Побожева И. А.[1,2], Разгильдина Н. Д.[1], Полякова Е. А.[2], Пантелеева А. А.[1,2], Беляева О. Д.[2], Нифонтов С. Е.[2], Галкина О. В.[2], Колодина Д. А.[2], Беркович О. А.[2], Баранова Е. И.[2], Пчелина С. Н.[1,2], Мирошникова В. В.[1]

[1] «Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова», НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия

[2] «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И. П. Павлова» Минздрава РФ, Санкт-Петербург, Россия

Экспрессия гена адипонектина в эпикардиальной и подкожной жировой ткани при ишемической болезни сердца

Цель Определить экспрессию гена адипонектина (*ADIPOQ*) и содержание высокомолекулярной формы адипонектина (ВМАН) в эпикардиальной (ЭЖТ) и подкожной жировой ткани (ПЖТ) у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС).

Материалы и методы Были исследованы парные образцы ЭЖТ и ПЖТ, сыворотки крови 74 пациентов с ИБС, перенесших операцию коронарного шунтирования, и 16 лиц без ИБС (группа сравнения). Уровень матричной РНК (мРНК) оценивали с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени. Для оценки уровня ВМАН в ЭЖТ и ПЖТ использовался метод вестерн-блоттинг. Концентрацию адипонектина в сыворотке крови измеряли методом иммуноферментного анализа. Всем пациентам проводили эхокардиографическое исследование с целью определения толщины ЭЖТ и коронароангиографию для определения тяжести коронарного атеросклероза.

Результаты Концентрация адипонектина в сыворотке крови была ниже у пациентов с ИБС, чем в группе сравнения ($p<0,001$). Уровень мРНК гена *ADIPOQ*, а также ВМАН в ПЖТ был ниже у пациентов с ИБС, чем в группе сравнения ($p=0,020$ и $p=0,003$ соответственно). Уровень ВМАН в ЭЖТ был ниже при толщине ЭЖТ более 8 мм по сравнению с этим показателем у пациентов с ИБС и толщиной ЭЖТ ≤8 мм ($p=0,034$).

Заключение Снижение концентрации антиатерогенного адипонектина сыворотки крови и снижение экспрессии гена *ADIPOQ* в ПЖТ (мРНК, ВМАН) ассоциированы с ИБС.

Ключевые слова Эпикардиальная жировая ткань; подкожная жировая ткань; экспрессия гена адипонектина; адипонектин; атеросклероз; ишемическая болезнь сердца

Для цитирования Pobozheva I. A., Razgildina N. D., Polyakova E. A., Panteleeva A. A., Belyaeva O. D., Nifontov S. E. et al. Epicardial and subcutenious adipose tissue adiponectin gene expression in coronary artery disease patients. Kardiologiia. 2020;60(4):62–69. [Russian: Побожева И. А., Разгильдина Н. Д., Полякова Е. А., Пантелеева А. А., Беляева О. Д., Нифонтов С. Е. и др. Экспрессия гена адипонектина в эпикардиальной и подкожной жировой ткани при ишемической болезни сердца. Кардиология. 2020;60(4):62–69]

Автор для переписки Побожева Ирина Александровна. E-mail: perhaps_to_be@mail.ru

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) – патологическое состояние, характеризующееся нарушением кровоснабжения миокарда, которое развивается на фоне гемодинамически значимого атеросклеротического поражения коронарных артерий.

К преобладающим типам жировой ткани млекопитающих относят белую и бурую жировую ткань. Большая часть жировой ткани человека представлена белой жировой тканью, которую, в свою очередь, делят на подкожную и висцеральную. Было показано, что региональное распределение белой жировой ткани является более сильным предиктором метаболических рисков для здоровья: накопление жира в висцеральной жировой ткани повышает риск развития сахарного диабета 2 типа и сердечно-сосудистых заболеваний [1]. Исследования последних лет показывают, что важную роль в развитии атеросклероза коронарных артерий и ИБС может играть такой тип висцеральной жировой ткани, как эпикардиальная (ЭЖТ) [1–5].

Согласно современным представлениям, жировая ткань, в частности ЭЖТ, является эндокринным органом, секретирующим гормоноподобные агенты – адипокины. Адипокины регулируют углеводный и липидный метаболизм, чувствительность тканей к инсулину, свертываемость крови и воспалительные реакции, при этом их действие может быть как системным, так и локальным. Исследование ЭЖТ представляет особый интерес вследствие ее анатомической близости к миокарду и коронарным артериям, а также потенциальной возможности оказывать местное воздействие на коронарное русло через паракринные механизмы [5–8].

ISSN 0022-9040. Кардиология. 2020;60(4). DOI: 10.18087/cardio.2020.4.n517

Адипонектин является одним из важнейших адипокинов, секретируемых жировой тканью. Этот адипокин регулирует энергетический гомеостаз, участвуя в метаболизме жирных кислот и глюкозы, и обладает противовоспалительным и антиатерогенным эффектами [9, 10]. Адипонектин крови уменьшает сосудистое воспаление и препятствует проатеросклеротическим процессам, то есть адгезии моноцитов, трансформации макрофагов в пенистые клетки, миграции и пролиферации гладкомышечных клеток [11]. Низкие концентрации адипонектина в плазме крови отмечаются при ожирении, сахарном диабете 2 типа, сердечно-сосудистых заболеваниях [12, 13].

Адипонектин циркулирует в крови в виде тримера, гексамера и мультимера. При этом мультимер, т. е. высокомолекулярный адипонектин (ВМАН), имеет наибольшую биологическую активность [14]. ВМАН стимулирует продукцию оксида азота II в клетках эндотелия, участвует в подавлении окислительного стресса и препятствует развитию воспаления. Низкий уровень ВМАН в плазме крови связан с инсулинорезистентностью и высоким риском развития сердечно-сосудистых заболеваний [15]. Установлено, что высокий уровень ВМАН и соотношение ВМАН/общий адипонектин связаны с меньшим риском развития ИБС [16].

Следует отметить, что в настоящее время остается неясным – какой тип жировой ткани организма человека отвечает за пул адипонектина крови. Исходя из этого, исследования, посвященные оценке экспрессии гена *ADIPOQ* в различных типах жировой ткани, являются актуальными.

Исследования экспрессии гена *ADIPOQ* в ЭЖТ при ожирении и сопутствующей сердечно-сосудистой патологии остаются единичными в связи с трудностями получения материала. В двух исследованиях было обнаружено снижение уровня матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК) гена *ADIPOQ* в ЭЖТ у лиц с метаболическим синдромом и ИБС [17, 18]. В исследовании G. Iacobellis с соавт. было установлено, что уровень общего адипонектина в ЭЖТ был ниже у пациентов с ИБС по сравнению с пациентами без ИБС [19]. Исследования уровня ВМАН как в ЭЖТ, так и в подкожной жировой ткани (ПЖТ) у пациентов с ИБС ранее не проводились.

В настоящем исследовании проведена оценка уровня мРНК гена *ADIPOQ* и ВМАН в парных образцах ЭЖТ и ПЖТ у пациентов с ИБС и пациентов без атеросклеротического поражения коронарных артерий (группа сравнения). Также у пациентов с ИБС изучены взаимосвязи измеряемых параметров с уровнем общего адипонектина в сыворотке крови, клиническими и эхокардиографическими (ЭхоКГ) характеристиками, а также выраженностью атеросклеротического поражения коронарных артерий.

Материалы и методы

Образцы ЭЖТ и ПЖТ, а также сыворотки периферической крови были получены от 74 пациентов с ИБС при выполнении операции коронарного шунтирования (35% женщин, 65% мужчин, средний возраст 61,8±8,5 год). В группу сравнения были включены 16 пациентов, оперированных по поводу клапанных пороков сердца, без клинических признаков ИБС и атеросклеротического поражения коронарных артерий (50% женщин и 50% мужчин, средний возраст 67,6±15,3 лет). Всем обследованным с целью подтверждения и оценки выраженности атеросклероза коронарных артерий или для доказательства отсутствия их атеросклеротического поражения была выполнена коронароангиография. Толщину ЭЖТ измеряли методом эхокардиографии. Эхокардиографическое исследование было выполнено на ультразвуковом сканере экспертного класса GE VIVID 7 Dimension. Основные ЭхоКГ показатели оценивали фазированным матричным секторным датчиком M4S. «Золотым» стандартом оценки толщины ЭЖТ является компьютерная томография сердца и магнитно-резонансная томография [20, 21]. В то же время эти исследования характеризуются трудоемкостью выполнения, необходимостью наличия специально обученного персонала, высокой стоимостью и, в случае компьютерной томографии, лучевой нагрузкой для пациента, что существенно ограничивает возможность их широкого применения в клинической практике для оценки выраженности эпикардиального ожирения [21]. Измерения ЭЖТ проводили в трех точках и оценивали толщину в миллиметрах: над верхушкой сердца, над свободной стенкой правого желудочка и в венечной борозде с дальнейшей оценкой среднего значения. Также у обследованных был проведен анализ показателей индекса массы тела и окружности талии. Все пациенты с ИБС получали терапию антиагрегантами, β-адреноблокаторами, ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента/сартанами и статинами в соответствии с отечественными и зарубежными рекомендациями [22, 23].

Полученные образцы тканей замораживали в жидком азоте и хранили при температуре –80°C до момента исследования. Образцы крови центрифугировали при 3 000 об./мин в течение 20 мин с целью получения сыворотки крови. Далее в отдельные стерильные микропробирки отбирались образцы сыворотки и помещались в морозильную камеру на хранение при температуре –80°C до проведения эксперимента.

Работа одобрена локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова Минздрава России. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Тотальная РНК была выделена из биоптатов ЭЖТ и ПЖТ с использованием набора для выделения РНК RNeasyMiniKit (Qiagen, США). Комплементарная дезоксирибонуклеиновая кислота (кДНК) была получена методом обратной транскрипции с использованием набора Revert Aid First Strand cDNA Synthesis Kit (Fermentas, США). Чистоту препарата РНК оценивали на спектрофотометре SmartSpecPlus (Biorad, США) по отношению поглощения при длинах волн 260 и 280 нм (критерий чистоты 2). Отсутствие деградации РНК было проверено с помощью электрофореза в 1% агарозном геле по соотношению интенсивности полос, соответствующих 28S и 18S рРНК (2:1 в случае отсутствия деградации).

Относительный уровень мРНК гена *ADIPOQ* в ЭЖТ и ПЖТ определяли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с флуоресцентными зондами TaqMan на приборе CFX96 (Biorad, США). Использовались разработанные в программе PrimerExpress праймеры и зонды, меченные различными флуорофорами («ДНК-синтез», Россия). Последовательности праймеров и зондов представлены в таблице 1.

Амплификацию проводили в 30 мкл смеси, содержащей 2,5 мМ MgCl2, 0,25 мМ каждого из dNTP, 0,2 мкМ каждого праймера и 0,4 мкМ зонда для гена *ADIPOQ*, 0,1 мкМ каждого праймера и зонда для референсных генов, 50 нг кДНК, 2,5 единицы активности TaqM полимеразы и 3 мкл соответствующего 10X ПЦР буфера (АлкорБио, Россия) в следующем температурно-временном режиме: 1 цикл – 95°C, 15 мин – предварительная денатурация; плавление 95°C – 10 сек., отжиг 58°C – 20 сек., синтез 72°C – 10 сек; 40 циклов. Для обеспечения достоверности и точности эксперимента все образцы измерены как минимум в трех повторах. Каждая плашка содержала контрольный образец, в качестве которого для всего цикла экспериментов использовалась пулированная кДНК жировой ткани, полученной от представителей группы сравнения, и отрицательный контроль (без матрицы) соответственно в трех повторах. Относительный уровень мРНК гена *ADIPOQ* рассчитывали с использованием метода относительных измерений ΔΔCt с модификацией для нескольких референсных генов и выражали в относительных единицах [24].

Уровень ВМАН в ЭЖТ и ПЖТ определяли методом вестерн-блот. Образцы жировой ткани лизировали в растворе (50 мМ Tris, pH 8,0, 150 мМ NaCl, 1% Triton X-100, 0,5% дезоксихолат натрия, 0,1% SDS), включающем ингибиторы протеаз (Roche, Швейцария). Количество общего белка определяли по методу Бредфорд на планшетном спектрофотометре BioRadxMark (США). Электрофорез выполнялся в условиях, необходимых для сохранения ВМАН: без добавления β-меркаптоэтанола в 4X буфер Лаемли (Biorad, США) и без кипячения образцов, чтобы избежать денатурации и распада комплексов с использованием камеры для вертикального электрофореза VE-2 (Helicon, Россия). В работе использовались первичные поликлональные антитела кролика к адипонектину (1:100; Almabion, Россия), β-актину (1:1000; NB600–503, NovusBiologicals, США) и вторичные антикроличьи антитела, конъюгированные с пероксидазой хрена (1:3000; ab6721, Abcam, Великобритания). Связанные с соответствующим белком на фрагментах мембраны вторичные антитела идентифицировали с использованием набора Amersham ECLTMPlusSystem (Amersham, Великобритания). Данные вестерн-блоттинга анализировали с помощью программы Image J (Версия 1.38a для Windows, http://rsb.info.nih.gov/ij/). Содержание ВМАН нормировали к содержанию β-актина. Полосы ВМАН визуализировали на уровне выше 250 кДа (рис. 1).

Концентрацию общего адипонектина в сыворотке крови измеряли методом иммуноферментного анализа с использованием наборов «Human Adiponectin ELISA» (BioVendor, Чехия) согласно инструкции производителя. Оптическая плотность оценивалась на планшетном спектрофотометре BioRad (США). Построение стандартной кривой проводили со стандартами из набора.

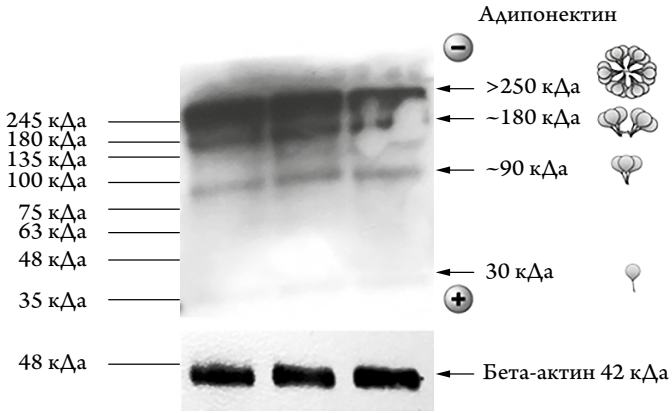
Статистическая обработка данных выполнялась с использованием программы SPSS 23.0. Соответствие данных нормальному распределению проверялось с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. В случае соответствия данных нормальному распределению (большинство

Таблица 1. Структура олигонуклеотидных праймеров и зондов

Ген	Прямой (F) и обратный (R) праймеры и TaqMan® зонды
ADIPOQ (целевой ген)	F: 5'- CCTGGTGAGAAGGGTGAGA - 3' R: 5'- GGTTTCACCGATGTCTCCCT - 3' 5' - (FAM) AGGAGATCCAGGTCTTATTGGT (BHQ1) - 3'
RPLPO (референсный ген)	F: 5'- GATCAGGGACATGTTGCTGG - 3' R: 5'- GACTTCACATGGGGCAATGG - 3' 5' - (ROX) CAATAAGGTGGCAGCTGCTGC (BHQ2) - 3'
ACTB (референсный ген)	F: 5'- CGTGCTGCTGACCGAGG - 3' R: 5'- ACAGCCTGGATAGCAACGTAC - 3' 5' - (HEX) CCAACCGCGAGAGGATGACCCAGAT (BHQ1) - 3'

ISSN 0022-9040. Кардиология. 2020;60(4). DOI: 10.18087/cardio.2020.4.n517

Рисунок 1. Пример вестерн-блота с обозначением форм адипонектина: мультимера, гексамера, тримера, мономера



Условия электрофореза: использовали 10% полиакриламидный гель, 1х трис-глициновый буфер, маркер молекулярного веса (ab116028, Abcam, Великобритания); температура +4° С.

клинических и биохимических характеристик пациентов) использовали t-критерий Стьюдента, в случае ненормального распределения – U-критерий Манна–Уитни. Результаты представлены, соответственно, как средние значения ± стандартное отклонение, или медиана (мин – макс). Для анализа корреляции между количественными характеристиками пользовались методом Спирмена. Критический уровень достоверности принимали равным 0,05.

Результаты

Характеристика обследуемых лиц представлена в таблице 2. Доля пациентов с множественным поражением коронарного русла среди пациентов с нормальным весом и пациентов с абдоминальным ожирением не различалась. Отсутствие значимых различий концентраций общего холестерина, холестерина липопротеинов низкой плотности и холестерина липопротеинов высокой плотности в сыворотке крови пациентов с ИБС и группы сравнения, по всей видимости, связано с применением пациентами с ИБС гиполипидемических препаратов.

Концентрация адипонектина в сыворотке крови, а также уровни экспрессии гена *ADIPOQ* и уровень ВМАН в ЭЖТ и ПЖТ в исследуемых группах представлены в таблице 3. Концентрация общего адипонектина в сыворотке крови у пациентов с ИБС была ниже, чем содержание общего адипонектина в сыворотке крови у лиц группы сравнения (p<0,001). Была выявлена отрицательная корреляция между концентрацией общего адипонектина в сыворотке крови и индексом массы тела среди всех обследованных (r=–0,419, p<0,01).

Уровень экспрессии гена *ADIPOQ* в ЭЖТ не отличался от уровня его экспрессии в ПЖТ (p=0,6), в то время как уровень ВМАН был выше в ЭЖТ, чем в ПЖТ (p<0,001). Уровень мРНК гена *ADIPOQ* и относительный уровень ВМАН в ПЖТ у пациентов с ИБС были ниже, чем в ПЖТ лиц группы сравнения (p=0,020 и p=0,003 соответственно) (табл. 3). Не выявлено статистически значимых различий в экспрессии гена *ADIPOQ*, а также в уровне ВМАН в ЭЖТ у лиц с ИБС и группы сравнения.

В подгруппах пациентов в зависимости от степени поражения коронарных артерий, а также в зависимости от наличия избыточного веса или ожирения, различий в концентрации общего адипонектина в сыворотке крови и содержания мРНК и ВМАН в ЭЖТ и ПЖТ не выявлено. Мы предположили, что содержание мРНК и ВМАН в ЭЖТ может зависеть от степени эпикардиального ожирения. Так как прямой взаимосвязи толщины ЭЖТ с измеряемыми параметрами в данном исследовании не обнаружено, а референсные значения толщины ЭЖТ не установ-

Таблица 2. Клинические и биохимические характеристики пациентов с ишемической болезнью сердца и группы сравнения

Показатель	Группа пациентов с ИБС, n=74	Группа сравнения, n=16	p
Возраст, лет	61,8±8,5	60,5±13,0	нз
Пол			
Мужчины	55	8	–
Женщины	19	8	–
ИМТ, кг/м^2	28,5±4,2	25,5±4,0	нз
ОТ, см	98,0±9,2	86,4±14,1	нз
Толщина ЭЖТ, мм	6,5±2,5	5,3±1,9	нз
Абдоминальное ожирение, N (%)	35 (47)	7 (43)	
Количество пораженных коронарных артерий			
1–2	27	0	–
3 и более	47	0	–
ОХС, ммоль/л	4,8±1,4	4,6±1,0	нз
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,2 (0,7-2,4)	1,1 (0,5-1,8)	нз
ХС ЛПНП, ммоль/л	2,6±1,4	2,8±0,5	нз
ТГ, ммоль/л	1,5 (0,4–5,1)	1,1(0,4–3,8)	0,048

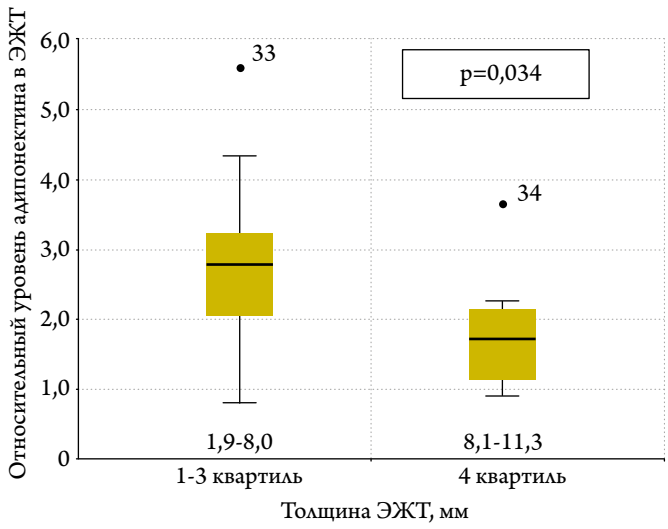
ИМТ – индекс массы тела, ОТ – обхват талии, ЭЖТ – эпикардиальная жировая ткань, ОХС – общий холестерин, ХС ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности, ХС ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности, ТГ – триглицериды, p – уровень статистической значимости, нз – не выявлено статистически значимых различий.

Таблица 3. Концентрация адипонектина в сыворотке крови, относительные уровни экспрессии гена *ADIPOQ* и относительные уровни высокомолекулярного адипонектина в исследуемых группах

Показатель	Пациенты с ИБС, медиана (мин-макс)	Группа сравнения, медиана (мин-макс)	p*
Концентрация адипонектина в сыворотке крови (нг/мл)	22,10 (6,00–54,00)	29,60 (7,00–79,00)	0,001
ЭЖТ			
мРНК *ADIPOQ*	0,31 (0,01–5,61)	0,16 (0,02–3,18)	нз
ВМАН	2,35 (0,80–5,61)	1,93 (0,75–4,34)	нз
ПЖТ			
мРНК *ADIPOQ*	0,27 (0,01–7,34)	0,74 (0,27–8,25)	0,020
ВМАН	0,77 (0,31–2,41)	1,10 (0,70–2,40)	0,003

ЭЖТ – эпикардиальная жировая ткань, ПЖТ – подкожная жировая ткань, ВМАН – относительный уровень высокомолекулярного адипонектина, p – уровень статистической значимости, нз – не выявлено статистически значимых различий, мРНК *ADIPOQ* – относительный уровень экспрессии матричной РНК гена *ADIPOQ*. * – U-критерий Манна–Уитни.

Рисунок 2. Относительный уровень высокомолекулярного адипонектина в эпикардиальной жировой ткани у обследованных пациентов в зависимости от толщины эпикардиальной жировой ткани



лены, нами проведен сравнительный анализ содержания мРНК и ВМАН в ЭЖТ на основании разделения на квартили по толщине ЭЖТ (1,9–4,4 мм – 1 квартиль, 4,5–8,0 мм –2–3 квартили, 8,1–11,3 мм – 4 квартиль). Было выявлено более низкое значение уровня ВМАН в ЭЖТ в подгруппе пациентов с толщиной ЭЖТ более 8 мм, чем у пациентов с толщиной ЭЖТ ≤8 мм (рис. 2).

Обсуждение

Настоящее исследование посвящено изучению особенностей экспрессии гена *ADIPOQ* и содержания биологически активной мультимерной формы адипонектина в ЭЖТ и ПЖТ при ИБС. Оценка относительного уровня ВМАН в парных образцах ЭЖТ и ПЖТ у пациентов с ИБС была проведена впервые.

Согласно результатам проспективного исследования T. Pischon с соавт., низкая концентрация адипонектина в плазме периферической крови ассоциирована с развитием ИБС и с более высоким риском инфаркта миокарда у мужчин [16]. Наше исследование показало, что концентрация общего адипонектина в сыворотке крови выше у представителей группы сравнения, то есть у обследованных без клинически значимого атеросклеротического поражения коронарных артерий, чем у пациентов с ИБС. С другой стороны, поскольку ВМАН считается биологически активной формой адипонектина [14], именно он может отвечать за антиатерогенный эффект адипонектина. Было показано, что низкий уровень ВМАН в сыворотке крови ассоциирован с такими факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний как курение, ожирение, и низкий уровень холестерина липопротеинов высокой плотности [25, 26]. Напротив, при повышении уровня ВМАН наблюдалось снижение частоты субклинического атеросклероза [27].

Нами показано, что у пациентов с ИБС относительный уровень ВМАН в ПЖТ, как и уровень мРНК гена *ADIPOQ* был ниже, чем в группе сравнения. Однако не было обнаружено корреляции между уровнем мРНК гена *ADIPOQ* и уровнем ВМАН в ПЖТ. Ранее в исследовании M. I. Jonas с соавт. был показан более низкий уровень экспрессии гена *ADIPOQ* в ПЖТ (мРНК, белок) у пациентов с ожирением по сравнению с этим показателем в группе сравнения [28]. Аналогичные данные о сниженной экспрессии гена *ADIPOQ* в ПЖТ у женщин с избыточной массой тела и ожирением по сравнению с экспрессией данного гена у женщин с нормальным весом получены нами и другими исследователями ранее [29, 30]. Сниженная экспрессия гена *ADIPOQ* в ПЖТ была также выявлена ранее у пациентов с диабетом [31]. В нашем исследовании не было выявлено различий в экспрессии гена *ADIPOQ* в зависимости от степени ожирения. Снижение экспрессии и содержания адипонектина в ПЖТ может быть ассоциировано с наличием ИБС вне зависимости от ожирения.

Нами не было получено статистически значимых различий в экспрессии гена *ADIPOQ* в ЭЖТ у лиц с ИБС

ISSN 0022-9040. Кардиология. 2020;60(4). DOI: 10.18087/cardio.2020.4.n517

и у обследованных контрольной группы без признаков коронарного атеросклероза. Данные об экспрессии гена *ADIPOQ* в ЭЖТ на фоне сердечно-сосудистой патологии носят противоречивый характер. Ранее было показано, что уровень мРНК гена *ADIPOQ* в ЭЖТ у пациентов с ИБС снижен, и значение этого показателя отрицательно коррелировало с увеличением числа артерий, пораженных атеросклерозом [32]. Кроме того, по данным литературы, ранее был выявлен более низкий уровень мРНК *ADIPOQ* в ЭЖТ у пациентов с ИБС и сахарным диабетом по сравнению со значением этого показателя в группе сравнения [17, 18, 31]. В нашем исследовании различий в концентрации общего адипонектина в сыворотке крови и уровне экспрессии гена *ADIPOQ* (мРНК, ВМАН) в ПЖТ и ЭЖТ в зависимости от степени поражения коронарных артерий выявлено не было. Аналогично полученным нами данным, ранее было показано, что уровень мРНК *ADIPOQ* в ЭЖТ не отличался в группе пациентов с ИБС в зависимости от степени поражения коронарных артерий [17].

Ранее нами и другими авторами было показано, что экспрессия гена *ADIPOQ* выше в ПЖТ, чем в висцеральной [30, 33]. ЭЖТ является разновидностью висцеральной жировой ткани и непосредственно прилегает к миокарду и коронарным артериям [5]. По данным нашего исследования, уровень мРНК гена *ADIPOQ* в ЭЖТ был сопоставим с таковым в ПЖТ, что согласуется с результатами исследования Y. Du с соавт., в котором также не было получено статистически значимых различий в экспрессии гена *ADIPOQ* между ЭЖТ и ПЖТ у объединенных групп [17]. В нашем исследовании выявлено большее содержание ВМАН в ЭЖТ по сравнению с ПЖТ. Учитывая, что адипокины ЭЖТ могут быть локально вовлечены в регуляцию воспалительных и атерогенных процессов в стенках коронарных артерий, адипонектин ЭЖТ оказывает местный противовоспалительный и сосудопротективный эффекты [32, 34, 35].

С другой стороны, содержание ВМАН в ЭЖТ у пациентов с ИБС статистически значимо не отличалось от группы сравнения. Отсутствие различий между исследуемыми группами может быть связано с тем, что толщина ЭЖТ у представителей контрольной группы была сопоставима с таковой у пациентов с ИБС. В то время как уровень мРНК гена *ADIPOQ* в ЭЖТ не коррелировал с толщиной ЭЖТ, нами выявлены низкие уровни ВМАН в ЭЖТ при значениях толщины ЭЖТ более 8 мм. Ряд данных указывает на существование корреляционной связи между развитием ИБС и толщиной ЭЖТ [36, 37]. Согласно данным мета-анализа, толщина ЭЖТ, установленная методом ЭхоКГ, выше у пациентов с ИБС по сравнению с пациентами без ИБС [38]. По данным нескольких исследований, толщина ЭЖТ >7 мм была связана с субклиническим атеросклерозом [39] и ИБС у женщин [40]. Также показано, что у пациентов с толщиной ЭЖТ >6 мм в пожилом возрасте возрастает риск развития ИБС вне зависимости от пола [41]. В исследовании C. Lu с соавт. на 500 пациентах было показана ассоциация 4-го квартиля (объем ЭЖТ >216,15 см^3) с неблагоприятными сердечно-сосудистыми исходами, такими как инфаркт миокарда и смерть [42]. Согласно исследованию L. E. Sadea с соавт., толщина ЭЖТ может быть предиктором снижения резерва коронарного кровотока у женщин [43]. Таким образом, представляется целесообразным оценка ряда потенциальных факторов риска ИБС в подгруппах пациентов, разделенных по толщине ЭЖТ. Выявленное более низкое значение уровня ВМАН в ЭЖТ в подгруппе обследованных с толщиной ЭЖТ более 8 мм по сравнению с подгруппой с толщиной ЭЖТ ≤8 мм может быть связано с нарушением процесса мультимеризации адипонектина при разрастании ЭЖТ. В частности мультимеризация адипонектина в адипоцитах может быть затруднена вследствие стресса эндоплазматического ретикулума, вызванного ожирением [44]. Также снижение содержания адипонектина может наблюдаться на фоне повышенной экспрессии провоспалительных цитокинов при разрастании ЭЖТ [32].

Наше исследование имеет некоторые ограничения: малочисленность группы сравнения и сопоставимая толщина ЭЖТ в исследуемых группах, связанные с трудностью забора образцов ЭЖТ у лиц, не страдающих ИБС и не нуждающихся в проведении коронарного шунтирования.

Заключение

В данной работе проведено сопоставление экспрессии адипонектина (мРНК, ВМАН) в ПЖТ и ЭЖТ у пациентов с ИБС и в группе сравнения. Полученные данные показали сравнимую относительную экспрессию гена *ADIPOQ* в ЭЖТ и ПЖТ и позволили предположить, что уровень ВМАН в ЭЖТ может быть ассоциирован с толщиной эпикардиального жира.

У пациентов с ИБС концентрация общего адипонектина в сыворотке крови, а также уровень мРНК гена *ADIPOQ* и уровень ВМАН в ПЖТ ниже, чем у обследованных без признаков клинически значимого атеросклероза коронарных артерий.

Полученные данные позволяют предположить влияние экспрессии гена *ADIPOQ* в ПЖТ на развитие ИБС.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 18-315-00382).
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 12.03.19

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. W-hite U, Ravussin E. Dynamics of adipose tissue turnover in human metabolic health and disease. Diabetologia. 2019;62(1):17–23. DOI: 10.1007/s00125-018-4732-x
2. Iacobellis G. Epicardial fat: a new cardiovascular therapeutic target. Current Opinion in Pharmacology. 2016;27:13–8. DOI: 10.1016/j.coph.2016.01.004
3. Iwasaki K, Urabe N, Kitagawa A, Nagao T. The association of epicardial fat volume with coronary characteristics and clinical outcome. The International Journal of Cardiovascular Imaging. 2018;34(2):301–9. DOI: 10.1007/s10554-017-1227-7
4. Nagy E, Jermendy AL, Merkely B, Maurovich-Horvat P. Clinical importance of epicardial adipose tissue. Archives of Medical Science. 2017;13(4):864–74. DOI: 10.5114/aoms.2016.63259
5. Chistiakov DA, Grechko AV, Myasoedova VA, Melnichenko AA, Orekhov AN. Impact of the cardiovascular system-associated adipose tissue on atherosclerotic pathology. Atherosclerosis. 2017;263:361–8. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2017.06.017
6. Iacobellis G, Corradi D, Sharma AM. Epicardial adipose tissue: anatomic, biomolecular and clinical relationships with the heart. Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine. 2005;2(10):536–43. DOI: 10.1038/ncpcardio0319
7. Gaborit B, Sengenes C, Ancel P, Jacquier A, Dutour A. Role of Epicardial Adipose Tissue in Health and Disease: A Matter of Fat? Comprehensive Physiology. 2017;7(3):1051–82. DOI: 10.1002/cphy.c160034
8. Douglass E, Greif S, Frishman WH. Epicardial Fat: Pathophysiology and Clinical Significance. Cardiology in Review. 2017;25(5):230–5. DOI: 10.1097/CRD.0000000000000153
9. Karbowska J, Kochan Z. Role of adiponectin in the regulation of carbohydrate and lipid metabolism. Journal of Physiology and Pharmacology. 2006;57(Suppl 6):103–13. PMID: 17228091
10. Villarreal-Molina MT, Antuna-Puente B. Adiponectin: Anti-inflammatory and cardioprotective effects. Biochimie. 2012;94(10):2143–9. DOI: 10.1016/j.biochi.2012.06.030
11. Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G, Benedetto FA, Cutrupi S, Parlongo S, et al. Adiponectin, metabolic risk factors, and cardiovascular events among patients with end-stage renal disease. Journal of the American Society of Nephrology. 2002;13(1):134–41. PMID: 11752030
12. Okamoto Y, Kihara S, Ouchi N, Nishida M, Arita Y, Kumada M et al. Adiponectin Reduces Atherosclerosis in Apolipoprotein E-Deficient Mice. Circulation. 2002;106(22):2767–70. DOI: 10.1161/01.CIR.0000042707.50032.19
13. Li S, Shin HJ, Ding EL, van Dam RM. Adiponectin Levels and Risk of Type 2 Diabetes: A Systematic Review and Meta-analysis. JAMA. 2009;302(2):179–88. DOI: 10.1001/jama.2009.976
14. Rutkowski JM, Scherer PE. Isolation and Quantitation of Adiponectin Higher Order Complexes. Methods in Enzymology. 2014;537:243–59. DOI: 10.1016/B978-0-12-411619-1.00013-6
15. Belyaeva O.D., Brovin D.L., Berezina A.V., Karonova T.L., Chubenko E.A., Berkovich O.A., et al. Total and high-molecular weight adiponectin level in hypertensive women with abdominal obesity. Arterial Hypertension. 2014;20(5):442–9. [Russian: Беляева О.Д., Бровин Д.Л., Березина А.В., Каронова Т.Л., Чубенко Е.А., Беркович О.А. и др. Уровень общего и высокомолекулярного адипонектина у женщин с абдоминальным ожирением и артериальной гипертензией. Артериальная гипертензия. 2014;20(5):442-9]
16. Pischon T, Hu FB, Girman CJ, Rifai N, Manson JE, Rexrode KM et al. Plasma total and high molecular weight adiponectin levels and risk of coronary heart disease in women. Atherosclerosis. 2011;219(1):322–9. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2011.07.011
17. Du Y, Ji Q, Cai L, Huang F, Lai Y, Liu Y et al. Association between omentin-1 expression in human epicardial adipose tissue and coronary atherosclerosis. Cardiovascular Diabetology. 2016;15(1):90. DOI: 10.1186/s12933-016-0406-5
18. Gormez S, Demirkan A, Atalar F, Caynak B, Erdim R, Sozer V et al. Adipose Tissue Gene Expression of Adiponectin, Tumor Necrosis Factor-α and Leptin in Metabolic Syndrome Patients with Coronary Artery Disease. Internal Medicine. 2011;50(8):805–10. DOI: 10.2169/internalmedicine.50.4753
19. Iacobellis G, Pistilli D, Gucciardo M, Leonetti F, Miraldi F, Brancaccio G et al. Adiponectin expression in human epicardial adipose tissue in vivo is lower in patients with coronary artery disease. Cytokine. 2005;29(6):251–5. DOI: 10.1016/j.cyto.2004.11.002
20. Norlén A, Alvén J, Molnar D, Enqvist O, Norrlund RR, Brandberg J et al. Automatic pericardium segmentation and quantification of epicardial fat from computed tomography angiography. Journal of Medical Imaging. 2016;3(3):034003. DOI: 10.1117/1.JMI.3.3.034003
21. Kuznetsova T.Yu., Chumakova G.A., Druzhilov M.A., Veselovskaya N.G. Clinical application of quantitative echocardiography assessment of epicardial fat tissue in obesity. Russian Journal of Cardiology. 2017;22(4):81–7. [Russian: Кузнецова Т.Ю., Чумакова Г.А., Дружилов М.А., Веселовская Н.Г. Роль количественной эхокардиографической оценки эпикардиальной жировой ткани у пациентов с ожирением в клинической практике. Российский кардиологический журнал. 2017;22(4):81-7]. DOI: 10.15829/1560-4071-2017-4-81-87
22. Bokeria L. A., Aronov D. M. Russian clinical guidelines Coronary artery bypass grafting in patients with ischemic heart disease: rehabilitation and secondary prevention. CardioSomatics. 2016;7(3–4):5–71. [Russian: Бокерия Л. А., Аронов Д. М. Российские клинические рекомендации. Коронарное шунтирование больных ишемической болезнью сердца: реабилитация и вторичная профилактика. CardioСоматика. 2016;7(3-4):5-71]
23. Montalescot G, Sechtem W, Achenbach S, Andreotti F, Arden C, Budaj A et al. 2013 ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease: The Task Force on the management of stable coronary artery disease of the European Society of Cardiology. European Heart Journal. 2013;34(38):2949–3003. DOI: 10.1093/eurheartj/eht296
24. Miroshnikova V.V., Panteleeva A.A., Bazhenova E.A., Demina E.P., Usenko T.S., Nikolaev M.A. et al. Regulation of ABCA1 and ABCG1 gene expression in the intraabdominal adipose tissue. Biomedical Chemistry. 2016;62 (3):283–9. [Russian: Мирошникова В. В., Пантелеева А. А., Баженова Е. А., Демина Е. П., Усенко Т. С., Николаев М. А. и др. Регуляция экспрессии генов транспортеров ABCA1 и ABCG1 в интраабдоминальной жировой ткани. Биомедицинская химия. 2016;62(3):283-9]. DOI: 10.18097/PBMC20166203283
25. Ogorodnikova AD, Wassertheil-Smoller S, Mancuso P, Sowers MR, Rajpathak SN, Allison MA et al. High-Molecular-Weight Adiponectin and Incident Ischemic Stroke in Postmenopausal Women: A Women's Health Initiative Study. Stroke. 2010;41(7):1376–81. DOI: 10.1161/STROKEAHA.109.576546
26. Brovin D.L., Belyaeva O.D., Pchelina S.N., Berezina A.V., Karonova T.L., Bazhenova E.A. et al. Common Carotid Intima–Media Thickness, Levels of Total and High-Molecular Weight Adiponectin in Women With Abdominal Obesity. Kardiologiia. 2018;58(6):29–36. [Russian: Бровин Д.Л., Беляева О.Д., Пчелина С.Н., Березина А.В., Каронова Т.Л., Баженова Е.А. и др. Толщина комплекса интима-медиа общих сонных артерий, уровень общего и высокомолекулярного адипонектина у женщин с абдоминальным ожирением. Кардиология. 2018;58(6):29-36]. DOI: 10.18087/cardio.2018.6.10122
27. Kizer JR, Benkeser D, Arnold AM, Djousse L, Zieman SJ, Mukamal KJ et al. Total and High-Molecular-Weight Adiponectin and Risk of Coronary Heart Disease and Ischemic Stroke in Older Adults. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2013;98(1):255–63. DOI: 10.1210/jc.2012-2103
28. Jonas MI, Kurylowicz A, Bartoszewicz Z, Lisik W, Jonas M, Domienik-Karlowicz J et al. Adiponectin/resistin interplay in serum and in adipose tissue of obese and normal-weight individuals. Diabetology & Metabolic Syndrome. 2017;9(1):95. DOI: 10.1186/s13098-017-0293-2
29. Sadashiv, Tiwari S, Paul BN, Kumar S, Chandra A, Dhananjai S et al. Adiponectin mRNA in adipose tissue and its association with metabolic risk factors in postmenopausal obese women. Hormones. 2013;12(1):119–27. DOI: 10.1007/BF03401293

ISSN 0022-9040. Кардиология. 2020;60(4). DOI: 10.18087/cardio.2020.4.n517

30. Razgildina N.D., Brovin D.L., Pobozheva I.A., Panteleeva A.A., Miroshnikova V.V., Belyaeva O.D. et al. Adiponectine gene expression in subcutaneous and intra-abdominal adipose tissue in women with varying degrees of obesity. Tsitologiya. 2018;60(7):531–5. [Russian: Разгильдина Н.Д., Бровин Д.Л., Побожева И.А., Пантелеева А.А., Мирошникова В.В., Беляева О.Д. и др. Экспрессия гена *ADIPOQ* в подкожной и интраабдоминальной жировой ткани у женщин с различной степенью ожирения. Цитология. 2018;60(7):531-5]. DOI: 10.31116/tsitol.2018.07.08
31. Bambace C, Sepe A, Zoico E, Telesca M, Olioso D, Venturi S et al. Inflammatory profile in subcutaneous and epicardial adipose tissue in men with and without diabetes. Heart and Vessels. 2014;29(1):42–8. DOI: 10.1007/s00380-012-0315-9
32. Eiras S, Teijeira-Fernández E, Shamagian LG, Fernandez AL, Vazquez-Boquete A, Gonzalez-Juanatey JR. Extension of coronary artery disease is associated with increased IL-6 and decreased adiponectin gene expression in epicardial adipose tissue. Cytokine. 2008;43(2):174–80. DOI: 10.1016/j.cyto.2008.05.006
33. Lihn AS, Bruun JM, He G, Pedersen SB, Jensen PF, Richelsen B. Lower expression of adiponectin mRNA in visceral adipose tissue in lean and obese subjects. Molecular and Cellular Endocrinology. 2004;219(1–2):9–15. DOI: 10.1016/j.mce.2004.03.002
34. Iacobellis G, Tiziana di Gioia C, Cotesta D, Petramala L, Travaglini C, De Santis V et al. Epicardial Adipose Tissue Adiponectin Expression is Related to Intracoronary Adiponectin Levels. Hormone and Metabolic Research. 2009;41(03):227–31. DOI: 10.1055/s-0028-1100412
35. Fuster JJ, Ouchi N, Gokce N, Walsh K. Obesity-Induced Changes in Adipose Tissue Microenvironment and Their Impact on Cardiovascular Disease. Circulation Research. 2016;118(11):1786–807. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306885
36. Tachibana M, Miyoshi T, Osawa K, Toh N, Oe H, Nakamura K et al. Measurement of epicardial fat thickness by transthoracic echocardiography for predicting high-risk coronary artery plaques. Heart and Vessels. 2016;31(11):1758–66. DOI: 10.1007/s00380-016-0802-5
37. Fuller B, Garland J, Anne S, Beh R, McNevin D, Tse R. Increased Epicardial Fat Thickness in Sudden Death From Stable Coronary Artery Atherosclerosis: The American Journal of Forensic Medicine and Pathology. 2017;38(2):162–6. DOI: 10.1097/PAF.0000000000000310
38. Ansari MA, Mohebati M, Poursadegh F, Foroughian M, Sepehri Shamloo A. Is echocardiographic epicardial fat thickness increased in patients with coronary artery disease? A systematic review and meta-analysis. Electronic Physician. 2018;10(9):7249–58. DOI: 10.19082/7249
39. Eroglu S, Sade LE, Yildirir A, Bal U, Ozbicer S, Ozgul AS et al. Epicardial adipose tissue thickness by echocardiography is a marker for the presence and severity of coronary artery disease. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases. 2009;19(3):211–7. DOI: 10.1016/j.numecd.2008.05.002
40. Chu C-Y, Lee W-H, Hsu P-C, Lee M-K, Lee H-H, Chiu C-A et al. Association of Increased Epicardial Adipose Tissue Thickness With Adverse Cardiovascular Outcomes in Patients With Atrial Fibrillation: Medicine. 2016;95(11):e2874. DOI: 10.1097/MD.0000000000002874
41. Lu C, Jia H, Wang Z. Association between epicardial adipose tissue and adverse outcomes in coronary heart disease patients with percutaneous coronary intervention. Bioscience Reports. 2019;39(5):BSR20182278. DOI: 10.1042/BSR20182278
42. Sade LE, Eroglu S, Bozbaş H, Özbiçer S, Hayran M, Haberal A et al. Relation between epicardial fat thickness and coronary flow reserve in women with chest pain and angiographically normal coronary arteries. Atherosclerosis. 2009;204(2):580–5. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2008.09.038
43. Liu M, Liu F. Regulation of adiponectin multimerization, signaling and function. Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism. 2014;28(1):25–31. DOI: 10.1016/j.beem.2013.06.003
44. Toczylowski K, Hirnle T, Harasiuk D, Zabielski P, Lewczuk A, Dmitruk I et al. Plasma concentration and expression of adipokines in epicardial and subcutaneous adipose tissue are associated with impaired left ventricular filling pattern. Journal of Translational Medicine. 2019;17(1):310. DOI: 10.1186/s12967-019-2060-7