

Влияние висцерального ожирения на секрецию адипокинов эпикардиальными адипоцитами у пациентов с ишемической болезнью сердца

О.В. ГРУЗДЕВА^{1,2}, Д.А. БОРОДКИНА⁴, О.Е. АКБАШЕВА³, Ю.А. ДЫЛЕВА¹, Л.В. АНТОНОВА¹, В.Г. МАТВЕЕВА¹, Е.Г. УЧАСОВА¹, С.В. ИВАНОВ¹, Е.В. БЕЛИК¹, Е.В. ФАНАСКОВА¹, В.Н. КАРЕТНИКОВА^{1,2}, А.Н. КОКОВ¹, О.Л. БАРБАРАШ^{1,2}

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

²ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России, Кемерово, Россия;

³ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск, Россия;

⁴ГАУЗ КО «Кемеровская областная клиническая больница им. С.В. Беляева», областной диабетологический центр, Кемерово, Россия

Резюме

Цель исследования. Изучить адипокиново-цитокиновый профиль адипоцитов эпикардиальной (ЭЖТ) и подкожной жировой ткани (ПЖТ), сыворотки крови, во взаимосвязи с площадью висцеральной жировой ткани (ВЖТ), биохимическими и клиническими характеристиками больных ишемической болезнью сердца (ИБС).

Материалы и методы. Обследовано 84 пациентов (70 мужчин и 14 женщин) с ИБС. По факту наличия висцерального ожирения (ВО) пациенты разделены 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 обменов, адипокинового и провоспалительного статусов в сыворотке крови.

Результаты и обсуждение. Установлено, что адипокиново-цитокиновые профили адипоцитов ЭЖТ и ПЖТ различаются между собой. Адипоциты ЭЖТ при ИБС на фоне ВО характеризуются увеличением содержания интерлейкина-1 (ИЛ-1), фактора некроза опухоли- α (ФНО- α), лептин-адипонектинового отношения и снижением содержания протективных факторов: адипонектина и противовоспалительного цитокина ИЛ-10. В то же время адипоциты ПЖТ характеризовались снижением концентрации растворимого рецептора к лептину и более выраженной лептинорезистентностью, а увеличение уровней 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.

Influence of visceral obesity on the secretion of adipokines with epicardial adipocytes in patients with coronary heart disease

O.V. GRUZDEVA^{1,2}, A.D. BORODKINA⁴, O.E. AKBASHEVA³, Yu.A. DILEVA¹, L.V. ANTONOVA¹, V.G. MATVEEVA¹, E.G. UCHASOVA¹, S.V. IVANOV¹, E.V. BELIK¹, E.V. FANASKOVA¹, V.N. KARETNIKOVA^{1,2}, A.N. KOKOV¹, O.L. BARBARASH^{1,2}

¹Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Disease, Kemerovo, Russia;

²Siberian State Medical University, Ministry of Health of Russia, Tomsk, Russia;

³Kemerovo State Medical Academy, Ministry of Health of Russia, Kemerovo, Russia;

⁴S.V. Belyaev Kemerovo Regional Clinical Hospital, Regional Diabetological Center, Kemerovo, Russia

Aim. To study adipokine-cytokine profile of epicardial adipocytes (EAT) and subcutaneous adipose tissue (SAT) in conjunction with the area of visceral adipose tissue (VAT), biochemical and clinical characteristics of patients with coronary heart disease.

Materials and methods. Examined 84 patients (70 men and 14 women) with coronary artery disease. In fact the presence of visceral obesity (VO) the patients were divided into two groups. Patients VO the sampling of adipocytes of EAT and SAT, with subsequent cultivation and evaluation of adipokine and provospalitelna activity. Carried out the determination of carbohydrate and lipid metabolism, adipokine and pro-inflammatory status in the blood serum.

Results and discussion. It was found that adipokine-cytokine profile of adipocytes of EAT and SAT differ. Adipocytes art of the disease on the background characterized by an increase IL-1, TNF- α , leptin-adiponectin relationships and a decrease in the content of protective factors: adiponectin and anti-inflammatory cytokine IL-10. While the SAT adipocytes was characterized by a decrease in the concentration of soluble receptor for leptin and the more pronounced leptinresistance, and the increase in proinflammatory cytokines was offset by the increase in the concentration of IL-10. The presence associated with multi-vessel coronary bed lesion, multifocal atherosclerosis, insulin resistance, atherogenic dyslipidemia, an imbalance of adipokines and markers of inflammation. So the value of the square VAT determined higher concentrations of leptin, TNF- α in adipocytes and serum, lipid and carbohydrate metabolism and a lower content of soluble receptor for leptin.

Conclusion. Thus, the disease on the background of the status of the adipocytes of EAT characterized as a "metabolic inflammation", and may indicate the direct involvement of adipocytes in the pathogenesis of coronary artery disease, due to the formation of adipokine imbalance and the activation of proinflammatory reactions.

Keywords: visceral obesity, epicardial adipose tissue, insulinresistance, inflammation, dyslipidemia, cardiovascular disease, adipokines.

ВЖТ – висцеральная жировая ткань
ВО – висцеральное ожирение
ИБС – ишемическая болезнь сердца
ИЛ – интерлейкин
ИР – инсулинорезистентность
КА – коронарная артерия
ЛПВП – липопротеиды высокой плотности
ЛПНП – липопротеиды низкой плотности
ЛПОНП – липопротеиды очень низкой плотности
ОХС – общий холестерин

ПЖТ – подкожная жировая ткань
СЖК – свободные жирные кислоты
ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания
ТГ – триглицериды
ФК – функциональный класс
ФНО- α – фактор некроза опухоли- α
ХС – холестерин
ЭЖТ – эпикардиальная жировая ткань
FLI – индекс свободного лептина
HbA1c – гликированный гемоглобин

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 [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 большин-

ства ССЗ [6]. В ряде клинических исследований обнаружено, что избыток эпикардиального жира сопровождается снижением синтеза адипонектина, гипертрофией миокарда, фиброзом и апоптозом кардиомиоцитов, развитием желудочковых аритмий [7]. В то же время эпикардиальные 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 адренемедуллин, обладающие кардиопротективными свойствами [8]. Выяснение метаболических особенностей адипоцитов эпикардиальной жировой ткани (ЭЖТ), локализованной в непосредственной близости к очагу повреждения при ишемической болезни сердца (ИБС), может иметь как теоретическое, так и практическое значение для патофизиологии и кардиологии. Целью нашего исследования являлось изучение адипокиново-цитокинового профиля адипоцитов ЭЖТ, подкожной жировой ткани (ПЖТ), сыворотки крови, поиск взаимосвязи с площадью ВЖТ, биохимическими и клиническими характеристиками больных ИБС.

Сведения об авторах:

Бородкина Дарья Андреевна – врач-эндокринолог областного центра диабетологии Кемеровской ОКБ им. С.В. Беляева

Акбашева Ольга Евгеньевна – д.м.н., проф. каф. биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, зам. декана медико-биологического факультета Сибирского ГМУ

Дылева Юлия Александровна – к.м.н., н.с. лаб. исследований гомеостаза отд. диагностики сердечно-сосудистых заболеваний НИИ КПССЗ; ORCID: 0000-0002-6890-3287

Антонова Лариса Валерьевна – к.м.н., зав. лаб. клеточных технологий отд. экспериментальной и клинической кардиологии НИИ КПССЗ; ORCID: 0000-0002-8874-0788

Матвеева Вера Геннадьевна – к.м.н., с.н.с. лаб. клеточных технологий отдела экспериментальной и клинической кардиологии НИИ КПССЗ; ORCID: 0000-0002-4146-3373

Учасова Евгения Геннадьевна – к.м.н., с.н.с. лаб. исследований гомеостаза отд. диагностики сердечно-сосудистых заболеваний НИИ КПССЗ; ORCID: 0000-0003-4321-8977

Иванов Сергей Васильевич – д.м.н., в.н.с. лаб. реконструктивной хирургии мультифокального атеросклероза отд. мультифокального атеросклероза НИИ КПССЗ

Белик Екатерина Владимировна – м.н.с. лаб. исследований гомеостаза отдела диагностики сердечно-сосудистых заболеваний НИИ КПССЗ

Фанаскова Елена Викторовна – зав. кабинетом трансфузионной терапии, м.н.с. лаб. исследований гомеостаза отд. диагностики сердечно-сосудистых заболеваний НИИ КПССЗ

Коков Александр Николаевич – к.м.н., зав. лаб. рентгеновской и томографической диагностики НИИ КПССЗ; ORCID: 0000-0002-7573-0636

Каретникова Виктория Николаевна – д.м.н., проф., зав. лаб. патофизиологии мультифокального атеросклероза отдела мультифокального атеросклероза НИИ КПССЗ, проф. каф. кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии Кемеровского ГМУ; ORCID: 0000-0002-9801-9839

Барбараш Ольга Леонидовна – член-корр. РАН, д.м.н., проф., директор НИИ КПССЗ, зав. каф. кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии Кемеровского ГМУ

Материалы и методы

Исследование выполнено на базе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (Кемерово) и МБУЗ «Кемеровский кардиологический диспансер».

В исследование включено 84 пациента с ИБС (70 мужчин и 14 женщин, в возрасте 61,9 [53,7; 68,5] года). Диагноз ИБС установлен согласно критериям Всероссийского научного общества кардиологов (ВНОК) 2007 г. В контрольную группу включены 30 мужчин без ССЗ, средний возраст которых составил 58,42 [52,2; 71,1] года. 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 ПЖТ с помощью мультиспиральной томографии на компьютерном томографе LightspeedVCT-64 (GeneralElectric, США). При ВО площадь ВЖТ должна быть $>130 \text{ см}^2$, а коэффициент отношения площади висцеральной и подкожной жировой ткани (ВЖТ/ПЖТ) $\geq 0,4$ [9]. Для оценки влияния ВО на адипокиново-цитокиновый профиль адипоцитов ЭЖТ и ПЖТ пациенты разделены на две группы. У пациентов

Контактная информация:

Груздева Ольга Викторовна – д.м.н., зав. лаб. исследования гомеостаза отд. диагностики сердечно-сосудистых заболеваний НИИ КПССЗ, доц. каф. патологической физиологии, медицинской и клинической биохимии Кемеровского ГМУ; тел.: +7(961)728-27-27; e-mail: o_gruzdeva@mail.ru

Таблица 1. Основные антропометрические характеристики больных ИБС, Ме [25-й; 75-й перцентили]

Характеристики		Пациенты с ВО (n=54)	Пациенты без ВО (n=30)	p
ИМТ, кг/м ²		27,7 [19,0; 42,0]	29,4 [25,1; 39,2]	0,02
ОТ, см	м.	103,1 [84,0; 124,0]	96,8 [78,0; 123,0]	0,04
	ж.	84 [68; 98]		
ОБ, см	м.	97,4 [90,0; 120,0]	101,2 [84,0; 140,0]	0,04
	ж.	96 [92; 110]		
ОТ/ОБ	м.	1,0 [0,9; 1,2]	0,95 [0,7; 1,1]	0,23
	ж.	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

Примечание. Здесь и далее p – достигнутый уровень значимости.

Таблица 2. Содержание адипокинов и цитокинов в культуре адипоцитов ЭЖТ и ПЖТ больных ИБС на фоне ВО, Ме [25-й; 75-й перцентили]

Параметры	Адипоциты ЭЖТ		Адипоциты ПЖТ		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]	$p_{1,2}=0,3$ $p_{1,3}=0,003$ $p_{2,4}=0,0002$
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]	$p_{1,3}=0,01$ $p_{2,4}=0,01$

с площадью ВЖТ >130 см² проводился забор адипоцитов ЭЖТ и ПЖТ с последующим культивированием и оценкой адипокиновой и провосполительной активности. Для поиска взаимосвязи адипокиново-цитокинового профиля адипоцитов ЭЖТ и ПЖТ с площадью ВЖТ, биохимическими и клиническими характеристиками проводили сбор анамнеза, определение показателей углеводного и липидного обмена, адипокинового и провосполительного статусов в сыворотке крови всех исследуемых групп. 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 гликированного гемоглобина (HbA1c) 6,0%; наличие тяжелой сопутствующей патологии: онкологические, инфекционные, психические заболевания, хроническая обструктивная болезнь легких, болезни соединительной ткани, почечная и гепатоцеллюлярная недостаточность.

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).

Адипоциты выделяли из подкожного и эпикардиального жира (в количестве 3–5 г) больных с ВО при операции аортокоронарного шунтирования. 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 2-го класса защиты (БОВ-001-АМС МЗМО, Россия) по методике, описанной К.А. Carswell и соавт. [10]. Для этого образцы ЭЖТ

Таблица 3. Содержание адипокинов и цитокинов в сыворотке крови больных ИБС в зависимости от наличия ВО, Me [25-й; 75-й перцентили]

Параметры	Контрольная группа	Пациенты с ВО	Пациенты без ВО	p
	(n=30)	(n=54)	(n=30)	
	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-1 β , 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-1 β /ИЛ-10	0,24 [0,12; 0,48]	1,32 [1,1; 2,4]	0,28 [0,16; 0,56]	$p_{1-2}=0,01$ $p_{2-3}=0,01$

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-глутамина с пенициллином и стрептомицином (Gibco, США), 0,4% амфотерицина-Б (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 условия мягкого перемешивания промывали полной культуральной средой М 199, объем содержимого пробирки с клетками доводили до 5 мл и центрифугировали 2 мин при 200 g. 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 фирм BioVendor (США) и eBioscience (Австрия). Концентрацию цитокинов – интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β), ИЛ-6, ИЛ-10, фактора некроза опухоли- α (ФНО- α) – проводили с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) диагностическими наборами фирмы Monobind (США).

Концентрацию общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ), липопротеидов 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 HbA1c 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 натошак 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) – отношению концентрации лептина (нг/мл) к концентрации растворимого рецептора к лептину (нг/мл). Лептинорезистентность фиксировали при FLI >25 по показателям сыворотки крови [13].

В первую группу вошли 54 пациента с ВО, во вторую группу – 30 человек без ВО (табл. 1). В контрольную группу включены 30 мужчин без ССЗ, по среднему возрасту – 58,42 [52,2; 71,1] года – сопоставимые с пациентами, вошедшими в исследование ($p=0,64$). По данным антропометрических обследований, среди здоровых добровольцев лица с избыточной массой тела и ожирением отсутствовали, ОТ соответствовал гендерной норме (<94 см), отношение ОТ/ОБ <1,0.

По результатам антропометрии ИМТ у пациентов с ВО статистически значимо ниже, чем у пациентов без ВО (см. табл. 1). Доля больных с нормальной массой тела среди пациентов с ВО составила 39%, а среди пациентов без ВО – только 20% ($p=0,02$). Избыточная масса регистрировалась у 37,0 и 47% соответственно среди больных с ВО и без ВО. Диагноз ожирение верифицирован у 33% пациентов без ВО (против 24% у больных с ВО; $p=0,03$).

Для пациентов с ВО характерно перераспределение жировой ткани по андроидному типу. Так, индекс ОТ/ОБ >1,0 регистрировался у всех пациентов с ВО, тогда как при отсутствии ВО – только у трети пациентов ($p<0,05$).

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

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 перцентилей. Статистически значимыми считали различия при $p<0,05$.

Результаты

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 существенно выше; на 1-е сутки инкубации оно 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 оказалась выше соответственно в 1,7 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 уровня лептина, содержание протективного адипонектина в адипоцитах ЭЖТ снижалась 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 (см. табл. 2). Содержание провоспалительных цитокинов, ФНО- α и ИЛ-1 статистически значимо выше, в то время как концентрация противовоспалительного, протективного ИЛ-10 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 более чем в 2,5 раза выше, по сравнению с показателем в ПЖТ.

Таким образом, по адипокиново-цитокиновому профилю адипоциты ЭЖТ и ПЖТ различаются между собой. Адипоциты ЭЖТ при ИБС на фоне ВО характеризуются увеличением уровней ИЛ-1, ФНО- α , лептин-адипонектинового отношения и снижением содержания протективных факторов: адипонектина и противовоспалительного цитокина ИЛ-10. В адипоцитах ПЖТ выявлена леп-

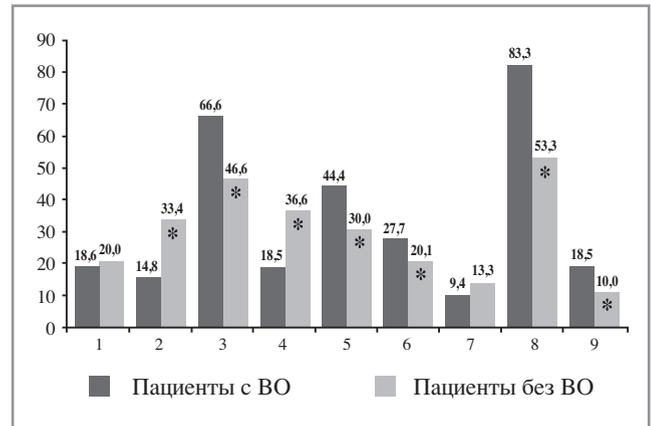


Рис. 1. Число больных с атеросклеротическими поражениями коронарных артерий (КА) при ИБС. 1 – атеросклероз одной КА; 2 – атеросклероз двух КА; 3 – атеросклероз трех и более КА; 4 – изолированное поражение КА; 5 – поражение нескольких бассейнов со стенозами <30%; 6 – поражение нескольких бассейнов со стенозами от 30 до 50%; 7 – поражение нескольких бассейнов со стенозами >50%; 8 – стенокардия II ФК; 9 – стенокардия III ФК.

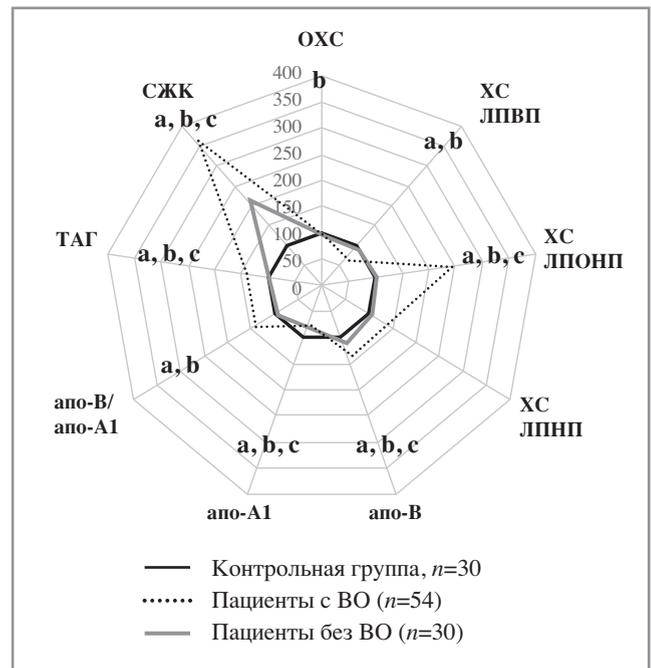


Рис. 2. Показатели липидного обмена больных с ИБС в зависимости от наличия ВО.

a – $p<0,05$ между контролем и пациентами с ВО; **b** – $p<0,05$ между пациентами с ВО и без ВО; **c** – $p<0,05$ между контролем и пациентами без ВО.

тинорезистентность, а увеличение содержания провоспалительных цитокинов компенсировано возрастанием концентрации ИЛ-10.

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

с ИБС (табл. 3) выявлено, что при ВО уровень лептина 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 оказался выше в 2,7 раза, по сравнению с пациентами без ВО. Концентрация адипонектина в сыворотке крови больных с ВО, напротив, 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 в два раза ниже у пациентов с ВО, по сравнению с больными, у которых отсутствовало ВО. При проведении корреляционного анализа выявлена положительная взаимосвязь между содержанием лептина, ФНО-α, 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 концентрации патогенных факторов на фоне дефицита протективных адипоцитокинов.

Выраженный адипокино-цитокиновый дисбаланс адипоцитов и сыворотки крови с диспропорцией в сторону усиления секреции маркеров воспаления и развития лептинорезистентности в группе пациентов с ВО 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 от 30 до 50% (рис. 1). Кроме того, при ВО преобладало поражение трех и более КА В этой же группе чаще регистрировались стенокардия II, III 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 с ИБС на фоне ВО статистически значимо возрастала концентрация атерогенных показателей липидного обмена (ХС ЛПНП, ХС ЛПОНП, апо-В, триацилглицериды (ТАГ), апо-В/апо-А1 – в 1,32 раза, индекс атерогенности, СЖК) и снижалось содержание антиатерогенных фракций ХС ЛПВП и апо-А1, относительно пациентов без ВО (рис. 2).

При ВО у больных с ИБС 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 висцерального ожирения. Кроме того, для пациентов с ВО характерны гиперинсулинемия, возрастание концентрации С-пептида по сравнению с больными без ВО. Концентрация глюкозы и HbA1c существенно не отличалась ($p>0,05$).

В целом у больных с ВО наблюдались более выраженные изменения адипокино-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 2-й и 3-й степени не выявлено ВО.

Таблица 4. Коэффициенты корреляции (r) показателей адипоцитов и сыворотки крови с площадью ВЖТ

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

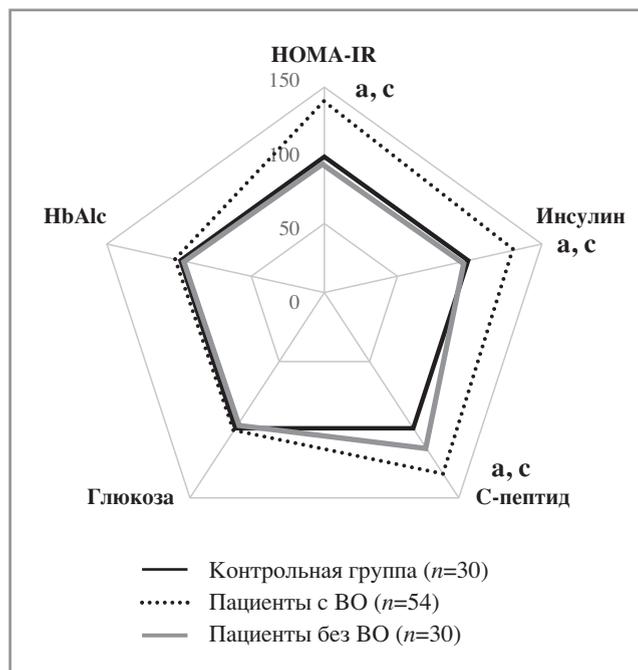


Рис. 3. Показатели углеводного обмена больных в зависимости от наличия ВО.

а – $p<0,05$ между контролем и пациентами с ВО; **б** – $p<0,05$ между пациентами с ВО и без ВО; **с** – $p<0,05$ между контролем и пациентами без ВО.

В отличие от ПЖТ, площадь ВЖТ определяла более высокие значения концентрации лептина, ФНО-α в адипоцитах и сыворотке крови, показателей липидного и углеводного обмена (положительные коэффициенты корреляции) и более низкое содержание SOB-R (отрицательные коэффициенты корреляции; табл. 4). С площадью ПЖТ 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 адипокино-цитокинового статуса больных с ИБС и ВО сопровождается выраженным атеросклеротическим поражением коронарных артерий, стенокардией II и III ФК, возрастанием атерогенных фракций липидов, лептинорезистентностью и ИР.

Обсуждение

Ожирение является одним из основных факторов риска сердечно-сосудистой патологии, при этом висцеральная форма ожирения характеризуется наибольшим кардиоваскулярным риском. 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].

ВЖТ является активным эндокринным органом, в котором синтезируются 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 повышены экспрессия и функциональная активность β_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 липотоксических расстройств, конечным результатом которых являются ИР, дислипидемия, кардиомиопатия и повышение артериального давления [15].

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

С учетом того, что ВО является неблагоприятным фактором развития патологии сердца, основное внимание в настоящем исследовании уделено адипокиново-цитокиновому профилю адипоцитов и сыворотки крови больных с ИБС на фоне ВО. Исследованы адипоциты ЭЖТ 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 служить 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 существен-

ное значение имеет активация воспаления в адипоцитах ЭЖТ больных с ВО, где увеличение концентраций ФНО- α , ИЛ-1 и ИЛ-6 сопровождается снижением уровня 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 компенсировано 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 КА нескольких бассейнов со стенозами от 30 до 50%, стенокардией II и III ФК, возрастанием атерогенных фракций липидов сыворотки крови, ИР. 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, лептина/адипонектина и содержания растворимого рецептора лептина можно использовать при оценке адипокиново-цитокинового дисбаланса при ИБС, протекающей на фоне ВО.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- 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. *Lancet*. 2012;380:2095-2128. 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 Failure*. 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. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2012;302:E941-941. doi: 10.1007/978-1-4614-0965-6_5
- Silva AA, Carmo JM, Dubinion J, 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 (Silver Spring)*. 2006;14(Suppl 1):16S-19S. doi: 10.1038/oby.2006.277

7. Iacobellis G, Corradi D, Sharma AM. Epicardial adipose tissue: anatomic, biomolecular and clinical relationships with the heart. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med.* 2005;2:536-543. doi: 10.1038/ncpcardio0319
8. Britton KA, Fox CS. Ectopic fat depots and cardiovascular disease. *Circulation.* 2011;124(24):e837-e841. doi: 10.1161/circulationaha.111.077602
9. Sjoestrom L. A computed 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.
10. Carswell KA, Lee M, 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
11. 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
12. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 1985;28:412-419. doi: 10.1007/BF00280883
13. 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 Endocrinol Metab.* 2004;89(7):3486-3495. doi: 10.1210/jc.2003-032251
14. Отт А.В., Чумакова Г.А., Веселовская Н.Г. Значение лептинорезистентности в развитии различных метаболических фенотипов ожирения. *Российский кардиологический журнал.* 2016;(4):4-18 [Ott AV, Chumakova GA, Veselovskaya NG. The importance of leptin resistance in the development of various metabolic obesity phenotypes. *Rossiiskii Kardiologicheskii Zhurnal.* 2016;(4):4-18 (In Russ)]. doi: 10.15829/1560-4071-2016-4-14-18
15. 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.* 2009;30:850-856. doi: 10.1093/eurheartj/ehn573
16. Jeong JW, Jeong MH, Yun KH, et al. Echocardiographic epicardial fat thickness and coronary artery disease. *Circ J.* 2007;71:536-539. doi: 10.1253/circj.71.536
17. 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. *Hormone Res Paediatr.* 2013;80(5):363-370. doi: 10.1159/000356046
18. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation.* 2002;105:1135-1143.
19. Chia S, Quadan M, Newton R, et al. Intra-arterial tumor necrosis factor-alpha impairs endothelial-dependent dilatation in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:695-701.
20. Lima MM, Pareja JC, Alegre SM, et al. Visceral fat resection in humans: effect on insulin sensitivity, beta-cell function, adipokines, and inflammatory markers. *Obesity (Silver Spring).* 2013;21(3):E182-189. doi: 10.1002/oby.20030

Поступила 19.05.2017