

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ



УДК 612.146.2

Вазоактивные эффекты H_2S при метаболическом синдроме, индуцированном использованием высококалорийной диеты

М.Н. Панькова 

*Институт физиологии имени И.П. Павлова, Российская академия наук,
Россия, 199034, г. Санкт-Петербург, набережная Макарова, д. 6
e-mail: mpankova@bk.ru*

Метаболический синдром (МС), являющийся глобальной проблемой XXI в., со стороны сердечно-сосудистой системы характеризуется гипертензией, которая обусловлена преобладанием вазоконстрикции над процессами вазодилатации. Сероводород (H_2S) является признанной эндогенной газовой сигнальной молекулой, вызывающей разнообразные биологические эффекты, включая изменение тонуса сосудистой стенки. Целью данной работы было изучение изменений сократительной деятельности изолированной аорты крысы в ответ на действие донора H_2S гидросульфида натрия (NaHS) и эндогенного H_2S при метаболических нарушениях, индуцированных использованием высококалорийной («западной») диеты. Исследование выполнено на половозрелых самцах крыс Wistar. Использование диеты приводило к развитию у животных метаболических нарушений, которые характеризуют МС. Результаты миографического исследования сегментов грудной части аорты свидетельствовали о том, что как в контрольной, так и в опытной группах введение NaHS в зависимости от концентрации приводило к бимодальным эффектам, вызывая вазоконстрикцию при низких и значительно более выраженную вазодилатацию при высоких концентрациях. Влияние эндогенного H_2S зависит от состояния периваскулярной жировой ткани и снижается при МС. Таким образом, усиление H_2S -индуцированной вазодилатации при МС, вероятно, является проявлением компенсаторной реакции на уменьшение выработки эндогенного H_2S . Ведущая роль в реализации релаксационных ответов аортальных гладких мышц на действие H_2S принадлежит АТФ-чувствительным калиевым каналам. Однако при МС их вклад в развитие вазодилатации менее выражен, что является следствием изменения вовлеченности других механизмов. Одним из них может быть снижение H_2S повышенной вазоконстрикции при МС, обусловленной увеличением продукции супероксид-аниона. Взаимодействие различных путей реализации H_2S -индуцированной вазорелаксации при метаболических нарушениях представляет собой важное направление дальнейших исследований для предотвращения развития сосудистых заболеваний, в том числе путем регулирования тонуса сосудов.

Ключевые слова: сероводород, аорта крысы, вазорелаксация, вазоконстрикция, метаболический синдром, «западная» диета, периваскулярная жировая ткань

DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-81-1-1

Введение

Метаболический синдром (МС), само понятие которого стало использоваться только в конце XX—начале XXI вв., включает в себя целую группу метаболических нарушений, таких как первоначально обозначенные инсулинорезистентность, дислипидемия и гипертензия, а также висцеральное ожирение. В дальнейшем происходило уточнение факторов рисков, объединенных термином МС, и даже предложен новый термин «Cardiovascular-Kidney-Metabolic (СКМ) syndrome» [1], подчеркивающий взаимосвязь между ожирением, сахарным диабетом 2 типа (СД), сердечно-сосудистыми

заболеваниями (ССЗ) и хронической болезнью почек. Вместе с тем, артериальная гипертензия, являющаяся одним из самых распространенных ССЗ и важнейшим модифицируемым фактором риска, в особенности, инфаркта миокарда и мозгового инсульта, характеризуется нарушением баланса между вазоконстрикцией и вазодилатацией, необходимого для адекватного кровоснабжения тканей. Повышенная вазоконстрикция, изменения чувствительности сосудистых гладких мышц к действию вазоактивных агентов, модификация различных сигнальных путей при МС и глобальное распространение МС [2] диктуют необходимость

учитывать метаболический статус пациента при применении антигипертензивных средств. Эффективность их использования возможна лишь при знании механизмов действия не только в норме, но и при метаболических нарушениях.

Вазодилатационные эффекты H_2S известны достаточно давно, однако в настоящее время установлена возможность его синтеза в самом организме млекопитающих и сигнальная роль в клетках, в том числе сосудистых. Он является третьим известным, после оксида азота (NO) и монооксида углерода (CO), газотрансмиттером, функции которого весьма разнообразны [3]. H_2S вырабатывается во многих тканях организма в наномолярных и микромолярных концентрациях, преимущественно, ферментативно в результате метаболизма аминокислот, активирует молекулярные сигнальные каскады, способен контролировать окислительно-восстановительные реакции и вызывать посттрансляционную модификацию белков. Для повышения количества H_2S в организме в экспериментальных исследованиях и клинической практике используют многие сульфидные соли, природные соединения и синтетические доноры, которые подвергаются гидролизу, высвобождая H_2S [4]. В области лечения ССЗ с помощью сульфидов остается много вопросов. Установление молекулярных мишеней для H_2S и особенностей взаимодействия с сосудистыми гладкомышечными клетками в различных условиях является важной задачей, которую еще предстоит решить. В связи с тем, что при МС происходят значительные изменения в функционировании сосудов, включая изменения их реактивности, можно предположить, что это касается и эффектов H_2S . Целью данной работы было изучение изменений сократительной деятельности изолированной аорты крысы в ответ на действие донора сероводорода $NaHS$ и эндогенного H_2S при метаболических нарушениях, индуцированных использованием высококалорийной («западной») диеты.

Материалы и методы

Работа выполнена на самцах крыс Wistar ($n = 24$), возраст которых к началу исследования составлял 10–11 нед. Животные были распределены рандомизированным способом на две группы: контрольная (К) и диетная (CAF, cafeteria diet). Средняя масса тела животных К-группы была $322,9 \pm 6,9$ г, CAF-группы — $320,0 \pm 8,7$ г. Крысы К-группы получали стандартный сухой корм (Тосненский комбикормовый завод, Россия), калорийность — 250 ккал/100 г, и воду *ad libitum*. CAF-группа в течение 7 нед. находилась на высококалорийной диете, которая представляет собой вариант «западной» диеты, в котором реализован принцип свободного выбора животным потребляемых продуктов в соответствии со своими пищевыми потребностями. CAF-диета включала в себя

помимо стандартного корма и воды разнообразные высококалорийные продукты и 10%-ный раствор сахарозы, *ad libitum*. В рацион, смену состава которого и входящих в него продуктов проводили ежедневно, входили как необработанные или частично обработанные продукты (арахис, каша с добавлением сала), так и ультрапереработанные продукты (чипсы, сдоба, вафли, печенье, конфеты), которые составляли его большую часть. Средняя калорийность ВК продуктов составляла 430 ккал/100 г.

Еженедельно производили взвешивание животных и определяли прибавку в весе (привес). На последней неделе использования диеты измеряли артериальное давление (систолическое) у бодрствующих крыс манжеточным способом на хвосте с помощью установки «Систола» (Нейроботикс, Россия) для измерения артериального давления (АД) у грызунов, а также проводили оценку уровня глюкозы 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 Acriol pro, АО «Акрихин ХФК», Россия). Уровень глюкозы в исследуемой крови определяли с помощью анализатора AccuCheck Active (Германия), уровень триглицеридов (ТГ) — с использованием анализатора Multicare-in (Италия). На последней неделе использования диеты проводили глюкозотолерантный тест (ГТТ) и инсулинорезистентный тест (ИРТ). Для проведения ГТТ крысам вводили внутривенно раствор глюкозы из расчета 2 г/кг массы тела и оценивали динамику изменения уровня глюкозы в крови в течение 120 мин. Для ИРТ использовали инсулин (подкожно) из расчета 0,75 МЕ/кг (NovoRapid Penfill, Дания). На основании графика, построенного по результатам ИРТ, рассчитывали константу скорости утилизации глюкозы (% глюкозы/мин) по формуле: $(0,693/t \cdot 1/2) \times 100$, где $t \cdot 1/2$ — время снижения концентрации глюкозы крови до 50% от максимального уровня снижения. Эвтаназию животных осуществляли посредством декапитации, массу эпидидимальной жировой ткани определяли путем взвешивания обеих жировых подушечек.

В дальнейших экспериментах использовали кольцевые сегменты изолированной аорты. Для этого иссекали грудную часть аорты (нижний и средний сегменты) и помещали в физиологический солевой раствор (physiological salt solution; PSS) с температурой 5°C следующего состава (ммМ): $NaCl$ — 120,4; KCl — 5,9; $CaCl_2$ — 2,5; $MgCl_2$ — 1,2; NaH_2PO_4 — 1,2; $NaHCO_3$ — 15,5; глюкоза — 11,5, предварительно насыщенного газовой смесью, состоящей из 95% O_2 и 5% CO_2 ; pH 7,4. С целью сохранения паракринных влияний, которые оказывают эндотелий и периваскулярная жировая ткань (ПВЖТ) на сосудистые гладкие мышцы в естественных условиях, их оставляли

интактными, за исключением серии опытов с ингибитором образования H₂S, в которых у части препаратов удаляли ПВЖТ. Длина аортальных сегментов, используемых в миографическом исследовании, составляла 2–2,5 мм. Регистрацию сократительной активности сегментов аорты проводили с помощью датчика силы FORT-25 (WPI, США). После усиления (усилитель INA333, Texas Instruments Incorporated, США) сигнал от датчика был оцифрован и далее обработан с помощью программы регистрации, разработанной в Институте экспериментальной медицины и обеспечивавшей непрерывную запись информации с датчика на протяжении всего эксперимента.

В ходе исследования были использованы: донор H₂S – гидросульфид натрия (NaHS, Sodium hydrosulfide hydrate, Sigma-Aldrich, США), адrenomиметик фенилэфрин (PhE, Phenylephrine Hydrochloride, Sigma-Aldrich, США), блокатор АТФ-чувствительных калиевых каналов глибенкламид (Gl, Glibenclamide, Sigma-Aldrich, США). Для растворения глибенкламида был использован ДМСО (диметилсульфоксид, Вектон, Россия), концентрация которого в экспериментальной камере не превышала 0,1%. Также в экспериментах были использованы в качестве акцептора супероксидных радикалов супероксиддисмутаза (SOD, Superoxide dismutase, Sigma-Aldrich, США) и ингибитор цистатионин-γ-лиазы D,L-пропаргилглицин (PPG, DL-Propargyl glycine, JNECHEM, Китай).

Статистическая обработка данных была проведена с использованием 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, двухфакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с последующим post-hoc анализом. Полученные данные представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего (Standard Error of the Mean, SEM). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Использованная в данном исследовании диета (CAF) зарекомендовала себя эффективной для развития признаков ожирения и МС [5, 6]. Отличительной особенностью CAF-диеты от используемых с этой целью диет является разнообразие предлагаемых продуктов и свободный выбор их потребления в соответствии с предпочтениями животного, что дает основание некоторым исследователям называть ее «вкусной» диетой. С одной стороны, такой характер питания затрудняет оценку количественного и качественного состава пищи для каждого животного, а с другой стороны, именно он дает целый ряд преимуществ. Прежде всего, CAF-диета имеет высокую конструктивную валидность, т.к. имитирует определенную модель проблемного потребления пищи человеком. Разнообразие рациона инициирует развитие гиперфагии, которая является важным фактором развития ожирения. Сочетание высокой калорийности продуктов и повышенного их потребления индуцирует ожирение и сопутствующие ему метаболические нарушения более эффективно, чем диеты с высоким содержанием жиров и/или углеводов [7].

В данном исследовании в результате использования CAF-диеты у крыс были зарегистрированы более интенсивный прирост и, соответственно, конечная масса тела (табл. 1). Одним из важных признаков МС является ожирение, и, как показали исследования последних лет, объективным предиктором развития ССЗ и увеличения риска смерти является висцеральное ожирение [8].

Таблица 1

Морфометрические и биохимические показатели, зарегистрированные при завершении использования диеты (окончание диеты)

Параметр	Контроль		CAF	
Масса тела, г	432,1 ± 6,5	n = 12	488,8 ± 8,3*	n = 12
Привес, г	115,4 ± 5,6	n = 12	170,0 ± 5,9*	n = 12
Масса эпидидимальных жировых подушечек, г	6,5 ± 0,3	n = 12	12,4 ± 0,8*	n = 12
EF/масса тела, %	1,59 ± 0,07	n = 12	2,69 ± 0,16*	n = 12
Уровень триглицеридов в крови, натошак, мМ	1,1 ± 0,20	n = 6	2,6 ± 0,15*	n = 6
Уровень глюкозы в крови, натошак, мМ	4,4 ± 0,2	n = 12	7,3 ± 0,3*	n = 12
Площадь под кривой ГТТ, у.е.	1055 ± 82	n = 7	1649 ± 112*	n = 7
Площадь под кривой ИРТ, у.е.	415,5 ± 31,7	n = 5	693,6 ± 50,3*	n = 5
Константа скорости утилизации глюкозы, %глюкозы/ мин	3,20 ± 0,45	n = 5	1,84 ± 0,22*	n = 5
Систолическое давление, мм.рт.ст.	117,3 ± 1,9	n = 6	134,0 ± 2,0*	n = 6

Примечание: Данные представлены в виде среднего значения ± стандартная ошибка среднего (сравнительный анализ каждого параметра проведен с помощью t-теста). * – различия значимы, $p < 0,05$.

Висцеральная жировая ткань представлена несколькими депо, и увеличение массы любого из них отражает общее увеличение этой ткани. Ранее было показано, что надежным критерием оценки висцерального ожирения является масса эпидидимальной жировой ткани [9]. В качестве показателя висцерального ожирения был использован EF-индекс — процентное отношение массы эпидидимальной жировой ткани к общей массе животного. Общая масса эпидидимальных подушечек и их процентное отношение представлены в табл. 1. Содержание животных на САФ-диете привело к увеличению уровня ТГ и глюкозы в крови (натошак), снижению толерантности к глюкозе и повышению инсулинорезистентности, выявленные при проведении ГТТ и ИРТ, что нашло отражение в изменении площади под кривой и снижении скорости утилизации глюкозы, рассчитанной по результатам ИРТ. Данные представлены в табл. 1 и свидетельствуют о нарушении липидного и углеводного обмена у крыс после САФ-диеты. Изменения, происходящие со стороны сердечно-сосудистой системы, были зарегистрированы при измерении АД у крыс *in vivo*, и гипертензивный эффект проявлялся в виде повышения систолического давления при использовании диеты (табл. 1). Таким образом, животных САФ-группы можно было рассматривать как обладающих признаками МС.

Результаты проведенного миографического исследования кольцевых сегментов изолированной аорты, на фоне сокращения, вызванного предварительным введением PhE (1×10^{-6} М), показали, что кумулятивное применение экзогенного H_2S в зависимости от дозы приводит как к усилению сократительной активности гладких мышц аорты, так и к вазорелаксационным ответам. В экспериментах были использованы концентрации NaHS от 1×10^{-6} до 5×10^{-4} М, и во всем исследованном диапазоне NaHS обладал вазоактивным действием как в контрольной, так и в опытной группах. В связи с тем, что H_2S является летучим газом, а экспериментальная камера не является полностью изолированной от окружающего воздуха, его реальная концентрация в омывающем растворе была несколько ниже теоретической. Более того, в PSS быстро устанавливается равновесие между H_2S и образующимся HS^- [9], что также снижает концентрацию H_2S и не позволяет дифференцировать эффекты этих веществ. Тем не менее, общепринято условно обозначать концентрации NaHS как концентрации H_2S , поэтому далее в тексте под концентрациями H_2S подразумеваются используемые концентрации NaHS. Это правомерно только с учетом ограничения, обусловленного способностью гидролиза NaHS в растворе, однако данный донор зарекомендовал себя как фармакологический инструмент для изучения эффектов H_2S , что позволяет проводить сравнитель-

ный анализ с данными, имеющимися в литературе. При использовании других доноров H_2S , способных выделять его при физиологических условиях, в том числе имеющих медленную скорость высвобождения, необходимо учитывать не только различие в кинетике высвобождения H_2S , но и возможность задействования других механизмов активации [10], хотя их применение более эффективно в дальнейшем в исследованиях и клиническом применении [11].

В данной работе было продемонстрировано (рис. 1), что в низких концентрациях (1×10^{-6} и 1×10^{-5} М) H_2S вызывает вазоконстрикторные реакции аортальных препаратов. Несмотря на то, что H_2S известен как сосудорасширяющее вещество, его сосудосуживающее действие в низких концентрациях отмечено в ряде исследований. В работе Орлова и соавт. [12] этот эффект связывают — по крайней мере, частично — с активацией котранспорта Na^+ , K^+ , $2Cl^-$, что вызывает повышение внутриклеточной концентрации хлоридов, деполяризацию и активацию потенциалзависимых Ca^{2+} -каналов гладкомышечных клеток. Также было высказано предположение, основанное на существовании реакционной зависимости H_2S и напряжением O_2 , что при высоком уровне O_2 сосудосуживающий эффект H_2S вызван образующимся вазоактивным продуктом окисления [13]. В наших экспериментах статистически значимой разницы величины вазоконстрикторных ответов на введение NaHS в К- и САФ-группах зарегистрировано не было.

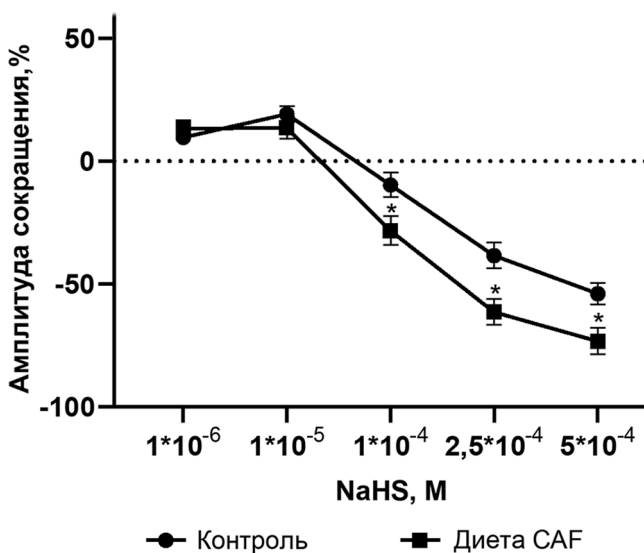


Рис. 1. Влияние NaHS на сократительную активность аортальных препаратов на фоне предварительного сокращения, вызванного PhE (1×10^{-6} М). Амплитуда сокращений выражена в процентах от максимальной величины сокращения, вызванного PhE, $n = 7$ в каждой группе. Данные представлены в виде среднего значения $\pm$ стандартная ошибка среднего (двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA с поправкой Бонферрони). * — различия между группами значимы ($p < 0,05$).

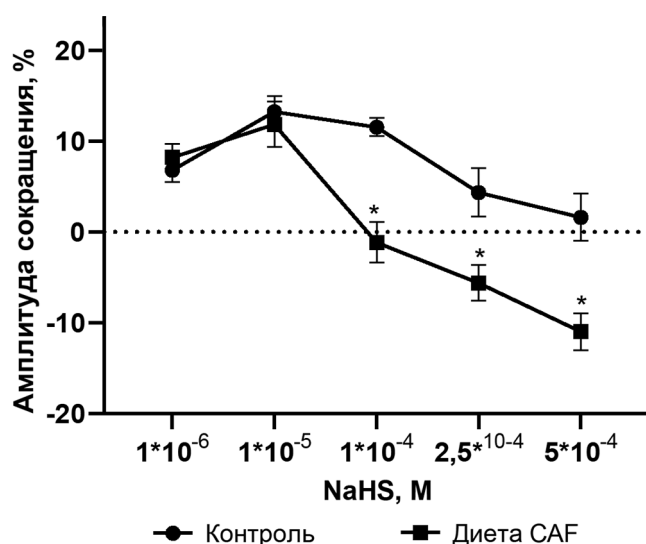


Рис. 2. Влияние NaHS на сократительную активность аортальных препаратов на фоне предварительного сокращения, вызванного PhE ($1 \times 10^{-6} \text{ М}$), до и после инкубации с глибенкламидом ($1 \times 10^{-5} \text{ М}$) в течение 20 мин. Амплитуда сокращений выражена в процентах от максимальной величины сокращения, вызванного PhE , $n = 5$ в каждой группе. Данные представлены в виде среднего значения $\pm$ стандартная ошибка среднего (двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA с поправкой Бонферрони). * — различия между группами значимы ($p < 0,05$).

Вазодилатационные ответы препаратов аорты на фоне предварительного сокращения, вызванного PhE , на введение H_2S проявлялись, начиная с концентрации $1 \times 10^{-4} \text{ М}$, усиливаясь по мере нарастания концентрации ($2,5 \times 10^{-4}$; $5 \times 10^{-4} \text{ М}$). Смещение хода кривой «доза-эффект» в CAF-группе не происходило — в отличие от К-группы. Однако величина релаксации, вызванной H_2S , была существенно выше у животных с признаками МС. Релаксация в ответ на введение NaHS отмечена в исследованиях, проведенных с различными типами кровеносных сосудов [14–16], имеются данные об изменении вазодилатационного действия H_2S при некоторых патологических состояниях, но данные об изменениях вазодилатации при метаболических нарушениях носят противоречивый характер. В частности, имеются сведения как о снижении вазорелаксационного действия H_2S [17], так и об его усилении [18, 19].

Хорошо известно, что релаксационные процессы, протекающие в гладких мышцах, в большой степени зависят от работы калиевых каналов. $\text{K}^+_{\text{АТФ}}$ -каналы, регулируемые внутриклеточными соотношениями АТФ и АДФ, преобразуют метаболические изменения в электрические сигналы для управления многими физиологическими процессами. Показано, что H_2S вызывает S-сульфгидратацию белка, непосредственно активируя $\text{K}^+_{\text{АТФ}}$ -каналы [20], что приводит к гиперполяризации миоцитов и релаксации. Данные литературы

о степени влияния блокады этих каналов на H_2S -вызванную вазорелаксацию находятся в широком диапазоне: от 50% [18] до полного отсутствия релаксирующего действия [21]. Для выяснения участия $\text{K}^+_{\text{АТФ}}$ в реализации вазодилатации, вызванной H_2S , нами была проведена серия экспериментов с использованием их селективного блокатора глибенкламида (Gl). Предварительная инкубация препаратов в PSS с Gl ($1 \times 10^{-5} \text{ М}$) в течение 20 мин не повлияла на величину сократительных ответов при действии H_2S в низких концентрациях, но ингибировала его релаксирующее действие при использовании более высоких концентраций. Несмотря на то, что при действии H_2S в высоких концентрациях ($1 \times 10^{-4} \text{ М}$ – $5 \times 10^{-4} \text{ М}$) некоторая степень расслабления относительно максимума присутствовала при кумулятивном введении H_2S , в К-группе она не превышала величины сокращения, полученного в результате воздействия низких доз. Величины релаксационных ответов на действие NaHS , выраженные в процентах от максимальной величины сокращения, представлены на рис. 2. При МС Gl также ослаблял релаксацию, вызванную NaHS , однако степень выраженности эффекта была меньше. С одной стороны, полученные данные свидетельствуют о том, что данный сигнальный путь остается эффективным при МС. С другой стороны, снижение его значимости может быть обусловлено изменением вовлеченности других механизмов.

H_2S является высокореакционной молекулой и может легко вступать в реакции с другими соединениями, особенно с активными формами кислорода (АФК) и азота [22]. Благодаря окислительно-восстановительному потенциалу H_2S может действовать как молекула-поглотитель АФК, увеличение количества которых происходит при МС. Мы проверили изменение реактивности аорты на стимуляцию адренорецепторов PhE в концентрации 10^{-5} М после инкубации препаратов с SOD (рис. 3А). Для этого первоначально оценивали сократительную способность гладких мышц сосудов в гиперкалиевом растворе (60 мМ), приготовленном путем замены ионов Na^+ в PSS на эквивалентное количество ионов K^+ , затем амплитуду сократительных ответов, полученных при введении PhE , сравнивали с ответом на KCl и выражали в процентах. Предварительную инкубацию препаратов в PSS с SOD (150 Ед/мл в мл⁻¹) проводили в течение 30 мин.

Полученные данные подтверждают, что усиление сократительных ответов аорты, наблюдаемое при МС, обусловлено не только снижением вазодилатационных влияний, но и повышением вазоконстрикции за счет АФК. Ранее было высказано предположение, что роль H_2S в качестве поглотителя АФК незначительна в нормальных физиологических условиях [23], поскольку его концентрация ниже, чем других антиоксидантов.

Возможно, усиление релаксации аорты крыс с МС при введении донора H_2S , зарегистрированное в данном исследовании, происходит вследствие увеличения вклада H_2S в снижение уровня АФК и их вазоконстрикторного влияния. Сложные взаимодействия H_2S с NO приводят к образованию нитрозотиольных соединений, как имитирующих активность NO, выполняя функцию его резервного накопления, так и ограничивающих доступность NO [24, 25]. Более того, взаимодействие между H_2S и NO приводит к быстрому образованию полисульфидов, которые способны играть значительную роль в процессах вазодилатации, активируя протеинкиназу G [26]. Во многом, образование тех или иных форм и вызываемые ими биологические эффекты зависят от уровней этих веществ [24, 25, 27] и других факторов, таких как O_2 или H_2O_2 [26]. В многочисленных исследованиях показано, что при МС происходит снижение продукции NO, а знание о необходимом соотношении между H_2S и NO требует использования точных количественных методов, поэтому на данном этапе исследований нет оснований интерпретировать полученные данные как результат вовлеченности этих механизмов в усиление релаксации при МС. В связи с наличием плеiotропных эффектов H_2S , в реализацию его вазоактивного действия также могут быть вовлечены и другие сигнальные пути, представления о которых постоянно расширяются. В качестве мишеней для действия H_2S рассматривают кальций-активируемые калиевые каналы [28] и ваниллоидный канал с транзитным рецепторным потенциалом 4 [29]. Их функционирование связывают с эндотелиальными клетками, а, следовательно, релаксация, обусловленная ими, будет нарушена при дисфункции эндотелия при МС. Противоречивость имеющихся в литературе данных об участии других типов ионных каналов, а также механизмов, опосредуемых через цГМФ, может быть объяснена тем, что H_2S -индуцированная вазорелаксация сильно различается у разных видов и типов сосудов [30]. В контексте интерпретации дополнительных механизмов, задействованных в изменении вазорелаксации при МС, представляет интерес гипотеза о метаболическом ингибировании. В соответствии с ней ингибирование цитохромоксидазы H_2S приводит к потере митохондриальной генерации АТФ, что вызывает дефицит энергии и внутриклеточный ацидоз. В свою очередь, ацидоз активирует каналы Cl^-/HCO_3^- , что приводит к расслаблению, и данный процесс зависит от уровня кислорода в ткани [31]. Значимым элементом в реализации действия H_2S может являться ПВЖТ, расположенная рядом с кровеносными сосудами, адипоциты которой в условиях хронического избытка калорий подвергаются гипертрофии, что вызывает возникновение механического стресса и тканевой гипоксии [32].

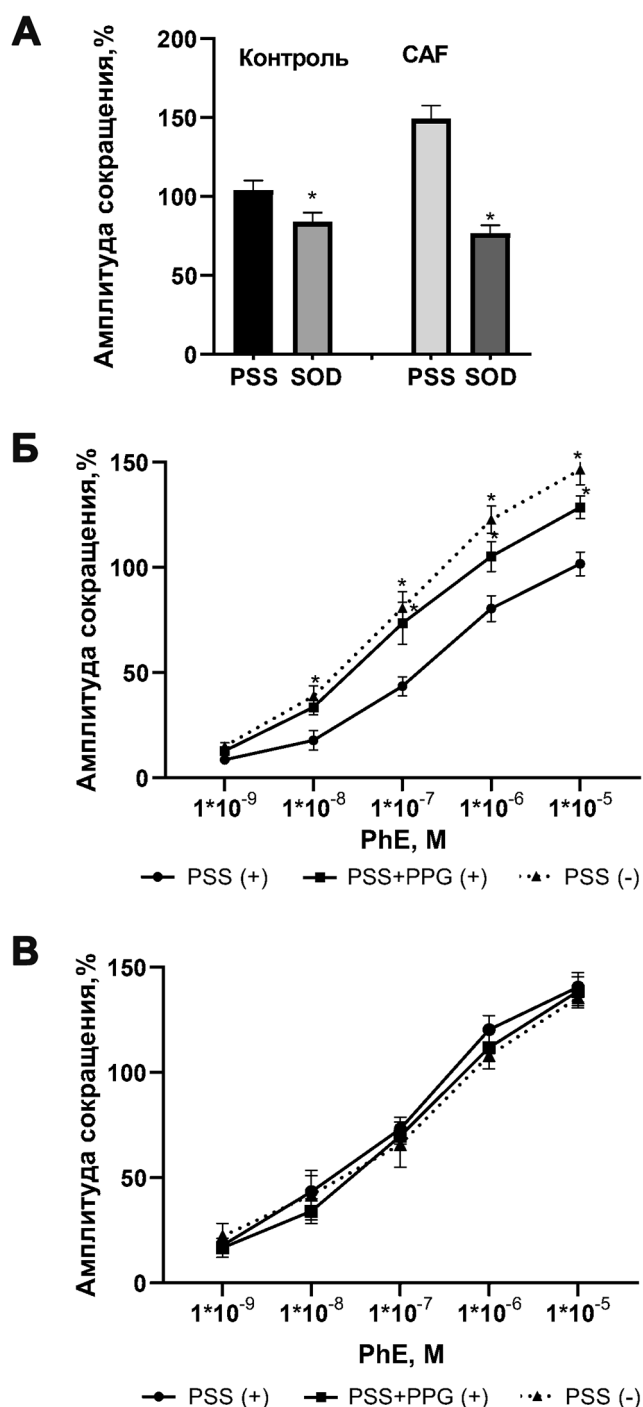


Рис. 3. Сократительные ответы аортальных кольцевых сегментов на действие PhE. **А** – Влияние супероксиддисмутазы (SOD) на величину сокращения, вызванного PhE ($1 \times 10^{-5} M$). PSS – физиологический раствор, PSS+SOD – инкубация с SOD (150 Ед/мл). Контроль – контрольная группа, CAF – группа, находящаяся на диете, $n = 6$ в каждой группе. Данные представлены в виде среднего значения $\pm$ стандартная ошибка среднего (t-test). * – различия значимы ($p < 0,05$). **Б, В** – Влияние D,L-пропаргилглицина (PPG) на величину сокращения, вызванного PhE: **Б** – животные, получавшие стандартный корм ($n = 6$), **В** – животные, получавшие CAF-диету ($n = 6$). PSS – физиологический раствор, PSS + PPG – инкубация с PPG (5 мМ). (+) – препараты с интактной ПВЖТ, (-) – препараты с удаленной ПВЖТ. Данные представлены в виде среднего значения $\pm$ стандартная ошибка среднего (двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA с поправкой Бонферрони). * – различия значимы ($p < 0,05$).

Кроме того, другим аспектом, критически важным для проявления вазоактивных эффектов H_2S , является продукция эндогенного H_2S . Уменьшение выработки H_2S при МС вследствие снижения экспрессии H_2S -синтезирующих ферментов отмечено в ряде исследований [19, 33, 34]. Ранее было показано, что продукция эндогенного H_2S происходит не только в стенке кровеносных сосудов — как эндотелиальными, так и гладкомышечными клетками — но и в ПВЖТ [35]. ПВЖТ синтезирует большое количество вазоактивных веществ, способных модулировать тонус кровеносных сосудов, секреция которых значительно изменена при ожирении и МС [36]. В исследовании Ю.Г. Бирулиной и соавт. [37] было установлено, что на фоне гипергликемии и инсулинорезистентности при моделировании МС происходит снижение концентрации H_2S в сыворотке крови и жировой ткани, а также интенсивности продукции H_2S клетками жировой ткани. Эндогенно H_2S синтезируется ферментативными и неферментативными путями, преимущественно — из L-цистеина с помощью ферментов, особое значение среди которых для функционирования сердечно-сосудистой системы имеет цистатионин-γ-лиаза (ЦГЛ) [38]. В данном исследовании была проведена серия экспериментов в условиях ингибирования активности ЦГЛ на препаратах с интактной ПВЖТ и после ее удаления. Изменение реактивности аорты оценивали по величине сократительных ответов на введение PhE ($10^{-5}M$) после инкубации препаратов в физиологическом растворе с D,L-пропаргилглицином (5 ммоль/л, 30 мин). Как и в предыдущей серии, величину сокращения нормировали и выражали в процентах (рис. 3Б, 3В). При МС у препаратов с интактной ПВЖТ регистрировали увеличение вазоконстрикции в ответ на действие PhE по сравнению с контрольной группой. Удаление ПВЖТ приводило к усилению вазоконстрикторных ответов сегментов аорты животных, находящихся на стандартной диете, но не на диете САФ. Это согласуется с данными, полученными нами ранее [39], и свидетельствует о потере антисократительного действия ПВЖТ на сосудистые гладкие мышцы при метаболических нарушениях. У препаратов с удаленной ПВЖТ статистически значимой разницы в величине PhE-индуцированных сократительных ответов после инкубации с D,L-пропаргилглицином в контрольной группе и группе с МС зарегистрировано не было (на графике не представлено). В контрольной группе животных инкубация с ингибитором ЦГЛ D,L-пропаргилглицином подавляла антисократительный эффект (рис. 3Б) и не влияла на со-

кращение в кольцах аорты с удаленной ПВЖТ. У животных с МС присутствие D,L-пропаргилглицина существенно не повлияло на величину сокращения ни при сохранной ПВЖТ (рис. 3В), ни после ее удаления. Полученные результаты свидетельствуют о снижении образования эндогенного H_2S с помощью ЦГЛ при МС и важной роли ПВЖТ в этом процессе.

Заключение

Действие экзогенного H_2S , образующегося вследствие введения его донора, NaHS, на предварительно сокращенные стимуляцией альфа-адренорецепторов сегменты грудной части аорты проявляется в виде небольших сократительных ответов при использовании низких концентраций и релаксационных ответов — при высоких концентрациях. Установлено, что такой характер реактивности не изменяется при развитии МС, однако при этом происходит усиление H_2S -индуцированной вазодилатации. В то же время влияние эндогенного H_2S , оцененное по изменению сократительной активности сосудов при ингибировании ЦГЛ, преимущественно зависит от состояния ПВЖТ и снижается при МС. Таким образом, усиление H_2S -индуцированной вазодилатации при МС, вероятно, является проявлением компенсаторного механизма на уменьшение выработки эндогенного H_2S .

Выявлено снижение вклада K_{ATF} в величину вазодилатационного ответа аорты на действие H_2S при МС, что может являться следствием изменения вовлеченности других механизмов. Одним из них может быть снижение повышенной вазоконстрикции при МС, обусловленной увеличением продукции супероксид-аниона. Взаимодействие различных путей реализации H_2S -индуцированной вазорелаксации при метаболических нарушениях представляют собой важное направление исследований для разработки новых терапевтических стратегий с целью предотвратить прогрессирование сосудистых заболеваний, в том числе — путем регулирования тонуса сосудов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда в рамках государственного задания Института физиологии имени И.П. Павлова РАН (№ 1021062411784-3-3.1.8). Эксперименты проведены с соблюдением этических норм работы с животными и одобрены этическим комитетом Института физиологии имени И.П. Павлова РАН (протокол №01/31от 31.01.2022). Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sebastian S.A., Padda I., Johal G. Cardiovascular-Kidney-Metabolic (CKM) syndrome: A state-of-the-art review. *Curr. Probl. Cardiol.* 2024;49(2):102344.
2. Ambroselli D., Masciulli F., Romano E., et al. New advances in metabolic syndrome, from prevention to treatment: the role of diet and food. *Nutrients.* 2023;15(3):640.

3. Song Y., Xu Z., Zhong Q., Zhang R., Sun X., Chen G. Sulfur signaling pathway in cardiovascular disease. *Front. Pharmacol.* 2023;14:1303465.
4. Kolluru G.K., Shackelford R.E., Shen X., Dominic P., Kevil C.G. Sulfide regulation of cardiovascular function in health and disease. *Nat. Rev. Cardiol.* 2023;20(2):109–125.
5. de la Garza A.L., Martínez-Tamez A.M., Mella-do-Negrete A., Arjonilla-Becerra S., Peña-Vázquez G.I., Marín-Obispo L.M., Hernández-Brenes C. Characterization of the cafeteria diet as simulation of the human western diet and its impact on the lipidomic profile and gut microbiota in obese rats. *Nutrients.* 2022;15(1):86.
6. Панькова М.Н. Ожирение и антисократительные эффекты жировой ткани в регуляции тонуса аорты. *Тимирязевский биологический журнал.* 2024;2(2):80–85.
7. Lalanza J.F., Snoeren E.M.S. The cafeteria diet: A standardized protocol and its effects on behavior. *Neurosc. Biobehav. Rev.* 2021;122:92–119.
8. Powell-Wiley T.M., Poirier P., Burke L.E., Després J.P., Gordon-Larsen P., Lavie C.J., Lear S.A., Ndumele C.E., Neeland I.J., Sanders P., St-Onge M.P.; 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. Obesity and cardiovascular disease: A scientific statement from the American heart association. *Circulation.* 2021;143(21):e984–e1010.
9. Rogers P., Webb G.P. Estimation of body fat in normal and obese mice. *Br. J. Nutr.* 1980;43(1):83–86.
10. Corvino A., Frecentese F., Magli E., Perissutti E., Santagada V., Scognamiglio A., Caliendo G., Fiorino F., Severino B. Trends in H₂S-donors chemistry and their effects in cardiovascular diseases. *Antioxidants.* 2021;10(3):429.
11. Aydemir B.G., Berenyiova A., Cebova M., Henderson J.D., Barta A., Cacanyiova S. A slow hydrogen sulfide donor GYY-4137 partially improves vascular function in spontaneously hypertensive rats fed a high-fat diet. *Pathophysiology.* 2025;32(2):27.
12. Orlov S.N., Gusakova S.V., Smaglyi L.V., Koltsova S.V., Sidorenko S.V. Vasoconstriction triggered by hydrogen sulfide: Evidence for Na⁺, K⁺, 2Cl⁻ cotransport and L-type Ca²⁺ channel-mediated pathway. *Biochem. Biophys. Rep.* 2017;12:220–227.
13. Koenitzer J.R., Isbell T.S., Patel H.D., Benavides G.A., Dickinson D.A., Patel R.P., Darley-Usmar V.M., Lancaster J.R.Jr, Doeller J.E., Kraus D.W. Hydrogen sulfide mediates vasoactivity in an O₂-dependent manner. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2007;292(4):H1953–1960.
14. Dongó E., Beliczai-Marosi G., Dybvig A.S., Kiss L. The mechanism of action and role of hydrogen sulfide in the control of vascular tone. *Nitric Oxide.* 2018;81:75–87.
15. Pozsgai G., Bátaí I.Z., Pintér E. Effects of sulfide and polysulfides transmitted by direct or signal transduction-mediated activation of TRPA1 channels. *Br. J. Pharmacol.* 2019;176(4):628–645.
16. Hart J.L. Vasorelaxation elicited by endogenous and exogenous hydrogen sulfide in mouse mesenteric arteries. *Naunyn Schmiedeberg Arch. Pharmacol.* 2020;393(4):551–564.
17. Бирулина Ю.Г., Иванов В.В., Буйко Е.Е., Габитова И.О., Ковалев И.В., Носарев А.В., Смаглий Л.В., Гусакова С.В. Роль H₂S в регуляции сосудистого тонуса при метаболических нарушениях. *Бюлл. эксп. биол. мед.* 2021;171(4):436–440.
18. Denizalti M., Bozkurt T.E., Akpulat U., Sahin-Erdemli I., Abacıoğlu N. The vasorelaxant effect of hydrogen sulfide is enhanced in streptozotocin-induced diabetic rats. *Naunyn Schmiedeberg Arch. Pharmacol.* 2011;383(5):509–517.
19. Cacanyiova S., Golas S., Zemancikova A., Majzunova M., Cebova M., Malinska H., Hüttl M., Markova I., Berenyiova A. The vasoactive role of perivascular adipose tissue and the sulfide signaling pathway in a nonobese model of metabolic syndrome. *Biomolecules.* 2021;11(1):108.
20. Wang R. Signaling pathways for the vascular effects of hydrogen sulfide. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2011;20(2):107–112.
21. Смаглий Л.В., Бирулина Ю.Г., Гусакова С.В., Ковалев И.В., Орлов С.Н. Роль калиевой проводимости мембраны в механизмах действия сероводорода на сосудистые гладкие мышцы, предсокращенные активацией α1-адренорецепторов. *Вестник науки Сибири.* 2015;(15):385–389.
22. Kimura Y., Kimura H. Hydrogen sulfide protects neurons from oxidative stress. *FASEB J.* 2004;18(10):1165–1167.
23. Bełtowski J. Hydrogen sulfide in pharmacology and medicine – An update. *Pharmacol. Rep.* 2015;67(3):647–658.
24. Zarenkiewicz J., Perez-Ternero C., Kojasoy V., McGinity C., Khodade V.S., Lin J., Tantillo D.J., Toscano J.P., Hobbs A.J., Fukuto J.M. The reaction of hydroper-sulfides (RSSH) with S-nitrosothiols (RS-NO) and the biological/physiological implications. *Free Rad. Biol. Med.* 2022;188:459–467.
25. Ali M.Y., Ping C.Y., Mok Y.Y., Ling L., Whiteman M., Bhatia M., Moore P.K. Regulation of vascular nitric oxide *in vitro* and *in vivo*; a new role for endogenous hydrogen sulphide? *Br. J. Pharmacol.* 2006;149(6):625–634.
26. Stubbert D., Pryszazhna O., Rudyk O., Scotcher J., Burgoyne J.R., Eaton P. Protein kinase G Iα oxidation paradoxically underlies blood pressure lowering by the reductant hydrogen sulfide. *Hypertension.* 2014;64(6):1344–1351.
27. Łowicka E., Bełtowski J. Hydrogen sulfide (H₂S) – the third gas of interest for pharmacologists. *Pharmacol. Rep.* 2007;59(1):4–24.
28. Jackson-Weaver O., Osmond J.M., Naik J.S., Gonzalez Bosc L.V., Walker B.R., Kanagy N.L. Intermittent hypoxia in rats reduces activation of Ca²⁺ sparks in mesenteric arteries. *Am. J. Physiol.* 2015;309(11):H1915–H1922.
29. Naik J.S., Osmond J.M., Walker B.R., Kanagy N.L. Hydrogen sulfide-induced vasodilation mediated by endothelial TRPV4 channels. *Am. J. Physiol.* 2016;311(6):H1437–H1444.
30. Bibli S.I., Yang G., Zhou Z., Wang R., Topouzis S., Papapetropoulos A. Role of cGMP in hydrogen sulfide signaling. *Nitric Oxide.* 2015;46:7–13.
31. Kiss L., Deitch E.A., Szabó C. Hydrogen sulfide decreases adenosine triphosphate levels in aortic rings and leads to vasorelaxation via metabolic inhibition. *Life Sci.* 2008;83(17–18):589–594.
32. Szasz T., Webb R.C. Perivascular adipose tissue: More than just structural support. *Clin. Sci.* 2012;122(1):1–12.
33. Smimmo M., Casale V., Casillo G.M., Mitidieri E., d'Emmanuele di Villa Bianca R., Bello I., Schettino A., Montanaro R., Brancialeone V., Indolfi C., Cirino G., Di Lorenzo A., Bucci M., Panza E., Vellecco V. Hydrogen sulfide dysfunction in metabolic syndrome-associated vascular complications involves cGMP regulation through soluble guanylyl cyclase persulfidation. *Biomed. Pharmacother.* 2024;174:116466.
34. Liu N., Li M., Liu S., Kang J., Chen L., Huang J., Wang Y., Chen H., Zhang W. Exogenous H₂S attenuates hypertension by regulating renin exocytosis under hyperglycae-

mic and hyperlipidaemic conditions. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(2):1690.

35. Fang L., Zhao J., Chen Y., Ma T., Xu G., Tang C., Liu X., Geng B. Hydrogen sulfide derived from periaortal adipose tissue is a vasodilator. *J. Hypertension*. 2009;27(11):2174–2185.

36. Панькова М., Лобов Г. Периваскулярная жировая ткань: роль в регуляции сосудистого тонуса в норме и при ожирении. *Усп. физиол. наук.* 2025;56(3):24–42.

37. Бирулина Ю.Г., Иванов В.В., Буйко Е.Е., Воронкова О.В., Чернышов Н.А., Гусакова С.В. Роль эндогенного H₂S при экспериментальном метаболическом синдроме. *Вестник РУДН: Медицина.* 2024;28(3):331–339.

38. Yang G., Wu L., Jiang B., Yang W., Qi J., Cao K., Meng Q., Mustafa A. K., Mu W., Zhang S., Snyder S.H., Wang R. H₂S as a physiologic vasorelaxant: hypertension in mice with deletion of cystathionine gamma-lyase. *Science*. 2008;322(5901):587–590.

39. Pankova M.N. Endothelium independent anti-contractile effect of rat aorta perivascular adipose tissue at control and metabolic disorders induced by the cafe diet. *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2023;596(6):2315–2325.

Поступила в редакцию 21.01.2025

После доработки 30.12.2025

Принята в печать 28.03.2026

RESEARCH ARTICLE

Vasoactive effects of H₂S in high-calorie diet-induced metabolic syndrome

M.N. Pankova 

Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, Makarova embankment 6, St. Petersburg, 199034, Russia
e-mail: mpankova@bk.ru

Metabolic syndrome (MS), a global problem of the 21st century, is characterized by hypertension, which is caused by the predominance of vasoconstriction over vasodilation processes. Hydrogen sulfide (H₂S) is a recognized endogenous gas signaling molecule that has a variety of biological effects, including changes in vascular tone. The aim of this work was to study the changes in contractile activity of isolated rat aorta in response to the influence of hydrogen sulfide donor sodium hydrosulfide and endogenous H₂S during metabolic disorders induced by the use of a cafeteria diet. The study was performed on mature male Wistar rats. The use of a cafeteria diet for 7 weeks led to the development of metabolic disorders that characterize MS. The results of myographic study of thoracic aorta segments indicated that the introduction of NaHS in both the control and experimental groups led to bimodal effects depending on the concentration: vasoconstriction at low concentrations and significantly more pronounced vasodilation at high concentrations. Statistically significant changes in vasoconstrictor responses were not discovered during the development of MS, but there was an increase in H₂S-induced vasodilation. The influence of endogenous H₂S depends on the physiological state of perivascular adipose tissue and decreases in MS. Thus, increased H₂S-induced vasodilation in MS likely reflects a compensatory mechanism for decreased endogenous H₂S production. ATP-sensitive potassium channels play a leading role in mediating the relaxation responses of aortic smooth muscle to H₂S. However, their contribution to the development of vasodilation is less pronounced in MS, which is a consequence of changes in the involvement of other mechanisms. One of these mechanisms may be a H₂S-induced reduction in the increased vasoconstriction associated with MS, caused by increased superoxide anion production. The interaction of various pathways for the implementation of H₂S-induced vasorelaxation in metabolic disorders represents an important direction for further research to prevent the development of vascular diseases, including by regulating vascular tone.

Keywords: *hydrogen sulfide, rat aorta, metabolic syndrome, vasoconstriction, vasodilation, cafeteria diet, perivascular adipose tissue*

Funding: This study was performed under the state assignment of to the Pavlov Institute of Physiology Russian Academy of Sciences, project number 1021062411784-3-3.1.8

Сведения об авторах

Панькова Марина Николаевна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. Тел.: 8-812-328-37-52 доб. 122; e-mail: mpankova@bk.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6351-7934>