

**Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Научно-исследовательский институт комплексных проблем  
сердечно-сосудистых заболеваний»**

На правах рукописи

**Белик Екатерина Владимировна**

**РОЛЬ АДИПОКИНОВ И ИНТЕРЛЕЙКИНА-6  
ЛОКАЛЬНЫХ ЖИРОВЫХ ДЕПО В ПАТОГЕНЕЗЕ  
СТАБИЛЬНОЙ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА**

14.03.03 – патологическая физиология

**Диссертация**

на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

**Научный руководитель:**  
доктор медицинских наук  
Груздева Ольга Викторовна

Томск – 2021

## ОГЛАВЛЕНИЕ

|   | Стр. |
|---|------|
| <b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....   | 5    |
| <b>ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....   | 14   |
| 1.1 Ишемическая болезнь сердца. Современное представление о проблеме...   | 14   |
| 1.2 Локальные жировые депо сердца как факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний.....  | 15   |
| 1.2.1 Эпикардальная жировая ткань.....  | 15   |
| 1.2.2 Периваскулярная жировая ткань.....  | 19   |
| 1.3 Адипоцитокينات и их роль при атеросклерозе.....   | 23   |
| 1.4 Экспрессия генов адипоцитокينات и факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний.....  | 30   |
| 1.5 Экспрессия генов адипоцитокينات и атеросклероз .....  | 36   |
| <b>ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ</b> .....   | 38   |
| 2.1 Общая клиническая характеристика пациентов и распределение их по группам.....   | 38   |
| 2.2 Методы исследования.....  | 42   |
| 2.2.1 Общеклинические и инструментальные методы обследования.....   | 42   |
| 2.2.2 Лабораторные методы исследования.....   | 44   |
| 2.3 Культуральные методы исследования.....  | 44   |
| 2.3.1 Определение концентрации адипоцитокينات в супернатанте культивируемых адипоцитов .....                                    | 46   |
| 2.3.2 Изучение влияния различных концентраций розувастатина на адипоциты <i>in vitro</i> .....                                  | 47   |
| 2.3.3 Определение экспрессии генов адипоцитокينات .....   | 47   |
| 2.4 Статистическая обработка полученных результатов.....  | 50   |
| <b>ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ</b> .....  | 51   |
| 3.1 Экспрессия генов и концентрация адипокинов адипоцитов различных жировых депо у пациентов со стабильной ишемической болезнью |      |

|  |           |
|--|-----------|
| сердца и пороками сердца.....  | 51        |
| 3.2 Экспрессия гена интерлейкина-6 и его содержание в культуре адипоцитов различных жировых депо у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца и пороками сердца.....                        | 57        |
| 3.3 Экспрессия адипоцитокинов и факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца..  | 60        |
| 3.4 Экспрессия генов адипокинов и интерлейкина-6 в различных жировых депо у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца в зависимости от степени поражения коронарного русла.....            | 72        |
| 3.5 Влияние различных концентраций розувастатина на экспрессию генов адипокинов и их содержание в культуре адипоцитов у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца и пороками сердца.....   | 79        |
| 3.6 Влияние различных концентраций розувастатина на экспрессию гена интерлейкина-6 и его содержание в культуре адипоцитов пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца и пороками сердца..... | 87        |
| <b>ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ .....</b>   | <b>91</b> |
| 4.1 Влияние локализации жировых депо на уровень экспрессии и секреции адипокинов.....  | 91        |
| 4.2 Экспрессия и секреция интерлейкина-6 жировыми депо различной локализации.....  | 98        |
| 4.3 Экспрессия адипоцитокинов и факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца.....   | 102       |
| 4.3.1 Пол.....   | 102       |
| 4.3.2 Возраст.....   | 104       |
| 4.3.3 Наличие дислипидемии.....  | 107       |
| 4.3.4 Наличие артериальной гипертензии.....  | 110       |
| 4.3.5 Курение.....   | 111       |
| 4.4 Экспрессия генов адипоцитокинов в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от степени  |           |

|   |            |
|---|------------|
| поражения коронарного русла.....  | 113        |
| 4.5 Влияние различных концентраций розувастатина на экспрессию и секрецию адипокинов.....     | 115        |
| 4.6 Влияние различных концентраций розувастатина на экспрессию и секрецию интерлейкина-6..... | 118        |
| <b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....</b>  | <b>120</b> |
| <b>ВЫВОДЫ.....</b>  | <b>127</b> |
| <b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....</b>   | <b>129</b> |
| <b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>  | <b>132</b> |

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Основной причиной смертности и инвалидизации населения Российской Федерации остаются сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ). Ежегодно от кардиоваскулярных причин умирают приблизительно 3,8 млн. мужчин и 3,4 млн. женщин, причем 1/4 умерших – люди трудоспособного возраста до 65 лет. Среди ССЗ продолжает лидировать ишемическая болезнь сердца (ИБС) [14, 82].

В настоящее время предполагается, что развитию и прогрессированию ИБС может способствовать адипозопатия – функциональное нарушение жировой ткани (ЖТ) висцерально-абдоминальной области, приводящее к реализации неблагоприятных метаболических и иммунных реакций ЖТ. Патологическая активация ЖТ (адипозопатия), в свою очередь, вызывает изменение секреции адипокинов, цитокинов, ферментов, сопровождается субклиническим воспалением, усугубляя метаболические нарушения и способствуя развитию ССЗ [59, 79]. Предполагается, что именно адипозопатия может являться связующим звеном между факторами риска ССЗ и атеросклеротическим процессом.

На сегодняшний день к висцеральной ЖТ (ВЖТ) относятся периваскулярные, эпикардальные и паранефральные жировые депо. Существует мнение, что иммунометаболические особенности ЖТ этих депо являются определяющими в развитии осложнений ожирения, атерогенеза и прогрессировании ССЗ [196]. Адипоциты эпикарда, локализованные в непосредственной близости к очагу поражения – вокруг коронарных артерий (КА) и предсердий, считаются метаболически более активными и продуцируют адипокины, провоспалительные факторы, свободные жирные кислоты (СЖК), способствуя развитию осложнений [1, 6, 43]. Периваскулярная жировая ткань (ПВЖТ), окружающая сосуды различного диаметра и не отделенная от их адвентиции [2], также играет значительную роль: продуцируемые ею хемокины и адипоцитокины взаимодействуют с прилегающей стенкой сосудов, что вызывает

пролиферацию гладкомышечных клеток (ГМК), способствует миграции лейкоцитов в интиму и фиброзу [18, 196]. В то же время, данные зарубежных авторов свидетельствуют о защитной роли ПВЖТ: Gil-Ortega M. et al. показано, что выделяемые ПВЖТ вещества (пероксид водорода, сероводород, апелин, адипонектин) могут вызывать вазодилатацию в условиях контрпродукции ангиотензина II, серотонина, фенилэпинефрина, противодействуя их сосудосуживающему действию [24, 159].

Кроме того, стали появляться сведения о различиях экспрессии генов адипоцитокинов в зависимости от топографического положения ЖТ [112]. Термин «адипоцитокины» (adipo– жир, cyto – клетка, kinos – движение) в настоящее время широко используется для описания группы медиаторов, продуцируемых ЖТ с разнообразными биологическими функциями [196]. К таким веществам относят адипонектин, лептин, провоспалительные цитокины – интерлейкин-6 (ИЛ-6), фактор некроза опухоли (ФНО- $\alpha$ ) и др. В 1993 году Notamisliligil et al. впервые показал, что ЖТ мышей с ожирением способна секретировать, провоспалительный цитокин ФНО- $\alpha$ , обычно продуцируемый иммунными клетками. Кроме того, известна способность таких адипокинов, как лептин и адипонектин, влиять на иммунные клетки, включая макрофаги, увеличивая их активацию, выживаемость и хемотаксис [80]. Адипокины также могут усиливать продукцию провоспалительных или противовоспалительных цитокинов. Поэтому эти две группы факторов-производных ЖТ, часто называют адипоцитокинами, подразумевая, прежде всего, место продукции изучаемых соединений [197]. Изменение уровней их экспрессии и секреции ассоциировано с развитием различных нарушений, неразрывно связанных с воспалением, атерогенезом и рассматривается в качестве независимых факторов риска ССЗ [6, 94]. Учитывая ориентированность на профилактику ССЗ, перспективным направлением является определение возможных ассоциаций уровней экспрессии адипоцитокинов с факторами риска ССЗ и степенью атеросклеротического поражения коронарного русла (КР). Изучение механизмов реализации

осложнений ИБС позволит существенно снизить риски развития сердечно-сосудистых осложнений.

Принимая во внимание важную роль адипоцитокинов в патогенезе ССЗ, ожирения, дислипидемии и инсулинорезистентности, необходим поиск препаратов для нивелирования патологической активации ЖТ (адипозопатии). Такими свойствами могут обладать статины, которые помимо прямого гиполипидемического действия, способны модулировать метаболическую активность ВЖТ [58, 70]. Кроме того, клинический интерес имеет определение эффектов воздействия на транскриптомный и протеомный профили адипоцитов различных концентраций статинов.

### **Степень разработанности темы исследования**

Существенный вклад в определение патогенетической значимости локальных жировых депо внесли Iacobellis G. и Gao Y.J. (2003-2008), которые выявили корреляцию толщины эпикардальной жировой ткани (ЭЖТ) с факторами риска ССЗ и предположили роль ЭЖТ и ПВЖТ в патогенезе атеросклероза. Baker A.R. и Silva N.F. (2006 г.) продемонстрировали значение адипоцитокинов ЭЖТ в развитии локального и системного воспаления при ИБС. Среди отечественных исследователей Кошельская О.А., Чумакова Г.А., Веселовская Н.Г., Козаренко А.А. (2010) определяли взаимосвязи адипоцитокинов с факторами риска у пациентов с заболеваниями сердечно-сосудистой системы (ССС) и их роль в прогрессировании артериальной гипертензии (АГ), атеросклероза и других ССЗ и их осложнений. Yamaguchi Y. et al. (2015 г.) экспериментально выявили общность микроциркуляции между миокардом и ЭЖТ, а также паракринное влияние адипоцитокинов на миокард. Однако имеющиеся данные об уровнях матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК) генов адипокинов и ИЛ-6, морфометрических показателях ЭЖТ и взаимосвязи с традиционными факторами риска ССЗ при ИБС противоречивы и немногочисленны.

**Цель исследования:** сравнить продукцию адипонектина, лептина и интерлейкина-6 адипоцитами локальных жировых депо при ишемической болезни сердца и оценить влияние розувастатина на уровень экспрессии и секреции адипоцитокинов в условиях *in vitro*.

**Задачи исследования:**

1. Оценить экспрессию генов адипонектина (*ADIPOQ*), лептина (*LEP*), интерлейкина 6 (*IL6*) в адипоцитах подкожной, эпикардимальной, периваскулярной жировой ткани у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца и пороками сердца (группа сравнения).

2. Сравнить *in vitro* секрецию адипонектина и его рецепторов, лептина и интерлейкина-6 в культуре клеток подкожной, эпикардимальной, периваскулярной жировой ткани у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца и с пороками сердца.

3. Проанализировать связь между экспрессией генов *ADIPOQ*, *LEP* и *IL6* в локальных жировых депо и сердечно-сосудистыми факторами риска (пол, возраст, дислипидемия, артериальная гипертензия, курение) у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца.

4. Выявить общие закономерности и особенности изменений экспрессии генов *ADIPOQ*, *LEP* и *IL6* в зависимости от степени атеросклеротического поражения коронарных артерий при ишемической болезни сердца.

5. Оценить *in vitro* влияние розувастатина в концентрации 1 и 5 мкмоль / л на экспрессию генов *ADIPOQ*, *LEP*, *IL6* и секрецию адипонектина, лептина, интерлейкина-6 подкожными, эпикардимальными и периваскулярными адипоцитами пациентов с ишемической болезнью сердца и пороками сердца.

**Научная новизна исследования**

В рамках комплексного исследования с использованием современных лабораторных молекулярно-генетических и иммунохимических методов

выявлены новые закономерности изменений уровня мРНК генов *ADIPOQ*, *LEP* и *IL6* и секреции адипонектина, лептина и ИЛ-6 в жировых депо различной локализации (подкожной, эпикардальной, периваскулярной) у пациентов с ИБС. Получены новые данные об особенностях транскриптомного и секреторного профиля адипоцитов в зависимости от их тканевой принадлежности. Показано, что независимо от нозологической формы ССЗ адипоциты ЭЖТ характеризуются адипокиновым дисбалансом, проявляющимся низким уровнем экспрессии гена *ADIPOQ* и самым высоким уровнем экспрессии генов *LEP* и *IL6*, и их секреции.

Впервые при ИБС выявлен парадоксальный дефицит секреции адипонектина в ПВЖТ при максимальной экспрессии его гена, обусловленный низким уровнем рецепторов адипонектина в данном типе ЖТ. Установлены более высокие уровни экспрессии гена *LEP* и секреции лептина адипоцитами ЭЖТ и ПВЖТ по сравнению с подкожными адипоцитами.

Получены новые данные об ассоциации экспрессии генов *ADIPOQ*, *LEP*, *IL6* и сердечно-сосудистых факторов риска (пол, возраст, АГ, курение) у пациентов со стабильной ИБС. Выявлены новые взаимосвязи экспрессии генов адипоцитокинов и пола пациентов, заключающиеся в повышении уровней мРНК *ADIPOQ*, *LEP*, *IL6* в адипоцитах сердечной локализации у женщин. У лиц с ИБС при наличии дислипидемии и АГ показано уменьшение экспрессии гена *ADIPOQ* в адипоцитах ПВЖТ. Впервые обнаружены ассоциации длительности АГ более 20 лет с адипокиновым дисбалансом локальных жировых депо, а также курения с усиленной экспрессией гена *ADIPOQ* в ПЖТ, ЭЖТ, ПВЖТ и *LEP* в подкожных и эпикардальных адипоцитах при ИБС.

Установлены новые закономерности изменений экспрессии генов адипоцитокинов в зависимости от возраста. Пациенты 50–59 лет характеризовались низким уровнем экспрессии гена *ADIPOQ* в ЭЖТ на фоне высоких уровней мРНК генов *LEP* и *IL6* в ЭЖТ и ПВЖТ.

Впервые получены данные об изменении уровня экспрессии генов адипоцитокинов локальных жировых депо сердца в зависимости от степени атеросклеротического поражения КР при ИБС. С увеличением тяжести

атеросклероза КА снижается экспрессия гена *ADIPOQ*, увеличивается уровень мРНК генов *LEP* и *IL6*.

При использовании метода экспериментального исследования *in vitro* показаны плейотропные эффекты воздействия розувастатина на уровни экспрессии генов и секреции адипоцитокинов пациентов с ИБС и пороками сердца. Продемонстрировано, что розувастатин является эффективным модулятором гормональной активности адипоцитов, причем более эффективное влияние на адипоциты ЭЖТ и ПВЖТ статин оказывает в низкой концентрации (мкмоль/л), усиливая экспрессию *ADIPOQ*, *LEP* и секрецию адипонектина и лептина. Розувастатин в концентрации 1 мкмоль/л вызывал выраженное угнетение воспалительной активности ЭЖТ и ПВЖТ независимо от нозологической формы ССЗ, что проявлялось уменьшением уровня экспрессии гена *IL6* и секреции ИЛ-6.

### **Теоретическая и практическая значимость исследования**

Получены новые данные, дополняющие имеющиеся представления о патогенезе стабильной ИБС. Выполненное исследование вносит дополнительный вклад в понимание механизмов влияния основных сердечно-сосудистых факторов риска на метаболическую активность ЖТ у пациентов с коронарогенной патологией сердца. Полученные фундаментальные знания об особенностях экспрессии генов адипоцитокинов в локальных жировых депо в зависимости от степени атеросклеротического поражения КА могут служить основой для разработки методов фармакологической коррекции патологической активации ЖТ при стабильной ИБС.

В настоящей работе впервые проведена оценка эффектов воздействия розувастатина *in vitro* на адипоцитокиновый профиль локальных жировых депо различной локализации у лиц с ИБС и пороками сердца. Полученные в ходе исследования результаты могут быть использованы в стратификации риска развития осложнений, что позволит оптимизировать методы патогенетически

обоснованной коррекции атерогенной активности адипоцитов у пациентов высокого риска ССЗ.

### **Методология и методы исследования**

Для реализации поставленных задач использовали современные высокоинформативные методические подходы. Объектом исследования являлись изолированные адипоциты ПЖТ, ЭЖТ и ПВЖТ пациентов, полученные при проведении оперативного вмешательства (коронарного шунтирования либо коррекции патологии клапанов сердца). Предметом исследования были уровни экспрессии генов *ADIPOQ*, *LEP*, *IL6* и секреции адипонектина, лептина и ИЛ-6 адипоцитами различных жировых депо, и эффекты воздействия розувастатина на изучаемые показатели у пациентов со стабильной ИБС и пороками сердца.

Основные методы исследования: общеклинические, инструментальные; культуральные (выделение и культивирование изолированных адипоцитов человека), современные молекулярно-генетические методы исследования: полимеразная цепная реакция (ПЦР) в реальном времени (определение экспрессии генов *ADIPOQ*, *LEP* и *IL6*) и иммуноферментные (определение концентрации адипонектина, лептина и ИЛ-6 в супернатанте культивируемых адипоцитов).

### **Положения, выносимые на защиту**

1. При ишемической болезни сердца в эпикардиальных и периваскулярных адипоцитах снижается экспрессия гена *ADIPOQ*, возрастает экспрессия генов *LEP* и *IL6* по сравнению с пациентами с некоронарогенной патологией сердца.

2. Экспрессия генов *ADIPOQ*, *LEP* и *IL6* в адипоцитах эпикардиальной и периваскулярной жировой ткани пациентов с ишемической болезнью сердца ассоциирована с факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний, коморбидным фоном и степенью поражения коронарного русла.

3. У пациентов с ишемической болезнью сердца розувастатин в концентрации 1 мкмоль/л вызывает увеличение экспрессии гена *ADIPOQ* и секреции адипонектина, снижение экспрессии гена *IL6* и секреции интерлейкина-6 адипоцитами эпикардиальной и периваскулярной жировой ткани.

### **Степень достоверности результатов**

Достаточная выборка обследованных пациентов (n=134), использование современного оборудования («Megacart 400» Siemens, «Acuson 128XP», «Innova», «ViiA 7»), лабораторных, молекулярно-генетических и иммунохимических методов исследования, адекватных методов статистического анализа при помощи пакетов прикладных программ «STATISTICA 10», «SPSS 17.0 for Windows», «GraphPad Prism 8.00 для Windows», а также успешная реализация и поддержка гранта Российского научного фонда № 17-75-20026 «Молекулярные маркеры патологической активации жировой ткани при сердечно-сосудистых заболеваниях» свидетельствуют о достоверности полученных данных.

### **Апробация материалов диссертации**

Основные результаты работы доложены в виде устных и стендовых докладов на XIX Всероссийском научно-практическом семинаре молодых ученых «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической кардиологии» (Томск, 2019), I Всероссийском Конгрессе с международным участием «Физиология и тканевая инженерия сердца и сосудов: от клеточной биологии до протезирования» (Кемерово, 2019), Юбилейном национальном конгрессе с международным участием «Сердечная недостаточность 2019» (Москва, 2019), VIII (XXVI) Национальном конгрессе эндокринологов «Персонализированная медицина и практическое здравоохранение» (Москва, 2019), V Юбилейном Российском конгрессе лабораторной медицины (Москва, 2019), XII ежегодной научно-практической конференции Национального общества по изучению атеросклероза, «Атеросклероз не имеет границ» (Москва, 2019), VIII Съезде кардиологов Сибирского федерального округа «От первичной профилактики до высоких

технологий в кардиологии» (Кемерово, 2019), IV Национальном конгрессе по регенеративной медицине (Москва, 2019), Европейском конгрессе по профилактической кардиологии «EuroPrevent 2019» (Лиссабон, Португалия, 2019), конгрессе Европейского общества кардиологов «ESC Congress 2019» (Париж, Франция, 2019), конгрессе Европейского общества кардиологов «ESC Congress 2020 - The Digital Experience» (Амстердам, Нидерланды, 2020).

### **Публикация результатов исследования**

По материалам диссертации опубликовано 25 научных работах, из них 11 статей в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации, 4 статьи изданиях, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, 10 работ являются материалами российских и зарубежных конференций.

### **Объем и структура работы**

Материал диссертации изложен на 152 страницах машинописного текста, иллюстрирован 5 таблицами и 45 рисунками. Работа состоит из следующих разделов и глав: введение, обзор литературы, материал и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждение, заключение, выводы, список сокращений и список литературы, включающий 208 источников, в том числе 25 отечественных и 183 зарубежных.

### **Личный вклад автора**

Основные научные результаты по теме исследования получены лично автором. Совместно с научным руководителем определены цели, задачи, объем исследования, его этапы и направления. Соискателем выполнен анализ литературы по теме диссертации, сбор первичных клинических и инструментальных результатов обследования, проведение лабораторных методов исследования, написание диссертации, анализ и статистическая обработка результатов.

## ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Ишемическая болезнь сердца. Современное представление о проблеме

Заболевания сердечно-сосудистой системы продолжают занимать лидирующие позиции в структуре смертности населения в мире в целом и в Российской Федерации в частности. Ишемическая болезнь сердца по-прежнему лидирует среди ССЗ [7]. Поскольку отмечается неуклонный рост числа таких заболеваний, актуальным является выявление пациентов с высоким риском ССЗ и разработка мер профилактики и лечения, что требует дальнейшего изучения и понимания молекулярных механизмов атерогенеза.

В настоящее время общепризнанно, что атеросклеротическое поражение КА является патофизиологической основой ИБС [48]. В свою очередь, атеросклероз представляет собой мультифакториальное заболевание, на развитие которого оказывают влияние как внутренние факторы (возраст и пол), так и внешние (курение, образ жизни) [22], в связи с чем требуется исследование механизмов его прогрессирования.

Считается, что ожирение неразрывно связано с повышенным риском развития метаболических нарушений, а ВЖТ ассоциирована с ССЗ, включая ИБС, АГ, сердечную недостаточность (СН), аритмии, клапанные пороки и инсульт [202]. Кроме того, ВЖТ является независимым предиктором смертности от всех причин у мужчин [143]. Прогрессирование висцерального ожирения (ВО) приводит к депонированию жира в эктопических жировых депо – вокруг сердца и кровеносных сосудов. Локальные жировые депо оказывают не только механическое воздействие прилегающие органы, но и модулируют системные реакции организма посредством продуцируемых адипоцитокинов. Однако механизмы, связывающие патологическую активацию ЖТ и атеросклероз, сложны и до конца не выяснены, поэтому актуальным представляется изучение

взаимосвязей адипоцитокинов и факторов риска ССЗ, а также молекулярно-генетических факторов, обуславливающих наследственную предрасположенность к атерогенезу.

Учитывая результаты недавно проведенных исследований, продемонстрировавших положительные изменения морфометрических показателей ЭЖТ при терапии препаратами, применяемыми для лечения сахарного диабета 2 типа (СД2), дислипидемии и других заболеваний [182], можно предположить возможность использования ЖТ сердечной локализации в качестве терапевтической мишени.

## **1.2 Локальные жировые депо сердца как факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний**

### **1.2.1 Эпикардальная жировая ткань**

Примерно  $\frac{3}{4}$  всей поверхности сердца покрыто ЭЖТ, находящейся между миокардом и висцеральным листком перикарда (рисунок 1). В физиологических условиях окружает предсердия, расположена за верхушкой левого желудочка (ЛЖ) и свободной стенкой правого желудочка (ПЖ), а также вдоль КА и в атриовентрикулярной и межжелудочковой борозде [116].

Показано, что масса ЭЖТ составляет около 0,02 % от общей массы ЖТ человека и не взаимосвязана с массой тела и ожирением. Так, Iacobellis G. at al., исследовав толщину ЭЖТ методом компьютерной томографии (КТ) у 469 здоровых людей (371 мужчина и 98 женщин), выявили корреляцию данного показателя с факторами риска ССЗ только у мужчин, но не у женщин. На основании чего авторы постулируют, что индекс массы тела (ИМТ) не является основным определяющим признаком толщины ЭЖТ [116].

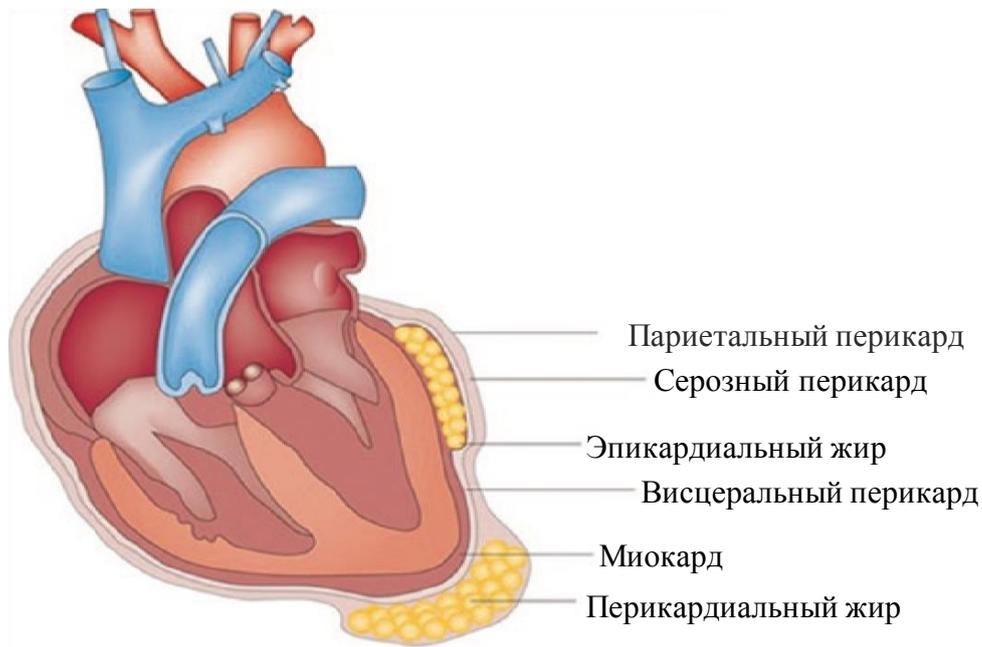


Рисунок 1 – Схематическое изображение сердца и его локальных жировых депо [116]

Продемонстрировано, что размер адипоцитов ЭЖТ значительно меньше, чем подкожной жировой ткани (ПЖТ), возможно, из-за преобладания преадипоцитов и быстрого метаболизма, препятствующего депонированию липидов, а число адипоцитов на 1 г ЭЖТ является самым высоким относительно других жировых депо [196].

Отличительной особенностью ЭЖТ является отсутствие анатомической границы между ней и прилегающим миокардом, что дает основание предполагать возможность 2-х основным механизмов взаимодействия: паракринного и вазокринного. Паракринный механизм реализуется путем диффузии «снаружи внутрь» секретлируемых периадвентициальной ЭЖТ адипоцитокинов через стенку коронарного сосуда. Кроме того, адипоцитокины, секретлируемые эпикардиальными адипоцитами, могут диффундировать в интерстициальную жидкость через адвентицию, медию и интиму и затем взаимодействовать с *vasa vasorum* и эндотелиальными и сосудистыми гладкомышечными клетками коронарных артерий.

Несмотря на общее кровоснабжение, прямое микроциркуляторное взаимодействие между ЭЖТ и миокардом не доказано, однако, недавно проведенные исследования демонстрируют возможность микроциркуляторной связи между ЭЖТ в AV-бороздке и стенкой КА посредством *vasa vasora* [31].

Второй механизм может реализовываться при высвобождении адипоцитокинов и СЖК из ЭЖТ непосредственно в *vasa vasorum* и транспортировке в стенку артерий при помощи вазокринных сигналов [107].

В норме ЭЖТ обладает физиологическими и кардиопротективными свойствами, являясь источником энергии, обеспечивая защиту сердца при повышении уровня СЖК, защищая миокард от гипотермии благодаря свойствам бурого жира и обеспечивая механическую защиту от аномального искривления коронарных артерий. Кроме того, ЭЖТ экспрессирует гены адипокинов с потенциальными кардиопротективными, противовоспалительными и антиатерогенными свойствами, таких как адипонектин, оментин и адреномедуллин [116]. Однако регуляция экспрессии и секреции этих адипокинов до сих пор не изучена.

Существует мнение об адаптивной кардиопротективной роли ЭЖТ посредством секреции адипонектина и адреномедуллина в ответ на местные и/или системные метаболические или механические повреждения. Альтернативная гипотеза предполагает, что лица с низким риском ССЗ обладают повышенной экспрессией и секрецией адипонектина в ЭЖТ, что обусловлено кардиопротективным транскриптомом, снижающим риск серьезных сердечно-сосудистых событий [196].

При патологических состояниях ЭЖТ распространяется на всю поверхность миокарда, проникая в него, а также вдоль адвентиции КА, что обуславливает возможность непосредственного локального воздействия на КА и миокард благодаря общей системе микроциркуляции [118]. Интересно, что у пациентов с ИБС в ЭЖТ зафиксирован больший размер адипоцитов и повышенная плотность дифференцирующихся преадипоцитов относительно здоровых лиц, причем

данный показатель положительно коррелирует с плазменным уровнем лептина и отрицательно – с циркулирующим уровнем адипонектина и его экспрессией [112].

Кроме того, ЭЖТ сама по себе потенциально может являться фактором риска ССЗ [13, 170]. Так, толщина эпикардального жира  $> 7$  мм по данным эхокардиографии (ЭхоКГ), связана с повышением артериального давления (АД), сосудистой жесткости и способствует диастолической дисфункции ЛЖ, объем ЭЖТ  $300 \text{ см}^3$  и более – с увеличением степени стенозирования КА. Также продемонстрирована положительная корреляция количества ЭЖТ со степенью стеноза КА и 5-ти летним повышенным риском развития ИБС у лиц с увеличенной ЭЖТ по данным КТ [13, 89].

Считается, что ЭЖТ может способствовать прогрессированию атеросклеротического поражения КА вне зависимости от других факторов риска [21, 116]. Поскольку ЭЖТ обладает выраженной секреторной активностью, продуцируемые ею адипоцитокнины могут оказывать негативное влияние на прилегающий миокард и способствовать активации ключевых атерогенных путей при ИБС [136]. Так, в ЭЖТ пациентов с коронарогенной патологией зафиксированы более высокие уровни ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  по сравнению с ПЖТ [199]. При этом их содержание в ЭЖТ коррелирует с количеством Т-лимфоцитов и макрофагов вблизи адипоцитов, участвующих в атерогенезе [13]. Показано повышение концентрации провоспалительных адипоцитокнинов в ЭЖТ через 4 часа после аортокоронарного шунтирования (АКШ), что может вносить вклад в развитие послеоперационных осложнений при реваскуляризации миокарда [114].

В настоящее время активно изучается влияние статинов, обладающих плеiotропными эффектами, на воспаление в ЖТ. Были исследованы эффекты статинов на толщину и аттенуацию ЭЖТ. Снижение изучаемых показателей с течением времени, независимо от уровня холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП) предполагает модуляцию статинами метаболической активности ЭЖТ. Таким образом, ЭЖТ обладает как физиологической, так и патологической ролью, но механизмы, регулирующие преобладание кардиопротективных или негативных эффектов, требуют дальнейшего изучения.

### 1.2.2 Периваскулярная жировая ткань

Периваскулярная жировая ткань, определяемая как скопление адипоцитов в непосредственной близости от практически всех кровеносных сосудов (кроме церебральной артерии и легочных сосудов), а особенно коронарных артерий и аорты, где ее расстояние до адвентиции составляет менее 100 мкм, также может играть важную роль в патогенезе ССЗ [73]. Поскольку в литературе до сих пор нет единого определения ПВЖТ, Toth P. et al. предложили считать периваскулярной любую жировую ткань, расположенную на радиальном расстоянии от внешней стенки сосуда, равном диаметру всего сосуда соседней КА (рисунок 2) [196].

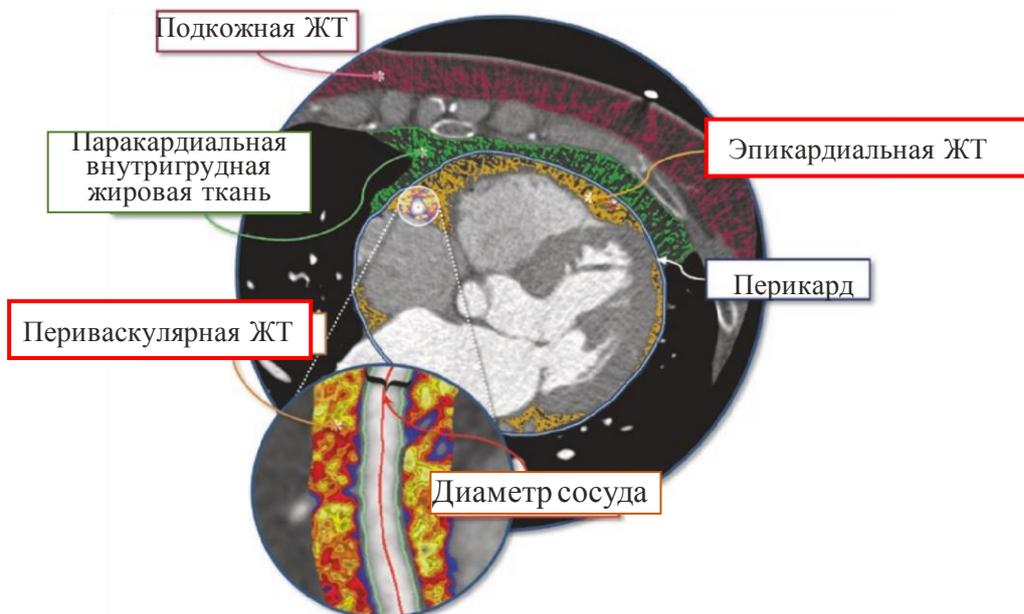


Рисунок 2 – Определение отдельных депо жировой ткани в грудной клетке [196]

Считается, что в крупных сосудах (аорта) ПВЖТ прилегает к адвентициальному слою, а в мелких артериях и микрососудах адипоциты ПВЖТ являются частью сосудистой стенки [47].

Предполагается, что в зависимости от топографии сосудистого русла, где находится ПВЖТ, данная ЖТ проявляет фенотипическую, функциональную и

секреторную неоднородность [77, 159]. Единого мнения относительно принадлежности ПВЖТ к определенному типу ЖТ не существует. О ее принадлежности к бурой ЖТ свидетельствуют высокое содержание липидных капель, митохондрий и экспрессия термогенных генов (таких как разобщающий белок 1 – UCP-1) [106]. При этом некоторые виды ПВЖТ относят к белой ЖТ (например, брыжеечная) из-за крупных липидных капель, низкого содержания митохондрий и низкой экспрессии UCP-1 [67]. ПВЖТ, окружающая КА, считается частью ЭЖТ, т.к. между ними нет четких анатомических границ [196]. Тем не менее, были описаны функциональные различия этих депо ЖТ. Так, Chatterjee T.K. et al. сообщили о гиперсекреции дифференцированными периваскулярными адипоцитами КА человека моноцитарного хемотаксического белка-1 (MCP-1) по сравнению с эпикардальными адипоцитами, полученными от тех же здоровых людей [110]. По мнению одних авторов, коронарная ПВЖТ человека имеет морфологию, более сходную с белой ЖТ: адипоциты имеют меньшие размеры, гетерогенные формы и менее дифференцированы и дольше созревают [110]. Согласно предположению других авторов, ПВЖТ, окружающая верхнюю грудную аорту здоровых лиц без ожирения, проявляет морфологию, сходную с бурой ЖТ, но все же относится к бежевой ЖТ: уровни экспрессии генов бурых адипоцитов, таких как активатор гибели клеток (CIDE-A), UCP-1, и карнитин-пальмитоилтрансфераза 1В (CPT1B), отличаются от таковых в типичной бурой ЖТ как у мышей 129SVE и человека [131]. Напротив, ПВЖТ, окружающая грудную аорту грызунов, имеет преобладающий бурый фенотип, тогда как ПВЖТ, окружающая брюшную аорту, фенотипически представляет собой смесь белой и бурой ЖТ [78]. Более того, некоторыми исследователями предлагается классифицировать ПВЖТ как отдельный, четвертый тип ЖТ [107].

Принимая во внимание анатомически близкое расположение с сосудами, считается, что ПВЖТ может оказывать прямое воздействие на прилегающую сосудистую стенку посредством паракринного высвобождения биоактивных медиаторов. Кроме того, предполагается вазокринный эффект ПВЖТ, при котором синтезируемые ею адипоцитокины проникают сквозь нижележащую

стенку сосудов и достигают просвета сосуда, циркулируя в микроциркуляции и воздействуя на все сосудистые русла (рисунок 3) [113].

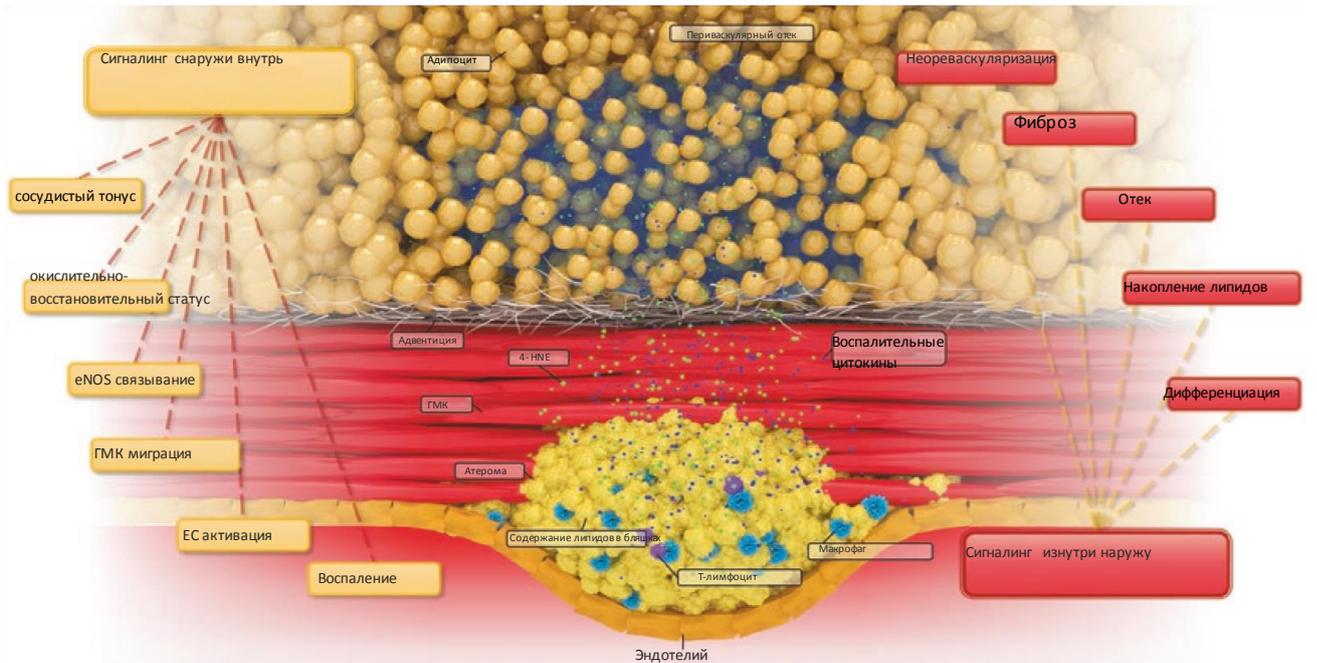


Рисунок 3 – Иллюстрация основных компонентов взаимодействия между сосудистой стенкой и периваскулярной жировой тканью [113]

В физиологических условиях ПВЖТ обладает противовоспалительными и антиоксидантными свойствами, регулирует сосудистый тонус посредством высвобождения адипонектина, акромедуллина и адипоцитарного фактора релаксации адвентициального происхождения (ADRF), обеспечивая защитную антигипертензивную функцию путем контроля вазодилатации [159], а также ИЛ-10, значительное снижение уровня которого продемонстрировано у мышей с ожирением [78].

Если ранее периваскулярная ЖТ в основном изучалась как часть эпикардиальной ЖТ, выполняющей только механическую опорную функцию для сосудов, то теперь, с приобретением четкого анатомического определения ПВЖТ, появляются немногочисленные данные о ее потенциальной роли локального эндокринного фактора в воспалительных процессах и атерогенезе посредством секреции прооксидантных и проатерогенных адипоцитокинов [156].

Считается, что общий объем ПВЖТ вокруг коронарной артерии тесно ассоциирован с наличием атеросклеротических бляшек в нижележащем сегменте КА [188]. При патологических условиях ПВЖТ расширяется, становится дисфункциональной, воспаленной и проявляет пролиферативные свойства. Кроме того, в условиях экзогенного стресса (курения и ожирения) ПВЖТ может выступать в качестве негативного фактора риска развития гипертонии, ИБС и СД 2 типа [170], а толщина ПВЖТ рассматривается в качестве нового самостоятельного сердечно-сосудистого фактора риска [101].

Несмотря на то, что циркулирующие уровни адипоцитокинов не всегда отражают уровни мРНК в ЖТ, что лежит в основе существования сложных паракринных механизмов [99], исследования экспрессии адипоцитокинов в локальных жировых депо сердца, таких как ЭЖТ и ПВЖТ, весьма немногочисленны. Так, изучение генома *in vitro* дифференцированных адипоцитов, полученных из парных образцов подкожной и коронарной ПВЖТ пациентов, выявило 307 дифференциально экспрессированных генов, главным образом для регуляции морфологии сосудов, ангиогенеза, свертывания крови и воспаления [110]. При этом предполагается, что продуцируемые ПВЖТ провоспалительные адипоцитокины также способствуют увеличению сердечно-сосудистого риска прогрессирования атеросклероза и ИБС посредством паракринного воздействия путем прямой диффузии [46], в связи с чем требуется дальнейшее изучение геномного и секреторного профиля данных жировых депо.

Однако предполагается, что ПВЖТ может обладать и кардиопротективными эффектами, не только снижая тонус сосудов, но и защищая от ремоделирования сосудов благодаря продукции противовоспалительных, антипролиферативных и вазодилататорных адипокинов, таких как адипонектин. Известно, что гипoadипонектинемия ассоциирована с тяжестью атеросклеротических поражений при остром коронарном синдроме (ОКС) [162]. Существует предположение, что высвобождение адипонектина ПВЖТ, может играть защитную роль при образовании неоинтимы после ангиопластики в физиологических условиях у здоровых мышей [170]. Также описан паракринный

компенсаторный механизм стимуляции NADPH-оксидазой экспрессии гена адипонектина через активацию рецептора активируемого пролифератором пероксисом  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) в ПВЖТ пациентов с СД 2 [37]. Эти эффекты могут быть недостаточными у пациентов с атеросклерозом, ассоциированным с СД 2, и могут стать новой терапевтической мишенью. Аналогичная защитная роль ПВЖТ была показана, когда атеросклероз был получен у мышей без ПВЖТ после делеции PPAR $\gamma$  [66].

Таким образом, предполагается двойственная роль ПВЖТ, обладающей защитными свойствами в физиологических условиях, которые могут исчезнуть или превратиться в проатерогенные функции при патологических ситуациях из-за провоспалительной активации [18]. Наблюдаемый в ПВЖТ дисбаланс между про- и антиатерогенными адипоцитокинами может играть основную роль при ССЗ, таких как атеросклероз и АГ вследствие повышения тонуса сосудов, активации воспалительных процессов, а также пролиферации и миграции ГМК сосудов.

### 1.3 Адипоцитокины и их роль при атеросклерозе

#### Адипонектин

Адипонектин (AdipoQ и Acrp30), состоящий из 247 аминокислотных остатков и имеющий молекулярную массу 30 кДа, относится к 1q семейству комплемента и является основным белком, продуцируемым исключительно зрелыми адипоцитами [27]. В отличие от других адипокинов, адипонектин оказывает противодиабетическое, антиатерогенное, антипролиферативное и противовоспалительное действие: так, сверхэкспрессия адипонектина у мышей *ob/ob* приводит к значительным метаболическим улучшениям [169]. Кроме того,

данный адипокин ингибирует синтез металлопротеиназ, тем самым способствуя стабилизации атеросклеротических бляшек.

Ранее была показана прогностическая ценность сывороточного уровня адипонектина в оценке выживаемости лиц с ИБС: его снижение ассоциировалось с ухудшением прогноза пациентов [54]. Однако существует и противоположные данные, согласно которым высокий уровень адипонектина у лиц с ИБС, напротив, может являться неблагоприятным признаком [139]. Таким образом, изучение секреции и экспрессии адипонектина у пациентов с различными формами сердечно-сосудистых патологий является актуальной задачей.

Адипонектин считается основным секретируемым адипоцитами белком, подавляется при ожирении и связанных с ним патологиях [195] и рассматривается в качестве важнейшего регулятора ряда сложных атерогенных путей, связанных с ожирением, вызванным ИБС, которые требуют дополнительного изучения.

Предполагается, что секреция адипонектина различается в зависимости от топографического расположения жировых депо. Так, показано, что ПЖТ активнее секретирует адипонектин, чем другие типы ЖТ [81]. При изучении секреции адипонектина *in vitro* парными образцами изолированных подкожных и висцеральных адипоцитов мышей, выявили, что висцеральные клетки продуцируют больше адипонектина, в отличие от подкожных [141]. Reneau J. et al. также обнаружили, что секреция адипонектина ВЖТ снижается с увеличением ИМТ, общего жира и ВЖТ, в то время ПЖТ сохраняет способность секретировать адипонектин. Выявленные особенности были более характерны для женщин и могут помочь объяснить сниженные уровни циркулирующего адипонектина у лиц с центральным ожирением, а относительно постоянная секреция адипонектина ПЖТ может приводить к парадоксальной гиперадипонектинемии, наблюдаемой у так называемых метаболически здоровых людей с ожирением [81].

Существует мнение, что уровни мРНК адипонектина в ЭЖТ могут различаться в зависимости от степени поражения КР, что активно изучается и представляет особый клинический интерес.

Имеющиеся немногочисленные данные относительно экспрессии и секреции адипонектина в ПВЖТ говорят о непосредственной его вовлеченности в патогенез атеросклеротического повреждения КА при ИБС. Однако клеточные и молекулярные механизмы, посредством которых адипоцитокينات ПВЖТ оказывают влияние на прогрессирование ИБС, до сих пор однозначно не определены и противоречивы, поскольку одни исследователи сообщают о повышении уровня мРНК адипонектина после коронарного шунтирования (КШ) [87], тогда как другие подчеркивают вклад периваскулярных адипоцитокитов в инициацию и прогрессирование ИБС [46]. Поэтому необходимо дальнейшее изучение патофизиологических процессов в ПВЖТ при атеросклерозе и их влияния на воспаление, эндотелиальную дисфункцию и ремоделирование сосудов, а также выявление новых терапевтических мишеней и маркеров заболевания.

Действие адипонектина на ЖТ также практически не изучено. Предполагается возможность накопления адипоцитами адипонектина внутриклеточно, что требует подробного анализа роли внутриклеточного пула адипонектина. Адипоциты экспрессируют рецепторы адипонектина (в большей степени AdipoR1, нежели AdipoR2) [93], что дает основание предположить локальное аутокринное либо паракринное воздействие, модуляцию функции ЖТ, сенсibiliзирующее, противовоспалительное и антиапоптотическое влияние адипонектина [24].

Одной из важных функций адипонектина является подавление синтеза адипоцитами ФНО- $\alpha$  и СРБ [35, 183]. Кроме того, адипонектин является стимулятором поглощения глюкозы адипоцитами, продемонстрированного *in vitro* на изолированных клетках крыс, за счет увеличения экспрессии гена транспортера глюкозы 4 (GLUT4) и увеличения рекрутирования GLUT4 в плазматическую мембрану [30]. Избыточная экспрессия адипонектина в 3T3-L1 клетках приводит к дифференцировке адипоцитов и накоплению липидов. Предполагается способность адипонектина подавлять свою собственную

экспрессию и экспрессию своего рецептора AdipoR2 [39], что также требует дальнейшего изучения.

Учитывая, что образцы ЖТ для изучения экспрессии адипоцитокинов взяты у пациентов, получающих терапию, необходимо учитывать влияние лекарственных средств на генетический профиль адипоцитов. Существуют немногочисленные и противоречивые данные о способности статинов модулировать экспрессию адипонектина. Так, при применении правастатина или питевастатина наблюдалось увеличение экспрессии адипонектина адипоцитах 3T3-L1, а использование симвастатина и аторвастатина повышает экспрессию и секрецию адипонектина в белой ЖТ у людей [181].

## Лептин

Лептин, выделенный в 1994 году из «Ob» гена мышей, отвечающего за ожирение, также вырабатывается прежде всего адипоцитами и состоит из 167 аминокислот с четырехспиральным мотивом, похожим на цитокины [155]. Данный адипокин оказывает плеiotропные эффекты на многие органы и системы организма. Его влияние на сердечно-сосудистую систему подробно изучается, особенно вклад в развитие и прогрессирование АГ, атеросклероза, депрессию сократительной функции, метаболизм жирных кислот, гипертрофическое ремоделирование и уменьшение ишемического/реперфузионного повреждения.

Лептин оказывает свои биологические эффекты после связывания с рецепторами (ObRs) в центральной нервной системе (ЦНС) и периферических тканях. Идентифицированные на сегодняшний день изоформы рецепторов лептина (ObRa, ObRb, ObRc, ObRd, ObRe, и ObRf) имеют гомологичными доменами, однако, благодаря альтернативному сплайсингу мРНК, каждая изоформа обладает уникальной длиной и последовательностью. Считается, что короткие изоформы (ObRa и ObRc) осуществляют транспортировку лептина через

гематоэнцефалический барьер, а длинные изоформы (ObRb) отвечают за сигналинг лептина и экспрессируются всей ЦНС [206]. Основные эффекты лептина реализуются через длинную изоформу рецептора (ObRb), имеющую специфический внутриклеточный мотив для активации JAK (Januskinase)-STAT (signal transducers and activators of transcription) пути передачи сигналов [12, 130]. Растворимая изоформа рецептора лептина (ObRe) – это внеклеточная расщепляемая часть длинной изоформы ObRb и основной циркулирующий лептин-связывающий белок, являющийся антагонистом транспорта лептина из-за ингибирования поверхности связывания и эндоцитоза лептина [57]. При разработке новых терапевтических стратегий особое внимание уделяется разработке механизмов, направленных на предотвращение связывания лептина и его рецепторов, в том числе на тромбоцитах [92].

Предполагается, что лептин, помимо регуляции энергетического гомеостаза, обладает иммуномодулирующими функциями, поскольку контролирует секрецию хемокинов и цитокинов [163], в частности, стимулирует секрецию ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 [125]. Лептин активирует синтез трансформирующего фактора роста (TGF- $\beta$ ) эндотелиальными клетками, ингибитора активатора плазминогена (PAI-I), P-селектина тромбоцитами, способствуя их агрегации *in vitro*, что может потенцировать атеротромбоз [203].

Ранее проведенные клинические исследования свидетельствуют о негативной роли гиперлептинемии. Так, она являлась независимым от ИМТ фактором риска развития острого ИМ и ИБС [126, 172], острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК), рестеноза КА и других сердечно-сосудистых осложнений [21, 59, 173]. Плазменные уровни лептина коррелируют с толщиной интима-медиа общей сонной артерии [180, 71] и кальцификацией КА [33], являющихся маркерами бессимптомного атеросклероза [193].

По некоторым данным, ПЖТ является наиболее активным источником лептина [124]. Однако более поздние исследования демонстрируют, что экспрессия лептина может различаться даже в пределах одного типа ЖТ, но разной локализации. Так, Drosos I. et al. изучали экспрессию лептина в ПВЖТ,

окружающей КА, в сравнении с таковой, окружающей внутреннюю грудную артерию, устойчивую к атеросклерозу, у пациентов мужского пола с установленным коронарным атеросклерозом, перенесших шунтирование КА. Авторы получили, что экспрессия лептина была повышена в ПВЖТ, окружающей корень аорты и КА по сравнению с окружающей внутреннюю грудную артерию, независимо от сывороточных уровней лептина. Кроме того, ПВЖТ вокруг КА характеризовалась более выраженным ангиогенезом и воспалением, большей степенью фиброза и гипоксии, что усиливает транскрипцию гена лептина и приводит к значительному увеличению уровней его мРНК [76].

Принимая во внимание негативные эффекты повышенного уровня лептина на риск развития ССЗ, лептин также может рассматриваться в качестве терапевтической мишени, в частности, для статинов. Однако влияние статинов на обмен лептина достаточно противоречиво. Большинство исследователей, изучающих действие статинов *in vitro*, сходятся во мнении, что симвастатин и аторвастатин снижают экспрессию и секрецию лептина в адипоцитах человека [181]. Применение пиоглитазона и комбинации симвастатин + пиоглитазон также ведет к уменьшению уровня лептина в ЭЖТ по сравнению с контролем [1].

## Интерлейкин-6

Интерлейкин-6 – гликопротеин с молекулярной массой 21–28 кДа, состоящий из 184 аминокислотных остатков, идентифицированный как секретируемый Т-клетками фактор, вызывающий дифференцировку В-клеток в плазматические клетки, продуцирующие антитела. ИЛ-6 выполняет множество функций, регулируя энергетический баланс ЖТ, поступление СЖК в ЖТ, активируя иммунные механизмы (дифференцировка Т-клеток, созревание В-клеток, синтез СРБ в печени, усиление гемопоэза), а также ограничивая воспалительную реакцию, ингибируя синтез провоспалительных цитокинов, в том

числе ФНО- $\alpha$  [161]. На кардиомиоциты ИЛ-6 может оказывать как защитное (антиапоптотическое), так и негативное (гипертрофическое) воздействие [33, 81, 97].

Адиipoциты считаются вторым по значимости источником ИЛ-6, причем висцеральная ЖТ активнее продуцирует провоспалительные цитокины (ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1), их уровень коррелирует с увеличением массы висцерального жира, в отличие от ПЖТ [60].

Несмотря на то, что продукция ИЛ-6 адипоцитами не вызывает сомнений, возможность его экспрессии в адипоцитах оставалась под вопросом до тех пор, пока Path G. at al. не продемонстрировали при помощи иммуногистохимии экспрессию ИЛ-6 и системы его рецептора из лиганд-связывающего рецептора ИЛ-6 и сигнального белка gp130 в зрелых культивируемых адипоцитах человека [109].

Затем Sopasakis V.R. at al. изучали паракринные свойства ИЛ-6 в жировой ткани, определяя взаимосвязь его экспрессии и секреции в ЖТ с размером адипоцитов и влияние ИЛ-6 на гены, отвечающие за дифференцировку адипоцитов, в том числе адипонектин. Результаты свидетельствуют о более высокой интерстициальной концентрации ИЛ-6 в ЖТ, чем в периферической крови, и корреляции экспрессии и секреции ИЛ-6 в ЖТ *in vitro* с диаметром адипоцитов. Кроме того, авторами было показано ингибирующее влияние ИЛ-6 на экспрессию генов-маркеров дифференцировки ЖТ: адипонектина и PPAR $\gamma$  *in vitro* в адипоцитах человека, что подразумевает потенциальное неблагоприятное воздействие избыточного количества ИЛ-6 в ЖТ при увеличении адипоцитов [105].

Однако определение экспрессии и секреции ИЛ-6 в ЭЖТ имеет ряд ограничений, так как проводится не у здоровых лиц, а у пациентов, перенесших кардиохирургическое вмешательство. Причина конститутивного воспаления в ЭЖТ до сих неизвестна, но было высказано предположение, что при патологических состояниях хроническое или острое воспаление в других частях тела способно изменять транскриптомный профиль ЭЖТ, причем воспалительный

ответ ЭЖТ намного выше, чем ПЖТ и других ЖТ [145]. Выявленные авторами особенности могут свидетельствовать об активации воспалительных процессов в локальных жировых депо сердца при ИБС, что требует дальнейшего изучения.

Многие исследователи предполагают противовоспалительный эффект статинов на ЖТ, основываясь на наблюдениях, согласно которым уровни ИЛ-6 в ЭЖТ были снижены у пациентов с АКШ, получавших статины относительно лиц без терапии [137, 115]. Применение пиоглитазона и его комбинации с симвастатином + пиоглитазоном также было ассоциировано с более низким уровнем ИЛ-6 в ЭЖТ [186], что позволяет рассматривать ИЛ-6 в качестве потенциальной терапевтической мишени.

#### **1.4 Экспрессия генов адипоцитокинов и факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний**

В настоящее время при изучении потенциальной патофизиологической роли роли адипоцитокинов в патогенезе атеросклероза все больше внимания уделяется экспрессии адипоцитокинов. Однако пока не ясно, являются ли уровни мРНК адипоцитокинов независимыми факторами риска или связаны с другими сердечно-сосудистыми факторами риска, как модифицируемыми (образ жизни или поведенческие факторы, АГ, нарушение толерантности к глюкозе или СД 2 типа), так и немодифицируемыми (пол, возраст старше 45 лет у мужчин и старше 55 лет у женщин, генетические факторы, наследственность – раннее начало ССЗ у ближайших родственников или внезапная смерть у мужчин <55 лет, у женщин <65 лет). Выяснение патогенетической роли экспрессии адипоцитокинов может позволить оптимизировать подходы для выявления лиц с повышенным риском развития ИБС, что может способствовать разработке целенаправленных профилактических мер и специфической терапии.

## Пол

Ранее проведенные исследования свидетельствуют о значительных различиях экспрессии *ADIPOQ* и *LEP* в зависимости от пола и анатомического расположения жирового депо [21]. При этом размер адипоцитов ПЖТ и ВЖТ был больше у мужчин, чем у женщин, и был основным предиктором уровней мРНК лептина, ингибитора активатора плазминогена-1 и адипонектина [95]. В более позднем исследовании наблюдались минимальные различия [145]. Относительно влияния пола на уровни адипоцитокинов в ЭЖТ и ПВЖТ мнения ученых расходятся: некоторые считают, что пол взаимосвязан как с экспрессией, так и с секрецией, другие – что только с секрецией [134, 196].

При изучении взаимосвязи экспрессии *LEP* и пола в адипоцитах ЭЖТ показано повышение уровня мРНК *LEP* в ПЖТ у женщин относительно уровня мужчин. При этом у женщин экспрессия лептина значительно возрастала с возрастом, а у мужчин, напротив, наблюдалась сильная отрицательная корреляция между экспрессией *LEP* и возрастом [116].

Предполагается, что наблюдаемые различия экспрессии изучаемых адипоцитокинов у мужчин и женщин могут быть обусловлены влиянием половых гормонов – андрогенов. Одним из таких гормонов является тестостерон, оказывающий ингибирующее влияние на активность РНК-полимеразы. РНК-полимераза, в свою очередь, ответственна за синтез мРНК адипонектина и лептина на этапе транскрипции. Существующие данные экспериментальных работ по изучению влияния тестостерона на уровни экспрессии *ADIPOQ* и секрецию белка адипонектина *in vitro* в 3T3-L1 адипоцитах мышей наглядно продемонстрировали ингибирование секреции адипонектина из клеток ЖТ без изменения уровней мРНК *ADIPOQ* и белка адипонектина [144, 189]. Однако потенциальное влияние половой принадлежности пациентов на экспрессию адипоцитокинов в локальных жировых депо до сих пор неоднозначно и требует дальнейшего изучения.

## Возраст

Предполагается, что экспрессии адипоцитокинов может изменяться с возрастом, что неразрывно связано с риском ССЗ. Показано увеличение частоты встречаемости ИБС с возрастом, при этом распространенность ИБС среди населения пенсионного возраста на 16 % превышала аналогичный показатель лиц трудоспособного возраста, что также ассоциировано с увеличением количества и степени поражения КА [9, 104].

Литературные данные о возрастных изменениях экспрессии адипоцитокинов не дают однозначного понимания патофизиологических механизмов данных процессов. Так, возрастная дисфункция ЖТ ассоциирована с дислипидемией, метаболической дисфункцией и хроническим системным воспалением слабой степени, которые ведут к снижению продолжительности и качества жизни [190]. Одни ученые отмечают снижение экспрессии и уровня адипонектина в ЖТ при старении, тогда как другие сообщали о противоположных результатах [178]. Данные об изменении уровня лептина с возрастом также неоднозначны: показано как его повышение, так и снижение [51].

Одной из версий возрастных изменений ЖТ является трансформация состава тела человека: до 60 лет происходит накопление ЖТ, которая затем уменьшается в пожилом возрасте и становится более централизованной, особенно у женщин во время и после менопаузы, а пик роста ИМТ приходится на возраст 50–60 лет [135]. У мужчин происходит снижение уровня тестостерона на 1 % ежегодно, достигая минимума после 70 лет [74], на фоне повышения уровня глобулина, связывающего половые гормоны (ГСПГ), снижающего вклад тестостерона в метаболизм адипоцитов [49].

Влияние возраста на изменения транскриптомного профиля ЖТ людей изучено недостаточно. Продемонстрирована положительная связь сывороточных уровней лептина с возрастом у мужчин 62–98 лет, но не у женщин, что, вероятно, обусловлено снижением уровня тестостерона, ингибирующего синтез лептина. У женщин обнаружена положительная корреляция уровня мРНК лептина в ПЖТ и

возраста, в то время как у мужчин, напротив, отрицательная [116]. При изучении экспрессии и сывороточного уровня лептина у женщин до и в постменопаузе экспрессия лептина в висцеральной жировой ткани, как и сывороточный уровень, не различались. При этом экспрессия лептина в ПЖТ была выше у молодых женщин, а возраст не был достоверно связан с уровнем мРНК лептина ( $p=0,33$ ), поэтому необходимо учитывать воздействие эстрогена, повышающего экспрессию лептина в ПЖТ [174]. Исследования *in vitro* с использованием ПЖТ крыс показали стимуляцию секреции лептина эстрогеном [50], а его добавление в ПЖТ человека стимулирует экспрессию мРНК лептина у женщин, но не у мужчин, что указывает на половой диморфизм продукции лептина.

Предполагается, с возрастом происходит активация воспалительных процессов в ЖТ, являющейся основным источником ИЛ-6: *in vitro* было показано, что продукция ИЛ-6 значительно выше в культурах ЖТ 24-х месячных мышей по сравнению с 4-х месячными, а гиперпродукция ИЛ-6 у пожилых регулируется ИЛ-1, который обуславливает уязвимость к воспалительным заболеваниям [45].

Дальнейшее изучение ассоциации экспрессии адипоцитокинов в жировых депо сердечной локализации и возраста, возможно, поможет объяснить и снизить повышенный сердечно-сосудистый риск у женщин в постменопаузе.

### **Наличие дислипидемии**

Ранее проведенные исследования продемонстрировали снижение циркулирующего уровня адипонектина у людей с дислипидемией и ожирением, на основании чего низкий уровень адипонектина считается независимым фактором риска развития дислипидемий и СД2 [16, 184]. Данные относительно взаимосвязи экспрессии адипонектина и дислипидемии немногочисленны. Показано, что при ожирении и дислипидемии экспрессия адипонектина в ПЖТ взрослых людей снижается, как и в оментальной (сальниковой) ЖТ детей с избыточной массой тела [34, 100].

Экспрессия лептина в ЖТ, напротив, активируется при гипергликемии и / или гиперлипидемии, триацилглицеридемии, а также коррелирует с уровнями ОХС, ТАГ, ИЛ-6 и инфильтрацией макрофагами [103, 187]. При этом существует предположение о способности рекомбинантного лептина дозозависимо снижать гиперхолестеринемию [129] и стимулировать экспрессию *ADIPOQ* и секрецию адипонектина в ЖТ [128].

Интерлейкин-6 считается одним из адипоцитокинов, способствующих атерогенезу, дислипидемии и АГ [65]. В настоящее время активно изучается регуляция воспаления в ЖТ ИЛ-6. Клинические исследования продемонстрировали значительную отрицательную корреляцию экспрессии *IL6* в ВЖТ и ХС-ЛПНП ( $p < 0,05$  или  $p < 0,001$ ), в то время как для *IL6* в ПЖТ такой корреляции не наблюдалось [117]. Экспрессия *IL6* в ЖТ выше у лиц с ИМТ  $> 30$ , что может быть обусловлено ингибированием ИЛ-6 экспрессии липопротеинлипазы (ЛПЛ), которая экспортируется из адипоцитов в эндотелиальную выстилку капилляров ЖТ, расщепляет триглицериды хиломикрон и липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП), регулируя уровень триглицеридов [160]. Несмотря на существующее понимание комплексного воздействия ИЛ-6, изменение и регуляция продукции ИЛ-6 локальными жировыми депо исследованы недостаточно.

Учитывая малочисленность данных, необходимо изучение ассоциации экспрессии адипоцитокинов в жировых депо сердечной локализации и наличия дислипидемии у пациентов повышенного сердечно-сосудистый риска.

### **Наличие артериальной гипертензии**

Результаты экспериментальных работ демонстрируют снижение экспрессии гена адипонектина и его рецепторов в ПЖТ у мышей при гипертензии, индуцированной ангиотензином II [36]. Однако данные исследований ассоциаций адипоцитокинов и АГ у людей немногочисленны и неоднозначны. Рядом авторов

не было выявлено различий уровней экспрессии адипонектина, его рецепторов, лептина и его рецептора у женщин с АГ и без таковой [90]. Сообщается об увеличении уровня мРНК адипонектина в ПЖТ у женщин с более высоким АД, что расценивается как компенсаторный механизм снижения АД за счет воздействия данного адипокина на экспрессию эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) в сосудах [30].

Другие же авторы, напротив, обнаружили положительную корреляцию между экспрессией *LEP* и АГ [187], а также снижение экспрессии гена *ADIPOQ* в ЭЖТ у пациентов с АГ, перенесших кардиохирургическое вмешательство. При этом в ПЖТ уровни мРНК *ADIPOQ* не различались, что позволяет предположить взаимосвязь экспрессии *ADIPOQ* в ЭЖТ со статусом АГ независимо от наличия или отсутствия у пациентов ИБС. Обнаруженное увеличение продукции лептина в ПЖТ у пациентов с АГ [133] подтверждает гипотезу о влиянии локальных жировых депо сердца на сердечно-сосудистый риск [196]. Однако требуется дальнейшее изучение патогенетических механизмов, лежащих в основе наблюдаемых изменений.

## Курение

Несмотря на то, что курение считается одним из наиболее значимых факторов риска ССЗ [3], увеличивающим вероятность возникновения коронарных событий в 1,6 раза [10], данные о взаимосвязи уровней экспрессии и секреции адипоцитокинов и курения немногочисленны и противоречивы. Большинство исследователи изучают циркулирующие уровни адипоцитокинов и их изменения при отказе от курения. В то же время, предполагается, что табакокурение может вызывать многочисленные патологические изменения в ЖТ, такие как дифференцировка адипоцитов и нарушение секреции адипоцитокинов. Считается, что курение может ускорить прогрессирование атеросклероза из-за нарушенной секреции адипоцитокинов. Показано, что экстракт табачного дыма приводит к

внутриклеточному накоплению адипонектина на фоне подавления его секреции из адипоцитах *in vitro* и снижения плазменной концентрации у мышей дикого типа. Наблюдаемые изменения связывают с активацией белка-шаперона ERp44, локализующегося в эндоплазматической сети и удерживающего адипонектин, а также с подавлением фактора секреции адипонектина DsbA-L [72].

При изучении влияния никотина на экспрессию и секрецию лептина *in vitro* адипоцитами ПЖТ женщин и 3T3-L1 мышей продемонстрировано, что уровни мРНК гена лептина существенно не отличались в течение первых 6 ч инкубации с никотином в культивируемых клетках и эксплантатах ЖТ, как и секреция в среде эксплантатов ЖТ человека. Так как наблюдалось небольшое изменение уровней мРНК гена лептина в культивируемых клетках, инкубированных с никотином, и резкое снижение концентрации лептина в плазме при курении сигарет, авторы выдвигают предположение о том, что наблюдаемое снижение концентрации лептина в плазме у курильщиков, вероятно, связано не с прямым воздействием никотина на экспрессию и секрецию лептина, а с косвенным воздействием катехоламинов [205]. Поэтому необходимо более детальное изучение механизмов, лежащих в основе прямого действия курения на экспрессию адипоцитокинов.

## 1.5 Экспрессия генов адипоцитокинов и атеросклероз

Согласно литературным данным, уровни адипоцитокинов, продуцируемых и экспрессируемых локальными жировыми депо сердца, изменяются у пациентов с ИБС, что может иметь значение в патогенезе атеросклеротического повреждения КА. Показана прямая зависимость между толщиной ЭЖТ и стенозом КА, объемом ЭЖТ и обнаружением атеросклеротических бляшек в артериях [62, 120].

Ранее проведенные клинические исследования показали значительное снижение экспрессии кардиопротективного адипонектина в ЭЖТ ( $p = 0,02$ ) и ПЖТ ( $p < 0,01$ ) при тяжелой ИБС [21, 112]. Экспрессия лептина в ЭЖТ при

многососудистом поражении КР выше, чем при одно-, двухсосудистом (у мужчин). У женщин экспрессии *LEP* не зависела от тяжести коронарного атеросклероза. В ПЖТ экспрессия *LEP* у мужчин с многососудистым поражением выше, чем при одно-, двухсосудистом, а у женщин с многососудистым поражением – ниже [25].

Предполагается, что обнаруженные различия могут быть обусловлены, во-первых, диаметром адипоцитов, который в ЭЖТ составляет 0,05 мм, а в ПЖТ и ПВЖТ больше в два раза, поскольку выявлена отрицательная корреляция данного показателя с уровнем мРНК *ADIPOQ* [21, 112]. Во-вторых, снижению экспрессии гена *ADIPOQ* в ЭЖТ у лиц с ИБС может способствовать усиленная секреция провоспалительных цитокинов [1]. Существуют данные об обратной корреляции уровней адипонектина с прогрессированием кальцификации КА, а также о взаимосвязи мутации гена *ADIPOQ* с развитием и прогрессированием ИБС [110]. В связи с этим перспективным является применение рекомбинантного адипонектина для восполнения его дефицита. Проведенные экспериментальные исследования свидетельствуют об антиатерогенной активности глобулярного С-концевого домена адипонектина у мышей *ob/ob* и способности аденовируса с адипонектином на 30 % снижать образование бляшек в синусе аорты у мышей с дефицитом апоЕ [21, 26].

Другие авторы показали экспрессию ИЛ-6 в наиболее подверженных атеросклеротическим повреждениям зонах, таких как сосуды головного мозга, КА [33], а также корреляцию между низкой экспрессией адипонектина и степенью коронарной болезни [177]. Но так как корреляции между ИЛ-6, экспрессируемым в ЭЖТ, и его циркулирующим уровнем не обнаружено, предполагается локальное влияние ИЛ-6 на прогрессирование ИБС [160].

Однако до сих пор не установлено, действительно ли уровни экспрессии изучаемых адипоцитокинов взаимосвязаны со степенью атеросклеротического поражения коронарных артерий. Однако обнаружение такого рода ассоциаций может способствовать разработке новых терапевтических мишеней для лечения стабильной ИБС.

## ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Общая клиническая характеристика пациентов и распределение их по группам

Исследование, протокол которого соответствовал стандартам локального этического комитета НИИ КПССЗ, разработанным в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 № 266, проводилось на базе ФГБНУ «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний». Добровольное информированное согласие на участие являлось обязательным условием включения пациента в исследование.

**Критерии включения:** возраст пациента до 75 лет, наличие клиники стенокардии I-III ФК и/или постинфарктного кардиосклероза и показаний к коронарному шунтированию (с учетом данных коронарографии), а также согласие пациента на проведение исследования.

**Критерии исключения:** возраст пациента более 75 лет, сахарный диабет 1 и 2 типа в анамнезе и/или выявленный в период госпитализации, ИМ, IV ФК ХСН и стенокардии, клинически значимая сопутствующая патология (почечная либо печеночная недостаточность, анемия, инфекционно-воспалительные заболевания в период обострения, онкологические и аутоиммунные заболевания), отказ пациента от проведения исследования.

В исследование было включено 84 пациента с ИБС в возрасте 64,0 (57,0; 68,0) года с имеющимися показаниями для прямой реваскуляризации миокарда при помощи КШ, из них 63 мужчины и 21 женщина (таблица 1).

Дизайн исследования представлен на рисунке 4.

Таблица 1 – Клинико-anamнестическая характеристика обследованных лиц

| Показатели  | Пациенты с ИБС (n=84) | Пациенты с пороками сердца (n=50) | p      |
|---|-----------------------|-----------------------------------|--------|
| Мужчины, n (%)  | 63 (75)               | 24 (48)                           | 0,012  |
| Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup> ,<br>Me (Q25; Q75) | 29,4<br>(26,3; 31,6)  | 26,6<br>(23,4; 28,3)              | 0,078  |
| Артериальная гипертензия, n (%)                         | 81 (96,4)             | 12 (24)                           | 0,003  |
| Дислипидемия, n (%)                                     | 20 (23,8)             | 5 (10)                            | 0,024  |
| Курение, n (%)  | 58 (69,0)             | 3 (6)                             | 0,0001 |
| Отягощенный семейный анамнез ИБС, n (%)                 | 50 (59,5)             | 16 (32)                           | 0,018  |
| Клиника стенокардии до развития ИМ, n (%)               | 74 (88,1)             | 0                                 | -      |
| ОНМК, ТИА в анамнезе, n (%)                             | 6 (7,1)               | 0                                 | -      |
| Атеросклероз других бассейнов, n (%)                    | 13 (15,5)             | 0                                 | -      |
| Нет стенокардии, n (%)                                  | 2 (2,4)               | 50 (100)                          | 0,0001 |
| Стенокардия I ФК, n (%)                                 | 0                     | 0                                 | -      |
| Стенокардия II ФК, n (%)                                | 39 (46,4)             | 0                                 | -      |
| Стенокардия III ФК, n (%)                               | 43 (51,2)             | 0                                 | -      |
| ХСН I ФК, n (%)   | 10 (11,9)             | 6 (12,0)                          | 0,067  |
| ХСН II ФК, n (%)  | 7 (8,3)               | 21 (42,0)                         | 0,002  |
| ХСН III ФК, n (%)                                       | 3 (3,6)               | 15 (30,0)                         | 0,007  |
| 1-сосудистое поражение КА, n (%)                        | 6 (7,1)               | 0                                 | -      |
| 2-сосудистое поражение КА, n (%)                        | 4 (4,8)               | 0                                 | -      |
| Многососудистое поражение КА, n (%)                     | 74 (88,1)             | 0                                 | -      |
| Фракция выброса, %, Me (Q25; Q75)                       | 50,0<br>(43,0; 56,0)  | 53,0<br>(43,0; 57,5)              | 0,125  |

Примечание: здесь и в таблице 3: p – уровень статистической значимости. ИБС – ишемическая болезнь сердца, ИМ – инфаркт миокарда, КА – коронарные артерии, ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения, ТИА – транзиторные ишемические атаки, ФК – функциональный класс, ХСН – хроническая сердечная недостаточность.



Рисунок 4 – Дизайн исследования

Примечание: АГ – артериальная гипертензия, ИБС – ишемическая болезнь сердца, ИЛ-6 – интерлейкин-6, ИМТ – индекс массы тела, КАГ – коронароангиография, ПВЖТ – периваскулярная жировая ткань, ПЖТ – подкожная жировая ткань, ТПА – транскриптомный профиль адипоцитов, ЭЖТ – эпикардиальная жировая ткань, ЭКГ – электрокардиография, ЭхоКГ – эхокардиография.

В качестве группы сравнения в исследование включены 50 пациентов, сопоставимых по полу и возрасту, с приобретенными неревматическими пороками сердца (митральный и аортальный стеноз / недостаточность) и показаниями для проведения открытой операции на клапанах сердца. **Критерии включения для пациентов группы сравнения:** верифицированный приобретенный порок сердца (митральный или аортальный стеноз / недостаточность), согласие на проведения исследования.

Среди обследованных лиц с ИБС преобладали мужчины, в анамнезе фиксировали наличие АГ, стенокардии, отягощенной наследственности по сердечно-сосудистой патологии, курение, 57 пациентов ранее перенесли ИМ, 6 человек – ОНМК. Лица с пороками сердца характеризовались минимальным процентом факторов сердечно-сосудистого риска. Лечение пациентов на госпитальном этапе проводилось с учетом рекомендаций Европейского общества кардиологов от 2013 года [8]. Стандартная медикаментозная терапия, включающая  $\beta$ -адреноблокаторы, аспирин, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, клопидогрел, статины, блокаторы  $Ca^{2+}$ -каналов (по показаниям) в соответствии с принятой практикой (таблица 2).

Перед проведением КШ проводилась оценка основных клинико-анамнестических данных, результатов инструментальных методов исследования: электрокардиографии (ЭКГ), эхокардиографии (ЭхоКГ), коронароангиографии (КАГ), мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ) висцерально-абдоминальной области, цветного дуплексного сканирования артерий брахиоцефального сосудистого бассейна, которые входят в комплекс обследований пациентов с ИБС (рекомендации РКО), а также лабораторных показателей: адипокинов (лептина, адипонектина), маркера воспаления – ИЛ-6. Тяжесть поражения коронарного русла оценивалась с помощью коронароангиографии, гемодинамически значимым поражением коронарных артерий считались стенозы  $> 75\%$ , ствола левой коронарной артерии  $> 50\%$  [28].

Таблица 2 – Лечение обследованных пациентов в стационаре, n (%)

| Препараты                              | Пациенты с ИБС, n=84 | Пациенты с пороками сердца, n=50 |
|--|----------------------|----------------------------------|
| Аспирин                                | 82 (97,62)           | 0                                |
| Клопидогрель                           | 13 (15,48)           | 0                                |
| Варфарин                               | 0                    | 42 (84,0)                        |
| β-адреноблокаторы                      | 82 (97,62)           | 45 (90,0)                        |
| Ингибиторы АПФ                         | 63 (75,0)            | 39 (78,0)                        |
| Статины                                | 84 (100)             | 37 (74)                          |
| Антагонисты Са<br>(дигидропиридиновые) | 64 (76,19)           | 35 (70)                          |
| Нитраты                                | 6 (7,14)             | 3 (6)                            |
| Диуретики                              | 63 (75,0)            | 49 (98)                          |
| ТЛТ                                    | 2 (2,38)             | 0                                |

Примечание: ИБС – ишемическая болезнь сердца, АПФ – ангиотензинпревращающий фермент, ТЛТ – тромболитическая терапия

## 2.2 Методы исследования

### 2.2.1 Общеклинические и инструментальные методы обследования

Общеклинические исследования включали в себя выявление жалоб и особенностей анамнеза, измерение роста (м), массы тела (кг) с определением индекса массы тела (ИМТ) (отношение массы тела (кг) к росту (м<sup>2</sup>)) (кг/м<sup>2</sup>), окружности талии и бедер, артериального давления (АД). Артериальную гипертензию (АГ) определяли как систолическое артериальное давление более 140 мм рт.ст., диастолическое артериальное давление более 90 мм рт.ст. Дислипидемию определяли как ранее обнаруженное повышение общего

холестерина в сыворотке (более 200 мг/дл), триглицеридов (более 200 мг/дл) или холестерина ЛПНП (более 150 мг/дл), зарегистрированных в течение как минимум 1 года, или использование гиполипидемических средств. Курение классифицировалось как нынешние курильщики, бывшие курильщики, а текущий статус курения был определен как курение по крайней мере 1 сигареты в день в прошлом году.

**Электрокардиография.** Электрокардиографию регистрировали в 16 отведениях (6 стандартных, 6 грудных, 3 отведения по Небу и одно отведение по Слопаку – S2) в день поступления в стационар с помощью аппарата «Megacart400» Siemens.

**Эхокардиография (ЭхоКГ).** Всем пациентам при поступлении в стационар выполняли ЭхоКГ на аппарате «Acuson 128XP» (Acuson, США) в режиме двухмерного сканирования с оценкой диастолической функции ЛЖ, геометрических и функциональных характеристик полостей и стенок сердца, соотношения левых и правых отделов. Оценка функционального состояния ЛЖ проводилась в стандартных (М-, В- и доплер) режимах по показателям состояния клапанного аппарата, сократительной способности миокарда, степени дискинезии зоны некроза и рубцовых изменений, а также наличия аневризмы и выпота в полость перикарда. Рассчитывали значение фракции выброса ЛЖ в М-режиме.

**Коронароангиографическое исследование.** Коронароангиографию проводили с использованием методики М.Р. Judkins (1967 г.) на ангиографической установке Innova (США) [123]. Сначала выполнялась пункция бедренной артерии или лучевой артерий по методике, предложенной Сельдингером (1952 г.). В качестве рентгеноконтрастного вещества применялся Ксенетикс-350. Поскольку описание одно-, двух- и трехсосудистых поражений и обнаружение стенозов  $\geq 50$  % ограничено в возможности количественной стратификации пациентов с различным уровнем риска острых осложнений, дополнительно использовалась балльная шкала SYNTAX Score в виде online-калькулятора (<http://www.syntaxscore.com/>) для оценки анатомически сложных поражений КА, их извитости, бифуркации, кальциноза, тромбоза, наличия стеноза

и его протяженности, окклюзии, ее давности и морфологии. Использование данной шкалы позволило поделить пациентов на 3 группы по тяжести поражения коронарного русла: умеренное ( $< 22$  баллов по SYNTAX Score), тяжёлое (23–31 балл по SYNTAX Score) и крайне тяжелое ( $\geq 32$  балла по SYNTAX Score) [21].

### **2.2.2 Лабораторные методы исследования**

Определение общего холестерина (ОХС), ХС-ЛПНП, очень низкой плотности (ХС-ЛПОНП), высокой плотности (ХС-ЛПВП) и триацилглицеролов (ТАГ), в сыворотке крови проводили на автоматическом биохимическом анализаторе Konelab 30i с помощью стандартных тест-систем фирмы Thermo Fisher Scientific (Германия).

### **2.3 Культуральные методы исследования**

Источником изолированных адипоцитов подкожной, эпикардальной и периваскулярной жировой ткани человека (ПЖТ, ЭЖТ и ПВЖТ, соответственно) служили биоптаты от 3 до 5 г жира, полученные во время проведения операции коронарного шунтирования или коррекции пороков сердца. Образцы ПЖТ забирали из подкожной клетчатки нижнего угла средостенной раны, ЭЖТ – из правых отделов сердца (правого предсердия и правого желудочка) – зон наибольшего присутствия жировой ткани, ПВЖТ – в области восходящей части аорты. Полученные образцы жировой ткани помещали в сбалансированный солевой раствор Хэнкса (SigmaAldrich, США) с добавлением пенициллина (100 U/L), стрептомицина (100 мг/мл), гентамицина (50 мкг/мл) и доставляли в лабораторию [24].

Изоляцию адипоцитов из жировой ткани проводили в стерильных условиях в ламинарном шкафу II-го класса защиты (БОВ-001-АМС МЗМО (асептические медицинские системы, производитель «Миасский завод медицинского оборудования», Россия)) по методике Carswell и др. [64]. Из образцов ПЖТ, ЭЖТ и ПВЖТ приготавливали кусочки размером 1-2 мм<sup>3</sup> и инкубировали 30 минут при температуре 37 °С в растворе коллагеназы (0,5 мг/мл; Invitrogen, США), содержащем 200 нМ аденозина (SigmaAldrich, США). После инкубации для ингибирования коллагеназы добавляли 10 % эмбриональную телячью сыворотку в соотношении 1:1 (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. Затем флотирующие кусочки ферментированной ЖТ переносили в стерильный фильтр с размером пор 100 мкм (Falcon, США) и в условиях мягкого перемешивания промывали полной культуральной средой М 199, объем содержимого пробирки с клетками довели до 5 мл и центрифугировали 2 минуты при 200g. Изолированные адипоциты помещали в отдельную пробирку, объем содержимого пробирки довели культуральной средой до 1 мл и проводили подсчет адипоцитов в камере Горяева. Жизнеспособность клеток оценивали согласно методике [2, 146]. В лунку стерильного 24-луночного планшета (Greiner, Германия) вносили адипоциты в количестве  $20 \times 10^5$  и довели объем содержимого лунки до 1 мл культуральной средой. Изолированные адипоциты культивировали в течение 1 суток. Со дна лунок аккуратно забирали среду до начала и через сутки культивирования для последующего определения исследуемых показателей методом иммуноферментного анализа с использованием тест-систем фирмы «Bender MedSystems GmbH» (Vienna, Austria) и «R&D Systems» (Canada) аналогично описанной ниже методике.

### **2.3.1 Определение концентрации адипоцитокинов в супернатанте культивируемых адипоцитов**

Концентрацию адипонектина и его рецепторов (AdipoR1 и AdipoR2), лептина и ИЛ-6 в культуральной среде определяли с использованием тест-систем «Bender MedSystems GmbH» (Vienna, Austria), Cloud-Clone Corp. (USA) и «R&D Systems» (Canada) для иммуноферментного анализа согласно инструкции производителя тест-систем.

Стандарты, исследуемые образцы и контроли инкубировали в лунках микропланшета, покрытых поликлональными антителами к исследуемым показателям человека. По окончании инкубации и промывки в каждую лунку добавляли конъюгат с поликлональными антителами к соответствующему анализу и далее инкубировали с захваченными цитокинами/адипокинами. По окончании второй инкубации и промывки добавляли раствор субстрата, в результате ферментативной реакции образовывался продукт реакции голубого цвета. При добавлении кислого стоп-раствора наблюдалось изменение окраски на желтую. При длине волны 450 нм определяли абсорбцию полученного желтого раствора, интенсивность окрашивания которого прямо пропорциональна концентрации исследуемых показателей в супернатанте. По значениям оптических плотностей, полученных для стандартов измеряемых показателей была построена калибровочная кривая, по которой определяли концентрации исследуемых аналитов в образцах.

На основании полученных данных содержания изучаемых адипоцитокинов в супернатанте были сделаны выводы о снижении либо, напротив, увеличении секреции адипонектина, рецепторов адипонектина (AdipoR1 и AdipoR2), лептина и интерлейкина-6.

### 2.3.2 Изучение влияния различных концентраций розувастатина на экспрессию и секрецию адипоцитокинов *in vitro*

С целью изучения влияния статинов на функциональную активность эпикардальных, периваскулярных и подкожных адипоцитов проводили культивирование клеточных культур с розувастатином (SigmaAldrich, China) в концентрации 1 и 5 мкмоль/л. Для этого брали 5 мг навеску сухого розувастатина и разводили в 1 мл органического растворителя – диметилсульфоксида (ДМСО) (Helicon, г. Москва) и доводили до объема 5 мл культуральной средой до полного растворения изучаемого вещества. Далее проводили серию последовательных разведений розувастатина в полной культуральной среде до получения необходимых концентраций – 1 и 5 мкмоль/л. Концентрации были выбраны, основываясь на предварительно проведенном анализе научной литературы, в которой описывались подобные эксперименты *in vitro* с культурами клеток [166]. Диметилсульфоксид (ДМСО) растворяли в культуральной среде для получения эквивалентной концентрации и использовали в качестве негативного контроля. Далее в 24-луночный стерильный планшет вносили адипоциты в количестве  $20 \times 10^5$ , глюкозу в концентрации 5,3 ммоль/л, дексаметазон  $10^{-9}$  М и розувастатин в концентрации 1 либо 5 мкмоль/л, объем содержимого лунки доводили до 1 мл культуральной средой. В качестве контроля параллельно с основным экспериментом в лунки планшета с адипоцитами вносили аналогичные концентрации ДМСО.

### 2.3.3 Определение экспрессии генов адипоцитокинов

**Выделение рибонуклеиновой кислоты.** Выделение тотальной рибонуклеиновой кислоты (РНК) производили с использованием наборов RNeasy

Plus Universal Mini Kit (Qiagen) на нескольких этапах: непосредственно сразу после изоляции адипоцитов (первичное выделение), через 1 и 2-е суток культивирования в базовой среде, а также спустя сутки культивирования с розувастатином в двух концентрациях (1 мкмоль/л и 5 мкмоль/л) [24]. Перед началом выделения РНК рабочие поверхности и все лабораторное оборудование обрабатывалось раствором для дезактивации РНКазы RNaseZap™ (Invitrogen, США). Экстракция РНК из изолированных адипоцитов проводилась с использованием универсального мини-набора RNeasy Plus (Qiagen, Германия) в соответствии с протоколом изготовления с некоторыми изменениями [140]. Не более  $5 \times 10^5$  клеток промывали PBS и гомогенизировали с 750 мкл реагента для лизиса QIAzol™ (Qiagen, Германия). Гомогенат центрифугировали при 12000g в течение 10 минут при 4 °С, верхний жировой монослой полностью отбрасывали, 75 мкл раствора элиминатора gDNA (Qiagen, Германия) и 150 мкл хлороформа добавляли в каждую пробирку; образцы центрифугировали при 12000g в течение 30 мин при 4 °С. Чистую верхнюю водную фазу переносили в новую пробирку, смешивали с 1,5 объема 95 % этанола и обрабатывали для связывания, промывания и элюирования общей РНК в соответствии с протоколом. Извлеченную РНК хранили при -70 °С.

Количество и качество очищенной РНК оценивали с использованием спектрофотометра NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, США), измеряя поглощение света при 280 нм ( $A_{280}$ ), 260 нм ( $A_{260}$ ) и 230 нм ( $A_{230}$ ) и вычисляя соотношение  $A_{260}/A_{280}$  и  $A_{260}/A_{230}$ . Целостность РНК определяли с помощью электрофореза в агарозном геле с последующей визуализацией с использованием системы Gel Doc™ XR+ (Bio-Rad, США).

**Синтез комплиментарной дезоксирибонуклеиновой кислоты.** Одноцепочечную молекулу комплиментарной дезоксирибонуклеиновой кислоты (кДНК) синтезировали с использованием набора для обратной транскрипции High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems) на 96-луночном термоцикле Veriti™ (Applied Biosystems, США) на основе ранее выделенной

РНК [24]. 20 мкл смеси обратной транскрипции, содержащей 2 мкл RT-буфера, 0,8 мкл смеси 100 нМ dNTP, 2 мкл случайных праймеров, 1 мкл обратной транскриптазы, 1 мкл ингибитора РНКазы, 3,2 мкл воды без нуклеаз и 10 мкл воды РНК-матрицу (50 нг РНК + вода, не содержащая нуклеаз) готовили на каждую реакцию; и была проведена обратная транскрипция в соответствии с программой, предложенной производителем набора. Количество и качество синтезированной кДНК оценивали с использованием спектрофотометра NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, США). Образцы хранили при -20 °С.

**Полимеразная цепная реакция.** Уровень экспрессии генов изучаемых адипоцитокинов оценивали при помощи количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени с использованием анализа экспрессии генов TaqMan™ (Applied Biosystems, США) в системе ПЦР в реальном времени ViiA 7 (Applied Biosystems, США) [24]. 20 мкл реакционной смеси, содержащей 10 мкл мастер-смеси экспрессии генов TaqMan™ (Applied Biosystems, США), 1 мкл анализа экспрессии генов TaqMan™ (Applied Biosystems, США) и 9 мкл матрицы кДНК (100 нг кДНК + вода, не содержащая нуклеазы) амплифицировали в следующих условиях термоциклирования: 2 мин при 50 °С, 10 мин при 95 °С, 40 циклов по 15 с при 95 °С и 1 мин при 60 °С. В качестве отрицательного контроля мы использовали 20 мкл реакционной смеси без матрицы кДНК. Для каждого образца и отрицательного контроля были подготовлены три технических копии.

Нормирование результатов ПЦР проводили с использованием трех эталонных генов *HPRT1*, *GAPDH* и *B2M* в соответствии с принятыми в настоящее время рекомендациями [29].

Для оценки эффективности ПЦР графики амплификации и стандартные кривые были проанализированы с использованием программного обеспечения QuantStudio™ Real-Time PCR v.1.3 (Applied Biosystems, США). Экспрессия изучаемых генов (нормализованный количественный коэффициент, NRQ) была рассчитана по методу Пфаффля [154] и представлена в логарифмическом масштабе ( $\log_{10}$ ) в виде кратных изменений относительно контрольных образцов.

Эксперименты по экспрессии генов проводили в соответствии с Руководством MIQE [191].

## 2.4 Статистическая обработка полученных результатов

Статистическая обработка полученных результатов исследования проводилась с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA 10», «SPSS 17.0 for Windows», GraphPad Prism 8.00 для Windows (Сан-Диего, США). Для представления количественных признаков использовали абсолютные значения (n) и относительные значения (%). Количественные данные представлены в виде медианы и значений 25-го и 75-го квартилей Me (Q25; Q75). С целью оценки различий количественных признаков при сравнении двух независимых групп с отличным от нормального распределением использован непараметрический критерий Манна-Уитни. Для сравнения трех и более групп по одному признаку проводили дисперсионный анализ ANOVA, затем, если наличие различий подтверждалось, проводилось попарное сравнение. Различия результатов трех независимых групп при непараметрическом распределении оценивали с помощью критерия Краскела-Уоллиса, для сравнения трех и более зависимых групп использовали критерий Фридмана. Для определения факторов, связанных с развитием тяжелого/крайне тяжелого поражения коронарного русла использовали логистический регрессионный анализ с вычислением отношения шансов (ОШ) и 95 % доверительного интервала (ДИ). В многофакторный анализ включали переменные, для которых значения статистической значимости были  $p < 0,05$ . Во всех процедурах статистического анализа различия считали статистически значимыми при достигнутом уровне значимости  $p < 0,05$ .

## ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1 Экспрессия генов и концентрация адипокинов адипоцитов различных жировых депо у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца и пороками сердца

В последнее время в развитии и прогрессировании ССЗ особое внимание уделяется эндокринными и паракринными функциям локальных жировых депо, в частности, ЭЖТ и ПВЖТ. Известно, что данные типы ткани отличаются от классической висцеральной или подкожной жировой ткани, обладая уникальными функциональными особенностями, включая экспрессию и секрецию различных адипоцитокинов, потенциально способных усугублять атеросклеротические процессы, ассоциированные с ожирением [21, 24].

В результате проведенного исследования получено, что для адипоцитов эпикардальной жировой ткани была характерна самая низкая экспрессии гена *ADIPOQ* относительно адипоцитов другой локализации как в основной группе (пациенты с ИБС), так и в группе сравнения (пациенты с пороками сердца) (рисунок 5). У пациентов с ИБС уровень экспрессии гена *ADIPOQ* в ЭЖТ снижен относительно подкожных – в 1,2 раза и периваскулярных адипоцитов – в 1,5 раза. В группе сравнения уровень мРНК *ADIPOQ* в ЭЖТ был меньше, чем в ПЖТ и ПВЖТ (в 1,4 и 1,5 раза, соответственно). Экспрессия гена *ADIPOQ* в адипоцитах ЭЖТ больных с пороками сердца превышала аналогичный показатель лиц с ИБС в 1,2 раза. Максимальная экспрессия гена *ADIPOQ* отмечалась в культуре ПВЖТ и была в 1,5 раза выше, чем в ЭЖТ у пациентов обеих групп. У лиц с пороками сердца данный показатель превышал значения пациентов с ИБС в 1,2 раза.

Экспрессия гена *ADIPOQ* в культурах подкожных адипоцитов статистически значимо не различалась между пациентами с ИБС и пороками сердца (рисунок 5).

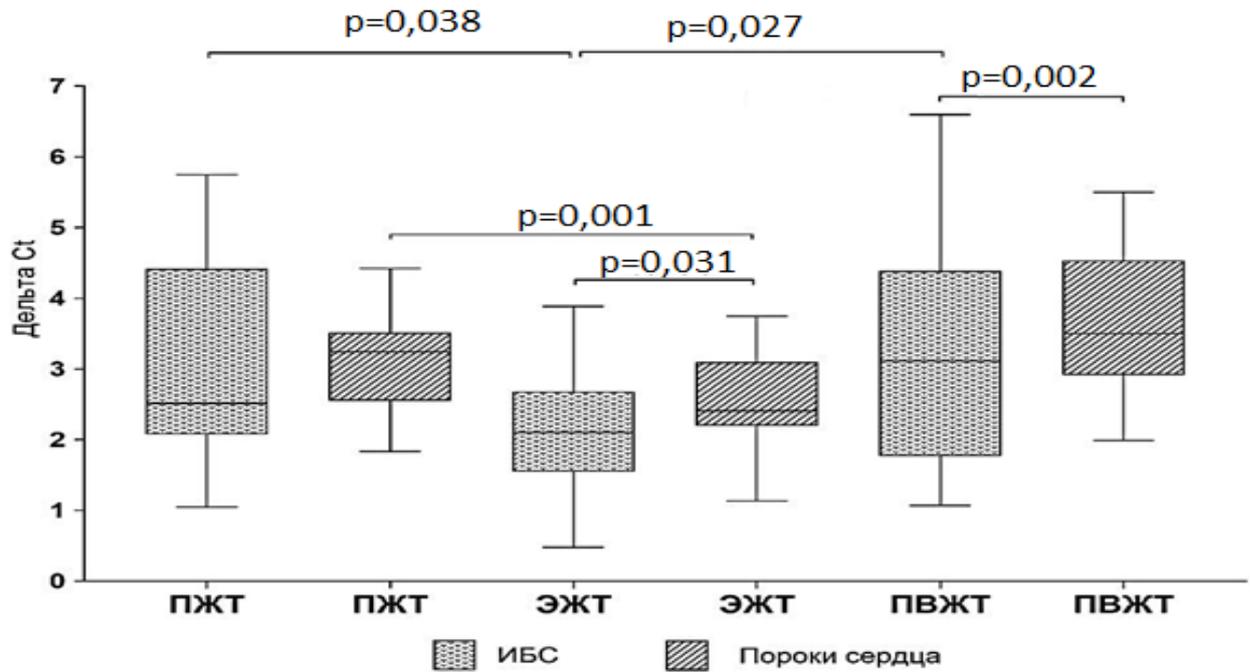


Рисунок 5 – Уровень мРНК *ADIPOQ* в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца и пороками сердца

Примечание: здесь и в рисунках 6–42:  $p$  – уровень статистической значимости. ИБС – ишемическая болезнь сердца, ПВЖТ – периваскулярная жировая ткань, ПЖТ – подкожная жировая ткань, ЭЖТ – эпикардиальная жировая ткань.

Содержание адипонектина в суточной культуре адипоцитов ЭЖТ было ниже, чем в ПЖТ, как у пациентов с ИБС, так и с пороками сердца (в 1,3 раза и в 1,13 раза, соответственно), что говорит о его низкой секреции эпикардиальными адипоцитами по сравнению с подкожными. При этом данный показатель в группе сравнения (с пороками сердца) был выше, чем у лиц основной группы (с ИБС) в 1,4 раза, что свидетельствует о снижении секреции адипонектина адипоцитами эпикардиальной локализации при коронарогенной патологии.

Адипоциты ПВЖТ пациентов с ИБС характеризовались наименьшим уровнем секреции адипонектина по сравнению с культурами адипоцитов другой локализации. Секреция адипонектина адипоцитами ПВЖТ лиц с пороками сердца, напротив, превышала таковую пациентов с ИБС. Об этом свидетельствует высокая концентрация адипонектина в ПВЖТ лиц с пороками сердца, которая превышала аналогичный показатель жировых депо другой локализации и пациентов с ИБС (в 1,8 раза). Статистически значимых различий концентрации

адипонектина в супернатанте культуры адипоцитов ПЖТ между группами пациентов с ИБС и пороками сердца выявлено не было (рисунок 6).

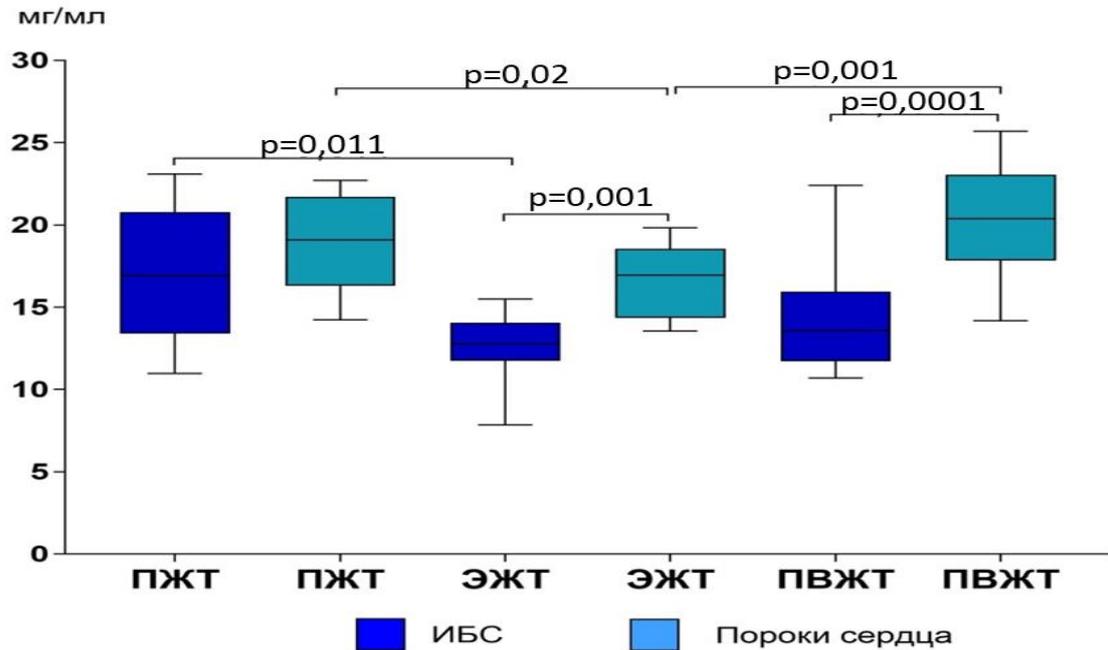


Рисунок 6 – Секреция адипонектина в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца и пороками сердца

Одной из причин обнаруженной низкой концентрации адипонектина в супернатанте культуры адипоцитов ПВЖТ при высокой экспрессии гена *ADIPOQ* может являться уменьшение экспрессии рецепторов адипонектина (*AdipoR1* и *AdipoR2*) на адипоцитах различной локализации. Действительно, установлено, что у пациентов с ИБС наименьшая концентрация рецепторов адипонектина *AdipoR1* определялась в культуре адипоцитов ПВЖТ и была в 1,6 раза ниже, чем в ПЖТ, что свидетельствует о низком уровне экспрессии *AdipoR1* на мембране адипоцитов. Обращает на себя внимание снижение концентрации *AdipoR1* в супернатанте подкожной и периваскулярной жировой ткани у пациентов с ИБС по сравнению с пациентами с пороками сердца (в 1,3 и 1,5 раза, соответственно).

Значимых различий концентрации рецептора *AdipoR1* в супернатанте клеточной культуры адипоцитов ЭЖТ, а также *AdipoR2* в супернатанте адипоцитов подкожной, эпикардимальной и периваскулярной жировой ткани между группами пациентов выявлено не было (рисунок 7 и 8).

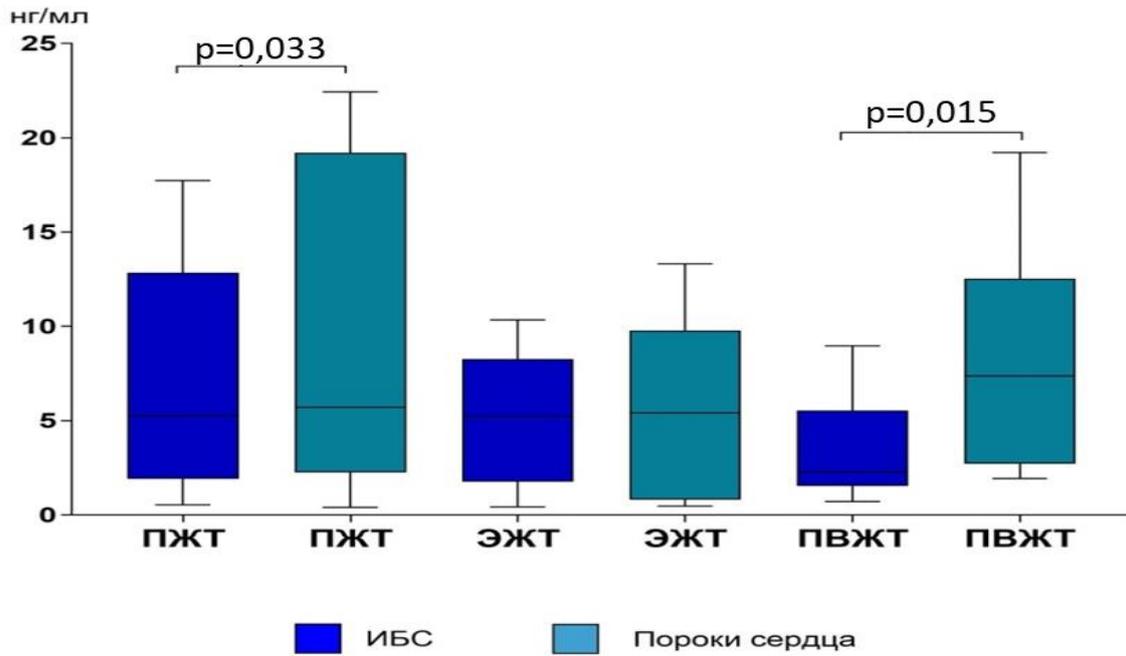


Рисунок 7 – Секреция рецептора адипонектина AdipoR1 в супернатанте клеточной культуры адипоцитов различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца и пороками сердца

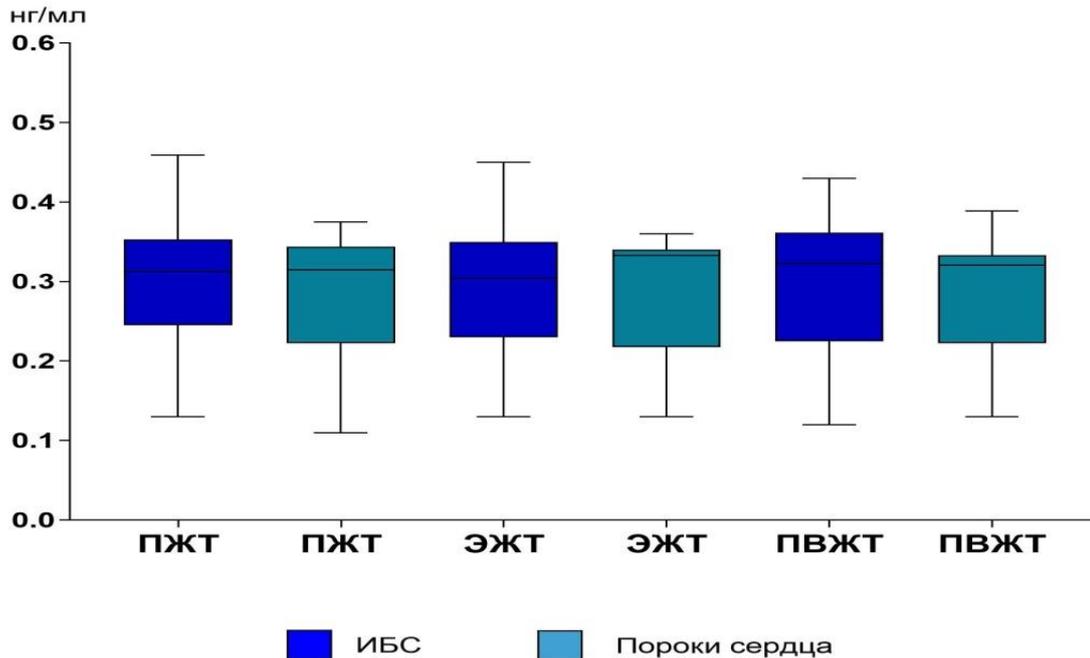


Рисунок 8 – Секреция рецептора адипонектина AdipoR2 в супернатанте клеточной культуры адипоцитов различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца и пороками сердца

При изучении экспрессии гена *LEP* максимальные уровни мРНК *LEP* у пациентов обеих групп наблюдались в культуре адипоцитов эпикардиальной жировой ткани относительно подкожной и периваскулярной, при этом у лиц с ИБС данный показатель превышал аналогичный показатель пациентов с пороками в 1,9 раза (рисунок 9). Так, в основной группе (с ИБС) уровень мРНК гена *LEP* в ЭЖТ превышал показатели ПЖТ в 2,1 раза и ПВЖТ – в 1,5 раза, а в группе сравнения (с пороками сердца) – в 1,4 и в 1,6 раза. У лиц с пороками сердца наименьший уровень мРНК гена *LEP* выявлялся в культуре ПВЖТ, при этом экспрессия *LEP* была ниже, чем при ИБС, в 2 раза. Экспрессия гена *LEP* в культурах адипоцитов подкожной жировой ткани статистически значимо не различалась в зависимости от нозологии ССЗ (рисунок 9).

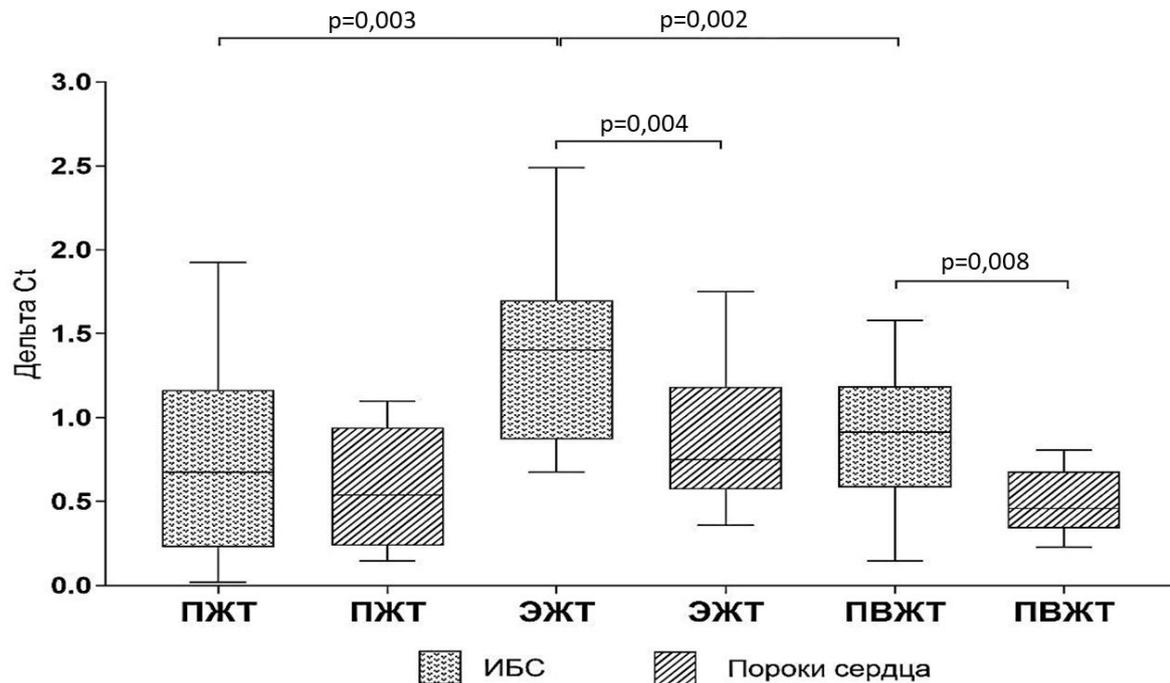


Рисунок 9 – Уровень мРНК *LEP* в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца и пороками сердца

В результате проведенной оценки содержания лептина в супернатанте клеточных культур адипоцитов получено, что концентрация лептина в клеточной культуре эпикардиальных адипоцитов у пациентов обеих групп (как с ИБС, так и с пороками сердца) была максимальной по сравнению с адипоцитами другой локализации, что свидетельствует о высокой секреции лептина адипоцитами ЭЖТ

при ССЗ. При этом у пациентов с ИБС содержание лептина в супернатанте клеточной культуры ЭЖТ превышало аналогичный показатель лиц с пороками в 1,2 раза (рисунок 10).

В адипоцитах ПВЖТ пациентов обеих групп наблюдалась наименьшая секреция лептина по сравнению с культурами адипоцитов другой локализации. Так, у пациентов с ИБС концентрация лептина в супернатанте клеточной культуры адипоцитов периваскулярной жировой ткани была ниже аналогичного показателя в ЭЖТ в 1,1 раза, и у пациентов с пороками сердца концентрация лептина в супернатанте периваскулярных адипоцитов была выше в 1,5 раза концентрации лептина в ЭЖТ. Обращает на себя внимание, что секреция лептина в супернатанте периваскулярных адипоцитов основной группы (с ИБС) превышала изучаемый показатель группы сравнения (пороки сердца). Статистически значимых различий концентрации лептина в культуре адипоцитов ПЖТ между пациентами основной группы (с ИБС) и группы сравнения (с пороками сердца) не выявлено (рисунок 10).

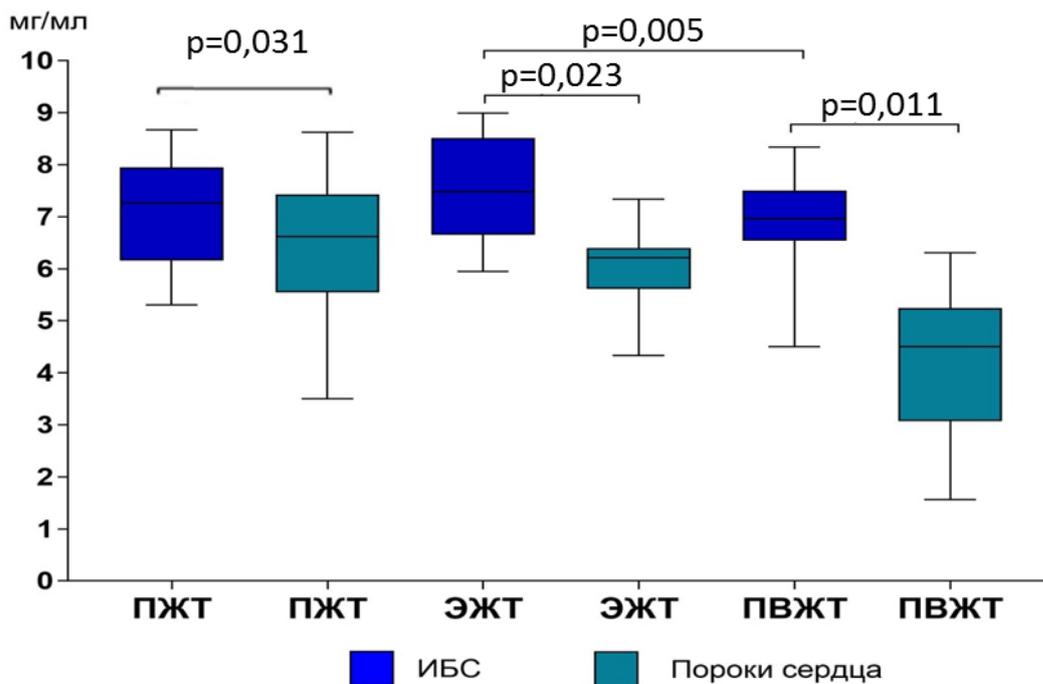


Рисунок 10 – Секреция лептина адипоцитами различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца и пороками сердца

### **3.2 Экспрессия гена интерлейкина-6 и его содержание в супернатанте клеточной культуры адипоцитов различных жировых депо у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца и пороками сердца**

Известно, что адипоциты продуцируют до 30 % циркулирующего ИЛ-6 и являются вторым по значимости источником данного цитокина после активированных моноцитов / макрофагов, фибробластов и эндотелиальных клеток. На основании ранее проведенных исследований, согласно которым ЭЖТ и ПВЖТ не отделены от прилегающего миокарда и сосудистых стенок, необходимо изучение роли потенциальных паракринных эффектов ИЛ-6, продуцируемого эпикардальными и периваскулярными адипоцитами, в патогенезе ИБС [60].

Недавно было продемонстрировано, что плазменные уровни ИЛ-6 коррелируют с площадью эпикардальной и абдоминальной висцеральной ЖТ у пациентов с атеросклеротическим поражением коронарных артерий. Вероятно, не только объем, но и локализация жировых депо влияет на продукцию ИЛ-6 адипоцитами [22, 24, 116]. Обнаруженные ассоциации позволили авторам предположить потенциальное влияние данных жировых депо на развитие атеросклероза посредством продуцируемых адипоцитокинов не только через системные, но и паракринные эффекты [118]. Предполагают, что при патологических состояниях изменяется транскриптомный профиль ЭЖТ, причем воспалительный ответ эпикардальной жировой ткани намного выше, чем подкожной [145]. Выявленные ранее особенности могут свидетельствовать об активации воспалительных процессов в эпикардальной жировой ткани при ИБС. Однако данных относительно изменений в ПВЖТ практически нет, несмотря на значительное потенциальное участие в патогенезе ИБС, что требует дальнейшего изучения.

Определение экспрессии гена *IL6* в суточной культуре адипоцитов жировых депо различной локализации показало, что в ЭЖТ наблюдались максимальные уровни мРНК *IL6* по отношению к ПЖТ и ПВЖТ как при ИБС (в 2,1 раза и 1,4

раза соответственно), так и при пороках сердца (в 1,1 раза и 1,9 раза, соответственно). При этом уровень мРНК *IL6* в адипоцитах эпикардиальной жировой ткани у лиц с ИБС превышал таковой пациентов с пороками сердца в 1,4 раза. Экспрессия гена *IL6* в периваскулярных адипоцитах в основной группе пациентов (с ИБС) была выше по сравнению с группой сравнения (с пороками сердца) в 1,9 раза. Подкожные адипоциты обеих групп пациентов не отличались между собой по уровню экспрессии гена *IL6* (рисунок 11).

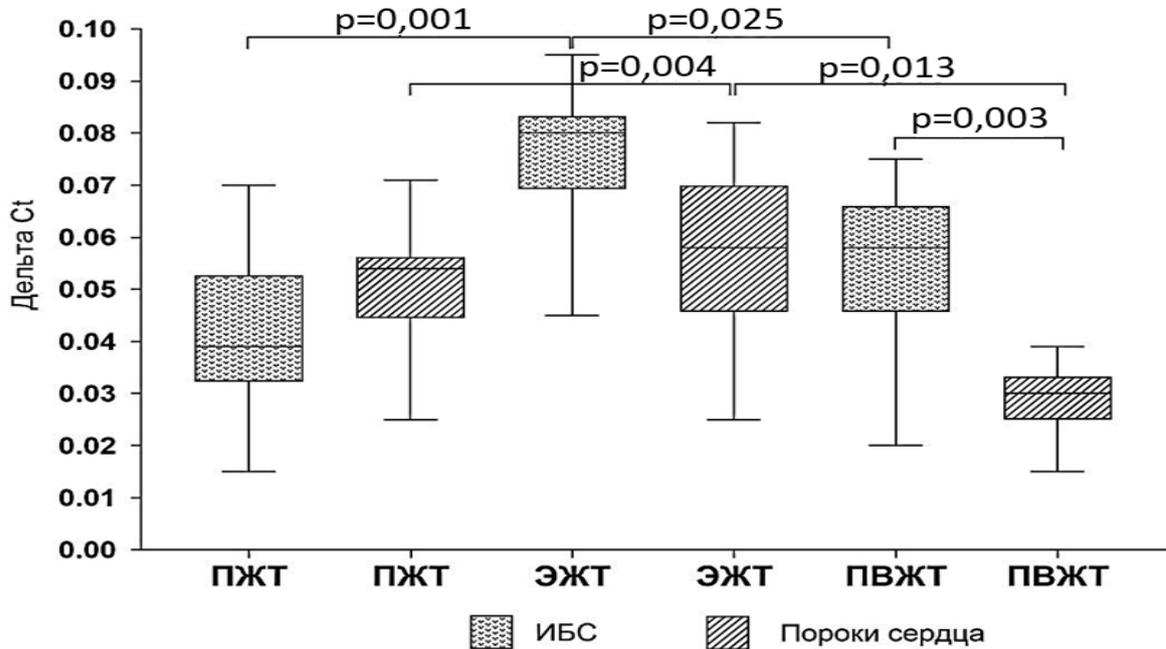


Рисунок 11 – Уровень мРНК *IL6* в различных жировых депо в суточной культуре адипоцитов пациентов с ишемической болезнью сердца и пороками сердца

При изучении секреции ИЛ-6 получено, что секреция ИЛ-6 адипоцитами ЭЖТ также превышала показатели других изучаемых жировых депо как у пациентов с ИБС, так и с пороками сердца. Так, у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца концентрация ИЛ-6 в супернатанте клеточной культуры эпикардиальных адипоцитов была выше, чем в адипоцитах ПЖТ в 2,5 раза и в 1,8 раза – в супернатанте клеточной культуры периваскулярных адипоцитов, а у больных с пороками сердца – в 1,5 раза и 1,8 раза, соответственно. При этом значения в основной группе (ИБС) превышали

аналогичные показатели группы сравнения (пороки сердца) в 1,4 раза. Адипоциты подкожной локализации по уровню секреции данного цитокина статистически значимо не различались в зависимости от наличия ИБС или пороков сердца у обследованных пациентов (рисунок 12).

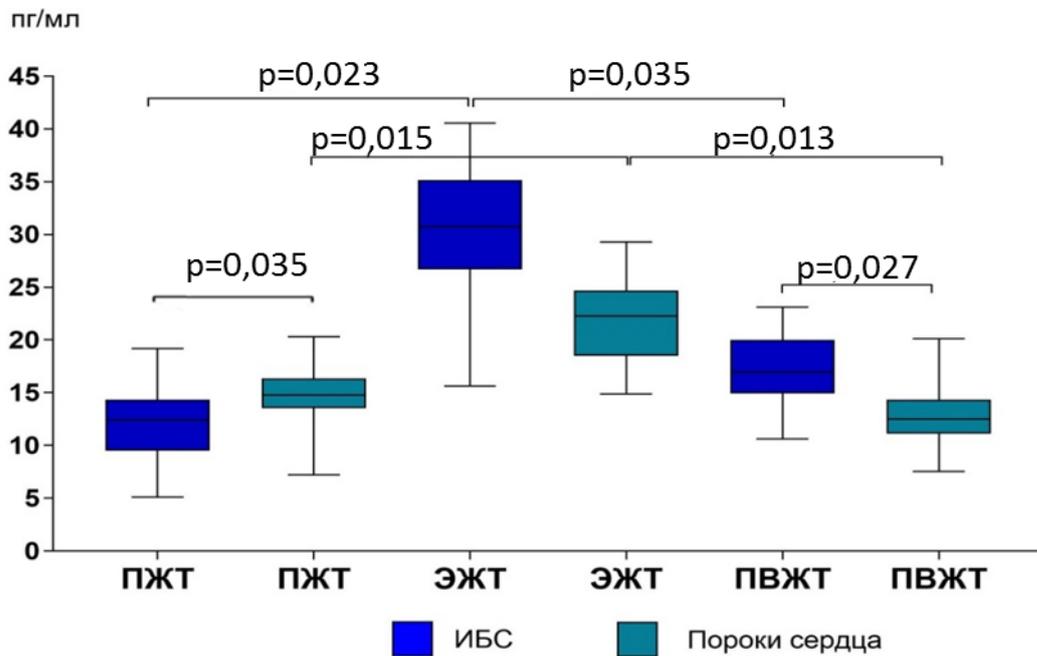


Рисунок 12 – Секреция интерлейкина-6 адипоцитами различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца и пороками сердца

Таким образом, продемонстрирован самый высокий уровень экспрессии *IL6* эпикардальными адипоцитами обследованных пациентов с ССЗ, при этом изучаемый показатель лиц с ИБС превышал таковой пациентов с пороками сердца. Экспрессия гена *IL6* в адипоцитах периваскулярной жировой ткани в основной группе (с ИБС) была выше по сравнению с группой сравнения (с пороками сердца), а подкожные адипоциты пациентов не различались по уровню экспрессии гена *IL6*. Аналогично экспрессии, секреция ИЛ-6 адипоцитами эпикардальной жировой ткани также была повышена у пациентов обеих групп, причем при наличии ИБС превышала таковую лиц с пороками сердца. При ИБС секреция ИЛ-6 периваскулярными адипоцитами превышала аналогичный показатель больных с пороками сердца, тогда как в подкожных адипоцитах статистически значимых различий секреции ИЛ-6 выявлено не было.

### 3.3 Экспрессия адипоцитокинов и факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца

Ранее проведенные исследования выявили ряд провоспалительных и других маркеров, потенциально связанных с атерогенезом, которые также экспрессируются и продуцируются жировой тканью [6, 21]. На сегодняшний день изучение факторов, в том числе коморбидности, потенциально оказывающих влияние на течение и прогноз ИБС, продолжает оставаться актуальной проблемой современного здравоохранения [11]. Так, например, продемонстрировано, что распространенность АГ среди населения РФ составляет 20–40 %, а у пациентов с ИБС АГ встречается в 67 % случаев [19]. Поскольку атеросклероз и ИБС являются мультифакториальными заболеваниями, в развитие которых вносят свой вклад как внутренние (пол, возраст), так и внешние факторы (курение, дислипидемия, АГ, малоподвижный образ жизни), необходимо дальнейшее изучение патогенетических взаимосвязей экспрессии адипоцитокинов и основных факторов риска ССЗ.

Традиционно считается, что мужчины более предрасположены к развитию ССЗ, в том числе, ИБС, чем женщины (до определенного возраста). В связи с этим изучалась экспрессия адипоцитокинов у пациентов с ИБС в зависимости от пола.

Анализ экспрессии генов адипоцитокинов с учетом пола пациентов показал, что у мужчин с ИБС уровень мРНК *ADIPOQ* в ЭЖТ и ПВЖТ значительно ниже, чем у женщин с ИБС (в 1,5 и 2,8 раза, соответственно), тогда как в ПЖТ различий не было (рисунок 13).

Экспрессия *LEP* у мужчин с ИБС в ПВЖТ также была ниже, чем у женщин с ИБС (в 1,4 раза). Однако значимых различий в подкожной и эпикардальной ЖТ не наблюдалось (рисунок 14).

Уровень мРНК *IL6* в ПЖТ был значимо выше у мужчин с ИБС (в 3 раза), а в ПВЖТ, напротив, ниже в 2 раза, чем у женщин с ИБС. Различий в ЭЖТ по данному показателю не обнаружено (рисунок 15).

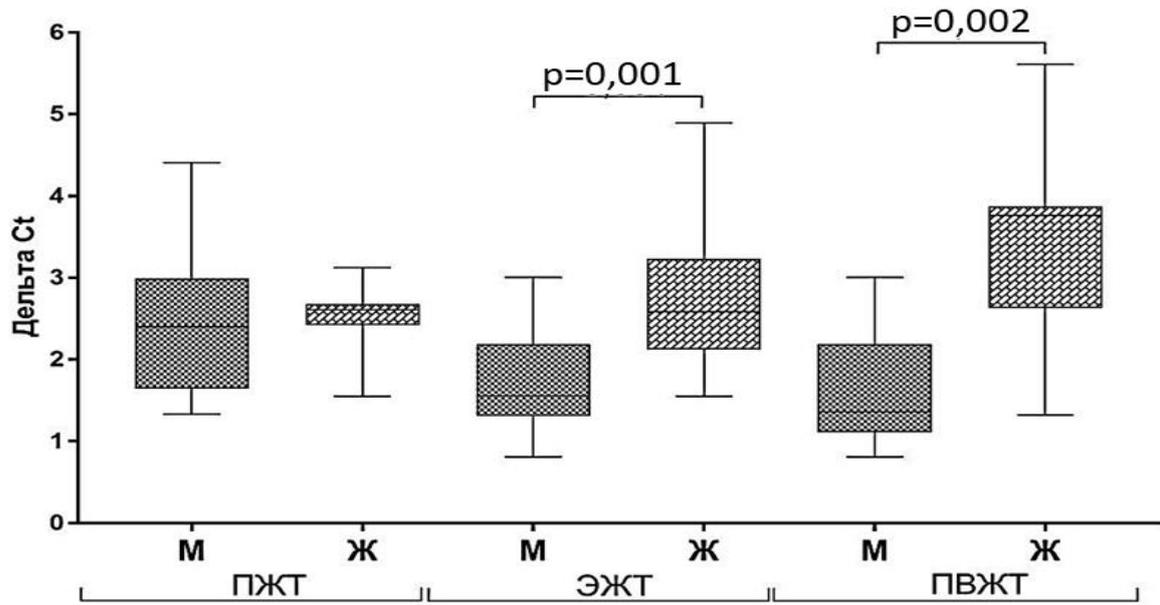


Рисунок 13 – Уровень мРНК *ADIPOQ* в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от пола

Примечание: здесь и в рисунках 14-15: Ж – пациенты женского пола, М – пациенты мужского пола.

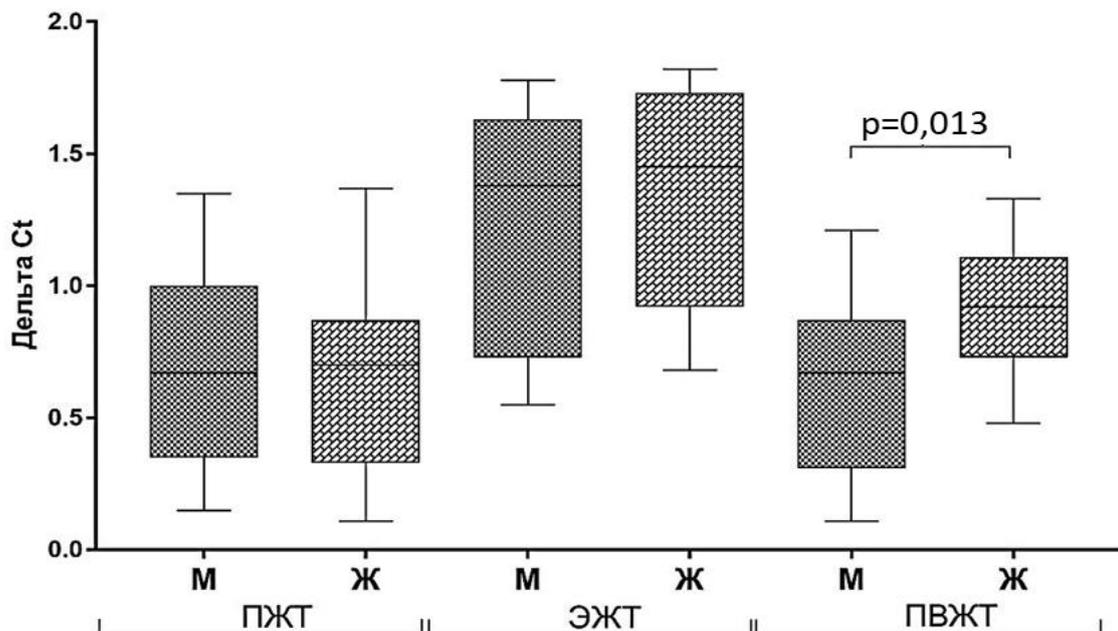


Рисунок 14 – Уровень мРНК *LEP* в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от пола

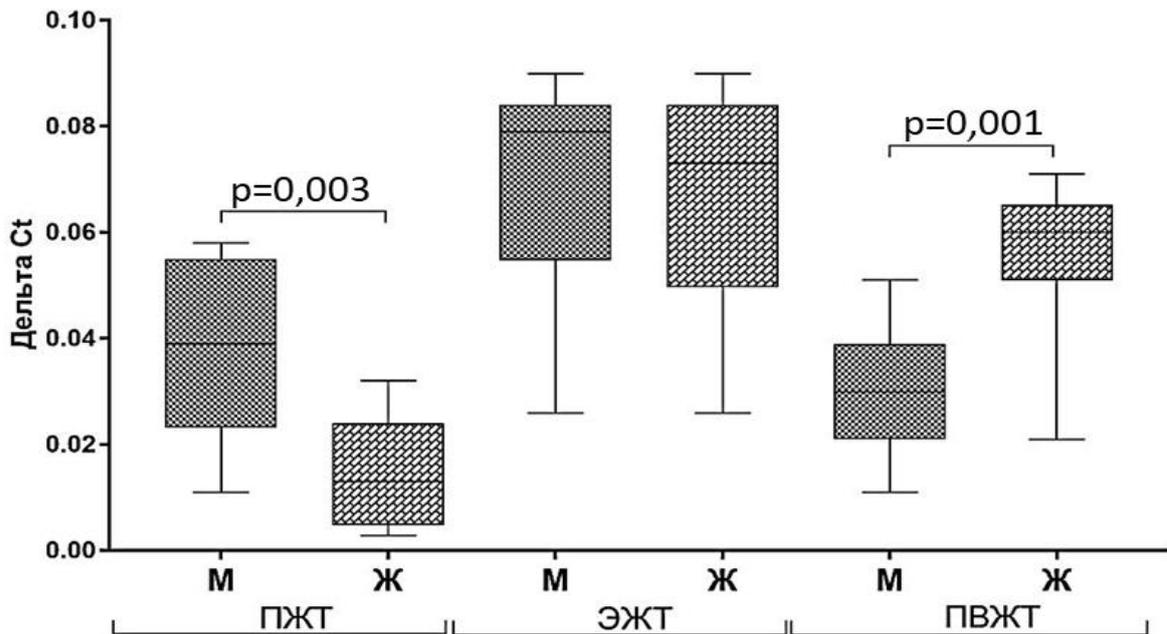


Рисунок 15 – Уровень мРНК *IL6* в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от пола

Таким образом, у мужчин с ИБС в ЭЖТ отмечалось снижение экспрессии *ADIPOQ*. В ПВЖТ выявлено уменьшение уровней мРНК генов *ADIPOQ*, *LEP* и *IL6*. В ПЖТ – возрастание экспрессии *IL6*.

Затем все пациенты с ИБС были распределены по возрасту на 3 группы ( $\leq 50$  лет, 50–59 лет и  $\geq 60$  лет). С учетом такого деления было получено, что максимальная экспрессия *ADIPOQ* в ПЖТ наблюдалась у лиц младше 50 лет, превышая показатели лиц 2-й и 3-й группы в 2 раза. Наибольший уровень мРНК гена *ADIPOQ* в ЭЖТ был у лиц старше 60 лет: в 1,7 раза выше, чем у лиц других групп. В адипоцитах ПВЖТ самая низкая экспрессия *ADIPOQ* отмечалась в группе лиц моложе 50 лет относительно других групп (в 1,4 раза) (рисунок 16).

Определение уровня мРНК гена *LEP* с учетом распределения пациентов на 3 возрастные группы показало, что у лиц 2-й группы наблюдалось снижение данного показателя в ПЖТ (в 1,2 раза) относительно лиц 1-й и 3-й группы при одновременном повышении в ЭЖТ и ПВЖТ (в 2 раза и 1,6 раза, соответственно, по сравнению с лицами младше 50 лет и в 1,5 раза и 2,2 раза, соответственно, выше, чем у лиц старше 60 лет) (рисунок 17).

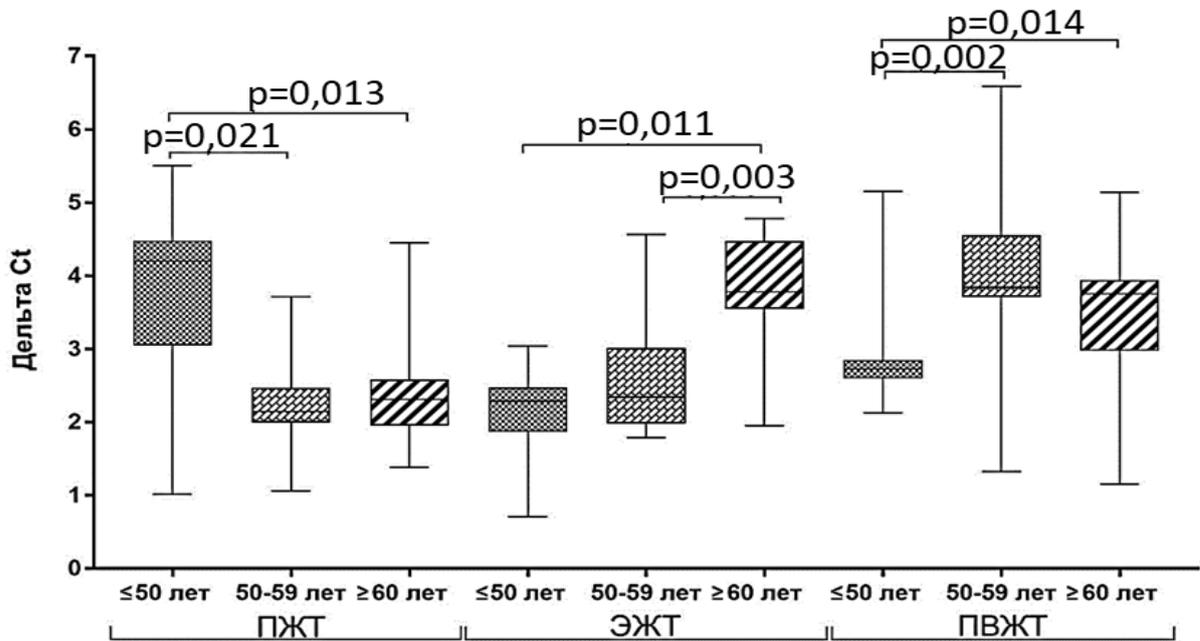


Рисунок 16 – Уровень мРНК *ADIPOQ* в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от возраста

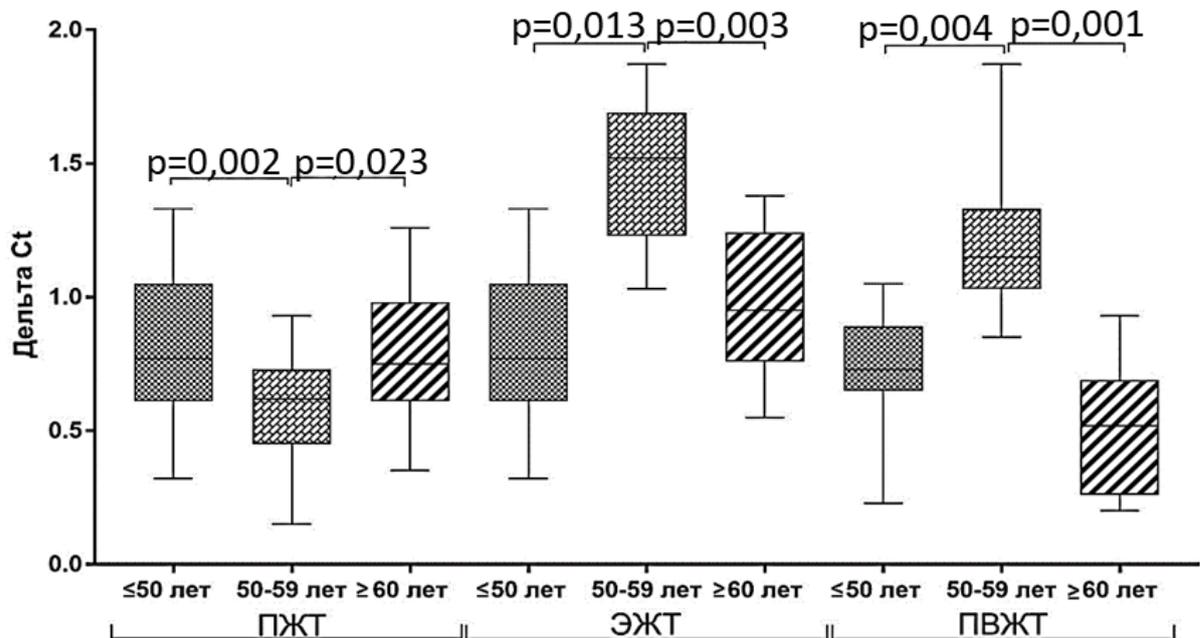


Рисунок 17 – Уровень мРНК *LEP* в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от возраста

Повышение экспрессии *IL6* в ПЖТ наблюдалась у больных старше 60 лет относительно показателя лиц младше 50 лет и 50–59 лет (в 4 и 2 раза, соответственно). В группе 50–59 лет выявлен наибольший уровень мРНК *IL6* в

ЭЖТ (в 2,2 и 2,05 раза, соответственно) и ПВЖТ (в 2,3 и 2,2 раза, соответственно) по сравнению с уровнями пациентов 1-й и 3-й групп (рисунок 18).

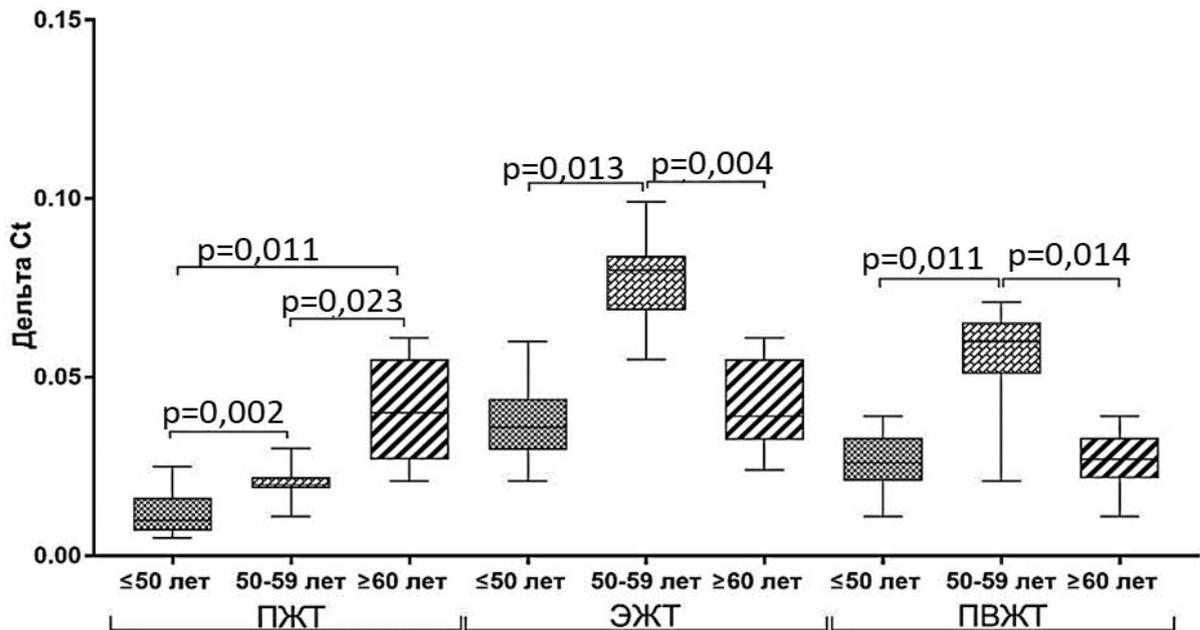


Рисунок 18 – Уровень мРНК *IL6* в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от возраста

Таким образом, у лиц младше 50 лет наблюдалась максимальная экспрессия *ADIPOQ* в адипоцитах подкожной жировой ткани и минимальная – в адипоцитах периваскулярной жировой ткани. В группе пациентов с ИБС в возрасте 50–59 лет отмечена самая низкая экспрессия *LEP* в ПЖТ и высокая – в ЭЖТ и ПВЖТ, на фоне максимального уровня мРНК гена *IL6* в ЭЖТ и ПВЖТ по сравнению с показателями других возрастных групп. Пациенты старше 60 лет характеризовались повышенным уровнем мРНК *ADIPOQ* в ЭЖТ и *IL6* в ПЖТ.

При анализе исследуемых параметров с учетом наличия дислипидемии отмечено значимое снижение уровня мРНК гена *ADIPOQ* в ЭЖТ и ПВЖТ (в 2,7 и 3,6 раза, соответственно) у пациентов с ИБС и дислипидемией по сравнению с лицами без дислипидемии, тогда как в ПЖТ отличий не наблюдалось (рисунок 19).

Уровень мРНК *LEP* не был взаимосвязан с дислипидемией у пациентов с ИБС (рисунок 20).

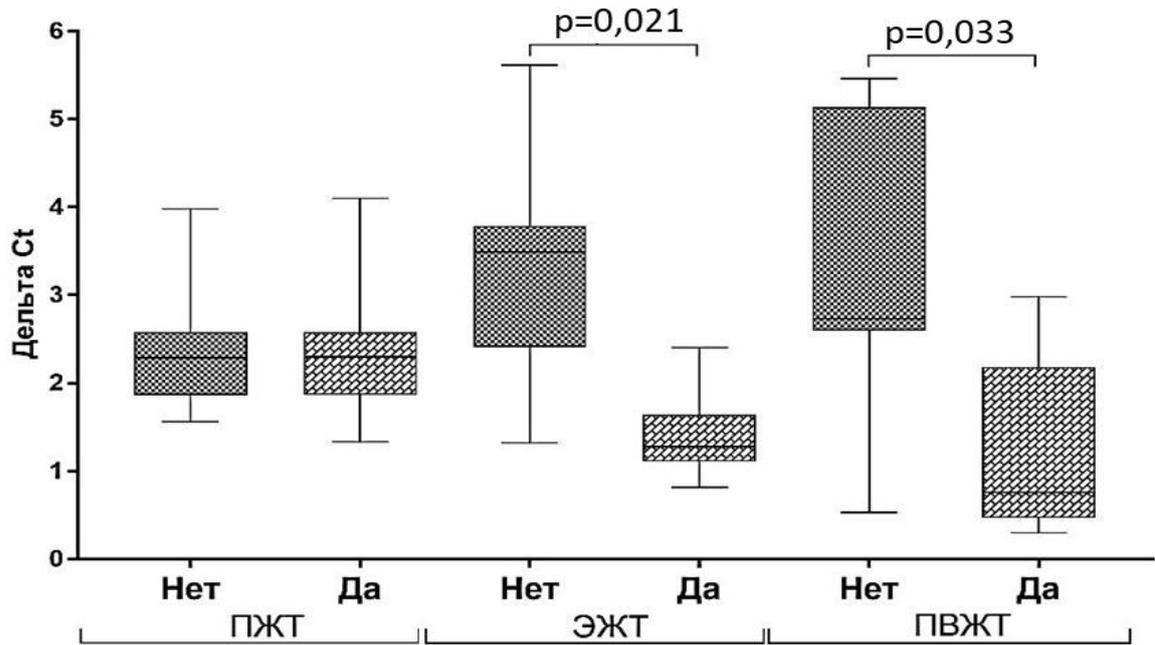


Рисунок 19 – Уровень мРНК *ADIPOQ* в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от наличия дислипидемии

Примечание: здесь и в рисунках 20-21: Да – наличие дислипидемии, Нет – отсутствие дислипидемии.

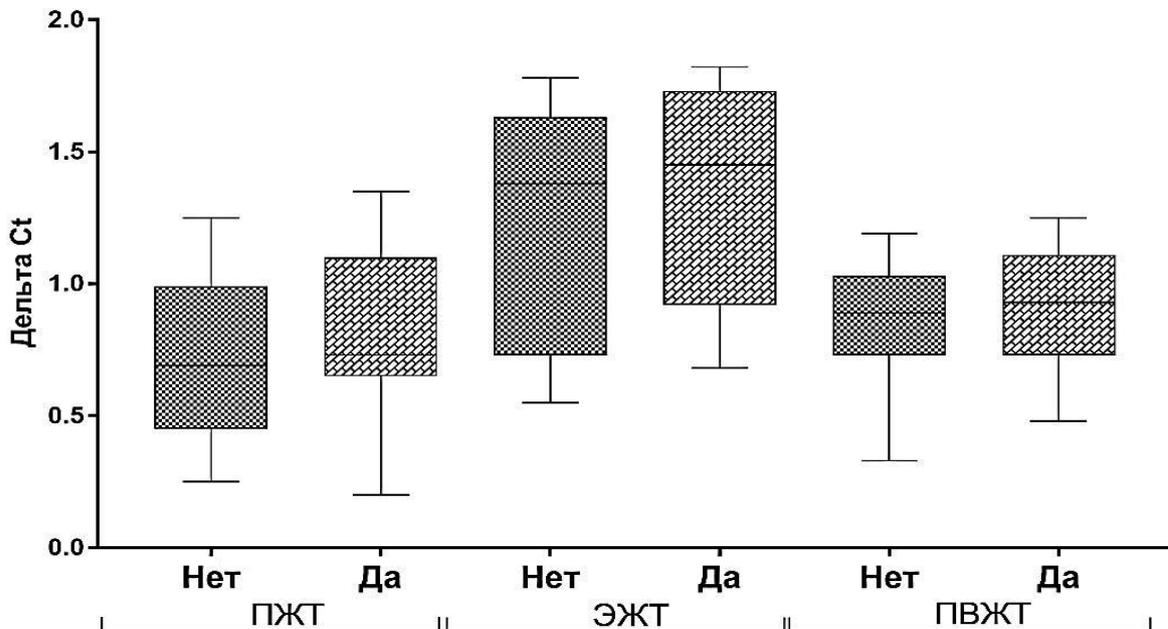


Рисунок 20 – Уровень мРНК *LEP* в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от наличия дислипидемии

У пациентов с ИБС и дислипидемией наблюдалось снижение экспрессии *IL6* в ПВЖТ в 2,3 раза по сравнению с лицами без таковой. В культурах ПЖТ и ЭЖТ различий не выявлено (рисунок 21).

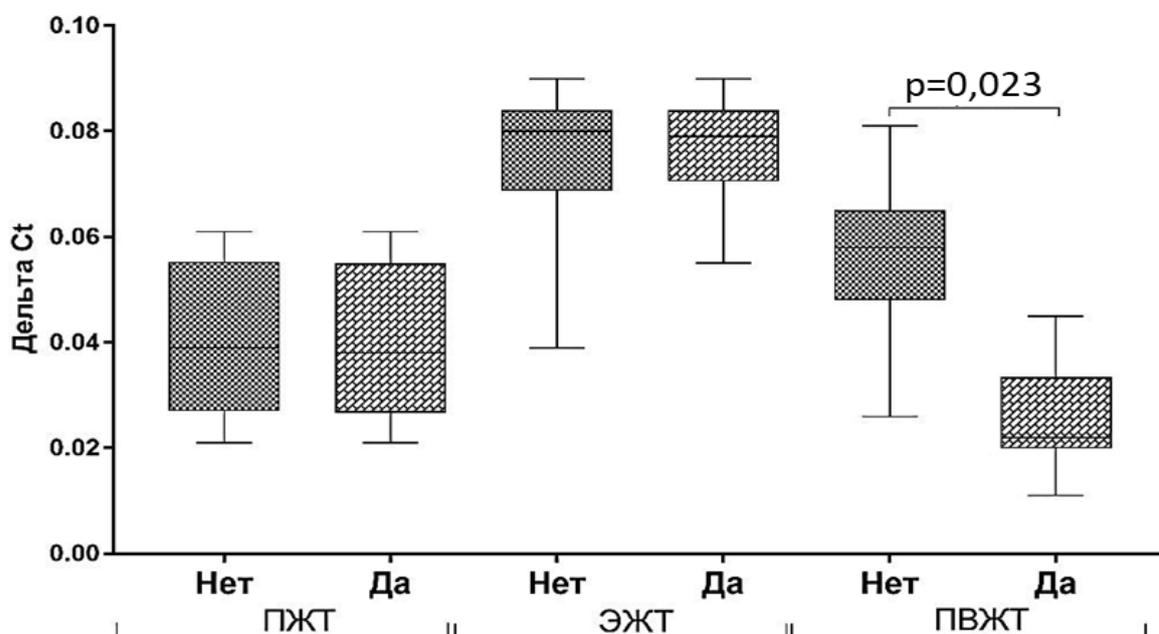


Рисунок 21 – Уровень мРНК *IL6* в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от наличия дислипидемии

Таким образом, наличие дислипидемии у пациентов с ИБС ассоциировано с уменьшением уровня мРНК *ADIPOQ* в ЭЖТ и ПВЖТ и *IL6* в ПВЖТ по сравнению с лицами без дислипидемии. При этом ассоциации экспрессии *LEP* с дислипидемией не обнаружено.

Изучение экспрессии адипоцитокинов с учетом наличия у пациентов с ИБС АГ продемонстрировало, что при АГ уровень мРНК гена *ADIPOQ* был ниже в ЭЖТ и ПВЖТ (в 2 и 1,8 раза, соответственно), но не ПЖТ, относительно лиц без АГ (рисунок 22).

При делении пациентов с ИБС на 3 группы по стажу АГ ( $\leq 10$  лет, 11–19 лет и  $\geq 20$  лет) получено, что стаж АГ более 20 лет ассоциирован с уменьшением экспрессии *ADIPOQ* во всех типах ЖТ относительно лиц с длительностью АГ менее 10 лет и 11–19 лет. Так, в ПЖТ экспрессия *ADIPOQ* повышена в 1,8 и 2,5 раза; в ЭЖТ – в 1,5 и 2 раза; в ПВЖТ – в 3 и 2 раза, соответственно (рисунок 23).

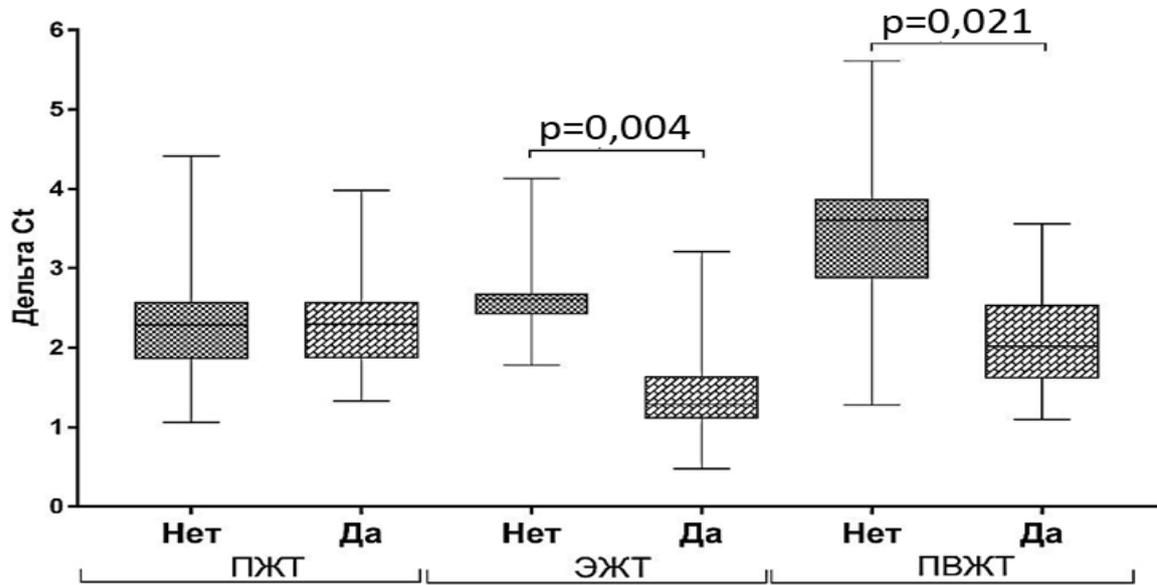


Рисунок 22 – Уровень мРНК гена *ADIPOQ* в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от наличия артериальной гипертензии

Примечание: здесь и в рисунках 24, 26: Да – наличие артериальной гипертензии, Нет – отсутствие артериальной гипертензии

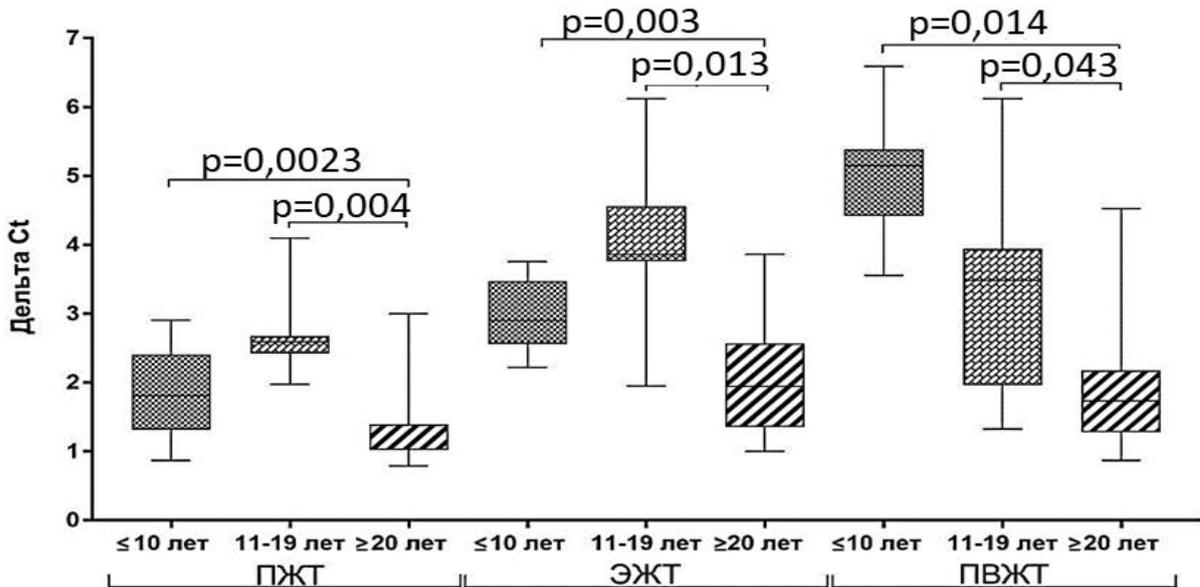


Рисунок 23 – Уровень мРНК гена *ADIPOQ* в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от стажа артериальной гипертензии

У лиц с ИБС и АГ экспрессия *LEP* в ЭЖТ превышала показатель пациентов без АГ в 1,7 раза, в то время как в ПЖТ и ПВЖТ не отличалась (рисунок 24).

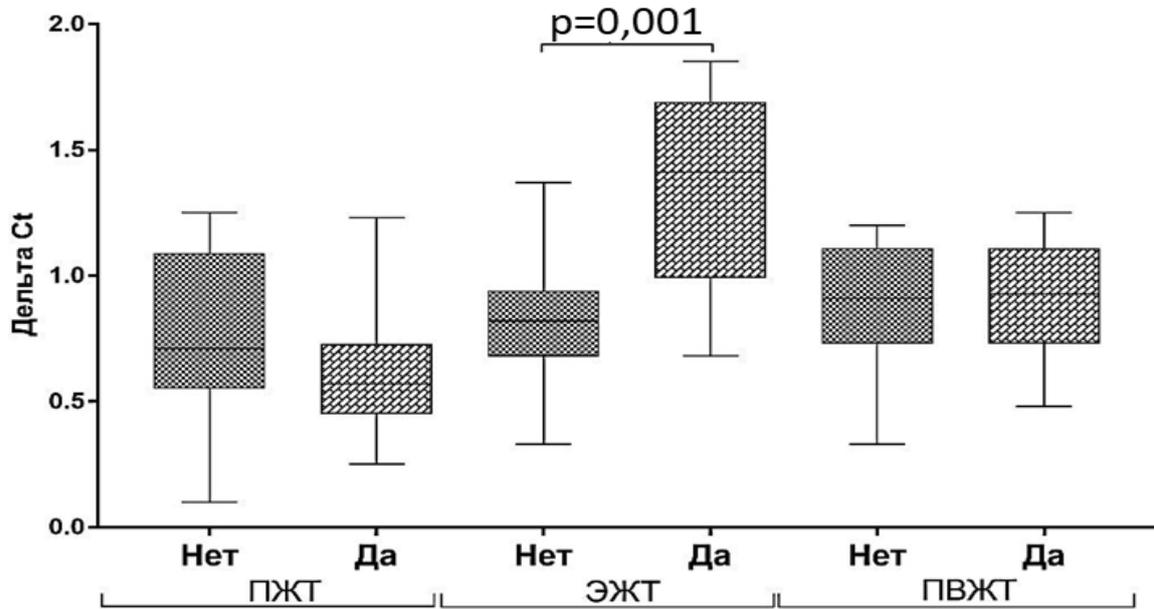


Рисунок 24 – Уровень мРНК гена *LEP* в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от наличия артериальной гипертензии

Длительность АГ более 20 лет ассоциировалась с увеличением уровня мРНК гена *LEP* во всех типах ЖТ относительно лиц со стажем АГ  $\leq 10$  лет и 11–19 лет: в ПЖТ в 1,7 и 1,3 раза; в ЭЖТ – в 1,7 и 1,5 раза; в ПВЖТ – в 1,4 и 1,3 раза, соответственно (рисунок 25).

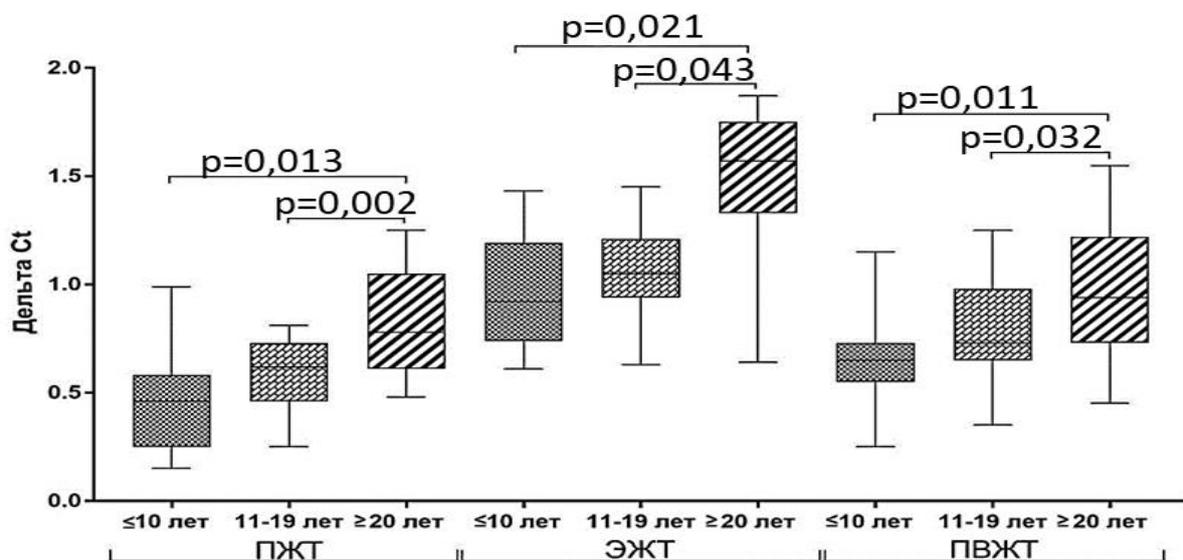


Рисунок 25 – Уровень мРНК гена *LEP* в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от стажа артериальной гипертензии

Уровень мРНК гена *IL6* у лиц с ИБС при наличии АГ был увеличен в ПЖТ и ЭЖТ (в 8 и 10,4 раза, соответственно), но не в ПВЖТ (рисунок 26).

Стаж АГ более 20 лет у пациентов с ИБС ассоциирован со снижением экспрессии *IL6* в ПЖТ (в 1,8 и 1,6 раза, соответственно) и увеличением в ПВЖТ (в 2 раза) относительно пациентов с ИБС и длительностью АГ менее 10 лет и АГ 11–19 лет. Уровни мРНК гена *IL6* в ЭЖТ у пациентов с ИБС в зависимости от длительности АГ не различались (рисунок 27).

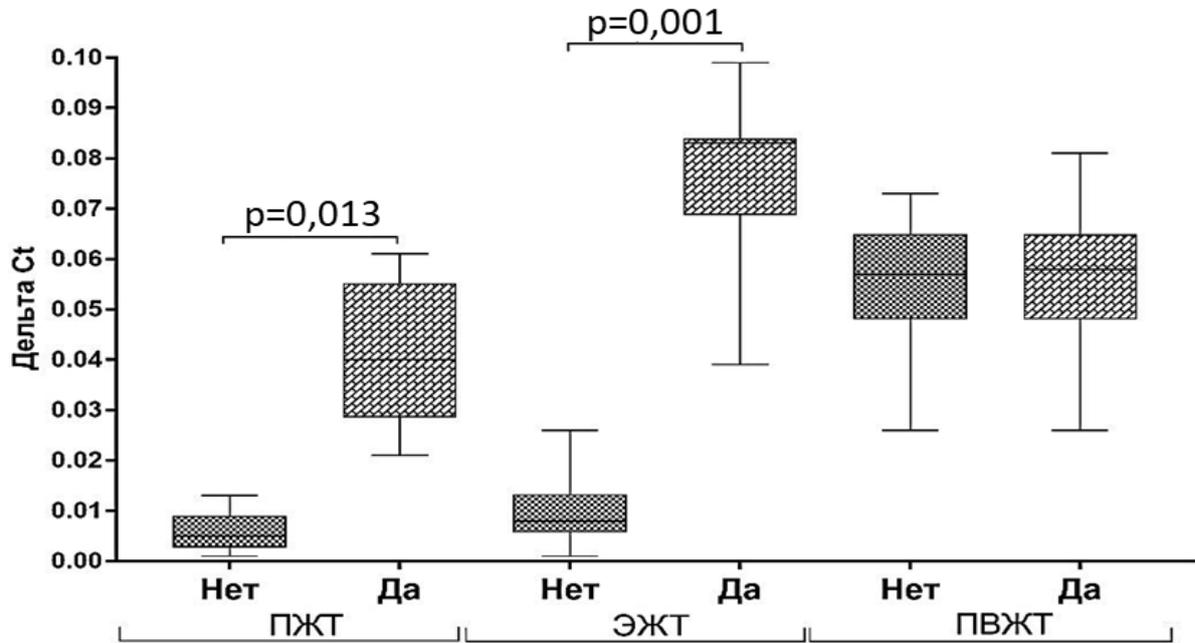


Рисунок 26 – Уровень мРНК гена *IL6* в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от наличия артериальной гипертензии

Таким образом, показано, что у пациентов с ИБС наличие артериальной гипертензии ассоциировано со снижением экспрессии гена *ADIPOQ* в ЭЖТ и ПВЖТ на фоне повышения уровня мРНК *LEP* в ЭЖТ и *IL6* в ПЖТ и ЭЖТ. Кроме того, длительность АГ у лиц с ИБС имела значение для динамики экспрессии исследуемых адипоцитокинов. Так, продемонстрировано, что стаж АГ более 20 лет у пациентов с ИБС ассоциирован со снижением экспрессии *ADIPOQ* на фоне повышения *LEP* во всех типах изучаемых локальных жировых депо, а также уменьшением уровня мРНК гена *IL6* в ПЖТ и увеличением в ПВЖТ у пациентов с ИБС.

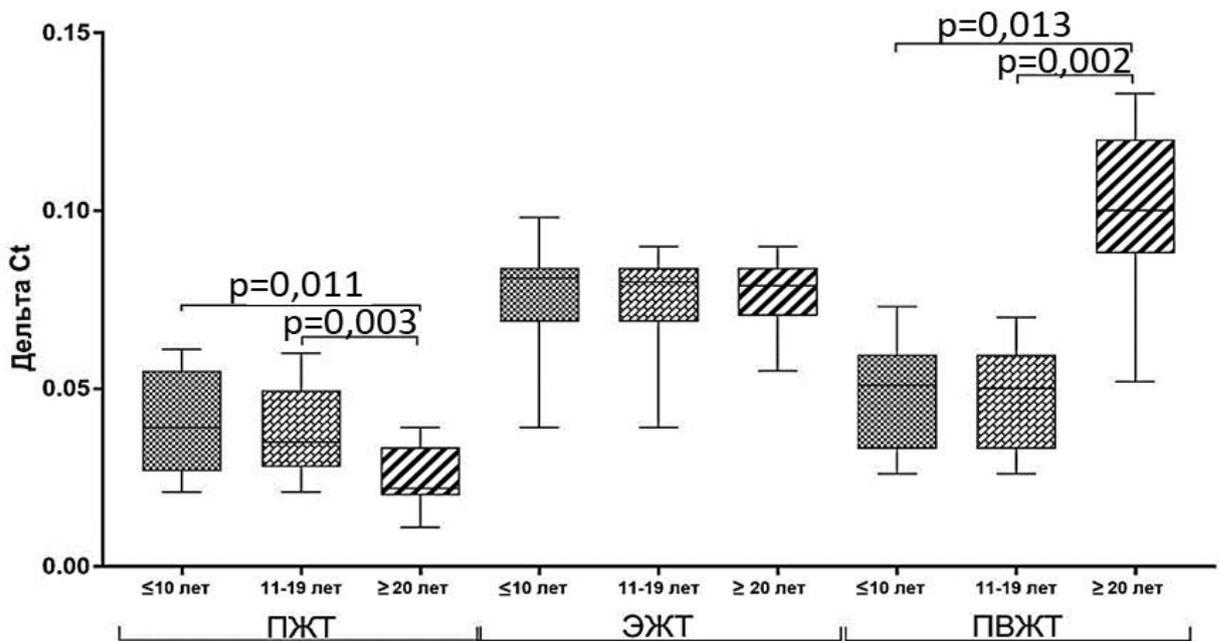


Рисунок 27 – Уровень мРНК гена *IL6* в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от стажа артериальной гипертензии

Анализ показателей в зависимости от курения у пациентов с ИБС показал, что у курящих больных наблюдалось повышение экспрессии *ADIPOQ* как в PJT, так и в EJT и PJVT (в 1,9, 1,7 и 1,5 раза, соответственно) (рисунок 28).

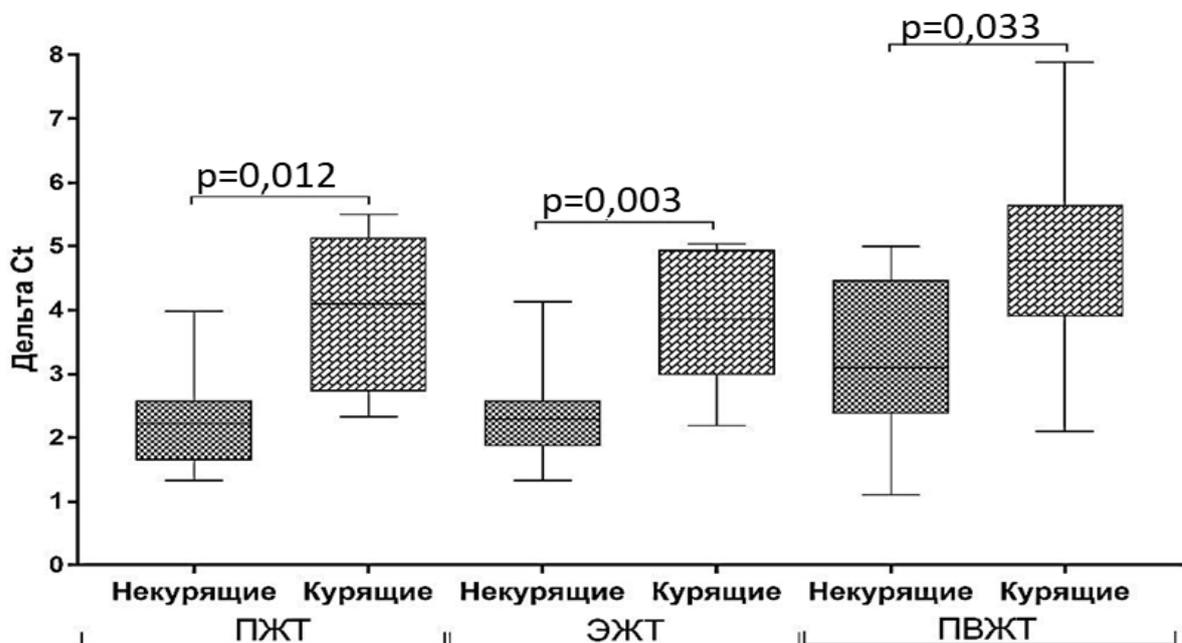


Рисунок 28 – Уровень мРНК гена *ADIPOQ* в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от курения

Уровни мРНК гена *LEP* у курящих пациентов с ИБС также были повышены в ПЖТ и ЭЖТ (в 1,6 и 1,8 раза, соответственно), в отличие от ПВЖТ (рисунок 29).

Не обнаружено ассоциаций курения пациентов с ИБС со значимыми изменениями экспрессии *IL6* (рисунок 30).

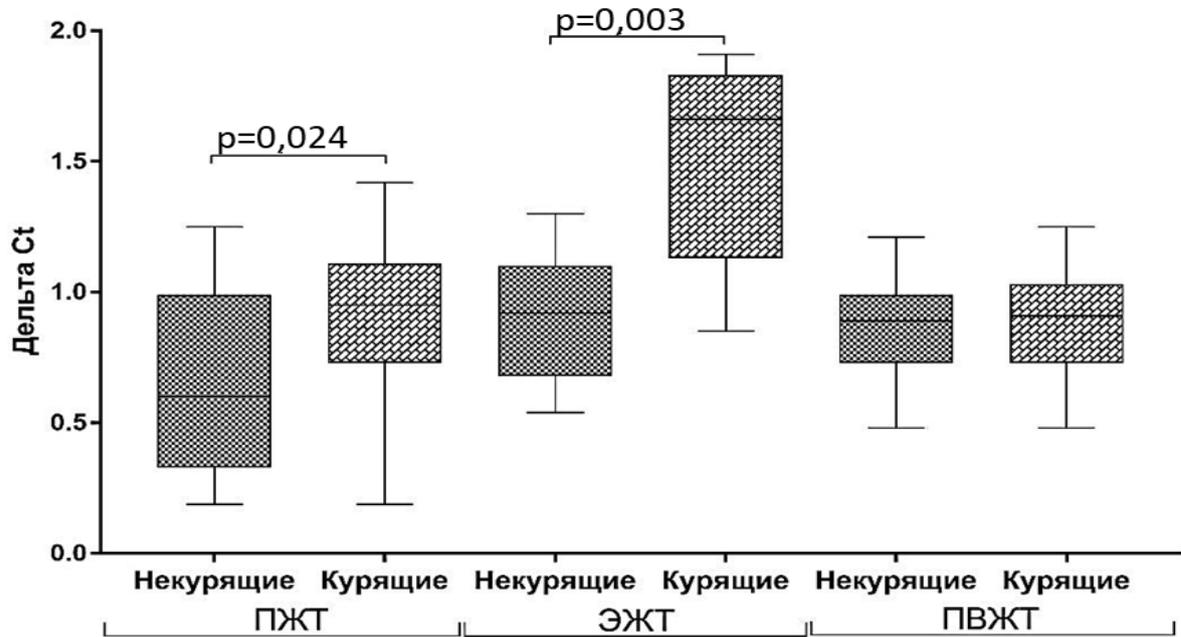


Рисунок 29 – Уровень мРНК гена *LEP* в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от курения

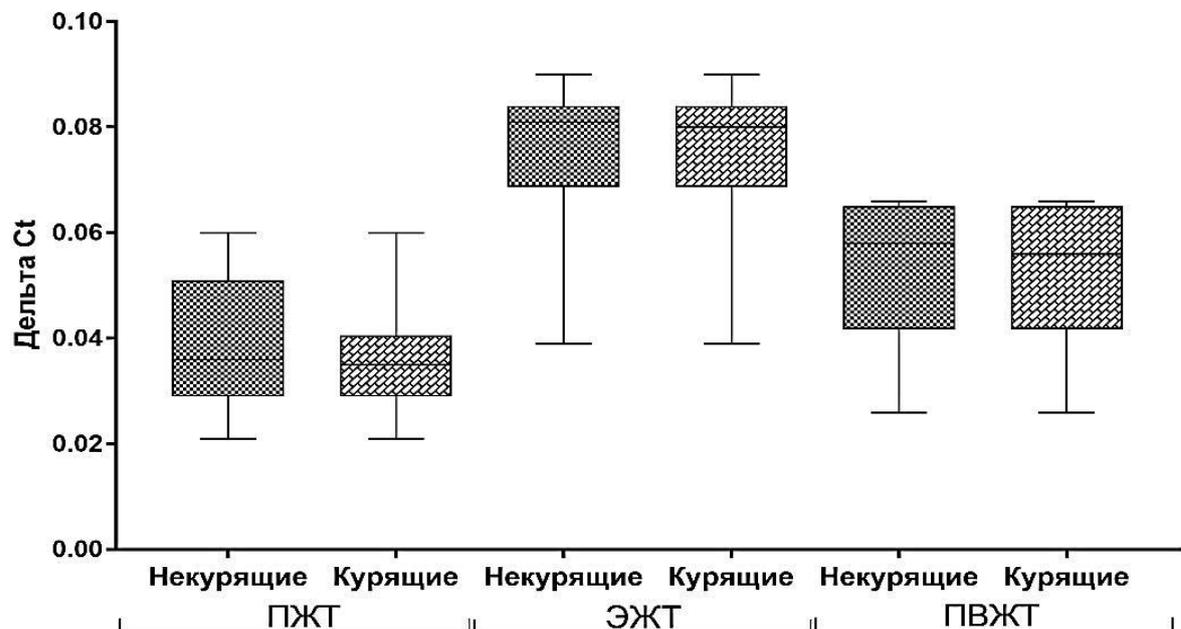


Рисунок 30 – Уровень мРНК гена *IL6* в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от курения

Таким образом, у пациентов с ИБС при курении выявлено повышение экспрессии гена *ADIPOQ* (во всех типах ЖТ) и *LEP* (в ПЖТ и ЭЖТ), и не отмечалось взаимосвязи курения с динамикой экспрессии гена *IL6*.

### **3.4 Экспрессия генов адипокинов и интерлейкина-6 в различных жировых депо у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца в зависимости от степени поражения коронарного русла**

В последнее время особый интерес вызывает взаимосвязь между адипонектином, обладающим антиатерогенными свойствами, и прогрессированием ИБС. ЖТ продуцирует различные адипоцитокины, висцеральный ее компонент является в этом отношении более активным по сравнению с подкожным. Считается, что ВЖТ представляет наибольшую опасность при ССС, так как совокупность экспрессии генов и их секреторных продуктов в локальных жировых депо сердца более атерогенна, чем в ПЖТ [201]. Поскольку атерогенез является гетерогенным процессом, в последнее время активно обсуждается потенциальное участие адипоцитокinov в его патогенезе. Продемонстрирован широкий спектр эффектов адипокинов, как локальных, так и системных [6, 21]. Однако до сих пор не ясно, действительно ли степень поражения КР взаимосвязана с изменениями экспрессии адипоцитокinov.

Для определения особенностей экспрессии генов адипоцитокinov ЖТ различной локализации и их вовлеченности в прогрессирование атеросклероза пациенты с ИБС были поделены на группы по тяжести поражения КР: умеренное ( $\leq 22$  баллов), тяжёлое (23–31 балл) и крайне тяжелое ( $\geq 32$  баллов) с помощью шкалы SYNTAX Score с использованием online-калькулятора (<http://www.syntaxscore.com/>).

Клиническая характеристика обследованных лиц с разной степенью поражения коронарного русла представлена в таблице 3.

Таблица 3 – Клинико-анамнестическая характеристика пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от тяжести поражения коронарного русла по шкале SYNTAX Score

| Показатели                                | Пациенты с умеренным поражением ( $\leq 22$ балла), n=39 | Пациенты с тяжелым поражением (23–31 балл), n=20 | Пациенты с крайне тяжелым поражением ( $\geq 32$ баллов), n=25 | P   |
|---|--|--|--|---|
| № подгруппы                               | 1  | 2  | 3  |   |
| Мужчины, n (%)                            | 27 (69,2)  | 17 (85)  | 19 (76)  | $p_{1,2}=0,42$<br>$p_{1,3}=0,25$<br>$p_{2,3}=0,45$    |
| Возраст, годы, Me (Q25; Q75)              | 64,0<br>(60,0; 66,0)                                     | 65,0<br>(43,0; 56,0)                             | 65,0<br>(61,0; 68,0)   | $p_{1,2}=0,32$<br>$p_{1,3}=0,45$<br>$p_{2,3}=0,26$    |
| Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>      | 29,4<br>(29,1; 30,4)                                     | 26,3<br>(25,1; 27,6)                             | 29,5<br>(29,4; 31,8)   | $p_{1,2}=0,48$<br>$p_{1,3}=0,75$<br>$p_{2,3}=0,55$    |
| Избыточная масса тела, n (%)              | 15 (38,5)  | 3 (15)   | 10 (40)  | $p_{1,2}=0,013$<br>$p_{1,3}=0,014$<br>$p_{2,3}=0,021$ |
| Артериальная гипертензия, n (%)           | 36 (92,3)  | 20 (100)   | 25 (100)   | $p_{1,2}=0,62$<br>$p_{1,3}=0,55$<br>$p_{2,3}=0,65$    |
| Дислипидемия, n (%)                       | 10 (25,6)  | 4 (20)   | 6 (24)   | $p_{1,2}=0,332$<br>$p_{1,3}=0,25$<br>$p_{2,3}=0,47$   |
| Курение, n (%)                            | 26 (66,7)  | 19 (95)  | 13 (52)  | $p_{1,2}<0,05$<br>$p_{2,3}<0,05$                      |
| Отягощенный семейный анамнез ИБС, n (%)   | 19 (48,7)  | 14 (70)  | 16 (64)  | $p_{1,2}=0,023$<br>$p_{1,3}=0,014$<br>$p_{2,3}=0,061$ |
| Клиника стенокардии до развития ИМ, n (%) | 36 (92,3)  | 17 (85)  | 21 (84)  | $p_{1,2}=0,33$<br>$p_{1,3}=0,51$<br>$p_{2,3}=0,55$    |
| ИМ в анамнезе, n (%)                      | 21 (53,9)  | 14 (70)  | 22 (88)  | $p_{1,2}=0,023$<br>$p_{1,3}=0,024$<br>$p_{2,3}=0,61$  |
| ОНМК, ТИА в анамнезе, n (%)               | 0  | 6 (30)   | 0  |   |

Продолжение таблицы 3

|   |                        |                        |                        |   |
|---|------------------------|------------------------|------------------------|---|
| ХСН в анамнезе, n (%)   | 30 (76,92)             | 20 (100)               | 16 (64)                | $p_{1,2}=0,023$<br>$p_{1,3}=0,624$<br>$p_{2,3}=0,021$ |
| Атеросклероз других бассейнов, n (%)                              | 6 (15,4)               | 3 (15,0)               | 4 (16,0)               | $p_{1,2}=0,63$<br>$p_{1,3}=0,42$<br>$p_{2,3}=0,33$    |
| Нет стенокардии, n (%)  | 2 (5,13)               | 0                      | 0                      |   |
| Стенокардия I ФК, n (%)   | 0                      | 0                      | 0                      |   |
| Стенокардия II ФК, n (%)  | 19 (48,7)              | 9 (45)                 | 11 (44)                | $p_{1,2}=0,34$<br>$p_{1,3}=0,28$<br>$p_{2,3}=0,33$    |
| Стенокардия III ФК, n (%)   | 18 (46,15)             | 11 (55,0)              | 14 (56,0)              | $p_{1,2}=0,45$<br>$p_{1,3}=0,31$<br>$p_{2,3}=0,34$    |
| ХСН I ФК, n (%)   | 9 (23,1)               | 1 (5)                  | 0                      | $p_{1,2}=0,02$  |
| ХСН II ФК, n (%)  | 1 (2,6)                | 2 (10)                 | 3 (68,0)               | $p_{1,2}=0,01$<br>$p_{1,3}=0,02$<br>$p_{2,3}=0,012$   |
| ХСН III ФК, n (%)   | 0                      | 1 (5)                  | 2 (8)                  | $p_{2,3}=0,35$  |
| ХСН VI ФК, n (%)  | 0                      | 0                      | 0                      |   |
| 1-сосудистое поражение КА, n (%)                                  | 3 (7,7)                | 3 (15)                 | 0                      | $p_{1,2}=0,015$                                       |
| 2-сосудистое поражение КА, n (%)                                  | 0                      | 4 (20)                 | 0                      |   |
| Многососудистое поражение КА, n (%)                               | 36 (92,3)              | 13 (65)                | 25 (100)               | $p_{1,2}=0,033$<br>$p_{1,3}=0,64$<br>$p_{2,3}=0,021$  |
| Фракция выброса, %, Me (Q25; Q75)                                 | 55,0<br>(45,0; 57,0)   | 52,0<br>(48,0; 55,0)   | 46,0<br>(38,0; 56,0)   | $p_{1,2}=0,42$<br>$p_{1,3}=0,45$<br>$p_{2,3}=0,46$    |
| Скорость клубочковой фильтрации по Кокрофту-Гаулту, Me (Q25; Q75) | 102,0<br>(84,0; 124,0) | 106,0<br>(85,0; 122,0) | 100,0<br>(83,0; 119,0) | $p_{1,2}=0,52$<br>$p_{1,3}=0,35$<br>$p_{2,3}=0,46$    |

Примечание: p – уровень статистической значимости,  $p_{1,2}$  – уровень статистической значимости различий между подгруппами 1 и 2,  $p_{1,3}$  – между подгруппами 1 и 3,  $p_{2,3}$  – между подгруппами 2 и 3.

При анализе клинико-anamnestической характеристики пациентов с ИБС в зависимости от тяжести поражения коронарного русла обращает на себя внимание, что в группах с умеренным и крайне тяжелым поражением чаще встречались пациенты с избыточной массой тела. Курящих пациентов было больше в группе с тяжелым поражением КА, при этом у них чаще зафиксированы случаи ОНМК и хронической сердечной недостаточности (ХСН) в анамнезе и 1, 2-х сосудистое поражение КА по сравнению с двумя другими группами.

Пациенты с умеренным и крайне тяжелым поражением КА не различались по частоте многососудистого поражения между собой, в отличие от лиц 2-й группы. По остальным характеристикам исследуемые группы были однородны ( $p \geq 0,05$ ).

Обращает на себя внимание тенденция снижения фракции выброса (ФВ) по мере прогрессирования атеросклероза: при крайне тяжелом поражении коронарного русла ФВ ЛЖ была ниже на 18 % по сравнению с умеренным поражением сосудов. Отсутствие статистической значимости может быть связано с широким варьированием показателя в каждой группе.

При определении гена экспрессии *ADIPOQ* в различных типах жировой ткани каждой из 3-х групп пациентов было получено, что наибольший уровень экспрессии *ADIPOQ* во всех исследованных типах жировых депо наблюдался у пациентов с умеренным поражением коронарного русла по сравнению с лицами с тяжелым и крайне тяжелым поражением. Так, уровень мРНК гена *ADIPOQ* в культуре адипоцитов ПЖТ пациентов первой группы превышал показатели второй и третьей группы в среднем в 1,5 раза; в ЭЖТ – в 1,8 и 2 раза соответственно; в ПВЖТ – в 1,3 и 1,4 раза соответственно. Максимальная экспрессия *ADIPOQ* отмечалась в культуре адипоцитов ПВЖТ по сравнению с ПЖТ у лиц с крайне тяжелым поражением коронарного русла: уровень мРНК гена *ADIPOQ* в ПВЖТ превышал аналогичный показатель ПЖТ в 1,3 раза. Наименьший уровень экспрессии *ADIPOQ* наблюдался в ЭЖТ независимо от тяжести поражения КА (рисунок 31).

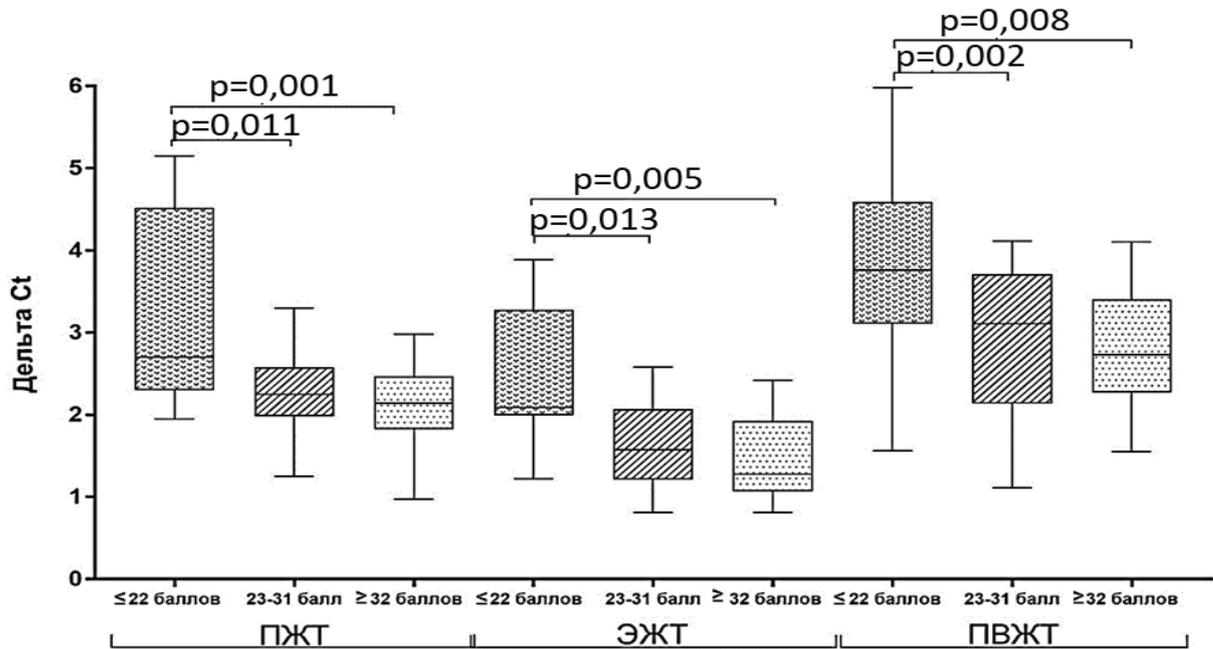


Рисунок 31 – Уровень мРНК *ADIPOQ* в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от степени поражения коронарного русла

На основании ранее проведенных исследований предполагается увеличение экспрессии гена *LEP* при прогрессировании атеросклеротического поражения коронарных артерий у пациентов с ИБС. В проведенном нами исследовании Адипоциты ПЖТ и ЭЖТ пациентов с ИБС с тяжелым поражением КА характеризовались повышенным уровнем мРНК гена *LEP* по сравнению с таковыми лиц с умеренным (в 2,6 и 2,2 раза, соответственно) и крайне тяжелым (в 2,3 и 1,9 раза, соответственно) поражением коронарного русла. В ПВЖТ экспрессия *LEP* была выше при крайне тяжелом поражении по сравнению с умеренным (в 1,4 раза) (рисунок 32).

Адипоциты ЭЖТ пациентов с тяжелым и крайне тяжелым поражением КА отличались повышенной экспрессией *IL6* относительно лиц с умеренным поражением КР (в 2,4 и 2,5 раза, соответственно). Аналогичная динамика наблюдалась и в ПВЖТ: уровень мРНК гена *IL6* 2-й и 3-й группы превышал значения 1-й группы (в 2,1 и 1,9 раза, соответственно) (рисунок 33).

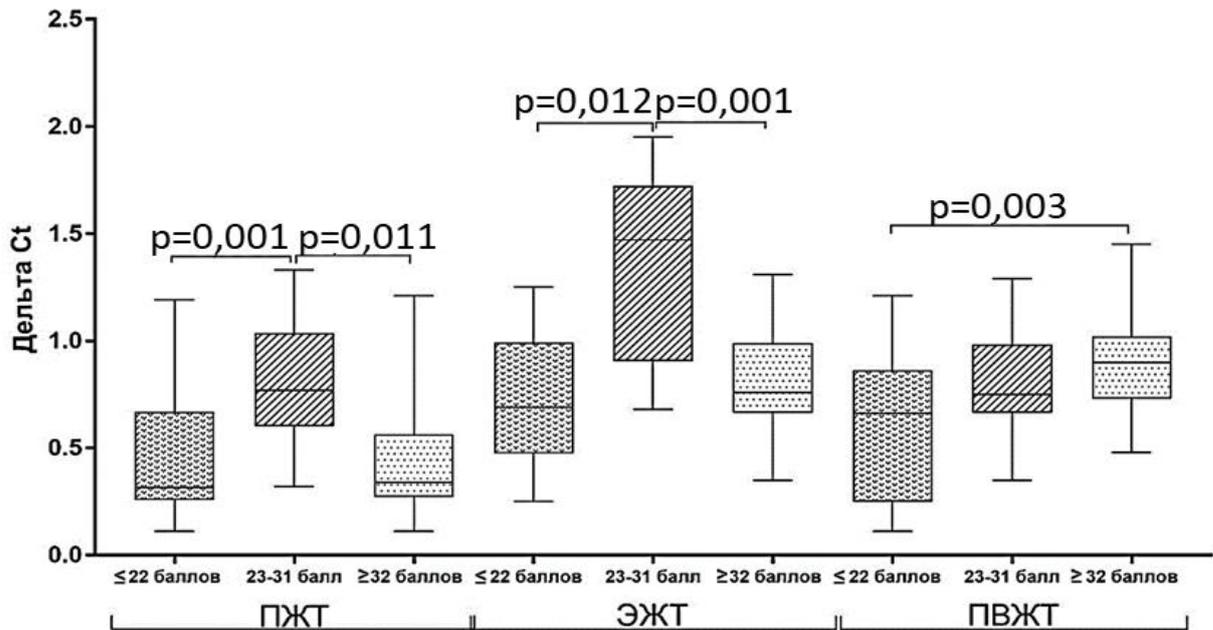


Рисунок 32 – Уровень мРНК гена *LEP* в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от степени поражения коронарного русла

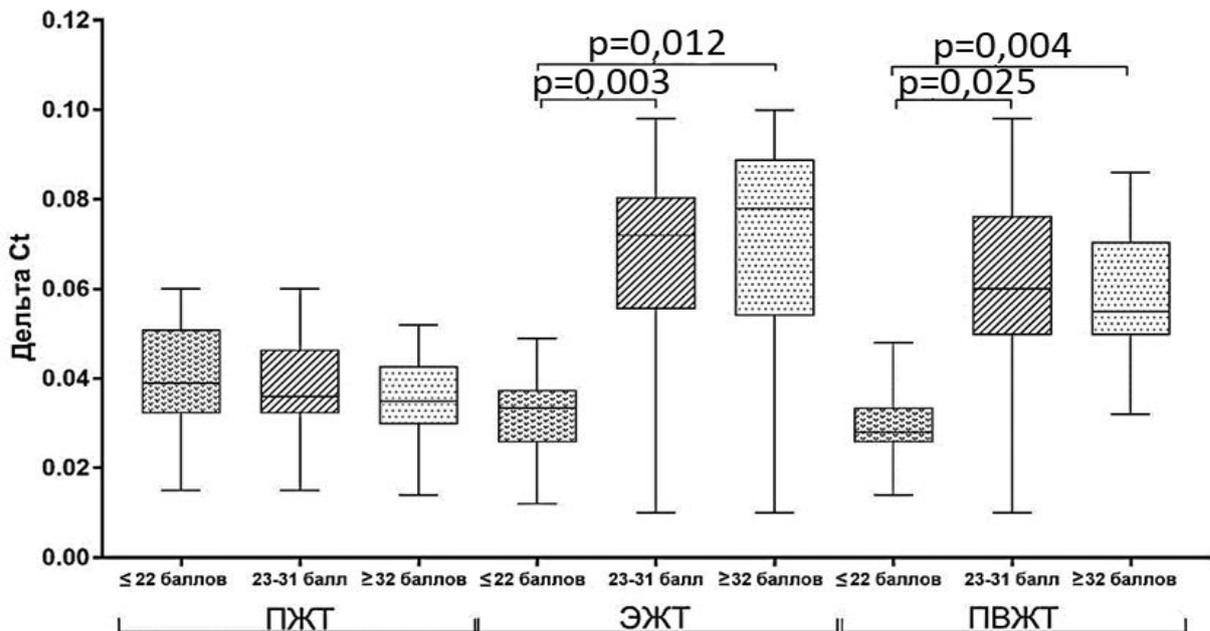


Рисунок 33 – Уровень мРНК гена *IL6* в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от степени поражения коронарного русла

С помощью логистического регрессионного анализа обнаружено, что наиболее значимыми предикторами тяжелого / крайне тяжелого поражения КА при ИБС являются: экспрессия гена *ADIPOQ* в ПВЖТ (отношение шансов (ОШ) 0,44, доверительный интервал 95 % (ДИ 0,178-0,79,  $p=0,031$ ) и возраст (ОШ=1,4, 95 % ДИ 1,072-1,839,  $p=0,014$ ). Патогенетическую значимость данных маркеров подтвердил дискриминантный анализ, с помощью которого было получено уравнение канонической линейной дискриминантной функции (КЛДФ), позволяющее стратифицировать поражение КР у пациентов с ИБС. В уравнение, помимо возраста, вошли экспрессия *ADIPOQ* в ПВЖТ, *LEP* во всех изучаемых локальных жировых депо и *IL6* в ПВЖТ:

$$\text{КЛДФ} = -10,841 + 0,142 \times \text{возраст} - 0,5 \times \text{мРНК } ADIPOQ \text{ ПВЖТ} + 1,7 \times \text{мРНК } LEP \text{ ПЖТ} - 0,815 \times \text{мРНК } LEP \text{ ЭЖТ} + 1,394 \times \text{мРНК } LEP \text{ ПВЖТ} + 1,528 \times \text{мРНК } IL6 \text{ ПВЖТ}$$

Данное уравнение позволяет диагностировать тяжелое/крайне тяжелое поражение КР у пациентов с ИБС, при этом рассчитанное КЛДФ должно быть максимально приближено к соответствующему центроиду. Центроиды кластеров равны: -0,95 и 1,11, точка разделения двух классов равна 0,093 (рисунок 34). Модель получилась значимой, с чувствительностью 80 % и специфичностью 92 %.

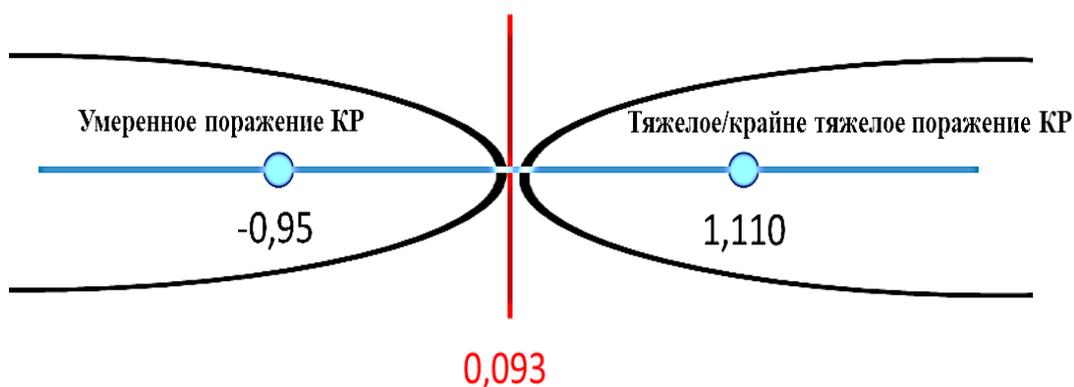


Рисунок 34 – Центроиды канонической линейной дискриминантной функции

**Пример практического применения модели:** Пациент Р., 65 лет, мРНК *ADIPOQ* ПВЖТ=1,312, мРНК *LEP* ПЖТ=0,322, мРНК *LEP* ЭЖТ=1,263, мРНК

*LEP* ПВЖТ=1,065, мРНК *IL6* ПВЖТ=2,268. Рассчитанная вероятность = 2,202, что позволяет отнести пациента в группу тяжелого/крайне тяжелого поражения КА. Действительно, по данным КАГ, у пациента Р. 3-х сосудистое поражение и 37,5 баллов по шкале SYNTAX Score, что говорит о крайне тяжелом поражении КР.

Таким образом, при ИБС снижается экспрессия *ADIPOQ* и увеличивается экспрессия *LEP* и *IL6* в жировых депо, с максимальными отклонениями в адипоцитах эпикардиальной и периваскулярной локализации. При умеренной степени поражения коронарного русла ( $\leq 22$  баллов по SYNTAX Score) наблюдается более высокий уровень *ADIPOQ* и низкий – *LEP* и *IL6* в адипоцитах всех исследуемых локальных жировых депо. С увеличением степени атеросклеротического поражения коронарного русла снижается экспрессия *ADIPOQ* и увеличивается экспрессия *LEP* и *IL6* в адипоцитах ЭЖТ и ПВЖТ. Максимальные изменения экспрессии *LEP* наблюдаются в ЭЖТ (тяжелая степень поражения КА) и ПВЖТ (крайне тяжелые атеросклеротические поражения КР).

### **3.5 Влияние различных концентраций розувастатина на экспрессию генов адипокинов и их содержание в культуре адипоцитов у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца и пороками сердца**

Имеющиеся на сегодняшний день данные говорят о противоречивых эффектах статинов на уровни экспрессии и секреции адипокинов, поскольку известно как их благоприятное влияние, а именно повышение уровней адипонектина и снижение лептина [69, 181], так и отсутствие такового влияния [167, 168]. Так было показано дозозависимое увеличение статинами экспрессии *ADIPOQ* и секреции адипонектина адипоцитами 3Т3-L1, препятствующее развитию метаболических изменений в адипоцитах, вызванных ожирением [21, 24, 75]. Однако, также продемонстрировано дозозависимое снижение адипонектина после 2-х месячной терапии розувастатином у пациентов с

гиперхолестеринемией [164]. В тоже время, в экспериментах на крысах розувастатин снижал соотношение экспрессии *LEP* / *ADIPOQ* в ЖТ крыс, усиливая экспрессию PPAR $\gamma$  и GLUT4 в ЖТ [165].

Розувастатин в различных концентрациях (1 мкмоль/л и 5 мкмоль/л) добавляли в культуру первично выделенных адипоцитов и через сутки культивирования определяли экспрессию *ADIPOQ*, *LEP* и *IL6*. У пациентов с ИБС при добавлении розувастатина в концентрации 1 мкмоль/л экспрессия *ADIPOQ* в адипоцитах ЭЖТ возрастала в 2,2 раза. В ПВЖТ также наблюдалось повышение данного показателя в 1,9 раза, превышающего уровень экспрессии *ADIPOQ* в адипоцитах ПЖТ в 1,7 раза. При добавлении розувастатина в концентрации 5 мкмоль/л уровень экспрессии *ADIPOQ* значимо не отличался между культурами адипоцитов различной локализации, но в ПВЖТ экспрессия гена *ADIPOQ* усиливалась в 2 раза (рисунок 35).

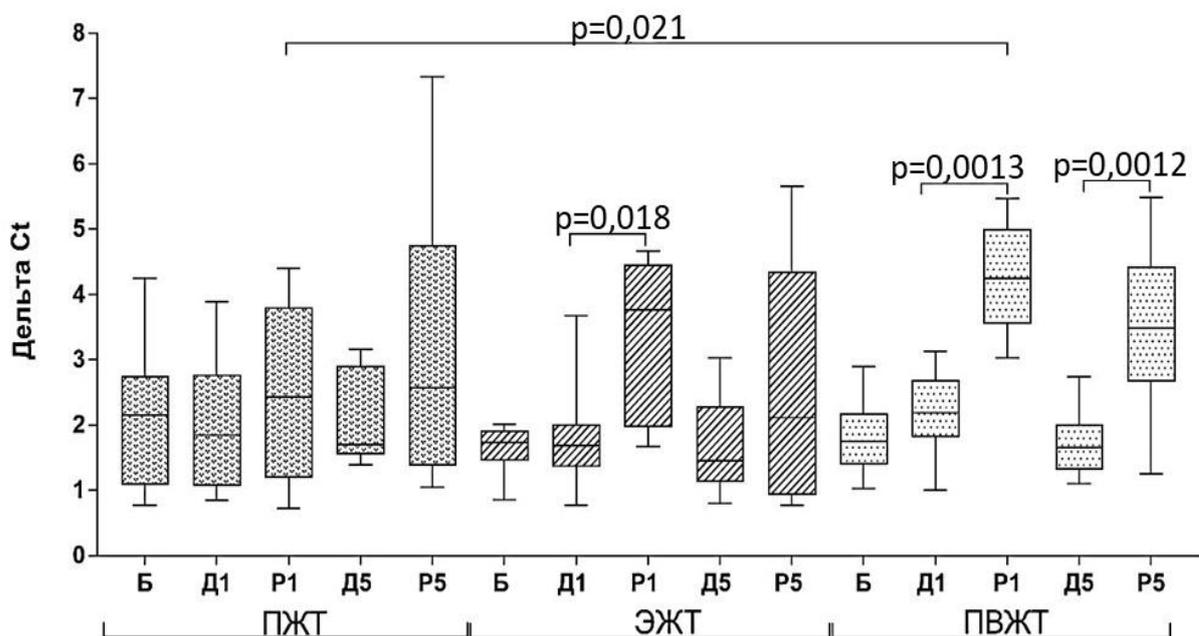


Рисунок 35 – Уровень мРНК гена *ADIPOQ* в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца при добавлении розувастатина в концентрации 1 и 5 мкмоль/л

Примечание: здесь и в рисунках 36–42: Б – базовый уровень экспрессии адипоцитокинов на 1 сутки, Д1 – ДМСО в эквивалентных количествах розувастатину 1 мкмоль/л, Р1 – розувастатин 1 мкмоль/л, Д5 – ДМСО в эквивалентных количествах розувастатину 5 мкмоль/л, Р5 – розувастатин 5 мкмоль/л

При изучении содержания адипонектина в супернатанте суточной культуры адипоцитов пациентов с ишемической болезнью сердца получено, что добавление розувастатина в концентрации 1 мкмоль/л приводило к значительному увеличению содержания адипонектина в ПВЖТ по сравнению с подкожными и эпикардальными адипоцитами (в среднем 1,7 раза). Концентрация адипонектина в культуре адипоцитов ЭЖТ при добавлении низкой концентрации розувастатина (1 мкмоль/л) статистически значимо не отличалась от таковой в культуре ПВЖТ у пациентов с ИБС.

Добавление 5 мкмоль/л розувастатина не вызывало значимых изменений концентрации адипонектина в культурах исследуемых адипоцитов, но в ПВЖТ данный показатель был ниже, чем при воздействии розувастатина 1 мкмоль/л (в 1,3 раза), что свидетельствует о менее выраженном влиянии высокой концентрации розувастатина (5 мкмоль/л) на секрецию адипонектина адипоцитами (рисунок 36).

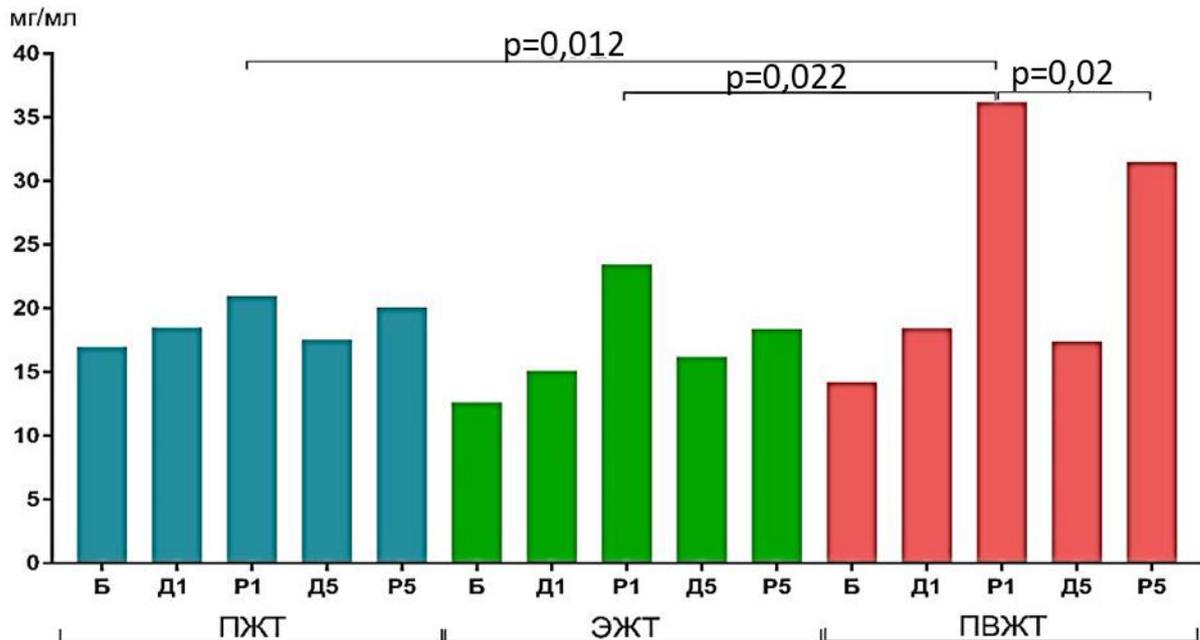


Рисунок 36 – Секреция адипонектина в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца при добавлении розувастатина в концентрации 1 и 5 мкмоль/л

У пациентов с пороками сердца добавление розувастатина в концентрации 1 и 5 мкмоль/л вызывало усиление экспрессии *ADIPOQ* в адипоцитах подкожной, эпикардиальной и периваскулярной локализации, но дозозависимый эффект наблюдался для адипоцитов ПЖТ и ПВЖТ. Добавление розувастатина в концентрации 5 мкмоль/л вызывало усиление экспрессии *ADIPOQ* в адипоцитах ПЖТ и ПВЖТ пациентов с пороками сердца, в отличие от пациентов с ИБС (рисунок 37).

При изучении содержания адипонектина в супернатанте суточной культуры адипоцитов пациентов с пороками сердца при добавлении 5 мкмоль/л розувастатина обнаружено, что содержание адипонектина в суточной культуре адипоцитов ЭЖТ и ПВЖТ было ниже, чем при добавлении низкой концентрации розувастатина (1 мкмоль/л), что указывает на снижение секреции адипонектина адипоцитами ЭЖТ и ПВЖТ. Кроме того, применение розувастатина в концентрации 5 мкмоль/л вызывало максимальное усиление экспрессии мРНК адипонектина в ПЖТ и ПВЖТ у пациентов с пороками сердца, в отличие от пациентов с ИБС (рисунок 38).

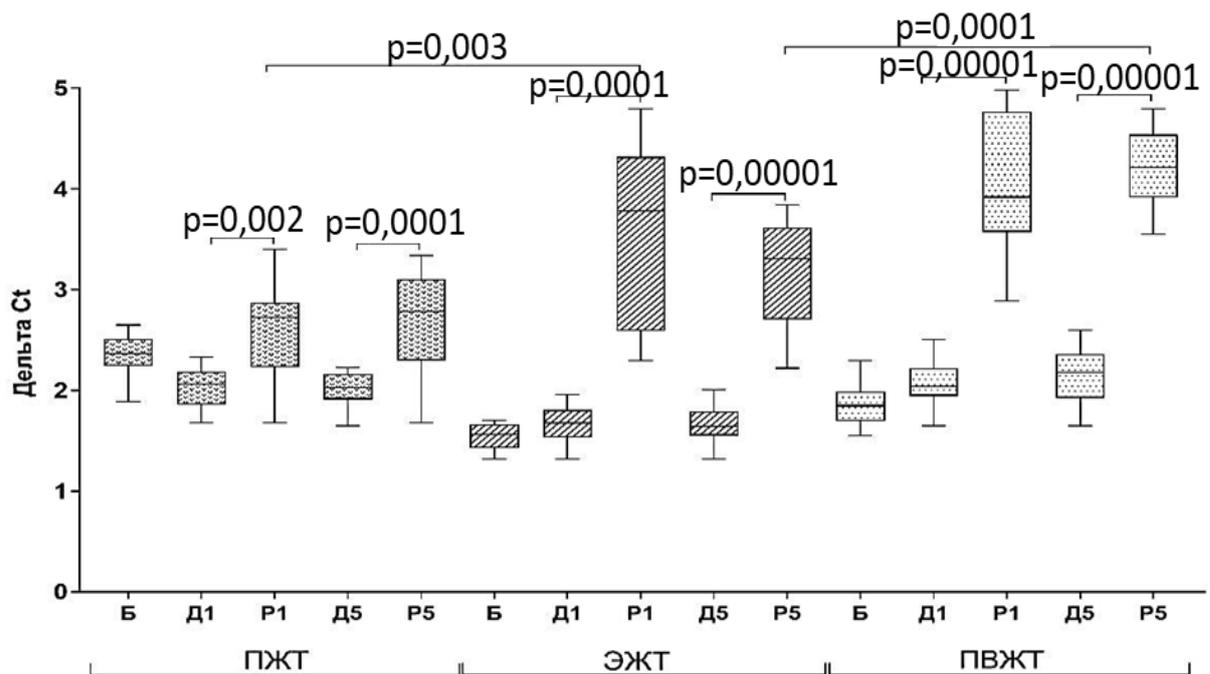


Рисунок 37 – Уровень мРНК *ADIPOQ* в различных жировых депо у пациентов с пороками сердца при добавлении розувастатина в концентрации 1 и 5 мкмоль/л

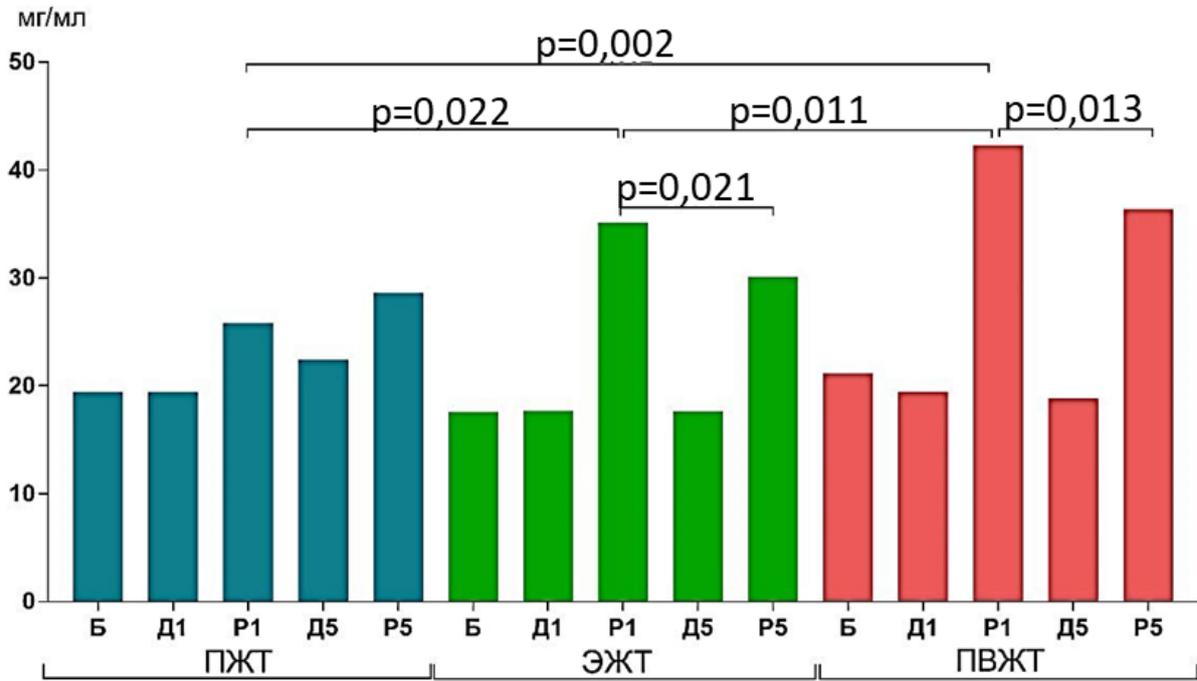


Рисунок 38 – Секреция адипонектина в различных жировых депо у пациентов с пороками сердца при добавлении розувастатина в концентрации 1 и 5 мкмоль/л

Существующие данные экспериментальных исследований демонстрируют неоднозначное влияние статинов на уровни адипоцитокинов в зависимости от нозологии заболевания. В группе пациентов со стабильной ИБС при добавлении розувастатина в концентрации 1 мкмоль/л экспрессия гена *LEP* в культуре адипоцитов ЭЖТ была максимальной и превышала аналогичный показатель в культурах ПЖТ и ПВЖТ (в 1,3 и 2,8 раза, соответственно). При добавлении 5 мкмоль/л розувастатина экспрессия *LEP* в культурах исследуемых адипоцитов практически не различалась, однако в культурах адипоцитов подкожной и эпикардальной локализации была ниже, чем при воздействии розувастатина 1 мкмоль/л (в 2,2 и 2,4 раза, соответственно) у пациентов с ИБС (рисунок 39).

При изучении влияния различных концентраций розувастатина на содержание лептина в супернатанте клеточных культур адипоцитов пациентов с ишемической болезнью сердца получено, что добавление розувастатина в концентрации 1 мкмоль/л вызывало увеличение концентрации лептина в ЭЖТ и

ПЖТ лиц с ИБС, что говорит о повышении секреции лептина адипоцитами подкожной и эпикардиальной жировой ткани в ответ на низкую концентрацию статина (1 мкмоль/л). При этом суточная культура адипоцитов ПЖТ характеризовалась наибольшей концентрацией лептина по сравнению с ЭЖТ и ПВЖТ (в 1,6 и 2,9 раза, соответственно), а концентрация лептина в ЭЖТ превышала таковую в ПВЖТ в 1,8 раза у пациентов с ишемической болезнью сердца.

При добавлении 5 мкмоль/л розувастатина концентрация лептина в культурах исследуемых адипоцитов различных жировых депо пациентов с ишемической болезнью сердца статистически значимо не отличалось, однако в ПЖТ и ЭЖТ данный показатель был снижен по сравнению с применением розувастатина в концентрации 1 мкмоль/л в 1,6 и 1,8 раза, соответственно, что свидетельствует о снижении секреции лептина адипоцитами подкожной и эпикардиальной ЖТ в ответ на добавление высокой концентрации статина (5 мкмоль/л) у пациентов с ишемической болезнью сердца (рисунок 40).

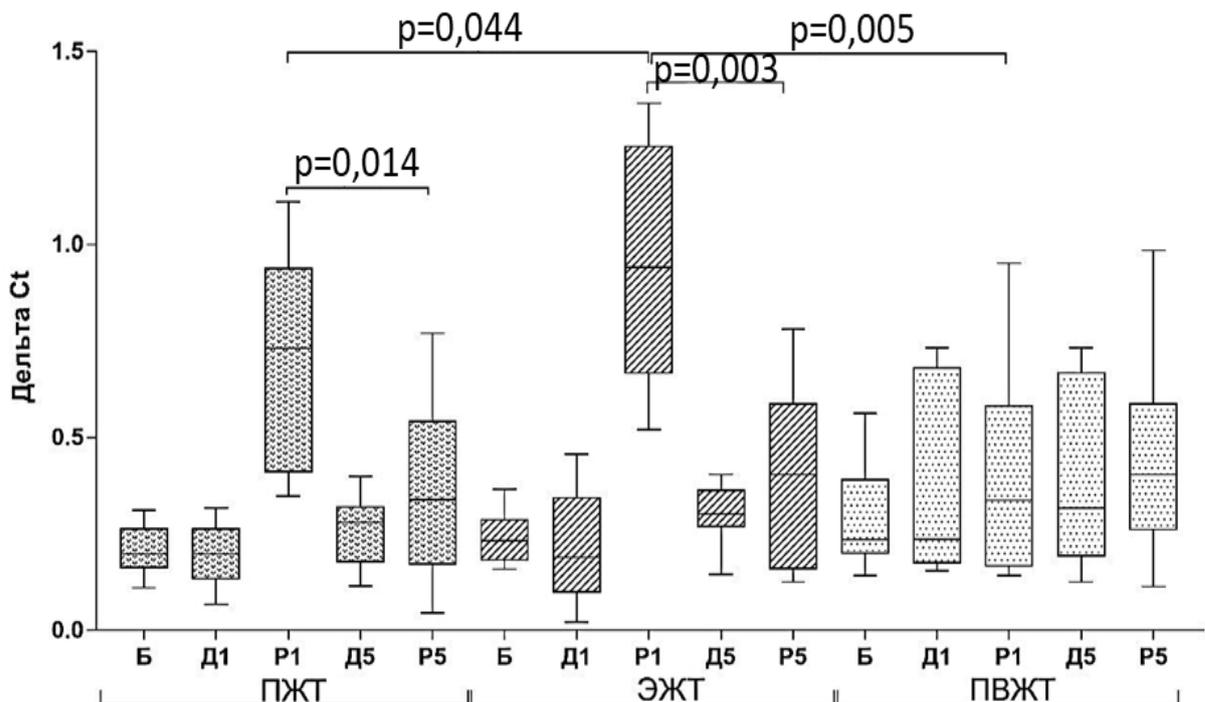


Рисунок 39 – Уровень мРНК *LEP* в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца при добавлении розувастатина в концентрации 1 и 5 мкмоль/л

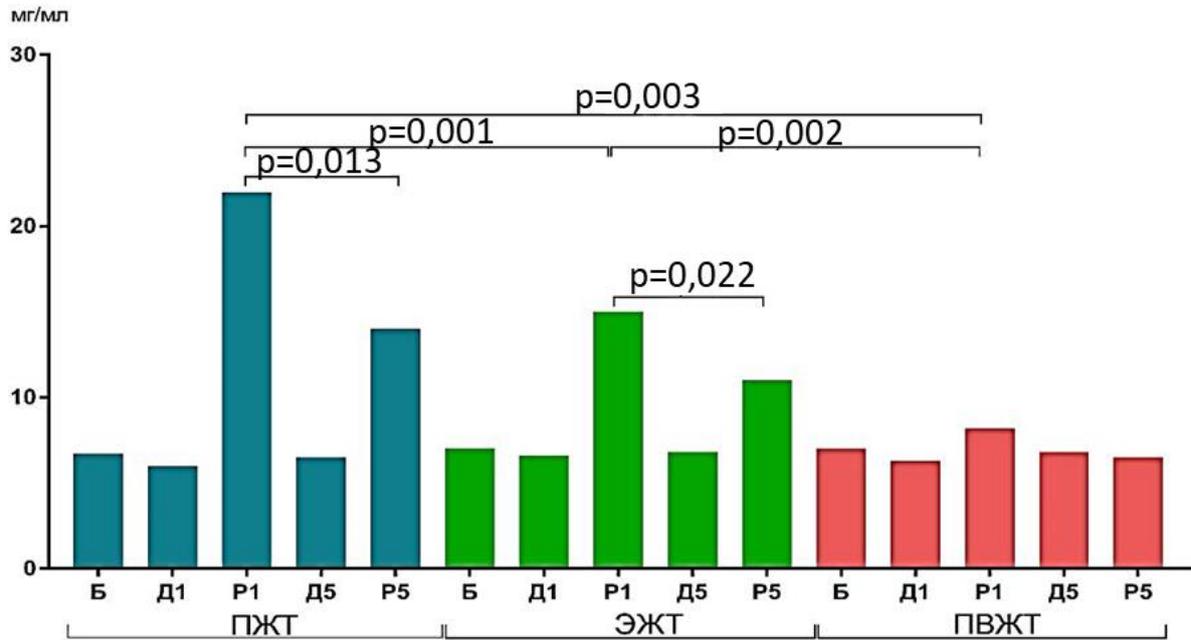


Рисунок 40 – Секреция лептина в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца при добавлении розувастатина в концентрации 1 и 5 мкмоль/л

В группе пациентов с пороками сердца при применении розувастатина в концентрации 1 мкмоль/л наибольший уровень *LEP* также был в культуре адипоцитов ЭЖТ. При добавлении 5 мкмоль/л розувастатина экспрессия *LEP* в культурах исследуемых адипоцитов различных жировых депо статистически значимо не отличались, однако в ЭЖТ и ПЖТ данный показатель был ниже, чем при воздействии розувастатина в дозе 1 мкмоль/л (рисунок 41).

Добавление розувастатина в концентрации 1 мкмоль/л вызывало повышение концентрации лептина в ЭЖТ и ПЖТ, при этом культура адипоцитов ПЖТ характеризовалась повышенным содержанием лептина по сравнению с ЭЖТ. При добавлении 5 мкмоль/л розувастатина концентрация лептина в ПЖТ значительно снижалась по сравнению с применением розувастатина в концентрации 1 мкмоль/л, но по-прежнему превышала данный показатель в ЭЖТ (рисунок 42).

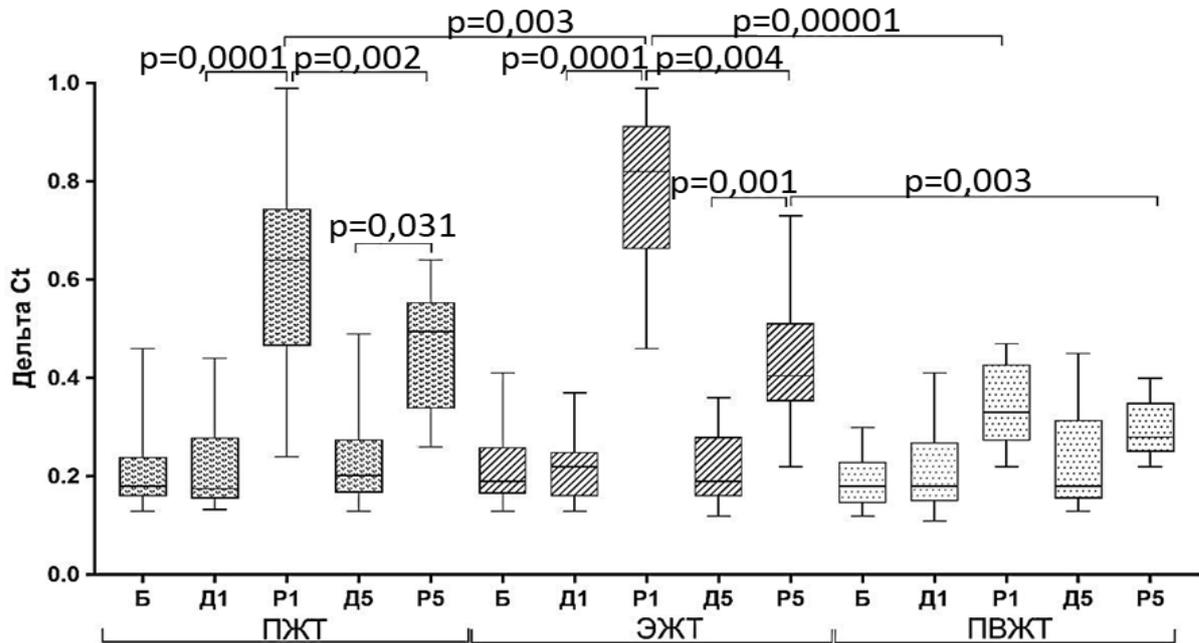


Рисунок 41 – Уровень мРНК *LEP* в различных жировых депо у пациентов с пороками сердца при добавлении розувастатина в концентрации 1 и 5 мкмоль/л

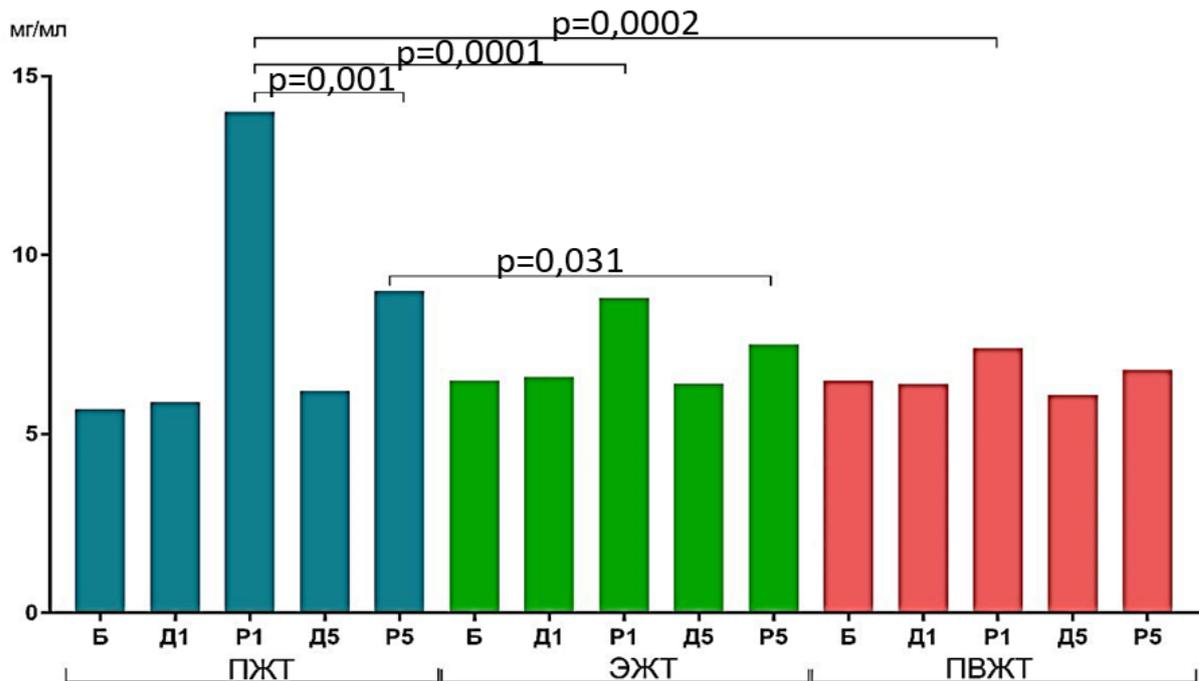


Рисунок 42 – Секреция лептина в различных жировых депо у пациентов с пороками сердца при добавлении розувастатина в концентрации 1 и 5 мкмоль/л

Таким образом, розувастатин оказывает эффекты на адипоциты локальных жировых депо пациентов с ИБС в зависимости от концентрации, поскольку в ЭЖТ и ПВЖТ наблюдалось более выраженное повышение экспрессии *ADIPOQ* и секреции адипонектина при воздействии розувастатина 1 мкмоль/л. Розувастатин в концентрации 1 мкмоль/л также повышал экспрессию *LEP* и секрецию лептина в ПЖТ и ЭЖТ пациентов с ИБС, в отличие от 5 мкмоль/л розувастатина.

### **3.6 Влияние различных концентраций розувастатина на экспрессию гена интерлейкина-6 и его содержание в культуре адипоцитов пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца и пороками сердца**

В экспериментах на мышинных адипоцитах 3T3-L1 показано, что статины могут значительно снижать экспрессию мРНК гена *IL6* и продукцию ИЛ-6 ( $p < 0,05$ ) [75], оказывая противовоспалительное действие непосредственно на ЖТ.

В результате проведенного исследования получено, что розувастатин оказывал разнонаправленное действие в отношении продукции ИЛ-6 в зависимости от концентрации применяемого статина. Так, при добавлении 1 мкмоль/л розувастатина в культуральную среду у пациентов как с ИБС, так и с пороками сердца наблюдалось снижение уровня мРНК гена *IL6* в культуре адипоцитов ЭЖТ (в 2,1 и 3,7 раза, соответственно) и ПВЖТ (в 3,2 раза и в 1,8 раза, соответственно) (таблица 4).

В культуре адипоцитов ЭЖТ пациентов обеих групп добавление 1 мкмоль/л розувастатина сопровождалось снижением экспрессии гена *IL6* в 2,1 и 3,1 раза, соответственно. В культуре адипоцитов ПЖТ пациентов с ИБС розувастатин (1 мкмоль/л) значимо не влиял на уровень экспрессии гена *IL6*, тогда как в группе пороков сердца вызывал снижение экспрессии гена *IL6* в 2,3 раза. Секреция ИЛ-6 в под влиянием 1 мкмоль/л розувастатина изменялась аналогичным образом (таблица 5).

Таблица 4 – Влияние различных концентраций розувастатина на экспрессию гена *IL6* адипоцитами различной локализации, Дельта Ct, Me (Q25; Q75)

| Локализация адипоцитов жировой ткани | Группа        | ДМСО1 (контроль)        | Розувастатин 1 мкмоль/л | ДМСО5                   | Розувастатин 5 мкмоль/л | p   |
|--------------------------------------|---------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|---|
|                                      | № подгруппы   | 1                       | 2                       | 3                       | 4                       |   |
| Подкожная                            | ИБС           | 0,039<br>(0,025; 0,043) | 0,028<br>(0,022; 0,040) | 0,030<br>(0,024; 0,038) | 0,029<br>(0,025; 0,039) | p <sub>1,2</sub> =0,42<br>p <sub>3,4</sub> =0,625<br>p <sub>2,4</sub> =0,45 |
|                                      | Пороки сердца | 0,049<br>(0,041; 0,056) | 0,021<br>(0,016; 0,033) | 0,046<br>(0,038; 0,052) | 0,052<br>(0,039; 0,061) | p <sub>1,2</sub> =0,02<br>p <sub>3,4</sub> =0,38<br>p <sub>2,4</sub> =0,05  |
| Эпикардальная                        | ИБС           | 0,057<br>(0,042; 0,064) | 0,027<br>(0,018; 0,034) | 0,052<br>(0,047; 0,063) | 0,080<br>(0,068; 0,089) | p <sub>1,2</sub> =0,03<br>p <sub>3,4</sub> =0,31<br>p <sub>2,4</sub> =0,01  |
|                                      | Пороки сердца | 0,067<br>(0,055; 0,076) | 0,018<br>(0,010; 0,029) | 0,066<br>(0,047; 0,080) | 0,12<br>(0,089; 0,16)   | p <sub>1,2</sub> =0,01<br>p <sub>3,4</sub> =0,033<br>p <sub>2,4</sub> =0,02 |
| Периваскулярная                      | ИБС           | 0,058<br>(0,011; 0,027) | 0,021<br>(0,006; 0,019) | 0,019<br>(0,010; 0,027) | 0,021<br>(0,013; 0,030) | p <sub>1,2</sub> =0,03<br>p <sub>3,4</sub> =0,61<br>p <sub>2,4</sub> =0,67  |
|                                      | Пороки сердца | 0,032<br>(0,041; 0,062) | 0,018<br>(0,011; 0,29)  | 0,059<br>(0,046; 0,066) | 0,068<br>(0,050; 0,079) | p <sub>1,2</sub> =0,04<br>p <sub>3,4</sub> =0,27<br>p <sub>2,4</sub> =0,31  |

Примечание: здесь и в таблице 5: p – уровень статистической значимости, p<sub>1,2</sub> – уровень статистической значимости различий между подгруппами 1 и 2, p<sub>2,4</sub> – между подгруппами 2 и 4, p<sub>3,4</sub> – между подгруппами 3 и 4.

Таблица 5 – Влияние различных концентраций розувастатина на секрецию интерлейкина-6 в культуре адипоцитов различной локализации, пг/мл, Ме (Q25; Q75)

| Локализация адипоцитов жировой ткани | Группа        | ДМСО1                   | Розувастатин 1 мкмоль/л | ДМСО5                   | Розувастатин 5 мкмоль/л | Р  |
|--------------------------------------|---------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--|
|                                      | № подгруппы   | 1                       | 2                       | 3                       | 4                       |  |
| Подкожная                            | ИБС           | 4,62<br>(2,46; 6,84)    | 4,41<br>(2,03; 6,17)    | 3,52<br>(2,56; 4,32)    | 3,13<br>(1,89; 4,28)    | $p_{1,2}=0,44$<br>$p_{3,4}=0,33$<br>$p_{2,4}=0,21$   |
|                                      | Пороки сердца | 6,24<br>(5,56; 7,89)    | 3,83<br>(2,90; 5,11)    | 6,09<br>(5,07; 8,11)    | 7,42<br>(5,96; 7,99)    | $p_{1,2}=0,04$<br>$p_{3,4}=0,23$<br>$p_{2,4}=0,02$   |
| Эпикардальная                        | ИБС           | 9,91<br>(7,88; 11,33)   | 2,22<br>(1,86; 2,93)    | 10,94<br>(9,58; 12,92)  | 15,22<br>(12,69; 18,3)  | $p_{1,2}=0,01$<br>$p_{3,4}=0,031$<br>$p_{2,4}=0,001$ |
|                                      | Пороки сердца | 13,53<br>(11,37; 15,11) | 4,92<br>(2,56; 7,01)    | 12,71<br>(10,38; 15,69) | 18,82<br>(16,01; 20,83) | $p_{1,2}=0,03$<br>$p_{3,4}=0,033$<br>$p_{2,4}=0,021$ |
| Периваскулярная                      | ИБС           | 3,75<br>(1,53; 5,19)    | 3,33<br>(1,11; 4,97)    | 3,07<br>(1,03; 4,15)    | 3,26<br>(1,15; 4,86)    | $p_{1,2}=0,25$<br>$p_{3,4}=0,37$<br>$p_{2,4}=0,4$    |
|                                      | Пороки сердца | 5,72<br>(3,33; 7,86)    | 3,35<br>(1,10; 5,01)    | 5,16<br>(3,11; 7,14)    | 5,54<br>(3,22; 7,61)    | $p_{1,2}=0,14$<br>$p_{3,4}=0,35$<br>$p_{2,4}=0,21$   |

Розувастатин в концентрации 5 мкмоль/л на адипоциты подкожной и периваскулярной жировой ткани у пациентов обеих групп не оказывал значимого влияния, в то время как в культуре эпикардиальных адипоцитов усиливал экспрессию гена *IL6*: в 1,5 раза в группе пациентов с ИБС и в 1,8 раза в группе с пороками сердца. При этом уровень экспрессии *IL6* был выше в 1,5 раза у пациентов группы сравнения (с пороками сердца) по сравнению с пациентами основной группы (с ИБС).

Содержание ИЛ-6 в супернатанте клеточных культур адипоцитов различной локализации изменялось аналогичным образом: так, концентрация ИЛ-6 в культуральной среде эпикардиальных адипоцитов пациентов с ИБС повышалась в 1,4 раза в присутствии 5 мкмоль/л препарата, в группе пороков сердца – в 1,5 раза, что указывает на увеличение секреции ИЛ-6 эпикардиальными адипоцитами независимо от нозологии ССЗ.

Таким образом, розувастатин в концентрации 1 мкмоль/л снижал уровень экспрессии гена *IL6* и секреции ИЛ-6 в культуре эпикардиальных и периваскулярных адипоцитов как у пациентов с ИБС, так и у пациентов с пороками сердца, а в культуре адипоцитов ПЖТ – только среди пациентов с пороками сердца. Розувастатин в концентрации 5 мкмоль/л, напротив, повышал экспрессию гена *IL6* и секрецию ИЛ-6 в адипоцитах ЭЖТ обеих групп.

В целом, в результате проведенной оценки эффектов воздействия розувастатина *in vitro* на адипоцитокиновый профиль локальных жировых депо различной локализации у пациентов с ИБС и пороками сердца выявлено неоднозначное влияние применяемого статина в зависимости от концентрации. Полученные в ходе исследования результаты могут быть использованы в стратификации риска развития осложнений, что позволит оптимизировать методы патогенетически обоснованной коррекции атерогенной активности адипоцитов у пациентов высокого риска ССЗ.

## ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 4.1 Влияние локализации жировых депо на уровень экспрессии и секреции адипокинов

Среди причин, лежащих в основе развития и прогрессирования ССЗ, все большее внимание уделяется эндокринным и паракринным функциям локальных жировых депо. Считается, что метаболическая и гормональная активность висцерального жира значительно выше, чем подкожного, при этом клетки жировой ткани секретируют провоспалительные цитокины (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6 и ИЛ-1), уровень которых коррелирует с ожирением, причем в большей степени с увеличением массы висцерального жира [60]. Кроме того, жировые отложения, окружающие сердце, такие как ЭЖТ и ПВЖТ, могут играть важную роль в патогенезе ССЗ из-за близкого анатомического расположения относительно сосудистых структур и миокарда.

Одной из задач настоящего исследования явилась оценка особенностей экспрессии генов *ADIPOQ*, *LEP* и *IL6* и секреции адипонектина, лептина и ИЛ-6 у пациентов с ИБС и пороками сердца. Полученные результаты свидетельствуют о том, что экспрессия генов и секреции изучаемых адипоцитокинов различаются в зависимости от локализации жировых депо. Так, для адипоцитов ЭЖТ пациентов с ИБС и пороками сердца было обнаружено уменьшение экспрессии гена *ADIPOQ* по сравнению с адипоцитами другой локализации. При этом у лиц с пороками уровень мРНК гена *ADIPOQ* в адипоцитах ЭЖТ был выше, чем у пациентов с ИБС [22]. Анализ литературных данных демонстрирует, что однозначного мнения относительно различий данного показателя при ИБС и пороках сердца не существует. Так, Iacobellis G. at al., определяя уровень мРНК гена *ADIPOQ* у 16 пациентов с плановым КШ и 6 – с коррекцией пороков сердца, получили аналогичные результаты, согласно которым изучаемый показатель

достоверно ниже в ЭЖТ по сравнению с ПЖТ. Кроме того, авторы показали, что экспрессия *ADIPOQ* значительно ниже в ЭЖТ пациентов с ИБС [21, 24, 114].

В исследовании Побожевой И.А. и др. у 90 пациентов (74 с ИБС перенесших КШ, и 16 без ИБС), обнаружено, что при ИБС в ЭЖТ также наблюдается сниженный относительно ПЖТ уровень мРНК гена *ADIPOQ*, чем у пациентов без ИБС [23]. Об аналогичных результатах сообщали также Eiras S. at al. [91].

Другие авторы ранее показали отсутствие различий между пациентами с ИБС и пороками. Так, при обследовании 46 пациентов, которым проводилось шунтирование коронарной артерии и/или замена клапанов сердца, показано снижение экспрессии гена *ADIPOQ* в ЭЖТ относительно ПЖТ. Однако статистически значимых различий при сравнении уровня мРНК гена *ADIPOQ* в ЭЖТ у пациентов, перенесших коронарное шунтирование (сосудистое заболевание), и у лиц с заменой клапана, не наблюдалось [24, 98]. Авторы связывают отсутствие отличий с влиянием пола обследованных пациентов, поскольку было обнаружено, что уровень мРНК *ADIPOQ* в ЭЖТ у женщин выше, чем у мужчин.

Периваскулярная жировая ткань также может играть важную роль в патогенезе ССЗ, поскольку расположена непосредственно вокруг коронарных артерий и аорты, где расстояние до адвентиции менее 0,1 мм [138]. Предполагается, что благодаря такому тесному взаимодействию, ПЖТ является первым жировым депо, которое распознает и реагирует на возникающие изменения гомеостаза посредством синтеза и продукции адипоцитокинов. ПЖТ может быть вовлечена в процессы атерогенеза, поскольку синтезируемые ею вещества способны усиливать воспалительные процессы, что в дальнейшем ведет к образованию нестабильных / хрупких бляшек, склонных к разрыву и атеротромбозу и прогрессированию ИБС [81]. Chatterjee T.K. at al. продемонстрировали как на выделенных, так и на дифференцированных *in vitro* адипоцитах, что периваскулярные адипоциты КА человека менее дифференцированы по сравнению с адипоцитами, полученными из подкожных и

висцеральных (периренальных) жировых отложений. При этом секреция противовоспалительного адипонектина снижена на фоне повышения секреции провоспалительных ИЛ-6 и ИЛ-8. Периваскулярная ЖТ дуги аорты мыши также экспрессирует более низкие уровни генов, характерных для зрелых адипоцитов (*PPAR $\gamma$* , *C/EBP $\alpha$*  и *FABP4*), по сравнению с подкожной и висцеральной ЖТ [110].

Однако в последнее время появляется все больше данных относительно кардиопротективной роли ПВЖТ. Так, было показано, что выделяемые ПВЖТ вещества (пероксид водорода, сероводород, апелин и адипонектин) могут вызывать вазодилатацию в условиях контрпродукции ангиотензина II, серотонина и фенилэпинефрина и противодействовать их сосудосуживающему действию [159]. Адипонектину уделяется особая роль, поскольку известны его протективные и противовоспалительные свойства.

Полученные результаты демонстрируют, что в ПВЖТ наблюдался наиболее высокий уровень экспрессии гена *ADIPOQ*. Причем у пациентов с пороками сердца исследуемый показатель был выше, чем у лиц с ИБС. Данные относительно уровня мРНК гена *ADIPOQ* периваскулярными адипоцитами немногочисленны. Аналогичные свидетельства повышенной экспрессии *ADIPOQ* в ПВЖТ пациентов с ИБС, перенесших КШ, были продемонстрированы Subularz M. et al. [87], причем у пациентов с ИМТ выше 30 кг/м<sup>2</sup> уровень мРНК гена *ADIPOQ* в ПВЖТ превышал уровень лиц с ИМТ от 25 до 30 кг/м<sup>2</sup>. Считается, что его снижение в сочетании с повышенной экспрессией гена *LEP* может быть связано с активацией ключевых атерогенных путей и способствовать прогрессированию ИБС [46].

Таким образом, выявленные особенности подтверждают потенциальную протективную роль ПВЖТ в патогенезе атеросклеротического повреждения сосудов.

Предполагается, что генетический и секреторный профиль локальных жировых депо варьирует в зависимости от их расположения [162]. Так, в экспериментальных исследованиях на самцах мышей BALB/c с индуцированным стрептозотоцином СД параллельный анализ секреторной активности различных

жировых депо показал, что продукция адипонектина сохранялась в эпидидимальной и ПЖТ у всех грызунов, в то время как в висцеральной ЖТ отмечалось снижение уровня экспрессии *ADIPOQ* и секреции адипонектина, причем отсроченное, в конце второй недели наблюдения [121].

Для изучения секреторной активности ЖТ, наряду с анализом экспрессии, в проведенном исследовании оценивалась секреция изучаемых адипоцитокинов в культуре адипоцитов различной локализации, поскольку существует предположение, что уровни мРНК адипоцитокинов в ЖТ, вероятно, не всегда являются полным отражением концентрации изучаемых биомаркеров [198].

Так, в культуральной среде адипоцитов ЭЖТ и ПВЖТ лиц с ИБС выявлено уменьшение концентрации адипонектина по сравнению с адипоцитами ПЖТ. Обращает на себя внимание, что адипоциты ПВЖТ пациентов с ИБС, несмотря на самый высокую экспрессию гена *ADIPOQ*, характеризовались наименьшей его концентрацией в супернатанте по сравнению с культурами адипоцитов другой локализации, что, возможно, обусловлено различными причинами. Одной из таких причин может являться низкая экспрессия рецепторов адипонектина в данных жировых депо, и, как следствие, низкое его содержание в культуре адипоцитов ПВЖТ, что свидетельствует о низком уровне секреции.

Действительно, нами было обнаружено значительное снижение концентрации *AdipoR1* в культуре адипоцитов ПВЖТ у пациентов с ИБС относительно ПЖТ, а также по сравнению с уровнем лиц с пороками сердца.

Guo R. et al., изучая роль адипонектина и его рецепторов *in vivo* при гипертоническом повреждении сосудов у самцов мышей C57BL / 6J, выявили, что ангиотензин II (Ang II) -индуцированная гипертензия приводила к значительному снижению экспрессии как самого адипонектина, так и *AdipoR1* и *AdipoR2* в периваскулярных адипоцитах и сосудистых клетках [36]. Nacci C. et al. определяя влияние инфликсимаба на экспрессию *ADIPOQ* в ПВЖТ, показали снижение уровня мРНК *ADIPOQ* и его рецепторов (*AdipoR1* и *AdipoR2*) у мышей с диабетом 1 типа. На основании полученных данных авторами сделан вывод о том, что ПВЖТ, во-первых, представляет собой ЖТ, где наблюдается дисрегуляция оси

адипонектин / AdipoR, а во-вторых, является наиболее восприимчивой к провоспалительным сигналам [121].

Еще одной причиной сниженной секреции адипонектина могут являться длительные процессы его посттрансляционной модификации и олигомеризации. Так, в ПВЖТ пациентов с пороками сердца секреция адипонектина превышала таковую жировых депо другой локализации и пациентов с ИБС. По-видимому, наблюдаемое отличие обусловлено более длительными процессами его «созревания» при ИБС, которые происходят в эндоплазматическом ретикулуме адипоцитов и контролируются специальными белками-шаперонами ER и Ero1- $\alpha$  [24, 150].

Накопление адипонектина в клетке происходит благодаря образованию дисульфидной связи с этими внутриклеточными белками, а также из-за тиолопосредованной задержки секреции данного адипокина [172]. Предполагается, что часть синтезируемого адипонектина подвергается распаду или протеолизу [24, 38], а замедленное высвобождение может быть обусловлено нарушением взаимоотношений белков-шаперонов, регулирующих секрецию адипонектина из клетки. Кроме того, Vauchea I. B. at al. показали, что адипонектин способен подавлять собственную продукцию и экспрессию своего рецептора *AdipoR2* у трансгенных мышей [39]. Также продемонстрировано снижение количества рецепторов адипонектина при метаболическом синдроме, ожирении и атеросклерозе, что приводит к активации сигнальных путей, участвующих в регуляции метаболизма [41].

Лептин, наиболее изученный маркер ожирения, также вырабатывается адипоцитами и оказывает плеiotропные эффекты на многие органы и системы организма. Его влияние на сердечно-сосудистую систему подробно изучается, особенно вклад в развитие и прогрессирование гипертонии, атеросклероза, депрессию сократительной функции, метаболизм жирных кислот, ремоделирование сердца и сосудов [128]. Также показано, что лептин, благодаря своим проатерогенным и провоспалительным свойствам, значительно повышает риск развития ИБС и многососудистого поражения КА [21, 132, 173].

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о повышенной продукции лептина эпикардиальными адипоцитами у пациентов с ССЗ. Максимальный уровень мРНК гена *LEP* и секреции лептина наблюдались в культуре эпикардиальных адипоцитов, при этом у пациентов с ИБС превышали уровни лиц с пороками сердца. Продемонстрированное увеличение экспрессии гена *LEP* и секреции лептина в культуре ЭЖТ пациентов обеих групп согласуется с данными других авторов.

Так Полякова Е. и др. показали, что у мужчин независимо от наличия ИБС экспрессия гена *LEP* в ЭЖТ была значительно выше, чем в ПЖТ [25]. При этом наблюдаемые различия авторы объясняют преобладанием мужчин среди больных ИБС и более тяжелым атеросклеротическим поражением коронарных артерий у них [4]. Не противоречат полученные результаты и данным Gomez S. et al., обнаруживших увеличение экспрессии *LEP* в ЭЖТ пациентов с ИБС, подвергнутых АКШ [42]. Однако Iglesias M.J. et al. в своем исследовании у пациентов, перенесших шунтирование коронарной артерии или замену клапанов, показали, что экспрессия гена *LEP* в ЭЖТ, напротив, ниже, чем в ПЖТ. Кроме того, авторами не обнаружено существенных различий между пациентами с ИБС и теми, кто перенес замену клапана с точки зрения экспрессии *ADIPOQ* и *LEP* в ЭЖТ [98].

Возможно, наблюдаемые противоречия результатов исследований могут быть обусловлены различиями методологических подходов, поскольку Iglesias et al. оценивали экспрессию генов при первичном выделении в гомогенизированной ЖТ, в то время как в настоящем исследовании анализ изучаемых показателей выполнен через сутки культивирования в среде. Выявленное увеличение экспрессии *LEP* в культуре ЭЖТ пациентов с ИБС может оказывать негативное влияние как на адипоциты, так и на кардиомиоциты посредством активации воспалительных и атеросклеротических процессов [21, 76]. Кроме того, при исследовании уровней экспрессии генов адипоцитокинов следует учитывать, что время биопсии при операции влияет на уровни продукции адипокинов и цитокинов ЭЖТ. Так, было продемонстрировано, что ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ , MCP-1,

лептин и резистин экспрессируются на более высоких уровнях в ЭЖТ в конце кардиохирургической операции по сравнению с их уровнями в начале операции на сердце, в отличие от уровней адипонектина, которые существенно не изменялись [162].

У лиц с пороками сердца наименьший уровень мРНК гена *LEP* и секреция лептина выявлены в адипоцитах ПЖТ, которые были ниже, чем при ИБС, в 2 раза. Экспрессия гена *LEP* в адипоцитах ПЖТ статистически значимо не различалась в зависимости от нозологии ССС.

Вероятно, при патологических условиях происходят изменения на клеточном и молекулярном уровнях, способствующие нарушению функционирования данных жировых депо, что приводит к возникновению эндотелиальной дисфункции и дальнейшему прогрессированию атеросклероза. Гипертрофия адипоцитов, снижение продукции защитных адипокинов на фоне повышенного синтеза таких адипоцитокинов, как лептин и ИЛ-6, способных диффундировать непосредственно в стенки сосудов и миокарда, оказывая неблагоприятные эффекты, а также изменение экспрессии адипоцитокинов могут способствовать атерогенезу, что имеет важное патогенетическое значение и тесно ассоциировано с сердечно-сосудистой заболеваемостью и смертностью. В связи с чем необходимо дальнейшее изучение молекулярно-генетических основ этого процесса.

Таким образом, результаты проведенного исследования указывают на то, что адипокиновый профиль жировой ткани зависит от ее локализации. Так, эпикардальные адипоциты пациентов со стабильной ИБС характеризуются ярко выраженным дисбалансом в системе адипокинов: зарегистрирован минимальный уровень экспрессии *ADIPOQ* на фоне самого высокого уровня экспрессии *LEP* и секреции лептина относительно адипоцитов другой локализации [21]. Адипоциты подкожной жировой ткани у пациентов с ИБС характеризуются наименьшим уровнем экспрессии гена *LEP*, а также наибольшей секрецией адипонектина в культуральной среде.

## 4.2 Экспрессия и секреция интерлейкина-6 жировыми депо различной локализации

Характерной особенностью адипоцитов является их способность секретировать ИЛ-6. В исследованиях *in vitro* продемонстрировано, что изолированный висцеральный жир синтезирует больше ИЛ-6, чем подкожный, а при гипертрофическом увеличении адипоцитов наблюдается повышение продукции данного цитокина. Показано, что замедлению высвобождения ИЛ-6 из культуры адипоцитов человека способствуют глюкокортикоиды, а ускорению – инсулин и катехоламины. Кроме того, провоспалительные стимулы, такие как ФНО- $\alpha$  и сам ИЛ-6, также усиливают продукцию ИЛ-6 *in vitro* [108]. Содержание ИЛ-6 в ЖТ в сотни раз больше, чем в плазме, что предполагает его важные ауто- и паракринные регуляторные функции в этой ткани.

В результате проведенной оценки экспрессии гена провоспалительного *IL6* в суточной культуре адипоцитов различной локализации показано, что в ЭЖТ наблюдались максимальные уровни мРНК гена *IL6* по отношению к ПЖТ и ПВЖТ как при ИБС, так и при пороках сердца. При этом уровень мРНК гена *IL6* в ЭЖТ и ПВЖТ у лиц с ИБС превышал таковой пациентов с пороками, а подкожные адипоциты не отличались между собой. Выявленные особенности согласуются с исследованиями других авторов. Так, Shibasaki et al. изучали образцы ЭЖТ и ПЖТ 34 пациентов (20 – с ИБС и 14 – без ИБС), полученные во время операции на открытом сердце: уровни мРНК *IL6* и *IL1beta* в ЭЖТ значительно превышали аналогичные показатели ПЖТ. Причем экспрессия *IL6*, *IL1beta* и *LEP* в ЭЖТ была выше у пациентов с ИБС, а уровни мРНК *ADIPOQ*, *PPAR $\gamma$*  были сходными в обеих группах. В ПЖТ экспрессия *IL6*, *IL1beta* и *LEP* была умеренно выше у пациентов с коронарогенной патологией сердца относительно лиц без таковой. При этом различий в уровнях цитокинов в плазме между двумя группами обнаружено не было, на основании чего авторами сделан вывод о том, что уровни мРНК воспалительных цитокинов, адипокинов,

нейрогуморальных факторов и их рецепторов, по-видимому, повышаются в ЭЖТ независимо от концентрации этих молекул в плазме [21, 101].

Eiras S. at al. также проводили ангиографическую и гормональную оценку экспрессии ЭЖТ и ПЖТ у 92 пациентов (58 – с ИБС, 34 – без ИБС), перенесших операцию на сердце. Уровни мРНК *ADIPOQ* и *IL6* измеряли с помощью ОТ-ПЦР в реальном времени в ЭЖТ и ПЖТ после ангиографической оценки их коронарных артерий. Показано, что в ЭЖТ у лиц с ИБС наблюдался более низкий уровень мРНК *ADIPOQ* и высокий уровень мРНК *IL6*, чем у пациентов без ИБС. Были обнаружены корреляции между количеством пораженных артерий и уровнем мРНК *ADIPOQ* ( $r=-0,402$ ,  $p<0,001$ ), а также мРНК *IL6* ( $r=0,514$ ,  $p<0,001$ ) в ЭЖТ. На основании полученных результатов были сделаны выводы о том, что ЭЖТ экспрессирует низкие уровни адипонектина у пациентов с ИБС и высокие уровни медиаторов воспаления, таких как ИЛ-6 и лептин, чем ПЖТ. Кроме того, прогрессирование ИБС в значительной степени связано с экспрессией мРНК *ADIPOQ* и *IL6* в ЭЖТ, таким образом, низкая экспрессия *ADIPOQ* и высокая экспрессия *IL6* в ЭЖТ могут способствовать прогрессированию ИБС [91].

Секреция ИЛ-6 эпикардальными адипоцитами превышала показатели других изучаемых жировых депо независимо от нозологии ССЗ. Периваскулярные адипоциты пациентов с ИБС характеризовались повышенной секрецией ИЛ-6 относительно лиц с пороками сердца, а адипоциты ПЖТ по уровню секреции данного цитокина не различались в зависимости от нозологии ССЗ.

Kristóf E. at al. также наблюдали повышенную секрецию ИЛ-6 путем дифференцировки *ex vivo* человеческих бежевых адипоцитов (индуцированных агонистом PPAR $\gamma$  или ирисином) по сравнению с белыми. Более высокие уровни ИЛ-6 были обнаружены в биоптатах подкожно-жировой ткани шеи человека (обогащенных клетками браунинга), по сравнению с подкожно-жировой тканью брюшины. При этом ИЛ-6 продуцировался главным образом адипоцитами, но не недифференцированными предшественниками, а непрерывное ингибирование рецептора ИЛ-6 специфическим антителом во время дифференцировки приводило

к подавлению генов бурой ЖТ и усилению морфологических изменений, характерных для белых адипоцитов. На основании чего авторами высказано предположение, что бежевые адипоциты регулируют выработку ИЛ-6 для достижения оптимального уровня для дифференцировки в среде, усиливающей «потемнение» аутокринным способом [122].

Около 30 % ИЛ-6 в организме синтезируется жировой тканью, причем его продукция повышена у лиц с избыточной массой тела [148]. ИЛ-6 обладает плеiotропными эффектами, участвует в регуляции энергетического баланса жировой и мышечной тканей, поступления СЖК в жировую ткань, запускает восстановительные механизмы иммунной защиты (активация и дифференцировка Т-клеток, созревание В-клеток, синтез СРБ в печени, усиление гемопоэза). Кроме того, ИЛ-6 способен ограничивать воспалительную реакцию путем торможения синтеза ряда провоспалительных цитокинов, включая ФНО- $\alpha$  [161]. Влияние его на кардиомиоциты также неоднозначно, поскольку ИЛ-6 может оказывать как протективный (антиапоптотический), так и негативный (индукция гипертрофии) эффекты [33].

Помимо того, что провоспалительные факторы способны оказывать аутокринные и паракринные эффекты, они также участвуют регуляции метаболизма СЖК [38], которые, в свою очередь, приводят к развитию гипергликемии, способствующей усилению ишемического повреждения миокарда [142]. Повышению экспрессии и секреции провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-6, в адипоцитах ЭЖТ и ПВЖТ может способствовать высокий уровень экспрессии *LEP* и секреции лептина, наблюдаемый в этих типах ЖТ. Известно, что лептин обладает стимулирующим эффектом на иммунные клетки и способен регулировать продукцию про- и противовоспалительных цитокинов. Так, исследования *in vivo* и *in vitro* показали, что лептин активирует нейтрофилы и хемотаксис в полиморфноядерных лейкоцитах, усиливает активность моноцитов / макрофагов и фагоцитоз, повышает пролиферацию лимфоцитов и продукцию моноцитами ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$ , являющихся независимыми предикторами развития ИМ и неблагоприятного прогноза заболевания у пациентов с ИБС [127].

Некоторые авторы отмечают гомологичность в строении рецепторов лептина и ИЛ-6 [193], а также предполагают взаимодействие лептина с циркулирующими факторами, посредством которого цитокины способны ингибировать связывание растворимого рецептора лептина Ob-R и блокировать его сигнальную активность в культуре клеток.

Существуют данные экспериментов *in vitro*, демонстрирующие, что секреторные продукты адипоцитов усиливают секрецию воспалительных цитокинов макрофагами и другими иммунными клетками, а провоспалительные цитокины, такие как ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$ , усиливают транскрипцию лептина, что было подтверждено исследованиями *in vivo* [149, 165]. Известно о стимулирующем влиянии катехоламинов, инсулина, ФНО- $\alpha$  и самого ИЛ-6 на секрецию ИЛ-6 адипоцитами человека *in vitro*, а также об ингибировании посредством глюкокортикоидов. Учитывая, что уровень ИЛ-6 в ЖТ превышает плазменный, считается, что данный цитокин обладает ауто- и паракринными функциями, в том числе липолитическими. Так, культивирование адипоцитов с ИЛ-6 вызывает усиление липолиза, а применение ИЛ-6 *in vivo* увеличивает окисление и уровень СЖК в организме [108].

Таким образом, предполагается взаимодействие лептина и ИЛ-6, приводящее к усилению провоспалительной активности, проявляющейся, прежде всего, в адипоцитах ЭЖТ и ПВЖТ, особенно у лиц с ИБС. Повышение лептина, снижающего чувствительность к инсулину на фоне дефицита адипонектина в сочетании с активацией воспаления может привести к метаболическим нарушениям и манифестации СД в отдаленном периоде у данной категории пациентов. Учитывая, что лептин способен воздействовать на сосудистую стенку и активировать агрегацию тромбоцитов, проявляя свои провоспалительные и протромботические эффекты, повышая риск тромбообразования, можно предположить его влияние на развитие сердечно-сосудистых осложнений у пациентов и ухудшение прогноза данной категории больных. Кроме того, снижение адипонектина в адипоцитах ЭЖТ является прогностически неблагоприятным признаком отмены кардиопротективного эффекта. Изучение

уникального материала – висцеральной ЭЖТ, локализованной в непосредственной близости к коронарным артериям, выявило патогенетическую значимость изменений адипокинового и цитокинового статуса адипоцитов пациентов с ИБС [1].

### **4.3 Экспрессия адипоцитокинов и факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца**

#### **4.3.1 Пол**

При изучении экспрессии генов адипоцитокинов у пациентов с ИБС с учетом пола было продемонстрировано, что у обследованных мужчин с ИБС снижена экспрессия гена *ADIPOQ* в ЭЖТ и ПВЖТ, гена *LEP* в ПВЖТ по сравнению с аналогичными показателями у женщин. По-видимому, экспрессия адипонектина и лептина в локальных жировых сердца депо отличается у мужчин и женщин. Наше предположение подтверждается ранее полученными данными. Так, Iglesias M. J. at al., обнаружил, что у мужчин с ИБС экспрессия *ADIPOQ* и *LEP* в ЭЖТ ниже, чем у женщин, тогда как в ПЖТ значимых различий не наблюдалось [22, 98]. Также были выявлены различия экспрессии гена *LEP* в зависимости от пола, но только в ПЖТ: у мужчин данный показатель также был ниже, чем у женщин [95]. Однако относительно уровня адипонектина в ПВЖТ среди ученых нет однозначного мнения, поскольку одни считают, что половая принадлежность оказывает влияние как на экспрессию *ADIPOQ*, так и на секрецию. Другие же, напротив, отмечают различия только секреции данного адипокина из адипоцитов у мужчин и женщин [152].

На молекулярном и клеточном уровнях различия в экспрессии мРНК изучаемых адипокинов может быть обусловлено влиянием половых гормонов на

геном адипоцитов. Так Echiburú V. et al. проводили оценку влияния андрогенов на экспрессию генов адипоцитокинов в ПЖТ женщин с синдромом поликистозных яичников (гиперандрогения) по сравнению с женщинами без синдрома гиперандрогении, сопоставимыми по возрасту и ИМТ. Авторы получили, что уровни мРНК *ADIPOQ* и *LEP* были ниже у женщин с гиперандрогенным синдромом относительно контрольной группой [88]. Также имеются экспериментальные данные об уровнях мРНК *ADIPOQ* и *LEP* у животных в зависимости от их пола.

Известно, что андрогены, в том числе тестостерон, способны вызывать дисфункции ЖТ посредством угнетения геномных процессов. Так, тестостерон превращается в 5- $\alpha$ -дигидротестостерон с помощью 5- $\alpha$ -редуктазы и проникает внутрь цитоплазмы адипоцита, связывается с цитоплазматическим рецептором. Образованный комплекс поступает в ядро, где осуществляется регуляция и синтеза белков. Кроме того, тестостерон может связываться напрямую с андрогеновым рецептором адипоцитов, однако связь дигидротестостерона с рецептором более прочна, чем тестостерона [204]. Показано, что тестостерон способен ингибировать активность РНК-полимеразы, фермента, осуществляющего синтез молекулы мРНК [151]. Таким образом, тестостерон препятствует транскрипции мРНК *ADIPOQ* и *LEP*, блокируя РНК-полимеразу и образование транскрипционного комплекса.

Nishizawa H. et al. подвергали кастрации самцов мышей в возрасте 11 недель и изучали влияние тестостерона на уровни мРНК *ADIPOQ* и секрецию белка адипонектина *in vitro* в 3T3-L1 адипоцитах. Тестостерон значимо не влияет на уровень мРНК *ADIPOQ* в адипоцитах 3T3-L1, однако снижает выработку адипонектина без изменения уровней мРНК *ADIPOQ* и белка адипонектина в жировых клетках.

Содержание адипонектина в среде заметно снижалось как тестостероном, так и его метаболитом, не превращающимся в эстроген (5- $\alpha$ -дигидротестостероном). После иммунопреципитации адипонектина кроличьими поликлональными антителами секреция меченого адипонектина непрерывно

ингибировалась при обработке тестостероном в течение 1-12 часов наблюдения. Полученные результаты показывают, что тестостерон снижает концентрацию адипонектина в плазме, не изменяя уровни мРНК *ADIPOQ* и белка адипонектина в ЖТ. При этом меченый адипонектин дольше сохранялся в клетках при обработке тестостероном, что свидетельствует об ингибировании тестостероном секреции пула адипонектина из адипоцитов 3T3-L1 [144].

При определении уровня мРНК гена ИЛ-6 с учетом пола обследованных пациентов получено, что у мужчин экспрессия гена *IL6* в ПЖТ была значимо выше, а в ПВЖТ, напротив, ниже, чем у женщин, тогда как в ЭЖТ статистически значимых различий не отмечалось. Наблюдаемое изменение данного цитокина согласуется с результатами исследований, проводившими оценку экспрессии провоспалительных маркеров во время кардиохирургических операций. У 15 пациентов (10 – с аортокоронарным шунтированием, 5 – с клапанной пластикой) в начале и в конце операции были взяты образцы эпикардальной и подкожной жировой ткани, затем определена экспрессия генов адипоцитокинов. Авторы показали, что при хирургических вмешательствах экспрессия *IL6* повышается как в ПЖТ, так и в ЭЖТ [162]. Обнаруженное нами отсутствие значимых различий в ЭЖТ у мужчин и женщин может свидетельствовать об активации иммунной системы и стресс-ответа при операциях на сердце с искусственным кровообращением независимо от пола пациентов.

#### 4.3.2 Возраст

В проведенном исследовании обнаружены интересные ассоциации возраста и уровней мРНК генов изучаемых адипоцитокинов. Так, у лиц младше 50 лет наблюдалась максимальная экспрессия гена *ADIPOQ* в ПЖТ и минимальная – в адипоцитах ПВЖТ. Пациенты 50-59 лет характеризовались самой низкой экспрессией гена *LEP* в ПЖТ и самой высокой – в ЭЖТ и ПВЖТ. Наибольший

уровень мРНК гена *ADIPOQ* в ЭЖТ отмечен у лиц старше 60 лет по сравнению показателями других возрастных групп.

Ранее проведенные исследования у пожилых мужчин в возрасте от 62 до 98 лет демонстрируют положительную связь уровней лептина в сыворотке с возрастом, что было ассоциировано со снижением уровня тестостерона в сыворотке, ингибитора выработки лептина, поскольку у пожилых женщин не было обнаружено значительной корреляции с возрастом. Perica's J. at al. также выявили поло-возрастной диморфизм экспрессии лептина в ПЖТ. Так, у женщин наблюдалась положительная корреляция между возрастом и уровнем мРНК лептина в ПЖТ, в то время как у мужчин, напротив, отрицательная связь между данными показателями [176]. При изучении уровней лептина в сыворотке и его экспрессии в подкожной и сальниковой жировой ткани у женщин до и в постменопаузе было получено, что уровень мРНК *LEP* в висцеральной жировой ткани, как и сывороточную концентрацию лептина, был одинаков в обеих группах. Однако экспрессия гена *LEP* в ПЖТ была выше у более молодых женщин, причем возраст не был достоверно связан с уровнем мРНК *LEP* ( $p=0,33$ ) [175]. Анализируя полученные результаты, необходимо учитывать влияние не только возраста, но и воздействие эстрогена, увеличивающего экспрессию мРНК *LEP* в ПЖТ. Экспериментальные исследования *in vitro* с использованием ПЖТ крыс показывают, что эстрогены стимулируют секрецию лептина [50], а его добавление в подкожный жир человека стимулирует экспрессию мРНК *LEP* у женщин, но не у мужчин, что указывает на половой диморфизм производства подкожного лептина [191]. Интересно, что связь уровней эстрогена с экспрессией мРНК *LEP* была обнаружена только у женщин в постменопаузе [175].

Выявленное повышение экспрессии гена *IL6* в ЭЖТ и ПЖТ у пациентов 50-59 лет и в ПЖТ у лиц старше 60 лет не противоречит общепринятому мнению об увеличении провоспалительной активности ЖТ с возрастом. Предполагается, что наблюдаемое возрастание экспрессии гена *IL6* обусловлено старением ЖТ, являющейся основным источником данного цитокина. Zhu M. at al. в исследовании механизма возрастной продукции ИЛ-6 висцеральной ЖТ мышей

C57BL / 6 показали, что после обработки липополисахаридом *in vitro* уровни продукции ИЛ-6 были значительно выше в культурах ЖТ мышей в возрасте 24 месяца по сравнению с молодыми (4 месяца). Авторы также выявили, что гиперпродукция ИЛ-6 у пожилых регулируется аутокринным / паракринным действием ИЛ-1 $\beta$ , который может способствовать возрастной уязвимости к воспалительным заболеваниям [32].

Считается, что возрастная дисфункция ЖТ может не только оказывать вторичное физиологическое воздействие на многие органы, но также ассоциирована с дислипидемией, метаболической дисфункцией и хроническим системным воспалением слабой степени, которые являются предикторами нарушения качества и продолжительности жизни. Некоторыми исследователями было описано снижение уровня мРНК гена *ADIPOQ* в ЖТ при старении [51], тогда как другие сообщали о противоположных результатах [135]. Также имеются данные о повышении лептина у старых крыс в большинстве исследований [135], как и противоположные [49].

Интересны результаты исследований, согласно которым у более старых самок крыс выявлено снижение экспрессии и секреции как про-, так и противовоспалительных адипоцитокинов ЭЖТ по сравнению с более старыми самцами [44, 177]. На основании полученных данных авторы говорят о развитии дисфункции ЭЖТ с возрастом у самок крыс по сравнению с самцами, что в дальнейшем может помочь объяснить половые различия риска ССЗ и смертности у людей, ассоциированные со старением.

Однако результаты относительно возрастных изменений экспрессии генов адипоцитокинов у людей немногочисленны и противоречивы. Одним из потенциальных вариантов понимания считается анализ изменений состава тела с возрастом, поскольку накопление ЖТ продолжается примерно до 60 лет, а затем остается стабильным или уменьшается в пожилом возрасте. Кроме того, распределение ЖТ становится более централизованным с возрастом, особенно у женщин во время и после менопаузы, а пик роста ИМТ приходится на возраст 50 – 60 лет [74]. У мужчин с возрастом происходит увеличение жировой массы

преимущественно над талией с расширением брюшных и подкожных отделов брюшной полости, что объясняется снижением уровня тестостерона [49], поскольку тестостерон снижается примерно на 1% ежегодно, достигая минимума после 70 лет [74]. В дополнение к снижению синтеза тестостерона, физиологически доступный тестостерон, свободный тестостерон и тестостерон, связанный с альбумином, также снижается вследствие повышенных уровней ГСПГ, который связывает тестостерон и снижает его вклад в метаболизм адипоцитов [51]. Продемонстрированное усиление экспрессии *IL6* в ЭЖТ и ПВЖТ у пациентов 50–59 лет, возможно, может говорить об уязвимости данной категории больных ввиду повышенного провоспалительного потенциала и прогрессирования атеросклеротических процессов.

#### 4.3.3 Наличие дислипидемии

В результате определения взаимосвязи экспрессии генов изучаемых адипоцитокинов и дислипидемии получено, что ее наличие у обследованных пациентов с ИБС ассоциировано со снижением уровня мРНК гена *ADIPOQ* в ЭЖТ и ПВЖТ, и гена *IL6* в ПВЖТ.

Хотя ожирение и дислипидемия не являются тождественными патологическими состояниями, наличие дислипидемии очень часто ассоциировано с ожирением. Cybularz M. at al. сообщают о повышенном уровне мРНК *ADIPOQ* в ПВЖТ у мужчин с ИБС и ИМТ выше 30 кг/м<sup>2</sup> по сравнению с более стройными пациентами [87], что, возможно, является отражением так называемого «парадокса ожирения».

Ранее проведенные исследования демонстрируют, что адипонектин воздействует на скопления ХС-ЛПНП в сосудистой стенке, ингибируя их окисление и трансформацию макрофагов в пенистые клетки, а также пролиферацию ГМК неоинтимы [63]. Wang Y. at al. было показано, что

адипонектин может стимулировать экспрессию гена АТФ-связывающего кассетного транспортера холестерина ABCA1 в печени, усиливая биогенез ХС-ЛПВП и обратный транспорт холестерина, проявляя, таким образом, антиатерогенные свойства [80]. Выявленное снижение защитного адипонектина у лиц с дислипидемией, возможно, свидетельствует об отмене протективных эффектов, что потенциально может способствовать ишемическому повреждению кровеносных сосудов и прогрессированию атеросклероза.

Хотя в настоящем исследовании значимых различий экспрессии *LEP* не обнаружено, другие исследователи наблюдали статистически значимо более высокие уровни мРНК *LEP* у пациентов с дислипидемией, положительную корреляцию лептина с ОХС, ТАГ и атеросклеротической бляшкой, а также активацию экспрессии *LEP* при повышении уровня ТАГ [102, 188]. Кроме того, сообщалось о повышении мРНК *LEP* в ЖТ при гипергликемии и/или гиперлипидемии, об индукции экспрессии гена *LEP* при инкубации преадипоцитов 3T3-L1 с глюкозамином и усилении выработки *IL6*, и о стимуляции ИЛ-6 высвобождения лептина и СЖК из адипоцитов [207], в соответствии с чем уровень мРНК *LEP* положительно коррелировал с *IL6* [188].

Благодаря способности провоспалительных цитокинов модулировать синтез и секрецию адипокинов, усиление воспаления может повышать лептин и ингибировать защитные эффекты адипонектина в ЭЖТ и ПВЖТ. Однако существуют диаметрально противоположные данные, согласно которым лептин дозозависимо снижает гиперхолестеринемию [2, 129] и индуцирует экспрессию *ADIPOQ* и секрецию адипонектина в ЖТ. Учитывая такие противоречивые данные, Hoffmann A. et al. решили оценить дозозависимые эффекты лептина на атерогенез. Для этого мышам, нокаутированным по рецептору липопротеинов низкой плотности с дефицитом лептина (LDLR (- / -); ob/ob), склонных к атеросклерозу, вводили физиологический раствор 0,1, 0,5 или 3,0 мг/кг массы тела рекомбинантный лептин более 12 недель, начиная с 8 недель. Авторы получили, что лептин дозозависимо уменьшал площадь бляшек в корне аорты и брахиоцефальных артериях на 36% и 58% соответственно. Рекомбинантный

лептин при лептин-дефицитных состояниях опосредует свои антиатерогенные эффекты косвенным путем. Во-первых, улучшает гомеостаз глюкозы (гликемию натощак, инсулин и индекс НОМА-IR), по сравнению с физиологическим раствором. Во-вторых, регулируя липидный обмен за счет дозозависимого снижения циркулирующих и печеночных ТАГ, общего ХС, ХС-ЛПОНП, ХС-ЛПНП. В-третьих, лептин уменьшает местное воспаление печени, подавляя такие провоспалительные цитокины, как ФНО- $\alpha$ , MCP-1 и маркер фиброза TGF- $\beta$ . В-четвертых, лептин повышал циркулирующие уровни адипонектина, что вызвано индуцированной экспрессией мРНК *ADIPOQ* в эпидидимальной, подкожной, эпиренальной и эпикардальной жировой ткани. Кроме того, дополнительным механизмом антиатерогенного действия адипокина в субфизиологических или физиологических концентрациях может являться запускаемое им высвобождение оксида азота, который частично противодействует симпатической активации, а также липолитический эффект на уровне аденилатциклазы / Gi-белков, который противодействует тоническому ингибированию эндогенного аденозина в белых жировых клетках. На основании чего сделан вывод о том, что введение лептина в пределах от субфизиологического до физиологического диапазона уменьшает атеросклеротические поражения, поскольку лептин, по-видимому, опосредует свои антиатерогенные эффекты через снижение гиперхолестеринемии и стеатоза печени, а также активацию атеропротективного адипонектина [128].

В исследовании Han M.S. et al. показано, что уровни ИЛ-6 были значительно выше у мышей, получавших диету с высоким содержанием жиров. Известно, что ИЛ-6, как и ФНО- $\alpha$ , способен ингибировать экспрессию липопротеинлипазы, наиболее богаты которой ЖТ, сердце и скелетные мышцы. ЛПЛ необходима в капиллярах, она экспортируется из адипоцитов в эндотелиальную выстилку капилляров ЖТ, расщепляет триглицериды хиломикронов и липопротеинов очень низкой плотности, тем самым регулирующий концентрацию триглицеридов [160]. Обнаруженное снижение уровня мРНК *IL6* в ПВЖТ пациентов с ИБС может препятствовать запасанию липидов и тормозить развитие гипертрофии адипоцитов.

#### 4.3.4 Наличие артериальной гипертензии

Анализ экспрессии изучаемых параметров в зависимости от факта АГ продемонстрировал, что при ее наличии снижена экспрессия гена *ADIPOQ* в ЭЖТ и ПВЖТ на фоне повышения уровня мРНК гена *LEP* в ЭЖТ, а также гена *IL6* в ПЖТ и ЭЖТ. Кроме того, АГ более 20 лет ассоциирована со снижением уровня мРНК гена *ADIPOQ* на фоне повышения экспрессии гена *LEP* во всех типах ЖТ, а также уменьшением экспрессии гена *IL6* в ПЖТ и увеличением в ПВЖТ [22].

Полученные нами результаты согласуются с данными других исследователей. Так, Guo R. at al. в эксперименте на животных проанализировали экспрессию *ADIPOQ* и его рецепторов в адипоцитах ПВЖТ, а также их роль в гипертоническом повреждении сосудов *in vitro* и *in vivo*. Авторами было показано, что у мышей с индуцированной ангиотензином II гипертензией экспрессия *ADIPOQ*, *AdipoR1* и *AdipoR2* снижена в периваскулярных адипоцитах [36]. Существуют также данные относительно взаимосвязи адипоцитокинов и АГ у людей: Cano-Martínez L.J. at al. не обнаружили различий в экспрессии мРНК *ADIPOQ*, *AdipoR1*, *AdipoR2*, *LEP* и его рецептора у женщин независимо от наличия АГ [90]. При этом у женщин с более высоким средним значением АД наблюдались повышенные уровни экспрессии мРНК *ADIPOQ* в ПЖТ. Эти результаты могут быть следствием компенсаторного механизма снижения АД за счет воздействия этого адипокина на экспрессию eNOS в сосудах, которая считается медиатором вазоконстрикции и вазодилатации [30]. Исследование Neromusceno at al. продемонстрировало положительную корреляцию между экспрессией *LEP* и АД [188].

При изучении экспрессии *ADIPOQ* в сравнительном аспекте в ЭЖТ и ПЖТ у 116 пациентов (78 мужчин, 38 женщин), перенесших плановую операцию на сердце – шунтирование коронарной артерии либо коррекцию патологии клапанов, было показано, что уровни мРНК *ADIPOQ* в ЭЖТ были ниже при наличии АГ ( $14,0 \pm 3,6$  против  $15,3 \pm 3,6$ ,  $p = 0,06$ ), причем полученное различие было статистически значимым (отношение шансов (ОШ) 0,828,  $p = 0,020$ ) после

поправки на возраст, пол, индекс массы тела, сахарный диабет, сердечную недостаточность, ИБС, уровни общего холестерина и триглицеридов с помощью многомерного логистического регрессионного анализа. Однако уровни мРНК *ADIPOQ* в ПЖТ были одинаковыми у пациентов с АГ и без ( $15,3 \pm 4,2$  против  $15,3 \pm 5,0$ ,  $p > 0,99$ ). На основании чего сделан вывод, что экспрессия *ADIPOQ* в ЭЖТ может быть связана со статусом АГ независимо от ИБС или других сопутствующих заболеваний, тогда как в ПЖТ такого не выявлено, что подтверждает гипотезу о влиянии ЭЖТ на риск ССЗ [197].

При АГ выработка лептина в ПВЖТ возрастает, что, учитывая возможный пролиферативный эффект и влияние на сосудистую проницаемость, может вносить вклад в прогрессирование данного заболевания [133]. Одновременное снижение *ADIPOQ* в ЭЖТ и ПВЖТ, наблюдаемое в проведенном исследовании, также может иметь неблагоприятную роль, поскольку показано, что именно данный адипокин ослабляет сосудистое повреждение при АГ [52].

#### 4.3.5 Курение

Курение является общепризнанным фактором атеросклеротического риска и связано с развитием сердечно-сосудистых заболеваний [61, 185]. Однако данные о связи лептина и адипонектина с курением ограничены и противоречивы. Показано, что курение усиливает воспаление, перекисное окисление липидов, дисфункцию эндотелиальных клеток и способствует развитию ИР [63, 195].

При определении экспрессии генов адипоцитокинов у пациентов с ИБС в зависимости от курения получено, что у курящих выше уровни мРНК гена *ADIPOQ* во всех типах ЖТ, гена *LEP* в ПЖТ и ЭЖТ. При этом курение не было взаимосвязано с изменениями экспрессии гена *IL6*.

Большинство современных исследований посвящено изучению циркулирующих уровней адипонектина, а также их изменению при отказе от курения. Так, Li M. et al. изучали влияние воздействия табачного дыма *in vitro* и *in*

*vivo* на внутриклеточное и внеклеточное распределение адипонектина и его высокомолекулярной формы. Воздействие на культивируемые адипоциты экстракта табачного дыма подавляет общую секрецию изучаемого адипокина, а введение экстракта табачного дыма мышам снижает концентрацию адипонектина в плазме [72]. При этом авторы обнаружили внутриклеточное накопление адипонектина в культивируемых адипоцитах и ЖТ мышей дикого типа на фоне его снижения в культуральной среде и в плазме. Кроме того, выявлено усиление экстрактом табачного дыма удерживающего адипонектин шаперона ERp44, который локализуется в эндоплазматической сети, а также подавление фактора секреции адипонектина DsbA-L. Полученные результаты могут объяснить гипoadипонектинемиию и повышенный риск развития СД2 у курящих за счет внутриклеточной задержки в ЖТ при воздействии табачного дыма [72].

Полученные результаты относительно мРНК *LEP* согласуются с данными Reseland J.E. at al., которые изучали влияние никотина на экспрессию *LEP* и секрецию лептина *in vitro*. Биоптаты ПЖТ были получены у здоровых женщин (ИМТ  $22,7 \pm 1,0$  кг/м<sup>2</sup>, средний возраст  $33,5 \pm 5,9$  года), перенесших маммопластическую операцию. Затем адипоциты людей и мышинные 3T3-L1 инкубировали со средой, содержащей 0,05 или 0,5 мкг/мл никотина (Sigma), и собирали через 1, 3, 6 и 24 часа. Уровни мРНК *LEP* существенно не отличались в течение первых 6 ч инкубации с никотином в культивируемых клетках и эксплантах ЖТ. Это также отражалось в секреции лептина в среду эксплантатов ЖТ человека. При этом уровень мРНК *LEP* в мышинных клетках 3T3-L1 повышался в первый час, а затем снижался на 45% после 6-часовой инкубации с 0,5 мкг/мл никотина. Более низкая доза никотина (0,05 мкг/мл) не влияла на мРНК *LEP* в клетках 3T3-L1. Авторы наблюдали небольшое изменение уровней мРНК *LEP* в культивируемых клетках, инкубированных с никотином, но резкое снижение концентрации лептина в плазме при курении сигарет и пришли к выводу, что наблюдаемое снижение концентрации лептина в плазме у курильщиков, вероятно, связано не с прямым воздействием никотина на экспрессию *LEP* и секрецию лептина, а скорее с косвенным воздействием катехоламинов [68].

Кроме того, данные, полученные на животных моделях и у людей, показывают, что экспрессия генов и секреция провоспалительных адипоцитокинов в ПВЖТ может модулироваться такими факторами как курение и питание с высоким содержанием жиров, имеющими непосредственное отношение к атеросклерозу [158].

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о тесной ассоциации традиционных факторов риска ССЗ с нарушением баланса адипоцитокинов у пациентов с ИБС. Выявленный дисбаланс проявляется снижением экспрессии гена *ADIPOQ* в ЭЖТ и ПВЖТ на фоне повышения *LEP* и *IL6* и является неблагоприятным признаком. Наличие у пациентов с ИБС таких факторов риска, как мужской пол, дислипидемия и АГ может усиливать атерогенез и способствовать дальнейшему прогрессированию ИБС.

#### **4.4 Экспрессия генов адипоцитокинов в различных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от степени поражения коронарного русла**

Ранее проведенные исследования продемонстрировали важную роль адипоцитокинов, продуцируемых и экспрессируемых ЭЖТ в патогенезе заболеваний коронарных артерий. Однако до сих пор не определены взаимосвязи между уровнями изучаемых показателей и распространенностью ИБС (степенью атеросклеротического поражения КА).

В результате настоящего исследования с учетом деления пациентов по тяжести поражения коронарного русла по шкале SYNTAX Score показано, что лица с умеренным поражением характеризуются самой высокой экспрессией гена *ADIPOQ* во всех типах ЖТ. В ЭЖТ всех обследованных лиц независимо от тяжести поражения уровень мРНК гена *ADIPOQ* был снижен, а в ПВЖТ, напротив, повышен. Кроме того, при тяжелом поражении КА в ЭЖТ наблюдалась

высокая экспрессия *LEP*. Наиболее высокая экспрессия гена *IL6* – в ЭЖТ и ПЖТ пациентов с тяжелым и крайне тяжелым поражением КА.

Полученные данные согласуются с результатами Eiras S. at al., исследовавшими уровни экспрессии *ADIPOQ* и *IL6* в эпикардальной и подкожной жировой ткани у пациентов с ИБС в зависимости от количества пораженных КА. Авторы получили, что с увеличением числа пораженных артерий в ЭЖТ уровни мРНК *ADIPOQ* снижаются ( $r=-0,402$ ,  $p<0,001$ ), а мРНК *IL6*, напротив, увеличиваются ( $r=0,514$ ,  $p<0,001$ ). На основании чего был сделан вывод о том, что степень атеросклеротического поражения в значительной мере связана с экспрессией мРНК *ADIPOQ* и *IL6* в ЭЖТ: низкий уровень мРНК *ADIPOQ* и высокая экспрессия *IL6* могут способствовать прогрессированию ИБС [21, 91]. Авторы других исследований наблюдали корреляцию между сниженной экспрессией *ADIPOQ* и степенью коронарной болезни [71, 178]. Однако поскольку не обнаружено корреляции между воспалительными цитокинами, экспрессируемыми в ЭЖТ, в том числе *IL6*, и их плазменными уровнями, считается, что ИЛ-6 может оказывать локальные эффекты на прогрессирование ИБС [171].

Существующие данные свидетельствуют о взаимосвязи гиперэкспрессии *IL6* и атеросклеротического повреждения сосудов различного калибра, а также гиперпродукции ИЛ-6 под действием ангиотензина II, что стимулирует атерогенез [33].

Также считается, что экспрессия мРНК гена *ADIPOQ* может зависеть от экспрессии гена *IL6* в ЭЖТ и ПЖТ: провоспалительный ИЛ-6 способен подавлять адипонектин, тем самым усиливая воспалительные процессы в стенках сосудов, нестабильность атеросклеротических бляшек и неоваскуляризацию [94] аналогичным способом, как воздействие ИЛ-6 подавляет секрецию адипонектина в адипоцитах ПЖТ, не влияя на олигомеризацию адипонектина [157]. Эта гипотеза подтверждается тем фактом, что у пациентов с ИБС экспрессия гена *IL6* в ЭЖТ выше, чем в ПЖТ. Эта гипотеза в некоторой степени подтверждается тем

фактом, что экспрессия гена *IL6* более интенсивна в ЭЖТ, чем в ПЖТ у пациентов с ИБС [98].

Не противоречат полученные данные и результатам Поляковой Е. А. и др., которые показали, что экспрессия *LEP* в ЭЖТ при многососудистом поражении коронарного русла выше, чем при одно- и двухсосудистом (у мужчин). У женщин данный показатель не зависел от тяжести коронарного атеросклероза. В ПЖТ экспрессия *LEP* у мужчин с многососудистым поражением выше, чем при одно- и двухсосудистом, а у женщин с многососудистым поражением ниже [25].

Таким образом, прогрессирование атеросклеротического поражения КА у пациентов с ИБС, оцененное по шкале SYNTAX Score, ассоциировано с уменьшением экспрессии *ADIPOQ* и одновременным повышением уровня мРНК *LEP* и *IL6* в ЭЖТ и ПЖТ.

#### **4.5 Влияние различных концентраций розувастатина на экспрессию и секрецию адипокинов**

Статины, обладая плеiotропными эффектами, оказывают благоприятное влияние на течение ССЗ, в том числе благодаря нормализации адипокинового дисбаланса. В частности, они способны повышать адипонектин, оказывающий антиатерогенное, противовоспалительное и кардиопротективное влияние [119]. Поскольку адипонектин является основным продуцируемым адипоцитами белком [196], он может рассматриваться не только в качестве маркера атеросклероза, но и терапевтической мишени при выборе лечения статинами. Однако точный механизм действия статинов на ЖТ до сих пор не определен. Таким образом, особый клинический интерес представляет его выяснение с целью дальнейшего определения медикаментозной тактики ведения пациентов с ССЗ.

При изучении эффектов низкой и высокой концентрации розувастатина на культуры адипоцитов получено, что ЭЖТ и ПЖТ пациентов с ИБС наиболее

восприимчивы к воздействию низкой дозы розувастатина: наблюдается повышение экспрессии генов *ADIPOQ*, *LEP* и секреции адипонектина и лептина. У лиц с пороками сердца розувастатин дозозависимо увеличивал экспрессию гена *ADIPOQ* в культурах ПЖТ и ПВЖТ, но не ЭЖТ. Однако добавление 5 мкмоль/л розувастатина снижало секрецию адипонектина в ЭЖТ и ПВЖТ относительно 1 мкмоль/л у пациентов обеих групп.

На сегодняшний день имеются немногочисленные и противоречивые данные о влиянии статинов на метаболическую активность ВЖТ, в частности, на изменение уровней адипоцитокинов, так как большинство исследователей определяли воздействие статинов на циркулирующие уровни [180]. Продемонстрировано, что симвастатин незначительно повышает адипонектин в сыворотке крови [85]. Симвастатин увеличивал циркулирующий лептин с одновременным снижением адипонектина, а правастатин, напротив, повышал адипонектин [83]. Однако в экспериментальных работах на крысах, являющихся моделью метаболического синдрома, показано, что аторвастатин как в низких, так и высоких дозах, снижал гипертрофию эпикардальных адипоцитов и воспаление в ВЖТ, несмотря на уменьшение адипонектина [55]. В работе Singh S. et al. использование статинов также снижает секрецию лептина и экспрессию мРНК *LEP*, но увеличивает секрецию адипонектина и экспрессию мРНК *ADIPOQ* [181].

Необходимо учитывать, что эффект статинов на ЖТ зависит от степени их гидрофильности и растворимости в жирах. Так, правастатин (гидрофильный) не оказывает влияния на секрецию лептина или адипонектина у здоровых лиц, но при гипoadипонектинемии повышает его уровень. Аторвастатин (липофильный) у пациентов с ИБС способствует уменьшению лептина и повышению адипонектина, но у лиц с СД 2 типа не влияет на адипокины [20, 56].

Розувастатин (гидрофильный), в отличие от симвастатина, снижает уровень лептина у больных с высоким риском ССЗ [84, 167]. Результаты исследований демонстрируют положительное действие гидрофильных статинов на дисфункцию ЖТ по сравнению с липофильными благодаря их плеiotропным эффектам. Считается, что статины повышают активность PPAR $\gamma$  посредством активации

киназы, регулируемой внеклеточными сигналами ERK1/2 для уменьшения воспаления в адипоцитах и моноцитах. Повышение активности PPAR $\gamma$  ведет к усилению транскрипции гена адипонектина в ядре. Адипонектин был предложен в качестве критического медиатора антагонистической сенсбилизации к инсулину, вызванной PPAR $\gamma$ . В то же время розувастатин обладает дифференциальной гидрофильностью и способностью ингибировать гидроксиметилглутарил-КоА-редуктазу, фермент перестает диффундировать в цитоплазму, где прекращается фосфорилирование сигнальных белков, что замедляет секрецию адипонектина за пределы клетки.

Таким образом, применение розувастатина в низкой концентрации приводило к усилению экспрессии гена *ADIPOQ* и секреции адипонектина в культуре адипоцитов ПВЖТ у пациентов обеих групп [1, 5, 201]. При этом розувастатин не оказывал выраженного эффекта на экспрессию гена *LEP* и секрецию лептина в ПВЖТ, что может иметь неблагоприятный эффект. Именно ПВЖТ имеет важное значение: синтезируемые ею цитокины и хемокины воздействуют на сосудистую стенку, вызывая спазм сосудов, эндотелиальную дисфункцию, пролиферацию ГМК, миграцию лейкоцитов в интиму и фиброз. Этим может объясняться неэффективная терапия низкими дозами статинов. Но существует мнение о протективной роли ПВЖТ: выделяемые ПВЖТ вещества, в том числе адипонектин, вызывают вазодилатацию при контрпродукции ангиотензина II, серотонина и фенилэпинефрина, нивелируя их сосудосуживающее действие. По составу ПВЖТ неоднородна, включает как белую жировую ткань, так и бурую, а их соотношение различается в зависимости от топографии сосудистого бассейна. Гетерогенность ПВЖТ определяет реализацию ее функции – протективной или атерогенной [5, 114]. Полученные результаты не противоречат выявленным ранее особенностям, согласно которым аторвастатин в концентрации 20 мг/сутки нормализует адипокиновый статус у пациентов с ишемической болезнью сердца, в отличие от концентрации 40 мг/сутки [15].

#### 4.6 Влияние различных концентраций розувастатина на экспрессию и секрецию интерлейкина-6

В результате проведенной оценки влияния различных концентраций розувастатина на экспрессию гена *IL6* и секрецию ИЛ-6 продемонстрировано статистически значимое снижение изучаемых показателей в эпикардальной и периваскулярной ЖТ пациентов обеих групп при добавлении низкой концентрации розувастатина (1 мкмоль/л). Концентрация розувастатина 5 мкмоль/л на адипоциты ПЖТ и ПВЖТ практически не влияла, в то время как в культуре адипоцитов ЭЖТ усиливала экспрессию гена *IL6* и секрецию ИЛ-6 независимо от нозологии ССЗ. Адипоциты ПЖТ были слабо восприимчивы к действию розувастатина в обеих концентрациях (1 и 5 мкмоль/л).

Полученные результаты наглядно демонстрируют разнонаправленный эффект розувастатина на ИЛ-6: низкая концентрация розувастатина (1 мкмоль/л) снижала экспрессию гена *IL6* и секрецию ИЛ-6 в культуре клеток, а высокая (5 мкмоль/л), напротив, повышала. Не противоречат нашим данным Abe M. et al., изучавших влияние статинов (1,177 мкмоль/л правастатина или 0,071 мкмоль/л питевастатина) в качестве пищевой добавки 5-6-недельным мышам *ob/ob* в течение 4 недель, обнаруживших снижение уровня мРНК *IL6* в эпидидимальной и подкожной жировой ткани мышей. Кроме того, авторами также изучалось влияние статинов на макрофаги: при обработке преадипоцитов мыши 3T3-L1 кондиционированной средой линии макрофагальных клеток RAW264 в отсутствие или в присутствии статинов выявлено значительное уменьшение ЛПС-индуцированной экспрессии *IL6* и секреции ИЛ-6 [86].

Согласно данным литературы, при состояниях, сопровождающихся воспалением ЖТ, таких, как ожирение, метаболический синдром, СД 2 типа, секреция ИЛ-6 адипоцитами повышается [153]. Предполагается, что причиной гиперпродукции ИЛ-6 может являться гипертрофия адипоцитов, наблюдаемая при

вышеперечисленных патологиях, поскольку известна повышенная продукция гипертрофированными адипоцитами ИЛ-6 [105].

Ранее проведенные исследования продемонстрировали, что статины способны нивелировать воспаление низкой степени, характерное для атерогенеза, посредством снижения экспрессии *IL6* и продукции ИЛ-6. Так, в исследовании Baker A. et al. при оценке экспрессии воспалительных маркеров в ЭЖТ пациентов с КШ выявили низкие уровни мРНК ИЛ-6 у лиц, получавших статины, относительно контрольных образцов сальниковой ЖТ ( $p < 0,001$ ) [111].

Zhao S.-P. и Zhang D.-Q. оценивали эффект перорального применения аторвастатина на секрецию ИЛ-6 в адипоцитах ПЖТ кроликов, получавших питание с высоким содержанием холестерина в течение 2 недель. Применение статина на продукцию ИЛ-6 в адипоцитах *in vitro* не влияло, приводило к значительному снижению концентрации циркулирующего ИЛ-6, что связано с секрецией ИЛ-6 в адипоцитах ( $r=0,849$ ,  $p<0,01$ ). Экспрессия *PPAR $\gamma$*  в адипоцитах была ассоциирована с секрецией ИЛ-6 ( $r=-0,900$ ,  $p<0,01$ ), аторвастатин дозозависимо индуцировал снижение секреции ИЛ-6. Авторы показали, что культивирование адипоцитов с аторвастатином в различных концентрациях (от 0 до 10 мкмоль/л) в течение 24 часов приводит к снижению секреции ИЛ-6 в супернатанте адипоцитов. Обе концентрации препарата снижали секрецию ИЛ-6 на 28,9 % и 46,5 % соответственно ( $p < 0,05$ ). На основании чего был сделан вывод о способности аторвастатина ингибировать секрецию ИЛ-6 в адипоцитах за счет регуляции *PPAR $\gamma$* , что объясняет противовоспалительные эффекты статинов [208].

Таким образом, результаты, полученные в настоящем исследовании, подтвердили противовоспалительный эффект статинов и позволяют говорить о благоприятном влиянии розувастатина в низких концентрациях, проявляющемся снижением воспалительной активности в адипоцитах ЭЖТ и ПЖТ. В ЭЖТ и в большей степени в ПЖТ, наблюдалась повышенная наработка ИЛ-6, что, вероятно обуславливает низкую экспрессию адипонектина в данных типах ЖТ.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На сегодняшний день ИБС остается основной причиной смертности в развитых странах благодаря тесной ассоциации с нарушениями, приводящими к реализации неблагоприятных метаболических и иммунных реакций ЖТ [53, 147, 198]. Учитывая потенциальное влияние адипозопатии и признание роли адипоцитов в качестве эндокринных и паракринных детерминант сосудистой функции, необходимо изучение иммунометаболических особенностей ЖТ различной локализации [5, 96]. В настоящее время эктопические жировые депо разделяют на два подтипа по принципу местного или системного воздействия. В соответствии с этой моделью, ЭЖТ и ПВЖТ оказывают преимущественно локальное воздействие и имеют тесную ассоциацию с кардиометаболическими рисками и клиническими проявлениями ССЗ [17, 21, 186]. Диссертационное исследование направлено на изучение закономерностей и особенностей изменений экспрессии генов *ADIPOQ*, *LEP* и *IL6* адипоцитами локальных жировых депо и возможности фармакологической коррекции адипозопатии при ИБС. Определение молекулярно-генетических особенностей ЖТ пациентов с ИБС показало различие в зависимости от анатомического ее расположения. ЖТ в области сердца характеризуется усиленной экспрессией генов лептина и ИЛ-6, и сниженной – гена *ADIPOQ* по сравнению с ПЖТ и ПВЖТ. Для ПВЖТ характерна высокая экспрессия *ADIPOQ* и *IL6*, что свидетельствует о сохранении как протективных, так и патологических свойств. ПЖТ более инертна в отношении проявления проатерогенных и противовоспалительных эффектов, вероятно, обладая нейтральными эндокринными свойствами (рисунок 43).

При оценке изучаемых показателей в зависимости от степени поражения КА, оцененной по шкале SYNTAX Score, показано, что пациенты с умеренным поражением характеризовались наибольшим уровнем экспрессии гена *ADIPOQ* во всех типах исследуемой ЖТ. При тяжелом поражении КР наблюдалось повышение уровня мРНК гена *LEP* в ПЖТ и ЭЖТ, при крайне тяжелом – в

ПВЖТ. Также выявлено увеличение экспрессии гена *IL6* в ЭЖТ и ПВЖТ при тяжелом и крайне тяжелом поражении КР.

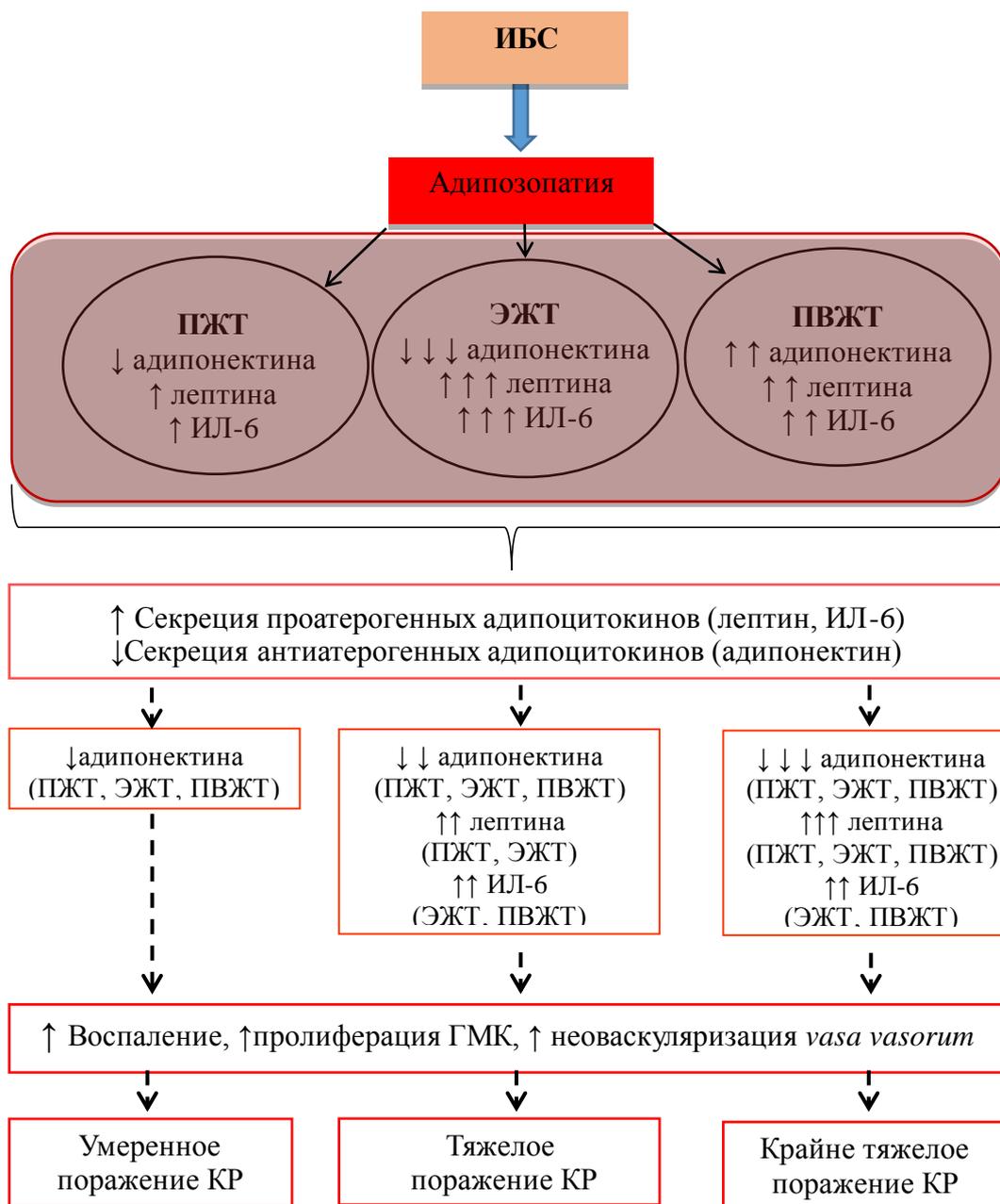


Рисунок 43 – Общие закономерности, отражающие роль адипозопатии локальных жировых депо в формировании атеросклеротического повреждения коронарных артерий при ишемической болезни сердца

Примечание: здесь и в рисунках 44-45: ГМК – гладкомышечные клетки, ИБС – ишемическая болезнь сердца, ИЛ-6 – интерлейкин-6, КР – коронарное русло, ПВЖТ – периваскулярная жировая ткань, ПЖТ – подкожная жировая ткань, ЭЖТ – эпикардальная жировая ткань.

В дополнение к показателям экспрессии, обнаруженные особенности секреторма адипоцитов «сердечной» локализации, характеризующиеся выраженным дисбалансом адипоцитокинов (высокий уровень лептина и ИЛ-6, низкий уровень адипонектина), указывают на неблагоприятный метаболический потенциал данного депо.

Таким образом, с увеличением степени атеросклеротического поражения КР снижается экспрессия *ADIPOQ* и увеличивается экспрессия генов *LEP* и *IL6*. Максимальные изменения *LEP* наблюдаются в ЭЖТ (тяжелый атеросклероз) и ПВЖТ (крайне тяжелые атеросклеротические поражения).

Проведен анализ взаимосвязи половозрастных особенностей, коморбидного фона, статуса курения и показателей уровня экспрессии изучаемых адипокинов и цитокинов адипоцитами локальных жировых депо (рисунок 44).

Показано, что экспрессия адипокинов различается в зависимости от пола. В то время как дислипидемия у пациентов с ИБС ассоциирована с низким уровнем экспрессии мРНК гена *ADIPOQ* в ЖТ «сердечной» локализации, что свидетельствуют об отмене защитных эффектов адипонектина и потенциально может способствовать ишемическому повреждению кровеносных сосудов и прогрессированию атеросклероза. Установлено, что экспрессия мРНК генов изучаемых адипоцитокинов ассоциирована с возрастом. У лиц младше 50 лет отмечается максимальная экспрессия *ADIPOQ* в ЖТ несердечной локализации и минимальная – в области сосудов. В то же время, с возрастом увеличивается экспрессия *LEP* в ЖТ сердечной локализации. Однако у лиц старше 60 лет повышается экспрессия *ADIPOQ* в ЖТ сердца.

Наличие АГ у пациентов с ИБС сопряжено со снижением экспрессии гена *ADIPOQ* в ЖТ в области сердца и сосудов на фоне увеличения уровня мРНК *LEP*. Длительность АГ более 20 лет ассоциирована с низким уровнем мРНК гена *ADIPOQ* и увеличением *LEP* в ЖТ. При АГ повышенный уровень лептина в ПВЖТ может способствовать прогрессированию заболевания, учитывая возможные пролиферативные и сосудистые эффекты [133], а одновременное

снижение *ADIPOQ* в эпикардиальной и периваскулярной жировой ткани способно оказывать патологическое воздействие на стенки сосудов.

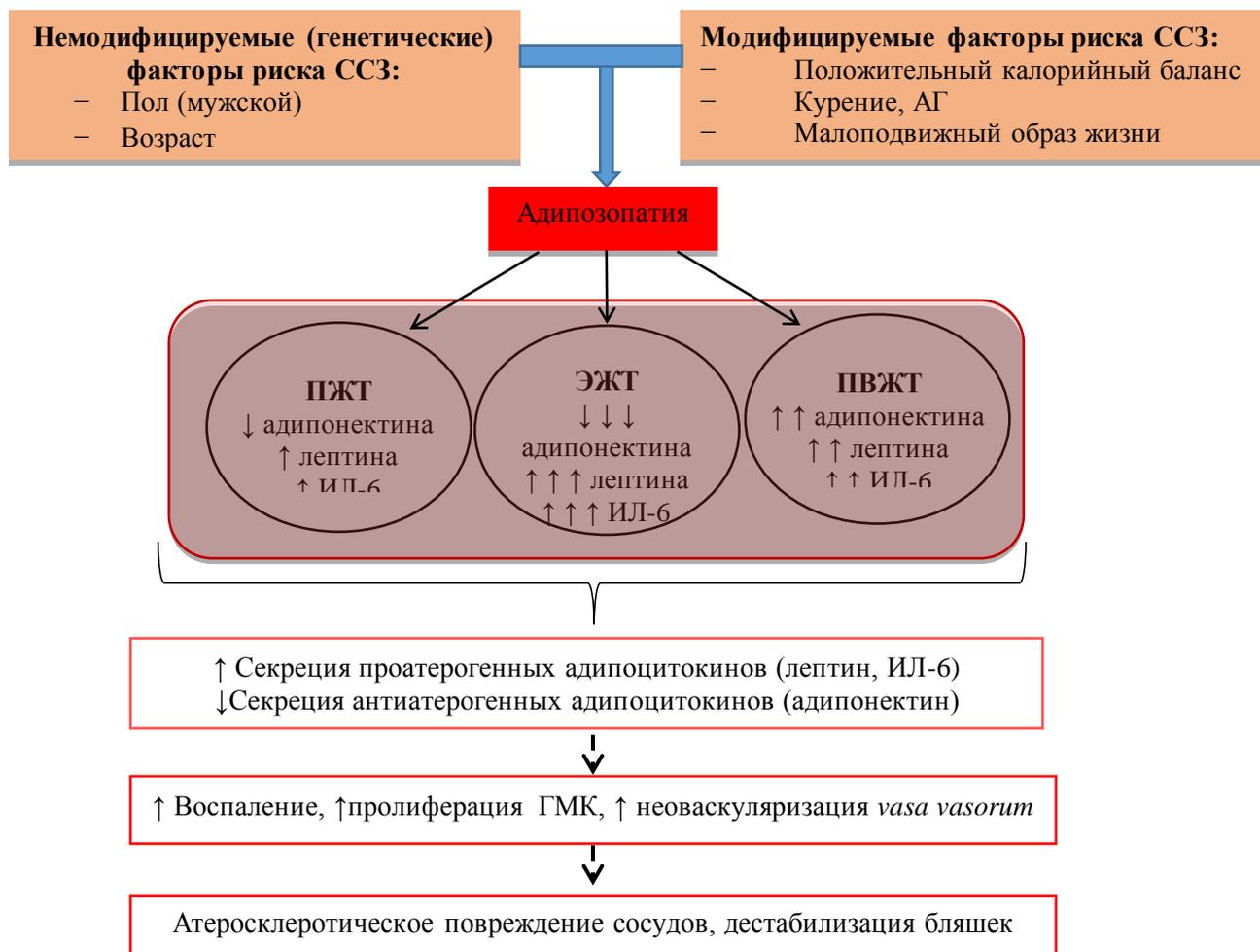


Рисунок 44 – Общие закономерности, отражающие взаимосвязь адипозопатии локальных жировых депо с факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний

Примечание: ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания.

Во всех типах ЖТ курящих пациентов установлен парадоксально высокая экспрессия мРНК гена *ADIPOQ*, однако и уровень мРНК гена *LEP* лептина также был более высоким, что, вероятно, связано не с прямым воздействием никотина на экспрессию их генов, а скорее, с косвенным воздействием ренин-ангиотензиновой системы. Таким образом, экспрессия адипокинов в ЖТ зависит от гендерных особенностей, коморбидного фона пациента, статуса курения и возраста.

В результате проведенного исследования было продемонстрировано, что розувастатин является эффективным модулятором гормональной активности адипоцитов (рисунок 45).



Рисунок 45 – Эффекты воздействия розувастатина *in vitro* на экспрессию генов адипоцитокинов при ишемической болезни сердца

Установлено, что действие низкой концентрации розувастатина на экспрессию гена *ADIPOQ* и секрецию адипонектина и лептина адипоцитами в большей степени зависит от их локализации, чем от нозологической формы заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Розувастатин, обладающий плеiotропными эффектами, может нивелировать патологическую активацию ЖТ, увеличивая секрецию адипонектина и экспрессию *ADIPOQ*, а также снижая уровень мРНК *IL6* и секрецию ИЛ-6 в ЭЖТ и ПВЖТ. Противовоспалительные эффекты статины

оказывают посредством снижения экспрессии и секреции протромботических и воспалительных цитокинов [75]. Одним из предполагаемых механизмов действия статинов на адипоциты является активация особых клеточных белков – рецепторов активируемых пролифераторами пероксисом, широко представленных в клетках ССС, ГМК, эндотелиоцитах, моноцитах и макрофагах. Стимуляция PPAR $\gamma$  снижает уровень триглицеридов, оказывает антипролиферативное действие и улучшает функцию эндотелия. Агонисты PPAR $\gamma$  усиливают продукцию адипонектина, увеличивая экспрессию гена *ADIPOQ* преимущественно в адипоцитах, а активация PPAR $\gamma$  статинами увеличивает наработку СЖК из хиломикроннов и ХС-ЛПОНП в ЖТ, активирует экспрессию генов транспорта СЖК, их синтез, эстерификацию и продукцию адипонектина. Поскольку PPAR $\gamma$  регулируют ангиогенез, продукцию адипонектина, активность ИЛ-6, экспрессию адгезивных молекул, хемокинов и матриксных металлопротеиназ в сосудистой стенке, особенно в зонах атеросклеротического поражения, то активация PPAR $\gamma$  статинами может сопровождаться не только усилением синтеза белков GLUT1 и GLUT4 и повышением чувствительности тканей к инсулину, снижением уровня СЖК за счет активации ЛПЛ и скевенджер-захватом липидов макрофагами, но и снижением воспалительной реакции и гипертрофии адипоцитов. Было показано, что плеiotропные эффекты статинов, направленные на преодоление эндотелиальной дисфункции, реализуются благодаря активации PPAR $\alpha$ . Активация PPAR $\alpha$  рецепторов оказывает противовоспалительный эффект через подавление ядерного фактора транскрипции и экспрессии генов, кодирующих провоспалительные факторы, угнетая синтез эндотелина, медиаторов воспаления ИЛ-6 и циклооксигеназы-2 и индуцибельной NO-синтазы в макрофагах [182]. Вторым потенциальным механизмом влияния статинов на адипоциты является регуляция активности Toll-like рецепторов, проявляющаяся ослаблением воспаления слабой интенсивности и угнетением прогрессирования атеросклеротических процессов [86].

Таким образом, результаты проведенного исследования позволяют сделать вывод, что ССЗ, особенно ИБС, тесно сопряжены с диспропорцией ЖТ, характеризующейся ее накоплением не только в абдоминальном компартменте, но и в области сердца и сосудов. Жировые депо сердца обладают уникальным молекулярно-генетическим профилем, способным обеспечивать как физиологическое функционирование адипоцитов, так и вовлекать их в инициацию патологических процессов – периферической лептинорезистентности, атерогенной дислипидемии, инсулинорезистентности, нарушения метаболизма глюкозы, гиперкоагуляции и эндотелиальной дисфункции, обуславливающих более драматический сердечно-сосудистый прогноз у данной категории больных. Статины, обладающие плеiotропными эффектами, особенно в малых концентрациях, могут рассматриваться как эффективные инструменты для модуляции функциональной активности адипоцитов и управления риском развития болезней системы кровообращения в сочетании с коморбидностью.

**Перспективы дальнейшей разработки темы** диссертационного исследования имеют важное научно-практическое значение в понимании патогенеза ИБС и включают в себя изучение экспрессии других адипокинов (резистина, ФНО- $\alpha$ , ИЛ-10) при этом заболевании, а также эффектов воздействия таких препаратов, как аторвастатин и метформин.

## ВЫВОДЫ

1. У пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца повышена экспрессия генов *LEP*, *IL6* и снижена экспрессия гена *ADIPOQ* в адипоцитах эпикардиальной и периваскулярной локализации по сравнению с пациентами с пороками сердца.

2. Секреция лептина и интерлейкина-6 эпикардиальными и периваскулярными адипоцитами у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца выше, чем у больных с пороками сердца. Напротив, для адипоцитов подкожной жировой клетчатки пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца установлен низкий уровень секреции интерлейкина-6 и высокий уровень секреции лептина.

3. У пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца повышение экспрессии генов *LEP* и *IL6* в периваскулярных адипоцитах и экспрессии гена *ADIPOQ* в эпикардиальных адипоцитах ассоциировано с женским полом. Снижение экспрессии гена *ADIPOQ* в эпикардиальных адипоцитах и повышение экспрессии генов *LEP* и *IL6* в эпикардиальных и периваскулярных адипоцитах ассоциировано с возрастом 50–59 лет. Дислипидемия и длительный (более 20 лет) стаж артериальной гипертензии ассоциированы со снижением экспрессии гена *ADIPOQ* в периваскулярных адипоцитах. У курильщиков, напротив, установлено увеличение экспрессии гена *ADIPOQ* во всех типах жировой ткани и *LEP* в эпикардиальной и подкожной жировой ткани.

4. Умеренное поражение коронарного русла (<22 баллов по SYNTAX Score) характеризуется максимальным уровнем экспрессии гена *ADIPOQ* и минимальным уровнем экспрессии генов *LEP* и *IL6* в адипоцитах эпикардиальной и периваскулярной локализации по сравнению с тяжелым и крайне тяжелым поражением сосудов сердца. Увеличение степени атеросклеротического

поражения коронарных артерий ( $\geq 22$  баллов по SYNTAX Score) ассоциировано с двукратным повышением уровня мРНК гена *LEP* в адипоцитах эпикардиальной жировой ткани и мРНК гена *IL6* в адипоцитах эпикардиальной и периваскулярной жировой ткани.

5. Розувастатин в концентрации 1 мкмоль/л *in vitro* вызывает увеличение экспрессии генов *ADIPOQ* и его секреции, снижает экспрессию гена *IL6* и его секрецию эпикардиальными и периваскулярными адипоцитами при ишемической болезни сердца, а также повышает экспрессию *LEP* и его секрецию в эпикардиальной жировой ткани. В концентрации 5 мкмоль/л розувастатин, напротив, повышает уровень мРНК гена *IL6* и секрецию интерлейкина-6 в эпикардиальных адипоцитах, экспрессию *ADIPOQ* и секрецию адипонектина в периваскулярных адипоцитах.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

АГ – артериальная гипертензия

АД – артериальное давление

АКШ – аортокоронарное шунтирование

АТ II – ангиотензин II

ВЖТ – висцеральная жировая ткань

ВО – висцеральное ожирение

ГМК – гладкомышечные клетки

ГСПГ – глобулин, связывающий половые гормоны

ДИ – доверительный интервал

ДМСО – диметилсульфоксид

ЖТ – жировая ткань

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИЛ – интерлейкин

ИМ – инфаркт миокарда

ИМТ – индекс массы тела

ИР – инсулинорезистентность

КА – коронарные артерии

КАГ – коронароангиография

КДЛФ – каноническая линейная дискриминантная функция

кДНК – комплиментарная дезоксирибонуклеиновая кислота

КР – коронарное русло

КТ – компьютерная томография

КШ – коронарное шунтирование

ЛЖ – левый желудочек

ЛПЛ – липопротеинлипаза

ОКС – острый коронарный синдром

ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения

ОХС – общий холестерол

ОШ – отношение шансов

ПВЖТ – периваскулярная жировая ткань

ПЖ – правый желудочек

ПЖТ – подкожная жировая ткань

ПЦР – полимеразная цепная реакция

СД2 – сахарный диабет второго типа

СЖК – свободные жирные кислоты

СН – сердечная недостаточность

СРБ – С-реактивный белок

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

ССС – сердечно-сосудистая система

ФНО- $\alpha$  – фактор некроза опухоли  $\alpha$

ХС-ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности

ХС-ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности

ХС-ЛПОНП – холестерин липопротеинов очень низкой плотности

ХСН – хроническая сердечная недостаточность

ЦНС – центральной нервной системе

ЭЖТ – эпикардальная жировая ткань

ЭхоКГ – эхокардиография

ADIPOQ – ген, кодирующий адипонектин

AdipoR – рецептор адипонектина

ADRF – адипоцитарный фактор релаксации

СIDE-A – cell death activator (активатор гибели клеток)

СРТ1В – carnitine palmitoyltransferase1B (карнитин-пальмитоилтрансфераза 1В)

eNOS – эндотелиальная синтаза оксида азота

GLUT4 – транспортер глюкозы 4

IL-6 – ген, кодирующий интерлейкин 6

JAК – Januskinase

LEP – ген, кодирующий лептин

MCP-1 – моноцитарный хемотаксический белок-1

ObR – рецептор лептина

PAI-I – ингибитор активатора плазминогена

PPAR $\gamma$  – рецептор активируемый пролифератором пероксисом  $\gamma$

STAT – signal transducers and activators of transcription

TGF- $\beta$  – трансформирующий фактор роста  $\beta$

UCP-1 – uncoupling protein 1 (разобщающий белок 1)

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адипокиновый и цитокиновый профили эпикардиальной и подкожной жировой ткани у пациентов с ишемической болезнью сердца / О. В. Груздева, О. Е. Акбашева, Ю. А. Дылева и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2017. – Т. 63, № 5. – С. 560–563.
2. Адипокино-цитокиновый профиль адипоцитов эпикардиальной жировой ткани при ишемической болезни сердца на фоне висцерального ожирения / О. В. Груздева, Д. А. Бородкина, О. Е. Акбашева и др. // Ожирение и метаболизм. – 2017. – Т. 14, № 4. – С. 38–48.
3. Баланова, Ю. А. Факторы риска неинфекционных заболеваний / Ю. А. Баланова, А. В. Концевая, С. А. Шальнова и др. // Профилактическая медицина. – 2014. – Т. 17, № 4. – С. 42–52.
4. Бокерия, Л. А. Российские клинические рекомендации. Коронарное шунтирование больных ишемической болезнью сердца: реабилитация и вторичная профилактика / Л. А. Бокерия, Д. М. Аронов // КардиоСоматика. – 2016. – Т. 7, № (3-4). – С. 5–71.
5. Взаимосвязь толщины эпикардиальной и периваскулярной жировой ткани и адипокиново-цитокинового профиля у пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от наличия висцерального ожирения / О. В. Груздева, Д. А. Бородкина, О. Е. Акбашева и др. // Доктор.Ру. – 2018. – № 8 (152). – С. 12–19.
6. Висцеральное ожирение как глобальный фактор сердечно-сосудистого риска / Г. А. Чумакова, Т. Ю. Кузнецова, М. А. Дружилов и др. // Российский кардиологический журнал. – 2018. – № 5. – С. 7–14.
7. Вишневский, А. Смертность от болезней системы кровообращения и продолжительность жизни в России / А. Вишневский, Е. Андреев, С. Тимонин // Демографическое обозрение. – 2016. – Т. 3, № 1. – С. 6–34.
8. Диагностика и лечение хронической ишемической болезни сердца. Клинические рекомендации. – Москва, 2013. – 69 с.

9. Ишемическая болезнь сердца и факторы риска у населения пожилого возраста / А. Э. Имаева, Е. М. Туаева, С. А. Шальнова и др. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2016. – Т. 15, № 2. – С. 93–99.
10. Карпов, Р. С. Атеросклероз: патогенез, клиника, функциональная диагностика, лечение / Р. С. Карпов, В. А. Дудко. – Томск: STT, 2014. – 672 с.
11. Коморбидная патология в клинической практике. Алгоритмы диагностики и лечения / Р. Г. Оганов, В. Симаненков, И. Г. Бакулин и др. // Кардиоваскулярная Терапия и Профилактика. – 2019. – Т. 18, № 1. – С. 5–66.
12. Лептинорезистентность, нерешенные вопросы диагностики / Д. А. Бородкина, О. В. Груздева, О. Е. Акбашева и др. // Проблемы эндокринологии. – 2018. – Т. 64, № 1. – С. 62–66.
13. Локальные жировые депо как фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний / Г. А. Чумакова, Н. Г. Веселовская, Н. А. Козаренко и др. // Артериальная гипертензия. – 2010. – Т. 16, № 5. – С. 441–448.
14. Нозологическая структура смертности от болезней системы кровообращения в 2006 и 2013 годах / И. В. Самородская, Н. В. Кондрикова, Я. В. Казачек и др. // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. – 2015. – № 4. – С. 67–72.
15. Особенности действия статинов при лечении пациентов с инфарктом миокарда / О. Л. Барбараш, О. В. Груздева, О. Е. Акбашева и др. // Доктор.Ру. – 2014. – № 4 (92). – С. 18–24.
16. Полонская, Я. В. Связь гормонов жировой ткани с липидным и углеводным обменом у мужчин с коронарным атеросклерозом / Я. В. Полонская, Е. В. Каштанова, Е. М. Стахнева и др. // Атеросклероз и дислипидемии. – 2015. – № 4. – С. 46–51.
17. Распределение жировых отложений: разгадка кажущегося парадокса ожирения в кардиологии? / Д. А. Бородкина, О. В. Груздева, Л. В. Квиткова и др. // Ожирение и метаболизм. – 2017. – Т. 14, № 2. – С. 3–8.

18. Романцова, Т. И. Периваскулярная жировая ткань: роль в патогенезе ожирения, сахарного диабета 2 типа и сердечнососудистой патологии / Т. И. Романцова, А. В. Овсянникова // Ожирение и метаболизм. – 2015. – Т. 12, № 4. – С. 5–13.
19. Сочетанные сердечно-сосудистые заболевания и антигипертензивное лечение у больных артериальной гипертонией в амбулаторно-поликлинической практике (по данным Регистра РЕКВАЗА) / М. М. Лукьянов, С. А. Бойцов, С. С. Якушин и др. // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2016. – Т. 12, № 1. – С. 4–15.
20. Шварц, В. Я. Воспаление жировой ткани. Часть 6. Действие медикаментозных средств / В. Я. Шварц // Проблемы эндокринологии. – 2012. – Т. 58, № 1. – С. 67–73.
21. Экспрессия адипонектина в адипоцитах локальных жировых депо у пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от степени поражения коронарного русла / Е. В. Белик, О. В. Груздева, О. Е. Акбашева и др. // Терапевтический архив. – 2020. – Т. 92, № 4. – С. 23–29.
22. Экспрессия адипонектина и ИЛ-6 локальными жировыми депо сердца: взаимосвязь с основными факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний / Е. В. Белик, Ю. А. Дылева, Д. А. Бородкина и др. // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. – 2020. – Т. 9, № S1. – С. 10.
23. Экспрессия гена адипонектина в эпикардимальной и подкожной жировой ткани при ишемической болезни сердца / И. А. Побожева, Н. Д. Разгильдина, Е. А. Полякова и др. // Кардиология. – 2020. – Т. 60, № 4. – С. 62–69.
24. Экспрессия гена и содержание адипонектина в жировой ткани у пациентов с ишемической болезнью сердца / Ю. А. Дылева, О. В. Груздева, Е. В. Белик и др. // Биомедицинская химия. – 2019. – Т. 65, № 3. – С. 239–244.
25. Экспрессия гена лептина в эпикардимальной и подкожной жировой ткани у больных ишемической болезнью сердца / Е. А. Полякова, Д. А. Колодина, В. В. Мирошникова и др. // Трансляционная медицина. – 2019. – Т. 6, № 3. – С. 25–35.
26. 11 $\beta$ -HSD1 reduces metabolic efficacy and adiponectin synthesis in hypertrophic adipocytes / E. H. Koh, A. Kim, H. Kim et al. // J. Endocrinol. – 2015. – Vol. 225, № 3. – P. 147–158.

27. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes / P. E. Scherer, S. Williams, M. Fogliano et al. // *J. Biol. Chem.* – 1995. – Vol. 270, № 45. – P. 26746–26749.
28. ACC/AHA 2007 guidelines for the management of patients with unstable angina/non ST-elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 2002 Guidelines for the Management of Patients With Unstable Angina/Non ST-Elevation Myocardial Infarction): developed in collaboration with the American College of Emergency Physicians, the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and the Society of Thoracic Surgeons: endorsed by the American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation and the Society for Academic Emergency Medicine / J. L. Anderson, C. D. Adams, E. M. Antman et al. // *Circulation.* – 2007. – Vol. 116, № 7. – P. e148–e304.
29. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes / J. Vandesompele, K. De Preter, F. Pattyn et al. // *Genome Biol.* – 2002. – Vol. 3, № 7. – P. 0034.
30. Achari, A. E. Adiponectin, a Therapeutic Target for Obesity, Diabetes, and Endothelial Dysfunction / A. E. Achari, S. K. Jain // *Int. J. Mol. Sci.* – 2017. – Vol. 18, № 6. – P. 1321.
31. Adipogenesis and epicardial adipose tissue: a novel fate of the epicardium induced by mesenchymal transformation and PPAR $\gamma$  activation / Y. Yamaguchi, S. Cavallero, M. Patterson et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci U S A.* – 2015. – Vol. 112 № 7. – P. 2070–2075.
32. Adipogenic signaling in rat white adipose tissue: modulation by aging and calorie restriction / M. Zhu, G. D. Lee, L. Ding et al. // *Exp. Gerontol.* – 2007. – Vol. 42, № 8. – P. 733–744.
33. Adipokines and severity and progression of coronary artery calcium: Findings from the Rancho Bernardo Study / B. A. Larsen, G. A. Laughlin, K. Cummins et al. // *Atherosclerosis.* – 2017. – Vol. 265. – P. 1–6.

34. Adiponectin and Cardiovascular Risk. From Pathophysiology to Clinic: Focus on Children and Adolescents / A. Orlando, E. Nava, M. Giussani et al. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20, № 13. – 3228.
35. Adiponectin and Inflammation in Health and Disease: An Update / A. G. Geagea, S. Mallat, F. Charbel et al. // *Open Med. J.* – 2018. – Vol. 5, № 1. – P. 20–32.
36. Adiponectin and its receptors are involved in hypertensive vascular injury / R. Guo, M. Han, J. Song et al. // *Mol. Med. Rep.* – 2018. – Vol. 17, № 1. – P. 209–215.
37. Adiponectin as a link between type 2 diabetes and vascular NADPH oxidase activity in the human arterial wall: the regulatory role of perivascular adipose tissue / A. S. Antonopoulos, M. Margaritis, P. Coutinho et al. // *Diabetes.* – 2015. – Vol. 64, № 6. – P. 2207–2219.
38. Adiponectin cardioprotection after myocardial ischemia/reperfusion involves the reduction of oxidative/nitrative stress / L. Tao, E. Gao, X. Jiao et al. // *Circulation.* – 2007. – Vol. 115, № 11. – P. 1408–1416.
39. Adiponectin downregulates its own production and the expression of its AdipoR2 receptor in transgenic mice / I. B. Bauche, S. A. E. Mkaem, R. Rezsöházy et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2006. – Vol. 345, № 4. – P. 1414–1424.
40. Adiponectin/adiponectin receptor in disease and aging / M. Iwabu, M. Okada-Iwabu, T. Yamauchi et al. // *NPJ Aging. Mech. Dis.* – 2015. – Vol. 1. – P. 15013.
41. Adiponectin/AdipoR Research and Its Implications for Lifestyle-Related Diseases / I. Masato, O.-I. Miki, Y. Toshimasa et al. // *Fron. Cardiovas. Med.* – 2019. – Vol. 6. – P. 116.
42. Adipose tissue gene expression of adiponectin, tumor necrosis factor alpha and leptin in metabolic syndrome patients with coronary artery disease / S. Gormez, A. Demirkan, F. Atalar et al. // *Inter. Med.* – 2011. – Vol. 50, № 8. – P. 805–910.
43. Adipose tissue: an endocrine organ playing a role in metabolic regulation / A. Booth, A. Magnuson, J. Fouts et al. // *Horm. Mol. Biol. Clin. Investig.* – 2016. – Vol. 26, № 1. – P. 25–42.
44. Age and sex mediated changes in epicardial fat adipokines / J. Fei, C. Cook, E. Blough et al. // *Atherosclerosis.* – 2010. – Vol. 212, № 2. – P. 488–494.

45. Age-Associated Increase in Cytokine Production During Systemic Inflammation—II: The Role of IL-1 $\beta$  in Age-Dependent IL-6 Upregulation in Adipose Tissue / M. E. Starr, M. Saito, B. M. Evers et al. // *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* – 2015. – Vol. 70, 12. – P. 1508–1515.
46. Ahmadiéh, S. Potential role of perivascular adipose tissue in modulating atherosclerosis / S. Ahmadiéh, H. W. Kim, N. L. Weintraub // *Clin. Sci. (Lond)*. – 2020. – Vol. 134, № 1. – P. 3–13.
47. Akoumianakis, I. The interplay between adipose tissue and the cardiovascular system: is fat always bad? / I. Akoumianakis, C. Antoniades // *Cardiovasc. Res.* – 2017. – Vol. 113, № 9. – P. 999–1008.
48. Alfarisi, H. A. H. Basic pathogenic mechanisms of atherosclerosis / H. A. H. Alfarisi, Z. B. H. Mohamed, M. B. Ibrahim // *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences.* – 2020. – Vol. 7, № 1. – P. 116–125.
49. Androgens and the regulation of adiposity and body fat distribution in humans / A. Tchernof, D. Brochu, I. Maltais-Payette et al. // *Compr. Physiol.* – 2018. – Vol. 8, № 4. – P. 1253–1290.
50. Apoptosis, mastocytosis, and diminished adipocytokine gene expression accompany reduced epididymal fat mass in long-standing diet-induced obese mice / M. M. Altintas, M. A. Rossetti, B. Nayer et al. // *Lipids Health Dis.* – 2011. – Vol. 10. – P. 198.
51. Arai, Y. Adipokines and Aging: Findings From Centenarians and the Very Old / Y. Arai, K. Kamide, N. Hirose // *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. – 2019. – Vol. 10. – P. 142.
52. Association between cigarette smoking, metabolic syndrome, and carotid arteriosclerosis in Japanese individuals / N. Ishizaka, Y. Ishizaka, E. Toda et al. // *Atherosclerosis.* – 2005. – Vol. 181, № 2. – P. 381–388.
53. Association between obesity indices and insulin resistance among healthy Korean adolescents: the JS high school study / S. M. Lim, D. P. Choi, Y. Rhee et al. // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10, № 5. – P. e0125238.

54. Association between plasma adiponectin and risk of myocardial infarction in Asian Indian patient with diabetes / A. Narayan, S. Kulkarni, R. Kothari et al. // BJMP. – 2014. – Vol. 7, № 4. – P. a729.
55. Atorvastatin reduces cardiac and adipose tissue inflammation in rats with metabolic syndrome / Y. Yamada, S. Takeuchi, M. Yoneda et al. // Int. J. Cardiol. – 2017. – Vol. 240. – P. 332–338.
56. Atorvastatin treatment modulates the interaction between leptin and adiponectin, and the clinical parameters in patients with type II diabetes / S. I. Al-Azzam, A. M. Alkhateeb, K. H. Alzoubi et al. // Exp. Ther. Med. – 2013. – Vol. 6, № 6. – P. 1565–1569.
57. Barrios-Correa, A. A. Leptin Signaling in the Control of Metabolism and Appetite: Lessons from Animal Models / A. A. Barrios-Correa, J. A. Estrada, I. Contreras // J. Mol. Neurosci. – 2018. – Vol. 66, № 3. – P. 390–402.
58. Bays, H. Adiposopathy, “Sick Fat,” Ockham’s Razor, and Resolution of the Obesity Paradox / H. Bays // Curr. Atheroscler. Rep. – 2014. – Vol. 16, № 5. – P. 409.
59. BMI, body fat mass and plasma leptin level in relation to cardiovascular diseases risk factors among adolescents in Taitung / Y. K. Wu, N. F. Chu, Y. H. Huang et al. // Obes. Res. Clin. Pract. – 2016. – Vol. 10, № 4. – P. 432–441.
60. Brown adipose tissue as a secretory organ / F. Villarroya, R. Cereijo, J. Villarroya et al. // Nat. Rev. Endocrinol. – 2017. – Vol. 13, № 1. – P. 26–35.
61. Campbell, S. C. Smoking and smoking cessation – the relationship between cardiovascular disease and lipoprotein metabolism: a review / S. C. Campbell, R. J. Moffatt, B. A. Stamford // Atherosclerosis. – 2008. – Vol. 201, № 2. – P. 225–235.
62. Cardiac Computed Tomography-Derived Epicardial Fat Volume and Attenuation Independently Distinguish Patients with and without Myocardial Infarction / A. A. Mahabadi, B. Balcer, I. Dykun et al. // PLoS One. – 2017. – Vol. 12, № 8. – P. e0183514.
63. Cardiovascular consequences of metabolic syndrome / J. D. Tune, A. G. Goodwill, D. J. Sassoon et al. // Transl. Res. – 2017. – Vol. 183. – P. 57–70.

64. Carswell, K. A. Culture of Isolated Human Adipocytes and Isolated Adipose Tissue / K. A. Carswell, M. Lee, S. K. Fried // *Methods Mol. Biol.* – 2012. – Vol. 806. – P. 203–214.
65. Chait, A. Adipose Tissue Distribution, Inflammation and Its Metabolic Consequences, Including Diabetes and Cardiovascular Disease / A. Chait, L. J. den Hartigh // *Front. Cardiovas. Med.* – 2020. – Vol. 7. – P. 22.
66. Chang, L. Perivascular Adipose Tissue Regulates Vascular Function by Targeting Vascular Smooth Muscle Cells / L. Chang, M. T. Garcia-Barrio, Y. E. Chen // *Arterioscler. Thromb Vasc. Biol.* – 2020. – Vol. 40, № 5. – P. 1094–1109.
67. Chhabra, L. Cardiac adipose tissue: Distinction between epicardial and pericardial fat remains important! / L. Chhabra, N.G. Kowlgi // *Int. J. Cardiol.* – 2015. – Vol. 201. – P. 274–275.
68. Cigarette smoking may reduce plasma leptin concentration via catecholamines / J. E. Reseland, H. H. Mundal, K. Hollung et al. // *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* – 2005. – Vol. 73, № 1. – P. 43-49.
69. Comparison of pitavastatin with atorvastatin in increasing HDL-cholesterol and adiponectin in patients with dyslipidemia and coronary artery disease: The COMPACT-CAD study / K. Kurogi, S. Sugiyama, K. Sakamoto et al. // *J. Cardiol.* – 2013. – Vol. 62, № 2. – P. 87–94.
70. Comparison of the effects of short-term hypolipidaemic treatment on plasma adipokine levels in men and women with isolated hypercholesterolaemia / R. Krysiak, W. Żmuda, B. Marek et al. // *Endokrynol. Pol.* – 2015. – Vol. 66, № 2. – P. 114–120.
71. Correlation between adiponectin, chemerin, vascular endothelial growth factor and epicardial fat volume in patients with coronary artery disease / Q. Wu, Y. Chen, S. Chen et al. // *Exp. Ther. Med.* – 2020. – Vol. 19, № 2. – P. 1095–1102.
72. Decreased secretion of adiponectin through its intracellular accumulation in adipose tissue during tobacco smoke exposure / M. Li, , C. Li, Y. Liu et al. // *Nutr. Metab.* – 2015. – Vol. 12. – P. 15.

73. Detecting human coronary inflammation by imaging perivascular fat / A. S. Antonopoulos, F. Sanna, N. Sabharwal et al // *Sci. Transl. Med.* – 2017. – Vol. 9, № 398. – P. eaal2658.
74. Determinants of body fat distribution in humans may provide insight about obesity-related health risks / A. P. Frank, S. R. de Souza, B.F. Palmer et al. // *J. Lipid. Res.* – 2018. – Vol. 60, № 10. – P. 1710–1719.
75. Dias, S. Drugs Involved in Dyslipidemia and Obesity Treatment: Focus on Adipose Tissue / S. Dias, S. Paredes, L. Ribeiro // *Int. J. Endocrinol.* – 2018. – 2018. – 2637418.
76. Differences between perivascular adipose tissue surrounding the heart and the internal mammary artery: possible role for the leptin-inflammation-fibrosis-hypoxia axis / I. Drosos, G. Chalikias, M. Pavlaki et al. // *Clin. Res. Cardiol.* – 2016. – Vol. 105, № 11. – P. 887–900.
77. Different anti-contractile function and nitric oxide production of thoracic and abdominal perivascular adipose tissues / J. A. Victorio, M. T. Fontes, L. V. Rossoni et al. // *Front. Physiol.* – 2016. – Vol. 7. – P. 295.
78. Distinct adipocyte progenitor cells are associated with regional phenotypes of perivascular aortic fat in mice / K. V. Tran, T. Fitzgibbons, S. Y. Min et al. // *Mol. Metab.* – 2018. – Vol. 9. – P. 199–206.
79. Ectopic adiposopathy and association with atherosclerosis risk factors: The Uberlandia Heart Study / L. S. R. Borges, E. S. Resende, A. L. D. Diniz et al. // *Int. J. Cardiol.* – 2015. – Vol. 190. – P. 140–142.
80. Effect of adiponectin on macrophage reverse cholesterol transport in adiponectin-/- mice and its mechanism / Y. Wang., X. Wang, Y. Guo et al. // *Exp. Ther. Med.* – 2017. – Vol. 13, № 6. – P. 2757–2762.
81. Effect of adiposity on tissue-specific adiponectin secretion / J. Reneau, M. Goldblatt, J. Gould et al. // *PLoS ONE.* – 2018. – Vol. 13, № 6. – P.e0198889.
82. Effects of irbesartan on serum uric acid levels in patients with hypertension and diabetes / M. Nakamura, N. Sasai, I. Hisatome et al. // *Clin. Pharmacol.* – 2014. – Vol. 6. – P. 79–86.

83. Effects of pravastatin on serum adiponectin levels in female patients with type 2 diabetes mellitus / J. Kim, M. Lee, J. Shin et al. // *Atherosclerosis*. – 2013. – Vol. 227, № 2. – P. 355–359.
84. Effects of simvastatin therapy on circulating adipocytokines in patients with hypercholesterolemia / K. K. Koh, M. J. Quon, I. Sakuma et al. // *Int. J. Cardiol.* – 2011. – Vol. 146, № 3. – 434–437.
85. Effects of Simvastatin Treatment on Serum Adiponectin Concentrations in Patients With Dislipidemia / A. Moezzi, M. Parizadeh, S. Tavallaie et al. // *Iran Red. Crescent Med. J.* – 2014. – Vol. 16, № 8. – P. e6915.
86. Effects of Statins on Adipose Tissue Inflammation Their Inhibitory Effect on MyD88-Independent IRF3/IFN Pathway in Macrophages / M. Abe, M. Matsuda, H. Kobayashi et al. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2008. – Vol. 28, № 5. – P. 871–877.
87. Endothelial function and gene expression in perivascular adipose tissue from internal mammary arteries of obese patients with coronary artery disease / M. Cybularz, H. Langbein, B. Zatschler et al. // *Atheroscler. Suppl.* – 2017. – Vol. 30. – P. 149–158.
88. Enlarged adipocytes in subcutaneous adipose tissue associated to hyperandrogenism and visceral adipos / B. Echiburú, F. Pérez-Bravo, J. E. Galgani et al. // *Steroids*. – 2018. – Vol. 130. – P. 15–21.
89. Epicardial adipose tissue volume assessed by computed tomography and coronary artery disease: a systematic review and meta-analysis / J. Mancio, D. Azevedo, F. Saraiva et al. // *Eur. Heart J. Cardiovasc. Imaging*. – 2018. – Vol. 19, № 5. – P. 490–497.
90. Expression of adipokines and their receptors in adipose tissue of women with class 3 obesity with or without hypertension / L. J. Cano-Martínez, C. Marroquína, R. Mauricio et al. // *Gene*. – 2019. – Vol. 702. – P. 148–152.
91. Extension of coronary artery disease is associated with increased IL-6 and decreased adiponectin gene expression in epicardial adipose tissue / S. Eiras, E. Teijeira-Fernández, L. G. Shamagian et al. // *Cytokine*. – 2008. – Vol. 43, № 2. – P. 174–180.
92. Factors associated with early platelet activation in obese children / A. Gómez García, G. G. Núñez, M. E. Sandoval et al. // *Clin. Med. Res.* – 2014. – Vol. 12, № 1-2. – P. 21–26.

93. Fang, H. Adiponectin Regulation and Function / H. Fang, R. L. Judd // *Compr. Physiol.* – 2018. – Vol. 8, № 3. – P. 1031–1063.
94. Fasshauer, M. Adipokines in health and disease / M. Fasshauer, M. Bluher // *Trends Pharmacol. Sci.* – 2015. – Vol. 36, № 7. – P. 461–470.
95. Fat cell size and adipokine expression in relation to gender, depot, and metabolic risk factors in morbidly obese adolescents / Y. Zhang, J. L. Zitsman, J. Hou et al. // *Obesity (Silver Spring)*. – 2014. – Vol. 22, № 3. – P. 691–697.
96. Fischer-Posovszky, P. Endocrinology of adipose tissue - an update / P. Fischer-Posovszky, M. Wabitsch, Z. Hochberg // *Horm. Metab. Res.* – 2007. – Vol. 39, № 5. – P. 314–321.
97. Frangogiannis, N. G. The immune system and cardiac repair / N. G. Frangogiannis // *Pharmacol. Res.* – 2008. – Vol. 58, № 2. – P. 88–111.
98. Gender Differences in Adiponectin and Leptin Expression in Epicardial and Subcutaneous Adipose Tissue. Findings in Patients Undergoing Cardiac Surgery / M. J. Iglesias, S. Eiras, R. Piñeiro et al. // *Rev. Esp. Cardiol.* – 2006. – Vol. 59, № 12. – P. 1252–1260.
99. Gollasch, M. Adipose-Vascular Coupling and Potential Therapeutics / M. Gollasch // *Annu Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 2017. – Vol. 57. – P. 417–436.
100. Gómez-Hernández, A. Differential Role of Adipose Tissues in Obesity and Related Metabolic and Vascular Complications / A. Gómez-Hernández, N. Beneit, S. Díaz-Castroverde et al. // *Int. J. Endocrinol.* – 2016. – 2016. – P. 1216783.
101. Great overexpression of inflammatory cytokines, adrenomedullin, and natriuretic peptide receptor C in epicardial adipose tissue in coronary artery disease / I. Shibasaki, T. Nishikimi, Y. Mochizuki et al. // *Regul. Pept.* – 2010. – Vol. 165, № 2-3. – P. 210–217.
102. Haberka, M. Carotid extra-media thickness in obesity and metabolic syndrome: a novel index of perivascular adipose tissue: extra-media thickness in obesity and metabolic syndrome / M. Haberka, Z. Gasior // *Atherosclerosis.* – 2015. – Vol. 239, № 1. – P. 169–177.
103. Habitual dietary intake of fatty acids are associated with leptin gene expression in subcutaneous and visceral adipose tissue of patients without diabetes / H. Rostami, M.

- Samadi, E. Yuzbashian et al. // Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids. – 2017. – Vol. 126. – P. 49–54.
104. Heart disease and stroke statistics -- 2015 update: a report from the American Heart Association / D. Mozaffarian, E. J. Benjamin, A. S. Go et al. // Circulation. – 2015. – Vol. 131, № 24. – P. e535.
105. High local concentrations and effects on differentiation implicate interleukin-6 as a paracrine regulator / V. R. Sopasakis, M. Sandqvist, B. Gustafson et al. // Obes. Res. – 2004. – Vol. 12, № 3. – P. 454–460.
106. Hildebrand, S. PVAT and its relation to brown, beige, and white adipose tissue in development and function / S. Hildebrand, J. Stümer, A. Pfeifer // Front. Physiol. – 2018. – Vol. 9. – P. 70.
107. Hirata, Y. Epicardial Fat and Pericardial Fat Surrounding the Heart Have Different Characteristics / Y. Hirata, H. Yamada, M. Sata // Circ. J. – 2018 – Vol. 82, № 10. – P. 2475–2476.
108. Hoene, M. The role of interleukin-6 in insulin resistance, body fat distribution and energy balance / M. Hoene, C. Weigert // Obes. Rev. – 2008. – Vol. 9, № 1. – P. 20–29.
109. Human Breast Adipocytes Express Interleukin-6 (IL-6) and Its Receptor System: Increased IL-6 Production by  $\beta$ -Adrenergic Activation and Effects of IL-6 on Adipocyte Function / G. Páth, S. R. Bornstein, M. Gurniak et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2001. – Vol. 86, № 5. – P. 2281–2288.
110. Human coronary artery perivascular adipocytes overexpress genes responsible for regulating vascular morphology, inflammation, and hemostasis / T. K. Chatterjee, B. J. Aronow, W. S. Tong et al. // Physiol. Genomics. – 2013. – Vol. 45, № 16. – P. 697–709.
111. Human epicardial adipose tissue expresses a pathogenic profile of adipocytokines in patients with cardiovascular disease / A. R. Baker, N. F. Silva, D. W. Quinn et al. // Cardiovasc. Diabetol. – 2006. – Vol. 5. – P. 1
112. Human epicardial adipose tissue has a specific transcriptomic signature depending on its anatomical peri-atrial, periventricular, or peri-coronary location / B. Gaborit, N. Venteclef, P. Ancel et al. // Cardiovasc. Res. – 2015. – Vol. 108, № 1. – P. 62–73.

113. Human perivascular adipose tissue dysfunction as a cause of vascular disease: Focus on vascular tone and wall remodeling / G. Ozen, A. Daci, X. Norel et al. // *Eur. J. Pharmacol.* – 2015. – Vol. 766. – P. 16–24.
114. Iacobellis, G. Coronary Artery Disease and Epicardial Adipose Tissue / G. Iacobellis (eds) // *Epicardial Adipose Tissue. Contemporary Cardiology.* – Humana, Cham: 2020. – P. 77–90.
115. Iacobellis, G. Epicardial fat: a new cardiovascular therapeutic target / G. Iacobellis // *Curr. Opin. Pharmacol.* – 2016 – Vol. 27. – P. 13–18.
116. Iacobellis, G. Local and systemic effects of the multifaceted epicardial adipose tissue depot / G. Iacobellis // *Nat. Rev. Endocrinol.* – 2015. – Vol. 11, № 6. – P. 363–371.
117. IL-6 gene expression in adipose tissue of postmenopausal women and its association with metabolic risk factors / S. Tiwari, V. Gupta, B. N. Paul et al. // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2015. – Vol. 399. – P. 87–94.
118. Impact of abdominal and epicardial fat on the association between plasma adipocytokine levels and coronary atherosclerosis in nonobese patients / K. Harada, T. Amano, T. Kataoka et al. // *Atherosclerosis.* – 2014. – Vol. 237, № 2. – P. 671–676.
119. Impact of statin therapy on plasma adiponectin concentrations: A systematic review and meta-analysis of 43 randomized controlled trial arms / P. Chruściel, A. Sahebkar, M. Rembek-Wieliczko et al. // *Atherosclerosis.* – 2016. – Vol. 253. – P. 194–208.
120. Inflammatory activity of pericoronary adipose tissue may affect plaque composition in patients with acute coronary syndrome without persistent ST-segment elevation: preliminary results / T. Mazurek, J. Kochman, M. Kobylecka et al. // *Kardiol. Pol.* – 2014. – Vol. 72, № 5. – P. 410–416.
121. Infliximab therapy restores adiponectin expression in perivascular adipose tissue and improves endothelial nitric oxide-mediated vasodilation in mice with type 1 diabetes / C. Nacci, V. Leo, L. de Benedictis et al. // *Vascul. Pharmacol.* – 2016. – Vol. 87. – P. 83–91.
122. Interleukin-6 released from differentiating human beige adipocytes improves browning / E. Kristóf, Á. Klusóczki, R. Veress et al. // *Exp. Cell Res.* – 2019. – Vol. 377, № 1-2. – P. 47–55.

123. Judkins, M. P. Selective coronary arteriography: a percutaneous transfemoral technic / M. P. Judkins // *Radiology*. – 1967. – Vol. 89, № 5. – P. 815.
124. Kuryszko, J. Secretory function of adipose tissue / J. Kuryszko, P. Sławuta, G. Sapikowski // *Pol. J. Vet. Sci.* – 2016. – Vol. 19, № 2. – P. 441–446.
125. La Cava, A. Leptin in inflammation and autoimmunity / A. La Cava // *Cytokine*. – 2017. – Vol. 98. – P. 51–58.
126. Leptin as an important link between obesity and cardiovascular risk factors in men with acute myocardial infarction / N. Ekmen, A. Helvaci, M. Gunaldi et al. // *Indian Heart J.* – 2016. – Vol. 68, № 2. – P. 132–137.
127. Leptin as immune mediator: Interaction between neuroendocrine and immune system / C. Procaccini, C. La Rocca, F. Carbone et al. // *Dev. Comp. Immunol.* – 2017. – Vol. 66. – P. 120–129.
128. Leptin dose-dependently decreases atherosclerosis by attenuation of hypercholesterolemia and induction of adiponectin / A. Hoffmann, T. Ebert, N. Klöting et al. // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2016. – Vol. 1862, № 1. – P. 113–120.
129. Leptin treatment inhibits the progression of atherosclerosis by attenuating hypercholesterolemia in type 1 diabetic Ins2<sup>+/+</sup>Akita:apoE<sup>-/-</sup> mice / J. Y. Jun, Z. Ma, R. Pyla et al. // *Atherosclerosis*. – 2012. – Vol. 225, № 2. – P. 341–347.
130. Li, S. Leptin in normal physiology and leptin resistance / S. Li, X. Li // *Science Bulletin*. – 2016. – Vol. 61, № 19. – P. 1480–1488.
131. Lian, X. A clinical perspective: contribution of dysfunctional perivascular adipose tissue (PVAT) to cardiovascular risk / X. Lian, M. A. Gollasch // *Curr. Hypertens. Rep.* – 2016. – Vol. 18, № 11. – P. 82.
132. Low Expression of the GILZ May Contribute to Adipose Inflammation and Altered Adipokine Production in Human Obesity / M. J. Lee, R. Z. Yang, K. Karastergiou et al. // *J. Lipid. Res.* – 2016. – Vol. 57, № 7. – P. 256–263.
133. Lu, D. Gene expression profiling reveals heterogeneity of perivascular adipose tissues surrounding coronary and internal thoracic arteries / D. Lu, W. Wang, L. Xia et al. // *Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai)*. – 2017. – Vol. 49, № 12. – P. 1075–1082.

134. Mancio, J. Perivascular adipose tissue and coronary atherosclerosis / J. Mancio, E. K. Oikonomou, C. Antoniades // *Heart*. – 2018. – Vol. 104 № 20. – P. 1654–1662.
135. Mancuso, P. The Impact of Aging on Adipose Function and Adipokine Synthesis / P. Mancuso, B. Bouchard // *Front. Endocrinol.* – 2019. – Vol. 10. – P. 137.
136. Matloch, Z. The role of epicardial adipose tissue in heart disease / Z. Matloch, T. Kotulák, M. Haluzík // *Physiol. Res.* – 2016. – Vol. 65, № 1. – P. 23–32.
137. Mazurek, T. Pericoronary adipose tissue: a novel therapeutic target in obesity-related coronary atherosclerosis / T. Mazurek, G. Opolski // *J. Am. Coll. Nutr.* – 2015. – Vol. 34, № 3. – P. 244–254.
138. Mechanisms of Adiponectin-Associated Perivascular Function in Vascular Disease / S. B. Withers, C. E. Bussey, S. N. Saxton et al. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2014. – Vol. 34, № 8. – P. 1637–1642.
139. Menzaghi, C. The Adiponectin Paradox for All-Cause and Cardiovascular Mortality / C. Menzaghi, V. Trischitta // *Diabetes*. – 2018. – Vol. 67, № 1. – P. 12–22.
140. Modifications in routine protocol of RNA isolation can improve quality of RNA purified from adipocytes / M. Y. Sinitsky, V. G. Matveeva, M. A. Asanov et al. // *Anal. Biochem.* – 2018. – Vol. 543. – P. 128–131.
141. Musovic, S. Adrenergic stimulation of adiponectin secretion in visceral mouse adipocytes is blunted in high-fat diet induced obesity / S. Musovic, C. S. Olofsson // *Sci. Rep.* – 2019. – Vol. 9, № 1 – P. 10680.
142. Myocardial Fatty Acid Metabolism in Health and Disease / G. D. Lopaschuk, J. R. Ussher, C. D. Folmes et al. // *Physiol. Rev.* – 2010. – Vol. 90, № 1. – P. 207–258.
143. Nauli, A. M. Why Do Men Accumulate Abdominal Visceral Fat? / A. M. Nauli, S. Martin // *Front. Physiol.* – 2019. – Vol. 10. – P. 1486.
144. Nishizawa, H. Androgens Decrease Plasma Adiponectin, an Insulin-Sensitizing Adipocyte-Derived Protein / H. Nishizawa, I. Shimomura, K. Kishida // *Diabetes*. – 2002. – Vol. 51, № 9. – P. 2734–2741.
145. Novel atherogenic pathways from the differential transcriptome analysis of diabetic epicardial adipose tissue / V. Camarena, D. Sant, M. Mohseni et al. // *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* – 2017. – Vol. 27, № 8. – P. 739–750.

146. Numerical Measurement of Viable and Nonviable Adipocytes and Other Cellular Components in Aspirated Fat Tissue / H. Suga, D. Matsumoto, K. Inoue et al. // *Plast. Reconstr. Surg.* – 2008. – Vol. 122, № 1. – P. 103–114.
147. Obesity / P. González-Muniesa, M. Martínez-González, F. Hu et al. // *J. Nat. Rev. Dis. Primers.* – 2017. – Vol. 3. – P. 17034.
148. Obesity Is a Positive Modulator of IL-6R and IL-6 Expression in the Subcutaneous Adipose Tissue: Significance for Metabolic Inflammation / S. Sindhu, R. Thomas, P. Shihab et al. // *PLoS ONE.* – 2015. – Vol. 10, № 7. – P. e0133494.
149. Obesity, Fat Mass and Immune System: Role for Leptin / V. Francisco, J. Pino, V. Campos-Cabaleiro, et al. // *Front. Physiol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 640.
150. Parida, S. Adiponectin, Obesity, and Cancer: Clash of the Bigwigs in Health and Disease / S. Parida, S. Siddharth, D. Sharma // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20, № 10. – P. 2519.
151. Parsons, I. C. Effects of Rosiglitazone on Adiponectin Expression in 3T3-L1 Adipocytes at High Levels of Both Testosterone and Insulin In Vitro Culture. Some effects of testosterone on the rat ventral prostate / I. C. Parsons, F. R. Mangan, G. E. Neal // *Biochem. J.* – 1970. – Vol. 117, № 3. – P. 425–430.
152. Patel, V. B. Epicardial adipose tissue as a metabolic transducer: role in heart failure and coronary artery disease / V. B. Patel, S. Shah, S. Verma et al. // *Heart Fail. Rev.* – 2017. – Vol. 22, № 6. – P. 889–902.
153. Pedersen, B. K. Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6 / B. K. Pedersen, M. A. Febbraio // *Physiol. Rev.* – 2008. – Vol. 88, № 4. – P. 1379–1406.
154. Pfaffl, M. W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR / M. W. Pfaffl // *Nucleic Acids Res.* – 2001. – Vol. 29, № 9. – P. e45.
155. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue / Y. Zhang, R. Proenca, M. Maffei et al. // *Nature.* – 1994. – Vol. 372, № 6505. – P. 425–432.
156. Predictive value of telomere length on outcome following acute myocardial infarction: evidence for contrasting effects of vascular vs. blood oxidative stress / M. Margaritis, F. Sanna, G. Lazaros et al. // *Eur. Heart J.* – 2017. – Vol. 38, № 41. – P. 3094–3104.

157. Pro-inflammatory delipidizing cytokines reduce adiponectin secretion from human adipocytes without affecting adiponectin oligomerization / P.J. Simons, P.S. van den Pangaart, J.M. Aerts et al. // *J. Endocrinol.* – 2007. – Vol. 192, № 2. – P. 289–299.
158. Proinflammatory phenotype of perivascular adipocytes / A. Omar, T. K. Chatterjee, Y. Tang // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2014. – Vol. 34, № 8. – P. 1631–1636.
159. Regional differences in perivascular adipose tissue impacting vascular homeostasis / M. Gil-Ortega, B. Somoza, Y. Huang et al. // *Trends Endocrinol. Metab.* – 2015. – Vol. 26, № 7. – P. 367-375.
160. Regulation of adipose tissue inflammation by interleukin 6 / M. S. Han, A. White, R. J. Perry et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci U S A.* – 2020. – Vol. 117, № 6. – P. 2751–2760.
161. Relationship between TNF alpha, IL-6 and cardiovascular risk in patients with type 2 diabetes and metabolic syndrome / R. Dragut, E. Rusu, R. Nan et al. // *Atherosclerosis.* – 2014. – Vol. 235, № 2. – P. e239.
162. Role of Adipokines in Cardiovascular Disease / W. B. Lau, K. Ohashi, Y. Wang et al. // *Circ. J.* – 2017 – Vol. 81, № 7. – P. 920–928.
163. Role of leptin as a link between metabolism and the immune system / A. Pérez-Pérez, T. Vilariño-García, P. Fernández-Riejos et al. // *Cytokine Growth Factor Rev.* – 2017. – Vol. 35. – P. 71–84.
164. Rosuvastatin dose-dependently improves flow-mediated dilation, but reduces adiponectin levels and insulin sensitivity in hypercholesterolemic patients / K. Koh, P. Oh, I. Sakuma et al. // *Int. J. Cardiol.* – 2016. – Vol. 223. – P. 488–493.
165. Rosuvastatin improves insulin sensitivity in overweight rats induced by high fat diet. Role of SIRT1 in adipose tissue / M. Valero-Muñoz, B. Martín-Fernández, S. Ballesteros et al. // *Clin. Investig. Arterioscler.* – 2014. – Vol. 26, № 4. – P. 161–167.
166. Rosuvastatin protects against oxidized low-density lipoprotein-induced endothelial cell injury of atherosclerosis in vitro / J. Geng, H. Xu, X. Yu et al. // *Mol Med Rep.* – 2018. – Vol.19, № 1. – P. 432-440.
167. Rosuvastatin: Beyond the cholesterol-lowering effect / F. Cortese, M. Gesualdo, A. Cortese et al. // *Pharmacol. Res.* – 2016. – Vol. 107. – P. 1-18.

168. Sahebkar, A. Impact of statin therapy on plasma leptin concentrations: a systematic review and meta-analysis of randomized placebo-controlled trials / A. Sahebkar, R. Giua, C. Pedone // *Br. J. Clin. Pharmacol.* – 2016. – Vol. 82, № 6. – P. 1674–1684.
169. Sata, M. *Mouse Models of Vascular Diseases* / M. Sata, K. Tanaka, D. Fukuda. – Springer, Tokyo; 2016. – 296 p.
170. Schäfer, K. Perivascular adipose tissue: epiphenomenon or local risk factor? / K. Schäfer, I. Drosos, S. Konstantinides // *Int. J. Obes.* – 2017. – Vol. 41, № 9. – P. 1311–1323.
171. Schindler, T. H. Epicardial adipose tissue: A new cardiovascular risk marker? / T. H. Schindler // *Int. J. Cardiol.* – 2019. – Vol. 278. – P. 263–264.
172. Secretion of the adipocyte-specific secretory protein adiponectin critically depends on thiol-mediated protein retention / Z. Wang, T. Schraw, J. Kim et al. // *Mol. Cell. Biol.* – 2007. – Vol. 27, № 10. – P. 3716–3731.
173. Serum leptin levels are independently related to the incidence of ischemic heart disease in a prospective study of patients with type 2 diabetes / C. Vavruch, T. Länne, M. Fredrikson et al. // *Cardiovasc. Diabetol.* – 2015. – Vol. 14. – P. 62.
174. Sex differences in serum leptin and its relation to markers of cardiometabolic risk in middle-aged adults: evidence from a population-based study / M. A. de Castro, V. T. Baltar, D. M. Marchioni et al. // *Nutrition.* – 2015. – Vol. 31, № 3. – P. 491–497.
175. Sex Hormones and Their Relationship with Leptin and Cardiovascular Risk Factors in Pre and Post-Menopausal Nigerian Women with Metabolic Syndrome / U. Fabian, M. Charles-Davies, A. Fasanmade // *Cardiol. Angiol. : Int. J.* – 2015. – Vol. 3, № 3. – P. 149–156.
176. Sexual dimorphism in age-related changes in UCP2 and leptin gene expression in subcutaneous adipose tissue in humans / J. Perica's, P. Oliver, R. Guitard et al. // *J. Nutr. Biochem.* – 2001. – Vol. 12, № 8. – P. 444–449.
177. Sexual dimorphism in obesity-related genes in the epicardial fat during aging. / C. Kocher, M. Christiansen, S. Martin et al. // *J. Physiol. Biochem.* – 2017. – Vol. 73, № 2. – P. 215–224.

178. Sharma, M. Adiponectin / M. Sharma, J. A. McClung, N. G. Abraham et al. // *Translational Research in Coronary Artery Disease*. – 2016. – P. 33–42.
179. Shimokawa, I. Hormonal Influence and Modulation in Aging / I. Shimokawa, B. Yu // *Nutrition, Exercise and Epigenetics: Ageing Interventions. Healthy Ageing and Longevity*. Vol. 2. – Springer, Cham; 2015.
180. Shu, X. Effect of pravastatin treatment on circulating adiponectin: a meta-analysis of randomized controlled trials / X. Shu, L. Chi // *Drug Des. Devel. Ther.* – 2019. – Vol. 13. – P. 1633–1641.
181. Singh, S. Association of Leptin and Carotid Intima-Media Thickness in Overweight and Obese Individuals: A Cross-sectional Study / S. Singh, A. C. Lohakare // *J. Assoc Physicians India*. – 2020. – Vol. 68, № 8. – P. 19–23.
182. Statins decrease leptin expression in human white adipocytes / P. Singh, Y. Zhang, P. Sharma et al. // *Physiol. Rep.* – 2018. – Vol. 6, № 2. – P. 13566.
183. Statins reduce epicardial adipose tissue attenuation independent of lipid lowering: a potential pleiotropic effect / P. Raggi, V. Gadiyaram, C. Zhang et al. // *J. Am. Heart Assoc.* – 2019. – Vol. 8, № 12. – P. e013104.
184. Straub, L. G. Metabolic Messengers: Adiponectin / L. G. Straub, P. E. Scherer // *Nat. Metab.* – 2019. – Vol. 1, № 3. – P. 334–339.
185. Study of Serum Adiponectin, Insulin and Insulin Resistance in Offsprings of Diabetic Parents / S. Agrawal, P. Hisalkar, S. B. Petkar et al. // *People's Journal of Scientific Research*. – 2015. – Vol. 8, № 2. – P. 32–36.
186. Su, X. Adipokines as novel biomarkers of cardio-metabolic disorders / X. Su, D. Peng // *Clin. Chim. Acta.* – 2020. – Vol. 507. – P. 31–38.
187. Synergistic anti-inflammatory effect: simvastatin and pioglitazone reduce inflammatory markers of plasma and epicardial adipose tissue of coronary patients with metabolic syndrome / A. F. Grosso, S. F. de Oliveira, M. de L. Higuchi et al. // *Diabetol. Metab. Syndr.* – 2014. – Vol. 6, № 1. – P. 47.
188. Systemic expression of genes related to inflammation and lipid metabolism in patients with dyslipidemia, type 2 diabetes mellitus and chronic periodontitis / R. Nepomuceno,

- B. F. Vallerini, R. L. da Silva et al. // *Diabetes Metab. Syndr.* – 2019. – Vol. 13, № 4. – P. 2715–e2722.
189. Tanaka, K. Roles of Perivascular Adipose Tissue in the Pathogenesis of Atherosclerosis / K. Tanaka, M. Sata // *Front. Physiol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 3
190. Testosterone regulates 3T3-L1 pre-adipocyte differentiation and epididymal fat accumulation in mice through modulating macrophage polarization / X. Ren, X. Fu, X. Zhang et al. // *Biochem. Pharmacol.* – 2017. – Vol. 140. – P. 73–88.
191. The frailty syndrome: clinical measurements and basic underpinnings in humans and animals / M. J. Mohler, M. J. Fain, A. M. Wertheimer et al. // *Exp. Gerontol.* – 2014. – Vol. 54. – P. 6–13.
192. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments / S. A. Bustin, V. Benes, J. A. Garson et al. // *Clin. Chem.* – 2009. – Vol. 55, №.4. – P. 611–622.
193. The significance of measuring plasma leptin in acute myocardial infarction / S. Fujimaki, T. Kanda, K. Fujita et al. // *J. Int. Med. Res.* – 2001. – Vol. 29, № 2. – P. 13–108.
194. The value of noncoronary atherosclerosis for identifying coronary artery disease: results of the Leipzig LIFE Heart Study / A. Weissgerber, M. Scholz, A. Teren et al. // *Clin. Res. Cardiol.* – 2016. – Vol. 105, № 2. – P. 172–181.
195. Tobacco smoking and risk of 36 cardiovascular disease subtypes: fatal and non-fatal outcomes in a large prospective Australian study / E. Banks, G. Joshy, R. J. Korda et al. // *BMC Med.* – 2019. – Vol. 17, № 1. – P. 128.
196. Total adiponectin in overweight and obese subjects and its response to visceral fat loss / S. Gariballa, J. Alkaabi, J. Yasin et al. // *BMC Endocr. Disord.* – 2019. – Vol. 19, № 1. – P. 55.
197. Toth, P. Epicardial Adipose Tissue: From Cell to Clinic / P. Toth, G. Iacobellis, G. Iacobellis. – Humana Press, 2020. – 191 p.
198. Translating the biology of adipokines in atherosclerosis and cardiovascular diseases: Gaps and open questions / M. Ruscica, A. Baragetti, A. L. Catapano et al. // *Nutr. Metab. Cardiovas. Dis.* – 2017. – Vol. 27, № 5. – P. 379–395.

199. Trends in Obesity Prevalence Among Children and Adolescents in the United States, 1988-1994 Through 2013-2014 / C. L. Ogden, M. D. Carroll, H. G. Lawman et al. // JAMA. – 2016. – Vol. 315, № 21. – P. 2292–2299.
200. Tumor necrosis factor- $\alpha$  gene expression in epicardial adipose tissue is related to coronary atherosclerosis assessed by computed tomography / T. Kitagawa, H. Yamamoto, T. Hattori et al. // J. Atheroscler. Thromb. – 2018. – Vol. 25, № 3. – P. 269–280.
201. Visceral Adipose Tissue Accumulation and Residual Cardiovascular Risk / T. H. Le Jemtel, R. Samson, G. Milligan et al. // Curr. Hypertens. Rep. – 2018. – Vol. 20, № 9. – P. 77.
202. Visceral and ectopic fat, atherosclerosis, and cardiometabolic disease: a position statement / I. J. Neeland, R. Ross, J. P. Despr $\ddot{u}$ s et al. // Lancet Diabetes Endocrinol. – 2019. – Vol. 7, № 9. – P. 715–725.
203. Wang, H. Leptin in Thrombosis and Atherosclerosis / H. Wang, W. Luo, D. T. Eitzman // Curr. Pharm. Des. – 2014. – Vol. 20, № 4. – P. 641.
204. Wang, Y. Effects of Rosiglitazone on Adiponectin Expression in 3T3-L1 Adipocytes at High Levels of Both Testosterone and Insulin In Vitro Culture / Y. Wang, W. Zhu, H. Zhang // J. Reproduct. Contracept. – 2014. – Vol. 25, № 4. – P. 199–205.
205. Wang, Z. Cigarette Smoking and Adipose Tissue: The Emerging Role in Progression of Atherosclerosis / Z. Wang, D. Wang, Y. Wang // Mediators Inflamm. – 2017. – Vol. 2017. – P. 3102737.
206. Wauman, J. The Leptin Receptor Complex: Heavier Than Expected? / J. Wauman, L. Zabeau, J. Tavernier // Front. Endocrinol. – 2017. – Vol. 8. – P. 30.
207. Wueest, S. The role of adipocyte-specific IL-6-type cytokine signaling in FFA and leptin release / S. Wueest, D. Konrad // Adipocyte. – 2018. – Vol. 7, № 3. – P. 226–228.
208. Zhao, S.-P. Atorvastatin reduces interleukin-6 plasma concentration and adipocyte secretion of hypercholesterolemic rabbits / S.-P. Zhao, D.-Q. Zhang // Clin. Chim. Acta. – 2003. – Vol. 336. № 1-2. – P. 103–108.