

Связь гормонов жировой ткани с маркерами воспаления и гомоцистеином при коронарном атеросклерозе

Е. М. Стахнёва², Е. В. Каштанова¹, Я. В. Полонская¹, А. В. Кургузов², О. В. Каменская², Ю. И. Рагино¹, А. М. Чернявский²

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины», г. Новосибирск

² ФГБУ «Новосибирский Научно-исследовательский институт патологии кровообращения имени академика Е. Н. Мешалкина» МЗ РФ, г. Новосибирск

Абстракт

Цель. Изучить взаимосвязь гормонов жировой ткани с маркерами воспаления и гомоцистеином при коронарном атеросклерозе.

Материалы и методы. В исследование были включены 92 мужчины в возрасте 46–79 лет с коронароангиографически верифицированным коронарным атеросклерозом. В сыворотке крови определяли концентрации адипонектина, лептина, резистина, фактора некроза опухоли α (ФНО α), интерлейкина 1 β (ИЛ1 β), интерлейкина 6 (ИЛ6), интерлейкина 8 (ИЛ8), С-реактивного протеина (СРП), гомоцистеина. Активность процессов перекисного окисления липидов в выделенных из сыворотки крови липопротеинах низкой плотности (ЛНП) определяли по концентрации малонового диальдегида (МДА).

Результаты. У мужчин с коронарным атеросклерозом концентрация адипонектина в крови составила $9,04 \pm 0,92$ мкг/мл, резистина $8,3 \pm 0,58$ нг/мл. При этом уровень лептина был повышенным – $20,64 \pm 3,69$ нг/мл. Прямая корреляционная связь с индексом массы тела была выявлена для лептина ($p < 0,01$). Также корреляционные связи были обнаружены между резистином и СРП ($r = 0,520$, $p < 0,01$), резистином и ИЛ6 ($r = 0,324$, $p < 0,05$), резистином и исходным уровнем малонового диальдегида ($r = 0,401$, $p < 0,01$). Средние уровни основных провоспалительных цитокинов интерлейкина 6 и интерлейкина 8 были повышенными, $11,73 \pm 2,01$ нг/мл и $8,79 \pm 1,07$ нг/мл соответственно. При этом уровень продуктов малонового альдегида в крови был значительно повышен, по сравнению со средними популяционными значениями.

Заключение. При коронарном атеросклерозе выявлены повышенные концентрации основных маркеров активности воспалительного процесса (ИЛ6, ИЛ8, СРП, МДА). Содержание гормонов жировой ткани адипонектина и резистина соответствует нормальным значениям, а уровень лептина – повышен. Выявлены прямые корреляционные связи между лептином и степенью окислительного стресса, между резистином и СРП, резистином и ИЛ6, резистином и исходным уровнем МДА.

Ключевые слова: адипонектин, лептин, резистин, коронарный атеросклероз, цитокины, гомоцистеин.

The relationship of hormones of adipose tissue with inflammatory markers and homocysteine in coronary atherosclerosis

E. M. Stakhneva¹, E. V. Kashtanova¹, Ya. V. Polonskaya¹, A. V. Kurguzov², O. V. Kamenskaya², Yu. I. Ragino¹, A. M. Chernyavskiy²

¹ Federal State Budgetary Scientific Institution of Internal and Preventive Medicine, Novosibirsk, Russia

² Meshalkin Institute of Circulatory Diseases, Ministry of Health of the Russian Federation, Novosibirsk, Russia

Abstract

Research purpose. To study the relationship of hormones of adipose tissue with inflammatory markers and homocysteine in coronary atherosclerosis.

Material and methods. The study included 92 men aged 46–79 years with verified coronary angiographic coronary atherosclerosis. In the serum was determined the concentrations of adiponectin, leptin, resistin, tumor necrosis factor α (TNF α), interleukin 1 β (IL1 β), interleukin 6 (IL6), interleukin 8 (IL8), C-reactive protein (CRP), homocysteine. The activity of processes of lipid peroxidation in isolated from the serum the low-density lipoproteins (LDL) was determined by the concentration of malondialdehyde (MDA).

Results. In men with coronary atherosclerosis, the concentration of adiponectin in blood was $9,04 \pm 0,92$ mg/ml, resistin was 8.3 ± 0.58 ng/ml, the level of leptin was increased – $20,64 \pm 3,69$ ng/ml. Direct correlation with the body mass index was identified for leptin ($p < 0.01$).

Correlations were also found between resistin and CRP ($r = 0,520$, $p < 0.01$), resistin and IL ($r = 0,324$, $p < 0.05$), resistin and the initial level of malonic dialdehyde ($r = 0,401$, $p < 0.01$). The average levels of key proinflammatory cytokines interleukin 6 and interleukin 8 were elevated, $11,73 \pm 2,01$ PG/ml and of $8.79 \pm 1,07$ PG/ml, respectively. The level of products of malonic aldehyde in the blood was significantly elevated, compared with the average population values.

Conclusions. In the case of coronary atherosclerosis detected elevated concentrations of the major markers of inflammatory activity (IL, IL, PSA, MDA). The content of adipose tissue hormones adiponectin and resistin corresponds to normal values, and the level of leptin is elevated. Direct correlation between leptin and the degree of oxidative stress between resistin and PSA, resistin and IL, resistin, and baseline levels of MDA.

Keywords: adiponectin, leptin, resistin, coronary atherosclerosis, cytokines, homocysteine.

Введение

В литературе, посвященной патогенезу атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний, в последнее время активно обсуждаются антиатерогенные свойства гормонов жировой ткани (адипокинов). Как показывают исследования, понимание физиологической роли жировой ткани за последнее время значительно изменилось. Помимо основных функций жировая ткань обладает ещё и функциями эндокринного органа, секретующего значительное количество гормонов и биологически активных белков, необходимых для нормального функционирования организма. К ним относятся: лептин, резистин, адипонектин, липопротеиновая липаза, белок, связывающий ретинол, интерлейкин 6, инсулиноподобный фактор роста-1 и многие другие [1, 2, 3]. Связь адипокинов с развитием сердечно-сосудистых заболеваний не вызывает сомнений, т.к. нарушения липидного спектра крови и развитие инсулинорезистентности взаимосвязаны [4, 5]. Гормоны жировой ткани, за исключением адипонектина, снижают чувствительность периферических тканей к инсулину, что сопровождается повышением степени выраженности инсулиновой резистентности, которая участвует и является основным звеном в патогенезе сахарного диабета 2-го типа. Влияние адипонектина на состояние инсулиновой резистентности противоположно действию других гормонов жировой ткани, при сахарном диабете 2-го типа концентрация этого гормона снижена [6, 7]. Наиболее значимыми эффектами адипонектина являются повышение чувствительности тканей к ин-

сулину, угнетение продукции глюкозы печеночными клетками и стимуляция ее усвоения мышцами, стимуляция оксидации жирных кислот, уменьшение внутриклеточного накопления триглицеридов. При повреждении сосудистой стенки адипонектин быстро накапливается в субэндотелиальном пространстве, ингибируя при этом экспрессию молекул адгезии, аккумуляцию окисленных липопротеидов низкой плотности и последующее превращение макрофагов в пенистые клетки. Адипонектин подавляет также пролиферацию гладкомышечных клеток и тормозит развитие воспалительного процесса, угнетая секрецию фактора некроза опухоли α (ФНО- α) [8]. Секреция адипонектина в наибольшей степени определяется количеством висцеральной жировой ткани и существенно снижена при ожирении. Уровень адипонектина обратно коррелирует с индексом массы тела (ИМТ) [9].

Целью данного исследования было изучение взаимосвязей гормонов жировой ткани с маркерами воспаления и гомоцистеином при коронарном атеросклерозе.

Материалы и методы

Исследование проведено в рамках Программы совместных научно-исследовательских работ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины» и ФГБУ «Новосибирский Научно-исследовательский институт патологии кровообращения им. академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения РФ (ФГБУ «ННИИПК» Росздрава) на 2011–2016 гг. Проведение исследования было

одобрено Этическими комитетами учреждений. В исследование были включены 92 мужчины в возрасте 46–79 лет с коронароангиографически верифицированным коронарным атеросклерозом, без острого коронарного синдрома со стабильной стенокардией напряжения, поступивших на лечение в Клинику ФГБУ «ННИИПК им. акад. Е. Н. Мешалкина» Росздрава РФ. Критериями исключения пациентов из исследования были инфаркт миокарда давностью менее 6 месяцев, острые и обостренные хронических инфекционно-воспалительных заболеваний, почечная недостаточность, активные заболевания печени, онкологические заболевания, гиперпаратиреоз. Всеми пациентами заполнялась форма Информированного согласия на участие в исследовании.

Материал исследования – сыворотка крови. Забор материала проводился из локтевой вены утром через 12 часов после последнего приема пищи. Во всех образцах методом иммуноферментного анализа (ИФА) определяли концентрации адипонектина, лептина, резистина, фактора некроза опухоли α (ФНО α), интерлейкина 1β (ИЛ 1β), интерлейкина 6 (ИЛ6), интерлейкина 8 (ИЛ8), С-реактивного протеина (СРП), гомоцистеина на ИФА анализаторе Multiscan EX (Thermo Electron).

Активность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в выделенных из сыворотки крови липопротеинов низкой плотности (ЛНП) определяли по исходному уровню концентрации маркера перекисного окисления липидов – малонового диальдегида (МДА) и резистентности ЛНП к окислению через 30 минут инкубации ЛНП с ионами меди *in vitro* фотометрическим методом на спектрофотометре (Unico 1201, США).

Степень окислительного стресса и общую антиоксидантную способность определяли в сыворотке крови при помощи тестов FORT и FORD. Данные тесты разработаны для наиболее полной и быстрой оценки окислительного стресса и антиоксидантного потенциала организма на анализаторе FORM Plus (Callegari, Италия).

Статистическую обработку результатов проводили в программе SPSS (версия 13.0) с применением дисперсионного анализа и корреляционного анализа с применением коэффициента Пирсона. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Среди регуляторных гормонов жировой ткани основное внимание привлекает адипонектин, участвующий в регуляции энергетического обмена и составляющий около 0,01% протеинов плазмы крови. Уровень его в крови варьирует от 3 до 30 мкг/мл, причем у женщин средний уровень выше на 50%, чем у мужчин. Секреция адипонектина снижается при ожирении [10, 11]. Адипонектин повышает чувствительность тканей к инсулину,

уменьшает содержание липидов в клетках. Механизмы действия адипонектина продолжают интенсивно изучаться [6, 12].

У мужчин с коронарным атеросклерозом в нашем исследовании концентрация адипонектина в крови составила $9,04 \pm 0,92$ мкг/мл, что соответствует нормальному содержанию в крови этого показателя.

Лептин – гормон, секретируемый адипоцитами, участвующий в регуляции массы тела и энергетическом обмене организма. Концентрация лептина повышается при увеличении количества жировой ткани, воздействии голода или переедании [11, 13]. Данные взаимосвязи лептина с провоспалительными маркерами носят неоднозначный характер. С одной стороны, концентрация лептина снижается воспалительными цитокинами, такими как ИЛ1, ИЛ6, ФНО α , которые продуцируют адипоциты [14]. С другой стороны, существуют исследования, подтверждающие косвенную атерогенную роль повышенной концентрации лептина. Лептин способствует накоплению активных форм кислорода в эндотелиальных клетках, приводящему к хроническому окислительному стрессу и развитию дисфункции [11, 15].

В нашем исследовании у пациентов уровень лептина составил $20,64 \pm 3,69$ нг/мл. Высокий уровень лептина в крови, по-видимому, объясняется тем, что пациенты с коронарным атеросклерозом в большинстве своем обладают повышенной массой тела. Среднее значение индекса массы тела в группе пациентов – $28,4 \pm 0,47$, а средняя масса тела – $83,39 \pm 1,51$ кг (min/max – 55/130 кг).

Проведенный корреляционный анализ выявил прямую связь лептина с индексом массы тела $r = 0,403$ ($p < 0,01$). Кроме того, нами были установлены положительные корреляционные связи между лептином и степенью окислительного стресса (FORT) ($r = 0,493$, $p < 0,05$). А также отрицательная корреляционная связь между лептином и общей антиоксидантной способностью (FORD) ($r = -0,498$, $p < 0,05$).

Резистин, гормон, входящий в группу адипокинов, влияет на жировой обмен по принципу обратной связи: его концентрация повышается при дифференциации адипоцитов, но при этом резистин ингибирует адипогенез [16, 17]. В нашей экспериментальной группе пациентов уровень резистина был $8,3 \pm 0,58$ нг/мл. По некоторым данным, резистин как связующим звеном между ожирением и развитием сахарного диабета и гипертонической болезни [16]. Косвенно это подтверждается нашими результатами: положительная корреляционная связь была обнаружена между резистином и СРП ($r = 0,520$, $p < 0,01$), резистином и ИЛ6 ($r = 0,324$, $p < 0,05$), резистином и исходным уровнем МДА ($r = 0,401$, $p < 0,01$).

Повышение концентрации в крови гомоцистеина способно приводит к увеличению риска

Таблица 1. Уровни гормонов жировой ткани, маркеров воспаления, окислительно-антиоксидантных показателей и индекс массы тела у мужчин с коронарным атеросклерозом

Показатель	M±m
Адипонектин, мкг/мл	9,04 ± 1,92
Резистин, нг/мл	8,35 ± 0,58
Лептин, нг/мл	20,64 ± 3,69
С-реактивный протеин, мкг/мл	9,94 ± 0,98
Гомоцистеин, мкмоль/л	15,04 ± 0,57
Фактор некроза опухоли α, пг/мл	2,58 ± 0,24
Интерлейкин 1β, пг/мл	1,14 ± 0,08
Интерлейкин 6, пг/мл	11,73 ± 2,01
Интерлейкин 8, пг/мл	8,79 ± 1,07
FORT, ммоль/л	2,13 ± 0,14
FORD, ммоль/л	0,87 ± 0,07
Исходный уровень МДА, нМ МДА/мг белка ЛНП	3,06 ± 0,28
Уровень МДА через 30 минут, нМ МДА/мг белка ЛНП	21,85 ± 1,29
Индекс массы тела	28,4 ± 0,47

Примечание: в таблице приведены средние значения показателей ± ошибка среднего (M±m); МДА – малоновый диальдегид; ЛНП – липопротеины низкой плотности.

атеросклеротических поражений сосудов: образуются повреждения эндотелия, провоцирующие образование тромбов и атеросклеротических бляшек [18]. Концентрация гомоцистеина в крови у пациентов с коронарным атеросклерозом в нашем исследовании составила в среднем – 15,04 ± 0,57 мкмоль/л, при нормальных значениях до 16,0 мкмоль/л.

Кроме того, воспаление играет основную роль в инициации и развитии атеросклеротических поражений и является пусковым механизмом развития сердечно – сосудистых осложнений. Повышенные концентрации гомоцистеина индуцируют ПОЛ, который запускает каскад провоспалительных цитокиновых реакций в организме [18, 19]. В исследовании средние уровни основных провоспалительных цитокинов ИЛ6 и ИЛ8 были повышенными, 11,73 ± 2,01 пг/мл и 8,79 ± 1,07 пг/мл соответственно. При этом уровень продуктов МДА в крови был значительно повышен – исходная концентрация МДА составила 3,06 ± 0,28 нМ МДА/мг белка ЛНП, по сравнению со средними популяционными значениями [20]. Содержание МДА через 30 минут окисления ЛНП с ионами меди *in vitro* так же было повышенным – 21,85 ± 1,29 нМ МДА/мг белка ЛНП. Но при этом концентрации

ИЛ1β и ФНОα оставались в пределах нормальных значений (таб.1). Также был повышен уровень основного острофазного белка – С-реактивного протеина, средний уровень которого составил 9,94 ± 0,98 мкг/мл.

Заключение

Таким образом, при коронарном атеросклерозе выявлены повышенные концентрации основных маркеров активности воспалительного процесса (ИЛ6, ИЛ8, СРП, МДА). Содержание гормонов жировой ткани адипонектина и резистина соответствует нормальным значениям, а уровень лептина – повышен. При этом, выявлены прямые корреляционные связи между лептином и степенью окислительного стресса ($r=0,493$, $p<0,05$), между резистином и СРП ($r=0,520$, $p<0,01$), резистином и ИЛ6 ($r=0,324$, $p<0,05$), резистином и исходным уровнем МДА ($r=0,401$, $p<0,01$).

Конфликт интересов

Конфликт интересов отсутствует.

Список литературы

1. Schaffler A, Muller-Ladner U, Scholmerich J, Buchler C. Role of adipose tissue as an inflammatory organ in human diseases. *Endocr Rev*; 2006;27(5):449-67.
2. Hopkins TA, Ouchi N, Shibata R, Walsh K. Adiponectin actions in the cardiovascular system. *Cardiovasc Res*; 2007;74(1):11-8.
3. Lefterova M, Lazar M. New developments in adipogenesis. *Trends Endocrinol Metab*; 2009;20(3):107-14.
4. Teryaeva N. B. Adiponectin: regulation of energy metabolism and the pathogenesis of cardiovascular disease. *Creative cardiology*; 2007;1-2:20-5. Russian (Теряева Н. Б. Адипокины: регуляция энергетического метаболизма и патогенез сердечно-сосудистых заболеваний. Креативная кардиология; 2007;1-2:20-5).
5. Rajala M. W., Scherer P. E. Minireview: The adipocyte - at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. *Endocrinol*; 2003;144(9):3765-73
6. Kudinov V. A., Zakharov A. A., Lyashenko A. A. The Receptors for adiponectin as a target for estrogen dependent correction hyperplastic process. *Problems of reproduction*; 2009;5:9-13. Russian (Кудинов В.А., Захаров А.А., Ляшенко А.А. Рецепторы к адипонектину как мишени для коррекции эстрогензависимых гиперпластических процессов. Проблемы репродукции; 2009;5:9-13).
7. Tanansky D. A., Firova, E. M., Sbatilina L. V., Denisenko A. D. The relationship of adiponectin levels with the metabolism of lipids and carbohydrates in women: role of body weight. *Vestnik St. Petersburg University*; 2008;4(11):53-61. Russian (Тананский Д.А., Фирова Э.М., Шатулина Л.В., Денисенко А.Д. Связь уровня адипонектина с обменом липидов и углеводов у женщин: роль массы тела. Вестник Санкт-Петербургского университета; 2008;4(11):53-61).
8. Furubashi M., Nobuyuki U., Moniwa N., Shinsai Y., Kouzu H., Nishibara M., Kokubu N., Takahashi T., Sakamoto K., Hayashi M., Satoh N., Nishitani T., Shikano Y., Shimamoto K. Possible Impairment of Transcardiac Utilization of Adiponectin in Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*; 2004;27(9):2217-21.
9. Snop M, Havel PJ, Utzschneider KM, Carr DB, Sinha MK, Boyko EJ, Retzlaff BM, Knopp RH, Brunzell JD, Kahn SE. Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and sex. *Diabetologia*; 2003;46(4):459-69.
10. Page ST, Herbst KL, Amory JK, Coviello AD, Anawalt BD, Matsumoto AM, Bremner WJ. Testosterone administration suppresses adiponectin levels in men. *J Androl*; 2005;26(1):85-92
11. Ghantous CM, Azrak Z, Hanache S, Abou-Kheir W, Zeidan A. Differential role of leptin and adiponectin in cardiovascular system. *Int J Endocrinol*; 2015;2015:534320.
12. Schnabel R, Messow CM, Lubos E, Espinola-Klein C, Rupprecht HJ, Bickel C, Sinning C, Tzikas S, Keller T, Genth-Zotz S, Lackner KJ, Mynzel TF, Blankenberg S. Association of adiponectin with adverse outcome in coronary artery disease patients: results from the AtheroGene study. *Eur Heart J*; 2008;29(5):649-57.
13. Huang L, Li C. Leptin: a multifunctional hormone. *Cell Res*; 2000;10(2):81-92
14. Ametov A. S., Demidova T. Yu, A. L. Effect of leptin on body weight regulation. *Consilium medicum: Journal of evidence-based medicine for clinicians*; 2001;3(2):309-16. Russian (Аметов А.С., Демидова Т.Ю., Целиковская А.Л. Влияние лептина на регуляцию массы тела. *Consilium medicum: Журнал доказательной медицины для практикующих врачей*; 2001;3(2):309-16).
15. Bouloumie A, Marumo T, Lafontan M, Busse R. Leptin induces oxidative stress in human endothelial cells. *FASEB J*; 1999;13(10):1231-8.
16. Kadykova O. I. the Role of adipose tissue hormones in the Genesis of insulin resistance in patients with hypertension and diabetes mellitus of the 2nd type. *Int Med J*; 2012;2:54-7. Russian (Кадыкова О. И. Роль гормонов жировой ткани в генезе инсулинорезистентности у больных гипертонической болезнью и сахарным диабетом 2-го типа. *Международный медицинский журнал*; 2012;2:54-7).
17. Fontana A, Spadaro S, Copetti M, Spoto B, Salvemini L, Pizzini P, Frittitta L, Mallamaci F, Pellegrini F, Triscitta V, Menzaghi C. Association between resistin levels and all-cause and cardiovascular mortality: a new study and a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*; 2015;10(3):e0120419.
18. Ragino Yu. I., Safronov I. D., Motina O. V., Ivanova M. V., Nikitin Yu. P. The relationship of hyperhomocysteinemia with oxidative-antioxidative disorders in men, Novosibirsk. *Bull SB RAMS*; 2008;2(130):78-82. Russian (Рагино Ю.И., Сафронов И.Д., Мотина О.В., Иванова М.В., Никитин Ю.П. Связь гипергомоцистеинемии с окислительно-антиоксидантными нарушениями у мужчин Новосибирска. *Бюллетень СО РАМН*; 2008;2(130):78-82).
19. Ragino Yu. I., Chernyavsky, A. M., A. Volkov, Volkov I. I., Voevoda M. I. Factors and mechanisms of development of coronary atherosclerosis. Novosibirsk: *Nauka*; 2011. Russian (Рагино Ю.И., Чернявский А.М., Волков А.М., Волкова И.И., Воевода М.И. Факторы и механизмы развития коронарного атеросклероза. Новосибирск: *Наука*; 2011).
20. Ragino Yu. I., Krivtsum A. S., Ivanova M. V., Shcherbakova L. V., Malyutina S. K., Nikitin Yu. P., Voevoda M. I. Oxidative-antioxidant changes of lipoproteins and their association with some risk factors of atherosclerosis in the male population of Novosibirsk. *Russ J. Cardiol*; 2012;2:56-62. Russian (Рагино Ю. И., Кривчун А. С., Иванова М. В., Щербакова Л. В., Малютина С. К., Никитин Ю. П., Воевода М. И. Окислительно-антиоксидантные изменения липопротеинов низкой плотности и их ассоциации с некоторыми факторами риска атеросклероза в популяции мужчин Новосибирска. *Росс. кард. журнал*; 2012;2:56-62).