
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**ЭНДОТЕЛИЙ-НЕЗАВИСИМОЕ АНТИСОКРАТИТЕЛЬНОЕ ВЛИЯНИЕ
ПЕРИВАСКУЛЯРНОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНИ АОРТЫ КРЫСЫ
В НОРМЕ И ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЯХ,
ИНДУЦИРОВАННЫХ ДИЕТОЙ КАФЕ**

© 2023 г. М. Н. Панькова*

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

**E-mail: mpankova@bk.ru*

Поступила в редакцию 17.08.2023 г.

После доработки 30.10.2023 г.

Принята к публикации 31.10.2023 г.

Изменения морфо-функциональных свойств сосудистого русла, происходящие при использовании высококалорийного питания, имеют важное клиническое значение, но роль периваскулярной жировой ткани (ПВЖТ) в этих процессах мало изучена. Целью данной работы было исследование прямого влияния ПВЖТ на сократительную деятельность гладких мышц аорты крыс при метаболических нарушениях, возникающих при использовании диеты кафе (ДК). Было показано, что 7 нед. содержания животных на данной диете приводило к избыточному накоплению висцеральной жировой ткани, нарушениям углеводного и липидного обмена, проявляющимся в виде гипергликемии и гипертриглицеридемии, что характеризует развитие метаболического синдрома. С помощью проволочной миографии на деэндоотелизированных кольцевых сегментах грудной части аорты крысы продемонстрирована важная функциональная роль ПВЖТ в регуляции сосудистого тонуса. В контрольной группе животных, находящихся на стандартном питании, наличие ПВЖТ уменьшало вазоконстрикцию, вызванную стимуляцией адренорецепторных структур фенилэфрином. В опытной группе у крыс при развитии метаболического синдрома, вызванного ДК, происходило снижение протективного действия ПВЖТ. Реализация этого влияния осуществлялась с участием потенциалозависимых и/или Ca^{2+} -активируемых K^{+} -каналов гладких мышц, в то время как вовлеченность АТФ-чувствительных K^{+} -каналов выражена слабо и не изменялась при метаболических изменениях, обусловленных применением ДК. Частично антисократительное влияние ПВЖТ опосредуется через оксид азота (NO), продуцируемого самой ПВЖТ. При метаболических изменениях, вызванных ДК, эндотелий-независимое антисократительное действие NO полностью устраняется без изменения чувствительности к нему сосудистых гладких мышц.

Ключевые слова: периваскулярная жировая ткань, аорта, сосудистая гладкая мышца, вазодилатация, метаболический синдром, диета кафе, фенилэфрин

DOI: 10.31857/S0869813923120075, **EDN:** C1H1DV

ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия было сформировано представление о жировой ткани как о метаболически активном органе, играющем важную роль в регуляции гомеостаза организма, механизмы влияния которого остаются слабо изученными. Связь

ожирения с сердечно-сосудистыми заболеваниями [1] и широкое распространение метаболического синдрома в мировом сообществе актуализируют решение проблемы, связанной с непосредственным влиянием жировой ткани на состояние сосудистого русла как в нормальных физиологических условиях, так и при избыточном ее накоплении. В экспериментальных условиях метаболические изменения, характеризующие развитие метаболического синдрома и проявляющиеся в виде повышенного накопления жировой ткани, гипергликемии и дислипидемии, могут быть получены как в генетических моделях, так и индуцированы применением различных диет [2]. Особый интерес среди диетиндуцированных моделей представляет собой диета “кафе” (ДК), которая, в отличие от высокожировых диет или диет с повышенным содержанием сахаров, включает в себя разнообразные высококалорийные продукты, и, таким образом, более приближена к реальному потреблению пищи в повседневной жизни человека [3].

Возрастающее количество исследований в области участия жировой ткани в поддержании гомеостаза организма показало важность не только биологически активных веществ, продуцируемых жировой тканью и оказывающих эндокринное влияние на работу различных органов, включая сердечно-сосудистую систему, но и необходимость наличия неповрежденной периваскулярной жировой ткани (ПВЖТ) для поддержания сосудов в функциональном состоянии. ПВЖТ окружает подавляющее большинство кровеносных сосудов за исключением сосудов мозга, а тесный контакт ПВЖТ с адвентицией сосудов дает основание ряду исследователей рассматривать ее как четвертый слой сосудистой стенки [4]. Влияние ПВЖТ на сосуды не ограничивается выполнением ранее известной структурной (опорной) функции. За последние годы выявлено большое количество физиологически активных веществ, продуцируемых ею и способных влиять на состояние стенки сосудов, а следовательно, изменения, происходящие в самой ПВЖТ при метаболических нарушениях и приводящие к изменению выработки этих веществ, отражаются в поддержании сосудистого тонуса и регуляции кровотока. Целью данной работы было исследование непосредственного (прямого) влияния ПВЖТ на сократительную деятельность гладких мышц аорты крыс при метаболических нарушениях, возникающих при использовании ДК.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные для исследования были получены из Центра коллективного пользования “Биоколлекция” Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. Исследование было проведено на самцах крыс Wistar в возрасте 4 месяцев (масса тела от 410 до 470 г) к началу диеты. Животные были разделены случайным образом, но с учетом равномерности распределения по массе тела на 2 группы: 1-я — контрольная, находившаяся на стандартной диете в виде сухого корма, *ad libitum*; 2-я — получавшая ДК. Во второй группе животным предоставлялся свободный доступ к стандартному корму и воде, в то же время у них имелся также свободный доступ (т.е. право выбора) к высококалорийной пище и 10%-ному раствору сахарозы. Перечень компонентов ДК представлен в табл. 1. В ежедневный набор ДК входило 4 случайно выбранных из этого списка продукта. Калорийность стандартного корма составляла 250 ккал на 100 г.

Крыс содержали на соответствующем рационе в течение 7 нед. и производили их еженедельное взвешивание с целью оценки влияния диеты на прибавку в массе тела. Еженедельную прибавку в массе тела (привес) рассчитывали как разницу текущей измеренной и исходной массы животного.

В конце диеты проводили оценку уровня глюкозы в крови с использованием анализатора AccuCheck Active (Германия) с тест-полосками для глюкозы и уровня

Таблица 1. Калорийность продуктов, использованных в ДК

Продукт	Калорийность на 100 г, ккал	Продукт	Калорийность на 100 г, ккал
Мини-круассаны	450	Перловая каша с салом	550
Вафли	540	Сдоба	460
Кукурузные палочки	510	Чипсы	470
Рулет бисквитный	350	Печенье	440

триглицеридов (ТГ) с использованием анализатора Multicare-in (Италия) с тест-полосками для ТГ в крови. Образцы крови получали из хвостовой вены крыс после 14-часового голодания; перед процедурой кончики хвостов анестезировали с помощью местных анестетиков лидокаина и прилокаина (крем Actiol pro, “Акрихин ХФК” АО, Россия). Для проведения глюкозотолерантного теста (ГТТ), который выполняли на последней неделе диеты, крысам вводили внутривенно раствор глюкозы из расчета 2 г/кг массы тела, оценивали динамику изменения уровня глюкозы в крови в течение 120 мин и изменение площади под кривой (AUC) “глюкоза–время”. Эвтаназию животных осуществляли посредством декапитации, массу эпидидимальной жировой ткани определяли путем взвешивания обеих жировых подушечек. Иссекали грудную часть аорты и помещали в физиологический солевой раствор (physiological salt solution; PSS) с температурой 5°C следующего состава (в мМ): NaCl—120.4; KCl—5.9; CaCl₂—2.5; MgCl₂—1.2; NaH₂PO₄—1.2; NaHCO₃—15.5; глюкоза—11.5, предварительно насыщенного газовой смесью, состоящей из 95% O₂ и 5% CO₂; pH 7.4. В дальнейшем в экспериментах использовали кольцевые сегменты верхней и средней части нижней трети аорты. Длина сегмента составляла 2–2.5 мм. Часть колец оставляли интактными, а другую часть под бинокулярным увеличением тщательно очищали от окружающего сосуд периваскулярного жира. Деэндотелизацию кольцевых сегментов осуществляли механически путем осторожного соскабливания внутреннего слоя и в соответствии с имеющимися рекомендациями [5].

Миографическое исследование проводили путем размещения сосудистого кольца между двумя штоками из нержавеющей стали, один из которых являлся продолжением датчика силы FORT-25 (WPI, США). После усиления (усилитель INA333, Texas Instruments Incorporated) сигнал от датчика был оцифрован с частотой 50 Гц (АЦП, встроенный в микроконтроллер STM32F373, STMicroelectronics, США) и далее обработан с помощью программы регистрации, разработанной в Институте экспериментальной медицины и написанной на языке (C++), обеспечивавшей непрерывную запись информации с датчика на протяжении всего эксперимента [6]. Исследуемый препарат был размещен в проточной термостатируемой экспериментальной камере объемом 10 мл и исследован при скорости потока PSS 4–6 мл/мин и температуре 37.5°C. Аортальные кольца подвергали натяжению до 2 г, оставляли для стабилизации состояния в течение 1 ч, после чего проводили регистрацию сократительной активности. В качестве эталона для оценки сократительной способности гладких мышц сосудов использовали гиперкалиевый раствор (60 мМ), приготовленный путем замены ионов Na⁺ в PSS на эквимольное количество ионов K⁺, и дальнейшие сократительные ответы на введение фенилэфрина (PhE, Sigma-Aldrich, США) в диапазоне концентраций от 10⁻⁹ до 10⁻⁵ М выражали в % по отношению к зарегистрированному ответу на KCl. При исследовании участия оксида азота (NO) в реализации влияния ПВЖТ на сократительную деятельность аорты были использованы: ингибитор NO-синтазы метиловый эфир N^ω-нитро-L-аргинина—L-NAME (ICN Biomedicals; 10⁻⁴ М), оказывающий ингибирующее действие,

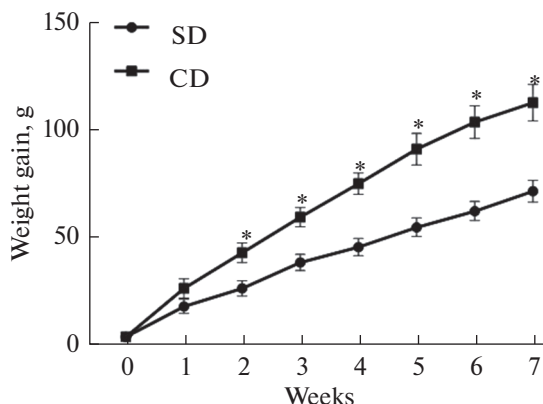


Рис. 1. Ежедневный привес, рассчитанный путем сравнения конечной и исходной массы тела. SD — контрольная группа, получающая стандартный корм ($n = 12$), CD — диета кафетерия ($n = 10$). Данные представлены в виде среднего значения $\pm$ SEM (two-way ANOVA, post-hoc Bonferroni test). * — различия между группами достоверны ($p < 0.05$).

преимущественно, на eNOS, и экзогенный донор NO-нитропруссид натрия (SNP; ICN Biomedicals; 10^{-6} – 10^{-4} М). В серии экспериментов с участием блокаторов калиевых каналов—тетраэтиламмония хлорида (ТЭА; Sigma-Aldrich, США; 10^{-3} М), глибенкламида (Sigma-Aldrich, США; 10^{-5} М) — проводили регистрацию сократительных ответов на PhE (10^{-6} М) в PSS до и после использования блокатора (в течение 20 мин). Максимальная величина вазоконстрикторного ответа на действие PhE в присутствии блокатора была выражена в % к таковой, измеренной в отсутствие блокатора. Для растворения глибенкламида был использован ДМСО (диметилсульфоксид, Вектон, Россия), концентрация которого в экспериментальной камере не превышала 0.1%.

Статистическая обработка данных была проведена при использовании программы GraphPad Prism 8.0.1. Полученные в экспериментах данные были проверены на нормальность распределения с помощью критерия Шапиро–Уилка. В соответствии с результатами этой проверки в дальнейшем были использованы соответствующие параметрические или непараметрические статистические критерии — t -критерий Стьюдента, U-критерий Манна–Уитни, одно- и двухфакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с поправкой Бонферрони при последующем post-hoc анализе. Полученные данные представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего (SEM). Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На старте диеты животные контрольной, получавшей стандартный корм, и опытной, находившейся на ДК, групп не имели достоверных различий по массе тела; в дальнейшем крысы, содержащиеся на ДК, продемонстрировали более высокую прибавку в весе, причем это увеличение происходило с первой недели диеты (рис. 1).

Животные группы ДК отдавали предпочтение сладким и жирным продуктам, включенным в рацион, потребление стандартного корма оставалось, но было незначительным. Результаты изменения веса, накопления висцерального жира, показателем которого была выбрана масса эпидидимального жира, а также использо-

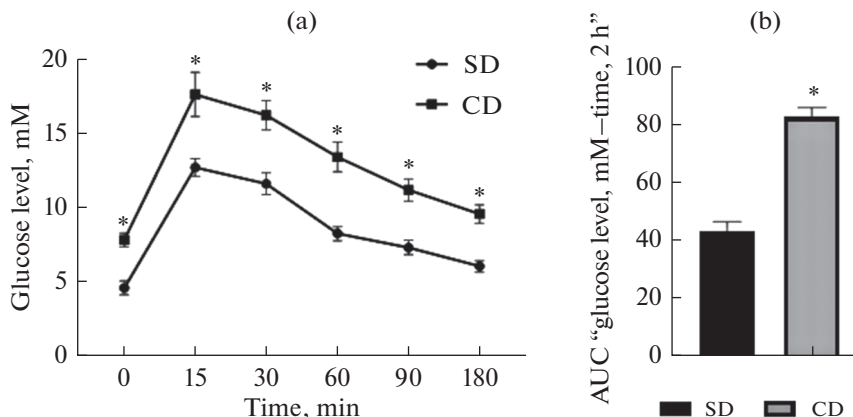


Рис. 2. Результаты глюкозотолерантного теста (ГТТ). SD — группа, получавшая стандартный корм ($n = 7$); CD — группа, содержавшаяся на диете кафе в течение 7 нед. ($n = 7$). (a) — график динамики уровня глюкозы в крови в течение 2 ч; (b) — площадь под кривой (AUC) “глюкоза—время”. Данные представлены в виде среднего значения $\pm SEM$ (для анализа динамики уровня глюкозы использованы two-way ANOVA, post-hoc Bonferroni test, для анализа AUC — t -test). * — различия между группами достоверны ($p < 0.05$).

ванные показатели углеводного (уровень глюкозы в крови) и липидного (уровень ТГ в крови) обмена после 7 недель ДК представлены в табл. 2.

Представленные данные свидетельствуют о развитии у крыс диетной группы нарушений углеводного и липидного обмена, проявляющиеся в виде повышения количества эпидидимального жира, уровней глюкозы и ТГ в крови на 146, 65 и 62% соответственно.

Проведение ГТТ по окончании диеты показало, что толерантность к глюкозе у ДК крыс снижена по сравнению с крысами контрольной группы, это проявлялось в том, что у крыс ДК отмечены более высокие уровни глюкозы максимального подъема и измеренного по окончании 2 ч после введения глюкозы (рис. 2a). Это нашло отражение в увеличении площади под кривой (AUC) “глюкоза—время” (рис. 2b).

При исследовании агонист-индуцированных сокращений, вызванных кумулятивным введением PhE в омывающий раствор, в контрольной группе животных было проведено сравнение величины сократительных ответов кольцевых сегментов при наличии ПВЖТ при сохранности эндотелия и после его удаления. Данные отражены на рис. 3.

Таблица 2. Морфометрические и биохимические показатели после 7 недель содержания крыс на диете кафе

	Контроль	Диета кафе
Исходная масса тела, г	445 $\pm$ 7 ($n = 12$)	443 $\pm$ 6 ($n = 10$)
Масса тела при завершении диеты, г	507 $\pm$ 7 ($n = 12$)	551 $\pm$ 5 ($n = 10$)*
Масса эпидидимального жира, г	6.5 $\pm$ 0.2 ($n = 12$)	16.0 $\pm$ 1.1 ($n = 10$)*
Уровень глюкозы в крови натощак, ммоль/л	4.75 $\pm$ 0.19 ($n = 10$)	7.82 $\pm$ 0.26 ($n = 10$)*
Уровень ТГ в крови натощак, ммоль/л	0.80 $\pm$ 0.06 ($n = 5$)	1.34 $\pm$ 0.14 ($n = 5$)*

Данные представлены в виде среднего значения $\pm SEM$ (t -test — для параметрических параметров; Mann–Whitney test — для непараметрических параметров). * — различия достоверны между контрольной и опытной группой, $p < 0.05$.

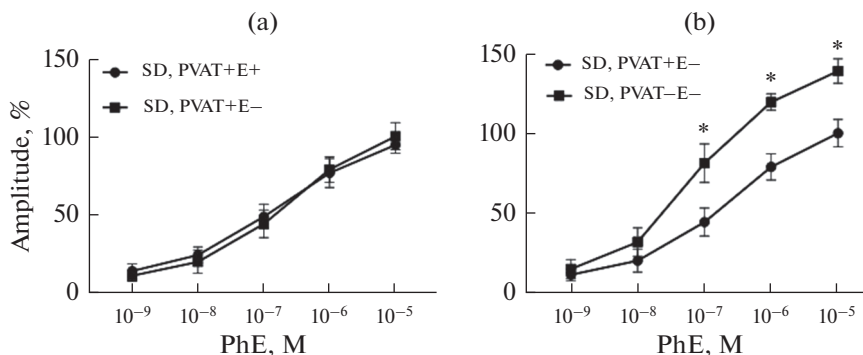


Рис. 3. Сократительные ответы аортальных кольцевых сегментов контрольной группы на действие PhE. (a) — препараты с сохраненной ПВЖТ: E+ — с интактным эндотелием ($n = 6$); E- — с удаленным эндотелием ($n = 7$); (b) — деэндотелизированные препараты в присутствии (PVAT+, $n = 7$) и при удалении (PVAT-, $n = 7$) ПВЖТ. Данные представлены в виде среднего значения $\pm$ SEM (one-way ANOVA, post-hoc Bonferroni test). * — различия между группами достоверны ($p < 0.05$).

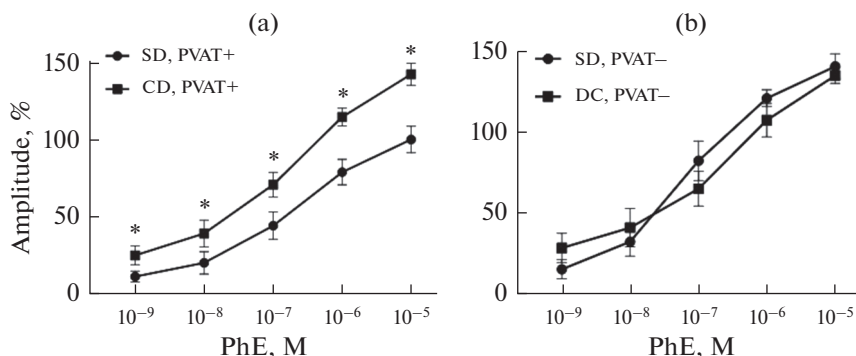


Рис. 4. Сократительные ответы на введение PhE кольцевых деэндотелизированных сегментов аорты крыс при содержании на стандартном корме (SD) и на диете кафе (CD): (a) — при сохраненной ПВЖТ (PVAT+); (b) — после удаления ПВЖТ (PVAT-). Данные представлены в виде среднего значения $\pm$ SEM (one-way ANOVA, post-hoc Bonferroni test). * — различия между группами достоверны ($p < 0.05$).

На рис. 4 отражены дозозависимые кривые, отражающие величину сократительных ответов сосудов здоровых животных на действие PhE в контрольной и опытной группе после развития инсулинорезистентности, вызванной использованием диеты. В присутствии ПВЖТ кольцевые сегменты аорты демонстрировали меньшую амплитуду сокращений в контрольной группе, в то время как при удалении ПВЖТ достоверных различий между контрольными и опытными группами получено не было.

Учитывая важность снижения влияния NO при дисфункциональных изменениях эндотелия, вызванных высококалорийными диетами, а также возможность продукции NO ПВЖТ и противоречивые сведения относительно его вклада в антисократительные эффекты ПВЖТ, было исследовано изменение сократительной активности аорты в условии ингибирования NO-синтазы путем предварительного введения в омывающий раствор в течение 20 мин L-NAME (10^{-4} M).

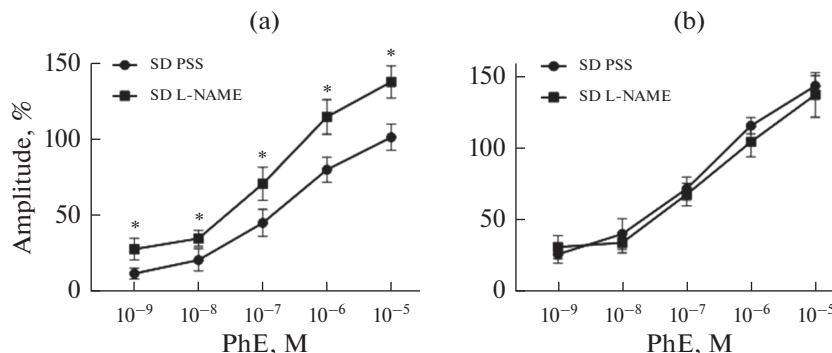


Рис. 5. Величина сократительных ответов на действие PhE аорты (без эндотелия) с сохраненной ПВЖТ до и после инкубации с L-NAME. SD – группа, находящаяся на стандартном корме, CD – группа, находящаяся на диете кафе, PSS – физиологический солевой раствор, L-NAME – в присутствии L-NAME (10^{-4} M). Данные представлены в виде среднего значения $\pm$ SEM (one-way ANOVA, post-hoc Bonferroni test). * – различия между группами достоверны ($p < 0.05$).

На рис. 5 представлены графики изменений величины сокращений сосудов (в %) в присутствии ПВЖТ после предварительной обработки с L-NAME в течение 20 мин. У контрольных животных наблюдалось усиление сократительных ответов на PhE, тогда как у животных после ДК достоверных различий зарегистрировано не было.

В то же время использованная диета не привела к снижению чувствительности гладких мышц сосудов к NO, т.к. вазодилатация, вызванная введением экзогенного донора NO нитропруссидом натрия, существенно не отличалась у контрольных и опытных животных. Величина релаксационных ответов на введение SNP (10^{-5} M) аортальных сегментов с удаленным эндотелием, выраженная в % от амплитуды вазоконстрикции, вызванной гиперкалиевым раствором (60 mM), составила 93.65 ± 1.44 в контрольной группе ($n = 6$) vs 92.10 ± 1.97 в группе ДК ($n = 6$), что не является статистически значимым (t -test, $p < 0.05$).

Для выяснения механизмов реализации антисократительного действия факторов, вырабатываемых ПВЖТ, на сократительную активность гладкомышечных клеток, была проведена серия экспериментов с использованием блокаторов калиевых каналов, которые, как известно, играют ведущую роль в осуществлении релаксационных процессов гладких мышц сосудов. У препаратов с сохраненной ПВЖТ разница величины сокращений на PhE, выраженных в % от величины сокращений в PSS, после предварительной обработки глибенкламидом и ТЭА, представлена на рис. 6.

Применение блокатора АТФ-чувствительных K-каналов (IK_{ATP}) глибенкламида приводило к небольшому усилению сократительных ответов, вызванных PhE, величина которого составила в контрольной ($108.4 \pm 8.1\%$) и в опытной ($109.3 \pm 8.7\%$) группах. Однако следует отметить, что несмотря на незначительное повышение максимальной величины сокращений (менее 10%), в ряде препаратов наблюдали замедление снижения PhE-индуцированного тонического сокращения после инкубации с глибенкламидом. Использование неселективного блокатора потенциалозависимых K-каналов ТЭА приводило к увеличению максимальной величины ответов на 59.6 ± 4.0 у контрольных животных и достоверно не влияло на величину ответа в ДК группе.

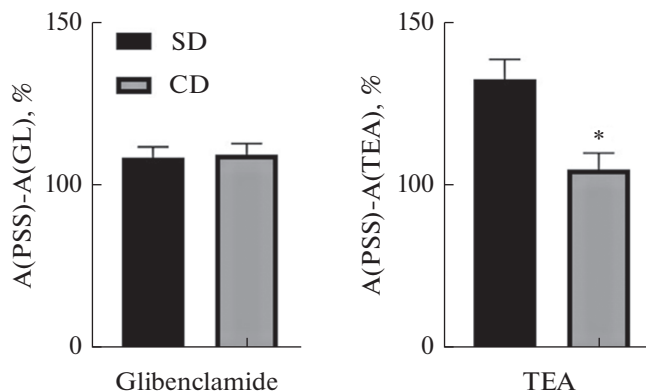


Рис. 6. Изменения сократительных ответов деэндотелизированных сегментов аорты с сохраненной ПВЖТ на действие PhE (10^{-6} M) при применении блокаторов калиевых каналов: (а) глибенкламида (Gl) (10^{-5} M); (б) тетраэтиламмония хлорида (TEA) (10^{-3} M). Величина сокращений выражена в процентах от величины сокращений в PSS. $A(PSS) - A(Gl/TEA)$ разница величины сокращений на PhE, измеренных до $A(PSS)$ и после $A(Gl/TEA)$ предварительной обработки соответствующим блокатором. Данные представлены в виде среднего значения $\pm$ SEM (*t*-test). * – различия между группами достоверны ($p < 0.05$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Использование в данном исследовании ДК, ранее зарекомендовавшей себя как адекватная модель для развития метаболического синдрома и сахарного диабета 2-го типа [3], позволило получить более быстрый прирост массы тела и увеличение массы жировой ткани у опытных животных по сравнению с контрольными. Обращает на себя внимание, что достоверное увеличение массы тела наблюдалось уже после 1-й недели диеты и оставалось увеличенным на всем протяжении диеты, тогда как при использовании высококалорийных монодиет подобные изменения происходят либо в более поздние сроки, либо отмечается стабилизация массы тела вслед за повышенным приростом вследствие ограничения потребления пищи [7, 8]. Увеличение массы тела и жировой ткани при использовании ДК может быть объяснено как произвольной гиперфагией, так и повышением калорийности рациона вследствие того, что животные отдавали предпочтение высококалорийным продуктам. Ряд исследователей полагает, что обогащенная окружающая среда, имеющая место при данной диете, препятствует развитию хронического стресса [9], сопровождающегося снижением массы тела, при использовании монодиет.

Многочисленные данные, полученные при изучении взаимосвязи ожирения и функциональным состоянием сердечно-сосудистой системы, свидетельствуют о том, что объективным предиктором развития сердечно-сосудистых заболеваний и риска смертности является абдоминальное (висцеральное) ожирение [10]. Висцеральная жировая ткань расположена в различных депо, и увеличение массы любого из этих депо отражает общее увеличение висцеральной жировой ткани. Ранее было показано, что надежным критерием ее оценки является масса эпидидимальной жировой ткани [11], которая и была использована в данном исследовании. По итогам диеты было зарегистрировано ее увеличение более чем в 2 раза по сравнению с контролем, что продемонстрировало избыточное накопление висцеральной жировой ткани. Гипергликемия и инсулинорезистентность, выявленные по результатам измерения уровня глюкозы в крови натощак и при проведении глюкозо-

толерантного теста, а также повышенное содержание триглицеридов в крови свидетельствуют о нарушении как углеводного, так и липидного обмена у животных после содержания на ДК. Ранее было установлено, что подобные метаболические нарушения приводят к повышению артериального давления вследствие усиления вазоконстрикции и снижения вазодилатации, которые связывали, прежде всего, с вызываемым этими нарушениями снижением продукции эндотелием релаксирующих факторов [12, 13].

Однако интенсивные исследования влияния жировой ткани на состояние сосудистой стенки, проводимые в последние два десятилетия, позволили выявить, что целый ряд веществ, выделяемых ею, способны оказывать как вазорелаксантное, так и вазоконстрикторное действие, включая эффекты адипокинов, опосредуемые через другие структуры, главным образом, гипоталамус [14, 15]. Тесный контакт ПВЖТ с сосудистой стенкой и способность продуцировать вазоактивные вещества [16] обуславливают возможность паракринных влияний. В настоящем исследовании было продемонстрировано, что сократительные ответы сосудов на применение PhE во всем использованном диапазоне концентраций в контрольной группе были достоверно ниже в аортальных кольцах с сохраненной ПВЖТ, по сравнению с препаратами, где ПВЖТ отсутствовала. Это согласуется как с первыми наблюдениями антисократительного действия ПВЖТ [17] на действие норадреналина, так и с результатами последующих исследований [18]. Выраженность величины антисократительных влияний ПВЖТ в этих исследованиях значительно различалась, что во многом зависело как от вещества, индуцировавшего сократительный ответ гладких мышц сосудов, так и от состава ПВЖТ, окружающей тот или иной тип сосуда. Так, снижение сократительных ответов сосудов с интактной ПВЖТ по сравнению с сосудами без ПВЖТ на действие ангиотензина II, серотонина и фенилэфрина было 95, 80 и 30% соответственно [17]. В ПВЖТ входят преадипоциты, адипоциты и стромально-сосудистая фракция, включающая клетки иммунной системы, мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, коллагеновые волокна, фибробласты, нервные волокна, клетки кровеносных и лимфатических сосудов. Качественный и количественный состав этих элементов, а следовательно, и продуцируемых ими веществ, различается в разных частях сосудистого русла. Так, в состав ПВЖТ грудной части аорты входят адипоциты бурой жировой ткани, а ПВЖТ, окружающая брюшную часть аорты и коронарные артерии, представляет собой смесь белой и бурой жировой ткани, а ПВЖТ брыжеечных, бедренных и сонных артерии напоминает белую жировую ткань [19–21]. Учитывая гетерогенность ПВЖТ, в данном исследовании все используемые кольцевые сегменты контрольной и опытной групп были взяты из определенного региона.

Вещества, продуцируемые ПВЖТ, могут оказывать паракринные влияния как на эндотелиальные клетки, стимулируя или ингибируя выработку эндотелий-производных факторов, так и непосредственно на гладкомышечные клетки сосудов. Однако в серии экспериментов, проведенной на деэндотелизированных препаратах и препаратах с неповрежденным эндотелием, при сохранности ПВЖТ достоверной разницы в величине сократительных ответов на применение PhE не было зарегистрировано. В данной работе во всех экспериментах, направленных на выявление прямого влияния факторов, секретируемых ПВЖТ, использовали кольцевые препараты с удаленным эндотелием. Как было отмечено выше, в контрольной группе животных наличие ПВЖТ препятствовало развитию вазоконстрикции, инициированной PhE, тогда как в аортах с сохраненной ПВЖТ и при ее удалении у крыс после диеты достоверного изменения величины сократительных ответов на применение PhE зарегистрировано не было. В то же время исчезновение различий в сократительных ответах препаратов аорты после удаления ПВЖТ у животных контрольной и опытной групп предполагает, что нарушения в реактивности аорты

при метаболическом синдроме связаны, в основном, именно с изменением регуляторной функции ПВЖТ.

Широко известным вазодилататором является NO, продуцируемый эндотелиальными клетками сосудов, и дисфункциональные изменения эндотелия, имеющие место при использовании высокожировой и/или высокоуглеводной диет и отмеченные в значительном количестве работ и, в частности, рассмотренные в обзоре Engin [22], приводят к снижению его продукции. Однако экспрессия эндотелиальной NO-синтазы (eNOS, NOS-3) выявлена не только в клетках эндотелия, но и в других типах клеток, включая адипоциты [23]. Наличие eNOS в ПВЖТ показано в ряде исследований [23–25], но вопрос участия в осуществлении вазорелаксирующего действия NO, продуцируемого ПВЖТ, остается дискутируемым и спорным: от значительного влияния до полного его отсутствия, что частично может быть объяснено различными типами сосудов, используемых в исследованиях. Существуют значительные отличия экспрессии eNOS в ПВЖТ из разных анатомических областей [25]. В проведенном нами исследовании показано, что в грудной части аорты крысы в условиях ингибирования eNOS при инкубации препаратов с L-NAME в контрольной группе происходило усиление сократительных ответов на введение фенилэфрина при сохранности ПВЖТ, которое отсутствовало при удалении ПВЖТ и в сегментах аорты животных после диеты как в присутствии, так и при отсутствии ПВЖТ. Это доказывает, что NO, продуцируемый ПВЖТ, способен оказывать антисократительное действие на гладкие мышцы аорты, хотя его влияние не такое значительное, как у NO эндотелиального происхождения. При метаболических сдвигах, вызванных ДК, это влияние нивелируется, одной из причин чего может являться снижение чувствительности гладких мышц к NO. Результаты данного исследования показывают, что SNP-опосредованная вазодилатация существенно не различалась в контрольной и опытной группах, это свидетельствует о том, что использованная диета не привела к изменению чувствительности гладких мышц сосудов к NO.

Учитывая вовлеченность АТФ-чувствительных калиевых каналов в патофизиологические процессы, происходящие при диабете и ожирении, и важную роль каналов данного типа в релаксации сосудистых гладких мышц, вызванной эндотелиальными факторами, нами проведено исследование изменений сосудистой сократительной активности в условиях их блокады. Еще в одной из первых работ, посвященной изучению антисократительных свойств ПВЖТ [17], было продемонстрировано, что блокада IK_{ATP} -каналов глибенкламидом увеличивала величину сокращений аорты, вызванных серотонином, в присутствии ПВЖТ. Однако результаты, полученные в ряде последующих исследований, отрицали вклад данных каналов при реализации антисократительных свойств ПВЖТ, что особенно убедительно было продемонстрировано на препаратах из брюшной части аорты и брыжеечных сосудах [26]. В настоящей работе у препаратов с интактной ПВЖТ мы наблюдали усиление сократительной активности после блокады IK_{ATP} глибенкламидом как в контрольной группе, так и у животных после диеты, которое хотя и было достоверным, но было весьма слабо выражено. Это возможно объяснить, если согласиться с предположением, основанном на количественной оценке результатов экспериментов с удалением ПВЖТ, которое заключается в том, что глибенкламид противодействует антиконтракtilьному эффекту ПВЖТ посредством неспецифического, независимого от ПВЖТ механизма [27]. Заслуживает внимания факт изменения динамики сократительных ответов на действие PhE после инкубации с глибенкламидом, который требует дальнейших исследований. В отличие от действия глибенкламида инкубация с ТЭА приводил к значительному повышению силы сокращения, индуцированного PhE, кольцевых сегментов с сохраненной ПВЖТ в контрольной, но не в опытной группе. В связи с тем, что ТЭА способен блокиро-

вать как потенциалозависимые, так и несколько типов Ca^{2+} -активируемых каналов как большой, так и промежуточной проводимости, полученные данные свидетельствуют об участии этих каналов в реализации пути антисократительного действия ПВЖТ и потере этой способности после содержания на диете.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные в настоящей работе данные показывают, что использование ДК в течение 7 недель вызывает у крыс развитие характерных признаков метаболического синдрома: висцерального ожирения, гипергликемии и гипертриглицеридемии. Продемонстрирована важная функциональная роль ПВЖТ, которая в нормальных условиях заключается в предотвращении повышенной вазоконстрикции, вызванной стимуляцией адренорецепторных структур фенилэфрином. Реализация этого влияния осуществляется с участием потенциалозависимых и/или Ca^{2+} -активируемых K^{+} -каналов гладких мышц, в то время как вовлеченность АТФ-чувствительных K^{+} -каналов выражена слабо и не изменяется при метаболических изменениях, обусловленных применением ДК. Продукция и высвобождение NO клетками ПВЖТ представляется существенным компонентом антисократительного влияния этой ткани на аорту крысы. При развитии метаболического синдрома, вызванного ДК, происходит снижение протективного действия ПВЖТ.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям Комиссии по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных при Институте физиологии им. И.П. Павлова РАН (Institutional Animal Care and Use Committee – IACUC), протокол №15/02 от 15 февраля 2021 г.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Госпрограммы 47 ГП “Научно-технологическое развитие Российской Федерации (2019–2030), тема 0134–2019–0001.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор данной статьи сообщает об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Brant LC, Wang N, Ojeda FM, LaValley M, Barreto SM, Benjamin EJ, Mitchell GF, Vasan RS, Palmisano JN, Münzel T, Blankenberg S, Wild PS, Zeller T, Ribeiro AL, Schnabel RB, Hamburg NM (2017) Relations of Metabolically Healthy and Unhealthy Obesity to Digital Vascular Function in Three Community-Based Cohorts: A Meta-Analysis. *J Am Heart Assoc* 6: e004199. <https://doi.org/10.1161/JAHA.116.004199>
2. Panchal SK, Brown L (2011) Rodent models for metabolic syndrome research. *J Biomed Biotechnol* 2011: 351982. <https://doi.org/10.1155/2011/351982>
3. Sampey B, Vanhoose AM, Winfield H M, Freemerman AJ, Muehlbauer MJ, Fueger PT, Newgard CB, Makowski L (2011) Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to high-fat diet. *Obesity (Silver Spring, Md.)* 19: 1109–1117. <https://doi.org/10.1038/oby.2011.18>
4. Akoumianakis I, Antoniadou C (2017) The interplay between adipose tissue and the cardiovascular system: is fat always bad? *Cardiovasc Res* 113: 999–1008. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvx111>

5. Uluoglu C, Zengil H (2003) Comparison of different de-endothelization procedures in the isolated rat thoracic aorta: a short communication. *Res Communicat Mol Pathol Pharmacol* 113-114: 289–297.
6. Lobov GI (2022) Contractile function of the capsule of the bovine mesenteric lymph node at the early stage of inflammation. *J Evol Biochem Physiol* 58(6):2109–2123.
<https://doi.org/10.31857/S0869813922120093>
7. Ramirez I, Friedman MI (1990) Dietary hyperphagia in rats: role of fat, carbohydrate, and energy content. *Physiol Behav* 47: 1157–1163.
[https://doi.org/10.1016/0031-9384\(90\)90367-d](https://doi.org/10.1016/0031-9384(90)90367-d)
8. Oliva L, Aranda T, Caviola G, Fernández-Bernal A, Alemany M, Fernández-López JA, Remesar X (2017) In rats fed high-energy diets, taste, rather than fat content, is the key factor increasing food intake: a comparison of a cafeteria and a lipid-supplemented standard diet. *Peer J* 5: e3697.
<https://doi.org/10.7717/peerj.3697>
9. Zeeni N, Bassil M, Fromentin G, Chaumontet C, Darcel N, Tome D, Daher CF (2015) Environmental enrichment and cafeteria diet attenuate the response to chronic variable stress in rats. *Physiol Behav* 139: 41–49.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.11.003>
10. Powell-Wiley TM, Poirier P, Burke LE, Després JP, Gordon-Larsen P, Lavie CJ, Lear SA, Nduemele CE, Neeland IJ, Sanders P, St-Onge MP; American Heart Association Council on Lifestyle and Cardiometabolic Health; Council on Cardiovascular and Stroke Nursing; Council on Clinical Cardiology; Council on Epidemiology and Prevention; and Stroke Council (2021) Obesity and Cardiovascular Disease: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation* 143: e984–e1010.
<https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000973>
11. Foster MT, Shi H, Seeley RJ, Woods SC (2010) Transplantation or removal of intra-abdominal adipose tissue prevents age-induced glucose insensitivity. *Physiol Behav* 101: 282–288.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.05.014>
12. Sena CM, Pereira AM, Seica R (2013) Endothelial dysfunction – a major mediator of diabetic vascular disease. *Biochim Biophys Acta* 1832: 2216–2231.
<https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.08.006>
13. Sharma A, Bernatchez PN, de Haan JB (2012) Targeting endothelial dysfunction in vascular complications associated with diabetes. *Int J Vasc Med* 2012: 750126.
<https://doi.org/10.1155/2012/750126>
14. Van de Voorde J, Pauwels B, Boydens C, Decaluwé K (2013) Adipocytokines in relation to cardiovascular disease. *Metabolism* 62: 1513–1521.
<https://doi.org/10.1016/j.metabol.2013.06.004>
15. Lu SC, Akanji AO (2020) Leptin, Obesity, and Hypertension: A Review of Pathogenetic Mechanisms. *Metab Syndr Relat Disord* 18: 399–405.
<https://doi.org/10.1089/met.2020.0065>
16. Kotanidis CP, Antoniadou C (2021) Perivascular fat imaging by computed tomography (CT): a virtual guide. *Br J Pharmacol* 178: 4270–4290.
<https://doi.org/10.1111/bph.15634>
17. Löhn M, Dubrovskaya G, Lauterbach B, Luft FC, Gollasch M, Sharma AM (2002) Periadventitial fat releases a vascular relaxing factor. *FASEB J* 16: 1057–1063.
<https://doi.org/10.1096/fj.02-0024com>
18. Ahmed A, Bibi A, Valoti M, Fusi F (2023) Perivascular Adipose Tissue and Vascular Smooth Muscle Tone: Friends or Foes? *Cells* 12: 1196.
<https://doi.org/10.3390/cells12081196>
19. Li X, Ma Z, Zhu YZ (2021) Regional Heterogeneity of Perivascular Adipose Tissue: Morphology, Origin, and Secretome. *Front Pharmacol* 12: 697720.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2021.697720>
20. Kim HW, Shi H, Winkler MA, Lee R, Weintraub NL (2020) Perivascular Adipose Tissue and Vascular Perturbation/Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 40: 2569–2576.
<https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.120.312470>
21. van Dam AD, Boon MR, Berbée JFP, Rensen PCN, van Harmelen V (2017) Targeting white, brown and perivascular adipose tissue in atherosclerosis development. *Eur J Pharmacol* 816: 82–92.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.03.051>
22. Engin A (2017) Endothelial Dysfunction in Obesity. *Adv Exp Med Biol* 960: 345–379.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-48382-5_15
23. Xia N, Horke S, Habermeyer A, Closs EI, Reifensberg G, Gericke A, Mikhed Y, Münzel T, Daiber A, Förstermann U, Li H (2016) Uncoupling of Endothelial Nitric Oxide Synthase in Perivascular Adipose Tissue of Diet-Induced Obese Mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 36: 78–85.
<https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.115.306263>
24. Baltieri N, Guizoni DM, Victorio JA, Davel AP (2018) Protective Role of Perivascular Adipose Tissue in Endothelial Dysfunction and Insulin-Induced Vasodilatation of Hypercholesterol-

- emic LDL Receptor-Deficient Mice. *Front Physiol* 9: 229.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00229>
25. *Victorio JA, Fontes MT, Rossoni LV, Davel AP* (2016) Different Anti-Contractile Function and Nitric Oxide Production of Thoracic and Abdominal Perivascular Adipose Tissues. *Front Physiol* 7: 295.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00295>
 26. *Verlohren S, Dubrovskaya G, Tsang SY, Essin K, Luft FC, Huang Y, Gollasch M* (2004) Visceral periadventitial adipose tissue regulates arterial tone of mesenteric arteries. *Hypertension* 44: 271–276.
<https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000140058.28994.ec>
 27. *Schleifenbaum J, Köhn C, Voblova N, Dubrovskaya G, Zavaritskaya O, Gloe T, Crean CS, Luft FC, Huang Y, Schubert R, Gollasch M* (2010) Systemic peripheral artery relaxation by KCNQ channel openers and hydrogen sulfide. *J Hypertens* 28: 1875–1882.
<https://doi.org/10.1097/HJH.0b013e32833c20d5>

Endothelium-Independent Anti-Contractile Effect of Rat Aorta Perivascular Adipose Tissue at Control and Metabolic Disorders Induced by the Cafe Diet

M. N. Pankova*

Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

**e-mail: mpankova@bk.ru*

The use of high-calorie nutrition can lead to morpho-functional changes of the vascular bed that have clinical importance, however, the modulatory effect of perivascular adipose tissue (PVAT) on the vascular system in this process remains poorly characterized. The aim of this work was to study the direct effect of PVAT on the contractile activity of rat aortic smooth muscle in metabolic disorders that occur when using the cafe diet (CD). It was shown that 7 weeks of keeping animals on this diet led to excessive accumulation of visceral adipose tissue, disorders of carbohydrate and lipid metabolism, manifested in the form of hyperglycemia and hypertriglyceridemia, which characterizes the development of the metabolic syndrome. An important functional role of PVAT in the regulation of vascular tone was demonstrated using wire myography on annular without endothelium segments of the thoracic aorta of the rat. In the control group of animals on a standard diet, the presence of PVAT reduced vasoconstriction caused by stimulation by phenylephrine. In the experimental group, in rats with the metabolic syndrome caused by DC, there was a decrease in the protective effect of PVAT. The implementation of this effect was carried out with the participation of voltage-dependent and/or Ca^{2+} -activated K^{+} -channels of smooth muscles, while the involvement of ATP-sensitive K^{+} -channels was weak and independent from metabolic changes caused by the use of CD. Part of the anticontractile effect of PVAT was mediated through nitric oxide (NO) produced by PVAT itself. Under metabolic changes caused by CD, the endothelium-independent anticontractile effect of NO is completely eliminated without changing the sensitivity of vascular smooth muscles to it.

Keywords: perivascular adipose tissue, aorta, vascular smooth muscle, vasodilation, metabolic syndrome, cafe diet, phenylephrine