

Оценка экспрессии лептина и рецептора лептина в атеросклеротических бляшках у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа

Д.А. Димитрова^{✉1}, И.А. Михайлов², К.Ю. Токарев¹, М.С. Мичурова¹, А.М. Горбачева¹, Н.В. Данилова², П.Г. Мальков², В.Ю. Калашников¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России, Москва, Россия;

²ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия

Аннотация

Обоснование. Сахарный диабет (СД) является важным предиктором развития атеросклероза, сердечно-сосудистых заболеваний и смертности от сердечно-сосудистых заболеваний. Известно, что у больных СД атеросклероз возникает раньше, сокращая продолжительность их трудовой деятельности и жизни. Лептин, как и маркеры воспаления, могут способствовать прогрессированию атеросклероза при СД, участвуя в развитии местной воспалительной реакции и патогенезе развития атеросклеротической бляшки.

Цель. Изучить иммунофенотип клеток, входящих в состав атеросклеротических бляшек у пациентов с СД.

Материалы и методы. Проведено наблюдательное одномоментное двухцентровое исследование, в которое включены 24 пациента (20 мужчин и 4 женщины), подвергшиеся аорто-фemorальному, бедренно-берцовому шунтированию или каротидной эндартерэктомии. В ходе проведения операции получен фрагмент артериальной стенки с атеросклеротической бляшкой для дальнейшего проведения иммуногистохимического исследования: оценки экспрессии CD68+ макрофагов, α -SMA (α -гладкомышечный актин), CD34, лептина и рецептора лептина.

Результаты. При сравнении результатов оценки экспрессии CD68 ($p=0,922$), α -SMA ($p=0,192$), CD34 ($p=0,858$), рецептора лептина ($p=0,741$) и лептина ($p=0,610$) в атеросклеротических бляшках статистически значимых различий между группами пациентов с СД и без СД не выявлено. Отсутствие достоверных различий между двумя группами, возможно, обусловлено небольшим количеством наблюдаемых пациентов с СД. В частности, при оценке экспрессии выбранных маркеров в атеросклеротических бляшках у больных СД отмечено значительно больше рецепторов лептина, чем у лиц без СД (2160,716 и 1205,88 соответственно), а также значительно меньше CD68+ (0,39 и 0,98 соответственно) и α -SMA+ (6,5 и 13,5 соответственно).

Заключение. На основании оценки экспрессии CD68, α -SMA, CD34, рецептора лептина и лептина не выявлено достоверных различий в структуре атеросклеротической бляшки у пациентов с СД и без. В то же время, несмотря на ограничения исследования (небольшое число больных, умеренная тяжесть СД, пожилой возраст пациентов в группе с нарушением углеводного обмена), мы обнаружили тенденцию в увеличении количества рецепторов лептина и уменьшении количества α -SMA+, CD68+ у больных СД. Требуется дальнейшее изучение этой проблемы с учетом ограничений данной работы.

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа, атеросклероз, лептин, рецептор лептина, атеросклеротическая бляшка

Для цитирования: Димитрова Д.А., Михайлов И.А., Токарев К.Ю., Мичурова М.С., Горбачева А.М., Данилова Н.В., Мальков П.Г., Калашников В.Ю. Оценка экспрессии лептина и рецептора лептина в атеросклеротических бляшках у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа. Терапевтический архив. 2021; 93 (10): 1186–1192. DOI: 10.26442/00403660.2021.10.201079

ORIGINAL ARTICLE

Leptin and leptin receptor evaluation in atherosclerotic plaques in patients with type 2 diabetes mellitus

Diana A. Dimitrova^{✉1}, Ilya A. Mikhailov², Konstantin Yu. Tokarev¹, Marina S. Michurova¹, Anna M. Gorbacheva¹, Natalia V. Danilova², Pavel G. Malkov², Viktor Yu. Kalashnikov¹

¹Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia;

²Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Abstract

Background. Diabetes mellitus (DM) is a significant predictor of atherosclerosis, cardiovascular disease, and cardiovascular mortality. It is known that atherosclerosis occurs earlier in patients with diabetes, reducing the duration of their life. Leptin as well as other inflammatory markers can contribute to the progression of atherosclerosis in patients with DM, participate in the development of a local inflammatory reaction.

Информация об авторах / Information about the authors

✉ **Димитрова Диана Аршалуйсовна** – ассистент методического аккредитационно-симуляционного центра ФГБУ «НМИЦ эндокринологии». Тел.: +7(967)153-70-05; e-mail: diadavtyan@gmail.com; ORCID: 0000-0002-1359-8297

Михайлов Илья Александрович – стажер-исследователь отд. клинической патологии Медицинского научно-образовательного центра ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова». ORCID: 0000-0001-8020-369X

Токарев Константин Юрьевич – канд. мед. наук, зав. операционным блоком отд-ния кардиологии, эндоваскулярной и сосудистой хирургии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии». ORCID: 0000-0002-1359-8297

Мичурова Марина Сергеевна – науч. сотр. врач-кардиолог отд. кардиологии и сосудистой хирургии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» ORCID: 0000-0003-1495-5847

✉ **Diana A. Dimitrova.** E-mail: diadavtyan@gmail.com; ORCID: 0000-0002-1359-8297

Ilya A. Mikhailov. ORCID: 0000-0001-8020-369X

Konstantin Yu. Tokarev. ORCID: 0000-0002-1359-8297

Marina S. Michurova. ORCID: 0000-0003-1495-5847

Aim. Determine the cells immunophenotype of atherosclerotic plaques in patients with diabetes.

Materials and methods. We analyzed 24 patients (20 men and 4 women), who underwent aortofemoral bypass, femoral-tibial bypass or carotid endarterectomy. During the operation, a fragment of the arterial wall with an atherosclerotic plaque was obtained for further immunohistochemical studies. Five histologic plaque characteristics (CD68+, α -SMA, CD34, leptin and leptin receptor) were compared.

Results. No difference in the expression of CD68 ($p=0.922$), α -SMA ($p=0.192$), CD34 ($p=0.858$), leptin receptor ($p=0.741$) and leptin ($p=0.610$) in atherosclerotic plaques were observed between patients with and without DM. The lack of significant differences between the two groups was possibly due to the small number of observations with DM. In particular, when assessing the expression of selected markers in atherosclerotic plaques, patients with DM showed significantly more leptin receptors than patients without DM (2160.716 and 1205.88 respectively); and also significantly less CD68+ (0.39 and 0.98 respectively) and α -SMA+ (6.5 and 13.5 respectively).

Conclusion. Based on the expression of CD68, α -SMA, CD34, leptin receptor and leptin, no significant differences were observed in atherosclerotic plaque between patients with and without DM. At the same time, despite the limitations of the study (a small number of patients, moderate severity of DM, elderly patients in the DM group), we found a tendency in the increased number of leptin receptors and a decreased number of α -SMA+, CD68+ in DM atherosclerotic plaques. Further study needed, taking into account the limitations of this work.

Keywords: type 2 diabetes mellitus, atherosclerosis, leptin, leptin receptor, atherosclerotic plaque

For citation: Dimitrova DA, Mikhailov IA, Tokarev KYu, Michurova MS, Gorbacheva AM, Danilova NV, Malkov PG, Kalashnikov VYu. Leptin and leptin receptor evaluation in atherosclerotic plaques in patients with type 2 diabetes mellitus. *Terapevticheskiy Arkhiv (Ter. Arkh)*. 2021; 93 (10): 1186–1192. DOI: 10.26442/00403660.2021.10.201079

Введение

Постоянно растущее число пациентов с хроническими неинфекционными заболеваниями является одной из основных проблем в области здравоохранения. Сахарный диабет (СД) занимает одно из ведущих положений в структуре заболеваемости хроническими неинфекционными болезнями [1]. Также с каждым годом увеличивается доля СД 2-го типа в структуре общей смертности населения. По последним данным, численность пациентов с СД в мире за последние 10 лет увеличилась более чем в 2 раза и к концу 2019 г. превысила 463 млн человек. Согласно прогнозам Международной диабетической федерации к 2045 г. число пациентов с СД будет составлять 700 млн человек. В Российской Федерации, как и во всех странах мира, отмечается значимый рост заболеваемости СД [2].

СД является важным предиктором развития атеросклероза, сердечно-сосудистых заболеваний и смертности от сердечно-сосудистых заболеваний. Известно, что у пациентов с СД атеросклероз возникает раньше, сокращая продолжительность их трудовой деятельности и жизни [3]. Нарушение углеводного обмена оказывает непосредственное влияние на формирование и распространение атеросклеротической бляшки [4]. Патологические состояния, наблюдаемые при СД, такие как гипергликемия, дислипидемия, инсулинорезистентность, ускоряют развитие атеросклероза из-за поражения сосудистой стенки воспалительными реакциями, эндотелиальной дисфункции, аномалий форменных элементов крови, миграции гладкомышечных клеток. Помимо этого, гипергликемия приводит к повышению концентрации конечных продуктов гликозилирования, а также усилению окислительного стресса [5]. Кроме того, СД вызывает гиперкоагуляцию, которая играет определенную роль в росте и разрыве бляшек и увеличивает риск внезапной внутрисосудистой окклюзии или тромбоза [6].

Гипергликемия вызывает не просто более тяжелое поражение артериального русла, а запускает целый ряд патологических процессов, которые приводят к формированию специфического клеточного состава атером. Поиск специфических микроскопических признаков и особенностей иммунофенотипа клеток, входящих в состав атеросклеротической бляшки, позволит расширить понимание патогенеза атеросклероза. В частности, представляет интерес уточнение роли лептина в формировании атеросклеротической бляшки у пациентов с СД, поскольку гиперлептинемия является одним из ключевых метаболических компонентов СД 2-го типа. Лептин, как и маркеры воспаления, может способствовать прогрессированию атеросклероза при СД, участвовать в развитии местной воспалительной реакции и патогенезе развития атеросклеротической бляшки [7].

Проведены исследования по сравнению особенностей иммунофенотипа клеток, входящих в состав атеросклеротических бляшек (экспрессия общего маркера макрофагов CD68), состояния соединительной ткани в атеросклеротической бляшке [в том числе количественная оценка экспрессии маркера гладкомышечных клеток α -SMA (α -гладкомышечного актина) и маркера эндотелиальных клеток CD34+] у пациентов с СД преимущественно в сонных и коронарных артериях, однако полученные результаты противоречивы [5]. Оценка экспрессии лептина и рецептора лептина в бляшках в этих исследованиях не осуществлялась.

Проводились попытки морфологической оценки влияния лептина на атерогенез. Основным общим недостатком этих работ явилось сомнительное качество исследуемого материала: в ходе эндартерэктомии врач имеет возможность получить лишь клеточный детрит, а не послойный срез сосудистой стенки, что затрудняет интерпретацию полученных результатов [8–10]. В других недавних иссле-

Горбачева Анна Максимовна – науч. сотр., врач-эндокринолог отделения патологии околощитовидных желез ФГБУ «НМИЦ эндокринологии». ORCID: 0000-0001-6581-4521

Данилова Наталья Владимировна – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. отд. клинической патологии Медицинского научно-образовательного центра ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова». ORCID: 0000-0001-7848-6707

Мальков Павел Георгиевич – д-р мед. наук, зав. отд. клинической патологии Медицинского научно-образовательного центра ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова». ORCID: 0000-0001-5074-3513

Калашников Виктор Юрьевич – чл.-кор. РАН, д-р мед. наук, проф., зам. дир. Центра по координации эндокринологической службы, зав. отд. кардиологии и сосудистой хирургии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии». ORCID: 0000-0001-5573-0754

Anna M. Gorbacheva. ORCID: 0000-0001-6581-4521

Natalia V. Danilova. ORCID: 0000-0001-7848-6707

Pavel G. Malkov. ORCID: 0000-0001-5074-3513

Viktor Yu. Kalashnikov. ORCID: 0000-0001-5573-0754

Таблица 1. Метод распределения баллов для расчета экспрессии лептина**Table 1. Leptin expression scoring method**

Характеристика плотности распределения метки	Описание	Баллы
Экспрессия отсутствует	Менее 0,1%	0
Слабая экспрессия	Больше 0,1% и меньше 5%	1
Средняя экспрессия	Больше 5% и меньше 10%	2
Сильная экспрессия	Более 10%	3

дованиях выполнено не патологоанатомическое исследование атеросклеротических бляшек, а использованы визуализирующие методики, что снижает информативность результатов и ограничивает спектр возможных изучаемых компонентов [11, 12].

В данной работе исследовался иммунофенотип клеток, входящих в состав атеросклеротических бляшек у пациентов с СД 2-го типа и без него, которым выполнены аорто-фemorальное шунтирование, бедренно-берцовое шунтирование, каротидная эндартерэктомия. Наряду с оценкой экспрессии маркеров CD68, CD34, α -SMA оценивались экспрессии лептина и рецептора лептина.

Цель исследования – изучить иммунофенотип клеток, входящих в состав атеросклеротических бляшек у пациентов с СД.

Материалы и методы

Дизайн исследования. Проведено наблюдательное одномоментное двухцентровое исследование.

Место и время проведения исследования. Набор пациентов осуществлялся в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» и ГБУЗ Городская клиническая больница им. С.П. Боткина». Обследование пациентов выполнялось в условиях стационара. Исследование проводилось с октября 2018 по август 2019 г.

Критерии соответствия. Критерии включения: пациенты в возрасте 45–90 лет, подвергавшиеся аорто-фemorальному, бедренно-берцовому шунтированию или каротидной эндартерэктомии.

Критерии исключения: острый коронарный синдром или острое нарушение мозгового кровообращения; злокачественные новообразования, гемобластозы; тиреотоксикоз; терминальная стадия почечной или печеночной недостаточности.

Описание медицинского вмешательства

Перед проведением оперативного вмешательства (аорто-фemorальное, бедренно-берцовое шунтирование,

каротидная эндартерэктомия) пациентам выполнялось стандартное клинико-лабораторное и инструментальное обследование.

Все больные СД получали сахароснижающие препараты.

В ходе проведения операции забирали фрагмент артериальной стенки с атеросклеротической бляшкой. Удаленный материал помещался и хранился в 10% забуференном нейтральном формалине. Перед гистологической проводкой материал помещался в раствор декальцинирующей жидкости (смягчающая кальцификацию в бляшке для целей обработки без полного ее растворения) и парафиновые блоки для выполнения патологоанатомического исследования.

Патологоанатомическое исследование с применением иммуногистохимического метода осуществлялось на базе отдела клинической патологии Медицинского научно-образовательного центра ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова». С парафиновых блоков изготовлены срезы толщиной 3–4 мкм, которые монтировались на высокоадгезивные стекла (Menzel GmbH & Co KG, Германия). Депарафинирование, регидратация и демаскировка антигенов проводились при помощи буферов Dewax and HIER Buffer M, Dewax and HIER Buffer H, Dewax and HIER Buffer L (Thermo, Великобритания) при температуре 95–98°C, pH 8,0 в течение 20 мин в модуле предобработки (PT-Module, Dako). Постановка иммуногистохимических реакций выполнялась с помощью автостейнера Thermo 480S (Thermo, Великобритания). Время инкубации составило 15–30 мин. Количественная оценка экспрессии маркеров производилась с использованием системы автоматического морфометрического анализа изображений LAS X (Leica Microsystems, Германия). Осуществлялась оценка экспрессии CD68+, α -SMA, CD34, лептина и рецептора лептина.

Методика оценки экспрессии лептина состояла из 3 этапов [13]: для постановки иммуногистохимических реакций использовались кроличьи поликлональные антитела к лептину Anti-OB (Abcam, Великобритания).

Первый этап – проведение оценки плотности распределения метки (отношение площади метки к площади поля зрения, выраженное в процентах) в 5 полях зрения при увеличении в 40 раз в каждом фрагменте ткани.

Второй этап – перевод полученных значений плотности распределения метки в полуколичественную шкалу (пороговые значения – табл. 1, 2).

Третий этап – расчет итогового среднего балла на основании 5 значений по полуколичественной шкале.

Методика оценки экспрессии рецептора лептина, CD68, α -SMA, CD34 [14]: для постановки иммуногистохимических реакций использовались поликлональные кроличьи антитела к эпитопу человека Anti-ObR (Abcam, Великобритания), соответствующему аминокислотам 541–840 во внутреннем

Таблица 2. Пример расчета итогового среднего балла экспрессии лептина**Table 2. Example of calculating the final leptin expression mean score**

Номер случая	Оценка плотности распределения метки, %	Группы	Баллы	Лептин (итоговый средний балл)
A001	13,957	Сильная	3	
A001	1,091	Слабая	1	
A001	4,807	Слабая	1	1,8
A001	9,057	Средняя	2	
A001	6,418	Средняя	2	

Таблица 3. Характеристика пациентов**Table 3. Patient characteristics**

Показатель	1-я группа, n=8 (с СД 2-го типа)	2-я группа, n=16 (без СД 2-го типа)	p-значение
Возраст, лет	75 [65; 80]	69 [60; 75]	0,221
Пол			
Мужчины, n (%)	5 (62,5)	15 (93,8)	0,091
Женщины, n (%)	3 (37,5)	1 (6,3)	
Курение, n (%)	4 (50)	13 (81,3)	0,167
Общий холестерин, ммоль/л	4,95 [3,06; 5,72]	3,81 [3,16; 4,60]	0,501
Глюкоза натощак, ммоль/л	7,24 [6,50; 8,63]	5,49 [4,70; 5,68]	<0,001
Гипертоническая болезнь, n (%)	8 (100)	16 (100)	0,502
Ишемическая болезнь сердца, n (%)	6 (75)	5 (31,3)	
I функционального класса	4 (50)	2 (13,3)	0,106
II функционального класса	2 (25)	3 (20)	
Инфаркт миокарда в анамнезе, n (%)	3 (37,5)	3 (18,8)	0,362
Инсульт в анамнезе n (%)	1 (12,5)	3 (18,8)	1,000
Забор материала из, n (%)			
Аорта	2 (25)	11 (68,8)	–
Подвздошная артерия	4 (50)	5 (31,3)	
Внутренняя сонная артерия	2 (25)	0	

доме рецептора лептина человека. Согласно спецификациям производителя антитело распознает как длинную, так и короткую изоформу рецептора лептина и перекрестно реагирует с мышинной изоформой рецептора лептина.

Оценка экспрессии рецептора лептина, CD68, α -SMA, CD34 проводилась с использованием количественного морфометрического метода. Для каждого фрагмента ткани выбирались 3 поля зрения при увеличении в 10 раз, в каждом из которых подсчитывалась общая площадь метки в квадратных микрометрах, и далее рассчитывалась средняя площадь метки с 3 полей зрения.

Методика оценки экспрессии CD68, α -SMA и CD34. Для постановки иммуногистохимических реакций использовались моноклональные антитела к CD68 (клон PG-M1, Dako, Дания), моноклональные антитела к α -SMA (1A4, Dako, Дания) и моноклональные антитела к CD34 (клон QVEnd-10, Dako, Дания).

Оценка экспрессии рецептора CD68, α -SMA и CD34 проводилась с использованием количественного морфометрического метода. Для каждого фрагмента ткани выбирались три поля зрения при увеличении в 20 раз, в каждом из которых производилась оценка плотности распределения метки (отношение площади метки к площади поля зрения, выраженное в процентах), и далее рассчитывалось среднее значение плотности распределения метки в 3 полях зрения, выраженное в процентах.

Этическая экспертиза

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Протокол исследования одобрен на заседании этического комитета ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» от 09.03.2017 (протокол №5).

Статистический анализ

Способ формирования выборки: выборки сформированы путем сплошного включения наблюдений. Предварительного

Таблица 4. Проводимая медикаментозная терапия**Table 4. Patients drug therapy**

Показатель	1-я группа, n=8 (с СД 2-го типа)	2-я группа, n=16 (без СД 2-го типа)	p-значение
Статины, n	3	14	0,020
Аторвастатин 20 мг	2	11	
Аторвастатин 40 мг	1	3	
Антиагреганты, n	8	12	0,620
Ацетилсалициловая кислота	6	9	
Клопидогрел	2	3	
β -Адреноблокаторы, n	4	8	1,000
Ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента/блокаторы рецепторов ангиотензина, n	6	12	1,000
Пероральные сахароснижающие препараты, n	7	–	–
Инсулинотерапия, n	1	–	–

расчета выборки не проводилось. Пациенты были разделены на 2 группы в зависимости от наличия СД.

Для статистической обработки материала использовалась программа Statistica 13.3 (StatSoft, США). Данные описательной статистики представлены в виде медианы, а также 25 и 75-го перцентилей. Для описания качественных

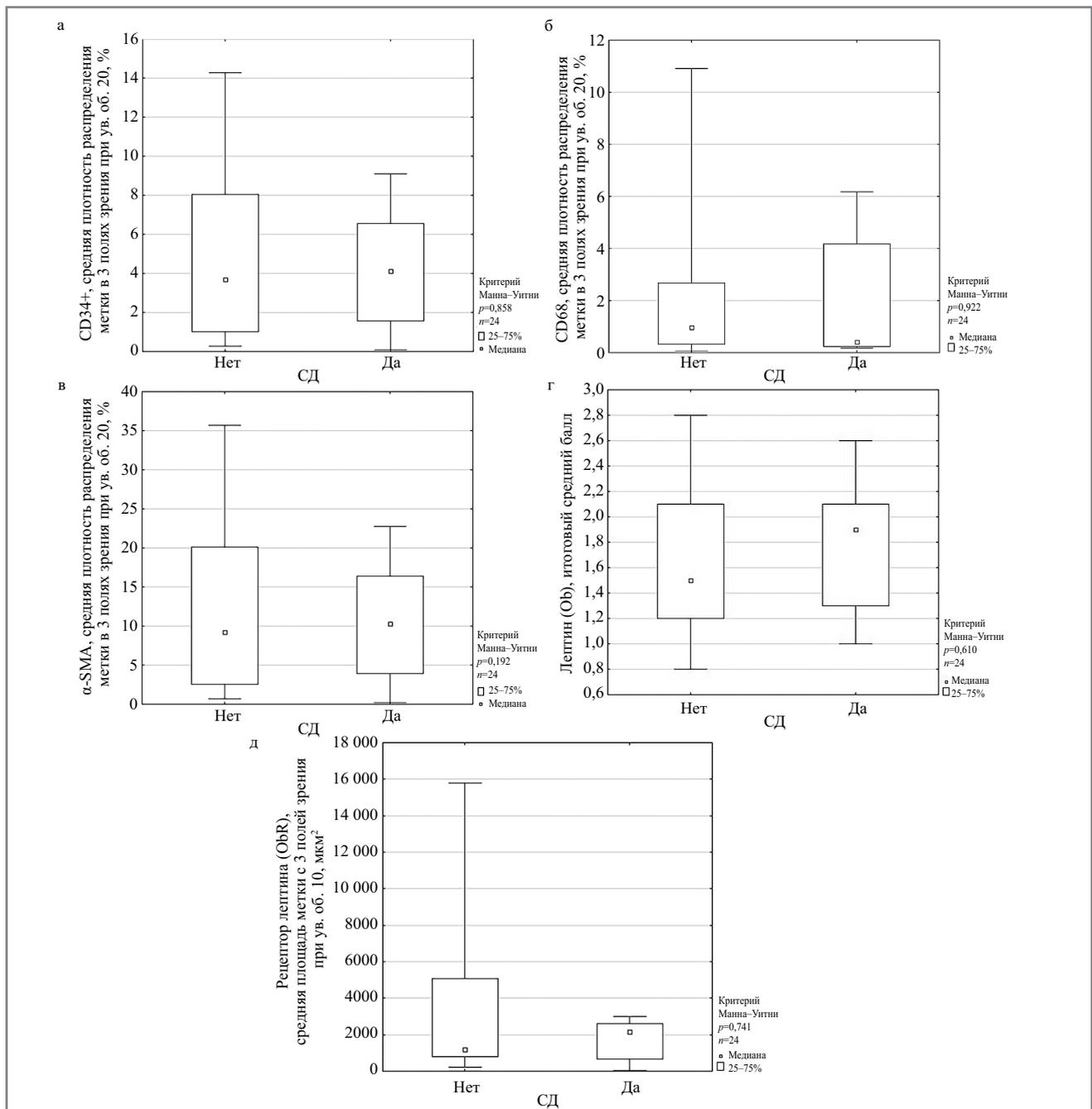


Рис. 1. Сравнение результатов оценки экспрессии CD68, α-SMA, CD34, рецептора лептина и лептина в атеросклеротических бляшках в группах пациентов с СД 2-го типа и без СД: а – распределение средней площади CD34+ в участках атеросклеротической бляшки у пациентов с СД и без; б – распределение средней площади CD68 в участках атеросклеротической бляшки у пациентов с СД и без; в – распределение средней площади α-SMA в участках атеросклеротической бляшки у пациентов с СД и без; г – итоговый средний балл распределения лептина в участках атеросклеротической бляшки у пациентов с СД и без; д – распределение средней площади рецептора лептина в участках атеросклеротической бляшки у пациентов с СД и без.

Fig. 1. Comparison of CD68, α-SMA, CD34, leptin receptor and leptin expression results in atherosclerotic plaques in groups of patients with type 2 diabetes mellitus (DM) and without diabetes mellitus: a – the average area distribution of CD34+ in atherosclerotic plaque in patients with and without DM; b – the average area distribution of CD68 in atherosclerotic plaque in patients with and without DM; c – the average area distribution of α-SMA in atherosclerotic plaque in patients with and without DM; d – the final average score of leptin distribution in the atherosclerotic plaque in patients with and without DM; e – the average area distribution of leptin receptor in atherosclerotic plaque in patients with and without DM.

данных рассчитывали абсолютные (n) и относительные значения (%). Нормальность распределения проверялась критерием Шапиро–Уилка. Связь между количественными показателями устанавливали, используя непараметри-

ческий метод Манна–Уитни. Для анализа связей между категориальными переменными использовали критерий χ^2 Пирсона и точный критерий Фишера. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты

В исследование включены 24 пациента (20 мужчин и 4 женщины; средний возраст первых составил 67 лет, вторых – 82 года). Сформированы 2 группы: в 1-ю включены 8 пациентов с СД, во 2-ю – 16 лиц без нарушений углеводного обмена.

Статистически значимые различия в исследуемых группах по возрасту, статусу курения, показателям липидного спектра отсутствовали, что, вероятно, обусловлено небольшим количеством наблюдений. В то же время пациенты с СД чаще страдали ишемической болезнью сердца: 75% в группе пациентов с СД и 31% в группе без него. Средняя длительность СД 2-го типа составила 6 лет [1; 10] (табл. 3).

Пациентам проведено оперативное вмешательство (аорто-фemorальное шунтирование – $n=13$, бедренно-берцовое шунтирование – $n=9$, каротидная эндартерэктомия – $n=2$). Каротидная эндартерэктомия выполнена только у пациентов с СД 2-го типа. В ходе оперативного вмешательства получены материалы (бляшки) для дальнейшего иммуногистохимического исследования.

Пациенты обеих групп были сопоставимы по лекарственной терапии на момент включения в исследование (табл. 4). Большинство получали антиагрегантную и гиполипидемическую терапию, однако в группе СД 2-го типа меньше 1/2 пациентов получали статины. Всего 1 человек был на интенсифицированной схеме инсулинотерапии в группе с СД 2-го типа.

Сравнение результатов оценки экспрессии CD68, α -SMA, CD34, рецептора лептина и лептина в атеросклеротических бляшках в группе пациентов с СД 2-го типа и группе пациентов без СД представлены на рис. 1.

При сравнении результатов оценки экспрессии CD68, α -SMA, CD34, рецептора лептина и лептина в атеросклеротических бляшках статистически значимых различий между 2 группами пациентов не выявлено (см. рис. 1), что в первую очередь обусловлено малым числом пациентов с СД. Необходимо проведение исследования на большей выборке пациентов с СД для выявления значимых различий между группами по характеристикам экспрессии CD68, α -SMA, CD34, рецептора лептина и лептина.

Обсуждение

Наше исследование показало отсутствие значимых различий в CD68+, α -SMA+, CD34+, рецепторе лептина, лептине при иммуногистохимическом анализе атеросклеротических бляшек у больных СД.

В большом исследовании V. Scholtes и соавт., длившемся с 2002 по 2010 г., проанализирован морфологический состав атеросклеротической бляшки сонных артерий у 1455 пациентов, и не выявлено различий между пациентами с СД 2-го типа и без него. В этой работе исследователи сравнивали CD68+, α -SMA+, CD34+ [15]. Исследователи S. van Haelst и соавт. провели работу с целью выявить морфологические особенности атеросклеротических бляшек у пациентов с СД 2-го типа, которым выполнено хирургическое вмешательство на бедренной или подвздошной артериях. Такую локализацию авторы выбрали в связи с частым поражением артерий нижних конечностей при СД. По их результатам отмечалась более выраженная кальцификация атеросклеротической бляшки (отношение шансов 2,11, 95% доверительный интервал 1,43–3,12; $p<0,01$) у пациентов с СД 2-го типа по сравнению с пациентами без СД, но других морфологических различий выявить не удалось [16]. Однако в этих работах исследуемый материал получен в ходе

эндартерэктомий, которые дают лишь клеточный детрит, а не последний срез артериальной стенки, что в целом затрудняет оценку результатов.

В другом исследовании M. Karaduman и соавт. изучали атеросклеротические бляшки коронарных артерий, полученные в ходе аортокоронарного шунтирования, у пациентов с СД. Авторами выявлено, что уровни лептина, С-реактивного белка и рецептора интерлейкина-6 в тканях были выше у пациентов с СД, чем у лиц без нарушений углеводного обмена, что позволило сделать вывод об их патогенной роли в развитии атеросклеротической бляшки [17].

Отсутствие достоверных различий в нашем исследовании между группами, возможно, обусловлено небольшим количеством наблюдений. В частности, при оценке экспрессии выбранных маркеров в атеросклеротических бляшках у больных СД отмечено значительно больше рецепторов лептина, чем у лиц без СД (2160,716 и 1205,88 соответственно), а также значительно меньше CD68+ (0,39 и 0,98 соответственно) и α -SMA+ (6,5 и 13,5 соответственно). К тому же возможно, что на результаты исследования повлиял выбор пациентов с СД: только один из них получал инсулинотерапию, большинство больных были пожилого возраста ($Me=75$ лет). Все это косвенно свидетельствует о большем влиянии в развитии атеросклеротической бляшки у данной когорты пациентов нарушения липидного обмена, а не углеводного. Для более достоверного определения роли лептина, рецептора лептина, α -SMA+, CD68+ в морфологии атеросклеротической бляшки у больных СД необходимо включить в исследование более молодых пациентов (до 60 лет) и с длительным течением СД. Кроме того, на результаты работы могло повлиять взятие образцов из разных анатомических областей.

Заключение

В нашей работе на основании оценки экспрессии CD68, α -SMA, CD34, рецептора лептина и лептина не выявлено достоверных различий в структуре атеросклеротической бляшки у пациентов с СД и без СД. В то же время, несмотря на ограничения исследования (небольшое число больных, умеренная тяжесть СД, пожилой возраст пациентов в группе с нарушением углеводного обмена), мы обнаружили тенденцию в увеличении количества рецепторов лептина и уменьшении количества α -SMA+, CD68+ у больных СД. Требуется дальнейшее изучение этой проблемы с учетом ограничений данной работы.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках государственного задания №АААА-А17-117012610109-3 «Выявление иммуногистохимических и патофизиологических механизмов поражения сосудистой стенки и кальцификации артерий, а также механизмов развития микрососудистой ишемии у больных сахарным диабетом».

Funding. The study is supported by state assignment №АААА-А17-117012610109-3 “Identification of immunohistochemical and pathophysiological mechanisms of the vascular wall damage and arteries calcification, as well as the mechanisms of microvascular ischemia development in patients with diabetes mellitus”.

Участие авторов. Все авторы внесли значимый вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией.

Author contribution. All authors approved the final version of the article before publication, agreed to be responsible for the work, which implies the study and resolution of questions about the accuracy or conscientiousness of any part of the work.

Список сокращений

СД – сахарный диабет
α-SMA – α-гладкомышечный актин

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Animaw W, Seyoum Y. Increasing prevalence of diabetes mellitus in a developing country and its related factors. *PLoS One*. 2017;12(11):e0187670. DOI:10.1371/journal.pone.0187670
2. Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes Res Clin Pract*. 2019;157:107843. DOI:10.1016/j.diabres.2019.107843
3. Booth GL, Kapral MK, Fung K, Tu JV. Relation between age and cardiovascular disease in men and women with diabetes compared with non-diabetic people: a population-based retrospective cohort study. *Lancet*. 2006;368(9529):29-36. DOI:10.1016/S0140-6736(06)68967-8
4. Boyle PJ. Diabetes mellitus and macrovascular disease: mechanisms and mediators. *Am J Med*. 2007;120(9 Suppl. 2):S12-S17. DOI:10.1016/j.amjmed.2007.07.003
5. Pasterkamp G. Methods of accelerated atherosclerosis in diabetic patients. *Heart*. 2013;99(10):743-9. DOI:10.1136/heartjnl-2011-301172
6. Naghavi M, Libby P, Falk E, et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part II. *Circulation*. 2003;108(15):1772-8. DOI:10.1161/01.CIR.0000087481.55887.C9
7. Katsiki N, Mikhailidis DP, Banach M. Leptin, cardiovascular diseases and type 2 diabetes mellitus. *Acta Pharmacol Sin*. 2018;39(7):1176-88. DOI:10.1038/aps.2018.40
8. Rocchiccioli S, Pelosi G, Rosini S, et al. Secreted proteins from carotid endarterectomy: an untargeted approach to disclose molecular clues of plaque progression. *J Transl Med*. 2013;11:260. DOI:10.1186/1479-5876-11-260
9. Blasco A, Bellas C, Goicolea L, et al. Immunohistological Analysis of Intracoronary Thrombus Aspirate in STEMI Patients: Clinical Implications of Pathological Findings. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2017;70(3):170-7. DOI:10.1016/j.rec.2016.09.006
10. Kambayashi Y, Yuki I, Ishibashi T, et al. Immunohistochemical analysis of debris captured by filter-type distal embolic protection devices for carotid artery stenting. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2017;26(4):816-22. DOI:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2016.10.025
11. Sugiyama T, Yamamoto E, Bryniarski K, et al. Coronary Plaque Characteristics in Patients With Diabetes Mellitus Who Presented With Acute Coronary Syndromes. *J Am Heart Assoc*. 2018;7(14):e009245. DOI:10.1161/JAHA.118.009245
12. Di Vito L, Agozzino M, Marco V, et al. Identification and quantification of macrophage presence in coronary atherosclerotic plaques by optical coherence tomography. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2015;16(7):807-13. DOI:10.1093/ehjci/jeu307
13. Krawczynska A, Olczak E, Rembiszewska A, et al. Time-dependent supplementation of vitamin E influences leptin expression in the aortic layers of rats fed atherogenic diet. *J Physiol Pharmacol*. 2014;65(1):33-9.
14. Schroeter MR, Schneiderman J, Schumann B, et al. Expression of the leptin receptor in different types of vascular lesions. *Histochem Cell Biol*. 2007;128(4):323-33. DOI:10.1007/s00418-007-0319-1
15. Scholtes VP, Peeters W, van Lammeren GW, et al. Type 2 diabetes is not associated with an altered plaque phenotype among patients undergoing carotid revascularization. A histological analysis of 1455 carotid plaques. *Atherosclerosis*. 2014;235(2):418-23. DOI:10.1016/j.atherosclerosis.2014.05.941
16. van Haelst ST, Haitjema S, de Vries JP, et al. Patients with diabetes differ in atherosclerotic plaque characteristics and have worse clinical outcome after iliofemoral endarterectomy compared with patients without diabetes. *J Vasc Surg*. 2017;65(2):414-421.e5. DOI:10.1016/j.jvs.2016.06.110
17. Karaduman M, Oktenli C, Musabak U, et al. Leptin, soluble interleukin-6 receptor, C-reactive protein and soluble vascular cell adhesion molecule-1 levels in human coronary atherosclerotic plaque. *Clin Exp Immunol*. 2006;143(3):452-7. DOI:10.1111/j.1365-2249.2006.03025.x

Статья поступила в редакцию / The article received: 05.05.2021



OMNIDOCTOR.RU