях и образовании. Исследование одобрено этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ (протокол № 201 от 30.07.2020).

Экспериментальные группы формировали следующим образом: группа 1 ( $n = 14$ ) – интактные 150-дневные (5-месячные) крысы, содержащиеся на стандартном рационе в течение 90 сут (с 60-дневного возраста); группа 2 ( $n = 14$ ) – 150-дневные крысы, содержащиеся на ВУВЖД в течение 90 сут (с 60-дневного возраста); группа 3 ( $n = 14$ ) – интактные 540-дневные (18-месячные) крысы, содержащиеся на стандартном рационе в течение 90 сут (с 450-дневного возраста); группа 4 ( $n = 14$ ) – 540-дневные крысы, содержащиеся на ВУВЖД в течение 90 сут (с 450-дневного возраста). ВУВЖД включала 16% белков, 21% жиров, 46% углеводов, в том числе 17% фруктозы, 0,125% холестерина. Вода была заменена 20%-м раствором фруктозы. Крысам групп 1 и 3 (интактным животным) давали стандартный корм для грызунов (белки – 24%, жиры 6%, углеводы – 44%) и чистую воду *ad libitum*.

Из эксперимента животных выводили путем декапитации с предварительной анестезией хлоралозой (100 мг/кг внутрибрюшинно). Для гистологического исследования стенку сердца разрезали на кусочки толщиной 2–3 мм, фиксировали в 10%-м растворе забуференного формалина в течение 24 ч, промывали в проточной воде и обезвоживали в растворе для гистологической обработки на основе абсолютизированного изопропилового спирта Изопреп (ООО «БиоВитрум», Санкт-Петербург). После обезвоживания образцы миокарда заливали в гомогенизованную парафиновую среду для заливки BioPlast (BioOptica, Италия).

Гистологические срезы толщиной 5–7 мкм, полученные при помощи ротационного механического микротомы HM 325 (Thermo Scientific, США), окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван Гизону (красители ООО «БиоВитрум», Санкт-Петербург). Экспрессию VEGFR2 в кардиомиоцитах оценивали иммуногистохимическим методом с использованием кроличьих поликлональных антител в разведении 1 : 50 (E3712, Spring Bioscience, США) согласно инструкции производителя. В качестве хромогена использовали 3,3'-диаминобензидин, докрасивали гематоксилином. Окрашенные препараты заключа-

ли в синтетическую монтирующую среду BioMount (BioOptica, Италия) и изучали под световым микроскопом Axio Lab.A1 (Carl Zeiss, Германия). Микрофотографии гистологических препаратов получали с помощью фотокамеры AxioCam 105 color (Carl Zeiss, Германия).

В миокарде левого желудочка подсчитывали среднее содержание в поле зрения микроскопа кардиомиоцитов с кариопикнозом, перинуклеарным опустошением (отеком) саркоплазмы, контрактурными изменениями, а также содержание неизмененных кардиомиоцитов. Подсчет кардиомиоцитов производили в 20 независимых полях зрения каждого среза миокарда левого желудочка сердца при  $\times 400$ , площадь поля зрения составила 0,196 мм<sup>2</sup>. С помощью окулярной сетки Автандилова определяли удельные объемы (%) соединительной ткани стромы миокарда, окрашенной по Ван Гизону, и VEGFR2-позитивных кардиомиоцитов, экспрессию которых выявляли при постановке иммуногистохимической реакции.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 13.0 (StatSoft Inc., США). Полученные данные прошли проверку на согласие распределения с нормальным законом с помощью критерия Шапиро – Уилка. Данные, не соответствовавшие нормальному распределению, представляли в виде медианы и межквартильного интервала  $Me (Q_1-Q_3)$ . Проверку на гомогенность дисперсий производили с использованием критерия Левене. Статистическую значимость различий показателей в группах оценивали по критерию Манна – Уитни с поправкой Бонферрони на множественные сравнения. При шести парных сравнениях различия считали статистически значимыми на уровне статистической значимости  $p = 0,05$ , если гипотеза о равенстве средних значений показателей отвергалась на уровне  $p = 0,05/6$

Для оценки взаимосвязи показателей рассчитывался коэффициент корреляции Спирмена. Для выявления зависимости экспрессии VEGFR2 в кардиомиоцитах от таких переменных, как кариопикноз, контрактура, перинуклеарное опустошение цитоплазмы кардиомиоцитов, удельный объем стромы, был проведен множественный регрессионный анализ. Стандартизованная регрессионная модель строилась по показателям предварительно преобразованным так, что среднее значение каждого показателя равно 0, а стандартное отклонение 1:

$$VEGF = B_1 \times X_1 + B_2 \times X_2 + B_3 \times X_3 + B_4 \times X_4,$$

где:  $X_1$  – кариопикноз,  $X_2$  – перинуклеарное опустошение цитоплазмы (отек),  $X_3$  – контрактура,  $X_4$  – строма.

В этом случае коэффициенты позволяют оценивать относительный вклад каждой независимой переменной в предсказание зависимой переменной VEGF в процентах по формуле

$$Ki = \frac{Bi}{\sum_{i=1}^4 Bi} \times 100\%.$$

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В группе 1 крыс (5 мес, стандартная диета) иммуногистохимическое исследование экспрессии VEGFR2 показало слабое окрашивание небольшой части кардиомиоцитов и более интенсивное окрашивание эндотелиоцитов некоторых гемокапилляров миокарда (рис. 1, а). Удельный объем VEGFR2-позитивных кардиомиоцитов составил 15,3 (13,2–16,3)%. У крыс группы 2 (5 мес, на ВУВЖД) иммуногистохимическая окраска носила мозаичный характер. Кардиомиоциты, окрашенные в светло-коричневый цвет, чередовались с неокрашенными клетками миокарда, граница между ними, как правило, была отчетливой (рис. 1, б).

Доля VEGFR2-позитивных кардиомиоцитов возросла по сравнению с таковой в группе 1 и составила 32,2 (27,2–34,8)% ( $p_{1-2} = 0,048$ ). В группе 2 гистологически выявлено увеличение количества кардиомиоцитов с кариопикнозом до 1,3 (1,2–1,5) в поле зрения против 0,4 (0,3–0,4) в группе 1 ( $p_{1-2} = 0,0003$ ), а также количества кардиомиоцитов с литическими изменениями в виде опустошения (отека) цитоплазмы в перинуклеарной зоне до 1,2 (0,9–1,3) в поле зрения против 0,5 (0,3–0,6) в группе 1 ( $p = 0,0003$ ).

Указанные морфологические изменения были проиллюстрированы в одном из наших предыдущих сообщений [11]. Содержание кардиомиоцитов с контрактурными изменениями составило 0,1 (0,1–1,0) в поле зрения, значимых отличий по данному показателю в группах 1 и 2 не было. В целом содержание кардиомиоцитов с повреждениями ядра и цитоплазмы в группе 2 возрастало до уровня 8% от всех кардиомиоцитов против 3% в группе 1.

В группе 3 (18 мес, стандартная диета) содержание, характер окрашивания и распределение VEGFR2-позитивных кардиомиоцитов сопоставимы с наблюдаемыми в группе 2, а удельный объем их составил 36,4% (33,6–38,2%;  $p_{1-3} = 0,018$ ). В группе 3 значимо по сравнению с группами 1 и 2, до 2,5% (2,2–2,7 %;  $p_{1-3} = 0,0003$ ), возросло содержание кариопикнотичных кардиомиоцитов, до 1,5% (1,4–1,5%;  $p_{1-3} = 0,0003$ ) кардиомиоцитов с литическими изменениями, до 1,1% (1,1–1,5%;  $p_{1-3} = 0,0003$ ) – с контрактурой в поле зрения. Всего измененные кардиомиоциты в группе 3 составили порядка 16%.

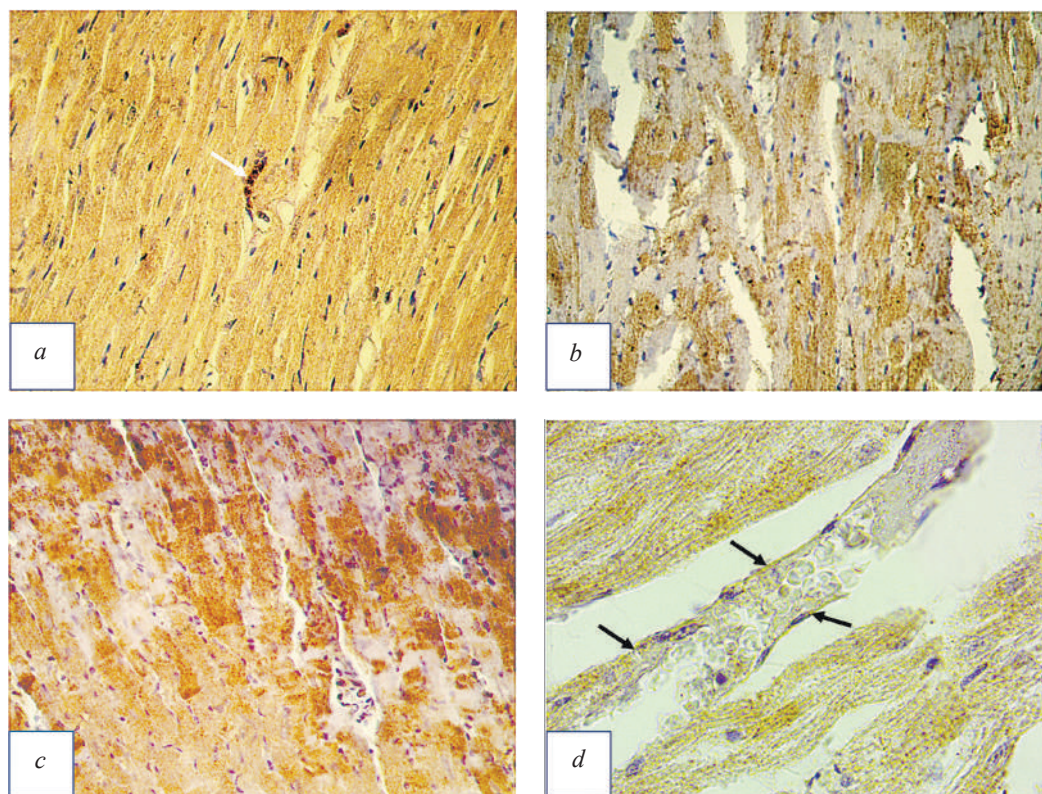


Рис. 1. Иммуногистохимическое выявление VEGFR2 в миокарде крыс: *a* – миокард 5-месячных крыс на стандартной диете (группа 1), слабая экспрессия VEGFR2 в кардиомиоцитах и более интенсивное окрашивание эндотелия гемокапилляра (стрелка); *b* – мозаичное VEGFR2-положительное окрашивание кардиомиоцитов у 5-месячных крыс на ВУВЖД; *c* – интенсивное VEGFR2 окрашивание большинства кардиомиоцитов 18-месячных крыс на ВУВЖД (группа 4); *d* – экспрессия VEGFR2 в кардиомиоцитах и эндотелии кровеносных сосудов миокарда 18-месячных крыс на ВУВЖД (группа 4).  $\times 400$

В группе 4 удельный объем VEGFR2-положительных кардиомиоцитов (см. рис. 1, *c*) увеличился до 79,4% (62,0–82,2%;  $p_{1-4} < 0,0001$ ;  $p_{2-4} = 0,00264$ ;  $p_{3-4} > 0,05$ ). В данной группе содержание кариопикнотичных кардиомиоцитов составило 3,1 (1,9–6,0;  $p_{3-4} = 0,025$ ) в поле зрения, с литическими изменениями цитоплазмы – 1,4 (1,2–2,1;  $p_{3-4} = 0,6$ ) и с контрактурными изменениями – 1,3 (0,9–2,5;  $p_{3-4} = 0,3$ ). Наряду с кардиомиоцитами иммуно-

положительное окрашивание на VEGFR2 характеризует цитоплазму значительной части эндотелиоцитов артериол, капилляров и венул миокарда (см. рис. 1, *d*). В целом поврежденные кардиомиоциты в группе 4 были на уровне 19% от всей популяции.

Корреляционный анализ показал значимые положительные или отрицательные связи между различными показателями в группе 1 (рис. 2).

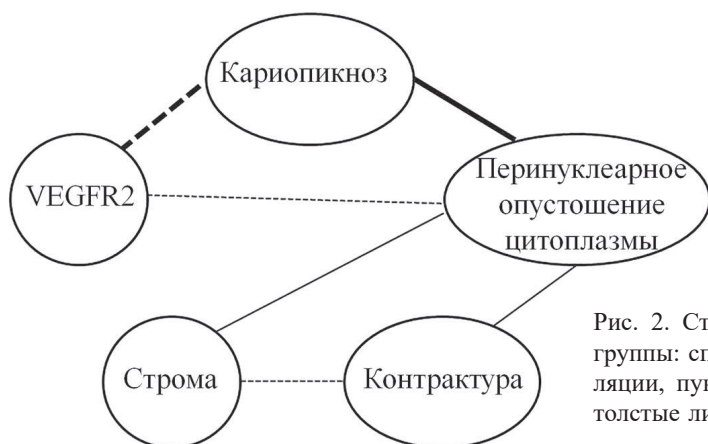


Рис. 2. Структурная схема корреляционных связей для первой группы: сплошные линии – положительный коэффициент корреляции, пунктирные – отрицательный коэффициент корреляции, толстые линии – сильная связь  $|r| > 0,7$ , тонкие линии – средняя связь  $0,3 < |r| < 0,7$

Так, сильная положительная связь отмечена между содержанием кардиомиоцитов с кариопикнозом и их литическими изменениями в виде опустошения (отека) перинуклеарной зоны цитоплазмы (Спирмена  $r = 0,89$ ;  $p = 0,0001$ ), средняя положительная – между кариопикнотическими нарушениями и контрактурой цитоплазмы ( $r = 0,69$ ;  $p = 0,0136$ ), но сильная отрицательная – между содержанием кардиомиоцитов с кариопикнозом и удельным объемом кардиомиоцитов с экспрессией VEGF ( $r = -0,80$ ;  $p = 0,017$ ), средняя отрицательная – между литическими изменениями в виде опустошения перинуклеарной зоны цитоплазмы и экспрессией VEGFR2 ( $r = -0,66$ ;  $p = 0,0193$ ), а также между контрактурой кардиомиоцитов и удельным объемом стромы миокарда ( $r = -0,61$ ;  $p = 0,0349$ ).

В группах 2–4 корреляционные связи между показателями средние или слабые, и они статистически не значимы, чаще на уровне тенденции. Так, в группе 4 положительные корреляционные связи средней силы зарегистрированы между кариопикнозом и экспрессией VEGF ( $r = 0,36$ ;  $p = 0,2769$ ), между контрактурой и VEGFR2 ( $r = 0,38$ ;  $p = 0,2466$ ).

На рис. 3 представлен относительный вклад каждой независимой переменной в предсказание зависимой переменной VEGFR2 в исследуемых группах. Если коэффициент положительный, то чем больше показатель, тем больше величина VEGFR2, и наоборот.

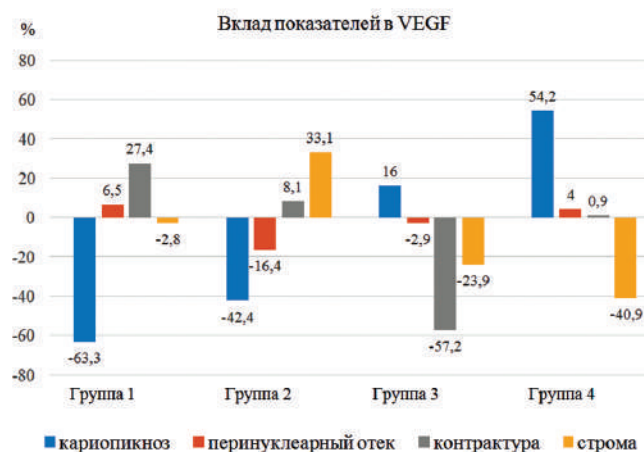


Рис. 3. Множественный регрессионный анализ для выявления зависимости VEGF от показателей:  $X_1$  – кариопикноз,  $X_2$  – перинуклеарный опустошение (отек) цитоплазмы,  $X_3$  – контрактура,  $X_4$  – строма (удельные объемы)

Так, в группе 1 наибольшее положительное влияние имеет контрактура кардиомиоцитов – 27,4%, а относительно небольшой уровень кариопикноза оказывает отрицательный эффект на экспрессию VEGFR2. В группе 2 нарастает влияние увеличе-

ние удельного объема стромы до 33%, влияние кариопикноза демонстрирует отрицательную связь (-42,4%). В группах 3 и 4 с возрастными (18 мес) животными усиливается положительная связь между кариопикнозом и экспрессией VEGFR2. Так, в группе 3 вклад кариопикноза составляет 16,6%, а в группе 4 – 54,2%. В то время как фиброзные изменения стромы оказывают отрицательное влияние на экспрессию VEGFR2, в группе 3 вклад стромы – 23,9%, в группе 4 – 40,9%.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Накоплено большое количество данных, указывающих на то, что экспрессия рецепторов VEGF не ограничивается эндотелиальными клетками и что их лиганды выполняют множество фундаментальных функций в других типах клеток. Неангиогенные функции VEGF включают способность предотвращать гибель нейронов в результате ишемии и стимулировать нейрогенез, стимулировать регенерацию гепатоцитов после повреждения печени, миграцию и дифференцировку остеобластов [7–10].

Кардиомиоциты являются источником и мишенью VEGF-A, экспрессируют его рецепторы VEGFR1 и VEGFR2 на своей клеточной поверхности. Следует отметить, что хотя VEGFR1 прочно связывает VEGF-A, он имеет гораздо более слабую киназную активность по сравнению с VEGFR2. Следовательно, биологический эффект VEGF-A через активацию VEGFR1 намного слабее, чем тот, который оказывается через VEGFR2 при метаболическом синдроме [1, 3]. Подчеркнем, что в одном из наших предыдущих сообщений приведены данные о том, что содержание на ВУВЖД в аналогичном эксперименте моделировало у старых крыс развитие метаболического синдрома с увеличением веса животных, массы жировой ткани, повышением сывороточной глюкозы, инсулина, эндотелина 1, инсулинорезистентностью и другими показателями нарушения углеводного обмена, а также к деструктивным изменениям стенки аорты и стойкой гипертензией [11, 12].

Функция VEGF-A в миокарде многовекторная, с одной стороны, VEGF-A активирует кардиомиоциты, индуцируя морфогенез, сократимость и регенерацию, вызывает васкулогенез [13], рекрутирование стволовых клеток [14], снижение апоптоза [15] и усиление вазодилатации [16], с другой – VEGF-A продуцируется кардиомиоцитами во время воспаления, механического стресса и цитокиновой стимуляции [17]. Высокие концентрации VEGF-A были обнаружены у пациентов с различными сердечно-сосудистыми заболеваниями и часто коррелируют с прогнозом и тяжестью заболевания [4].

В настоящей работе выявлена связь экспрессии VEGFR2 с возрастом и диетой. Удельный объем VEGFR2-позитивных кардиомиоцитов значительно возрос у 18-месячных крыс по сравнению с таковым у 5-месячных. Использование ВУВЖД приводило к увеличению данного показателя как у 5-месячных, так и, в значительно большей степени, у 18-месячных животных.

С помощью корреляционного и множественного регрессионного анализа была установлена зависимость экспрессии VEGFR2 от типа структурных повреждений кардиомиоцитов, их выраженности при ВУВЖД в возрастном аспекте. В качестве гистологических критериев альтерации миокарда были использованы такие отчетливые и поддающиеся количественной оценке изменения, как кардиопикноз, контрактурные и литические нарушения кардиомиоцитов, а также фиброз стромы. Суммарно содержание различным образом измененных кардиомиоцитов составило по сериям экспериментов порядка 3% в группе 1, 8% – в группе 2, 16% – в группе 3, 19% – в группе 4 соответственно. Удельный объем VEGFR2-позитивных кардиомиоцитов: 15,3 (13,2–16,3)% – в группе 1, 32,2 (27,2–4,8)% – в группе 2, 36,4 (33,6–38,2)% – в группе 3 и 79,4 (62,0–82,2)% – в группе 4. Следовательно, видна прямая положительная связь между степенью повреждения кардиомиоцитов и экспрессией VEGFR2.

Вместе с тем обращает внимание тот факт, что доля VEGFR2-позитивных кардиомиоцитов во всех группах экспериментов существенно больше, чем доля кардиомиоцитов с признаками повреждений. Это указывает на то, что экспрессия VEGFR2 захватывает соседние с пораженными кардиомиоциты. Так, доля кардиомиоцитов с кардиопикнозом, который является показателем клеточной гибели как путем апоптоза, так и некроза, составила в группе 4 у 18-месячных животных на ВУВЖД с максимально выраженным поражением миокарда 3,1 (1,9–6,0) в поле зрения, или порядка 10,5%, в то время как удельный объем VEGF-позитивных кардиомиоцитов был на уровне 79,4%.

У 5-месячных животных на стандартной диете, которых можно считать контрольными, содержание VEGFR2-позитивных кардиомиоцитов было низким – 15,3%. Это соответствует литературным данным о низком уровне экспрессии VEGF в кардиомиоцитах в норме и повышении содержания VEGF-позитивных кардиомиоцитов при различной патологии, в частности, с экспрессией VEGFR2 при кардиопатии, вызванной противоопухолевыми препаратами [18], при острой ишемии миокарда, индуцированной перевязкой коронарной артерии [19]. VEGFR2-иммуно-

позитивность кардиомиоцитов, как правило, носит пятнистый мозаичный характер, т.е. иммунопозитивные кардиомиоциты чередуются с неокрашенными клетками.

Так, при остром инфаркте миокарда иммуногистохимическое окрашивание кардиомиоцитов было интенсивным в зоне ишемии без некроза, слабым в области коагуляционного некроза без воспалительной инфильтрации и отсутствовало в очагах развитого некроза с воспалительной инфильтрацией. Судебно-медицинские исследования показывают «пятнистую» иммунопозитивность миокарда на VEGF при быстрой смерти из-за удара ножом в сердце только в области, окружающей рану, но отсутствие окрашивания на VEGF при асфиксии, или утоплении, или в случаях с мгновенной остановки сердца без предшествующей сердечной патологии, связанной с ишемией. Авторы приходят к выводу, что ишемические изменения миокарда предшествуют появлению VEGF-иммунопозитивности кардиомиоцитов, что нередко сопровождается эозинофилией кардиомиоцитов [20].

В данной работе оценивалась зависимость VEGFR2 в кардиомиоцитах от контрактурных изменений. Следует обратить внимание на выявляемую в кардиомиоцитах повышенную эозинофилию саркоплазмы, как правило, в виде широких поперечных полос. Это характерный для кардиомиоцитов тип морфологических изменений, описываемых в литературе как контрактурный ленточный или полосатый некроз (contraction band necrosis), возникающий при реперфузии в результате гиперконтракции и приводящий к разрыву сарколеммы [21]. Механизм, посредством которого реперфузия ишемической сердечной мышцы вызывает контрактурный некроз, включает поступление кальция после периода относительной депривации. Внезапный приток кальция, связанный с избыточным количеством локально освобождаемого норадреналина, может вызывать необратимые контрактуры, приводящие к некрозу.

В настоящем исследовании положительная корреляция средней силы между контрактурой и экспрессией VEGFR2 в кардиомиоцитах выявлена у 18-месячных животных на ВУВЖД (группа 4). У молодых крыс (5 мес) на стандартной диете экспрессия VEGFR2 показала наибольшую зависимость от контрактурных изменений по данным множественного регрессионного анализа. В то время как у старых крыс на ВУВЖД наибольший вклад во влияние на экспрессию VEGFR2 оказали кардиопикнотические изменения.

Выявленная отчетливая положительная корреляционная зависимость удельного объема кардиомио-

цитов, экспрессирующих VEGFR2, от содержания альтеративно измененных кардиомиоцитов, вероятно, свидетельствует об адаптивно-компенсаторной роли VEGFR2 при поражении миокарда. Так, известно, что интрамиокардиальная инъекция кДНК VEGF165 способна значительно улучшить работу сердца, стимулировать ангиогенез, уменьшить размер инфаркта и апоптоз кардиомиоцитов, ингибировать экспрессию p53 миокарда, Fas и Вах и увеличивать экспрессию VEGF и Bcl-2 в миокарде на модели острого инфаркта [22–24]. Однако точный механизм, посредством которого ДНК VEGF вызывает эти эффекты, все еще неясен.

Вместе с тем в ряде работ было показано, что VEGF уменьшает поражение кардиомиоцитов, вызванное ненасыщенными жирными кислотами, в частности пальмитатом, через сигнальный путь JNK. Диета с высоким содержанием жиров индуцировала активацию JNK [25], которая была отменена нокаутом *TLR4* [26–28]. Клеточное накопление церамида активировало сигнальный путь JNK и апоптоз, который был предотвращен нокаутом церамидсинтазы 5 [29, 30]. Активация JNK наблюдалась в кардиомиоцитах, обработанных пальмитатом и ослаблялась ингибированием протеинкиназы R [31–34]. Усиленный апоптоз кардиомиоцитов при перегрузке насыщенными жирными кислотами может привести к инфаркту миокарда и сердечной дисфункции. Однако жизнеспособность кардиомиоцитов восстанавливалась за счет сверхэкспрессии VEGF во время обработки 0,5 мМ пальмитатом. В этом процессе наблюдалось снижение скорости апоптоза и экспрессии каспазы 3, Вах и NF-κB p65. Эти результаты указывают на защитные эффекты VEGF в борьбе с апоптозом кардиомиоцитов, вызванным липотоксичностью, и могут определить терапевтические цели для защиты сердечно-сосудистой системы при борьбе со стрессом жирных кислот [6].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ВУВЖД вызывает закономерные изменения экспрессии VEGFR2 в кардиомиоцитах, зависящие от возраста и степени поражения миокарда. Увеличение удельного объема VEGFR2 иммуногистохимически позитивных кардиомиоцитов возникает у молодых (5 мес) крыс на ВУВЖД, у старых крыс (18 мес) на стандартной диете и, в наибольшей степени, у возрастных животных, содержащихся на ВУВЖД. Изменение доли кардиомиоцитов, экспрессирующих VEGFR2, коррелирует с содержанием кардиомиоцитов с морфологическими признаками повреждения в виде кардиопикноза, контрактуры и опустошения перинуклеарной зоны саркоплазмы. По данным мно-

жественного регрессионного анализа, у старых животных наибольший вклад во влияние на изменение экспрессии VEGFR2 в кардиомиоцитах оказали кардиопикнотические нарушения.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Bartkowiak K., Bartkowiak M., Jankowska-Steifer E., Ratajska A., Kujawa M., Aniołek O. et al. Metabolic syndrome and cardiac vessel remodeling associated with vessel rarefaction: a possible underlying mechanism may result from a poor angiogenic response to altered VEGF signaling pathways. *J. Vasc. Res.* 2024;61(4):151–159. DOI: 10.1159/000538361.
2. Kafyra M., Kalafati I.P., Gavra I., Siest S., Dedoussis G.V. Associations of VEGF-A-related variants with adolescent cardiometabolic and dietary parameters. *Nutrients.* 2023;15(8):1884. DOI: 10.3390/nu15081884.
3. Bartkowiak K., Bartkowiak M., Jankowska-Steifer E., Ratajska A., Czarnowska E., Kujawa M. et al. Expression of mRNA for molecules that regulate angiogenesis, endothelial cell survival, and vascular permeability is altered in endothelial cells isolated from db/db mouse hearts. *Histochem. Cell. Biol.* 2024;162(6):523–539. DOI: 10.1007/s00418-024-02327-4.
4. Braile M., Marcella S., Cristinziano L., Galdiero M.R., Modestino L., Ferrara A.L. et al. VEGF-A in cardiomyocytes and heart diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(15):5294. DOI: 10.3390/ijms21155294.
5. Yazıcı D., Demir S.Ç., Sezer H. Insulin resistance, obesity, and lipotoxicity. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2024;1460:391–430. DOI: 10.1007/978-3-031-63657-8\_14.
6. Wang S.Y., Zou C., Liu X.F., Yan Y.J., Gu S.Z., Li X. Vascular endothelial growth factor ameliorated palmitate-induced cardiomyocyte injury via JNK pathway. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Anim.* 2021;57(9):886–895. DOI: 10.1007/s11626-021-00616-z.
8. Zentilin L., Puligadda U., Lionetti V., Zacchigna S., Collesi C., Pattarini L. et al. Cardiomyocyte VEGFR-1 activation by VEGF-B induces compensatory hypertrophy and preserves cardiac function after myocardial infarction. *FASEB J.* 2010;24(5):1467–1478. DOI: 10.1096/fj.09-143180.
9. Fernezelian D., Rondeau P., Gence L., Diotel N. Telencephalic stab wound injury induces regenerative angiogenesis and neurogenesis in zebrafish: unveiling the role of vascular endothelial growth factor signaling and microglia. *Neural Regen. Res.* 2025;20(10):2938–2954. DOI: 10.4103/NRR.NRR-D-23-01881.
10. Chen F., Zhang K., Wang M., He Z., Yu B., Wang X. et al. VEGF-FGF signaling activates quiescent CD63<sup>+</sup> liver stem cells to proliferate and differentiate. *Adv. Sci. (Weinh).* 2024;11(33):e2308711. DOI: 10.1002/advs.202308711.
11. Tang H., Yuan L., Xu Z., Jiang G., Liang Y., Li C. et al. Glucocorticoids induce femoral head necrosis in rats through the HIF-1α/VEGF signaling pathway. *Sci. Rep.* 2025;15(1):29205. DOI: 10.1038/s41598-025-15018-4.
12. Логвинов С.В., Мустафина Л.Р., Курбатов Б.К., Сиротина М.А., Горбунов С.А., Нарыжная Н.В. Влияние высокоуглеводной высокожировой диеты на возрастные изме-

- нения миокарда у крыс. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. 2023;38(1):90–98. DOI: 10.29001/2073-8552-2023-38-1-90-98.
13. Logvinov S.V., Naryzhnaya N.V., Kurbatov B.K., Gorbunov A.S., Birulina Y.G., Maslov L.L. et al. High carbohydrate high fat diet causes arterial hypertension and histological changes in the aortic wall in aged rats: The involvement of connective tissue growth factors and fibronectin. *Exp. Gerontol.* 2021;154:111543. DOI: 10.1016/j.exger.2021.111543.
  14. Taimeh Z., Loughran J., Birks E.J., Bolli R. Vascular endothelial growth factor in heart failure. *Nat. Rev. Cardiol.* 2013;10(9):519–530. DOI: 10.1038/nrcardio.2013.94.
  15. Tang J., Wang J., Kong X., Yang J., Guo L., Zheng F. et al. Vascular endothelial growth factor promotes cardiac stem cell migration via the PI3K/Akt pathway. *Exp. Cell. Res.* 2009;315(20):3251–3231. DOI: 10.1016/j.yexcr.2009.09.026.
  16. Friehs I., Barillas R., Vasilyev N.V., Roy N., McGowan F.X., del Nido P.J. Vascular endothelial growth factor prevents apoptosis and preserves contractile function in hypertrophied infant heart. *Circulation.* 2006;114(1 Suppl.):I290–I295. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.001289.
  17. Conway E.M., Collen D., Carmeliet P. Molecular mechanisms of blood vessel growth. *Cardiovasc. Res.* 2001;49(3):507–521. DOI: 10.1016/s0008-6363(00)00281-9.
  18. Marrow J.P., Alshamali R., Edgett B.A., Allwood M.A., Cochrane K.L.S., Al-Sabbag S. et al. Cardiomyocyte crosstalk with endothelium modulates cardiac structure, function, and ischemia-reperfusion injury susceptibility through erythropoietin. *Front. Physiol.* 2024;15:1397049. DOI: 10.3389/fphys.2024.1397049.
  19. Лушникова Е.Л., Мжельская М.М., Колдышева Е.В., Клиникова М.Г. Иммуногистохимическая оценка экспрессии рецептора-2 вазоэндотелиального фактора роста (VEGFR2) в кардиомиоцитах крыс при действии доксорубина и амида бетулоновой кислоты. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2018;38(6):5–12. DOI: 10.15372/SSMJ20180601.
  20. Mao R.M., Du Z.B., Gao W.M., Mi L., Zhu B.L. Time-dependent expression of vascular endothelial growth factor after acute myocardial ischemia in rats. *Fa Yi Xue Za Zhi.* 2012;28(3):179–184. In Chinese. PMID: 22812217.
  21. Zhu B.L., Tanaka S., Ishikawa T., Zhao D., Li D.R., Michiue T. et al. Forensic pathological investigation of myocardial hypoxia-inducible factor-1 alpha, erythropoietin and vascular endothelial growth factor in cardiac death. *Leg. Med. (Tokyo).* 2008;10(1):11–19. DOI: 10.1016/j.legalmed.2007.06.002.
  22. Rodríguez-Sinovas A., Abdallah Y., Piper H.M., Garcia-Dorado D. Reperfusion injury as a therapeutic challenge in patients with acute myocardial infarction. *Heart Fai. Rev.* 2007;12(3-4):207–216. DOI: 10.1007/s10741-007-9039-9.
  23. Tao Z., Chen B., Tan X., Zhao Y., Wang L., Zhu T. et al. Co-expression of VEGF and angiopoietin-1 promotes angiogenesis and cardiomyocyte proliferation reduces apoptosis in porcine myocardial infarction (MI) heart. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011;108:2064–2069. DOI: 10.1073/pnas.1018925108.
  24. Ruixing Y., Dezhai Y., Hai W., Kai H., Xianghong W., Yuming C. Intramyocardial injection of vascular endothelial growth factor gene improves cardiac performance and inhibits cardiomyocyte apoptosis. *Eur. J. Heart. Fail.* 2007;9(4):343–351. DOI: 10.1016/j.ejheart.2006.10.007.
  25. Cao W., Zhang H., Zhou N., Zhou R., Zhang X., Yin J. et al. Functional recovery of myocardial infarction by specific EBP-PR1P peptides bridging injectable cardiac extracellular matrix and vascular endothelial growth factor. *J. Biomed. Mater. Res. Part A.* 2023;111(7):995–1005. DOI: 10.1002/jbm.a.37483.
  26. Yang H., Zhang C., Kim W., Shi M., Kiliclioglu M., Bayram C. et al. Multi-tissue network analysis reveals the effect of JNK inhibition on dietary sucrose-induced metabolic dysfunction in rats. *Elife.* 2025;13:RP98427. DOI: 10.7554/eLife.98427.
  27. Hu N., Zhang Y. TLR4 knockout attenuated high fat diet-induced cardiac dysfunction via NF-kappaB/JNK-dependent activation of autophagy. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis. Dis.* 2017;1863(8):2001–2011. DOI: 10.1016/j.bbadis.2017.01.010.
  28. Zhang K., Huang Q., Deng S., Yang Y., Li J., Wang S. Mechanisms of TLR4-mediated autophagy and nitroxidative stress. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2021;11:766590. DOI: 10.3389/fcimb.2021.766590.
  29. Zou R., Shi W., Chang X., Zhang M., Tan S., Li R. et al. The DNA-dependent protein kinase catalytic subunit exacerbates endotoxemia-induced myocardial microvascular injury by disrupting the MOTS-c/JNK pathway and inducing profilin-mediated lamellipodia degradation. *Theranostics.* 2024;14(4):1561–1582. DOI: 10.7150/thno.92650.
  30. Leonardini A., D’Oria R., Incalza M.A., Caccioppoli C., Andrulli Buccheri V., Cignarelli A. et al. GLP-1 receptor activation inhibits palmitate-induced apoptosis via ceramide in human cardiac progenitor cells. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2017;102(11):4136–4147. DOI: 10.1210/jc.2017-00970.
  31. Shalaby Y.M., Al Aidaros A., Valappil A., Ali B.R., Akawi N. Role of ceramides in the molecular pathogenesis and potential therapeutic strategies of cardiometabolic diseases: what we know so far. *Front. Cell. Dev. Biol.* 2022;9:816301. DOI: 10.3389/fcell.2021.816301.
  32. Mangali S., Bhat A., Udumula M.P., Dhar I., Sriram D., Dhar A. Inhibition of protein kinase R protects against palmitic acid-induced inflammation, oxidative stress, and apoptosis through the JNK/NF-kB/NLRP3 pathway in cultured H9C2 cardiomyocytes. *J. Cell. Biochem.* 2019;120(3):3651–3663. DOI: 10.1002/jcb.27643.
  33. Mangali S., Bhat A., Dasari D. Sriram D., Dhar A. Inhibition of double stranded RNA dependent protein kinase (PKR) abrogates isoproterenol induced myocardial ischemia in vitro in cultured cardiomyocytes and in vivo in wistar rats. *Eur. J. Pharmacol.* 2021;906:174223. DOI: 10.1016/j.ejphar.2021.174223.
  34. Zhou J., Yao Y., Zhang J., Wang Z., Zheng T., Lu Y. et al. JNK-dependent phosphorylation and nuclear translocation of EGR-1 promotes cardiomyocyte apoptosis. *Apoptosis.* 2022;27(3-4):246–260. DOI: 10.1007/s10495-022-01714-3.

## Вклад авторов

Логвинов С.В. – разработка концепции, подготовка морфологической части текста статьи, обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания и окончательное утверждение рукописи для публикации. Мустафина Л.Р. – проведение морфологического и иммуногистохимического исследования, интерпретация данных, перевод статьи на английский язык. Фокин В.А. – подготовка статистической части текста статьи, статистический анализ и интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания и окончательное утверждение рукописи для публикации. Акбашева О.Е. – разработка концепции, подготовка текста статьи, обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания и окончательное утверждение рукописи для публикации. Герасимов А.В. – подготовка морфологической части текста статьи, обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания. Потапов А.В., Геренг Е.А. – разработка дизайна исследования, проведение морфологического исследования, статистический анализ и интерпретация данных. Ласукова Т.В., Тихоновская О.А. – разработка концепции, подготовка текста статьи, обоснование рукописи. Нарыжная Н.В. – разработка концепции и дизайна исследования, проведение исследования, подготовка текста статьи, обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания. Курбатов Б.К., Горбунов А.С. – разработка дизайна исследования, проведение исследования, статистический анализ и интерпретация данных.

## Информация об авторах

**Логвинов Сергей Валентинович** – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, г. Томск, s\_logvinov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9876-6957>

**Мустафина Лилия Рамильевна** – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, г. Томск, lrmustafina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3526-7875>

**Фокин Василий Александрович** – д-р техн. наук, доцент, профессор кафедры медицинской и биологической кибернетики, СибГМУ, г. Томск, fokin.va@ssmu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9881-2298>

**Акбашева Ольга Евгеньевна** – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, СибГМУ, г. Томск, akbasheva.oe@ssmu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0680-8249>

**Герасимов Александр Владимирович** – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, г. Томск, gerasimov.av@ssmu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8526-6187>

**Потапов Алексей Валерьевич** – д-р мед. наук, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ г. Томск, potalex@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6013-8843>

**Геренг Елена Андреевна** – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры морфологии и общей патологии, СибГМУ, г. Томск, gereng.ea@ssmu.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7226-0328>

**Ласукова Татьяна Викторовна** – д-р биол. наук, профессор, профессор кафедры нормальной физиологии, СибГМУ, г. Томск, lasukova.tv@ssmu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3274-6010>

**Тихоновская Ольга Анатольевна** – д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры акушерства и гинекологии, СибГМУ, г. Томск, tikhonovskaya.oa@ssmu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4309-5831>

**Нарыжная Наталья Владимировна** – д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория экспериментальной кардиологии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, natalynar@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2264-1928>

**Курбатов Борис Константинович** – мл. науч. сотрудник, лаборатория экспериментальной кардиологии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, bobersanker@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9603-822X>

**Горбунов Александр Сергеевич** – канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория экспериментальной кардиологии, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, barabator@sibmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5890-071X>

✉ **Мустафина Лилия Рамильевна**, lrmustafina@yandex.ru

Поступила в редакцию 27.08.2025;  
одобрена после рецензирования 10.09.2025;  
принята к публикации 17.09.2025