

© Коллектив авторов

ФАКТОРЫ, СПОСОБСТВУЮЩИЕ РАЗВИТИЮ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ И ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ПРИ ОЖИРЕНИИ

М.А. Вульф¹, Е.В. Кириенкова¹, Д.А. Скуратовская¹, Е.В. Левада¹, Л.В. Волкова¹,
П.А. Затолокин^{1,2}, Н.Д. Газатова¹, Л.С. Литвинова^{1*}

¹Балтийский федеральный университет им. И. Канта,

36041, Калининград, ул. А. Невского, 14; *эл. почта: lagisalitvinova@yandex.ru

²Областная клиническая больница Калининградской области, 236016, Калининград

Исследованы факторы, способствующие развитию неалкогольной жировой болезни печени у больных ожирением с различным состоянием углеводного обмена. Обследовано 43 пациента, из них 26 пациентов с абдоминальным ожирением (ИМТ=52,9±7,9 кг/м²). Контрольную группу составили 17 условно здоровых донора, не имеющих ожирения (ИМТ – 18,9-24,9 кг/м²), из них 7 человек – группа сравнения, которая была включена в исследование для сопоставления результатов по определению уровней тканеспецифической экспрессии мРНК гена *HSP70*, (кодирующего белок теплового шока 70). Исследование относительного уровня экспрессии генов проводили методом ПЦР в режиме реального времени. Концентрацию IL-6 и TNF-α измеряли в сыворотке крови с помощью твердофазного иммуноферментного “сэндвич” метода (ELISA). У больных ожирением с сахарным диабетом 2 (СД 2) типа выявлено достоверное увеличение сывороточного уровня провоспалительных цитокинов по сравнению с группой без СД 2 типа и контролем. Результаты гистологического исследования биоптатов печени у пациентов с ожирением позволили констатировать наиболее выраженные изменения в группе больных СД 2 типа. Независимо от стадии неалкогольной жировой дистрофии печени у больных ожирением с СД 2 типа регистрировалось увеличение площади жировых включений (относительно группы без СД 2 типа). Исследование экспрессии гена *HSP70* в мононуклеарах периферической крови позволило выявить его значительное повышение относительно группы сравнения. Установленные нами у всех больных ожирением взаимосвязи уровня экспрессии гена *HSP70* в метаболически активных тканях (висцеральная, подкожная жировая ткань и печень) с сывороточным содержанием провоспалительных цитокинов (IL-6 и TNF-α), могут указывать на подавление экспрессии *HSP70* в этих тканях, на фоне системного и локального воспаления при ожирении.

Ключевые слова: ожирение; инсулинорезистентность; неалкогольная жировая болезнь печени; жировая ткань; биоптаты печени; экспрессия *HSP70*

DOI: 10.18097/PBMC20186405444

ВВЕДЕНИЕ

Нарушения липидного обмена при ожирении представляют собой совокупность метаболических изменений в различных органах – жировой ткани, сердце, печени и крови [1]. Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) у больных ожирением может способствовать формированию инсулинорезистентности (ИР) [2]. Учитывая важную роль печени в регуляции углеводного обмена (глюконеогенез и гликогенез), исследование компенсаторных механизмов данного органа в патогенезе ИР при ожирении представляет особый интерес.

При формировании НАЖБП запускаются процессы митохондриального и пероксисомального окисления [2]; активация последних сопряжена с избыточным накоплением активных форм кислорода и развитием окислительного стресса [2]. Известно, что в ответ на стресс происходит активация системы антиоксидантной защиты организма. Белки теплового шока (HSP, heat shock proteins) функционируют не только как шапероны, но и являются потенциальными антиоксидантами [3]. Результаты многочисленных исследований установили, что существуют тканеспецифические особенности экспрессии индуцибельных форм белков теплового

шока *HSP70*, указывающие на разную активность клеток и тканей в защите от стресса, вызванного нарушением метаболизма – при ожирении, сахарном диабете 2 типа, неалкогольной жировой дистрофии [3].

В связи с вышесказанным, целью данной работы было исследование тканеспецифических особенностей экспрессии *HSP70*, продукции провоспалительных цитокинов (IL-6, TNF-α) у больных ожирением.

МЕТОДИКА

В работе принимали участие 43 пациента (12 мужчин, 31 женщина, средний возраст 41,6±10,82 лет). В исследуемую группу были включены 26 пациентов с абдоминальным ожирением (ИМТ=52,9±7,9 кг/м²), из них 11 пациентов без СД 2 типа, 15 пациентов с СД 2 типа. Все группы были сопоставимы по возрасту и полу (табл. 1). У всех пациентов, включённых в исследование, ожирение имело алиментарно-конституциональный характер с абдоминальным типом локализации. Диагноз ожирение и СД 2 типа устанавливали после детального клинико-инструментального обследования в условиях специализированного стационара, согласно критериям, рекомендованных ВОЗ (1999-2013) и Международной федерации диабета (IDF 2013). В группу контроля было включено 17 условно здоровых

Таблица 1. Биохимические показатели углеводного, липидного и белкового обменов, уровни провоспалительных цитокинов (IL-6, TNF- α) в сыворотке крови у больных ожирением с различным состоянием углеводного обмена

Показатели	Группа контроля/сравнения n=17	Больные ожирением без СД 2 типа, n=11	Больные ожирением с СД 2 типа, n=15
ИМТ, кг/м ²	22,8 \pm 3,1	48,3 \pm 9,28	57,53 \pm 6,57
Возраст, лет	40,58 \pm 10,0	41,5 \pm 10,84	50,7 \pm 6,87
Муж/Жен, n	7/10	3/8	2/13
ОХ, ммоль/л	4,09 \pm 0,89	4,52 \pm 1,15	5,14 \pm 1,12* p=0,007
ЛПВП, ммоль/л	1,55 \pm 0,34	1,1 \pm 0,23* p=0,001	1,02 \pm 0,303* p=0,0001
ЛПНП, ммоль/л	2,21 \pm 0,63	2,7 \pm 0,8* p=0,036	2,87 \pm 0,75* p=0,011 p=0,610
ТГ, ммоль/л	0,84 \pm 0,28	1,69 \pm 0,49* p=0,001	1,88 \pm 0,78* p=0,001 p=0,562
Глюкоза, ммоль/л	5,04 \pm 0,525	5,1 \pm 0,47 p=0,375	8,56 \pm 2,74*/** p=0,001 p=0,001
Инсулин, мкЕД/мл	58,4 \pm 35,82	725,5 \pm 544,1* p=0,001	956,59 \pm 869,4* p=0,001 p=0,871
АЛТ, Ед/л	20,7 \pm 12,78	28,7 \pm 13,4 p=0,091	22,32 \pm 12,37 p=0,637 p=0,262
АСТ, Ед/л	20,35 \pm 6,9	25,82 \pm 12,9 p=0,241	20,62 \pm 6,17 p=0,750 p=0,262
АСТ/АЛТ	1,13 \pm 0,407	1,03 \pm 0,45 p=0,916	1,08 \pm 0,32 p=0,263
ГГТ, Ед/л	21,6 \pm 12,5	34,08 \pm 16,45* p=0,01	47,02 \pm 16,46* p=0,001
ЩФ, Ед/л	171,3 \pm 61,35	187,2 \pm 40,9 p=0,514	207,4 \pm 42,4* p=0,040 p=0,228
СРБ, мл/л	4,79 \pm 3,62	10,7 \pm 4,7* p=0,001	9,11 \pm 5,33* p=0,011 p=0,249
IL-6, пг/мл	1,02 \pm 0,538	3,37 \pm 0,84* p=0,001	5,57 \pm 1,2*/** p=0,001 p=0,001
TNF- α , пг/мл	2,41 \pm 0,96	13,94 \pm 3,17* p=0,001	31,68 \pm 5,42*/** p=0,001 p=0,001

Примечание: * - p<0,001 при сравнении с группой контроля ** - p<0,001 при сравнении с больными ожирением без СД 2 типа.

доноров (7 мужчины и 10 женщины), с нормальным индексом массы тела (ИМТ=18,9-24,9 кг/м²) без изменения параметров углеводного и жирового обменов; из них 7 человек составили группу сравнения, которая была включена в исследование для сопоставления результатов исследования по определению уровней тканеспецифической экспрессии мРНК гена *HSP70*. Взятие биоптатов жировой ткани и печени осуществлялось во время проведения плановых лапароскопических операций.

Исследование проведено согласно Хельсинской Декларации ВМА 2000 г. и протоколу Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине 1999 г., и одобрено Этическим комитетом БФУ имени И. Канта (Калининград) от 23.11.2013. Все пациенты дали информированное согласие на участие в исследовании.

Определение всех биохимических показателей в сыворотке крови проводили на автоматическом биохимическом анализаторе СА-180 ("Furuno Electric Co., Ltd", Япония). Концентрацию IL-6 и TNF- α

ФАКТОРЫ, СПОСОБСТВУЮЩИЕ РАЗВИТИЮ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ

измеряли в сыворотке/плазме крови с помощью твердофазного иммуноферментного “сэндвич” метода (ELISA) (наборы “Вектор-Бест”, Россия; “BIO Vendor”, Чехия).

Материалом для исследования уровней экспрессии мРНК генов *HSP70* служили биоптаты печени и белой жировой ткани различной локализации (большой сальник, брыжейка тонкой кишки, подкожная жировая ткань) в объёме 1,0 мл каждый и мононуклеары периферической крови (МНК). Тотальную РНК из гомогенизированных биоптатов выделяли с использованием ExtractRNA kit (“Евроген”, Россия). Для определения уровней относительной экспрессии генов была проведена количественная RT-PCR с применением реагентов qPCRmix-HS SYBR (“Евроген”). Последовательность праймеров, используемых в исследовании: *HSP70*: f 5'-gcc-aac-aag-atc-acc-atc-ac-3', r 5'-ttt-gta-ctt-ctc-cgc-ctc-ct-3'; B2M: f 5'-cct-gcc-gtg-tga-acc-atg-tg-3', r 5'-gct-gct-tac-atg-tct-cga-tcc-ca-3' [4]. ПЦР-реакция была проведена в двух повторах с использованием амплификатора LightCycler 480 Real-Time PCR (“Roche”, Швейцария).

Биоптаты подвергались криозаморозке с последующим хранением в сосудах Дьюара в жидком азоте (-196°C). Кусочки печени, полученные интраоперационно при инцизионной биопсии из левой доли печени, фиксировали в нейтральном забуференном формалине. Парафиновые срезы толщиной 4-5 мкм, окрашенные гематоксилином и эозином, изучали с помощью традиционного гистологического исследования (микроскоп Leica DM3000) и полуколичественной оценки степени (ст.) ожирения и воспалительного процесса. Исследованные биоптаты содержали не менее 4-х портальных трактов и были информативными; при исследовании выявлены стеатоз печени и стеатогепатит. Стеатоз I-III ст. диагностировали в зависимости от морфологических изменений печёночного ацинуса. Стеатогепатит диагностировали в биоптатах с наличием воспалительного инфильтрата преимущественно в портальных трактах; определялась внутридолевая клеточная инфильтрация. Полуколичественную оценку морфологических изменений в печени проводили для определения ст. стеатоза с помощью исследования цифровых изображений биоптатов, полученных при сканировании гистологических срезов с помощью сканирующего микроскопа Pannogamic 250 FLASH и программного обеспечения Image-J Software [5]. Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью программы IBM SPSS Statistics 20 (Statistical Package for the Social Sciences). При анализе имеющихся выборок данных использовали гипотезу нормальности распределения (Колмогорова-Смирнова). Для нормально распределённых выборок вычисляли средневыборочные характеристики: среднее арифметическое, среднее квадратичное отклонение, ошибка среднего. С целью попарного сравнения показателей в исследуемых группах применяли критерий Манна-Уитни для независимых групп. Различие двух сравниваемых величин считали достоверным при уровне значимости $p < 0,05$.

С целью обнаружения связи между исследуемыми показателями проводили корреляционный анализ путём вычисления коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r) [6]. Статистическая обработка данных RT-PCR осуществлялась с помощью специализированной программы REST 2009 v. 2.0.12. Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У больных абдоминальным ожирением (независимо от состояния углеводного обмена), несмотря на высокий ИМТ (≥ 40 кг/м²), значительных изменений показателей липидного обмена, несмотря на некоторые достоверные отличия в сравнении с контролем, обнаружено не было. Количество липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) в сыворотке крови у обследуемых групп достоверно снижалось до $1,1 \pm 0,23$ ммоль/л без СД 2 типа и $1,02 \pm 0,30$ ммоль/л с СД 2 типа, против $1,55 \pm 0,34$ ммоль/л в группе контроля. Сывороточные уровни ТГ и ЛПНП у больных ожирением значимо превышали контрольные показатели и соответствовали $1,69 \pm 0,49$ ммоль/л и $2,7 \pm 0,8$ ммоль/л (без СД 2 типа) и $1,88 \pm 0,78$ ммоль/л и $2,87 \pm 0,75$ ммоль/л (СД 2 типа) (табл. 1). Концентрация общего холестерина (ОХ) в сыворотке крови у больных СД 2 типа достигала значений $5,14 \pm 1,12$ ммоль/л относительно группы контроля ($p = 0,007$). У больных без СД 2 типа концентрация ОХ составила $4,52 \pm 1,15$ ммоль/л, не отличаясь от контроля. Важно подчеркнуть, что, несмотря на высокий ИМТ больных, изучаемые показатели находились в пределах референсных значений.

Для подтверждения воспаления на системном уровне у больных ожирением были исследованы основные провоспалительные цитокины (TNF- α , IL-6), сывороточный уровень которых увеличивался во всех группах исследования относительно контроля (табл. 1). Содержание IL-6 и TNF- α в сыворотке крови больных с СД 2 типа составило $5,57 \pm 1,2$ пг/мл и $31,68 \pm 5,42$ пг/мл и достоверно превышало таковые в группе пациентов без СД 2 типа – $3,37 \pm 0,84$ пг/мл и $13,94 \pm 3,17$ пг/мл ($p < 0,05$) (табл. 1).

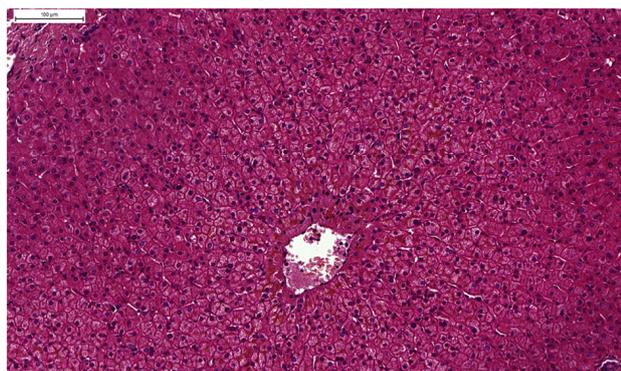
У больных ожирением без СД 2 типа в большинстве случаев 8 (72,7%) из 11 диагностирован стеатоз: I ст. – 6 пациентов (54,5%), II ст. – 1 пациент (9,08%) и III ст. 1 пациент (9,08%). Признаки стеатоза не были выявлены у 3 (27,3%) из 11 пациентов (табл. 2).

У 14 больных (93,3%) из 15 с ожирением и СД 2 типа установлен диагноз стеатоз, при этом I ст. – у 4 больных (26,6%), II ст. у 6 пациентов (39,9%) и у 4 (26,7%) обнаружена III ст. стеатоза. Лишь у одного пациента (6,7%) из 15 признаки стеатоза печени отсутствовали. Морфологические изменения в биоптатах печени у пациентов указанных групп в виде стеатоза и стеатогепатита представлены на рисунке 1.

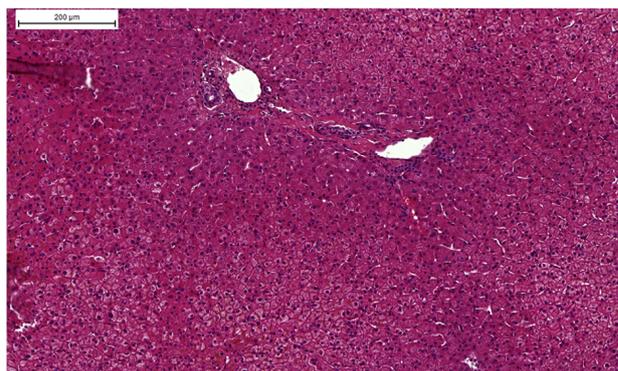
Таким образом, при исследовании биоптатов печени пациентов с ожирением наиболее выраженные изменения выявлены в группе больных ожирением с СД 2 типа. Так, если у больных без СД 2 типа морфологические проявления стеатогепатита

Таблица 2. Распределение больных ожирением в зависимости от поражений печени

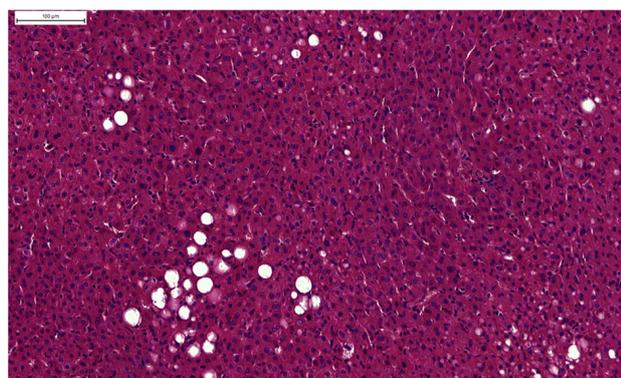
Морфометрические показатели	Группа контроля/сравнения, n=17	Больные ожирением без СД 2 типа, n=11	Больные ожирением с СД 2 типа, n=15
Отсутствие жировой болезни печени стеатоз/стеатогепатит	17	3/4	1/2
Стеатоз	0	I ст. – 6, II ст. – 1, III ст. – 1	I ст. – 4, II ст. – 6, III ст. – 4
Стеатогепатоз, клеточный инфильтрат	0	7	13



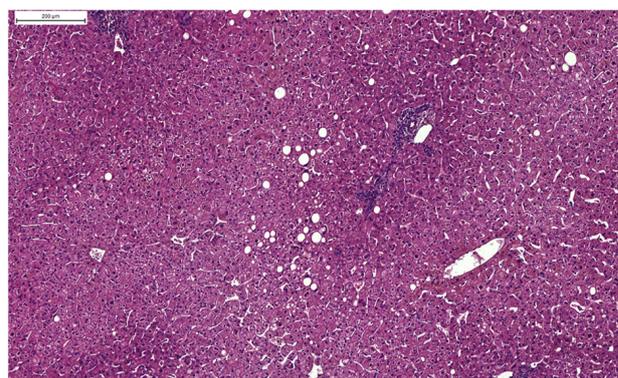
А



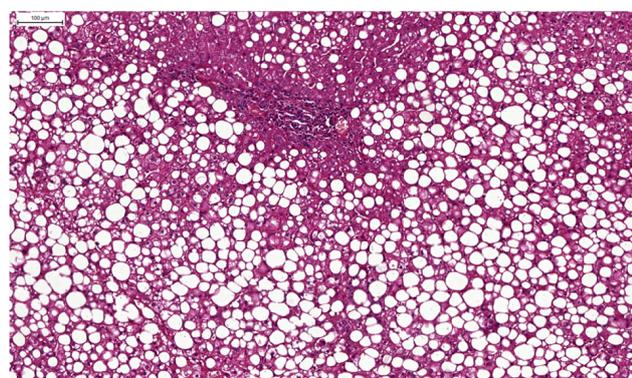
Б



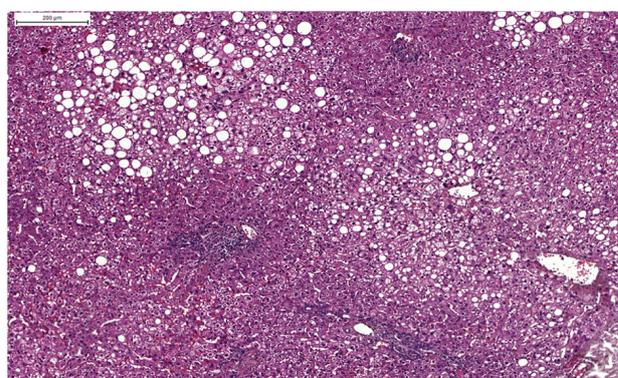
В



Г



Д



Е

Рисунок 1. Морфология печени у пациентов группы сравнения (А, Б); у больных ожирением без СД 2 типа – стеатоз печени I степени (В), клеточная инфильтрация в печёночной дольке (Г); у больных ожирением с СД 2 типа – стеатоз печени III степени (Д), стеатогепатит (Е). Окраска: гематоксилин и эозин. Ув.: ×200 - ×100.

обнаружены у 7 (63,6%) из 11 пациентов, то в группе больных с СД 2 типа у 13 (86,6%) из 15 пациентов, стеатоз сочетался с морфологическими проявлениями стеатогепатита.

Для сравнения особенностей развития НАЖБП в зависимости от состояния углеводного обмена, нами была рассчитана площадь жировых включений в образцах ткани печени больных ожирением. Выявлено достоверное повышение площади жировых включений у всех больных ожирением относительно группы сравнения ($1,12 \pm 0,4\%$) (рис. 2). У пациентов со стеатозом без СД 2 типа площадь жировых включений составила $6,55 \pm 1,8\%$ против $37,4 \pm 17,8\%$ у пациентов с СД 2 типа. Следующая стадия НАЖБП – стеатогепатит, характеризовалась увеличением площади жировых включений: у больных ожирением без СД 2 типа – до $21,9 \pm 13,1\%$, у больных с СД 2 типа – до $35,43 \pm 15,6\%$. Независимо от стадии НАЖБП, у больных СД 2 типа выявлено достоверное увеличение площади жировых включений относительно больных без СД 2 типа (рис. 2).

Для выявления тканеспецифических особенностей экспрессии гена *HSP70* (кодирующего белок теплового шока 70) был проведен анализ уровней экспрессии его мРНК в жировой и печёночной тканях, а также в МНК у больных с/без СД 2 типа с ИМТ ≥ 40 кг/м². Нами выявлено значительное повышение уровня экспрессии гена *HSP70* в МНК у всех больных ожирением независимо от состояния углеводного обмена, в среднем в 80 раз относительно значений группы контроля ($p < 0,05$). Изучение уровня экспрессии гена *HSP70* во всех типах жировой ткани и печени, несмотря на наличие некоторых тенденций, не выявило достоверных отличий относительно группы сравнения.

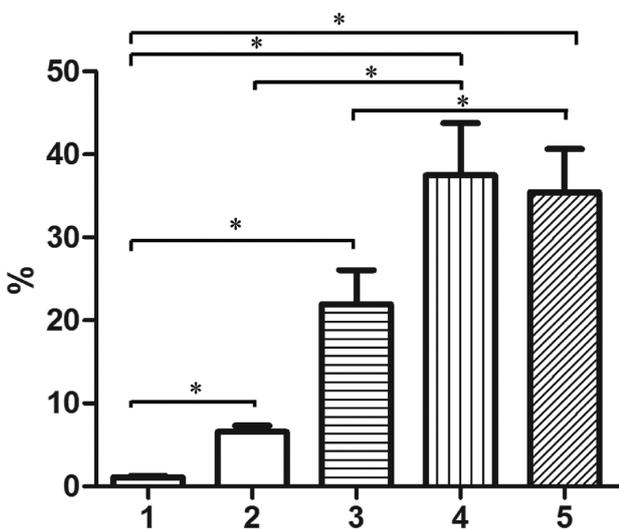


Рисунок 2. Площадь жировых включений (%) в биоптатах печени у больных ожирением. * - достоверное отличие, $p < 0,05$. Обозначения: 1 - группа сравнения контроля; 2 - группа больных ожирением без СД 2 типа со стеатозом; 3 - группа больных ожирением без СД 2 типа со стеатогепатитом; 4 - группа больных ожирением с СД 2 типа со стеатозом; 5 - группа больных ожирением с СД 2 типа со стеатогепатитом.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ожирение и ИР являются одними из основных предикторов развития НАЖБП [2]. В жировой ткани развивается субклиническое воспаление, характеризующееся системным и локальным (в жировой ткани) повышением уровня провоспалительных цитокинов (IL-6, TNF- α) [8]. Последние активируют ингибитор каппа киназы бета (IKK β) в адипоцитах и гепатоцитах, что ведёт к нарушению связывания инсулина с субстратом инсулинового рецептора (IRS) [9].

Выявленное нами повышение (относительно контроля) сывороточных уровней провоспалительных цитокинов у больных ожирением с СД 2 типа (табл. 1) было ассоциировано с ИМТ (IL-6: $r=0,829$, $p=0,002$, TNF- α : $r=0,552$ $p=0,002$), что указывает на зависимость сывороточного уровня провоспалительных цитокинов от массы жировой ткани. Следует отметить, что влияние воспалительного процесса на снижение чувствительности инсулинзависимых тканей к инсулину – установленный факт [9]. У больных СД 2 типа высокий уровень провоспалительных факторов – IL-6 и TNF- α был ассоциирован с увеличением частоты встречаемости стеатогепатита (в 13 из 15 случаев). У пациентов без нарушений углеводного обмена, на фоне более низкого количества провоспалительных медиаторов, развивался стеатоз, более лёгкая форма неалкогольной жировой дистрофии печени. Интересно, что у больных СД 2 типа, независимо от стадии НАЖБП, выявлено достоверное увеличение площади жировых включений относительно значений контроля и больных без СД 2 типа.

Несмотря на отсутствие клинически значимых изменений показателей жирового обмена, нами были выявлены нарушения метаболизма липидов в ткани печени у больных ожирением с/без СД 2 типа. Так, гистологический анализ свидетельствовал о развитии НАЖБП в виде стеатоза и стеатогепатита (без признаков фиброза) у больных ожирением, независимо от состояния углеводного обмена (рис. 1, табл. 2). В работе Petersen и соавт. приведены данные мировой статистики, согласно которым у лиц с ожирением I и II ст. (20-65% случаев) и у больных морбидным ожирением (ИМТ ≥ 40 кг/м²) (40-85%) чаще диагностируется НАЖБП [10]. Несмотря на развитие ИР при ожирении, инсулин сохраняет своё липогенетическое действие и продолжает стимулировать парадоксальный липогенез *de novo* у пациентов с НАЖБП, через активацию SREBP [11].

Процесс воспаления, развивающийся при ожирении, сопровождается накоплением в организме продуктов перекисного окисления липидов, что приводит к снижению защитных свойств мембран гепатоцитов, повреждению митохондрий и запуску процессов апоптоза клетки [2]. Система белков теплового шока (HSP) является универсальным и мощным механизмом защиты клеток от повреждений различного генеза [3]. HSP70 состоит из конститутивной (HSP70) и индуцибельной (HSP72) форм, закодированный геном *HSPA1A*. HSP70 (HSPA1A или HSP72)

Таблица 3. Тканеспецифические особенности относительного уровня экспрессии гена *HSP70* у больных ожирением с СД 2 типа и без него. Экспрессия гена (mean±SD) определялась количественно путём нормализации к эталонному гену β 2-microglobulin относительно группы сравнения

Показатели	Группы исследования	
	Больные ожирением без СД 2 типа, n=11	Больные ожирением с СД 2 типа, n=15
Большой сальник, усл. ед.	0,87±0,31 p=0,285	0,81±0,37 p=0,406
Брыжейка, усл. ед.	0,74±0,31 p=0,541	0,57±0,24 p=0,271
Подкожная жировая ткань, усл. ед.	0,91±0,54 p=0,36	2,94±0,73 p=0,605
Мононуклеары периферической крови, усл. ед.	79,463±9,5* p=0,001	85,4±8,1* p=0,001
Биоптаты ткани печени, усл. ед.	0,48±0,24 p=0,277	0,32±0,12 p=0,153

способствует защите клетки от апоптоза [3]. Протеины *HSP70*, экспрессированные в лейкоцитах, взаимодействуют с компонентами сигнальных путей, участвующих в иммунных реакциях [3]. Как и в других типах клеток, в лейкоцитах высококонсервативные белки теплового шока семейства 70 кДа (*HSP70*) необходимы для поддержания клеточного гомеостаза в нормальных физиологических и стрессовых условиях.

Выявленное нами значительное повышение относительно контроля экспрессии *HSP70* (табл. 3) в МНК ($p<0,05$) у всех обследованных нами больных ожирением может свидетельствовать о наличии дополнительного механизма развития неспецифической резистентности при развитии стресса [12].

Интересными оказались выявленные нами взаимосвязи уровней экспрессии гена *HSP70* с провоспалительными медиаторами. Так, у больных ожирением без СД 2 типа сывороточное содержание TNF- α отрицательно коррелировало с уровнем экспрессии *HSP70* в висцеральной жировой ткани (большой сальник) ($r=-0,900$, $p<0,05$). У больных ожирением с СД 2 типа имели место отрицательные взаимосвязи TNF- α с уровнем экспрессии *HSP70* в жировой ткани брыжейки ($r=-0,738$, $p<0,05$), а IL-6 с уровнем экспрессии *HSP70* в печени ($r=-0,812$, $p<0,05$). Учитывая тот факт, что ожирение тесно связано с активацией стресс-киназ JNK [13], ассоциированных с высоким уровнем провоспалительных цитокинов (IL-6, TNF- α), выявленные нами корреляционные зависимости указывают на подавление экспрессии *HSP70* в жировой и печеночной тканях вследствие развития системного и локального воспаления.

Таким образом, мы предполагаем, что уровень экспрессии гена белка теплового шока *HSP70* в метаболически активных тканях (ВЖТ, ПЖТ и печень) при ожирении, сопоставимый с контрольным, может указывать на недостаточность протекторного эффекта *HSP70* в отношении формирования неалкогольной жировой дистрофии печени и инсулинорезистентности печеночной ткани при ожирении. В то же время высокий уровень экспрессии *HSP70* в мононуклеарах

периферической крови у больных ожирением, независимо от состояния углеводного обмена, может свидетельствовать о его цитопротекторных свойствах в защите клеток от стресса.

Безусловно, ограничением данного исследования является небольшое число обследуемых пациентов.

ВЫВОДЫ

1. У больных ожирением, независимо от состояния углеводного обмена, развивается неалкогольная жировая болезнь печени: при ожирении без нарушений углеводного обмена – стеатоз, тогда как при ожирении с СД 2 типа – стеатоз, в сочетании со стеатогепатитом.

2. В биоптатах печени и образцах жировой ткани (висцеральной и подкожной) у больных ожирением, независимо от состояния углеводного обмена, уровень экспрессии мРНК гена *HSP70* сопоставим с аналогичными значениями группы сравнения, тогда как в мононуклеарах периферической крови – в 80 раз превышает контрольные цифры.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-015-00084-а.

ЛИТЕРАТУРА

1. Jung U.J., Choi M.S. (2014) Int. J. Mol. Sci., **15**, 6184-6223. DOI:10.3390/ijms15046184.
2. Wang C., Gong J., Wu H. (2017) Biomedical Reports, **7**, 95-104. DOI: 10.3892/br.2017.926.
3. Pockley A.G., Henderson B. (2018) Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci., **373**, PII: 20160522. DOI: 10.1098/rstb.2016.0522.
4. Levada K., Guldiken N., Zhang X., Vella G., Mo F.R., James L.P., Haybaeck J., Kessler S.M., Kiemer A.K., Ott T., Hartmann D., Hüser N., Ziol M., Trautwein C., Strnad P. (2018) J Hepatol., **68**, 996-1005. DOI: 10.1016/j.jhep.2018.01.003.

5. *Rasband W.S.* ImageJ. U.S. National Institutes of Health. Bethesda. Maryland. USA. [Electronic resource] URL: <http://imagej.nih.gov/ij/>
6. *Гланц С.* (1999) Медико-биологическая статистика, М.: Практика, 459 с.
7. *Kleiner D.E., Brunt E.M., Van Natta M., Behling C., Contos M.J., Cummings O.W., Ferrell L.D., Liu Y.C., Torbenson M.S., Unalp-Arida A., Yeh M., McCullough A.J., Sanyal A.J.* (2005) *Hepatology*, **41**, 1313-1321.
8. *Chen L., Chen R., Wang H., Liang F.* (2015) *Int. J. Endocrinol.*, 508409. DOI: 10.1155/2015/508409.
9. *Hirabara S.M., Gorjão R., Vinolo M.A., Rodrigues A.C., Nachbar R.T., Curi R.* (2012) *J. Biomed. Biotechnol.*, 379024. DOI: 10.1155/2012/379024.
10. *Petersen K.F., Dufour S., Feng J., Befroy D., Dziura J., Dalla Man C., Cobelli C., Shulman G.I.* (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **103**, 18273-18277.
11. *Gluchowski N.L., Becuwe M., Walther T.C., Farese R.V. Jr.* (2017) *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, **14**, 343-355. DOI: 10.1038/nrgastro.2017.32
12. *Horváth I., Multhoff G., Sonnleitner A., Vigh L.* (2008) *Biochim. Biophys. Acta*, **1778**, 1653-1664. DOI: 10.1016/j.bbame.2008.02.012.
13. *Abubaker J., Tiss A., Abu-Farha M., Al-Ghimlas F., Al-Khairi I., Baturcam E., Cherian P., Elkum N., Hammad M., John J., Kavalakatt S., Khadir A., Warsame S., Dermime S., Behbehani K., Dehbi M.* (2013) *PLoS One*, **24**, 8(7), e69217. DOI: 10.1371/journal.pone.0069217.

Поступила: 11. 06. 2018.

Принята к печати: 26. 09. 2018.

FACTORS GOVERNING DEVELOPMENT OF NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE AND INSULIN RESISTANCE IN OBESITY

M.A. Vulf¹, E.V. Kirienkova¹, D.A. Skuratovskaia¹, E.V. Levada¹, L.V. Volkova¹, P.A. Zatolokin^{1,2}, N.D. Gazatova¹, L.S. Litvinova^{1*}

¹Immanuel Kant Baltic Federal University,

14 Alexander Nevsky str., Kaliningrad, 36041 Russia; *e-mail: larisalitvinova@yandex.ru

²Regional Clinical Hospital of the Kaliningrad Region, Kaliningrad, 236016 Russia

The factors promoting development of non-alcoholic fatty liver disease in patients with obesity and different state of carbohydrate metabolism have been studied. 43 patients were examined; these included 26 patients with abdominal obesity (BMI=52.9±7.9 kg/m²). The control group consisted of 17 conditionally healthy donors without obesity (BMI=18.9-24.9 kg/m²), seven of them formed a comparison group that was included to compare the results of study on the levels of tissue-specific expression of *HSP70* mRNA. The study of mRNA expression was performed by real-time PCR. The concentration of IL-6 and TNF- α was measured in blood serum by the ELISA method. In patients with obesity with diabetes mellitus type 2 (DM2), a significant increase in the serum level of proinflammatory cytokines was found in comparison with the group of patients without DM2 and control. The results of histological examination of liver biopsy specimens in obese patients revealed the most pronounced changes in the group of DM2 patients. Regardless of the stage of nonalcoholic fatty liver disease in obese DM2 patients, an increase in the area of fatty inclusions (relative to the group without type 2 diabetes) was recorded. The study of the *HSP70* gene expression in peripheral blood mononuclear cells allowed its significant increase relative to the comparison group. The relationship between the level of expression of the *HSP70* gene in metabolically active tissues (visceral, subcutaneous adipose tissue and liver) established in all obese patients with the serum content of proinflammatory cytokines (IL-6 and TNF- α) may indicate suppression of *HSP70* expression in these tissues, background of systemic and local inflammation in obesity.

Key words: obesity; insulin resistance; non-alcoholic fatty liver disease; fat tissue; liver biopsy; expression of *HSP70*