

*На правах рукописи*

**Царева Инна Анатольевна**

**ИЗМЕНЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ КРОВЕНОСНЫХ  
СОСУДОВ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО  
СИНДРОМА НА РАННИХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА**

1.5.5. - Физиология человека и животных

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург - 2025

Работа выполнена в лаборатории физиологии сердечно-сосудистой и лимфатической систем  
Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт физиологии им.  
И.П. Павлова Российской академии наук

**Научный руководитель:**

**Лобов Геннадий Иванович** - доктор медицинских наук, профессор, заведующий  
лабораторией физиологии сердечно-сосудистой и лимфатической систем федерального  
государственного бюджетного учреждения науки Институт физиологии им. И.П. Павлова  
Российской академии наук

**Официальные оппоненты:**

**Евлахов Вадим Иванович** - доктор медицинских наук, доцент, заведующий лабораторией  
физиологии висцеральных систем им. К.М. Быкова, ФГБУН Институт экспериментальной  
медицины

**Муравьев Алексей Васильевич** - доктор биологических наук, профессор кафедры медико-  
биологических основ спорта, Ярославский государственный педагогический университет  
имени К.Д. Ушинского

**Ведущее учреждение:**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего  
образования «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «    » \_\_\_\_\_ 2025 года в \_\_\_\_ часов на заседании диссертационного  
совета 24.1.137.01 при ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН (199034,  
Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6, тел. (812)328-07-01, электронная почта  
pavlov.institute@infran.ru, сайт <http://infran.ru>).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБУН Институт физиологии  
им. И.П. Павлова РАН (Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6) и на сайте Института  
<http://infran.ru>.

Автореферат разослан «\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2025 года

Ученый секретарь Диссертационного совета,  
доктор биологических наук

Дик Ольга Евгеньевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность проблемы

Метаболический синдром (МС) представляет собой совокупность нескольких факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). Несмотря на отсутствие консенсуса, относительно определения МС и критериев диагностики, общепризнанно, что он характеризуется сосуществованием таких факторов как абдоминальное ожирение, артериальная гипертензия (АГ), инсулинорезистентность (ИР), гипергликемия и атерогенная дислипидемия, т.е. факторов, связанных с повышенным риском развития хронических состояний, таких как ССЗ и сахарный диабет 2 типа (СД2) (Brähler et al., 2009; Swarup et al., 2024).

Распространенность МС в последние десятилетия существенно увеличилась и в настоящее время достигает масштабов эпидемии, около 20% взрослого населения Земли имеют подтвержденный диагноз МС (Sánchez-Lozada et al., 2007; Sebastian et al., 2024). МС поражает не только взрослых, 8-10 % детей и подростков имеют подтвержденный диагноз МС (Noubiap et al., 2022). МС в детском и подростковом возрасте является фактором риска ССЗ и смерти во взрослом состоянии. В отношении детей и подростков на сегодняшний день единые диагностические критерии для определения МС отсутствуют, однако существует общее согласие, что основные признаки, определяющие МС, включают: 1) нарушенный метаболизм глюкозы, 2) артериальную гипертензию, 3) дислипидемию (Weihe et al., 2019). Этиология МС включает сложное взаимодействие между генетической предрасположенностью и факторами окружающей среды (Codazzi et al., 2024). Среди последних у детей и подростков высоко значимым является потребление большого количества фруктозы в составе безалкогольных напитков и выпечки (Taskinen et al., 2019). Фруктоза быстро всасывается в тонком кишечнике и метаболизируется в печени, где она стимулирует гликолиз, липогенез и выработку глюкозы, что приводит к гипертриглицеридемии, гипергликемии, а в последующем, к инсулинорезистентности (Herman et al., 2016; King et al., 2016).

При анализе процесса развития МС длительное время основной акцент делался на резистентности к инсулину, хотя ряд данных в настоящее время указывает на висцеральное ожирение как на основной фактор возникновения всех компонентов МС. Висцеральная жировая ткань вырабатывает значительное количество адипоцитокинов и провоспалительных факторов (Revelo et al., 2014), а также различных вазоконстрикторных медиаторов (Koenen et al., 2021).

Избыток висцерального жира оказывает негативное влияние на системную эндотелиальную функцию. Эндотелий способен реагировать на физиологические и патологические факторы, в ответ на их воздействие он вырабатывает вазоактивные вещества, включая оксид азота (NO), простагландин, эндотелиальные гиперполяризующие факторы и эндотелины (Girkantaite et al., 2022). Гипергликемия, продукты гликирования и воспалительные медиаторы изменяют эндотелиальные внутриклеточные сигнальные пути, что приводит к нарушению эндотелийзависимой вазодилатации и к макро- и микрососудистой дисфункции (Choi et al., 2014; Neeland et al., 2018; Shah et al., 2014).

Продукция эндотелием вазодилататоров противодействует вазоконстрикторным влияниям симпатической нервной системы, и в физиологических условиях обеспечивает эффективную дилатацию артерий и сосудов микроциркуляторного русла (МЦР), поддерживая таким образом АД на оптимальном уровне (Liu et al., 1991). При АГ, сопровождающей МС, наблюдается активация симпатической нервной системы на фоне эндотелиальной дисфункции, сопровождающейся снижением производства вазодилататоров. Несмотря на значительное количество работ в этой области (Konukoglu et al., 2017), функциональное состояние эндотелия артерий и сосудов МЦР при МС изучено недостаточно, в особенности это справедливо в отношении механизмов развития АГ при МС у детей и подростков (Bussler et al., 2017; Sarrafzadegan et al., 2013; Weihe et al., 2019).

В связи с этим актуальной проблемой физиологии и патофизиологии является изучение конкретных механизмов эндотелиальной дисфункции при моделировании МС у молодых животных, в частности - исследование роли оксида азота и простаноидов в регуляции тонуса артерий и сосудов МЦР, а также состояния гладкомышечных клеток этих сосудов.

### **Степень разработанности темы**

Развитие эндотелиальной дисфункции в артериях и сосудах МЦР молодых животных при развитии МС, индуцированного потреблением фруктозы, слабо изучено. Отсутствуют данные о различиях развития МС у молодых животных, связанных с полом. Нет данных о развитии МС у животных с генетически детерминированной АГ. Слабо изучены особенности функционального состояния ГМК артерий и сосудах МЦР при развитии МС у молодых крыс. Основная цель данной работы заключается в оценке дилататорной функции эндотелия и сократительной функции ГМК при развитии МС, индуцированного потреблением фруктозы у молодых крыс, особенностей эндотелиальной дисфункции, связанных с полом и у животных с генетически детерминированной АГ, что имеет не только фундаментальное значение, но и может быть использовано в клинике с целью разработки мер профилактики осложнений МС у детей и подростков.

### **Цель исследования**

Учитывая увеличение количества детей и подростков с МС, а также противоречивую информацию о распространенности и ранних проявлениях МС у мужчин и женщин, целью данного исследования было выявление изменений функционального состояния артерий и сосудов МЦР при моделировании МС фруктозной нагрузкой у молодых крыс (самцов и самок) на ранних этапах онтогенеза.

### **Задачи работы**

1. Оценить изменения физиологических и биохимических показателей у молодых крыс, содержащихся на диете с высоким содержанием фруктозы.
2. Изучить величину и механизмы NO-опосредованной дилатации брыжеечных артерий крыс, содержащихся на диете с высоким содержанием фруктозы, *in vivo* и *in vitro*.
3. Исследовать роль простагландинов в реактивности брыжеечных артерий крыс, получавших фруктозную нагрузку.

4. Изучить особенности механизмов релаксации гладкомышечных клеток брыжеечных артерий самцов и самок крыс, содержащихся на диете с высоким содержанием фруктозы.
5. Оценить параметры и выявить изменения механизмов регуляции микроциркуляторного кровотока в коже у крыс, содержащихся на диете с высоким содержанием фруктозы.
6. Исследовать особенности регуляции тонуса артерий и сосудов микроциркуляторного русла у крыс SHR, содержащихся на диете с высоким содержанием фруктозы.

### **Научная новизна работы**

Установлено, что употребление фруктозы молодыми крысами разных линий (самцами и самками), несмотря на отсутствие общего ожирения, приводит к развитию признаков МС: гипергликемии, дислипидемии, гиперурикемии, увеличению массы висцерального жира и выраженной артериальной гипертензии.

Впервые показано, что развивающийся у молодых крыс МС, индуцированный потреблением фруктозы, приводит к усилению констрикторных реакций артерий преимущественно за счет ослабления эндотелийзависимых дилататорных механизмов. Основным механизмом, приводящим к ослаблению дилататорной функции эндотелия артерий молодых крыс, потреблявших фруктозу, является ослабление продукции/биодоступности оксида азота.

Впервые показано, что МС, развивающийся у молодых крыс, употреблявших фруктозу, приводит к нарушению в ГМК артерий сигнальной цепочки  $NO \rightarrow sGC \rightarrow cGMP$ , что сопровождается ослаблением механизмов релаксации и усилением сокращения артерий.

Впервые установлено, что индуцированный фруктозой МС у молодых крыс приводит к нарушению регуляторных механизмов в сосудах МЦР, что проявляется в снижении базального микрокровоотока и ослаблении эндотелийзависимого и эндотелийнезависимого механизмов регуляции микрокровоотока.

Эстрогены оказывают протективный эффект на артерии мышечного типа и сосуды МЦР при развитии МС у молодых самок крыс: АГ у них была выражена в меньшей степени по сравнению с самцами. Отсутствие эстрогенов, после выполнения овариогистерэктомии, приводит к развитию более тяжелой АГ, причиной которой является выраженное ослабление эндотелийзависимой дилатации в артериях мышечного типа и сосудах МЦР.

У крыс с генетически детерминированной артериальной гипертензией (SHR) потребление фруктозы приводит к более тяжелой АГ посредством трех механизмов: 1) более выраженными по сравнению с крысами WKY снижением производства эндотелием NO и ингибированием сигнальной цепочки в  $NO \rightarrow sGC \rightarrow cGMP$  в ГМК артерий мышечного типа, 2) снижением производства эндотелием NO в сосудах МЦР и 3) усилением синтеза в стенке артерий и сосудов МЦР простагландинов, обладающих вазоконстрикторными свойствами.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Результаты диссертационной работы позволили показать, что потребление фруктозы сопровождается быстрым развитием у молодых животных признаков МС, наиболее тяжелым проявлением которого является АГ. Установлено, что причиной АГ при развитии МС у молодых животных является не только возрастание активности симпатической нервной системы, но, преимущественно быстрое развитие выраженной эндотелиальной дисфункции, проявляющейся в ослаблении продукции/биодоступности оксида азота в артериях мышечного типа и сосудах МЦР. Показано также, что при развитии МС у молодых животных в ГМК артерий снижается активность растворимой гуанилатциклазы, что приводит к ослаблению дилататорных реакций артерий. Установлено, что эстрогены оказывают протективный эффект на артерии и сосуды микроциркуляторного русла при развитии МС у молодых крыс.

Полученные результаты дополняют существующие представления о механизмах нарушения функций сердечно-сосудистой системы при развитии МС в раннем возрасте и могут быть использованы при разработке мероприятий, направленных на профилактику метаболических нарушений у детей и подростков.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Фруктозная диета индуцирует у молодых крыс развитие метаболических нарушений, характерных для МС: увеличение массы висцерального жира, инсулинорезистентность, гипергликемию, нарушение толерантности к глюкозе и дислипидемию.
2. МС у молодых крыс, индуцированный употреблением фруктозы, сопровождается развитием артериальной гипертензии.
3. МС у молодых крыс, вызванный употреблением фруктозы, приводит к ослаблению вазодилатирующей функции эндотелия, проявляющемуся, в основном, снижением продукции/биодоступности оксида азота в артериях мышечного типа и сосудах микроциркуляторного русла.
4. МС, развивающийся у молодых крыс, употреблявших фруктозу, сопровождается нарушением механизмов эндотелийнезависимой вазодилатации в артериях мышечного типа и сосудах микроциркуляторного русла.
5. У молодых самок крыс фруктозная диета приводит к развитию МС, при котором артериальная гипертензия выражена значительно слабее по сравнению с самцами. При этом у овариогистерэктомизированных самок АД достоверно выше по сравнению с интактными, что свидетельствует о протективной роли эстрогенов при развитии МС.
6. Фруктозная диета вызывает у молодых спонтанно гипертензивных крыс более выраженные метаболические нарушения и способствует развитию более тяжелой артериальной гипертензии по сравнению с крысами контрольной группы SHR и крыс Wistar-Kyoto, потреблявших фруктозу.

### **Личный вклад автора в проведенное исследование**

Автору принадлежит ведущая роль в проведении экспериментов на всех этапах выполнения данного исследования, включая: планирование экспериментов,

формулирование целей и задач, определение объема и методов исследования, подбор, перевод и анализ литературы по теме диссертационной работы, статистическую обработку результатов, анализ и обобщение полученных данных. Автором выполнены основные манипуляции с животными. В публикациях, подготовленных в соавторстве, личный вклад соискателя составляет 75 %. Автором написаны все главы, сформулированы основные положения и выводы диссертационного исследования.

### **Апробация полученных данных**

Результаты работы доложены и обсуждены на:

1. Всероссийской конференции с международным участием «Интегративная физиология 2022», 7-9 декабря 2022 года, Санкт-Петербург, Россия;
2. IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Агаджаньяновские чтения, 25-27 мая 2023 года, Москва, Россия;
3. XIV Международной конференции по микроциркуляции и гемореологии «Актуальные проблемы микроциркуляции и гемореологии – 23», 10-11 июля 2023, Ярославль, Россия;
4. XXIV Съезде Физиологического общества им. И.П. Павлова, 11-15 сентября 2023 года, Санкт-Петербург, Россия.
5. Всероссийской конференции с международным участием «Интегративная физиология 2023», 6-8 декабря 2023 года, Санкт-Петербург, Россия.
6. IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные исследования висцеральных систем в биологии и медицине» (г. Астрахань, 7-8 ноября 2024 года).

### **Публикации**

По материалам диссертационного исследования опубликовано 6 статей, в том числе 4 - в изданиях из Перечня ВАК при Минобрнауки РФ, из них 2 переводные статьи в журналах, включенных в международную базу данных (WoS). Опубликовано 7 тезисов в сборниках и материалах конференций.

### **Соответствие паспорта научной специальности**

Научные положения диссертации и результаты исследования соответствуют паспорту научной специальности: 1.5.5 – Физиология человека и животных.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 163 страницах машинописного текста, состоит из списка сокращений, введения, обзора литературы, характеристики материалов и методов исследования, результатов исследования с обсуждением, заключения, выводов и списка литературы, включающего 25 отечественных и 315 иностранных источников. Диссертация иллюстрирована 20 таблицами и 14 рисунками.

## **МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **Биохимические методы исследования: определение уровня гликемии, определение липидного профиля, уровня мочевой кислоты**

Объектами исследований были крысы линий Wistar, SHR и WKY (самцы и самки: интактные/стерилизованные). Для моделирования МС использовали 20% раствор фруктозы в питьевой воде на протяжении 16/32 недель исследования, начиная с 4-х недельного возраста животных. Овариогистерэктомия проводилась самкам в возрасте 8 недель. Группе стерилизованных самок вводили тестостерон (20мг/кг, внутримышечно, 1 раз в 14 дней), (Байер Шеринг Фарма АГ, Германия).

У животных всех групп один раз в месяц измеряли уровень глюкозы в плазме натошак следующим образом: после 12-ти часового голодания под местной анестезией (крем EMLA; 2.5% лидокаин, 2.5% прилокаин, Швеция) у крысы надрезали скальпелем кончик хвоста и каплю крови помещали на тестовую полоску глюкометра Accu Chek Active (Германия) и считывали результат.

На 16-й неделе исследования проводили тесты на толерантность к глюкозе (ГТТ) и инсулинорезистентность. ГТТ проводили по следующей схеме: после 12-часового голодания измеряли концентрацию глюкозы в крови вышеуказанным способом. Затем животным внутривенно вводили 40% раствор глюкозы из расчета 2 г глюкозы/кг массы и через 30, 45, 60, 90, 120 и 240 минут забирали кровь для исследований концентрации глюкозы.

Тест на ИР проводили по следующей схеме: после 3-часового голодания измеряли базальную концентрацию глюкозы. Затем внутривенно вводили инсулин (Инсуман Рапид ГТ, Sanofi Aventis, Germany) в дозе 0.75 Ед/кг массы. Через 15, 30, 45, 60, 90, 120 и 180 минут с момента введения инсулина проводили измерение концентрации глюкозы в крови.

После 16 недель эксперимента часть животных декапитировали, производили забор крови для определения липидного профиля плазмы: уровень ТГ, холестерина общего, ХС-ЛПНП и ХС-ЛПВП; уровня мочевой кислоты. Биохимический анализ был выполнен на анализаторе ARCHITECT c8000 (США). Вырезали эпидидимальный, околопочечный и абдоминально-тазовый жир и рассчитывали относительную массу висцерального жира.

### **Методика измерения артериального давления**

Измерение АД у бодрствующих крыс выполняли манжеточным методом на хвосте, используя систему неинвазивного измерения кровяного давления у грызунов «Систола» («Нейроботикс», Москва). Предварительно животные проходили адаптацию: ежедневно в течение одной недели крыс помещали в камеру для исследования и у них измеряли АД. Для получения итогового значения АД проводили 3 контрольных измерения для каждой крысы и рассчитывали среднюю величину САД и ДАД.

### **Исследование кровотока в сосудах микроциркуляторного русла кожи методом лазерной доплеровской флоуметрии**

Оценку кровотока в МЦР кожи проводили в конце 16-й недели с помощью лазерного анализатора микроциркуляции крови «ЛАЗМА ПФ» (НПП «Лазма», Россия). Датчик анализатора помещали на предварительно побритую кожу спины наркотизированного



животного (крыс наркотизировали раствором Zoletil 100 (Vibrac, Франция) из расчета тилетамин/золазепам - 15 мг/кг веса крысы, с предварительной премедикацией раствором Рометара (Bioveta, Чешская Республика) из расчета ксилазин - 5 мг/кг веса крысы). С целью исследования механизмов регуляции микрокровотока проводили ионофорез вазоактивных веществ. Марлевые салфетки размером 1x1 см смачивали 1% раствором АХ, НП, нимесулидом и накладывали на выбритую кожу спины животного. На брюшной стороне у крысы помещали марлевую салфетку, смоченную физиологическим раствором. Поверх салфеток размещали электроды, учитывая заряд используемого вещества. Сила используемого для ионофореза тока составляла 0.06 мА. По истечении 2-х минутного ионофореза, на область где была расположена салфетка с АХ, НП, нимесулидом устанавливали датчик лазерного анализатора микроциркуляции крови и производили регистрацию перфузии ткани в течение 8-ми минут. При применении нимесулида повторяли измерение через 20 мин после ионофореза.

### **Исследование реактивности артерий брыжейки *in vivo***

Исследование проводили на установке, включающей: подогреваемый столик, специальную подогреваемую камеру, микроскоп (МСП-2, ЛОМО, Россия) и видеокамеру (Basler, Germany). Обработку результатов проводили в программе MultiMedia Catalog (ММС, Россия). Крыс наркотизировали раствором Zoletil 100 (Vibrac, Франция) из расчета тилетамин/золазепам - 15 мг/кг веса крысы, с предварительной премедикацией раствором Рометара (Bioveta, Чешская Республика) из расчета ксилазин - 5 мг/кг веса крысы. У наркотизированной крысы через разрез брюшной стенки выводили петлю тонкой кишки, расправляли и помещали ее в канавку термостатируемой камеры с протекающим физиологическим солевым раствором (PSS) следующего состава (ммоль/л): NaCl – 120.4; KCl – 5.9; CaCl<sub>2</sub> – 2.5; MgCl<sub>2</sub> – 1.2; NaH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub> – 1.2; NaHCO<sub>3</sub> – 15.5; глюкоза – 5.5. PSS сатурировали газовой смесью, состоящей из 95 % O<sub>2</sub> и 5 % CO<sub>2</sub>. Температуру в камере поддерживали на уровне +37±0,1° С. Исходный диаметр артерий, выбранных для исследования, составлял 160-330 мкм.

В процессе исследования оценивали исходный диаметр артерий, затем осуществляли предконтрактирование посредством введения в омывающий раствор фенилэфрина (ФЭ, 1×10<sup>-6</sup> М, (Sigma-Aldrich, США). К концу второй минуты воздействия ФЭ приводил к максимальной вазоконстрикции, вновь оценивали диаметр артерий и затем в камеру добавляли АХ (1×10<sup>-6</sup> М) или НП (1×10<sup>-5</sup> М) и вновь проводили измерение диаметра сосудов. В последующем, в разных опытах, в PSS вводили различные блокаторы и антагонисты: L-NAME - неселективный ингибитор NO-синтазы (1×10<sup>-4</sup> М, (Sigma-Aldrich, США) или TRAM-34 - специфический блокатор IK(Ca), (1×10<sup>-5</sup> М (Merck, США)) или ODO - селективный ингибитор NO-чувствительной гуанилатциклазы (1×10<sup>-5</sup> М, (Sigma-Aldrich, США), или нимесулид - ингибитор циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2) (1×10<sup>-6</sup> М, (ООО «ЮжФарм», Россия)). Через 15 минут добавляли ФЭ и на фоне максимальной вазоконстрикции вводили АХ, с повторным измерением диаметра сосудов. Амплитуду дилатации на АХ и НП выражали в % от амплитуды констрикции сосуда на ФЭ.

### **Исследование реактивности изолированных артерий крыс методом миографии**

Животных наркотизировали выше указанным способом. Вскрывали брюшную полость и вырезали ветви второго порядка верхней брыжеечной артерии длиной 7-8 мм. Сосуды промывали в холодном физиологическом солевом растворе (PSS), помещали в ледяной PSS и хранили в холодильнике.

Перед исследованием у сосудов удаляли периваскулярный жир и соединительную ткань, разрезали на кольца длиной 2 мм. Кольца артерий помещали в камеру миографа, надевая их на металлические штифты толщиной 70 мкм (один из них представлял собой продолжение штока датчика силы FORT-10 (WPI, USA), второй был прикреплен к микроманипулятору). Через камеру миографа объемом 10 мл постоянно со скоростью 2 мл/мин протекал PSS следующего состава: 120.4 mM NaCl, 5.9 mM KCl, 2.5 mM CaCl<sub>2</sub>, 1.2 mM MgCl<sub>2</sub>, 1.2 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 15.5 mM NaHCO<sub>3</sub>, 5.5 mM глюкозы и 10 г/л очищенного бычьего сывороточного альбумина. Все соли химически чистые, производства "Химпром" (Россия), альбумин приобретен у Sigma-Aldrich, (Germany). Раствор барботировали газовой смесью, состоящей из 95% O<sub>2</sub> и 5% CO<sub>2</sub>. Температуру раствора поддерживали на уровне 37±0.1°C, pH 7.40±0.02.

Сократительные реакции на ФЭ исследовали кумулятивным способом путем увеличения концентрации агониста. Концентрацию ФЭ увеличивали после стабилизации реакции на предыдущую концентрацию. Релаксацию на АХ исследовали на сосудах, предсокращенных ФЭ, кумулятивным способом путем поэтапного увеличения концентрации АХ в полулогарифмическом интервале после стабилизации реакции на предыдущую концентрацию.

Полученные данные обрабатывали программой регистрации, разработанной Институтом экспериментальной медицины.

В работе использовали ранее указанные реактивы. Применяли также деквалиний (Dequalinium chloride,  $3 \times 10^{-5}$  M, Rottendorf Pharma GmbH, Германия). Реактивы растворяли в дистиллированной воде, делая концентрированные растворы. Аликвоты хранили при температуре -20 ° C и добавляли в PSS непосредственно перед каждым экспериментом. Деквалиний растворяли в DMSO (Servicebio), индометацин - в этаноле и перед экспериментом добавляли необходимое количество концентрата в PSS. DMSO в разведении 1:1000 и этанол в разведении 1:2000 не вызывали значимых изменений параметров сократительной активности артерий.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **Результаты исследований самцов крыс линии Wistar, получавших фруктозу на протяжении 16 недель**

В таблице 1 представлены основные биохимические показатели крыс FrDR и крыс контрольной группы. Уровень глюкозы натощак, САД и ДАД у крыс FrDR были достоверно выше по сравнению с аналогичным показателем у контрольных животных. Выраженные изменения наблюдались в липидном спектре: уровень ТГ у крыс FrDR был в 2 раза выше по сравнению с контрольными животными, ХС-ЛПНП – выше в 2.5 раза.

Таблица 1. Физиологические и биохимические показатели крыс

Показатель	FrDR	Контроль
Масса, г	398±13	413±14
ИМВЖ, мг/г	26.3±2.7*	17±1.1
Глюкоза, тест на ИР, ммоль/л	7.6±0.4*	5.6±0.5
Глюкоза, ГТТ, ммоль/л	7.0±0.4*	5.6±0.1
ТГ, ммоль/л	1.2±0.2*	0.6±0.2
ХС-ЛПВП, ммоль/л	0.6±0.1	0.4±0.1
ХС-ЛПНП, ммоль/л	1.03±0.1**	0.4±0.1
ХС, ммоль/л	1.5±0.1	1.3±0.1
Мочевая кислота, мкмоль/л	92.2±4.6*	68±4.1
САД мм рт.ст.	151±7*	123±4
ДАД мм рт.ст.	94±6*	77±5

Примечание. Тест на ИР - финальный уровень глюкозы при тесте на инсулинорезистентность, ГТТ - финальный уровень глюкозы при тесте на толерантность к глюкозе, ТГ - триглицериды, ХС - ЛПВП - холестерин липопротеинов высокой плотности, ХС - ЛПНП - холестерин липопротеинов низкой плотности, ИМВЖ - индекс массы висцерального жира, САД - систолическое и ДАД - диастолическое артериальное давление. Контроль - контрольные группы, FrDR - крысы, получавшие 20% фруктозы в питьевой воде. Различия достоверны: \* -  $p < 0.05$ , \*\* -  $p < 0.001$ .

Величины дилататорных реакций артерий обеих групп крыс на АХ были значительными и составляли от 47 до 64% от величины ФЭ - индуцированного сокращения. Данные этой серии опытов представлены в таблице 2.

Таблица 2. Амплитуда дилатации брыжеечных артерий крыс на вазоактивные вещества

Вещество	FrDR	Контроль
АХ	47.3±4.2*	64.2±5.5
АХ + L-NAME	13.2±1.9*	21.3±2.3
НП	61.4±4.4*	78.6±5.2
НП + ODQ	14.2±1.3*	21.4±1.4
Нимесулид	5.6±1.2	4.4±1.1

Примечание. Амплитуда дилатации выражена в % от величины ФЭ - индуцированного сокращения. АХ - ацетилхолин, НП - нитропруссид натрия, ODQ - ингибитор растворимой гуанилатциклазы. Контроль - крысы контрольной группы, FrDR - крысы, получавшие 20 % фруктозы в питьевой воде. Различия достоверны: \* -  $p < 0.05$ .

В таблице 3 представлены данные, полученные при изучении изменений кровотока в МЦР кожи спины крыс. Исходный ПМ у крыс FrDR был достоверно ниже по сравнению с контрольной группой. Ионотокс АХ и НП сопровождался выраженным увеличением кожного кровотока, при этом максимальный прирост ПМ был зарегистрирован у крыс контрольной группы. Воздействие на кожу крыс нимесулида также сопровождалось изменениями кожного кровотока у крыс FrDR, но эти изменения были намного меньшими по сравнению с эффектами АХ и НП.

Таблица 3. Показатель микроциркуляции в коже крыс после ионофореза вазоактивных веществ

Показатель микроциркуляции, п.е.	FrDR	Контроль
Исходный	7.0±0.3*	7.9±0.3
После ионофореза АХ	9.8±0.4*	12.1±0.5
После ионофореза НП	10.1±0.4*	11.6±0.4
После ионофореза нимесулида	7.6±0.3	7.8±0.4

Примечание. АХ - ацетилхолин. НП - нитропруссид натрия. Контроль - контрольная группа крыс, FrDR - группа крыс, получавшая 20 % фруктозы в питьевой воде. Различия достоверны: \* -  $p < 0.05$ .

### Результаты исследования артерий самцов крыс Wistar, получавших фруктозу на протяжении 32 недель

В группах самцов крыс, содержащихся на фруктозной диете на протяжении 16 и 32 недель, графики, отражающие зависимость амплитуды сокращений артерий крыс от концентрации ФЭ, были сдвинуты влево по сравнению с контрольными группами. Сравнение амплитуд сокращения интактных артерий крыс FrDR16 и FrDR32 показало, что реакции артерий крыс FrDR16 на ФЭ в концентрациях  $1 \times 10^{-7}$  -  $1 \times 10^{-6}$  М были несколько больше по сравнению с артериями крыс FrDR32, но различия между ними оказались недостоверными. Деэндотелизированные артерии крыс FrDR16 и крыс FrDR32 в ответ на ФЭ в концентрациях  $1 \times 10^{-7}$  -  $1 \times 10^{-5}$  М развивали достоверно большую силу сокращений по сравнению с крысами контрольных групп.

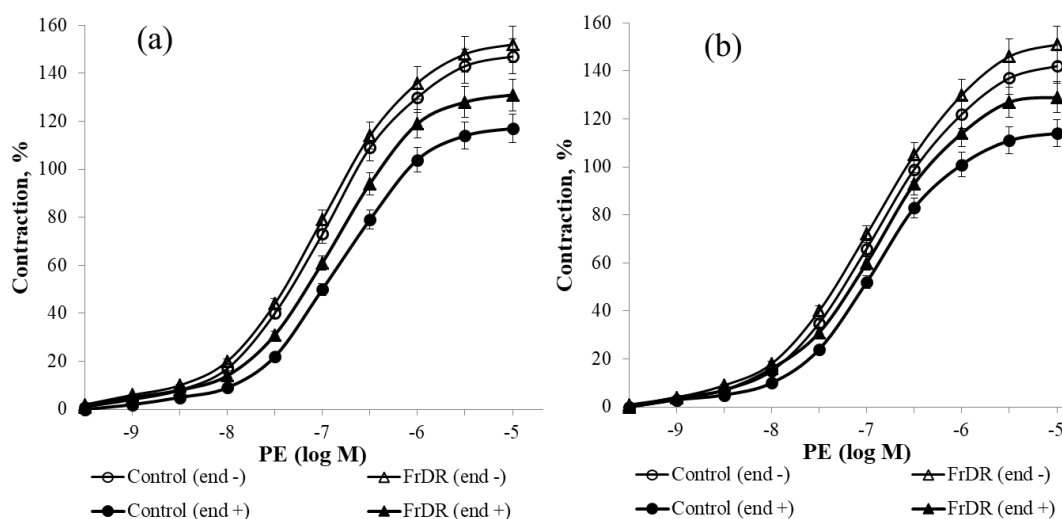


Рисунок 1. Кривые кумулятивная концентрация - реакция на фенилэфрин (PE) интактных (end +) и деэндотелизированных (end -) брыжеечных артерий крыс: а - контрольной группы (Control) и получавших фруктозу в питьевой воде на протяжении 16 недель (FrDR), б - контрольной группы (Control) и получавших фруктозу в питьевой воде на протяжении 32 недель (FrDR). Все эксперименты проводились в присутствии индометацина ( $1 \times 10^{-5}$  М) Данные представлены в % от амплитуды сокращения в растворе, содержащем 80 мМ KCl и представляют собой средние значения  $\pm$  ошибка среднего. Различия данных между группами Control (end +) и Control (end -), а также FrDR (end +) FrDR (end -) достоверны в диапазоне концентраций PE  $1 \times 10^{-7}$  -  $1 \times 10^{-5}$  М:  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования функционального состояния артерий самок крыс Wistar, потреблявших фруктозу

В группе крыс FrDR было зарегистрировано достоверное повышение САД и ДАД, выраженная гипергликемия, дислипидемия, гиперурикемия и повышение ИМВЖ по сравнению с контрольными животными (таблица 4).

Таблица 4. Физиологические и биохимические показатели самок крыс, получавших фруктозу

Показатель	FrDR	Контроль
Масса, г	286±19	282±12
Глюкоза, тест на ИР, ммоль/л	6.9±0.2*	5.2±0.1
Глюкоза, ГТТ, ммоль/л	7.1±0.1**	5.2±0.2
ТГ, ммоль/л	1.8±0.1**	0.8±0.3
ХС-ЛПВП, ммоль/л	0.8±0.04	0.9±0.03
ХС-ЛПНП, ммоль/л	1.1±0.2	0.7±0.2
ХС, ммоль/л	1.8±0.1*	2.4±0.1
Мочевая кислота, мкмоль/л	71.2±3.4*	60.4±4.2
ИМВЖ, мг/г	35.7±3.2	21.6±1.7
САД мм рт.ст.	137±4*	128±3
ДАД мм рт.ст.	92±4*	79±4

Примечание: Тест на ИР - финальный уровень глюкозы в крови при тесте на инсулинорезистентность (ИР), Глюкоза, ГТТ- финальный уровень глюкозы в крови при глюкозо-толерантном тесте (ГТТ), ТГ - триглицериды, ХС - ЛПВП - холестерин липопротеинов высокой плотности, ХС - ЛПНП - холестерин липопротеинов низкой плотности, ИМВЖ - индекс массы висцерального жира, САД - систолическое и ДАД - диастолическое артериальное давление. Контроль - контрольная группа крыс, FrDR - группа крыс, получавшая фруктозу в питьевой воде. Различия достоверны: \* -  $p < 0.05$ , \*\* -  $p < 0.001$  - по сравнению с крысами контрольной группы.

Амплитуда ФЭ-индуцированных сокращений брыжеечных артерий самок группы FrDR, была достоверно выше и составила 114.7±6.1%, от амплитуды сокращений артерий крыс контрольной группы, принятой за 100%. Величина реакции артерий на АХ у крыс FRDR была ниже по сравнению с контрольными животными. Нимесулид в группе FrDR приводил к небольшим, но достоверным изменениям амплитуды дилатации предконтрактированных ФЭ брыжеечных артерий.

Результаты серии опытов, изучавших реактивность предконтрактированных ФЭ брыжеечных артерий самок крыс на АХ, НП и нимесулид, представлены в таблице 5.

В таблице 6 представлены данные, полученные при изучении состояния микроциркуляторного кровотока в коже самок крыс. Средний ПМ был снижен у самок FrDR по сравнению с контрольными животными.

Таблица 5. Амплитуда дилатации брыжеечных артерий крыс при применении вазоактивных веществ

Вещество	FrDR	Контроль
АХ	59.3±4.2*	69.4±3.8
АХ +L-NAME	22.5±3.1	26.6±2.8
НП	77.6±3.1*	86.6±3.3
Нимесулид	6.1±0.6*	4.7±0.4

Примечание: Амплитуда дилатации выражена в % от величины ФЭ-индуцированного сокращения. АХ - ацетилхолин, НП - нитропруссид натрия. Экспериментальные группы: Контроль – контрольная группа, FrDR - группа, получавшая 20 % фруктозы в питьевой воде. Данные представлены в виде: среднее ± стандартная ошибка. Различия достоверны: \* -  $p < 0.05$  по сравнению с самками контрольной группы.

Таблица 6. Показатель микроциркуляции в коже самок крыс после ионофореза ацетилхолина, нитропруссида натрия, нимесулида

Показатель микроциркуляции, п.е.	FrDR	Контроль
Исходный	9.4±0.2*	10.2±0.3
После ионофореза АХ	11.3±0.4*	14.8±0.4
После ионофореза НП	12.9±0.4*	13.8±0.4
После ионофореза нимесулида	9.7±0.4	9.9±0.5

Примечание: Контроль - контрольная группа крыс, FrDR - группа, получавшая 20 % фруктозы в питьевой воде. АХ - ацетилхолин, НП - нитропруссид натрия. Различия достоверны: \* -  $p < 0.05$  - по сравнению с самками контрольной группы.

#### **Результаты исследования функционального состояния сосудов овариогистерэктомированных самок и самок, получавших тестостерон**

Во всех группах было зарегистрировано повышение САД и ДАД, выраженная гипергликемия, увеличение уровня ТГ, общего ХС, ХС-ЛПНП, выявлена гиперурикемия и повышение ИМВЖ у группы OhFrDR (таблица 7).

Результаты исследования реактивности брыжеечных артерий овариогистерэктомированных самок на АХ, НП, нимесулид представлены в таблице 8.

Амплитуда ФЭ-индуцированного сокращения брыжеечных артерий самок крыс в группах OhFrDR и OhFrDR+T была достоверно выше по сравнению с контрольными животными и составила у самок группы OhFrDR - 118.3±5.2%, а в группе OhFrDR+T - 114.4±6.8% от амплитуды сокращения артерий крыс контрольных групп, принятого за 100%.

Дилататорная реакция артерий на АХ в группе OhFrDR+T была достоверно больше по сравнению с группой OhFrDR. Применение нимесулида в группах OhFrDR и OhFrDR+T выявило незначительные различия в дилатации артерий по сравнению с результатами, полученными в группе OhFrDR.

Таблица 7. Физиологические и биохимические показатели у овариогистероэктомированных крыс, получавших фруктозу

Показатель	OhFrDR+T	OhFrDR
Масса, г	302±14	294±16
Глюкоза, тест на ИР, ммоль/л	7.2±0.3	7.3±0.3
Глюкоза, ГТТ, ммоль/л	7.4±0.2	7.6±0.3
ТГ, ммоль/л	2.0±0.1	1.9±0.08
ХС-ЛПВП, ммоль/л	0.7±0.08	0.8±0.06
ХС-ЛПНП, ммоль/л	1.2±0.1	1.0±0.2
ХС, ммоль/л	1.7±0.2	1.9±0.2
Мочевая кислота, мкмоль/л	89.6±4.2*	79.3±4.3
ИМВЖ, мг/г	26.3±2.7*	38.6±2.1
САД мм рт.ст.	140±3*	147±3
ДАД мм рт.ст.	94±3*	102±4

Примечание. Тест на ИР - уровень глюкозы в крови при тесте на инсулинорезистентность, Глюкоза, ГТТ- уровень глюкозы в крови при глюкозотолерантном тесте, ТГ - триглицериды, ХС - ЛПВП - холестерин липопротеинов высокой плотности, ХС - ЛПНП - холестерин липопротеинов низкой плотности, ИМВЖ - индекс массы висцерального жира, САД - систолическое и ДАД - диастолическое артериальное давление. OhFrDR - овариогистероэктомированные крысы, получавшие 20 % фруктозы в питьевой воде, OhFrDR+T - овариогистероэктомированные крысы, получавшая инъекции тестостерона и 20 % фруктозы в питьевой воде. Различия достоверны: \* -  $p < 0.05$  по сравнению с самками OhFrDR группы.

Таблица 8. Амплитуда дилатации брыжеечных артерий крыс на АХ, НП и нимесулид

Вещество	OhFrDR+T	OhFrDR
АХ	53.3±2.4*	48.1±2.2
АХ + L-NAME	17.8±2.0	20.4±2.2
НП	58.4±2.3*	64.2±2.2
Нимесулид	10.1±0.9	9.8±1.0

Примечание: Амплитуда дилатации выражена в % от величины ФЭ-индуцированного сокращения. АХ - ацетилхолин, НП - нитропруссид натрия. Группы животных: OhFrDR – группа крыс, подвергнутая овариогистероэктомии, получавшая 20 % фруктозы в питьевой воде, OhFrDR+T - группа крыс, подвергнутая овариогистероэктомии, получавшая инъекции тестостерона и 20 % фруктозы в питьевой воде. Данные представлены в виде: среднее ± стандартная ошибка. Различия достоверны: \* -  $p < 0.05$  по сравнению с самками OhFrDR группы.

В таблице 9 представлены данные, полученные при изучении состояния МЦР в коже крыс. Средний ПМ в коже самок OhFrDR+T незначительно отличался от ПМ в группе крыс OhFrDR. Ионофорез АХ сопровождался увеличением кожного кровотока у крыс обеих групп. Увеличение кровотока после ионофореза НП было примерно одинаковым в данных группах. Воздействие на кожу нимесулида также сопровождалось достоверными

изменениями кожного кровотока у крыс обеих групп, в группе OhFrDR+T эти изменения были достоверно большими.

Таблица 9. Показатель микроциркуляции в коже самок разных групп крыс после ионофореза АХ, НП и нимесулида

Показатель микроциркуляции, п.е.	OhFrDR+T	OhFrDR
Исходный	8.1±0.3	7.8±0.4
После ионофореза АХ	10.1±0.3*	9.4±0.3
После ионофореза НП	11.3±0.3	10.8±0.4
После нимесулида	9.0±0.3*	8.3±0.4

Примечание: Экспериментальные группы: OhFrDR – группа крыс, подвергнутых овариогистерэктомии, получавших 20 % фруктозы в питьевой воде, OhFrDR+T – группа крыс, подвергнутых овариогистерэктомии, получавших инъекции тестостерона и 20 % фруктозы в питьевой воде. АХ – ацетилхолин, НП – нитропруссид натрия. п.е. – перфузионные единицы. Данные представлены в виде: среднее ± стандартная ошибка. Различия достоверны: \* -  $p < 0.05$  по сравнению с самками OhFrDR группы.

#### Результаты исследований функционального состояния сосудов крыс линий SHR и Wistar Kyoto

Потребление фруктозы крысами SHR привело к увеличению массы тела и повышению ИМВЖ, при этом ИМВЖ у этих крыс был меньше по сравнению с крысами группы WKYFr. Тесты на ИР и ГТТ показали достоверное повышение уровня глюкозы в группах SHRFr и WKYFr. Анализы липидного профиля показали выраженную дислипидемию у крыс в группах SHRFr и WKYFr. Отмечено значимое повышение уровня МК в группах WKYFr и SHRFr (таблица 10).

Таблица 10. Основные биохимические и физиологические показатели у крыс SHR и Wistar Kyoto

Показатель	SHRFr	SHR	WKYFr	WKY
Масса, г	367±10*#	348±8	512±9	501±5
Индекс массы висцерального жира (ИМВЖ), мг/г	16.4±1*#	5.5±0.8	20.1±3*	13.2±2
Глюкоза при тесте на ИР, ммоль/л	7.9±0.4*#	5.3±0.4	7.0±0.4*	4.4±0.3
Глюкоза при ГТТ, ммоль/л	7.8±0.2*#	5.4±0.3	7.1±0.3*	4.6±0.2
ТГ, ммоль/л	1.42±0.2#	0.61±0.2	1.2±0.3*	0.62±2
ХС общий, ммоль/л	1.51±0.1*#	1.3±0.1	1.3±0.1	1.1±0.1
ХС-ЛПВП, ммоль/л	0.83±0.1*#	0.48±0.1	0.6±0.1*	0.4±0.08
ХС-ЛПНП, ммоль/л	0.97±0.1*#	0.42±0.1	0.73±0.1*	0.5±0.1
Мочевая кислота, мкмоль/л	98.2±3.2*#	64±2.2	79.2±2.3*	58±1.4
АД систолическое, мм рт.ст.	195±7*#	161±5	151±5*	123±4
АД диастолическое, мм рт.ст.	115±6*#	98±5	95±4*	80±4

Примечание. АД - артериальное давление, ТГ - триглицериды, ХС - общий холестерин, ХС-ЛПВП - холестерин липопротеинов высокой плотности, ХС-ЛПНП -



холестерин липопротеинов низкой плотности, Wistar Kyoto контроль (WKY), Wistar Kyoto Fructose (WKYFr), SHR контроль (SHR), SHR Fructose (SHRFr). Различия достоверны: \* -  $p < 0.05$  по отношению к контролю, # -  $p < 0.05$  по отношению в результате в группе WKYFr. & -  $p < 0.01$  отношению в результате в группе WKYFr.

Результаты исследования сократительных реакции брыжеечных артерий на ФЭ представлены на рисунке 2.

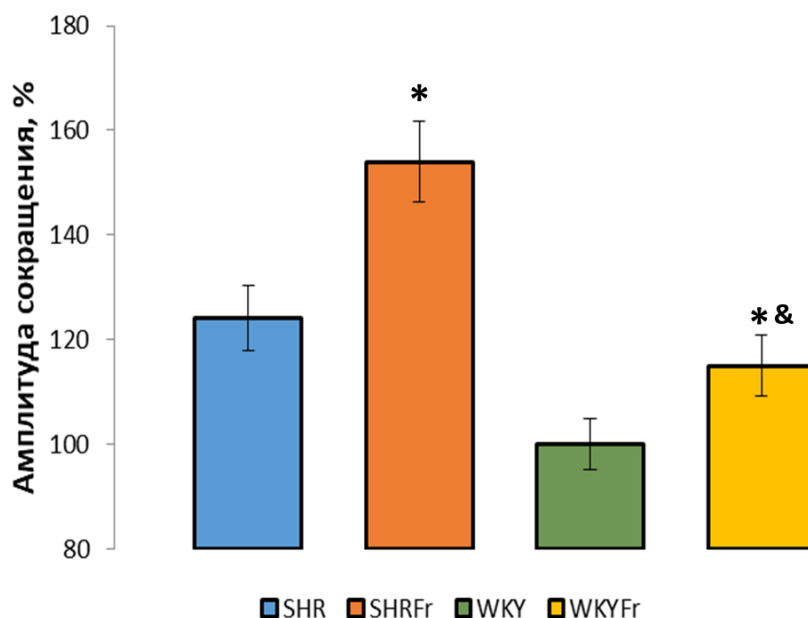


Рисунок 2. Амплитуда сокращений брыжеечных артерий крыс при действии фенилэфрина. Wistar Kyoto контроль (WKY), Wistar Kyoto Fructose (WKYFr), SHR контроль (SHR), SHR Fructose (SHRFr). Данные представлены в виде среднее  $\pm$  стандартная ошибка. За 100% принята амплитуда ФЭ - индуцированного сокращения артерий крыс WKY. Различия достоверны между группами SHR - SHRFr и WKY - WKYFr, \* -  $p < 0,05$ . Различия достоверны между группами SHRFr и WKYFr, & -  $p < 0,01$ .

Исследование *in vivo* реакций предконтрактированных ФЭ брыжеечных артерий на АХ показало достоверное снижение дилатации у крыс, потреблявших фруктозу (рис. 3, А). Наименьшее значение АХ-индуцированной дилатации выявлено в артериях крыс SHRFr. Дилатация предконтрактированных ФЭ брыжеечных артерий на НП была достоверно большей во всех группах (по сравнению с АХ), при этом у крыс, получавших фруктозу, дилатация была достоверно меньше.

Действие нимесулида на предконтрактированные ФЭ артерии крыс, также сопровождалось дилатацией. Необычно большая величина дилатации была зарегистрирована при исследовании артерий крыс SHRFr (рис. 3, Б).

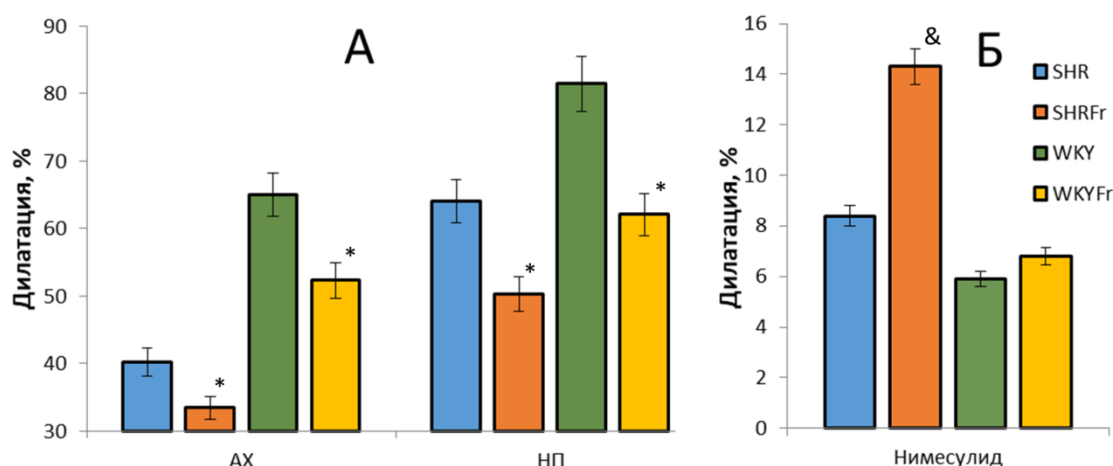


Рисунок 3. Дилатация брыжеечных артерий крыс при действии АХ, НП и нимесулида. Wistar Kyoto контроль (WKY), Wistar Kyoto Fructose (WKYFr), SHR контроль (SHR), SHR Fructose (SHRFr). Различия достоверны между группами SHR - SHRFr и WKY - WKYFr, \* -  $p < 0,05$ ; Различия достоверны между группами SHR и SHRFr, & -  $p < 0,01$ .

У крыс групп SHRFr и WKYFr наблюдалось достоверное снижение исходного микрокровотока по сравнению с контрольными группами (таблица 11). Самый низкий показатель микрокровотока был зарегистрирован в коже крыс SHRFr (на 13% ниже по сравнению с крысами WKYFr).

Таблица 11. Показатель микроциркуляции в коже крыс после ионофореза ацетилхолина, нитропрусида натрия, нимесулида

	SHRFr	SHR	WKYFr	WKY
Исходный ПМ (п.е.)	6.2±0.1*#	7.3±0.1	7.1±0.3*	8.0±0.3
ПМ после ионофореза АХ (п.е.)	7.5±0.3*#	8.9±0.2	9.7±0.4*	11.7±0.5
ПМ после ионофореза НП (п.е.)	8.4±0.2*#	9.8±0.2	9.7±0.2*	10.8±0.2
ПМ после ионофореза нимесулида (п.е.)	8.2±0.1*	7.8±0.1	8.4±0.3*	8.2±0.3

Примечание. ПМ - показатель микроциркуляции.; п.е. – перфузионные единицы. Wistar Kyoto контроль (WKY), Wistar Kyoto Fructose (WKYFr), SHR контроль (SHR), SHR Fructose (SHRFr). Данные представлены в виде среднее ± стандартная ошибка. Различия достоверны: \* -  $p < 0.05$  по отношению к контролю, # -  $p < 0.05$  по отношению в результате в группе WKYFr.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данное исследование было направлено на изучение вызванных потреблением фруктозы функциональных изменений артерий и сосудов МЦР у молодых крыс (моделирование МС, развивающегося у детей при потреблении большого количества напитков с фруктозой). Основной задачей работы было оценить нарушения вазодилатирующей функции эндотелия, играющего важную роль в ослаблении стимулирующего влияния симпатической нервной системы на ГМК артерий и сосудов МЦР при МС.

Результаты исследования показывают, что потребление фруктозы молодыми самцами крыс Wistar приводит к развитию симптомов, характерных для МС: увеличению массы висцерального жира, АГ, гипергликемии натощак, дислипидемии, проявляющейся в повышении концентрации в крови триглицеридов, увеличении ЛПНП и снижении содержания ЛПВП.

Основным вазодилататором в брыжеечных артериях является NO, об этом свидетельствует значительное снижение АХ-индуцируемой релаксации изолированных брыжеечных артерий при применении L-NAME, являющегося ингибитором NO-синтазы. В артериях крыс контрольной группы L-NAME уменьшал релаксацию брыжеечных артерий при максимальной концентрации АХ на 73% от амплитуды ФЭ-индуцируемого сокращения, а в группе крыс на фруктозной диете – лишь на 40%. Эти данные убедительно демонстрируют, что компоненты МС, развивающиеся у крыс на фруктозной диете, ингибируют эндотелиальную NO-синтазу и приводят к уменьшению продукции NO.

Также в процессе исследования было установлено, что в артериях крыс, потреблявших фруктозу на протяжении 16 и 32 недель, снижена эндотелийнезависимая дилатация. Релаксация артерий крыс этой группы в ответ на применение нитропруссид натрия, являющегося донором экзогенного NO, в концентрациях от  $1 \times 10^{-7}$  до  $1 \times 10^{-5}$  М, была достоверно меньшей по сравнению с аналогичным показателем артерий крыс соответствующих контрольных групп. Ослабление релаксации артерий на экзогенный NO свидетельствует о нарушениях внутриклеточных сигнальных механизмов в ГМК артерий. В частности, подобные реакции регистрируются при ингибировании сигнальной цепочки  $NO \rightarrow sGC \rightarrow cGMP$ . Мы полагаем, что в наших экспериментах ослабление релаксации артерий на экзогенный NO могло быть обусловлено угнетением компонентами МС растворимой гуанилатциклазы в ГМК брыжеечных артерий крыс, потреблявших фруктозу.

Исследование роли простаноидов в регуляции тонуса брыжеечных артерий показало их незначительную роль как у крыс контрольной группы, так и у крыс с МС. Применение нимесулида, являющегося блокатором COX-2, приводило к незначительной дилатации брыжеечных артерий крыс контрольной группы и артерий крыс, потреблявших фруктозу.

Установлено, что перфузия кожи крыс, получавших фруктозу, была снижена по сравнению с крысами контрольных групп на 11%. При исследовании регуляторных механизмов микрокровотока крыс, содержащихся на фруктозной диете, было зарегистрировано достоверное увеличение нейрогенного тонуса (НТ), что позволяет сделать заключение о повышении в данном сосудистом регионе активности симпатической нервной системы. Наряду с увеличением НТ, у крыс с МС было зарегистрировано повышение

эндотелийзависимого компонента сосудистого тонуса (ЭТ), что доказывает развитие эндотелиальной дисфункции в сосудах МЦР крыс с МС.

Мы полагаем, что дилатация микрососудов в коже крыс с МС при ионофорезе АХ, и, соответственно, увеличение ПМ, было обусловлено возрастанием продукции EDHF (основанием для подобного предположения являются данные о повышении роли эндотелийзависимой гиперполяризации в брыжеечных артериях крыс с МС).

Исследование роли простаноидов в регуляции микроциркуляторного кровотока в коже спины крыс показало, что их роль в этом сосудистом бассейне небольшая и не претерпевает значимых изменений при потреблении фруктозы. Ионофорез нимесулида, являющегося блокатором COX-2, приводил лишь в небольшом изменении перфузии.

Овариогистерэктомия самок, потреблявших фруктозу, приводила к повышению уровня глюкозы при тесте на ИР, он возрастал и приближался к величине гликемии у самцов. Введение тестостерона (моделирование гормонального фона, характерного для самцов) овариогистерэктомированным самкам незначительно повышало этот показатель.

Важным отличием является также меньшая концентрация МК в плазме крови самок по сравнению с самцами. Потребление фруктозы интактными и овариогистерэктомированными самками крыс приводило к гиперурикемии, но она не достигала величин, характерных для самцов с МС.

У самок крыс, содержащихся на фруктозной диете, так же, как и у самцов, развивалась АГ. Потребление самками фруктозы приводило к меньшему повышению САД по сравнению с самцами. Повышения ДАД было достоверно выше по отношению к контрольной группе и незначительно отличалось от такового у самцов. Овариогистерэктомия самок крыс приводила к дополнительному повышению САД, которое достигало величин, характерных для самцов с МС. Анализ результатов нашего исследования позволяет сделать заключение о том, что выявленные в нашем исследовании различия в величинах САД и ДАД у самцов и самок, потреблявших фруктозу, связаны с половыми гормонами. Эстрогены оказывают протективный эффект на величину АД у молодых самок, и их отсутствие у овариогистерэктомированных крыс приводило к развитию более тяжелой АГ, в основе которой лежат нарушения функции резистивных сосудов: большая амплитуда ФЭ-индуцированных сокращений, в основе которых, по-видимому, лежит увеличение плотности/чувствительности  $\alpha$ -адренорецепторов на мембране ГМК артерий, и меньшая величина АХ-индуцируемой дилатации брыжеечных артерий, связанная с уменьшением производства NO. Введение тестостерона овариогистерэктомированным самкам приводило к достоверному снижению САД и ДАД, механизмы которого не совсем понятны.

У крыс SHR, употреблявших фруктозу, дилатация артерий на АХ была достоверно меньше по сравнению с реакцией артерий крыс других линий, содержащихся на фруктозной диете, что свидетельствует о выраженной эндотелиальной дисфункции и снижении продукции/биодоступности NO. Эта особенность может быть одной из основных, способствующих выраженному повышению АД. НП оказывал менее выраженный дилататорный эффект на брыжеечные артерии SHR по сравнению с крысами WKY, что указывает на нарушения эндотелийнезависимой вазодилатации в сосудах этих животных, развивающихся на фоне МС.

Важным отличием артерий крыс SHR с МС, в отличие от крыс WKY и Wistar, являлась выраженная дилататорная реакция на применение нимесулида. Поскольку нимесулид является специфическим ингибитором COX-2, эти результаты являются доказательством того, что метаболические нарушения у крыс SHR приводят к повышенной экспрессии в стенке артерий COX-2, производящей простагландины-вазоконстрикторы. Ингибирование COX-2 снижало производство этих простагландинов, что способствовало дилатации брыжеечных артерий.

## **ВЫВОДЫ**

1. Фруктозная диета у молодых крыс линий Wistar, Wistar-Kyoto и SHR приводит к метаболическим нарушениям: увеличению массы висцерального жира, гипергликемии, дислипидемии и гиперурикемии.

2. МС у молодых крыс, индуцированный потреблением фруктозы, сопровождается АГ, в основе которой лежат усиление констрикторных реакций артерий мышечного типа, обусловленное повышением плотности/чувствительности  $\alpha$ -адренорецепторов на мембране гладкомышечных клеток и ингибирование эндотелийзависимой дилатации.

3. Важнейший механизм развития АГ у молодых крыс, потреблявших фруктозу заключается в ингибировании эндотелиальной NO-синтазы в артериях мышечного типа, что приводит к снижению продукции/биодоступности NO и ослаблению вазодилатирующей функции эндотелия.

4. Метаболические нарушения, развивающиеся у молодых крыс при потреблении фруктозы, приводят к угнетению эндотелийнезависимой вазодилатации артерий и сосудов МЦР посредством ингибирования сигнальной цепочки  $NO \rightarrow sGC \rightarrow cGMP$  в гладкомышечных клетках сосудов, что сопровождается ослаблением механизмов релаксации гладкомышечных клеток артерий.

5. Эстрогены оказывают протективный эффект на артерии мышечного типа и сосуды МЦР при развитии МС у молодых самок крыс: АГ у них менее выражена, констрикторные реакции артерий при стимуляции  $\alpha$ -адренорецепторов слабее, эндотелийзависимая и эндотелийнезависимая дилатация в артериях и сосудах МЦР ослаблена в меньшей степени по сравнению с самцами.

6. Потребление фруктозы молодыми крысами с генетически детерминированной артериальной гипертензией сопровождается более выраженными метаболическими нарушениями и более тяжелой формой АГ, в основе которой лежат выраженная эндотелиальная дисфункция, проявляющаяся в ослаблении продукции/биодоступности NO и экспрессии COX-2, сопровождающейся усилением синтеза простагландинов с вазоконстрикторными свойствами.

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

### **Статьи в журналах, рекомендованных ВАК**

1. Царева, И. А. Ранние изменения функционального состояния артерий и сосудов микроциркуляторного русла при моделировании метаболического синдрома / И. А. Царева, Г. Т. Иванова, Г. И. Лобов // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2022. – Т. 108, № 9. – С. 1134-1147.

2. Лобов, Г. И. Роль оксида азота и эндотелиальной гиперполяризации в релаксации брыжеечных артерий крыс с метаболическим синдромом / Г. И. Лобов, **И. А. Царева** // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2024. – Т. 178, № 10. – С. 406-411.
3. **Царева, И. А.** Эндотелиальная дисфункция в брыжеечных артериях крыс при моделировании метаболического синдрома / И. А. Царева // Современные вопросы биомедицины. – 2024. – Т. 8, № 2(28).
4. **Царева, И. А.** Особенности функционального состояния сосудов микроциркуляторного русла и брыжеечных артерий у самцов крыс линии SHR и Wistar Kyoto при индуцировании метаболического синдрома фруктозной диетой на ранних этапах развития / И. А. Царева, Г. Т. Иванова, Г. И. Лобов // Вестник Донецкого национального университета. Серия А: Естественные науки. – 2024. – № 3. – С. 100-109.

#### **Публикации в иных изданиях**

5. Царева И. А., Иванова Г.Т., Лобов Г.И. Дисфункция артерий и сосудов микроциркуляторного русла у крыс при метаболическом синдроме, вызванном диетой с высоким содержанием фруктозы // Интегративная физиология. – 2022. – Т. 3, № 4. – С. 500-507.
6. Царева И. А., Иванова Г.Т., Лобов Г.И. Функциональное состояние артерий молодых крыс на ранней стадии развития метаболического синдрома // Сборник тезисов XXIV съезда физиологического общества им. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, 11–15 сентября 2023 года. – Санкт-Петербург: ООО "Издательство ВВМ", 2023. – С. 84-85.
7. Царева И. А., Иванова Г.Т., Лобов Г.И. Параметры дисфункционального состояния артерий и сосудов микроциркуляторного русла при моделировании метаболического синдрома // Кардиологический вестник. – 2023. – Т. 18, № 2-2. – С. 31-32.
8. Царева И. А. Раннее моделирование метаболического синдрома фруктозной нагрузкой приводит к дисфункции артерий с усилением нейрогенного тонуса сосудов микроциркуляторного русла // Современные проблемы нейробиологии: Материалы IV международной научной конференции, Ярославль, 18–20 мая 2023 года. – Ярославль: ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2023. – С. 82.
9. Царева И. А. При раннем моделировании метаболического синдрома фруктозной нагрузкой наблюдается дисфункция артерий и сосудов МЦР // Агаджанянские чтения = Aghajanian readings: материалы IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Москва, 25–27 мая 2023 года / Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы. – Москва: Российский университет дружбы народов (РУДН), 2023. – С. 453-455.
10. Царева И. А., Иванова Г.Т., Лобов Г.И. Ранние функциональные изменения артерий и сосудов микроциркуляторного русла при моделировании метаболического синдрома у крыс // Интегративная физиология: Всероссийская конференция с международным участием. Тезисы докладов, Санкт-Петербург, 06–08 декабря 2023 года. – Санкт-Петербург: Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, 2023. – С. 27.
11. Царева И. А., Иванова Г.Т., Лобов Г.И. Гендер-зависимые изменения микроциркуляторного кровотока в коже крыс на раннем этапе развития метаболического синдрома // Микроциркуляция и гемореология: материалы XIV международной научной

конференции по микроциркуляции и гемореологии, Ярославль, 10–11 июля 2023 года. – Ярославль: Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского, 2023. – С. 108.

12. Царева И. А., Иванова Г.Т., Лобов Г.И. Функциональное состояние артерий и сосудов микроциркуляторного русла на ранней стадии метаболического синдрома у самцов и самок крыс // Интегративная физиология. – 2024. – Т. 5, № 1. – С. 83-93.

13. Царева И. А. Гендер-зависимые особенности функционального состояния артерий и сосудов микроциркуляторного русла у молодых крыс при моделировании метаболического синдрома // Кардиологический вестник. – 2024. – Т. 19, № 2-2. – С. 43-44.

### **ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

АГ - артериальная гипертензия

АД - артериальное давление

АХ - ацетилхолин

ДАД - диастолическое артериальное давление

ИР - инсулинорезистентность

МС - метаболический синдром

МЦР - микроциркуляторное русло

НП - нитропруссид натрия

ПМ - показатель микроциркуляции

САД - систолическое артериальное давление

СД2 - сахарный диабет 2 типа

ССЗ - сердечно – сосудистые заболевания

ГТТ - глюкозотолерантный тест

ТГ - триглицериды

ХС - ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности

ХС - ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности

ЦОГ-2 - циклооксигеназа - 2

ФЭ - фенилэфрин

EDHF - эндотелиальный гиперполяризующий фактор

L-NAME - метиловый эфир N<sup>ω</sup>-нитро-L-аргинина

NO - оксид азота

cGMP - циклический гуанозинмонофосфат

ODQ - ингибитор NO зависимой гуанилатциклазы

SHR - линия крыс со спонтанной гипертензией

TRAM-34 - блокатор ионных ICa каналов

Wistar Kyoto - линия крыс Вистар Киото

Wistar - линия крыс Вистар