

## РОЛЬ ЖИРОВОЇ ТКАНИНИ ТА АДИПОКІНІВ У РОЗВИТКУ ХРОНІЧНОГО ЗАПАЛЕННЯ НА ФОНІ МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ

Доц. Н. А. ШУТОВА, проф. І. Ю. КУЗЬМІНА

*Харківський національний медичний університет, Україна*

Для встановлення ролі жирової тканини та адипокінів у розвитку хронічного запалення проведено моделювання метаболічного синдрому на білих самках щурів. Доведено, що підвищення рівня лептину зумовлює спонтанну продукцію прозапальних цитокінів та мононуклеарних лейкоцитів у крові, що патогенетично взаємопов'язане з розвитком недиференційованого хронічного запалення. Зміна цитокінового профілю в сироватці крові щурів може бути не тільки ознакою розвитку цього виду запалення жирової тканини, але й прогностичним маркером ефективності лікування метаболічного синдрому, що виникає на тлі ожиріння.

*Ключові слова: ожиріння, метаболічний синдром, недиференційоване хронічне запалення, цитокіни.*

В основі розвитку метаболічного синдрому (МС) лежить надлишкове надходження в організм енергетичних речовин — жирів або легкозасвоюваних вуглеводів [1]. Наслідками цього є ожиріння, інсулінорезистентність, розвиток цукрового діабету 2-го типу та серйозні порушення ліпідного обміну, що призводять до стеатогепатиту і атеросклерозу [2].

Найбільш актуальним є питання, що об'єднує ожиріння та інсулінорезистентність, а саме — хронічне субклінічне запалення. Запалення позначається на метаболічній і секреторній функціях жирової тканини і відіграє провідну роль у розвитку патологічних процесів, що супроводжують ожиріння [3]. За сучасними уявленнями, в білій жировій тканині синтезується велика кількість біологічно активних речовин (БАР) (лептин, фактор некрозу пухлини- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), інтерлейкін-1 $\beta$  (ІЛ-1 $\beta$ ), інші інтерлейкіни тощо, які, з одного боку, потрапляючи у кров, чинять системну дію на організм у цілому, з іншого — можуть бути регуляторами метаболізму ліпопротеїнів [4]. Отже, адипоцитокіни являють собою клітини, функціональна активність яких у вигляді синтезу ліпідів, накопичення і секреції БАР підвищується при ожирінні [5].

Жирова тканина виконує ауто-, пара- та ендокринну функції і може впливати на роботу інших органів, включаючи судинну стінку організму, секретує велику кількість речовин, що можуть спричинити розвиток супровідних ожирінню ускладнень, у тому числі й хронічного запального процесу [6].

Запальний процес вирішальним чином позначається на метаболічній та секреторній функціях жирової тканини і відіграє провідну роль у розвитку патологічних процесів. Морфологічною основою запалення жирової тканини при ожирінні є її інфільтрація імунокомпетентними клітинами, що дає змогу розглядати її не тільки як ендокринний орган, а і як орган імунної системи [7]. У тепе-

рішній час відомо, що цілий спектр БАР (адипонектин, лептин, резистин та ін.) синтезується саме в адипоцитах, крім цього, утворюються трансмітери ендокринних або паракринних сигналів (моноцитарний хемоатрактантний білок-1 і ІЛ-6), які можуть запускати механізми запалення, що порушують чутливість адипоцитокінів до інсуліну [8].

Існує два типи адипоцитокінів: специфічні для жирової тканини БАР і такі, що в достатку виділяються жировою тканиною, але не є специфічними для неї. До специфічних для жирової тканини адипоцитокінів належать адипонектин і лептин [9].

Лептин — це білковий гормон, що секретується виключно в адипоцитах. Є дані, що він стимулює клітинну імунну відповідь та збільшує продукцію прозапальних цитокінів [10]. Адипонектин — колагеноподібний білок, що також виділений із адипоцитів, фізіологічна роль якого повністю не вивчена. Передбачається, що цей адипоцитокін має протизапальні властивості [11].

При розвитку МС концентрація адипонектину в крові знижується, а лептину — підвищується, що є безперечним маркером розвитку цієї патології та ожиріння [12].

Мета нашого дослідження — установити взаємозв'язок рівня лептину в сироватці крові з маркерами системного запалення і спонтанною продукцією прозапальних цитокінів та мононуклеарними лейкоцитами крові при МС.

Дослідження проведено на 24 білих самках щурів популяції WAG/GSto віком 5–6 міс з масою тіла до початку дослідження  $240 \pm 14,7$  г.

Для моделювання МС щурів було розділено на дві групи: основну ( $n = 18$ ) та контрольну ( $n = 6$ ). Контрольна група тварин, що перебувала у стандартних умовах віварію, була вибрана для порівняння показників аналізів з основною групою.

Експерименти було проведено відповідно до Загальних принципів експериментів на тваринах,

схвалених I Національним конгресом з біоетики (20 вересня 2001 р, м. Київ) і узгоджених із положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей.

Для моделювання МС щурам основної групи одноразово на тиждень робили підшкірні ін'єкції бетаспану (20 мкг/кг маси), розчиненого в 0,2 мл очищеної і стерилізованої оливкової олії протягом 6 тиж. Ауротіоглюкоза застосовувалась інтраперитонеально шляхом введення щурам 10 мкг/кг одноразово на тиждень протягом 6 тиж. Використовували для щурів висококалорійну дієту впродовж усього періоду експерименту [13]. Ця експериментальна модель призводить до розвитку «добровільної» гіперфагії, оскільки тваринам поряд зі стандартним раціоном пропонують висококалорійні продукти. Змішаний раціон призводить до збільшення ваги тварин, площі адипоцитів і поступового розвитку гіперглікемії, інсулінорезистентності та МС. У цьому випадку механізм інсулінорезистентності – рецепторний. За рахунок збільшення площі адипоцитів відбувається зменшення кількості інсулінових рецепторів на одиницю площі.

У тварин обох груп оцінювали масу тіла, концентрацію глюкози, інсуліну, тригліцеридів (ТГ), загального холестерину у крові (ЗХК), ліпопротеїнів низької (ЛПНЩ) та високої щільності (ЛПВЩ), сечової кислоти (СК), С-реактивного білка (СРБ). Біохімічні показники визначали за допомогою автоматичного біохімічного аналізатора АВХРentra400 (Франція). Концентрацію цитокінів та лептину в сироватці крові встановлювали методом імуноферментного аналізу з використанням сендвіч-методу (ELISA) з набором виробництва Diagnostics Biochem Canada Inc. Leptin ELISA (Канада), інсуліну – набором ви-

робництва ELISA (EIA-2935). Визначення рівня експресії поверхневих маркерів лімфоцитів CD3+, CD4+, CD8+ і CD16+ здійснювали з використанням відповідних моноклональних антитіл (МКАТ) із мембранними CD-рецепторами згідно з інструкцією виробника МКАТ (Beckman Coulter (Франція) і BD Biosciences (США)). Статистична обробка отриманих даних проводилася із застосуванням пакета програм Statistica10.0 (StatSoftInc., США). Відмінності кількісних показників між досліджуваними групами оцінювали методами статистичного аналізу для незалежних вибірок із використанням *t*-критерію Стьюдента.

Динаміку змін показників артеріального тиску, концентрації глюкози, інсуліну, ТГ, ЗХК щурів контрольної та основної груп наведено у табл. 1.

У проведеному експериментальному моделюванні МС доведено, що у тварин основної групи є достовірні відмінності з контрольною групою щурів у ліпідному спектрі крові. ЗХК до кінця експерименту підвищився в 4,13 разу, ТГ – в 1,7 разу, ЛПНЩ – у 10,3 разу.

Артеріальний тиск почав достовірно підвищуватися вже з третього тижня та наприкінці експерименту збільшився у 2,2 разу, маса тварин підвищилася майже удвічі.

Таким чином, через 6 тиж після початку експерименту у тварин спостерігаємо поступове розвинення ожиріння, гіперглікемії, гіперінсулінемії, жирового гепатозу, що, у свою чергу, призводить до розвитку резистентності тканин до інсуліну, зниженню метаболізму глюкози в м'язах, молекулярних дефектів сигнальних шляхів до інсуліну.

Проведені дослідження з визначення концентрації у сироватці крові адипокінів підтверджують розвиток у щурів основної групи ожиріння та МС.

Важливою особливістю адаптивної системи імунітету є вибіркове залучення до імунної від-

Таблиця 1

Динаміка змін основних показників дослідження у щурів контрольної та основної груп залежно від маси тіла та тривалості розвитку метаболічного синдрому

Показники	Контрольна група, n = 6	Основна група, n = 18			
		час спостереження (тижні)			
		3-й	4-й	5-й	6-й
Артеріальний тиск, кПа	11,3±0,2	16,7±0,4*	18,7±1,1	22,2±1,1*	25,0±2,2*
Маса тіла, г	245±14,2	384±14,9*	411±17,3*	448±14,2*	480±16,4*
Концентрація глюкози, ммоль/л	4,3±0,3	11,2±1,4*	13,3±1,1*	14,7±1,03*	15,2±0,7*
Концентрація інсуліну, нг/мл	0,63±0,13	0,70±0,1	0,73±0,2	0,78±0,14	1,04±0,22*
СРБ, мг/л	4,27±0,11	4,55±0,18	4,98±0,22	5,53±0,26*	6,20±0,23*
СК, ммоль/л	135,1±13,4	158,5±14,1	171,3±12,2*	185,1±11,1*	196,9±15,2*
ЗХК, ммоль/л	0,84±0,16	1,73±0,3*	2,45±0,3*	3,35±0,22*	3,66±0,25*
ТГ, ммоль/л	0,72±0,06	0,92±0,02	1,13±0,02*	1,28±0,03*	1,35±0,07*
Ліпопротеїни, ммоль/л:					
низької щільності	0,26±0,06	0,79±0,02	1,84±0,01*	2,4±0,2*	2,9±0,25*
високої щільності	0,27±0,04	0,29±0,01	0,32±0,01	3,5±0,06*	0,37±0,06*

\* *p* < 0,05 – відмінності статистично значущі порівняно з контрольною групою. Те саме в табл. 2.

повіді імунотетентних клітин, що експресують рецептори до певних антигенних детермінант [14]. У зв'язку з цим визначали субпопуляційний склад мононуклеарних лейкоцитів.

Установлено, що відносний вміст лімфоцитів CD3+, CD4+ (in vitro) зменшується зі збільшенням маси тварин і рівня лептину. Для того щоб оцінити функціональну активність мононуклеарних лейкоцитів, визначали рівень спонтанної продукції про- і протизапальних цитокінів при МС порівняно з різним рівнем лептину в сироватці крові (табл. 2).

Виявлено статистично значуще переважання концентрації прозапальних цитокінів: IL-1 $\beta$ , 6, 8, 10, TNF- $\alpha$  у супернатантах мононуклеарних лейкоцитів при підвищенні концентрації лептину, що узгоджується з точкою зору про здатність лептину стимулювати клітинний імунітет і впливати на продукцію прозапальних цитокінів [15].

При дослідженні імунного статусу виявлялися типові ознаки хронічного запального синдрому з наявністю клітинного імунodefіциту (зниження CD3+, CD4+-лімфоцитів, кількісний дисбаланс імунорегуляторних клітин) у щурів з ожирінням та МС.

Статистично значущі відмінності за рівнем експресії CD4+-лімфоцитів залежно від рівня лептину в сироватці крові також свідчать про стимулюючий вплив останнього на імунотетентні клітини і характеризують роль жирової тканини у системній запальній відповіді.

Виявлені зміни імунного статусу відповідають наявності імуносупресії, що є результатом активності запального процесу. TNF- $\alpha$  при прогресуванні МС підвищений і прямо корелює з індексом маси тіла і концентрацією лептину в крові. Можливо, що експресія TNF- $\alpha$  збільшується з розвитком ожиріння з метою обмеження прогресування жирової тканини за рахунок здатності лептину при-

гнічувати експресію ферментів, які беруть участь у ліпогенезі [16].

Прогресуючий розвиток ожиріння і формування метаболічних ускладнень є результатом хронічного запалення жирової тканини (ЖТ) і її дисфункції як ендокринного і імунотетентного органу [7]. Патогенез запалення при абдомінальному ожирінні і МС складний, і у його формуванні значну участь бере на себе ЖТ, що синтезує велику кількість адипоцитокінів, серед яких велика увага приділяється лептину. Провідними етіологічними чинниками запалення ЖТ є аліментарний надлишок жирів і вуглеводів, зміна секреції адипоцитокінів і цитокінів. Відомо, що лептин стимулює активацію симпатoadреналової системи, яка лежить в основі інсулінорезистентності та артеріальної гіпертонії [17]. Стан інсулінорезистентності сприяє зниженню концентрації лептинових рецепторів і підвищенню рівня лептину в крові. У таких умовах розвивається трансформація ефектів лептину: він активує запалення, стимулює кальцифікацію судин, ініціює окислювальний стрес, підвищує тонус симпатичної нервової системи, змінює цитокінову регуляцію, що відіграє важливу роль у патогенезі запальних уражень [18].

Поряд із лейкоцитами адипоцити синтезують широкий спектр адипокінів, беруть участь в активації комплементу, запускаючи ланцюг запальних процесів, при цьому запалення набуває стійкого, системного характеру невисокої інтенсивності, яке визначають як недиференційоване хронічне запалення. Структурні особливості лептину дають змогу віднести його до сімейства прозапальних цитокінів — білків, що підтримують запалення. На гуморальному рівні лептин стимулює продукцію ряду прозапальних цитокінів, які сприяють синтезу в печінці білків гострої фази.

Таблиця 2

**Порівняльний аналіз показників вмісту цитокінів та CD+-лімфоцитів (%) у досліджуваних групах**

Показники	Контрольна група, n = 6	Основна група, n = 18			
		час спостереження (тижні)			
		3-й	4-й	5-й	6-й
Лептин, нг/мл	4,4 $\pm$ 1,1	5,9 $\pm$ 0,8	8,4 $\pm$ 0,7	11,6 $\pm$ 1,2	15,9 $\pm$ 1,7
CD3+-лімфоцити	44,3 $\pm$ 1,9	36,4 $\pm$ 1,6*	29,7 $\pm$ 1,3*	25,7 $\pm$ 1,3*	23,1 $\pm$ 1,5*
CD4+-лімфоцити	29,5 $\pm$ 2,1	26,9 $\pm$ 0,8*	22,1 $\pm$ 0,7*	17,4 $\pm$ 0,6*	15,1 $\pm$ 0,3*
CD8+-лімфоцити	18,5 $\pm$ 0,3	13,8 $\pm$ 0,9*	13,2 $\pm$ 0,6*	13,0 $\pm$ 0,8*	12,5 $\pm$ 0,5*
CD16+-лімфоцити	8,3 $\pm$ 0,8	15,2 $\pm$ 1,1*	15,9 $\pm$ 1,0*	16,3 $\pm$ 0,9*	17,2 $\pm$ 0,9*
IL-1 $\beta$ , пг/мл	53,5 $\pm$ 8,2	63,1 $\pm$ 9,2	74,2 $\pm$ 7,6*	82,5 $\pm$ 6,8*	109,7 $\pm$ 9,2*
IL-4, пг/мл	1,41 $\pm$ 0,07	1,37 $\pm$ 0,01*	1,34 $\pm$ 0,04*	1,22 $\pm$ 0,06*	1,2 $\pm$ 0,02*
IL-6, пг/мл	110,5 $\pm$ 13,4	157,8 $\pm$ 10,2*	198,4 $\pm$ 22,1*	252,3 $\pm$ 20,1*	307,0 $\pm$ 31,4*
IL-8, пг/мл	216,5 $\pm$ 13,3	229,5 $\pm$ 7,2	235,5 $\pm$ 8,5*	242,1 $\pm$ 11,3*	259,4 $\pm$ 13,5*
IL-10, пг/мл	34,8 $\pm$ 2,2	32,2 $\pm$ 1,7	30,8 $\pm$ 1,8*	28,5 $\pm$ 3,0*	26,3 $\pm$ 2,3*
TNF- $\alpha$ , пг/мл	25,07 $\pm$ 7,9	31,2 $\pm$ 5,2	39,7 $\pm$ 10,2*	48,8 $\pm$ 11,3*	63,9 $\pm$ 13,2*

Ці імунологічні порушення, обумовлені підвищеним рівнем лептину та деяких інших цитокінів у крові щурів, дають змогу розглядати ожиріння як хронічне запальне захворювання [19]. Цьому положенню відповідають встановлені позитивні взаємозв'язки рівня лептину з маркерами системного запалення (табл. 2).

Проведені експериментальні дослідження дають змогу зробити такі висновки. Підвищення рівня лептину при метаболічному синдромі є не

тільки симптомом, що характеризує функціональний стан жирової тканини, але і зумовлює спонтанну продукцію прозапальних цитокінів та мононуклеарних лейкоцитів у крові, що патогенетично взаємопов'язане з системною запальною відповіддю. Зміна цитокінового профілю в сироватці крові щурів із експериментальним МС може служити маркером розвитку хронічного запального процесу жирової тканини і прогнозувати ефективність і цілеспрямованість проведення лікування МС.

#### Список літератури

1. Кошурникова А. С., Лукина Е. В. Ожирение и метаболический синдром: вопросы диагностики, профилактики и лечения // Лечащий врач. 2017. № 10. С. 66–69.
2. Плотников Н. В. Клинические и молекулярно-генетические особенности инсулинорезистентности у женщин репродуктивного возраста при ожирении и метаболическом синдроме: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.02. М., 2013. 24 с.
3. Adiponectin and Atherosclerosis in Rheumatoid Arthritis / Н. Patrick et al. // Mediators Inflammation. 2014. Vol. 2014. 10 p.
4. Сметанина С. А. Роль молекулярно-генетических и гормонально-метаболических факторов в формировании метаболического синдрома у женщин с ожирением: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.01.02. М., 2015. 38 с.
5. Профиль адипоцитокинов и эффективность снижения массы тела у пациентов с метаболически здоровым ожирением / Т. И. Романцова и др. // Альманах клинической медицины. 2018. Т. 46, № 3. С. 212–221.
6. Inflammation — and lipid metabolism-related gene network expression in visceral and subcutaneous adipose depots of Holstein cows / P. Ji et al. // J. Dairy Sci. 2014. Vol. 97, № 6. P. 3441–3448. doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7296>
7. Monteiro R., Azevedo I. Chronic inflammation in obesity and the metabolic syndrome // Mediators Inflamm. 2010. Vol. 2010. P. 289645. doi: <https://doi.org/10.1155/2010/289645>
8. Тянянский Д. А. Адипонектин в генезе атерогенной дислипидемии при метаболическом синдроме: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 03.00.04. М., 2009. 21 с.
9. Уровень адипонектина, показатели липидного и углеводного обменов у пациентов с абдоминальным ожирением / О. Д. Беляева и др. // Артериальная гипертензия. 2009. Т. 15, № 3. С. 309–313.
10. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression / G. M. Lord et al. // Nature. 2018. Vol. 394. P. 897–901.
11. The association of adiponectin and visceral fat with insulin resistance and  $\beta$ -cell dysfunction / H. U. Moon et al. // J. Korean Med. Sci. 2019. Vol. 34, № 1. P. 7.
12. Adiponectin-leptin ratio: A promising index to estimate adipose tissue dysfunction. Relation with obesity-associated cardiometabolic risk / G. Frühbeck et al. // Adipocyte. 2018. Vol. 7, № 1. P. 57–62. doi: <https://doi.org/10.1080/21623945.2017.1402151>
13. Патент на винахід № 137024 Україна МПК G09B 23/28 «Спосіб моделювання метаболічного синдрому в експерименті» (І. Ю. Кузьміна, Н. А. Шутова, О. В. Ніколаєва). № 118945; заявл. 11.07.2018; опубл. 25.03.2019, Бюл. № 6.
14. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология. М.: Мир, 2000. С. 169–175.
15. Демьянов А. В., Котов А. Ю., Симбирцев А. С. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике // Цитокины и воспаление. 2003. Т. 2, № 3. С. 20–35.
16. Системное воспаление в патогенезе метаболического синдрома и ассоциированных с ним заболеваний / И. Д. Беспалова и др // Сибирский медицинский журн. 2013. № 2. С. 5–9.
17. Молекулярно-генетическая диагностика предрасположенности к артериальной гипертензии / А. С. Глотов и др. // Клинико-лабораторный консилуим. 2008. Т. 23, № 4. С. 46–50.
18. Leptin and adiponectin DNA methylation levels in adipose tissues and blood cells are associated with BMI, waist girth and LDL-cholesterol levels in severely obese men and women / A. A. Houde et al. // BMC Med. Genet. 2015. Vol. 16. P. 29. doi: <https://doi.org/10.1186/s12881-015-0174-1>
19. Боднар П. М., Скрипник Н. В. Метаболічний синдром: патогенез, діагностика та лікування // Ендокринологія. 2010. Т. 15, № 2. С. 295–304.

## РОЛЬ ЖИРОВОЙ ТКАНИ И АДИПОКИНОВ В РАЗВИТИИ ХРОНИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ НА ФОНЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

Н. А. ШУТОВА, И. Ю. КУЗЬМИНА

Для установления роли жировой ткани и адипокинов в развитии хронического воспаления проведено моделирование метаболического синдрома на белых самках крыс. Доказано, что повышение уровня лептина обуславливает спонтанную продукцию провоспалительных цитокинов

и мононуклеарных лейкоцитов в крови, что патогенетически взаимосвязано с развитием недифференцированного хронического воспаления. Изменение цитокинового профиля в сыворотке крови крыс может быть не только признаком развития этого вида воспаления жировой ткани, но и прогностическим маркером эффективности лечения метаболического синдрома, который возникает на фоне ожирения.

*Ключевые слова: ожирение, метаболический синдром, недифференцированное хроническое воспаление, цитокины.*

## ROLE OF ADIPOSE TISSUE AND ADIPOKINES IN CHRONIC INFLAMMATION DEVELOPMENT ON METABOLIC SYNDROME BACKGROUND

N. A. SHUTOVA, I. Yu. KUZMINA

To establish the role of adipose tissue and adipokines in the development of chronic inflammation, modeling of the metabolic syndrome in white female rats was performed. Elevated leptin levels have been shown to cause a spontaneous production of pro-inflammatory cytokines and mononuclear leukocytes in blood, which is pathogenetically associated with the development of undifferentiated chronic inflammation. The change in the cytokine profile in the serum of rats may be not only a sign of the development of this type of adipose tissue inflammation, but also a prognostic marker of the effectiveness of metabolic syndrome treatment that occurs on the background of obesity.

*Key words: obesity, metabolic syndrome, undifferentiated chronic inflammation, cytokines.*

Надійшла 20.11.2020