

УДК 612.135; 612.15; 616-092.9  
DOI: 10.24884/1682-6655-2022-21-4-58-66

## И. З. ЧХАИДЗЕ

# Гендерные особенности реактивности сосудов микроциркуляторного русла кожи крыс по данным лазерной допплеровской флюометрии

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

199034, Санкт-Петербург, Университетская набережная, д. 7/9

E-mail: chkhaidze\_i@mail.ru

Статья поступила в редакцию 20.09.22 г.; принята к печати 07.11.22 г.

### Резюме

**Введение.** Известно, что в развитии системных нарушений микроциркуляции определенное значение имеет гендерная принадлежность. Однако особенности реактивности микрососудов и их функциональный резерв недостаточно изучены. **Цель –** изучение гендерных особенностей реактивности сосудов микроциркуляторного русла кожи крыс по данным лазерной допплеровской флюометрии (ЛДФ) в условиях проведения функциональных проб. **Материалы и методы.** Исследование проводили на самцах и самках крыс стока Wistar. В эксперимент отбирали самок с устойчивым 4-дневным эстральными циклом по данным колпопцитограммы. Методом ЛДФ оценивали исходную перфузию кожи и ее динамику в условиях проведения пробы с локальной контактной гипотермии, вызванной термоэлементом. Распределение температурных полей оценивали с помощью тепловизора FLIR ONE Pro. **Результаты.** При контактном охлаждении кожи развивалась реакция сосудов микроциркуляторного русла, имеющая фазный характер. Сразу после воздействия локальная контактная гипотермия сопровождалась значимым снижением температуры кожи и тканевой перфузии (в зоне лазерной флюометрии). При этом процент редукции кожного кровотока ( $Q_{\%}$ ) у самцов был выше, чем у самок, и составил 54 % от исходных значений. Максимальная перфузия после восстановления кровотока отмечена на 5-й минуте у самцов, на 3-й минуте у самок и составила 147 и 149,9 % соответственно. Исходный кровоток в микрососудах кожи в разных фазах эстрального цикла у самок статистически значимо не отличался. Однако при проведении функциональной пробы в стадии проэструса, характеризующейся максимальной секрецией эстрогенов яичниками, вазоконстрикция была менее выражена, чем в других фазах цикла. **Заключение.** Выявленные особенности редукции кровотока с последующей «холодовой вазодилатацией» в условиях проведения проб с локальной контактной гипотермией свидетельствуют о большем функциональном резерве микрососудов и более эффективном механизме ауторегуляции системы микроциркуляции крови у самок крыс.

**Ключевые слова:** локальное охлаждение, кожный кровоток, микроциркуляция, микрососуды, реактивность, крыса, эстральный цикл, лазерная допплеровская флюометрия

Для цитирования: Чхайдзе И. З. Гендерные особенности реактивности сосудов микроциркуляторного русла кожи крыс по данным лазерной допплеровской флюометрии. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2022;21(4):58–66. DOI: 10.24884/1682-6655-2022-21-4-58-66.

UDC 612.135; 612.15; 616-092.9  
DOI: 10.24884/1682-6655-2022-21-4-58-66

## I. Z. CHKHADZE

# Gender specificity of reactivity rat skins microvessels according to laser doppler flowmetry

Saint-Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia  
7/9, Universitetskaya embankment, Saint Petersburg, Russia, 199034  
E-mail: chkhaidze\_i@mail.ru

Received 20.09.22; accepted 07.11.22

### Summary

**Introduction.** In the development of systemic microcirculation disorders, gender is known to have a certain significance. However, the features of the microvessels reactivity and their functional reserve have not been sufficiently studied. **Purpose –** to study the gender specificity of the microvessels reactivity of rat skin according to LDF data in the conditions of functional tests. **Materials and methods.** The study was carried out on male and female Wistar rats. Females with a stable 4-day estrous cycle according to colpocytogram data were selected for the experiment. The LDF method was used to evaluate the initial skin perfusion and its dynamics under the conditions of a test with local contact hypothermia induced by a thermoelement. The distribution of temperature fields was evaluated using a FLIR ONE Pro thermal imaging camera. **Results.** While contact cooling of the skin, microvessels developed a reaction having phase pattern. Immediately after exposure, local contact hypothermia was accompanied by a significant decrease in skin temperature and tissue perfusion (in the area of laser flowmetry). At the same time, males had higher percentage of reduction in skin blood flow ( $Q_{\%}$ ) than females and amounted to 54 % of the initial values. The maximum perfusion after the restoration of blood flow was noted at the 5<sup>th</sup> minute in males, at the 3<sup>rd</sup>

minute in females and amounted to 147 and 149.9 %, respectively. The initial blood flow in the skin microvessels in different phases of the estrous cycle in females did not differ significantly. However, when conducting a functional test in the proestrus stage, characterized by the maximum secretion of estrogens by the ovaries, vasoconstriction was less pronounced than in other phases of the cycle. *Conclusion.* The revealed features of blood flow reduction followed by «cold vasodilation» under conditions of local contact hypothermia tests indicate a greater functional reserve of microvessels and a more effective mechanism of autoregulation of the microcirculation system in female rats.

**Keywords:** local cooling, skin blood flow, microcirculation, microvessels, reactivity, rat, estrous cycle, laser Doppler flowmetry

**For citation:** Chkhaidze I. Z. Gender specificity of reactivity rat skins microvessels according to laser doppler flowmetry. Regional hemodynamics and microcirculation. 2022;21(4):58–66. Doi: 10.24884/1682-6655-2022-21-4-58-66.

## Введение

Универсальный механизм участия сосудистого эндотелия в возникновении и развитии различных патологических состояний сомнений не вызывает. Немаловажную роль в регуляции функций эндотелия играют половые гормоны. Известно, что эстрогены регулируют функциональную активность эндотелия путем увеличения продукции вазодилататоров оксида азота (NO) и простациклина, уменьшения образования вазоконстриктора эндотелина-1 [1–3], снижения экспрессии АПФ и рецептора-1 ангиотензина II [4]. Эстрогены предотвращают ремоделирование сосудистой стенки, препятствуя фиброзированию за счет снижения синтеза коллагена и эластина в гладкомышечных клетках. Кроме этого, эстрогены уменьшают пролиферацию гладкомышечных клеток, снижают экспрессию адгезивных молекул, способствующих прикреплению моноцитов к клеткам эндотелия, и хемокинов, которые участвуют в миграции моноцитов в субэндотелиальный слой [2].

Эндотелиопротективное действие эстрогенов объясняют несколькими механизмами: снижением окислительного стресса, модуляцией ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, ослаблением клеточной системы эндотелина-1 [5, 6]. Считают, что дефицит именно эстрогенов ассоциируется с повышением кардиоваскулярных рисков у женщин в постменопаузальном периоде. Мужчины подвержены более высокому риску развития сердечно-сосудистых заболеваний по сравнению с женщинами того же возраста до наступления менопаузы [3, 7–9].

Гендерные отличия функционального состояния эндотелия отмечены рядом исследований по разным показателям: по тромбозистентности сосудистой стенки бедренной артерии самцов и самок крыс [10]; миогенному тонусу и реактивности коронарных сосудов [11]; различиям в продукции HNO (нитроксил) эндотелием изолированных сегментов аорты крыс [12] и др. Большинство из этих работ касались гендерных особенностей функционирования эндотелия крупных сосудов.

Ресурсы мониторинга функционального состояния эндотелия в клинической практике весьма ограничены небольшим числом методов исследования и сложностью интерпретации полученных данных. Появление доступных оптических (в том числе и лазерных) инструментов для неинвазивной оценки системы микроциркуляции крови *in vivo* расширяет возможности исследователя. Среди лазерных методов исследования системы микроциркуляции крови можно выделить метод лазерной допплеровской флюметрии (ЛДФ), основанный на регистрации

допплеровского сдвига частоты оптического излучения на движущихся форменных элементах крови при зондировании поверхности биоткани *in vivo* низкоинтенсивным лазерным излучением [13]. При этом оценивается не сам допплеровский сдвиг частоты или скорость кровотока в сосудах, а некий интегральный параметр – индекс микроциркуляции, или показатель микроциркуляции (в российской терминологии), часто называемый также индексом перфузии тканей кровью (perfusion index), просто перфузией (perfusion) или потоком крови (blood flow). Показатель микроциркуляции (ПМ) пропорционален скорости движения и количеству эритроцитов (основных рассеивателей света) в зоне обследования [13, 14]. В отличие от ультразвуковых методов диагностики, основанных на эффекте Доппеля, при применении более коротковолнового зондирующего лазерного излучения возможно получить отраженный сигнал наибольшей амплитуды от отдельных эритроцитов из более тонкого слоя ткани, толщиной около 1 мм [13, 14]. Этот слой зондирования может содержать в зависимости от типа ткани, следующие звенья микроциркуляторного русла: артериолы, прекапillary, капillary, посткапillaryные венулы, венулы и артериоло-венулярные анастомозы (ABA).

Выраженная физиологическая вариабельность ПМ и его зависимость от множества факторов, в том числе от температуры окружающего воздуха, от психоэмоционального состояния испытуемого и т. п., диктует необходимость разработки методик, позволяющих оценивать относительные изменения в перфузии тканей кровью в разных физиологических ситуациях без привязки к абсолютным значениям с целью повышения достоверности измерений в ЛДФ. Такими относительными методами являются различные функциональные тесты – с нагревом (тепловая проба), с охлаждением (холодовая проба), с артериальной окклюзией (окклюзионная проба), с глубоким вдохом и задержкой дыхания (дыхательный тест) и ряд других тестов, которые способны вызвать быстрые и динамичные изменения в локальной микроциркуляции [13]. По относительному изменению ПМ(t) во время проведения теста можно более точно и объективно судить о функционировании системы микроциркуляции крови. Одним из преимуществ функциональных тестов считается потенциальная возможность стандартизации условий их проведения.

Несмотря на большой интерес к методу, гендерные различия функционального состояния микроциркуляторного русла по данным ЛДФ мало изучены. При этом необходимость учитывать эти особенности продемонстрирована в ряде работ, анализирующих

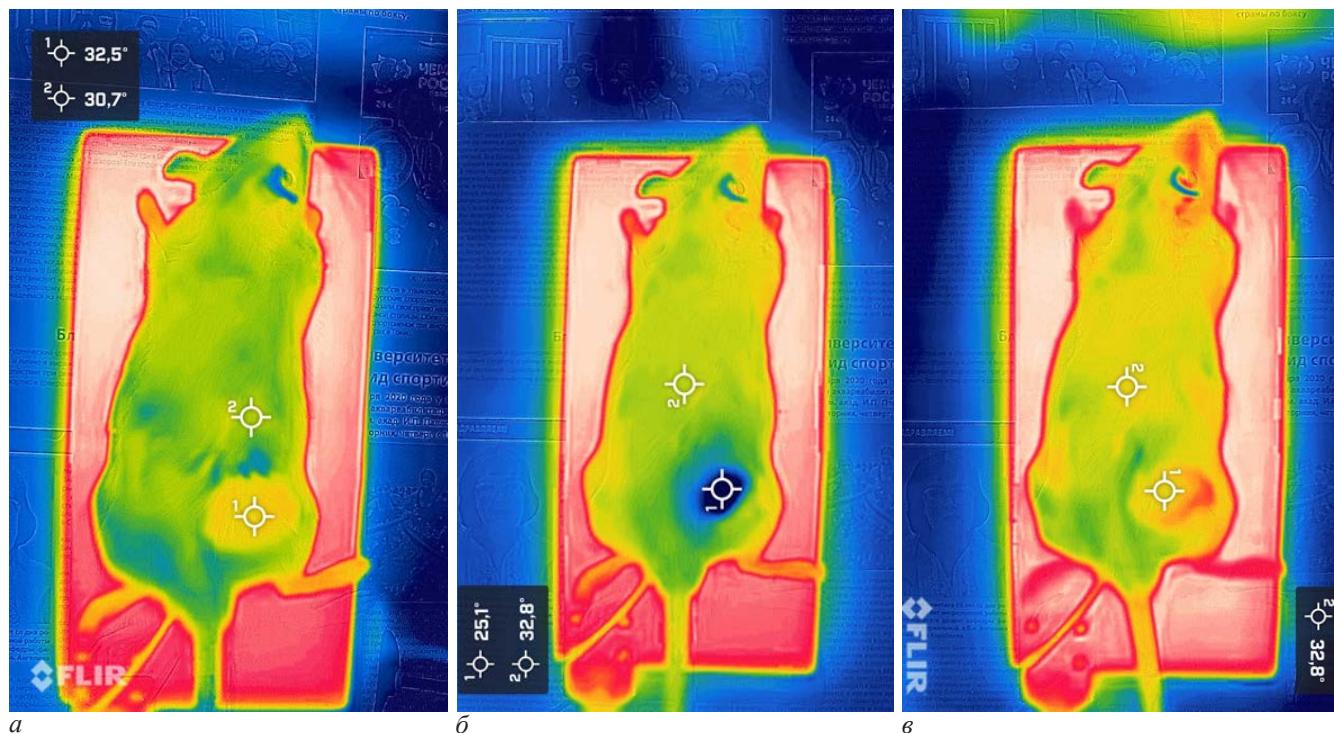


Рис. 1. Термометрия кожи крысы с помощью тепловизора FLIR ONE Pro: *а* – контроль, маркер – температура кожи крысы; *б* – термометрия кожи крысы сразу после локальной контактной гипотермии (10 °C): точка 1 – зона воздействия; точка 2 – интактная зона; *в* – термометрия кожи крысы после восстановления кровотока

Fig. 1. Rat skin thermometry using the thermal imaging camera FLIR ONE Pro: *a* – control, marker is rat skin temperature; *b* – thermometry of rat skin immediately after local contact hypothermia (10 °C): point 1 – exposure zone; point 2 – intact zone; *c* – thermometry of a rat skin after restoration of blood flow

влияние половых гормонов на функциональное состояние микрососудов по данным ЛДФ [15–18].

**Цель** исследования – изучение гендерных особенностей реактивности сосудов микроциркуляторного русла кожи крыс по данным лазерной допплеровской флюметрии в условиях проведения функциональных проб с локальной гипотермией.

#### Материалы и методы исследования

Работа выполнена на крысах самках и самцах стока Wistar весом  $250 \pm 30$  г, полученных из ФГУП «Питомник лабораторных животных „Рапполово“» ФГБУ «Национальный исследовательский центр „Курчатовский институт“ в соответствии с директивой ЕС (The European Council Directive (86/609/EEC)) по соблюдению этических принципов в работе с лабораторными животными. Животные содержались на неограниченном потреблении корма (стандартный рацион для лабораторных крыс К-120 фирмы «Информ-корм», Россия) и воды при фиксированном световом режиме 12.00:12.00 ч (свет: темнота). Температура воздуха поддерживалась в пределах 22–25 °C, относительная влажность – 50–70 %. Длительность карантина (акклиматационного периода) для всех животных составляла не менее 14 дней.

Перед началом эксперимента животных наркотизировали путем внутримышечного введения препаратов Золетил 100 (VIRBAC, Франция) и Ксила (B. V. De Adelaar, Нидерланды) в равных объемах в дозе 0,88 мл/кг. Наркотизированных крыс поместили на термостатируемый столик TCAT-2LV (Physitemp, США) с ректальным датчиком температуры для контроля и поддержания постоянной

температуры тела животных в период проведения эксперимента.

Кожу спины животных очищали от шерсти механическим путем. Маркером по трафарету, с учетом костных ориентиров, на коже спины отмечали зону оценки кожного кровотока, которая составляла  $0,78 \text{ см}^2$ . Температуру кожи (в зоне лазерной флюметрии) в ходе эксперимента измеряли бесконтактным инфракрасным термометром AND DT-635 (Япония). Распределение температурных полей оценивали с помощью тепловизора FLIR ONE Pro (FLIR Systems, Inc., США) с диапазоном рабочих температур от –20 до 120 °C, точностью  $\pm 5\%$  и тепловой чувствительностью 100 мК (рис. 1).

Животных разделили на две группы: самки ( $n=15$ ) и самцы крыс ( $n=8$ ). Оценивали исходную перфузию кожных покровов в исследуемой зоне и ее динамику в условиях проведения функциональной пробы с локальной гипотермией.

Для локальной контактной гипотермии кожи крыс использовали прибор с охлаждаемым до 10 °C элементом площадью  $1,5 \text{ см}^2$  (термоэлектрический преобразователь – элемент Пельтье), с регулируемым терmostатом собственной сборки. Исследуемую зону кожи животных охлаждали в течение 5 мин.

Для оценки тканевой перфузии в коже использовали лазерный допплеровский флюметр Laser Doppler Monitor BLF21 (Transonic Systems Inc., США), подключенный к компьютеру с программным обеспечением для анализа полученных данных. Мощность диодного источника излучения с длиной волны 780 нм не более 2,0 мВт. Флюметр позволяет регистрировать тканевую перфузию от 0 до 100 мл/мин

Таблица 1

Показатели перфузии кожи крыс в ходе локальной контактной гипотермии ( $M \pm SD$ ), пф. ед.

Table 1

Skin blood flow response to local cooling test (TPU – tissue perfusion unit,  $M \pm SD$ )

Время, мин	Показатель перфузии кожи, пф. ед.	
	самцы	самки
1	1,53±0,42*	1,82±0,38*
2	2,58±0,38*	3,30±0,61
3	3,86±1,68	5,15±1,77*
4	4,59±1,06*	5,0±1,79*
5	4,94±1,4*	3,58±1,23
6	4,06±0,48	3,58±1,24
7	3,99±0,83	3,25±0,83
8	3,86±0,41	3,21±0,93
9	3,6±0,13	3,06±0,99
10	3,19±0,29	3,03±0,98
15	2,97±0,4	2,85±0,71
20	2,92±0,26	3,09±0,92
30	3,26±0,16	3,62±0,9
60	3,24±0,4	3,83±0,8

\* –  $p < 0,05$  по сравнению с исходными значениями.

на 100 г ткани, на глубину до 1 мм. Результаты в виде ПМ приводятся в перфузионных единицах (пф. ед.).

Схема проведения экспериментов: 1) регистрация исходного кровотока, температуры кожи, ректальной температуры до воздействия локальной гипотермии; 2) регистрация кровотока, температуры кожи, ректальной температуры поминутно сразу после окончания локального охлаждения. Процент редукции кожного кровотока ( $Q_{\%}$ ) выражается как  $Q_{\% \text{ сниж}} = Q_{\text{исх}} - Q_{\min} / Q_{\text{исх}} \cdot 100$ , где  $Q_{\text{исх}}$  – исходный кровоток в коже;  $Q_{\min}$  – минимальный кровоток в коже.

С целью верификации регулярного эстрального цикла у половозрелых самок крыс ежедневно, в одно и то же время, производилось взятие вагинальных мазков с последующим цитологическим исследованием. В эксперимент отбирались самки с устойчивым 4-дневным эстральным циклом и характерной цитологической картиной мазков на каждой стадии цикла по данным колпоскопограммы [19]. Фазы эстрального цикла определяли по соотношению основных типов клеток в мазке при увеличении  $\times 400$  (окуляр  $\times 10$ , объектив  $\times 40$ , микроскоп медицинский МИК-МЕД5 «МТПК-ЛОМО» (Россия)).

Статистическую обработку полученных количественных данных проводили с использованием стандартного пакета программ («Statistica 7.0 Stat Soft for Windows», «Sigma Plot 12.5»). Вид распределения количественных признаков проводили по критерию Шапиро – Уилка. Данные описаны средним значением и стандартным отклонением ( $M \pm SD$ ). Оценку значимости различий показателей проводили с применением  $t$ -критерия Стьюдента. Для оценки силы связи между изучаемыми переменными использовали

коэффициент ранговой корреляции Спирмена ( $\rho$ ). Значимость различий определяли при  $p < 0,05$ .

## Результаты исследования и их обсуждение

Поскольку параметры кровотока в коже с помощью флюметра Transonic Laser Doppler Monitor BLF21 исследуются на глубину до 1 мм, в экспериментах регистрировался ПМ в капиллярах и поверхностном артериоло-венулярном сплетении.

Исследование перфузии у наркотизированных животных проводили в течение часа на термостатируемом столике при постоянной ректальной температуре, равной  $37,2 \pm 0,3$  °C. Показатель микроциркуляции в коже спины у самцов крыс колебался от 2,9 до 4,9 пф. ед. Среднее значение ПМ составило  $3,5 \pm 0,41$  пф. ед. Показатель микроциркуляции в коже спины у самок крыс колебался от 2,8 до 5,6 пф. ед. Среднее значение ПМ составило  $3,4 \pm 0,52$  пф. ед. Таким образом, исходный кровоток в сосудах микроциркуляторного русла кожи спины у самцов и самок крыс статистически значимо не отличался.

При проведении функциональной пробы с локальной контактной гипотермии кожи регистрировались поминутные изменения ПМ в динамике холодовой пробы (табл. 1).

Реакция микрососудов кожи крыс на холодовую пробу имела фазный характер: I фаза – при охлаждении кожи и подлежащих тканей в зоне контакта с охлаждаемым элементом прибора на ЛДФ-записи регистрировался резкий спад кривой и снижение ПМ, что можно объяснить вазоконстрикцией артериол и АВА в исследуемой зоне. При этом процент редукции кожного кровотока ( $Q_{\%}$ ) у самцов составил 54 % (рис. 2), у самок – 47 % от исходных значений

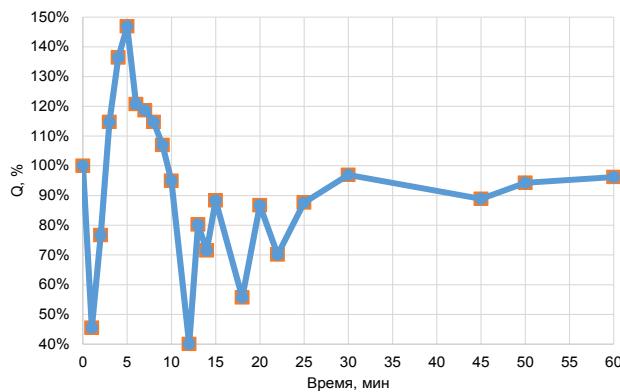


Рис. 2. Динамика кожного кровотока при проведении локальной контактной гипотермии у самцов крыс (относительно исходного значения)

Fig. 2. Skin blood flow response to local cooling test in male rats (compared to baseline, M $\pm$ SD)

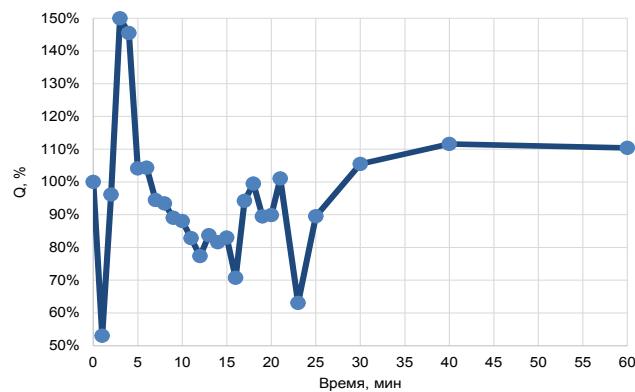


Рис. 3. Динамика кожного кровотока при проведении локальной контактной гипотермии у самок крыс (относительно исходного значения)

Fig. 3. Skin blood flow response to local cooling test in female rats (compared to baseline, M $\pm$ SD)

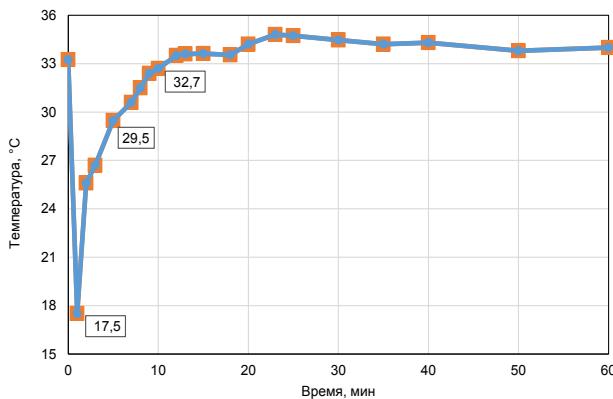


Рис. 4. Динамика температуры кожи у самцов крыс в зоне локальной контактной гипотермии по данным тепловизора FLIR ONE Pro (относительно исходного значения)

Fig. 4. Skin temperature response to local cooling test in male rats according to the thermal imaging camera FLIR ONE Pro (compared to baseline)

(рис. 3). Вызванная гипотермией кожная вазоконстрикция включает прямые локальные эффекты охлаждения гладкой мускулатуры сосудов, эндотелия и окружающих тканей, приводя к быстрому сужению сосудов в коже, которое, по-видимому, длится до тех пор, пока раздражитель действует на кожу [20, 21]. Серия классических исследований показала, что первоначальная вазоконстрикция длится короткое время, а уровень кожной тканевой перфузии со временем повышается, а затем снижается, несмотря на продолжение действия холодового раздражителя [22, 23]. **II фаза** – постепенное повышение ПМ на ЛДФ-записи, что объясняют увеличением локальной температуры кожи и дилатацией сосудов. В наших опытах возврат ПМ к исходным значениям наблюдался на 3-й минуте после локальной гипотермии кожи у самцов и на 2-й минуте – у самок. Максимальная перфузия после восстановления кровотока отмечена на 5-й минуте у самцов, на 3-й минуте у самок и составила 147 % и 149,9 %, соответственно (рис. 2; 3). Эти колебания кровотока во время локального охлаждения кожи называют «охотничьей реакцией» или «холодовой вазодилатацией». Причина вазодилатации – холодовой паралич лейомиоцитов сосудистой стенки, в результате чего они теряют способ-

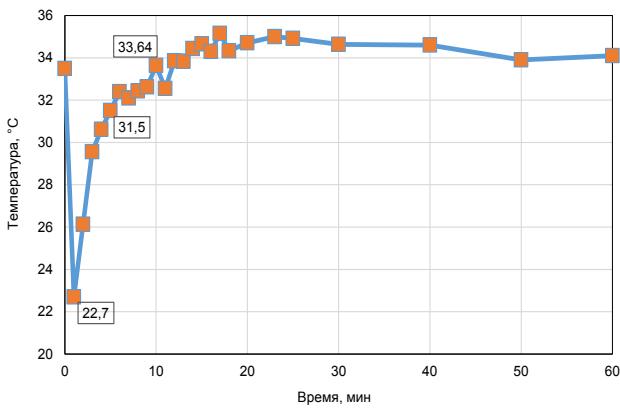


Рис. 5. Динамика температуры кожи у самок крыс в зоне локальной контактной гипотермии по данным тепловизора FLIR ONE Pro (относительно исходного значения)

Fig. 5. Skin temperature response to local cooling test in female rats according to the thermal imaging camera FLIR ONE Pro (compared to baseline)

ность сокращаться, расширяются и превращаются в пассивное сосудистое ложе [13, 20, 23]. По мнению некоторых исследователей, основной очаг этого паттерна кровотока находится в артериоло-венуллярных анастомозах [20], основываясь на наблюдении, что явление наиболее заметно на участках кожи, богатых АВА [22, 23]. **III фаза** – постепенный спад кривой и снижение ПМ на ЛДФ-записи. По мере возрастания температуры за счет нагрева стенок сосудов кровью, поступающей в большем объеме, способность к сокращению сосудов восстанавливается, что и приводит к вазоконстрикции [13, 23].

Изучение вазомоторных механизмов локальной гипотермии было предметом значительного числа исследований, но только относительно недавно появились методы измерения собственно кожной перфузии без одновременного лоцирования кровотока подлежащих скелетных мышц [24]. Пространственное разрешение, обеспечиваемое ЛДФ, является ключевым, особенно в сочетании с применением функциональных проб, ограниченных областью измерения без доказуемых системных эффектов [20]. Это особенно полезно для анализа механизмов контроля кровообращения в коже, включая реакцию на прямое локальное охлаждение кожи.

Таблица 2

Показатели перфузии кожи крыс в ходе локальной контактной гипотермии ( $M \pm SD$ ), пф. ед.  
в разных фазах эстрального цикла

Table 2

**Skin blood flow response to local cooling test (TPU – tissue perfusion unit,  $M \pm SD$ ) in different phases of the estrous cycle**

Время, мин	Показатель перфузии кожи, пф. ед.	
	проэструс	эструс
Исходные значения	3,69±0,24	3,18±0,4
1	2,14±0,49*	1,48±0,53*
2	3,65±0,26	2,86±0,3*
3	6,09±0,82*	3,73±0,31
4	5,53±0,44*	6,10±0,58*
5	4,41±0,28	2,83±0,37*
6	5,29±0,41*	3,36±0,51
7	4,79±0,31	3,17±0,39
8	4,38±0,4	3,25±0,27
9	4,24±0,35	3,48±0,3
10	3,80±0,27	2,83±0,32
15	3,43±0,3	2,78±0,34
20	3,56±0,49	2,97±0,54
30	3,62±0,5	3,12±0,42
60	3,83±0,61	3,30±0,47

\* –  $p < 0,05$  по сравнению с исходными значениями.

Известно, что NOS играет центральную роль в сужении сосудов кожи в ответ на местное охлаждение [21, 25, 26]. Антагонизм NOS сам по себе вызывает кожную вазоконстрикцию за счет устранения любых тонических сосудорасширяющих эффектов продукции NO в нормотермических условиях. При последующем применении локального охлаждения вазоконстрикция происходит как в участках, ингибируемых NOS, так и в контрольных участках. Исходя из этих данных, исследователи заключают, что реакция на локальную гипотермию частично зависит от NO: охлаждение ингибирует NOS, остальное происходит за счет активации адренергической системы и (или) других вазоконстрикторных систем [20]. Так, было показано, что одновременная блокада обеих систем полностью подавляла сосудосуживающую реакцию на медленное локальное охлаждение кожи [25]. Таким образом, когда NOS не функционирует, вазоконстрикция осуществляется только за счет активации альфа-2С-адренорецепторов; когда симпатическая иннервация подавлена, вазоконстрикция достигается за счет ингибирования NOS. Когда обе системы заблокированы, вазоконстрикция в ответ на местное охлаждение устраняется.

В наших экспериментах одновременно с регистрацией динамики ПМ в ходе холодовой пробы проводилась поминутная фиксация ректальной температуры и температуры кожи у лабораторных животных. В течение эксперимента ректальная температура оставалась постоянной и составляла  $37,2 \pm 0,3$  °C. Исходная температура кожи и распределение температурных

полей у самцов и самок крыс статистически значимо не отличались. Локальная контактная гипотермия сопровождалась снижением температуры кожи и тканевой перфузии (в зоне лазерной флюметрии) сразу после воздействия, достигая на 1-й минуте после проведения холодовой пробы 17,5 °C у самцов (рис. 4) и 22,7 °C у самок (рис. 5), с последующим увеличением температуры кожи и ПМ, что отражает значительный функциональный резерв сосудов микроциркуляторного русла.

Полученные в ходе проведения холодовых проб данные свидетельствуют, что исходная перфузия и перфузия после восстановления кровотока у самцов и самок крыс статистически значимо не отличались. При этом следует отметить, что максимальная перфузия и резерв капиллярного кровотока у самок выше по сравнению с самцами, вероятно, ввиду существенного влияния эстрогенов на состояние сосудистого тонуса. Известно, что эстрогены стимулируют продукцию эндотелием эндогенного фактора сосудистой релаксации – оксида азота, повышают его биодоступность, приводя к возрастанию резерва вазодилатации [1, 2]. Эстрогены могут оказывать быстрые эффекты на эндотелий негеномным механизмом через мембранные рецепторы и отсроченные геномные эффекты посредством взаимодействия с ядерными рецепторами [27]. Негеномный механизм реализуется через эстрогеновые рецепторы ERα и ERβ, находящиеся в мемbrane эндотелиальных клеток [28]. Важнейшую роль в эндотелиальных клетках играет изоформа рецептора ERα – ER46, которая

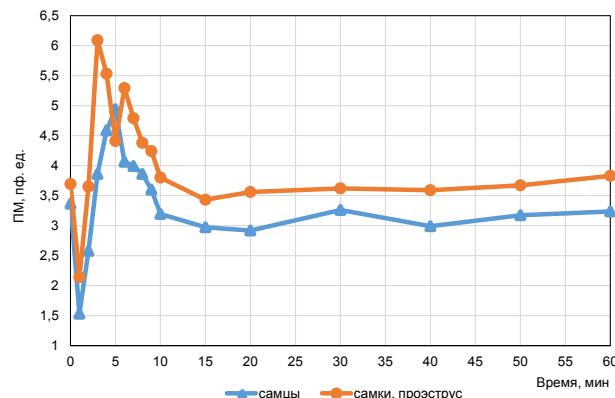


Рис. 6. Динамика кожного кровотока при проведении локальной контактной гипотермии у самцов крыс и самок в стадии проэструса (ПМ, относительно исходного значения)

Fig. 6. Skin blood flow response (TPU – tissue perfusion unit) to local cooling test in male rats and pro-oestrous group (compared to baseline)

обуславливает быструю активацию eNOS и выброс NO эстрогенами [29]. Вероятно, эстрогены изменяют основные параметры кровотока, оказывая влияние на рецепторы гладких миоцитов прекапиллярных сфинктеров через NO-cGMP-сигнальный путь [30]. Интересно, что эстрогены стимулируют образование оксида азота, но при этом ингибируют активность НАДФН-оксидазы, тем самым ограничивая производство супероксидного радикала и пероксинитрита eNOS-системой, оказывая антиоксидантное воздействие [31].

У большинства самок млекопитающих циклические изменения в продукции эстрогенов и прогестинов проявляются в виде эстральных циклов с четкой стадийной организацией. Эстральный цикл самок крыс адекватно отражает морфологические изменения клеток слизистой влагалища в связи с циклическими гормональными преобразованиями. Известно, что стадия проэструса характеризуется максимальной секрецией эстрогенов созревающими фолликулами яичника и морфологически выражена в виде гипертрофии и гиперплазии эпителиальных клеток слизистой влагалища. В стадии эструса уровень эстрогенной стимуляции резко снижается, что приводит к расслаиванию эпителиальных клеток влагалища, стимулированных высоким уровнем эстрогенов в стадии проэструса, и формированию чешуек. Дальнейшее снижение концентрации эстрогенов в стадии метаэструса сопровождается некрозом и отторжением клеток базального слоя слизистой, что совпадает с образованием желтых тел и секрецией ими прогестинов, являющихся функциональными антагонистами эстрогенов в отношении влияния на клетки влагалищного эпителия. Стадия диэструса характеризуется слабой пролиферативной активностью и продукцией эпителиальными клетками слизи за счет низкого уровня эстрогенов [19, 32–34].

В нашем исследовании определяли показатели перфузии кожи в ходе локальной контактной гипотермии у самок крыс в разных фазах эстрального цикла (табл. 2). Исходный кровоток в микрососудах кожи в разных фазах цикла статистически значимо не отличался, что согласуется с литературными данными [15].

При проведении функциональной пробы с локальной контактной гипотермии кожи регистрировались поминутные изменения ПМ в динамике холодовой пробы. При этом в стадии проэструса, характеризующейся максимальной секрецией эстрогенов яичниками, вазоконстрикция была менее выражена, чем в других фазах цикла. Эти результаты согласуются с нашими предыдущими исследованиями реактивности микрососудов брыжейки в условиях прижизненной биомикроскопии, в которых отмечено преобладание конструкторских влияний на вазоактивные вещества у самок в эструсе и дилататорных – проэструсе [35]. В похожей работе исследователи оценивали ацетилхолин-индуцированную дилатацию изолированных мезентериальных сосудов у крыс в разных фазах эстрального цикла и при беременности [36]. Максимальная реактивность отмечена у крыс в стадии проэструса, а также у беременных крыс. В присутствии альфа-(1)-адреномиметика конструкторная реакция была минимальной у беременных крыс и крыс в стадии проэструса. Исследователи пришли к выводу, что ацетилхолин-индуцированная дилатация мезентериальных сосудов самок крыс опосредована преимущественно через активацию K<sup>+</sup>-каналов, что указывает на важную роль эндотелиального гиперполяризующего фактора (EDHF – Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor) [36].

В нашей работе мы также сравнили реактивность микрососудов у самцов крыс и самок в стадии проэструса. У последних отмечалась более выраженная «холодовая вазодилатация» по сравнению с самцами, при этом кинетика реакций несколько отличалась: возврат к исходному ПМ у самок произошел к 10 минуте пробы и далее значительно не менялся (рис. 6).

### Заключение

Таким образом, выявленные особенности редукции кровотока с последующей «холодовой вазодилатацией» в условиях проведения проб с локальной контактной гипотермии свидетельствуют о большем функциональном резерве микрососудов и более эффективном механизме автoreгulation системы микроциркуляции крови у самок крыс. Полученные данные требуют дальнейшего изучения, особенно с учетом реактивности микрососудов в разных фазах эстрального цикла, характеризующихся разным гормональным профилем.

### Конфликт интересов / Conflict of interest

Автор заявил об отсутствии конфликта интересов. / The author declares no conflict of interest.

### Литература / References

- Miller VM, Duckles SP. Vascular Actions of Estrogens: Functional Implications // Pharmacol. Rev. 2008;60(2):210–241. Doi:10.1124/pr.107.08002.
- Koh KK. Effects of estrogen on the vascular wall: vasoconstrictor function and inflammation // Cardiovasc. Res. 2002; 55(4):714–726. Doi:10.1016/s0008-6363(02)00487-x.
- Novella S, Pérez-Cremades D, Mompeón A, Hernández-Gil C. Mechanisms underlying the influence of oestrogen on cardiovascular physiology in women // J. Physiol. 2019; 597(19):4873–4886. Doi:10.1113/JP278063.

4. Aroor AR, DeMarco VG, Jia G, Sun Z, Nistala R, Meininger GA, Sowers JR. The role of tissue renin-angiotensin-aldosterone system in the development of endothelial dysfunction and arterial stiffness // *Front Endocrinol. (Lausanne)*. 2013;4:161. Doi:10.3389/fendo.2013.00161.
5. Gohar EY, Pollock DM. Sex-specific contributions of endothelin to hypertension // *Curr Hypertens Rep.* 2018;20(7):58. Doi:10.1007/s11906-018-0856-0.
6. Favre J, Vessieres E, Guihot A-L, Proux C, Grimaud L, Rivron J, Garcia M-Cl, Réthoré L, Zahreddine R, Davezac M, Fébrissy C, Adlammerini M, Loufrani L, Procaccio V, Foidart J-M, Flouriot G, Lenfant F, Fontaine C, Arnal J-F, Henrion D. Membrane estrogen receptor alpha (ER $\alpha$ ) participates in flow-mediated dilation in a ligand-independent manner // *Elife.* 2021;(10):e68695. Doi: 10.7554/elife.68695.
7. Simoncini T. Mechanisms of action of estrogen receptors in vascular cells: relevance for menopause and aging // *Climacteric.* 2009;12(1):6–11. Doi:10.1080/13697130902986385.
8. Arnal J-F, Lenfant F, Metivier R, Flouriot G, Henrion D, Adlammerini M, Fontaine C, Gourdy P, Chambon P, Katzenellenbogen B, Katzenellenbogen J. Membrane and Nuclear Estrogen Receptor Alpha Actions: From Tissue Specificity to Medical Implications // *Physiol Rev.* 2017;97(3):1045–1087. Doi:10.1152/physrev.00024.2016.
9. Niță A-R, Knock GA, Heads RJ. Signalling mechanisms in the cardiovascular protective effects of estrogen: With a focus on rapid/membrane signaling // *Curr Res Physiol.* 2021; (4):103–118. Doi: 10.1016/j.crphys.2021.03.003.
10. Васина Е. Ю., Чеду С. Г., Петрищев Н. Н. Гендерные отличия тромбозистенности сосудистой стенки в эксперименте при фотоповреждении бедренной артерии крысы // Регинарное кровообращение и микроциркуляция. – 2012. –Т. 11, № 3. –С. 8183. [Vasina EYu, Chefu SG, Petrishchev NN. Gender differences in resistance to thrombosis induced in rat femoral artery by a photochemical reaction // Regional blood circulation and microcirculation. 2012;11(3):81–83. (In Russ.)]. Doi:10.24884/1682-6655-2012-11-3-81-83.
11. Kingma JG Jr; Laher I. Effect of endothelin on sex-dependent regulation of tone in coronary resistance vessels // *Biochem Biophys Res Commun.* 2021;(540):56–60. Doi:10.1016/j.bbrc.2020.12.103.
12. Hamilton K, MacKenzie A. Gender specific generation of nitroxyl (HNO) from rat endothelium // *Vascul Pharmacol.* 2015;(71):208–214. Doi: 10.1016/j.vph.2015.03.004.
13. Крупакин А. И., Сидоров В. В. Лазерная допплеровская флюметрия микроциркуляции крови: рук. для врачей. М.: Медицина, 2005. 256 с. [Krupatkin AI, Sidorov VV. Lazerная допплеровская флюметрия микротоксикологии крови. Rukovodstvo dlya vrachey. Moscow, Meditsina, 2005:256. (In Russ.)].
14. Лапитан Д. Г., Рогаткин Д. А. Функциональное исследование системы микроциркуляции крови методом лазерной допплеровской флюметрии в клинической медицине: проблемы и перспективы // Альм. клин. медицины.–2016. – № 44 (2). – С. 249–259. [Lapitan DG, Rogatkin DA. Functional studies on blood microcirculation system with laser Doppler flowmetry in clinical medicine: problems and prospects // Almanac of Clinical Medicine. 2016;44(2):249–259. (In Russ.)]. Doi: 10.18786/2072-0505-2016-44-2-249-259.
15. Ногеров А. Р. Половой диморфизм у белых крыс перфузии ткани и функционального состояния эндотелия микроциркуляторного русла // Бюллетень мед. Интернет-конф. 2013;3(7):1007–1009. [Nogerov AR. Sexual dimorphism of tissue perfusion and functional state of the endothelium of the microcirculatory bed in white rats // Bulletin of Medical Internet Conferences. 2013;3(7):1007–1009. (In Russ.)].
16. Гурова О. А., Рыжакин С. М. Гендерные различия показателей ЛДФ-метрии у здоровых молодых людей // Естественные и техн. науки. – 2015. – Т. 84, № 6. – С. 176–177. [Gurova OA, Ryzhakin SM. Gender differences in LDF metry indices in healthy young people // Natural and Technical Sciences. 2015;6(84):176–177. (In Russ.)].
17. Stupin A, Stupin M, Baric L, Matic A, Kolar L, Drenjancevic I. Microvascular reactivity of young healthy subjects // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2019;72(4):339–351. Doi: 10.3233/CH-180483.
18. Омельяненко К. В., Горшков А. Ю., Федорович А. А. и др. Гендерные особенности микроциркуляторного русла кожи у здоровых лиц трудоспособного возраста // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2021. – Т. 20, № 8. – С. 3111. [Omelyanenko KV, Gorshkov AYu, Fedorovich AA, Korolev AI, Dadaeva VA, Akasheva DU, Drapkina OM. Sex features of cutaneous microvasculature in healthy working-age people // Cardiovascular Therapy and Prevention. 2021;20(8):3111. (In Russ.)]. Doi: 10.15829/1728-8800-2021-3111.
19. Cora MC, Kooistra L, Travlos G. Vaginal Cytology of the Laboratory Rat and Mouse: Review and Criteria for the Staging of the Estrous Cycle Using Stained Vaginal Smears // *Toxicol. Pathol.* 2015;43(6):776–793. Doi: 10.1177/0192623315570339.
20. Johnson JM, Minson CT, Kellogg DL Jr. Cutaneous Vasodilator and Vasoconstrictor Mechanisms in Temperature Regulation // *Compr. Physiology.* 2014;4(1):33–89. Doi: 10.1002/cphy.c130015.
21. Alba BK, Castellani JW, Charkoudian N. Cold-induced cutaneous vasoconstriction in humans: Function, dysfunction and the distinctly counterproductive // *Exp Physiol.* 2019; 104(8):1202–1214. Doi: 10.1113/EP087718.
22. Greenfield ADM. The circulation through the skin. In: Hamilton WF, Dow P, editor. *Handbook of Physiology, Circulation.* Washington, DC: Am. Physiol. Soc., 1963.
23. Shepherd JT, Rusch NJ, Vanhoutte PM. Effect of cold on the blood vessel wall // *Gen Pharmacol.* 1983;14(1):61–64. Doi: 10.1016/0306-3623(83)90064-2.
24. Saumet JL, Kellogg DL Jr; Taylor WF, Johnson JM. Cutaneous laser-Doppler flowmetry: Influence of underlying muscle blood flow // *J Appl Physiol.* 1988;65(1):478–481. Doi: 10.1152/jappl.1988.65.1.478.
25. Hodges GJ, Zhao K, Kosiba WA, Johnson JM. The involvement of nitric oxide in the cutaneous vasoconstrictor response to local cooling in humans // *J Physiol. (London).* 2006; 574(Pt 3):849–857. Doi: 10.1113/jphysiol.2006.109884.
26. Yamazaki F, Sone R, Zhao K, Alvarez GE, Kosiba WA, Johnson JM. Rate dependency and role of nitric oxide in the vascular response to direct cooling in human skin // *J Appl Physiol.* 2006;100(1):42–50. Doi: 10.1152/japplphysiol.00139.2005.
27. Levin ER. Integration of the extranuclear and nuclear actions of estrogen // *Mol. Endocrinol.* 2005;19(8):1951–1959. Doi: 10.1210/me.2004-0390.
28. Miller AP, Xing D, Feng W, Fintel M, Chen Yiu-Fai, Oparil S. Aged rats lose vasoprotective and anti-inflammatory actions of estrogen in injured arteries // *Menopause.* 2007;14(2):251–260. Doi: 10.1097/01.gme.0000235366.39726.jf6.
29. Li L, Haynes MP, Bender JR. Plasma membrane localization and function of the estrogen receptor  $\alpha$  variant (ER $\alpha$ 46) in human endothelial cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003; 100 (8):4807–4812. Doi: 10.1073/pnas.0831079100.
30. Tropea T, De Francesco EM, Rigiraccioli D, Maggiolini M, Wareing M, Osol G, Mandalà M. Pregnancy augments G protein estrogen receptor (GPER) induced vasodilation in

- rat uterine arteries via the nitric oxide - cGMP Signaling Pathway // *PLoS One*. 2015;10(11):e0141997. Doi: 10.1371/journal.pone.0141997.
31. Traupe T, Stettler CD, Li H, Haas E, Bhattacharya I, Minotti R, Barton M. Distinct roles of estrogen receptors alpha and beta mediating acute vasodilation of epicardial coronary arteries // *Hypertension*. 2007; 9(6):1364–1370. Doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.106.081554.
32. Ayodeji Folorunsho Ajayi , Roland Eghoghosoa Akhigbe. Staging of the estrous cycle and induction of estrus in experimental rodents: an update // *Fertil Res Pract*. 2020;(6):5. Doi: 10.1186/s40738-020-00074-3.
33. Половые и возрастные различия системной воспалительной реакции при экспериментальной эндотоксикемии / А. М. Косырева, О. В. Макарова, Л. П. Михайлова, Л. В. Кактурский // Иммунология. – 2019. – Т. 40, № 3.–С. 28–40. [Kosyрева AM, Makarova OV, Mikhaylova LP, Kakturskiy LV. Sex and age differences of the systemic inflammatory response in experimental endotoxinemia // *Immunologiya*. 2019;40(3):28–40. (In Russ.)]. Doi: 10.24411/0206-4952-2019-13004.
34. Розен В. Б. Основы эндокринологии / под ред. д-ра биол. наук О. В. Смирновой. –3-е изд., перераб. и доп. –М.: Изд-во МГУ, 1994.–384 с. [Rozen VB. Osnovy endokrinologii / pod red. d-ra biol. nauk O. V. Smirnovoj. 3-e izd., pererab. i dop. Moscow, Izd-vo MGU, 1994:384. (In Russ.).]
35. Чхайдзе И. З. Реактивность микросудов брыжейки крыс в разные фазы эстрального цикла // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2005. – Т. 18, № 4. – С. 86–89. [Chkhaidze IZ. Reactivity of the mesenteric microvessels in rats in the various phases of the estrous cycle // *Regional blood circulation and microcirculation*. 2005; 4(18):86–89. (In Russ.)].
36. Dalle Lucca JJ, Adeagbo AS, Alsip NL. Influence of oestrous cycle and pregnancy on the reactivity of the rat mesenteric vascular bed // *Hum Reprod*. 2000;15(4):961–968. Doi: 10.1093/humrep/15.4.961.

### **Информация об авторе**

**Чхайдзе Ия Зурабовна** – ассистент кафедры акушерства, гинекологии и репродуктологии медицинского факультета, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: chkhaidze\_i@mail.ru.

### **Author information**

Chkhaidze Iya Z. – Assistant of the Department of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Sciences, Medical Faculty, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: chkhaidze\_i@mail.ru.