

# ЭФФЕКТЫ МЕТФОРМИНА НА УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ И СЕКРЕЦИИ АДИПОЦИТОВ ЖИРОВЫХ ДЕПО СЕРДЦА И СОСУДОВ ПАЦИЕНТОВ КАРДИОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ

Дылева Ю.А., Белик Е.В., Груздева О.В.

*Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, г. Кемерово*

**Ключевые слова:** метформин; жировая ткань; адипоциты; адипонектин; лептин.

**Резюме:** в исследование было включено 134 пациента с ишемической болезнью сердца (ИБС). При проведении операции коронарного шунтирования получены биоптаты жировой ткани. В суточной культуре адипоцитов различной локализации с добавлением метформина (1 и 10 ммоль/л) выявлено, что препарат повышал уровень экспрессии адипонектина и его секрецию адипоцитами независимо от их локализации, низкая концентрация (1 ммоль/л) в эпикардиальных адипоцитах оказывала более сильный эффект. Метформин независимо от концентрации снижал уровень экспрессии и секреции лептина в подкожных адипоцитах и усиливал экспрессию и секрецию лептина в периваскулярных адипоцитах.

**Resume:** the study included 134 patients with coronary artery disease (CAD). During coronary bypass surgery, biopsy specimens of adipose tissue were obtained. In a daily culture of adipocytes of different localization with the addition of metformin (1 and 10 mmol/l), it was found that the drug increased the level of expression of adiponectin and its secretion by adipocytes, regardless of their localization, a low concentration (1 mmol/l) in epicardial adipocytes had a stronger effect. Metformin, regardless of concentration, reduced the level of expression and secretion of leptin in subcutaneous adipocytes and increased the expression and secretion of leptin in perivascular adipocytes.

**Актуальность.** Метформин (диметилбигуанидин) Согласно рекомендациям Американской диабетической ассоциации (ADA), из всех противодиабетических препаратов является препаратом первой линии для лечения диабета 2 типа (СД2), значительно снижающий вес. Среди плеiotропных эффектов метформина описаны так же гиполипидемические, противовоспалительные свойства, способность улучшать эндотелиальную функцию и микроциркуляцию [6]. Показаны эффекты метформина по снижению объемов висцеральной жировой ткани (ВЖТ) у людей и мышей [9]. Все больше данных свидетельствуют о способности метформина влиять на эндокринную функцию ЖТ человека, хотя они и не многочисленны. Патологические состояния в ЖТ, развивающиеся вследствие дисбаланса в системе адипокинов коррелируют с развитием ожирения, атеросклероза и СД 2 типа. На сегодняшний день показана способность метформина регулировать уровень секреции адипокинов [8]. В связи с чем, ЖТ представляет большой интерес с позиции изучения фармакологического воздействия с целью коррекции адипокинового статуса, а метформин является перспективным препаратом способным регулировать функциональную активность ЖТ.

**Цель:** изучить эффекты разных концентраций метформина на уровень экспрессии адипонектина и лептина в адипоцитах различной локализации пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС).

**Задачи:** 1. Оценить влияние 1 и 10 ммоль/л метформина на уровень экспрессии генов адипонектина и лептина в адипоцитах подкожной,

эпикардиальной и периваскулярной локализации у пациентов с ИБС; 2. Оценить влияние 1 и 10 ммоль/л метформина на уровень секреции адипонектина и лептина в адипоцитах подкожной, эпикардиальной и периваскулярной локализации у пациентов с ИБС.

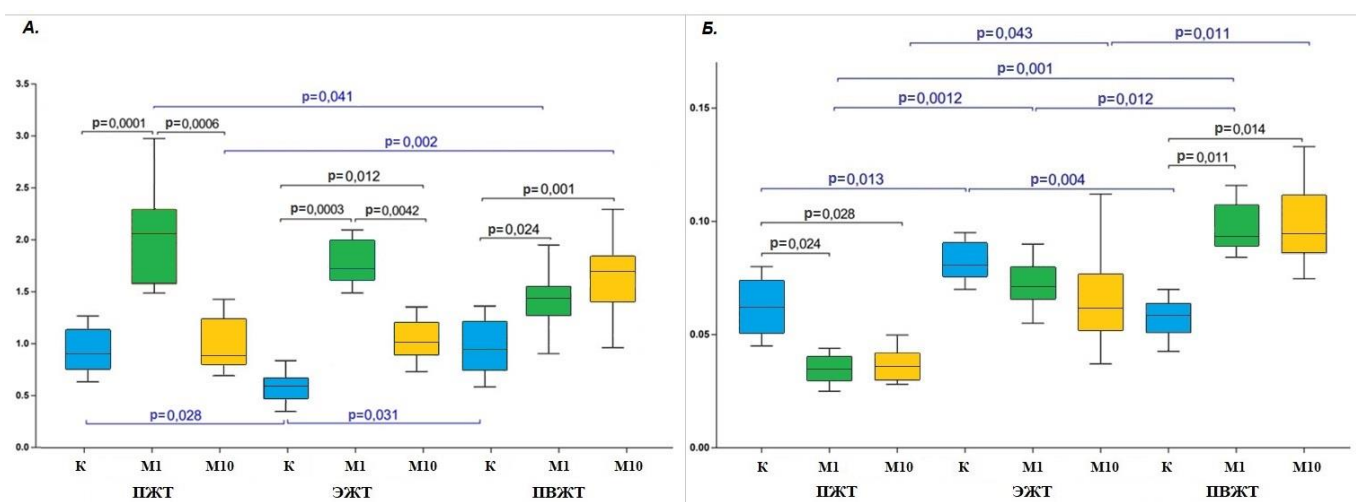
**Материалы и методы.** Исследование выполнено на базе ФГБНУ "Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний", г. Кемерово. В исследование включено 134 пациента с ИБС и показаниями к прямой реваскуляризации миокарда методом коронарного шунтирования (КШ). Критерии включения: возраст пациента до 75 лет, согласие пациента на исследование. Критерии исключения: сахарный диабет 1 и 2 типа, инфаркт миокарда (ИМ), наличие клинически значимых сопутствующих заболеваний. При проведении операции КШ были получены биоптаты (3-5 г.) подкожной ЖТ, эпикардиальной (ЭЖТ) и периваскулярной ЖТ. Адипоциты изолировали в стерильных условиях по методике, описанной нами ранее [2]. Адипоциты ( $20 \times 10^5$ ) высевали в 24-луночный планшет, объем в каждой лунке доводили до 1 мл полной культуральной среды, которая содержала М 199 (Gibco, США), 10% эмбриональной телячьей сыворотки (Gibco, США), 1% HEPES буфер (Gibco, США), 1% раствора L-глутамина с пенициллином и стрептомицином (Gibco, США), 0,4 % амфотерицин-Б (Gibco, США), 5 ммоль/л глюкозы и 1 или 10 мкмоль/л метформина (USP, Norway). В качестве контроля адипоциты культивировали в полной культуральной среде. Адипоциты инкубировали в течение 24 часов при температуре  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  в атмосфере 5%  $\text{CO}_2$  и 10% кислорода. Далее определяли уровень экспрессии генов адипонектина (*ADIPOQ*) и лептина (*LEP*) оценивали с помощью количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени (qPCR) в системе ViiA 7 Real-Time PCR (Applied Biosystems). Уровень секреции адипонектина и лептина определяли методом иммуноферментного анализа с использованием тест-систем (Human Total Adiponectin/Acro30, DRP300; Human Leptin, DLP00; Human Leptin R, D0BR00) фирмы R&D Systems Inc (Minneapolis, MN, USA). Статистический анализ выполняли с использованием GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA) и Statistica software, 6.1 (Dell Software, Inc., Round Rock, TX, USA). Значение уровня значимости ( $P$ ) < 0,05 считалось статистически значимым.

**Результаты и их обсуждение.** Среди обследованных пациентов преобладали лица мужского пола (60%). Индекс массы тела (ИМТ) составил 28,57 (26,47;30,28) кг/м<sup>2</sup>. В анамнезе фиксировались артериальная гипертензия (56%), дислипидемия (43%), курение (48%), стенокардия II ФК (46%) и III ФК (51%), тяжелое и крайне тяжелое поражение коронарного русла по шкале SYNTAX Score (55%), отягощенная наследственность по сердечно-сосудистой патологии. У 57 пациентов в анамнезе был инфаркт миокарда (ИМ), а у 6 человек - инсульт. В течение госпитального периода все пациенты получали стандартную медикаментозную терапию в соответствии с рекомендациями Европейского общества кардиологов (2015).

Результаты нашего исследования демонстрируют, что адипоциты ЭЖТ и ПВЖТ пациентов с ИБС характеризуются дисбалансом в системе адипокинов, а именно низким уровнем экспрессии *ADIPOQ* и высокой экспрессией *LEP* в сравне-

нии с адипоцитами ПЖТ, что согласуется с ранее полученными данными [11]. Известно, что адипонектин и лептин экспрессируются зрелыми адипоцитами и участвуют во многих сигнальных путях. Адипонектин играет критическую роль в развитии антиатеросклеротических эффектов [10]. Высокий уровень лептина в сыворотке крови ассоциирован с метаболическими нарушениями, ожирением, ИБС, острым ИМ и степенью атеросклероза коронарных артерий. Согласно результатам предыдущих исследований [7], увеличение морфометрических показателей ЖТ сердечной локализации являются независимыми факторами риска ССЗ, а объем ПЖТ – самым сильным предиктором коронарного атеросклероза. Эти данные позволяют предполагать, что адипокиновый статус в жировых депо сердца и сосудов ассоциирован с дисфункцией коронарных сосудов. Кроме того, в исследованиях активно обсуждается кардиопротективный эффект метформина независимо от его антигипергликемического действия, который может быть опосредован именно его способностью регулировать уровень адипокинов и их рецепторов в ЖТ [3].

Согласно полученным нами данным, культивирование адипоцитов с метформином повышало показатели экспрессии *ADIPOQ* во всех клеточных культурах (Рис.1.А.) относительно контроля.

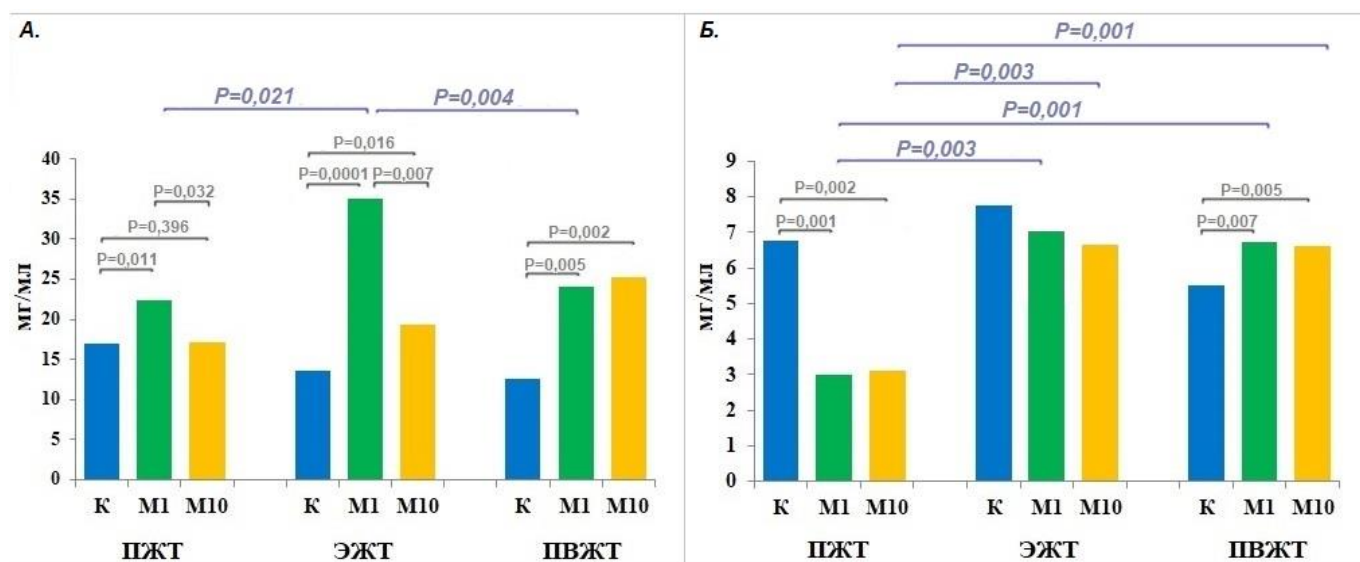


**Рис. 1** – Уровень экспрессии генов адипокинов в культуральной среде адипоцитов различной локализации пациентов с ИБС. А. Экспрессия гена адипонектина (*ADIPOQ*). Б. Экспрессия гена лептина (*LEP*).

Примечание: К – контроль; М1 – Метформин 1 ммоль/л; М10 – Метформин 10 ммоль/л; ПЖТ – подкожная жировая ткань; ЭЖТ – эпикардальная жировая ткань; ПВЖТ – периваскулярная жировая ткань; р – уровень статистической значимости.

Метформин в концентрации 1 мкмоль/л повышал экспрессию *ADIPOQ* в ПЖТ в 2,2 раза, в ЭЖТ – в 2,8 раза и в ПВЖТ – в 1,5 раза. В концентрации 10 мкмоль/л метформин так же повышал уровень экспрессии гена адипонектина в адипоцитах ЭЖТ и ПВЖТ в 1,6 и 1,8 раза, соответственно. При этом концентрация 1 ммоль/л в большей степени, чем 10 ммоль/л повышала уровень экспрессии *ADIPOQ*. В исследовании Biao Li и коллег, аналогично нашим данным, экспрессия и секреция адипонектина в ЭЖТ повышались при обработке адипоцитов метформином [1]. Согласно другим авторам инкубация адипоцитов с 10 ммоль/л метформина приводила к значительному увеличению экспрессии и секреции адипонектина в ПЖТ, но не в

висцеральной ЖТ [12]. Секреция адипонектина в присутствии метформина в культуре адипоцитов изменялась аналогично экспрессии (Рис.2.А).



**Рис. 2** – Уровень секреции адипокинов в культуральной среде адипоцитов различной локализации пациентов с ИБС. А. Концентрация адипонектина. Б. Концентрация лептина.

Примечание: К – контроль; М1 – Метформин 1 ммоль/л; М10 – Метформин 10 ммоль/л; ПЖТ – подкожная жировая ткань; ЭЖТ – эпикардальная жировая ткань; ПВЖТ – периваскулярная жировая ткань; р – уровень статистической значимости.

Метформин в концентрации 1 ммоль/л повышал содержание адипонектина во всех клеточных культурах адипоцитов. 10 ммоль/л метформина усиливали секрецию адипонектина лишь в ЭЖТ и ПВЖТ адипоцитах, но только в эпикардиальных адипоцитах эффект зависел от концентрации: 1 ммоль/л более интенсивно повышал секрецию адипонектина.

Препарат снижал экспрессию LEP в 1,8 раза в обеих концентрациях в адипоцитах ПЖТ в сравнении с контрольной культурой адипоцитов. В ПВЖТ метформин, напротив, усиливал экспрессию LEP в 1,6 независимо от концентрации и не влиял на экспрессию гена в ЭЖТ (Рис.1.Б.). В то же время независимо от концентрации метформин снижал уровень секреции лептина в культуре адипоцитов ПЖТ, однако, в ПВЖТ, напротив, повышал секрецию в обеих концентрациях (1 и 10 ммоль/л) (Рис.2.Б.). Полученные результаты согласуются с некоторыми данными полученными ранее [4]. Другие исследователи показали дозозависимый эффект метформина на секрецию лептина, однако, на изолированных адипоцитах крыс [5].

Таким образом, результаты исследований противоречивы, что может быть вызвано с ограничениями исследований, небольшим количеством участников (людей и лабораторных животных), с использованием разных доз и концентраций препарата.

**Выводы:** 1. Выявленные изменения уровня экспрессии адипонектина и лептина в адипоцитах ЭЖТ и ПВЖТ продемонстрировали схожие закономерности в отличие от адипоцитов ПЖТ, что предполагает наличие морфофункциональных различий между этими жировыми депо; 2. Дисбаланс между проатерогенным лептином и антиатерогенным адипонектином в ЭЖТ и ПВЖТ может являться триггером возникновения и прогрессирования коронарной патологии; 3. Метформин

оказывает прямое действие на адипоциты локальных жировых депо и его использование, является жизнеспособной стратегией для поддержания баланса адипокинов ЖТ; 4. Механизмы, с помощью которых метформин способен поддерживать баланс адипокинов ЖТ, вероятно, являются тканеспецифичными.

### Литература

1. Biao Li. Metformin regulates adiponectin signalling in epicardial adipose tissue and reduces atrial fibrillation vulnerability / Biao Li, SS. Po, B Zhang, et al. // *J Cell Mol Med.* – 2020. – V. 24(14). – P. 7751–7766.
2. Gruzdeva O. Adipocytes Directly Affect Coronary Artery Disease Pathogenesis via Induction of Adipokine and Cytokine Imbalances / Gruzdeva O, Uchasova E, Dyleva Y, et al. // *Front Immunol.* – 2019. – V. 10. – P. 2163.
3. Gunes H. Effects of metformin on epicardial adipose tissue and atrial electromechanical delay of obese children with insulin resistance / Gunes H, Gunes H, S Ozmen, et al. // *Cardiol Young.* – 2020. – V. 30(10). – P. 1429-1432.
4. Ida S. Effects of metformin treatment on blood leptin and ghrelin levels in patients with type 2 diabetes mellitus / Ida S, Murata K, Kaneko R. // *J Diabetes.* – 2017. – V. 9. – P. 526–535.
5. Mueller WM. Effects of Metformin and Vanadium on Leptin Secretion from Cultured Rat Adipocytes / Mueller WM, Stanhope KL, Gregoire F, et al. // *Obesity Research.* – 2000. – V. 8(7). – P. 530–539.
6. Prattichizzo F. Pleiotropic effects of metformin: Shaping the microbiome to manage type 2 diabetes and postpone ageing / Prattichizzo F, Giuliani A, Mensa E, et al. // *Ageing Res Rev.* – 2018. – V. 48. – P. 87-98.
7. Schlett CL, Massaro JM, Lehman SJ, et al. Novel measurements of periaortic adipose tissue in comparison to anthropometric measures of obesity, and abdominal adipose tissue / Schlett CL, Massaro JM, Lehman SJ, et al. // *Int J Obes (Lond).* – 2009. – V. 33(2). – P. 226-232.
8. Su X. Role of adiposopathy and physical activity in cardio-metabolic disorder diseases / Su X, Chang D. // *Clinica Chimica Acta.* – 2020. – V. 511. – P. 243–247.
9. Tokubuchi I. Beneficial effects of metformin on energy metabolism and visceral fat volume through a possible mechanism of fatty acid oxidation in human subjects and rats / Tokubuchi I, Tajiri Y, Iwata S, et al. // *PLoS ONE.* – 2017. – V. 12. – P. e0171293.
10. Wang ZV. Adiponectin, the past two decades / Wang ZV, Scherer PE. // *J Mol Cell Biol.* – 2016. – 8(2). – P. 93-100.
11. Zhang T. Leptin expression in human epicardial adipose tissue is associated with local coronary atherosclerosis / Zhang T, Yang P, Li T, et al. // *Med Sci Monit.* – 2019. – V. 25. – P. 9913–9922.
12. Zulian A. In vitro and in vivo effects of metformin on human adipose tissue adiponectin / Zulian A, Canello R, Girola A, et al. // *Obes Facts.* – 2011. V. 4. – P. 27-33.