

УДК 616-056.52-092.9

## БУРЫЙ ЖИР ПЕРИВАСКУЛЯРНОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНИ АОРТЫ НА РАННИХ СТАДИЯХ АЛИМЕНТАРНОГО ОЖИРЕНИЯ У КРЫС

<sup>1</sup>Плескановская С.А., <sup>1</sup>Тачмухаммедова А.Х., <sup>2</sup>Гельдыев А.А.

<sup>1</sup>Государственный медицинский университет Туркменистана имени Мырата Гаррыева, Ашхабад, e-mail: pleskanovskaya\_s@mail.ru;

<sup>2</sup>Международный учебно-научный центр Министерства здравоохранения и медицинской промышленности Туркменистана, Ашхабад

По оценке ВОЗ распространенность ожирения в мире выглядит неутешительно. В 2016 г. более 1,9 млрд взрослых в возрасте 18 лет и старше имели избыточный вес, из них более 650 млн страдали ожирением. За последние 30 лет распространенность ожирения на всех континентах почти утроилась. В отдельных странах ежегодный рост этого показателя превышает прирост населения. Неблагоприятное влияние ожирения на общую и сердечно-сосудистую смертность доказано. Работа посвящена изучению морфологии и функциональной активности подкожной (ПЖТ) и периваскулярной жировой ткани (ПВЖТ) аорты крыс линии Wistar на ранних сроках формирования алиментарного ожирения. В течение 8 дней животные получали свиное сало *ad libitum*. Показано, что в течение этого срока в ПЖТ и ПВЖТ появляются клетки бурого жира с выраженной экспрессией маркера Ki-67. Необходим поиск новых информативных маркеров, характеризующих участие ожирения в патогенезе заболеваний внутренних органов и в их числе сердечно-сосудистой системы. На наш взгляд, чрезвычайно актуальным в этой связи является изучение топографии и функциональной активности висцеральной жировой ткани, в том числе периваскулярной. Авторы допускают, что определение площади адипоцитов бурого жира в ПВЖТ аорты при помощи современных компьютерных технологий можно рассматривать в качестве предиктора ее атеросклеротического поражения при алиментарном ожирении.

**Ключевые слова:** алиментарное ожирение, крысы Wistar, периваскулярная жировая ткань аорты, морфометрия, гистохимия

## THE AORTA PERIVASCULAR ADIPOSE TISSUE' BROWN FAT IN THE EARLY STAGES OF ALIMENTARY OBESITY IN RATS

<sup>1</sup>Pleskanovskaya S.A., <sup>1</sup>Tachmukhammedova A.Kh., <sup>2</sup>Geldyev A.A.

<sup>1</sup>Myrat Garryev State Medical University of Turkmenistan, Ashkhabad, e-mail: pleskanovskaya\_s@mail.ru;

<sup>2</sup>International educational-scientific center of the Ministry of Health and Medical Industry of Turkmenistan, Ashkhabad

According to WHO, the prevalence of obesity in the world looks disappointing. In 2016, more than 1.9 billion adults aged 18 and over were overweight, of which more than 650 million were obese. Over the past 30 years, the prevalence of obesity on all continents has almost tripled. In some countries, the annual growth of this indicator exceeds the population growth. The adverse effect of obesity on overall and cardiovascular mortality has been proven. The work is devoted to study of the Wistar rats subcutaneous (SAT) and aorta perivascular adipose tissues (PVAT) morphology and functional activity in the early stages of alimentary obesity formation. For 8 days, the animals were fed pork fat *ad libitum*. It was shown that during this period, brown fat cells with a high expression of the Ki-67 marker appear in the SAT and PVAT. It is necessary to search for new informative markers that characterize the participation of obesity in the pathogenesis of diseases of internal organs, including the cardiovascular system. In our opinion, the study of the topography and functional activity of visceral adipose tissue, including perivascular, is extremely relevant in this regard. The authors admit that using modern computer technologies determination the brown fat adipocytes area in the aorta PVAT can be considered as a predictor of its atherosclerotic lesion in alimentary obesity.

**Keywords:** alimentary obesity, Wistar rats, perivascular adipose tissue of the aorta, morphometry, histochemistry

По оценке ВОЗ распространенность ожирения в мире выглядит неутешительно. В 2016 г. более 1,9 млрд взрослых в возрасте 18 лет и старше имели избыточный вес, из них более 650 млн страдали ожирением. За последние 30 лет распространенность ожирения на всех континентах почти утроилась. В отдельных странах ежегодный рост этого показателя превышает прирост населения [1]. Неблагоприятное влияние ожирения на общую и сердечно-сосудистую смертность доказано. Установлено, что увеличение

индекса массы тела (ИМТ) на одну единицу сопровождается увеличением риска развития сердечной недостаточности на 5% у мужчин и на 7% у женщин [2].

Накопление общего жира в организме, как известно, происходит в результате его отложения в подкожных и висцеральных депо.

Висцеральная жировая ткань окружает внутренние органы и характеризуется ассоциацией с кардиометаболическими факторами риска, независимо от общей жировой массы. К висцеральной жировой

ткани относится и периваскулярная жировая ткань (ПВЖТ). ПВЖТ в настоящее время рассматривается как один из компонентов сердечно-сосудистого гомеостаза [3], механизмы данного взаимодействия еще нуждаются в изучении. В этой связи широко обсуждается концепция так называемого «парадокса ожирения». Согласно этой концепции у страдающих ожирением больных больше шансов на выживание, чем у лиц, имеющих недостаточный вес. Многие вопросы, касающиеся этого феномена, остаются без ответа [4, 5]. Периваскулярная жировая ткань (ПВЖТ) является активным регулятором сосудистого гомеостаза. В физиологических условиях она поддерживает нормальную функцию сосудов, выделяя антиатерогенные, противовоспалительные и вазодилатирующие биологически активные вещества [6]. Важно отметить, что все патологические изменения (индукция аргиназы, дефицит L-аргинина, ингибирование Akt и снижение фосфорилирования eNOS) у мышей с ожирением, вызванным диетой, наблюдались только в PVAT, но не в самой аорте. То есть сосудистая дисфункция у мышей с ожирением проявляется только в аорте, содержащей PVAT, но не в аорте без PVAT. Эти результаты еще раз подтверждают гипотезу о том, что роль PVAT может быть даже более важной, чем роль эндотелия, в сосудистой дисфункции, вызванной ожирением [7].

Жировая ткань в организме представлена клетками белого (БелЖТ) и бурого жира (БурЖТ). До недавнего времени полагали, что БелЖТ представляет собой лишь пассивную ткань для хранения дополнительной энергии. Однако в настоящее время существуют неоспоримые доказательства того, что эта ткань выполняет обширные эндокринные функции [8].

Гормоны и биологически активные вещества, вырабатываемые адипоцитами, называются адипоцитокинами (адипокинами). К настоящему времени известно около 50 адипоцитокинов [9].

Факт наличия БурЖТ у взрослых людей был установлен в 2009–2010 гг. С помощью методов иммуногистохимии, позитронно-эмиссионной и компьютерной томографии убедительно доказано наличие этого вида жировой ткани. По частоте встречаемости в организме одна клетка бурого жира (бурый адипоцит) приходится на 100–200 белых адипоцитов [9]. Между двумя разновидностями жировой ткани – белой и бурой – существует паритет, тесные структурно-функциональные взаимодействия. У многих млекопитающих и у детей БурЖТ содержит лимфоциты, а также очаги кро-

ветворения, количество которых резко увеличивается при воздействии экстремальных факторов. Тесный контакт лимфоцитов с бурыми адипоцитами и максимальный лейкоцитоз у животных во время зимней спячки наводят на мысль о тесной взаимосвязи БурЖТ с иммунной системой.

Таким образом, ПВЖТ, БелЖТ и БурЖТ играют решающую роль в сосудистой дисфункции, вызванной ожирением, и могут представлять собой новую терапевтическую мишень для лечения сосудистых осложнений при ожирении. Их терапевтический потенциал нуждается в дальнейшей проверке на моделях ожирения. Необходимо поиск новых информативных маркеров, характеризующих участие ожирения в патогенезе заболеваний внутренних органов и в их числе сердечно-сосудистой системы. На наш взгляд, чрезвычайно актуальным в этой связи является изучение топографии и функциональной активности жировой ткани, в том числе периваскулярной, в патогенезе атеросклероза аорты при ожирении.

Целью настоящей работы являлось изучение морфологии и функциональной активности ПВЖТ аорты крыс на ранних сроках формирования алиментарного ожирения.

#### Материалы и методы исследования

Работа выполнена на 22 крысах-самцах линии Wistar с массой тела 180–220 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария.

Было выделено 2 группы животных по 11 голов в каждой. Крысы первой группы (I гр) получали свиное сало *ad libitum*; животные второй группы (II гр) находились на стандартном рационе питания вивария. На 8 сутки от начала скармливания жира крыс обеих групп иммобилизовали в вертикальном положении в течение 2–2,5 ч в камере Когана. Для замедления кровотока иммобилизованным крысам внутривенно вводили четырекратно с 15-минутным интервалом вводят обзидан из расчета 1 мг на 100 г массы тела животного. По истечении времени иммобилизации животных выводили из эксперимента с соблюдением правил эвтаназии. Для морфологического исследования у животного изымались аорта с прилегающей к ней периваскулярной жировой тканью. От каждого животного брались 8 участков. Обработка биоматериала и окраска гематоксилином-эозином осуществлялась по стандартной методике. Гистоморфометрическое исследование проведено при увеличениях  $\times 120$  и  $\times 390$  с помощью морфометрической сетки Автандилова и Image-Pro® Plus системы. Для морфоло-

гических и гистохимических исследований забирали образцы подкожной жировой ткани (ПЖТ) и периваскулярной жировой ткани (ПВЖТ) грудной части аорты. Парафиновые срезы тканей, их окраску гематоксилином-эозином осуществляли общепринятым методом. Способ моделирования атеросклероза был осуществлен согласно патенту [10]. Исследование включало морфометрию препаратов и определение пролиферативной активности клеточных элементов жировой ткани по экспрессии Ki-67 [11].

Математическая обработка полученных данных выполнена с использованием статистической программы SPSS (USA).

### Результаты исследования и их обсуждение

Было установлено, что в течение 8 дней эксперимента масса тела животных, получавших высокую пищевую нагрузку в виде свиного сала, значительно изменилась по сравнению с контрольной группой животных, находившихся на стандартном рационе питания. Масса тела крыс I гр на 8-й день эксперимента увеличилась на 20% и составила 225,7±11,7 гр и II гр – 187,9±9,3 гр (различие математически достоверно,  $p < 0,05$ ).

На 8-е сутки от начала алиментарной жировой нагрузки в подкожной жировой ткани (ПЖТ) крыс обеих групп выявлены обычные скопления адипоцитов, содержащих «белый» и «бурый» жир (АБЛЖ, АББЖ). Однако в периваскулярной жировой ткани (ПВЖТ) животных I-й (экспериментальной) группы к этому времени площадь скопления адипоцитов, содержащих АБрЖ, достоверно увеличилась против АБЛЖ. Если в ПВЖТ животных контрольной группы площадь скоплений АБрЖ составила  $21,08 \pm 2,3 \times 10^3$  мкм<sup>2</sup>, в группе животных, получавших алиментарную нагрузку, она достигла  $54,9 \pm 6,2 \times 10^3$  мкм<sup>2</sup> ( $p < 0,01$ ),

то есть в 2,6 раза превысила уровень контроля.

Ни в ПЖТ, ни в ПВЖТ животных обеих групп не выявлено воспалительных или склеротических изменений. То есть непродолжительная (в течение 8 дней) жировая алиментарная нагрузка не вызывает воспалительно-инфильтративных изменений ни в ПЖТ, ни ПВЖТ аорты крыс, но способствует накоплению в них бурой жировой ткани (БЖТ).

Было установлено, что с увеличением площади БЖТ в ПВЖТ и ПЖТ одновременно повышается экспрессия Ki-67 – маркера пролиферации (таблица).

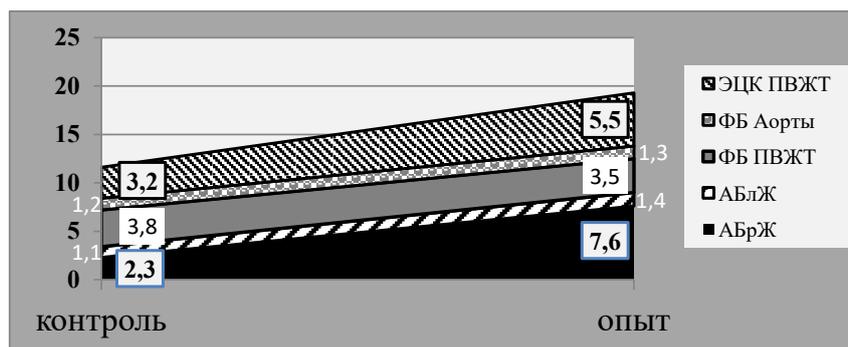
В частности, экспрессия Ki-67 в АБрЖ ПВЖТ у крыс экспериментальной группы в 3,3 раза выше по сравнению с контрольной группой животных и составляет  $7,6 \pm 1,1\%$  против  $2,3 \pm 0,6\%$  в контрольной группе ( $p < 0,01$ ). То есть в ответ на алиментарную жировую нагрузку в ПВЖТ крыс линии Wistar активируются процессы пролиферации. «Фоновая» пролиферативная активность экспрессирована и в АБЛЖ. Однако выраженность экспрессии маркера в 2 раза ниже по сравнению с экспериментальной группой животных. Так, экспрессия Ki-67 в АБЛЖ ПВЖТ у животных контрольной группы составляет  $1,1 \pm 0,3\%$ , у животных экспериментальной –  $2,1 \pm 0,5\%$  ( $p < 0,05$ ). То есть уже через 8 дней алиментарной жировой нагрузки в АДБЖ ПВЖТ крыс усиливаются процессы пролиферации (таблица).

Как видно из таблицы, адипоциты бурого жира (АБрЖ) обладают высокой пролиферативной активностью уже на ранних стадиях ожирения у крыс. Вместе с тем экспрессия Ki-67 на эндотелиоцитах капилляров в ПВЖТ, фибробластах и фиброцитах ПВЖТ, фибробластах и фиброцитах стенки аорты не изменяется ( $p > 0,05$  во всех случаях).

Сравнительная характеристика ИГХ-экспрессии отдельных маркеров в ПВЖТ в виде Score-показателя

№	Маркёр	Экспрессирующие маркёр клетки	I группа опыт	II группа контроль
1	Ki-67, %	Адипоциты «бурого» жира (АБрЖ)	7,6±1,1*	2,3±0,6
		Адипоциты «белого» жира (АБЛЖ)	2,1±0,5*	1,1±0,3
		Эндотелиоциты капилляров в ПВЖТ	4,5±0,8	3,2±0,5
		Фибробласты и фиброциты ПВЖТ	3,7±0,6	3,8±0,9
		Фибробласты и фиброциты стенки аорты	1,2±0,2	1,2±0,3
2	Десмин	Гладкомышечные клетки стенки аорты	3,4±0,6*	5,7±0,8
		Гладкомышечные клетки стенки мелких сосудов в ПВЖТ	9,5±1,8	8,9±1,9

Примечание. \* –  $p < 0,05$ .



Динамика степени экспрессии маркера Ki-67 в зависимости от вида клеток жировой ткани.  
(обозначения в тексте)

Показано, что, в отличие от отдаленных жировых депо, которые регулируют сердечно-сосудистую систему, способствуя циркуляции биоактивных адипоцитокинов, ПВЖТ способна непосредственно модулировать ключевые сигнальные пути в сосудистой стенке и миокарде через паракринные и вазокринные пути [3]. Более того, недавно показано, что связь между сосудистой стенкой и ПВЖТ является двунаправленной. Так, например, локально высвобождаемые из поврежденного сосуда медиаторы воспаления и продукты окисления могут непосредственно изменять фенотип периваскулярных адипоцитов [12]. В этой связи особый интерес вызывает достоверно низкая экспрессия десмина гладкомышечными клетками (ГМК) стенки аорты в I (экспериментальной) группе животных. Скорее всего, это связано с начавшимся процессом склерозирования в стенке аорты, когда определенная часть ГМК стенки аорты, в норме интенсивно экспрессирующая десмин, начинает терять свойства мышечных клеток и приобретает свойства фибробластов и фиброцитов.

Исследование показало, что экспрессия маркера Ki-67 четко выражена на эндотелиоцитах капилляров (ЭЦК) ПВЖТ животных обеих групп. Но и в этом случае экспрессия маркера на ЭЦК ПВЖТ крыс при алиментарном ожирении значительно выше по сравнению с контрольной группой животных и составляет  $5,5 \pm 0,8\%$  против  $3,2 \pm 0,5\%$ , то есть увеличена в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ).

Было установлено, что на ранней стадии развития алиментарного ожирения экспрессия маркера на эпителиоцитах капилляров ПВЖТ увеличивается в 1,7 раза, на адипоцитах бурого жира в 3,3 раза, в то время как пролиферативная активность других клеток практически не изменяется. То есть имеет место повышение пролиферативной активности фибробластов, фиброцитов

и эпителиоцитов капилляров ПВЖТ, и оно достоверно выше по сравнению с адипоцитами бурого жира (рисунок).

Если учесть, что на ранней стадии алиментарного ожирения на фоне значительно-го увеличения площади АБлЖ увеличивается пролиферативная активность как самих АБрЖ, так и эпителиоцитов ПВЖТ, становится возможным допустить, что прогрессирование ожирения может привести к повреждению стенки не только капилляров ПВЖТ, но и аорты.

Роль ПВЖТ и БЖТ в развитии сердечно-сосудистых заболеваний доказана. Клетки этих тканей секретируют адипокины и цитокины, которые, в свою очередь, локально модифицируют стенку сосудов [3]. Следовательно, при прогрессирующем увеличении площади бурого жира в ПВЖТ аорты можно ожидать прогрессивного нарастания пролиферативной активности ее клеток (адипоцитов, фиброцитов, фибробластов и эндотелиоцитов), что неизбежно приведет к атаке на интиму аорты.

Современные компьютерные технологии – эмиссионно-позитронная томография – позволяют определить топографию и основные характеристики бурой жировой ткани [13]. В этой связи мы допускаем, что определение площади АБлЖ в ПВЖТ аорты можно использовать в качестве предиктора развития ее атеросклеротического поражения, то есть оценить риск поражения аорты при алиментарном ожирении.

#### Список литературы

1. World Health Organization – WHO (2017) Obesity and overweight. Controlling the global obesity epidemic. (Electronic resource). URL: <http://www.who.int/nutrition/topics/obesity/en> (date of access: 12.06.2022).
2. Ospanov O., Fursov A. Prevalence of obesity in Kazakhstan. AMJ. 2017. 10. No. 119. P. 16–920. DOI: 10.21767/AMJ.2017.3169.
3. Учасова Е.Г., Груздева О.В., Дылева Ю.А., Белик Е.В. Роль периваскулярной жировой ткани в развитии ате-

росклеротических и неатеросклеротических заболеваний. Медицинская иммунология. 2019. 21. № 4. С. 633–642. DOI: 10.15789/1563-0625-2019-4-633-642.

4. Antonopoulos A.S., Oikonomou E.K., Antoniades C., et al. From the BMI paradox to the obesity paradox: the obesity – mortality association in coronary heart disease. *Obes Rev.* 2016. 17. P. 989–1000. DOI: 10.1111/obr.12440.

5. Akoumianakis I., Antoniades C. The interplay between adipose tissue and the cardiovascular system: is fat always bad? *Cardiovasc Res.* 2017. Vol. 113. P. 999–1008. DOI: 10.1093/cvr/cvx111.

6. Ким О.Т., Дадаева В.А., Королев А.И., Драпкина О.М. Периваскулярная жировая ткань в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний. *Российский кардиологический журнал.* 2021. 26. 11. 4567. DOI: 10.15829/1560-4071-2021-4567.

7. Ning Xia and Huige Li The role of perivascular adipose tissue in obesity-induced vascular dysfunction. *Br. J. Pharmacol.* 2017. Oct. V. 174. № 20. P. 3425–3442. DOI: 10.1111/bph.13650.

8. Груздева О.В., Акбашева О.Е., Дылева Ю.А., Антонова Л.В., Матвеева В.Г., Учасова Е.Г., Фанаскова Е.В., Каретникова В.Н., Иванов С.В., Барбараш О.Л. Адипокиновый

и цитокиновый профили эпикардальной и подкожной жировой ткани у пациентов с ишемической болезнью сердца // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2017. Т. 163. № 5. С. 560–563.

9. Мяделец О.Д., Мяделец В.О., Соболевская И.С., Кичигина Т.Н. Белая и бурая жировые ткани: взаимодействие со скелетной мышечной тканью // Вестник ВГМУ. 2014. Т. 13. № 5. С. 35–44.

10. Способ моделирования алиментарного атероматоза. Патент RU 2033646 (дата публикации 20.04.1995).

11. Sales Gil R., Vagnarelli P. Ki-67: More Hidden behind a ‘Classic Proliferation Marker’. *Trends Biochem Sci.* 2018. Aug 18. P. 2–8.

12. Costa R.M., Neves K.B., Tostes R.C. et al. Perivascular Adipose Tissue as a Relevant Fat Depot for Cardiovascular Risk in Obesity. *Front Physiol.* 2018. 9. P. 253. DOI: 10.3389/fphys.2018.00253.

13. Antonopoulos A.S., Sanna F., Sabharwal N. et al. Detecting human coronary inflammation by imaging perivascular fat. *Sci. Transl. Med.* 2017. № 9. P. 12658. DOI: 10.1126/scitranslmed.aal2658.