

К.Н.Милица¹
И.В.Сорокина²
М.С.Мирошниченко²
О.Н.Плитель²

¹ ГУ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины»
² Харьковский национальный медицинский университет

Ключевые слова: жировая ткань, сальник, подкожная жировая клетчатка, избыточная масса тела, ожирение, метаболический синдром, иммуногистохимия.

Надійшла: 21.08.2016

Прийнята: 12.09.2016

УДК: [616.382+616.599]–056.257–018.26–008.9–092.18–091.8

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЖИРОВОЙ ТКАНИ САЛЬНИКА И ПОДКОЖНОЙ ЖИРОВОЙ КЛЕТЧАТКИ У ЛИЦ С ИЗБЫТОЧНОЙ МАССОЙ ТЕЛА, ОЖИРЕНИЕМ И МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Реферат. Жировая ткань играет ключевую роль в развитии метаболического синдрома, что обуславливает необходимость проведения комплексных морфологических исследований. Целью исследования явилось выявление иммуногистохимических особенностей жировой ткани подкожной жировой клетчатки и сальника у лиц с метаболическим синдромом и избыточной массой тела либо ожирением I–III степени. Материалом исследования явилась жировая ткань подкожной жировой клетчатки и сальника. Применяли гистологический и иммуногистохимические методы исследования. В результате исследования установлено, что у лиц с нормальным индексом массы тела, с метаболическим синдромом и избыточной массой тела либо ожирением в жировой ткани сальника по сравнению с жировой тканью подкожной жировой клетчатки выявлено достоверно большее количество клеток, экспрессирующих рецепторы к фактору некроза опухоли альфа (ФНО- α), интерлекину-6 (ИЛ-6) и кортизолу, а в жировой ткани подкожной жировой клетчатки – достоверно большее количество клеток, экспрессирующих рецепторы к инсулину. У больных с метаболическим синдромом с возрастанием индекса массы тела в подкожной жировой клетчатке и сальнике отмечено увеличение количества клеток, экспрессирующих рецепторы к ФНО- α и ИЛ-6, снижение способности адипоцитов экспрессировать рецепторы к инсулину и усиление способности экспрессировать рецепторы к кортизолу.

Morphologia. – 2016. – Т. 10, № 3. – С. 203-207.

© К.Н.Милица, И.В.Сорокина, М.С.Мирошниченко, О.Н.Плитель, 2016

✉ mmmmmccc@mail.ru

Militsa K.M., Sorokina I.V., Myroshnychenko M.S., Pliten O.N. Immunohistochemical features of fat tissue of epiploon and subcutaneous fat tissue in patients with overweight, obesity and metabolic syndrome.

ABSTRACT. Background. Fat tissue plays a key role in the development of metabolic syndrome determining the necessity of its complex morphological research. **Objective:** to identify the immunohistochemical features of fat tissue of epiploon and subcutaneous fat tissue in patients with metabolic syndrome and overweight or obesity of I–III degree. **Methods.** The material of the study was the autopsy and operational material – fat tissue of epiploon and subcutaneous fat tissue. The authors used histological method for review microscopy and immunohistochemical methods with monoclonal antibodies to the tumor necrosis factor alpha (TNF- α), interleukine-6 (IL-6), insulin and cortisol. **Results.** It was revealed that in people with a normal body mass index, metabolic syndrome and overweight or obesity in epiploon fat tissue comparing with subcutaneous fat tissue the number of cells expressing receptors for TNF- α , IL-6 and cortisol is significantly greater; in subcutaneous fat tissue the number of cells expressing receptors for insulin is significantly greater. In patients with metabolic syndrome with increased body mass index in subcutaneous fat tissue and epiploon the number of cells expressing receptors for TNF- α and IL-6 is increased, the ability to express adipocyte insulin receptors is reduced while the ability to express receptors to cortisol is increased. **Conclusion.** Taken together these results evidence the presence of immunohistochemical features of fat tissue of epiploon and subcutaneous fat tissue in patients with metabolic syndrome and overweight or obesity.

Key words: fat tissue, epiploon, subcutaneous fat tissue, overweight, obesity, metabolic syndrome, immunohistochemistry.

Citation:

Militsa KM, Sorokina IV, Myroshnychenko MS, Pliten ON. [Immunohistochemical features of fat tissue of epiploon and subcutaneous fat tissue in patients with overweight, obesity and metabolic syndrome]. Morphologia. 2016;10(3):203-7. Russian.

Введение

В последние десятилетия научные интересы многих исследователей сосредоточены на изучении патологических факторов, связанных в единую констелляцию множества механизмов, обозначаемую как метаболический синдром (МС). В структуру МС в настоящее время включают: ожирение, инсулинорезистентность, гиперинсулинемию, нарушенную толерантность к глюкозе, артериальную гипертензию, дислипидемию, нарушение гемостаза, микроальбуминурию, гиперурикемию [1]. Этот синдром не является самостоятельной нозологической единицей, он рассматривается в качестве одного из наиболее значимых факторов как риска, так и утяжеления течения основного заболевания [2].

Ситуацию по распространенности МС в мире эксперты Всемирной организации здравоохранения оценивают следующим образом: «Мы сталкиваемся с новой пандемией XXI века, охватывающей индустриально развитые страны. Это может оказаться демографической катастрофой для развивающихся стран. Распространенность МС в два раза превышает распространенность сахарного диабета, и в ближайшие 25 лет ожидается увеличение темпов его роста на 50 %» [2].

Жировая ткань играет главную, «пусковую» роль в развитии МС [3, 4], что диктует необходимость проведения комплексных морфологических исследований с целью изучения морфофункциональных особенностей жировой ткани при избыточной массе тела и ожирении у лиц с МС, что в дальнейшем будет способствовать как усовершенствованию известных, так и появлению новых методов лечения.

Цель – выявить иммуногистохимические особенности жировой ткани подкожной жировой клетчатки (ПЖК) и сальника у лиц с МС и избыточной массой тела либо ожирением I–III степени.

Материалы и методы

Материалом исследования явился секционный и операционный материал – жировая ткань ПЖК и сальника. Секционный материал (n=12) набирали во время проведения вскрытий лиц, индекс массы тела (ИМТ) которых соответствовал норме (18,5–24,99), произведенных через 5–6 часов после смерти на базе патологоанатомического отделения Коммунального учреждения охраны здоровья «Областная клиническая больница – Центр экстренной медицинской помощи и медицины катастроф» (г. Харьков). Во всех случаях вскрытий основным заболеванием выступали различные гистологические варианты доброкачественных либо злокачественных опухолей головного мозга, а причиной смерти явилась дислокация ствола головного мозга. Операционный материал был получен в ходе оперативных вмешательств на органах брюшной полости от 36 больных с МС и избыточной массой тела либо

ожирением I–III степени (ИМТ был больше 25,00), произведенных на базе кафедры хирургии и проктологии Запорожской медицинской академии последипломного образования и в Коммунальном учреждении «Запорожская многопрофильная городская клиническая больница № 9».

В ходе исследования материал был разделен на пять групп: I – группа сравнения – секционный материал (n=12); II – исследуемая группа – операционный материал 12 больных с МС, ИМТ которых был в пределах 25,0–30,0 (избыточная масса тела); III – исследуемая группа – операционный материал 12 больных с МС, ИМТ которых был в пределах 30,0–35,0 (ожирение I степени); IV – исследуемая группа – операционный материал 12 больных с МС, ИМТ которых был в пределах 35,0–40,0 (ожирение II степени); V – исследуемая группа – операционный материал 12 больных с МС, ИМТ которых был в пределах 40,0 и более (ожирение III степени).

Полученный материал фиксировали в 10 % растворе формалина. Уплотнение тканей, фиксированных в формалине, достигалось проводкой через спирты увеличивающейся концентрации, жидкость Никифорова (96% спирт и диэтиловый эфир в соотношении 1:1), хлороформ и заливкой в парафин. Из приготовленных блоков для последующего окрашивания готовили серийные срезы толщиной $4-5 \times 10^{-6}$ м. Обзорную микроскопию препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, проводили на микроскопе «Olympus BX-41».

Иммуногистохимическое исследование проводили на парафиновых срезах прямым методом Кунса по методике М. Brosnan (1979) с использованием моноклональных антител (МКА) к фактору некроза опухоли альфа (ФНО- α), интерлейкину-6 (ИЛ-6), инсулину и кортизолу (Novocastra Laboratories Ltd.). Препараты изучали в люминисцентном микроскопе «Axioskop-40». В поле зрения микроскопа ($\times 400$) подсчитывали количество флюоресцирующих клеток.

Все полученные нами цифровые данные сравнивали, используя t-критерий Стьюдента. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Статистические расчеты проводили с использованием программы «Microsoft Excel 2007».

Результаты и их обсуждение

При изучении микропрепаратов ткани ПЖК и сальника в группах I–V, окрашенных гематоксилином и эозином, определялось строение жировой ткани, состоящей из паренхиматозного и стромального компонентов. Паренхиматозный компонент был представлен жировыми клетками – адипоцитами, либо липоцитами, которые при окраске гематоксилином и эозином выглядели оптически пустыми с узким эозинофильным цитоплазматическим ободком под цитолеммой, в утолщенной части которого определялось смещенное к краю клетки уплощенное ядро. Стро-

мальный компонент был представлен сосудами микроциркуляторного русла, нервными волокнами, волокнами соединительной ткани. Вокруг сосудов, между волокон соединительной ткани определялась лимфоидно-макрофагальная инфильтрация.

В группах I–V в ПЖК и сальнике при иммуногистохимическом исследовании с МКА к ФНО- α и ИЛ-6 в лимфоидно-макрофагальной инфильтрации выявлялись клетки, экспрессирующие рецепторы к выше указанным провоспалительным цитокинам. Кроме иммунных клеток способностью экспрессировать рецепторы к ФНО- α и ИЛ-6 обладали и жировые клетки. Нами установлено, что в группах I–V отмечено достоверно большее ($p < 0,05$) количество клеток, экспрессирующих рецепторы к ФНО- α и ИЛ-6, в сальнике по сравнению с ПЖК, при этом количество данных клеток было достоверно большим ($p < 0,05$) в группах II–V по сравнению с группой I (таблица 1). Также было выявлено увеличение количества клеток, экспрессирующих рецепторы к выше указанным цитокинам, у больных исследуемых групп с возрастанием ИМТ. Вне зависимости от группы наблюдения обращала на себя внимание более высокая активность ИЛ-6-продуцентов по сравнению с клетками-продуцентами ФНО- α как в ПЖК, так и в сальнике.

Выявленная нами закономерность повышения количества клеток, экспрессирующих рецеп-

торы к ФНО- α и ИЛ-6, с возрастанием ИМТ больного совпадает с данными литературы [5–7]. Известно, что ФНО- α стимулирует продукцию ИЛ-6 [8]. Современными исследованиями доказана роль ФНО- α и ИЛ-6 в формировании инсулинорезистентности [9, 10], являющейся, как известно, одним из компонентов МС.

В ходе проведенного нами иммуногистохимического исследования с МКА к инсулину (таблица 2) во всех группах выявлено достоверно большее ($p < 0,05$) количество клеток, экспрессирующих рецепторы к инсулину, в ПЖК по сравнению с сальником.

Также выявлено, что максимальное количество клеток, экспрессирующих рецепторы к инсулину, отмечалось в группе I по сравнению с группами II–V. С возрастанием ИМТ больного количество клеток, экспрессирующих рецепторы к инсулину, достоверно уменьшалось ($p < 0,05$), что свидетельствовало о нарастании степени выраженности инсулинорезистентности.

Сегодня существует несколько гипотез, которые объясняют связь ожирения с инсулинорезистентностью. Одна из гипотез предполагает нарушения секреции жировой тканью гормонов (адипокинов). Суть ее заключается в том, что при ожирении секреция адипокинов, повышающих чувствительность тканей к инсулину, снижается, а секреция адипокинов, снижающих чувствительность тканей к инсулину, повышается [11].

Таблица 1
Средние значения количества клеток, экспрессирующих рецепторы к ФНО- α и ИЛ-6, в ПЖК и сальнике

Номер группы	ФНО- α		ИЛ-6	
	ПЖК	Сальник	ПЖК	Сальник
I	9,08 \pm 0,43	11,17 \pm 0,59 $p_3 < 0,05$	12,42 \pm 0,50	15,5 \pm 0,42 $p_3 < 0,05$
II	17,92 \pm 0,57 $p_1 < 0,05$	21,58 \pm 0,51 $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	20,67 \pm 0,80 $p_1 < 0,05$	25,5 \pm 0,67 $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$
III	44,50 \pm 0,54 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	54,42 \pm 0,68 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	50,33 \pm 1,80 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	60,08 \pm 1,25 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$
IV	58,58 \pm 1,62 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	68,25 \pm 0,68 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	70,50 \pm 0,61 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	84,33 \pm 0,84 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$
V	71,08 \pm 0,78 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	86,42 \pm 0,81 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	80,25 \pm 0,69 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	92,08 \pm 1,59 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$

p_1 – по сравнению с группой I, p_2 – по сравнению с предыдущей группой, p_3 – по сравнению с ПЖК.

Средние значения количества клеток, экспрессирующих рецепторы к инсулину и кортизолу, в ПЖК и сальнике

Номер группы	Инсулин		Кортизол	
	ПЖК	Сальник	ПЖК	Сальник
I	53,50±0,61	47,25±1,37 p ₃ <0,05	22,33±0,58	26,17±0,64 p ₃ <0,05
II	43,58±1,15 p ₁ <0,05	39,67±0,72 p ₁ <0,05 p ₃ <0,05	30,92±0,62 p ₁ <0,05	34,50±1,19 p ₁ <0,05 p ₃ <0,05
III	24,25±0,48 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	20,83±0,81 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05 p ₃ <0,05	46,33±1,04 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	48,92±0,84 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05 p ₃ <0,05
IV	18,17±0,91 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	14,08±0,51 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05 p ₃ <0,05	51,25±0,80 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	56,67±0,91 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05 p ₃ <0,05
V	10,50±0,63 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	8,25±0,54 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05 p ₃ <0,05	62,50±1,03 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05	69,75±0,62 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05 p ₃ <0,05

p₁ – по сравнению с группой I, p₂ – по сравнению с предыдущей группой, p₃ – по сравнению с ПЖК.

Вторая гипотеза предполагает увеличение секреции жировой тканью хемокинов, которые способствуют активации макрофагов и их накоплению в жировой ткани. Активированные макрофаги продуцируют цитокины, негативно влияющие на чувствительность к инсулину [11].

Кортизол, как известно, способствует развитию инсулинорезистентности [12, 13]. Нами показано, что достоверно большее (p<0,05) количество клеток, экспрессирующих рецепторы к кортизолу, определялось в сальнике по сравнению с ПЖК. В группе I количество клеток, экспрессирующих рецепторы к кортизолу, было минимальным; с увеличением ИМТ большого количество таких клеток нарастало.

Анализ результатов исследования выявил, что способность адипоцитов экспрессировать рецепторы к инсулину в ПЖК и сальнике снижалась от группы II к группе V, а способность экспрессировать рецепторы к кортизолу, наоборот, усиливалась.

Выводы

1. У лиц с нормальным индексом массы тела, с метаболическим синдромом и избыточной массой тела либо ожирением в жировой ткани сальника по сравнению с жировой тканью подкожной жировой клетчатки выявлено достоверно

большее количество клеток, экспрессирующих рецепторы к ФНО-α и ИЛ-6. У больных с метаболическим синдромом с возрастанием индекса массы тела отмечено увеличение количества клеток, экспрессирующих рецепторы к ФНО-α и ИЛ-6.

2. У лиц с нормальным индексом массы тела, с метаболическим синдромом и избыточной массой тела либо ожирением в жировой ткани подкожной жировой клетчатки выявлено достоверно большее количество клеток, экспрессирующих рецепторы к инсулину, а в сальнике – достоверно большее количество клеток, экспрессирующих рецепторы к кортизолу. У лиц с метаболическим синдромом и избыточной массой тела, ожирением способность адипоцитов экспрессировать рецепторы к инсулину в подкожной жировой клетчатке и сальнике снижалась с увеличением индекса массы тела, а способность экспрессировать рецепторы к кортизолу усиливалась.

Перспективой дальнейших исследований является выявление морфометрических особенностей жировой ткани подкожной жировой клетчатки и сальника у лиц с различной степенью ожирения.

Литературные источники References

1. Kolopkova TA, Blinova VV, Skvortsov YI, Subbotina VG. [Metabolic syndrome X – a pandemic of the XXI century]. *Saratov Journal of Medical Science*. 2008; 3 (21): 130-4. Russian.
2. Smirnova LE, Vinogradov VF, Smirnov AV, Kovtunova NP, Katchalov AS. [Metabolic syndrome from the viewpoint of a cardiologist and gastroenterologist: modern aspects of the problem (review)]. *Verkhnevolzhskiy medical journal*. 2012; 10(2): 12-7. Russian.
3. Egorov AD, Penkov DN, Tkachuk VA. [Molecular and cellular mechanisms of adipogenesis]. *Diabetes mellitus*. 2015; 18 (2): 12-9. Russian.
4. Sveklina TS, Talantseva MS, Barsukov AV. [The metabolic syndrome and inflammation: topical issues of pathogenesis]. *Clinical laboratory diagnostics*. 2013; 3: 7-10. Russian.
5. Butrova SA, Ershov EV, Ilyin AV. [Adipocytokines: resistin and tumor necrosis factor alpha in men with abdominal obesity]. *Obesity and metabolism*. 2007; 4: 30-3. Russian.
6. Shkolnik VV, Shaposhnikova YN, Nemtsov VD. [The relationship of ghrelin and TNF-A with various components of the metabolic syndrome]. *Zaporozhye medical journal*. 2012; 2 (71): 78-84. Russian.
7. Hoene M, Weigert C. The role of interleukin-6 in insulin resistance, body fat distribution and energy balance. *Obesity reviews*. 2008; 9: 20-9.
8. Dedov II, Melnichenko GA, Butrova SA. [Adipose tissue as an endocrine organ]. *Obesity and metabolism*. 2006; 1: 6-13. Russian.
9. Nikonova LV, Tishkovsky SV, Gulinskaya OV, Doroshkevich IP, Janets NV, Davydchik EV. [The metabolic activity of adipose tissue and its role in the formation of insulin resistance]. *Journal of Grodno State Medical University*. 2012; 1: 7-9. Russian.
10. Chuchelina OA. [Adipokines of adipose tissue and their role in the progression of renal pathology]. *International journal of medicine*. 2015; 2: 24-8. Russian.
11. Ivashkin VT, Maevskaya MV. [Lipotoxicity and metabolic disorders in obesity]. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*. 2010; 20 (1): 4-13. Russian.
12. Chernyshova AL, Kolomiets LA, Bochkaeva NV, Asadchikova ON. [Metabolic syndrome, the relationship with the processes of carcinogenesis of endometrium]. *Siberian journal of oncology*. 2008; 5 (29): 68-74. Russian.
13. Chubrieva SYu, Glukhov NV, Zaichik AM. [Adipose tissue as an endocrine regulator (review)]. *Bulletin of St Petersburg State University*. 2008; 11 (1): 32-43. Russian.

Милиця К.М., Сорокіна І.В., Мирошніченко М.С., Плітень О.М. Імуногістохімічні особливості жирової тканини сальника і підшкірної жирової клітковини у осіб з надлишковою масою тіла, ожирінням та метаболічним синдромом.

Реферат. Жирова тканина відіграє ключову роль у розвитку метаболічного синдрому, що обумовлює необхідність проведення комплексних морфологічних досліджень. Метою дослідження було виявлення імуногістохімічних особливостей жирової тканини підшкірної жирової клітковини і сальника у осіб з метаболічним синдромом і надмірною масою тіла або ожирінням I–III ступеня. Матеріалом дослідження стала жирова тканина підшкірної жирової клітковини і сальника. Застосовували гістологічний і імуногістохімічні методи дослідження. В результаті дослідження встановлено, що у осіб з нормальним індексом маси тіла, з метаболічним синдромом і надмірною масою тіла або ожирінням в жировій тканині сальника в порівнянні з жировою тканиною підшкірної жирової клітковини виявлена достовірно більша кількість клітин, які експресують рецептори до фактора некрозу пухлини альфа (ФНП- α), інтерлейкіна-6 (ІЛ-6) і кортизолу, а в жировій тканині підшкірної жирової клітковини – достовірно більша кількість клітин, які експресують рецептори до інсуліну. У хворих з метаболічним синдромом із зростанням індексу маси тіла в підшкірній жировій клітковині і сальнику відмічено збільшення кількості клітин, які експресують рецептори до ФНП- α і ІЛ-6, зниження здатності адипоцитів експресувати рецептори до інсуліну і посилення здатності експресувати рецептори до кортизолу.

Ключові слова: жирова тканина, сальник, підшкірна жирова клітковина, надмірна маса тіла, ожиріння, метаболічний синдром, імуногістохімія.