

Адипокино-цитокиновый профиль адипоцитов эпикардиальной жировой ткани при ишемической болезни сердца на фоне висцерального ожирения

Груздева О.В.^{1,2*}, Бородкина Д.А.⁴, Акбашева О.Е.³, Дылева Ю.А.¹, Антонова Л.В.¹, Матвеева В.Г.¹, Иванов С.В.¹, Учасова Е.Г.¹, Белик Е.В.¹, Фанаскова Е.В.¹, Каретникова В.Н.^{1,2}, Коков А.Н.¹, Барбараш О.Л.^{1,2}

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово

²ФГБОУ ВО КеМГМУ Минздрава России, Кемерово

³ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Кемерово

⁴ГБУЗ Кемеровской области «Кемеровская областная клиническая больница», Кемерово

Обоснование. На сегодняшний день сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) остаются основной причиной утраты трудоспособности, инвалидизации и смертности населения. Большинство эктопических жировых отложений продемонстрировали тесную ассоциацию с кардиометаболическими рисками и клиническими проявлениями большинства ССЗ. Выяснение метаболических особенностей адипоцитов эпикардиальной жировой ткани, локализованной в непосредственной близости к очагу повреждений при ишемической болезни сердца (ИБС), может иметь как теоретическое, так и практическое значение для патофизиологии и кардиологии.

Цель. Изучить адипокино-цитокиновый профиль адипоцитов эпикардиальной (ЭЖТ) и подкожной жировой ткани (ПЖТ), сыроворотки крови во взаимосвязи с площадью висцеральной жировой ткани (ВЖТ), биохимическими и клиническими характеристиками больных ИБС.

Методы. Обследовано 84 пациента (70 мужчин и 14 женщин) с ИБС. По факту наличия висцерального ожирения (ВО) пациенты были поделены на две группы. У пациентов с ВО проводился забор адипоцитов ЭЖТ и ПЖТ с последующим культивированием и оценкой адипокиновой и провоспалительной активности. Проводилось определение показателей углеводного и липидного обмена, адипокинового и провоспалительного статусов в сыворотке крови.

Результаты. Установлено, что адипокино-цитокиновые профили адипоцитов ЭЖТ и ПЖТ отличаются между собой. Адипоциты ЭЖТ при ИБС на фоне ВО характеризуются увеличением ИЛ-1, ФНО- α , лептин-адипонектинового отношения и снижением содержания протективных факторов: адипонектина и противовоспалительного цитокина ИЛ-10. В то время как адипоциты ПЖТ характеризовались снижением концентрации растворимого рецептора к лептину и более выраженной лептинорезистентностью, а увеличение провоспалительных цитокинов компенсировалось возрастанием концентрации ИЛ-10, наличие ВО ассоциировалось с многососудистым поражением коронарного русла, мультифокальным атеросклерозом, инсулинорезистентностью, атерогенной дислипидемией, дисбалансом адипокинов и маркеров воспаления. Так, величина площади ВЖТ определяла более высокие значения концентрации лептина, ФНО- α в адипоцитах и сыворотке крови, показателей липидного и углеводного обмена и более низкое содержание растворимого рецептора к лептину.

Заключение. Таким образом, при ИБС на фоне ВО состояние адипоцитов ЭЖТ характеризуется как «метаболическое воспаление» и может свидетельствовать о непосредственном вовлечении адипоцитов в патогенез ИБС за счет формирования адипокинового дисбаланса и активации провоспалительных реакций.

Ключевые слова: висцеральное ожирение, эпикардиальная жировая ткань, ишемическая болезнь сердца, адипокины, цитокины.

Adipokine-cytokine profile of adipocytes of epicardial adipose tissue in ischemic heart disease complicated by visceral obesity

Gruzdeva O.V.^{1,2*}, Borodkina A.D.⁴, Akbasheva O.E.³, Antonova L.V.¹, Matveeva V.G.¹, Ivanov S.V.¹, Dileva Y.A.¹, Belik E.V.¹, Fanaskova E.V.¹, Karetnikova V.N.^{1,2}, Kokov A.N.¹, Barbarash O.L.^{1,2}

¹Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia

²Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia

³Siberian State Medical University, Kemerovo, Russia

⁴Kemerovo regional clinical hospital, Kemerovo, Russia

Introduction. To date, cardiovascular diseases (CVD) remain the main cause of disability and mortality in population. The majority of ectopic fat deposits demonstrated a reliable association with cardiometabolic risks and clinical manifestations of most CVD. The elucidation of the metabolic features of adipocytes of epicardial adipose tissue localized in the immediate vicinity of the lesion in ischemic heart disease (IHD) can have both theoretical and practical significance for pathophysiology and cardiology.

Aim. To study the adipokine-cytokine profile of epicardial adipocytes (EA) and subcutaneous adipose tissue (SCAT), blood serum in relation to the area of visceral adipose tissue (AVAT), biochemical and rhelinic characteristics of IHD patients.

DOI: 10.14341/OMET2017438-45

Methods. 84 patients (70 men and 14 women) with IHD were examined. In the presence of visceral obesity (VO), patients were divided into two groups. In patients with VO, adipocyte EA and SCAT were sampled, followed by cultivation and evaluation of adipokine and proinflammatory activity. The parameters of carbohydrate and lipid metabolism, adipokine and proinflammatory status in blood serum were determined.

Results. It has been established that the adipokine-cytokine profile of the adipocytes EA and SCAT differ. Adipocytes of EA in IHD on the background of VO are characterized by an increase in IL-1, TNF- α , leptin-adiponectin ratio and a decrease in the protective factors: adiponectin and anti-inflammatory cytokine IL-10. While adipocytes of SCAT were characterized by a decrease in the concentration of the soluble receptor to leptin and a more pronounced leptin resistance, and the increase in inflammatory cytokines was compensated by an increase in the concentration of IL-10, the presence of VO was associated with multivessel coronary disease, multifocal atherosclerosis, insulin resistance, atherogenic dyslipidemia, adipokine imbalance, and markers of inflammation. Thus, the value of the area of VO determined higher values of leptin concentration, TNF- α in adipocytes and serum, lipid and carbohydrate metabolism and a lower soluble receptor for leptin content.

The conclusion. Thus, in IHD with VO the state of adipocytes, EA is characterized as "metabolic inflammation" and may indicate the direct involvement of adipocytes in the pathogenesis of IHD due to the formation of adipokine imbalance and the activation of proinflammatory reactions.

Keywords: visceral obesity, epicardial adipose tissue, ischemic heart disease, adipokines, cytokines.

*Автор для переписки/Correspondence author – gruzdeva@mail.ru

DOI: 10.14341/OMET2017438-45

Обоснование

На сегодняшний день сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) остаются основной причиной утраты трудоспособности, инвалидизации и смертности населения [1]. В 2013 г. ССЗ стали причиной смерти 17,3 млн человек, что превышает показатели 1990 г. на 40,8% [2]. Во многом это увеличение обусловлено общим старением населения, воздействием на организм человека сердечно-сосудистых факторов риска ССЗ [3]. Одним из таких факторов является ожирение. Накопление общего жира в организме происходит в результате отложения жира в подкожных и висцеральных депо [4]. Висцеральная жировая ткань (ВЖТ) окружает внутренние органы и характеризуется ассоциацией с кардиометаболическими факторами риска, независимо от общей жировой массы [5].

Большинство эктопических жировых отложений продемонстрировали тесную ассоциацию с кардиометаболическими рисками и клиническими проявлениями большинства ССЗ [6]. В ряде клинических исследований обнаружено, что избыток эпикардального жира сопровождается снижением синтеза адипонектина, гипертрофией миокарда, фиброзом и апоптозом кардиомиоцитов, развитием желудочковых аритмий [7]. В то же время эпикардальные адипоциты в физиологических условиях выполняют ряд важных для миокарда функций: метаболическую (абсорбируют избыток свободных жирных кислот и выступают в качестве источника энергии в условиях ишемии), термогенную, механическую, а также синтезируют адипонектин и адреномедуллин, обладающие кардиопротективными свойствами [8]. Выяснение метаболических особенностей адипоцитов эпикардальной жировой ткани, локализованной в непосредственной близости к очагу повреждений при ишемической болезни сердца (ИБС), может иметь как теоретическое, так и практическое значение для патофизиологии и кардиологии.

Цель

Изучение адипокиново-цитокинового профиля адипоцитов эпикардальной, подкожной жировой ткани, сыворотки крови, поиск взаимосвязи с площадью ВЖТ, биохимическими и клиническими характеристиками больных ИБС.

Методы

Дизайн исследования

В исследование включены 84 пациента (70 мужчин и 14 женщин) с ИБС в возрасте 61,9 (53,7;68,5) лет. Диагноз ИБС установлен согласно критериям ВНОК (2007). В контрольную группу были включены 30 мужчин без ССЗ, средний возраст которых 58,42 (52,2;71,1) лет. Все пациенты до начала процедур исследования подписали форму информированного согласия, одобренную Локальным этическим комитетом.

У пациентов верифицировали наличие висцерального ожирения (ВО) путем измерения площади ВЖТ и подкожной жировой ткани (ПЖТ) с помощью мультиспиральной томографии на компьютерном томографе LightspeedVCT-64 (GeneralElectric, США). При ВО площадь ВЖТ должна быть больше 130 см², а коэффициент отношения площади висцеральной и подкожной жировой ткани (ВЖТ/ПЖТ) – больше или равен 0,4 [9]. Для оценки влияния ВО на адипокиново-цитокиновый профиль адипоцитов эпикардальной жировой ткани (ЭЖТ) и ПЖТ пациенты были разделены на 2 группы. Для оценки влияния ВО на адипокиново-цитокиновый профиль адипоцитов ЭЖТ и ПЖТ у пациентов с площадью ВЖТ более 130 см² проводился забор адипоцитов ЭЖТ и ПЖТ с последующим культивированием и оценкой адипокиновой и провоспалительной активности. Для поиска взаимосвязи адипокиново-цитокинового профиля адипоцитов ЭЖТ и ПЖТ с площадью ВЖТ, биохимическими и клиническими характеристиками проводился сбор анамнеза, определение показателей углеводного и липидного обмена, адипокинового и провоспалительного статусов в сыворотке крови всех исследуемых групп.

Критерии соответствия

Критерии включения: подписанное информированное согласие на комплексное обследование и лечение.

Критерии исключения: пациенты моложе 50 и старше 80 лет, наличие в анамнезе сахарного диабета; уровень гликозилированного гемоглобина (HbA_{1c}) 6,0%; наличие тяжелой сопутствующей патологии: онкологические, инфекционные, психические заболевания, хроническая обструктивная болезнь легких, болезни соединительной ткани, почечная и гепатоцеллюлярная недостаточность.

Условия проведения

Исследование выполнено на базе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Российская Федерация и МБУЗ «Кемеровский кардиологический диспансер» г. Кемерово, Российская Федерация.

Описание медицинского вмешательства

У всех пациентов измеряли массу тела (кг), рост (м), окружность талии (ОТ) (см), бедер ОБ (см), отношение ОТ/ОБ, рассчитывали индекс массы тела (ИМТ, кг/м²).

Адиipoциты выделяли из подкожного и эпикардияльного жира (в количестве 3–5 г) больных с ВО при операции аорто-коронарного шунтирования (АКШ). Образцы ЭЖТ забирали из жировых депо, локализованных преимущественно вокруг правых отделов сердца, а образцы ПЖТ – из подкожной клетчатки нижнего угла средостенной раны. Жировую ткань помещали в сбалансированный солевой раствор Хэнкса (SigmaAldrich, США) с добавлением пенициллина (100 U/L), стрептомицина (100 мг/мл), гентамицина (50 мкг/мл). Выделение изолированных адипоцитов из жировой ткани осуществляли в стерильных условиях в ламинарном шкафу II класса защиты (БОВ-001-АМС МЗМО, Россия) по методике, описанной Carswell и соавт. [10]. Для этого образцы ЭЖТ и ПЖТ (размером 1–2 мм³) инкубировали 30 мин при температуре 37°С в растворе коллагеназы (0,5 мг/мл; Invitrogen, США), содержащем 200 нМ аденозина (SigmaAldrich, США). Затем добавляли равный объем 10% эмбриональной телячьей сыворотки (Gibco, США) в полной культуральной среде М 199 (Gibco, США), содержащей 1% Нерес буфер (Gibco, США), 1% раствор L-глутамин с пенициллином и стрептомицином (Gibco, США), 0,4% раствор амфотерицина-В (Gibco, США) и глюкозу в конечной концентрации 5 ммоль/л. Далее флотирующие кусочки ферментированной жировой ткани переносили в стерильный фильтр с размером пор 100 мкм (Falcon, США), в условиях мягкого перемешивания промывали полной культуральной средой М 199, объем содержимого пробирки с клетками доводили до 5 мл и центрифугировали 2 мин при 200g. Изолированные адипоциты помещали в отдельную пробирку, объем содержимого пробирки доводили культуральной средой до 1 мл и проводили подсчет адипоцитов в камере Горяева. Жизнеспособность клеток оценивали согласно методике [11]. В лунку стерильного 24-луночного планшета (Greiner, Германия) вносили адипоциты в количестве 20×10⁵ и доводили объем содержимого лунки до 1 мл культуральной средой. Клетки культивировали в течение 2 сут с заменой среды через 1 сут. Со дна лунок аккуратно забирали среду каждые сутки культивирования для последующего определения адипокинов и цитокинов. Параллельно определяли содержание адипокинов, цитокинов, показатели липидного и углеводного обменов в сыворотке крови больных с ВО и без ВО.

Содержание лептина, его растворимого рецептора (SOB-R), адипонектина в ЭЖТ и ПЖТ определяли иммуноферментным методом с использованием тест-систем фирмы BioVendor (США) и eBioscience (Австрия). Концентрацию цитокинов – интерлейкинов-1β (ИЛ-1β), 6 (ИЛ-6), 10 (ИЛ-10), фактора некроза опухоли-α (ФНО-α) проводили с помощью твердофазного иммуно-

ферментного анализа (ELISA) диагностическими наборами фирмы Monobind (США).

Концентрацию общего холестерина (ОХС), триглицеролов (ТГ), липопротеинов очень низкой, низкой и высокой плотности (ХС-ЛПОНП, ХС-ЛПНП, ХС-ЛПВП), Апо-А1 и Апо-В, содержание свободных жирных кислот (СЖК), уровня глюкозы и гликированного гемоглобина (HbA_{1c}) в сыворотке измеряли ферментативным методом по конечной точке на автоматическом биохимическом анализаторе Konelab 30i фирмы Thermo Fisher Scientific (Финляндия). Уровень инсулина и С-пептида в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа с использованием тест-системы Monobind Insulin ELISA (США). Чувствительность тканей к инсулину оценивали с помощью индекса чувствительности к инсулину НОМА как отношение концентраций инсулина и глюкозы натощак по формуле [инсулин×глюкоза]/22,5. Инсулинорезистентность (ИР) фиксировали при значениях индекса НОМА-R>2,77 [12]. Чувствительность тканей к лептину оценивали по индексу свободного лептина (FLI) – отношения концентрации лептина (нг/мл) к концентрации растворимого рецептора к лептину (нг/мл). Лептинорезистентность фиксировали при FLI >25 по показателям сыворотки крови [13].

Анализ в подгруппах

В 1-ю группу вошли 54 пациента с висцеральным ожирением (ВО), во вторую группу включены 30 человек без ВО (табл. 1). В контрольную группу были включены 30 мужчин без ССЗ, средний возраст которых (58,42 (52,2;71,1) лет) был сопоставим с пациентами, вошедшими в исследование (p=0,64). По данным антропометрических обследований, среди здоровых добровольцев не было лиц с избыточной массой тела и ожирением, ОТ соответствовал гендерной норме (менее 94 см), ОТ/ОБ было менее 1,0.

По результатам антропометрии ИМТ у пациентов с ВО был статистически значимо ниже, чем у пациентов без ВО (табл. 1). Количество больных с нормальной массой тела среди пациентов с ВО составило 39%, а среди пациентов без ВО – только у 20% больных (p=0,02). Избыточная масса регистрировалась у 37,0% и 47% соответственно среди больных с ВО и без ВО. Диагноз ожирения был верифицирован у 33% пациентов без ВО (против 24% у больных с ВО, p=0,03). Для пациентов с ВО было характерно перераспределение жировой ткани по андроидному типу. Так, индекс ОТ/ОБ более 1,0 регистрировался у всех пациентов с ВО, тогда как при отсутствии ВО – только у трети пациентов (p<0,05).

Пациенты исследуемых групп были сопоставимы по возрасту, наличию факторов риска ССЗ, таких как артериальная гипертензия, курение, стенокардия, дислипидотеинемия, застойная хроническая сердечная недостаточность и инфаркт миокарда в анамнезе (p>0,05). Пациенты, включенные в исследование, получали стандартную антиангинальную и антиагрегационную терапию.

Этическая экспертиза

Данное исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ (выписка из протокола №30 от 10.10.2015 г.).

Таблица 1

Основные антропометрические характеристики больных ИБС

Характеристики	Пациенты с висцеральным ожирением, n=54		р
	Пациенты без висцерального ожирения, n=30		
ИМТ, кг/м ²	27,7 (19,0;42,0)	29,4 (25,1;39,2)	0,02
ОТ, см	муж. 103,1 (84,0;124,0)	96,8 (78,0;123,0)	0,04
	жен. 84 (68;98)		
ОБ, см	муж. 97,4 (90,0;120,0)	101,2 (84,0;140,0)	0,04
	жен. 96 (92;110)		
ОТ/ОБ	муж. 1,0 (0,9;1,2)	0,95 (0,7;1,1)	0,23
	жен. 0,87 (0,73;0,89)		
Площадь ВЖТ, см ²	162,2 (130,3;196,4)	119,0 (102,1;129,2)	0,00
Площадь ПЖТ, см ²	382,20 (236,4;435,0)	411,00 (334;470)	0,00
ВЖТ/ПЖТ	0,44 (0,38;0,62)	0,30 (0,18;0,55)	0,00

Р – достигнутый уровень значимости

Статистический анализ

Размер выборки предварительно не рассчитывался. Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 6.1. Для оценки вида распределения использовали тест Колмогорова–Смирнова. Для сравнения независимых групп с распределением признаков, отличных от нормального, использовали U-критерий Манна–Уитни. Для исследования зависимостей между переменными использовался коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Результаты представлены в виде медианы (Me) и значений 25-го и 75-го квартилей (Me Q1;Q3). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Результаты определения концентрации адипокинов и цитокинов в культуре адипоцитов ЭЖТ и ПЖТ у больных с ВО и ИБС представлены в табл. 2. Установлено, что содержание лептина в культуре адипоцитов ЭЖТ было существенно выше и на 1-е сутки инкубации составило 140%, а на 2-е сутки – 180% по сравнению с адипоцитами ПЖТ. Концентрация SOB-R в эпикардиальных адипоцитах

возрастала еще больше, в 2,3 раза, по сравнению с ПЖТ. При этом FLI в адипоцитах ПЖТ на 1-е и 2-е сутки был выше соответственно в 1,7 раза и 1,3 раза по сравнению с эпикардиальными адипоцитами. Более высокий коэффициент свободного лептина, т.е. увеличение его концентрации при низком SOB-R, является подтверждением наличия лептинорезистентности в адипоцитах ПЖТ по сравнению с эпикардиальными адипоцитами.

В отличие от увеличения лептина содержание протективного адипонектина в адипоцитах ЭЖТ снижалось на 20–25% по сравнению с адипоцитами ПЖТ. Для оценки дисбаланса лептин-адипонектинового метаболизма рассчитывали коэффициент отношения их концентраций. В эпикардиальных адипоцитах коэффициент отношения концентрации лептина к адипонектину составил 185% и 229% соответственно на 1-е и 2-е сутки инкубации по сравнению с коэффициентом в адипоцитах ПЖТ.

Кроме того, в адипоцитах ЭЖТ выявлен дисбаланс про- и противовоспалительных цитокинов (табл. 2). Содержание провоспалительных цитокинов, ФНО- α и ИЛ-1 было статистически значимо выше, в то время как концентрация противовоспалительного, протективного ИЛ-10 была ниже в ЭЖТ и составила всего 39% и 49% соответственно на 1-е и 2-е сутки инкубации по сравнению с адипоцитами ПЖТ. Показатель дисбаланса про- и противовоспалительных цитокинов (отношение ИЛ-1 β /ИЛ-10) в культуре адипоцитов ЭЖТ был более чем в 2,5 раза выше по сравнению с показателем в ПЖТ.

Таким образом, по адипокиново-цитоклиновому профилю адипоциты ЭЖТ и ПЖТ отличаются между собой. Адипоциты ЭЖТ при ИБС на фоне ВО характеризуются увеличением ИЛ-1, ФНО- α , лептин-адипонектинового отношения и снижением содержания протективных факторов: адипонектина и противовоспалительного цитокина ИЛ-10. В адипоцитах ПЖТ выявлена лептинорезистентность, а увеличение провоспалительных цитокинов компенсировано возрастанием концентрации ИЛ-10.

Таблица 2

Содержание адипокинов и цитокинов в культуре адипоцитов эпикардиальной и подкожной жировой ткани больных ИБС на фоне висцерального ожирения, Me (25;75)

Параметры	Адипоциты эпикардиальной жировой ткани		Адипоциты подкожной жировой ткани		P
	1-е сутки	2-е сутки	1-е сутки	2-е сутки	
	1	2	3	4	
Лептин, нг/мл	0,56 (0,52;0,59)	0,44 (0,39;0,50)	0,40 (0,28;0,40)	0,24 (0,19;0,25)	$P_{1,3}=0,0001$ $P_{2,4}=0,001$
Растворимый рецептор лептина (SOB-R), нг/мл	4,62 (2,12;6,04)	4,61 (2,40;5,91)	1,99 (1,43;4,8)	1,97 (1,62;3,90)	$P_{1,2}=0,3$ $P_{1,3}=0,003$ $P_{2,4}=0,0002$
Индекс свободного лептина (FLI)	0,12 (0,9;0,24)	0,9 (0,8;0,16)	0,20 (0,12;0,24)	0,12 (0,6;0,13)	$P_{1,2}=0,01$ $P_{3,4}=0,01$ $P_{1,3}=0,01$ $P_{2,4}=0,01$
Адипонектин, мг/мл	0,15 (0,11;0,17)	0,20 (0,13;0,20)	0,20 (0,13;0,23)	0,25 (0,21;0,38)	$P_{1,3}=0,009$ $P_{2,4}=0,0003$
Отношение концентрации лептин/адипонектин	3,7 (3,4;4,7)	2,2 (2,1;3,0)	2,0 (1,7;2,3)	0,96 (0,73;1,0)	$P_{1,3}=0,01$ $P_{1,3}=0,01$ $P_{2,4}=0,001$
ФНО- α , пкг/мл	780,8 (560,1;833,15)	761,5 (715,9;795,6)	673,3 (503,85;736,9)	700,5 (650,3;747,5)	$P_{1,3}=0,001$ $P_{2,4}=0,002$
ИЛ-1 β , пкг/мл	11,83 (11,29;12,89)	11,90 (11,32;12,06)	10,95 (10,84;12,33)	11,22 (10,32;11,24)	$P_{1,3}=0,003$ $P_{2,4}=0,0003$
ИЛ-10, пкг/мл	5,86 (5,36;12,55)	6,70 (5,54;17,89)	14,75 (6,12;18,20)	13,69 (7,61;25,01)	$P_{1,3}=0,019$ $P_{2,4}=0,002$
ИЛ-1 β /ИЛ-10	2,02 (1,0;2,1)	1,8 (0,74;2,09)	0,74 (0,67;1,76)	0,82 (0,44;1,76)	$P_{1,3}=0,01$ $P_{2,4}=0,01$

Р – достигнутый уровень значимости

Таблица 3

Содержание адипокинов и цитокинов в сыворотке крови больных ИБС в зависимости от наличия висцерального ожирения, Ме (25;75)				
Параметры	Контрольная группа, n=30	Пациенты с висцеральным ожирением, n=54	Пациенты без висцерального ожирения, n=30	p
	1	2	3	
Лептин, нг/мл	6,9 (4,51;9,75)	14,6 (11,2;18,9)	8,7 (6,4;9,9)	p ₁₋₂ =0,01 p ₂₋₃ =0,02
Растворимый рецептор лептина (SOB-R), нг/мл	37,5 (28,7;42,0)	18,1 (16,8;24,7)	26,8 (20,4;34,7)	p ₁₋₂ =0,02 p ₁₋₃ =0,04 p ₂₋₃ =0,02
Индекс свободного лептина (FLI)	0,18 (0,15;0,23)	0,81 (0,67;0,96)	0,32 (0,29;0,36)	p ₁₋₂ =0,01 p ₁₋₃ =0,02 p ₂₋₃ =0,01
Адипонектин, мг/мл	12,36 7,30;13,53)	8,1 (6,3;10,8)	11,2 (8,7;14,2)	p ₁₋₂ =0,03 p ₂₋₃ =0,01
ФНО-α, пкг/мл	1,2 (0,9;1,4)	1,5 (1,0;2,3)	1,0 (0,8;2,1)	p ₁₋₂ =0,04 p ₁₋₃ =0,04 p ₂₋₃ =0,03
ИЛ-1β, пкг/мл	2,2 (2,1;4,3)	4,9 (2,7;6,6)	2,4 (1,1;5,4)	p ₁₋₂ =0,01 p ₁₋₃ =0,04 p ₂₋₃ =0,01
ИЛ-10, пкг/мл	8,9 (7,4;10,2)	3,7 (1,1;4,8)	8,3 (6,8;9,7)	p ₁₋₂ =0,01 p ₂₋₃ =0,01
ИЛ-1β/ИЛ-10	0,24 (0,12;0,48)	1,32 (1,1;2,4)	0,28 (0,16;0,56)	p ₁₋₂ =0,01 p ₂₋₃ =0,01

P – достигнутый уровень значимости

При выполнении исследования предполагалось, что адипокины и цитокины, синтезируемые адипоцитами ЭЖТ на фоне ВО в кровь, являются факторами риска развития сердечно-сосудистой патологии. В результате оценки параметров адипокинового баланса в сыворотке крови больных ИБС (табл. 3) выявлено, что при ВО уровень лептина был в 1,67 раза выше, а концентрация SOB-R – на 32% ниже по сравнению с группой без ВО. Факт наличия лептинорезистентности подтверждался FLI, который при ВО был выше в 2,7 раза по сравнению с пациентами без ВО. Концентрация адипонектина в сыворотке крови больных с ВО, напротив, была на 27,6% ниже, чем у пациентов без ВО.

При оценке воспалительного статуса установлено, что концентрация ФНО-α и ИЛ-1β в сыворотке крови у лиц с ВО превышала значения лиц без ВО в 1,5 и 2,0 раза соответственно. А уровень провоспалительного ИЛ-10 был в 2 раза ниже у пациентов с ВО по сравнению с больными, у которых отсутствовало ВО. При проведении корреляционного анализа была выявлена положительная

взаимосвязь между содержанием лептина, ФНО, ИЛ-10 в адипоцитах и сыворотке крови, с коэффициентами корреляции, соответственно равными 0,43 (p=0,04); 0,53 (p=0,02) и 0,50 (p=0,04). В целом динамика концентрации лептина, адипонектина, ФНО-α, ИЛ-1 и ИЛ-10 в сыворотке крови и адипоцитах ЭЖТ имеет одинаковую направленность и выражается увеличением патогенных факторов на фоне дефицита протективных адипоцитоклинов.

Выраженный адипокиново-цитокиновый дисбаланс адипоцитов и сыворотки крови с диспропорцией в сторону усиления секреции маркеров воспаления и развития лептинорезистентности в группе пациентов с ВО был тесно ассоциирован со степенью атеросклеротического поражения сосудов и развитием кардиоваскулярных осложнений.

По результатам ангиографического исследования и цветного дуплексного сканирования среди пациентов с ВО достоверно чаще регистрировалось атеросклеротическое поражение нескольких бассейнов со стенозами

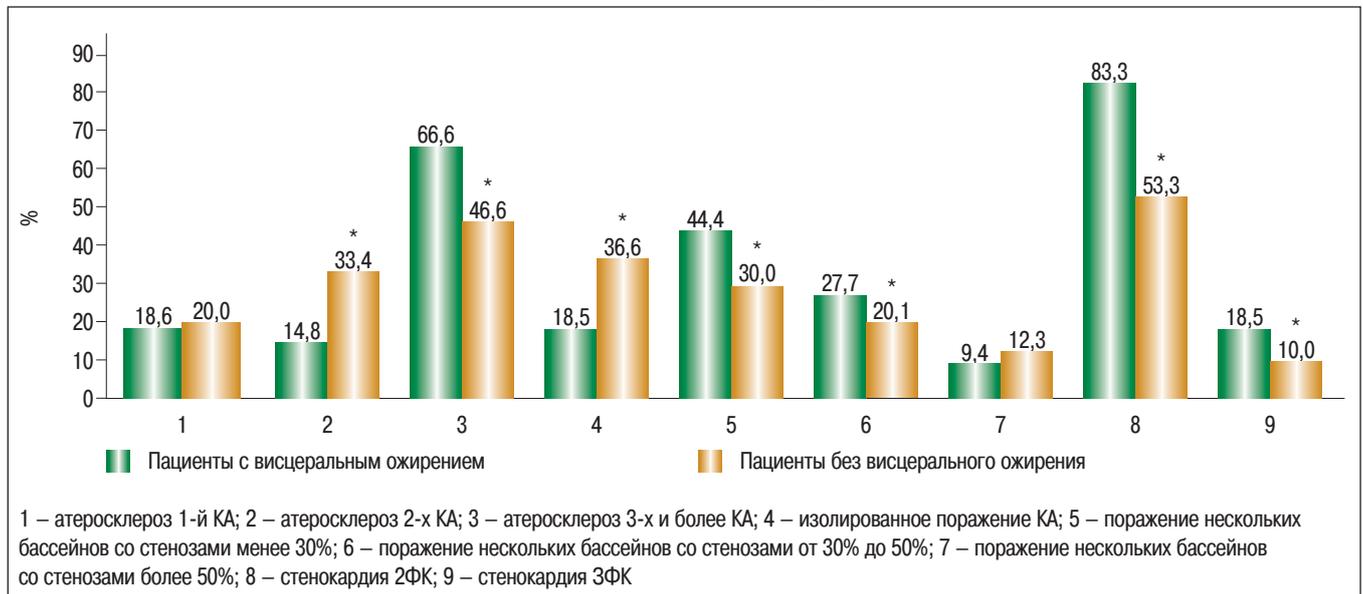


Рис. 1. Количество больных с атеросклеротическими поражениями коронарных артерий при ИБС

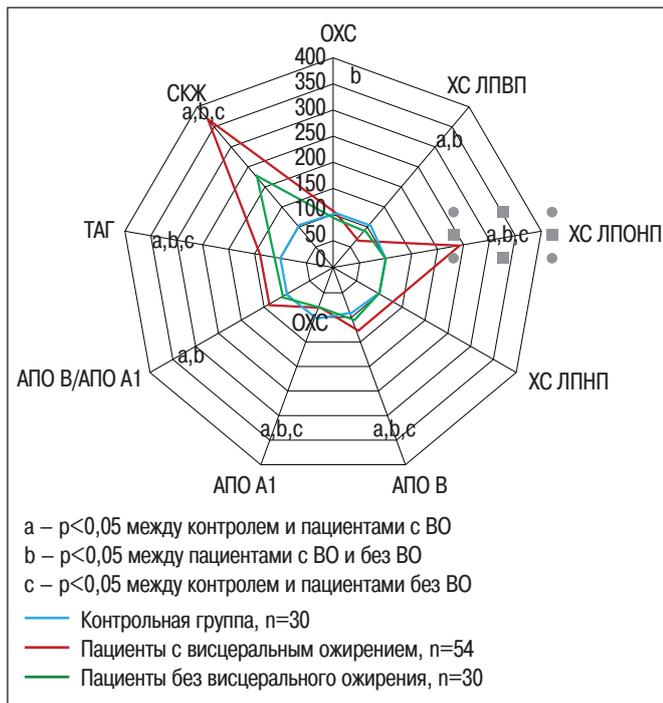


Рис. 2. Показатели липидного обмена больных ИБС в зависимости от наличия висцерального ожирения

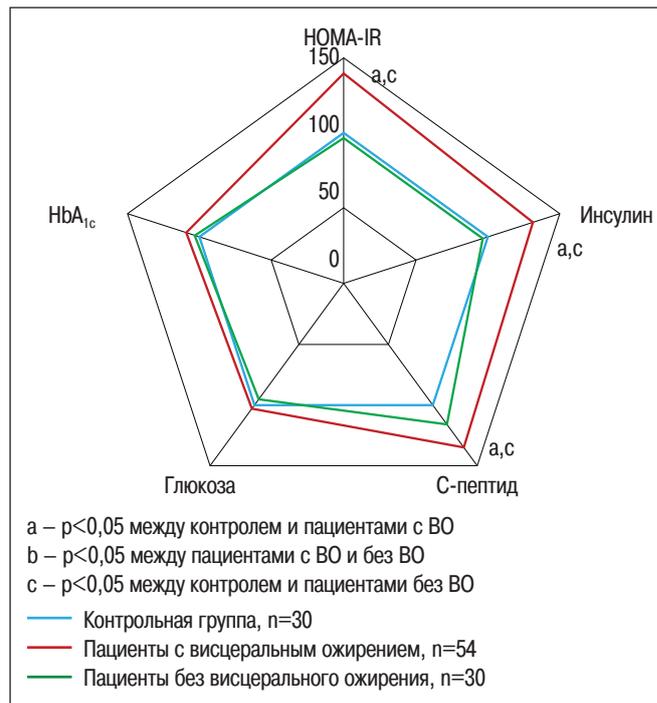


Рис. 3. Показатели углеводного обмена больных ИБС в зависимости от наличия висцерального ожирения

от 30% до 50% (рис. 1). Кроме того, при ВО преобладало поражение трех и более коронарных сосудов. В этой же группе чаще регистрировались стенокардия 2, 3 функционального класса (ФК) (100% больных против 63%). Отягощенная наследственность по ИБС выявлена у 85% больных с ВО и у 54% пациентов без ВО ($p=0,04$), по сахарному диабету – у 26% и 10% больных ($p=0,04$) соответственно.

Следует отметить, что дисбаланс патологических и защитных факторов адипокиново-цитокинового профиля у больных с ВО сопровождался более выраженным нарушением липидного и углеводного обмена по сравнению с пациентами, не имеющими ВО. Обнаружено, что в сыворотке крови больных ИБС на фоне ВО статистически значимо возрастала концентрация атерогенных показателей липидного обмена (ХС-ЛПНП, ХС-ЛПОНП, Апо-В, ТАГ, Апо-В/Апо-А1 – в 1,32 раза, ИА, СЖК) и снижалось содержание антиатерогенных фракций ХС-ЛПВП и Апо-А1 относительно пациентов без ВО (рис. 2).

При ВО у больных ИБС были более выражены изменения углеводного обмена (рис. 3), в частности увеличение индекса НОМА в 1,5 раза и наличие ИР по сравнению с пациентами, не имеющими ВО. Кроме того, для пациентов с ВО характерна гиперинсулинемия, возрастание концентрации С-пептида по сравнению с больными, у которых не было ВО. Концентрация глюкозы и гликированного гемоглобина существенно не отличалась ($p > 0,05$).

В целом у больных с ВО наблюдались более выраженные изменения адипокиново-цитокинового профиля в сыворотке крови и жировой ткани. При этом изменения метаболизма не зависели от степени развития подкожной жировой клетчатки. Среди пациентов с ВО присутствовали лица с нормальным ИМТ, и в то же время у пациентов с высоким ИМТ и ожирением II и III степени не было выявлено ВО. В отличие от ПЖТ, площадь ВЖТ определяла более высокие значения концентрации лептина, ФНО- α в адипоцитах и сыворотке крови, показате-

телей липидного и углеводного обмена (положительные коэффициенты корреляции) и более низкое содержание SOB-R (отрицательные коэффициенты корреляции, табл. 4). С площадью ПЖТ были связаны только два показателя сыворотки крови: адипонектин ($r=0,47$, $p=0,03$) и рецептор к лептину ($r=-0,36$, $p=0,03$).

Таким образом, при ИБС на фоне ВО адипоциты ЭЖТ характеризуются усилением секреции лептина, его рецептора, провоспалительных цитокинов и снижением секреции адипонектина и ИЛ-10 по сравнению с адипоцитами ПЖТ. Дисбаланс адипокиново-цитокинового статуса больных ИБС с ВО сопровождается выраженным атеросклеротическим поражением коронарных артерий, стенокардией 2 и 3 ФК, возрастанием атерогенных фракций липидов, лептино- и инсулинорезистентностью.

Обсуждение

Ожирение является одним из основных факторов риска сердечно-сосудистой патологии, при этом висцеральной форме ожирения принадлежит наибольший кардиоваскулярный риск. Известно, что у лиц с нормальной массой тела при наличии ВО кардиоваскулярный риск повышается в 2,75 раза, а риск смерти от всех причин увеличивается в 2,08 раза по сравнению с лицами, у которых отсутствует ВО [14].

Висцеральная жировая ткань (ВЖТ) является активным эндокринным органом, в котором синтезируется целый ряд адипокинов, регуляторов липидного и углеводного обмена и цитокинов, вовлекающихся в процесс атерогенеза. Кроме того, ВЖТ обладает необычными метаболическими особенностями. Известно, что в висцеральных адипоцитах повышена экспрессия и функциональная активность $\beta 3$ -адренорецепторов и снижено число рецепторов к инсулину, что приводит к более интенсивному метаболизму липидов по сравнению с другими жировыми депо. Накопление недоокисленных метаболитов СЖК и церамидов может стимулировать развитие

Таблица 4

Коэффициенты корреляции (r) показателей адипоцитов и сыворотки крови с площадью висцеральной жировой ткани					
Показатель	r	p	Показатель	r	p
Лептин адипоцитов	0,48	0,02	ОХС	0,32	0,04
ФНО- α адипоцитов	0,39	0,02	ХС ЛПОНП	0,44	0,03
ФНО- α в сыворотке	0,52	0,01	ТГ	0,37	0,04
Лептин в сыворотке	0,38	0,02	СЖК	0,32	0,03
SOB-R адипоцитов	-0,44	0,04	Инсулин	0,39	0,04
SOB-R в сыворотке	-0,52	0,04	Индекс НОМА	0,57	0,03

липотоксических расстройств, конечным результатом которых являются: ИР, дислипидемия, кардиомиопатия и повышение АД [15].

Среди ВЖТ особое значение может иметь жировая ткань эпикардиальной локализации. ЭЖТ является уникальным и многогранным жировым депо с местными и системными эффектами, толщина и метаболическая активность которой напрямую зависят от объема ВЖТ [16]. Также толщина эпикардиального жира напрямую коррелирует с тяжестью поражения коронарных артерий при ИБС и толщиной миокарда левого желудочка [17].

С учетом того, что ВО является неблагоприятным фактором развития патологии сердца, основное внимание в настоящем исследовании было уделено адипокино-цитокиновому профилю адипоцитов и сыворотки крови больных ИБС на фоне ВО. Были исследованы адипоциты эпикардиальной и ПЖТ. Показано, что адипоциты ЭЖТ характеризуются более высокой концентрацией лептина на фоне снижения содержания адипонектина по сравнению с адипоцитами ПЖТ (см. табл. 2). Увеличение концентрации лептина в адипоцитах ПЖТ и ЭЖТ находилось в прямой зависимости от его концентрации в сыворотке крови. Однако, в отличие от адипоцитов, в сыворотке крови повышение содержания лептина протекало на фоне снижения его SOB-R. Увеличение секреции лептина на фоне снижения концентрации его рецептора может являться проявлением лептинорезистентности [18]. При этом наиболее выраженные изменения в сыворотке проявлялись при наличии ВО.

Анализируя результаты изучения цитокинового профиля адипоцитов, можно заключить, что при ИБС существенное значение имеет активация воспаления в адипоцитах ЭЖТ больных с ВО, где увеличение ФНО- α , ИЛ-1 и ИЛ-6 сопровождается снижением противовоспалительного цитокина ИЛ-10. С учетом способности провоспалительных цитокинов модулировать синтез и секрецию адипокинов активация воспаления может быть фактором увеличения содержания лептина и угнетения протективного адипонектина в адипоцитах ЭЖТ. Однако патологическое влияние лептина в адипоцитах ЭЖТ может быть скомпенсировано увеличением растворимого рецептора лептина, который может связывать избыток лептина. В адипоцитах ПЖТ активация воспаления контролируется высоким содержанием ИЛ-10, а увеличение лептина сочетается с высоким содержанием адипонектина. Разная реакция адипокинов в ЭЖТ и ПЖТ проявляется в противоположной реакции растворимого рецептора лептина, концентрация которого увеличивается в ЭЖТ и снижается в ПЖТ. Снижение концентрации растворимого рецептора лептина и адипонектина связано с увеличением

площади ВЖТ и может рассматриваться как фактор формирования лептинорезистентности.

Локальный и системный дисбаланс адипокинового и цитокинового профиля при ВО сочетается с наличием атеросклероза, многососудистого поражения коронарных артерий нескольких бассейнов со стенозами от 30% до 50%, стенокардией 2 и 3 ФК возрастанием атерогенных фракций липидов сыворотки крови, инсулинорезистентностью. По-видимому, вырабатываемые адипокины и цитокины попадают непосредственно в коронарный кровоток благодаря анатомической близости ЭЖТ к коронарным сосудам, что может иметь неблагоприятные последствия. Известно, что интраартериальное введение ФНО- α сопровождается развитием эндотелий-зависимой вазодилатации и инициации воспаления в сосудистой стенке [19]. Проатерогенный эффект ФНО- α также включает промоцию миграции лейкоцитов к эндотелию, увеличение синтеза молекул адгезии и хемоаттрактантов, усиление капиллярной проходимости [20].

Заключение

Таким образом, при ИБС на фоне ВО состояние адипоцитов ЭЖТ характеризуется как «метаболическое воспаление» и может свидетельствовать о непосредственном вовлечении адипоцитов в патогенез ИБС за счет формирования адипокинового дисбаланса и активации провоспалительных реакций. Определение коэффициентов ИЛ-1/ИЛ-10, лептин/адипонектин и содержания растворимого рецептора лептина можно использовать при оценке адипокино-цитокинового дисбаланса при ИБС, протекающей на фоне ВО.

Дополнительная информация

Источник финансирования

Работа выполнена в рамках темы НИР «Мультифокальный атеросклероз и коморбидные состояния. Особенности диагностики, управления рисками в условиях крупного промышленного региона Сибири» № государственной регистрации АААА-А16-116011910161-2 от 19.01.2016.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Информация о вкладе каждого автора

Груздева О.В. — концепция и дизайн исследования, анализ полученных данных, написание текста; Бородкина Д.А. — анализ полученных данных, написание текста; Акбашева О.Е. — анализ полученных данных, написание текста; Дылева Ю.А. — сбор и обработка материалов; Антонова Л.В. — сбор и обработка материалов; Матвеева В.Г. — сбор и обработка материалов; Иванов С.В. — сбор и обработка материалов; Учасова Е.Г. — Сбор и обработка материалов; Белик Е.В. — сбор и обработка материалов; Фанаскова Е.В. — сбор и обработка материалов; Каретникова В.Н. — концепция и дизайн исследования; Коков А.Н. — сбор и обработка материалов; Барбараш О.Л. — концепция и дизайн исследования.

- Lozano R, Naghavi M, Foreman K, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet*. 2012;380(9859):2095-2128. doi: 10.1016/s0140-6736(12)61728-0.
- Roth GA, Forouzanfar MH, Moran AE, et al. Demographic and Epidemiologic Drivers of Global Cardiovascular Mortality. *N Engl J Med*. 2015;372(14):1333-1341. doi: 10.1056/NEJMoa1406656.
- Lainscak M, Blue L, Clark AL, et al. Self-care management of heart failure: practical recommendations from the Patient Care Committee of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. *Eur J Heart Fail*. 2011;13(2):115-126. doi: 10.1093/eurjhf/hfq219.
- Veilleux A, Cote JA, Blouin K, et al. Glucocorticoid-induced androgen inactivation by aldo-keto reductase 1C2 promotes adipogenesis in human preadipocytes. *AJP: Endocrinology and Metabolism*. 2012;302(8):E941-E949. doi: 10.1152/ajpendo.00069.2011.
- Hall JE, da Silva AA, do Carmo JM, et al. Obesity-induced Hypertension: Role of Sympathetic Nervous System, Leptin, and Melanocortins. *J Biol Chem*. 2010;285(23):17271-17276. doi: 10.1074/jbc.R110.113175.
- Bergman RN, Kim SP, Catalano KJ, et al. Why Visceral Fat is Bad: Mechanisms of the Metabolic Syndrome. *Obesity*. 2006;14(2S):16S-19S. doi: 10.1038/oby.2006.277.
- Iacobellis G, Corradi D, Sharma AM. Epicardial adipose tissue: anatomic, biomolecular and clinical relationships with the heart. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2005;2(10):536-543. doi: 10.1038/ncpcardio0319.
- Britton KA, Fox CS. Ectopic Fat Depots and Cardiovascular Disease. *Circulation*. 2011;124(24):e837-e841. doi: 10.1161/circulationaha.111.077602.
- Sjostrom L. Computer-tomography based multicompartiment body composition technique and anthropometric predictions of lean body mass, total and subcutaneous adipose tissue. *Int J Obes*. 1991;15: 19-30.
- Carswell KA, Lee M-J, Fried SK. Culture of Isolated Human Adipocytes and Isolated Adipose Tissue. *Methods Mol Biol*. 2012;806:203-214. doi: 10.1007/978-1-61779-367-7_14.
- Suga H, Matsumoto D, Inoue K, et al. Numerical Measurement of Viable and Nonviable Adipocytes and Other Cellular Components in Aspirated Fat Tissue. *Plast Reconstr Surg*. 2008;122(1):103-114. doi: 10.1097/PRS.0b013e31817742ed.
- Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):412-419. doi: 10.1007/bf00280883.
- Misra M, Miller KK, Almazan C, et al. Hormonal and Body Composition Predictors of Soluble Leptin Receptor, Leptin, and Free Leptin Index in Adolescent Girls with Anorexia Nervosa and Controls and Relation to Insulin Sensitivity. *J Clin Endocr Metab*. 2004;89(7):3486-3495. doi: 10.1210/jc.2003-032251.
- Отт А.В., Чумакова Г.А., Веселовская Н.Г. Значение лептинорезистентности в развитии различных метаболических фенотипов ожирения // Российский кардиологический журнал. – 2016. – №4. – С. 4-18. [Ott AV, Chumakova GA, Veselovskaya NG. A Resistance to Leptin in Development of Different Obesity Phenotypes. *Russian Journal of Cardiology*. 2016;(4):14-18. (In Russ).] doi: 10.15829/1560-4071-2016-4-14-18.
- Mahabadi AA, Massaro JM, Rosito GA, et al. Association of pericardial fat, intrathoracic fat, and visceral abdominal fat with cardiovascular disease burden: the Framingham Heart Study. *Eur Heart J*. 2008;30(7):850-856. doi: 10.1093/eurheartj/ehn573.
- Jeong J-W, Jeong MH, Yun KH, et al. Echocardiographic Epicardial Fat Thickness and Coronary Artery Disease. *Circ J*. 2007;71(4):536-539. doi: 10.1253/circj.71.536.
- Donoso MA, Muñoz-Calvo MT, Barrios V, et al. Increased Leptin/Adiponectin Ratio and Free Leptin Index Are Markers of Insulin Resistance in Obese Girls during Pubertal Development. *Horm Res Paediatr*. 2013;80(5):363-370. doi: 10.1159/000356046.
- Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*. 2002;105(9):1135.
- Chia S. Intra-Arterial Tumor Necrosis Factor- α Impairs Endothelium-Dependent Vasodilatation and Stimulates Local Tissue Plasminogen Activator Release in Humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23(4):695-701. doi: 10.1161/01.atv.0000065195.22904.fa.
- Lima MMO, Pareja JC, Alegre SM, et al. Visceral fat resection in humans: Effect on insulin sensitivity, beta-cell function, adipokines, and inflammatory markers. *Obesity*. 2013;21(3):E182-E189. doi: 10.1002/oby.20030.

Информация об авторах [Authors Info]

Груздева Ольга Викторовна, д.м.н., доцент [Ol'ga V. Gruzdeva, Sc.D.]; адрес: 650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар, 6 [address: 6, Sosnovyy boulevard, 650002 Kemerovo, Russia]; eLibrary SPIN: 4322-0963; e-mail: gruzdeva@mail.ru.

Бородкина Дарья Андреевна, врач-эндокринолог [Dar'ya A. Borodkina, MD]; eLibrary SPIN: 8666-3500; e-mail: alphaia@mail.ru.
 Акбашева Ольга Евгеньевна, д.м.н., профессор [Ol'ga E. Akbasheva, Sc.D., Professor]; eLibrary SPIN: 8042-6940; e-mail: akbashoe@yandex.ru. Дылева Юлия Александровна, к.м.н., [Yuliya A. Dyleva, PhD, bench scientist]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6890-3287>; eLibrary SPIN: 2064-6262; e-mail: dileua@kemcardio.ru. Антонова Лариса Валерьевна, к.м.н. [Larisa V. Antonova, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8874-0788>; eLibrary SPIN: 8634-3286; e-mail: antolv@kemcardio.ru. Матвеева Вера Геннадьевна, к.м.н. [Vera G. Matveeva, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4146-3373>; eLibrary SPIN: 9914-3705; e-mail: matvvg@kemcardio.ru. Иванов Сергей Васильевич, д.м.н. [Sergei V. Ivanov, Sc.D.]; eLibrary SPIN: 6942-5703; e-mail: ivansv@kemcardio.ru. Учасова Евгения Геннадьевна, к.м.н. [Evgeniya G. Uchasova, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4321-8977>; eLibrary SPIN: 1539-5332; e-mail: uchaeg@kemcardio.ru. Белик Екатерина Владимировна [Ekaterina V. Belik]; e-mail: buchaeg@kemcardio.ru. Фанаскова Елена Викторовна [Elena V. Fanaskova]; eLibrary SPIN: 8829-7720; e-mail: anaev@kemcardio.ru. Коков Александр Николаевич, к.м.н. [Aleksandr N. Kokov, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7573-0636>; eLibrary SPIN: 8455-4271; e-mail: kokoan@kemcardio.ru. Каретникова Виктория Николаевна, д.м.н., профессор [Viktoriya N. Karetnikova, ScD, Professor]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9801-9839>; eLibrary SPIN: 7952-6247; e-mail: karevn@kemcardio.ru. Барбараш Ольга Леонидовна, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН [Ol'ga L. Barbarash, ScD, Professor]; eLibrary SPIN: 5373-7620; e-mail: olb61@mail.ru.

Цитировать:

Груздева О.В., Бородкина Д.А., Акбашева О.Е., Дылева Ю.А., Антонова Л.В., Матвеева В.Г., Иванов С.В., Учасова Е.Г., Белик Е.В., Фанаскова Е.В., Каретникова В.Н., Коков А.Н., Барбараш О.Л. Адипокино-цитокиновый профиль адипоцитов эпикардиальной жировой ткани при ишемической болезни сердца на фоне висцерального ожирения. // Ожирение и метаболизм. — 2017. — Т.14. — №. 4 — С.38-45. doi: 10.14341/ОМЕТ2017438-45

To cite this article:

Gruzdeva OV, Borodkina DA, Akbasheva OE, Dyleva YuA, Antonova LV, Matveeva VG, Ivanov SV, Uchasova EG, Belik EV, Fanaskova EV, Karetnikova VN, Kokov AN, Barbarash OL. Adipokine-cytokine profile of adipocytes epicardial adipose tissue with coronary heart disease on the background of visceral obesity. *Obesity and metabolism*. 2017;14(4):38-45. doi: 10.14341/ОМЕТ2017438-45