

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ *ITLN1*, *PPAR γ* И *TNF α* В ИНТРААБДОМИНАЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНИ

© Т. С. Усенко,^{1,2} В. В. Мирошникова,¹ Е. А. Баженова,² М. А. Николаев,^{1–3}
Д. Л. Бровин,² А. Э. Копытова,¹ А. А. Пантелева,^{1–3} Дж. Хе,² И. А. Семенова,¹
Н. Д. Разгильдина,¹ А. Е. Неймарк,² О. А. Беркович,² О. Д. Беляева,²
Е. И. Баранова,² С. Н. Пчелина^{1–3, *}

¹ Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова,
НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Ленинградская обл., 188350,
² 1-й С.-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова,
Санкт-Петербург, 197022
и ³ С.-Петербургский национальный исследовательский академический университет РАН,
Санкт-Петербург, 194021;
* электронный адрес: sopchelina@hotmail.com

Жировую ткань сегодня рассматривают как эндокринный орган, в котором тканеспецифическая регуляция экспрессии генов играет ключевую роль в процессах развития ожирения и сопутствующих патологий, таких как сахарный диабет и сердечно-сосудистые заболевания. Настоящее исследование посвящено оценке экспрессии генов *ITLN1*, *TNF α* и *PPAR γ* в интраабдоминальной жировой ткани и ее влиянию на уровень белков оментина 1 и *TNF α* в сыворотке крови у лиц с различной массой тела. Показано, что уровень *TNF α* в сыворотке крови значимо выше в подгруппе лиц с избыточной массой тела и ожирением (ИМТ ≥ 25 кг/м²) по сравнению с индивидуумами с нормальной массой тела (ИМТ < 25 кг/м²) ($p < 0.03$). Нами продемонстрировано, что уровень экспрессии гена *PPAR γ* положительно коррелирует с уровнем экспрессии гена *ITLN1* в интраабдоминальной жировой ткани ($r = 0.516$; $p < 0.03$). Уровень оментина 1 сыворотки крови положительно коррелирует с уровнем мРНК и белка *PPAR γ* в интраабдоминальной жировой ткани ($r = 0.550$, $p < 0.05$ и $r = 0.581$, $p < 0.03$ соответственно). Для лиц с избыточной массой тела и ожирением характерна отрицательная корреляция уровня мРНК гена *TNF α* с уровнем мРНК генов *PPAR γ* и *ITLN1* ($r = -0.549$, $p < 0.05$ и $r = -0.475$, $p < 0.05$ соответственно). Настоящее исследование впервые продемонстрировало корреляционную взаимосвязь между уровнем экспрессии гена *PPAR γ* в интраабдоминальной жировой ткани и уровнем экспрессии и секреции оментина 1.

Ключевые слова: жировая ткань, оментин 1, *PPAR γ* , *TNF α* , экспрессия генов *ITLN1*, *TNF α* и *PPAR γ* .

Принятые сокращения: ИМТ — индекс массы тела, СД2 — сахарный диабет 2-го типа, ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания.

В настоящее время принято считать, что жировая ткань является эндокринным органом, секретирующим гормоноподобные вещества и различные активные биомолекулы. Показана секреция клетками жировой ткани как молекул воспаления (цитокинов), так и специфических для жировой ткани адипокинов, которые обладают спектром разнообразных биологических эффектов и регулируют энергетические и метаболические процессы во всем организме (Leff, Granneman, 2010). Предполагается, что нарушение механизмов секреции адипоцитокинов при развитии ожирения может объяснять высокий риск развития сопутствующих патологий, таких как сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), сахарный диабет 2-го типа (СД2) и метаболический синдром (Amato, 2014; Деркач и др., 2015). Развитие ожирения сопряжено с изменением экспрессии большого числа генов в жировой ткани, в первую очередь генов углеводного и липидного

обменов, что может лежать в основе метаболических нарушений, гипертрофии адипоцитов и изменения секреции адипокинов (Kim et al., 2007; Wolfs et al., 2010). Молекулярные механизмы, регулирующие секреторную функцию жировой ткани, остаются неясными.

Рецептор, активируемый пероксисомным пролифератором гамма (peroxisome proliferator-activated receptor γ , *PPAR γ*), является основным транскрипционным фактором в регуляции адипогенеза, управляя экспрессией генов, вовлеченных в различные метаболические процессы, равно как и в механизмы дифференциации и роста жировых клеток (Leff, Granneman, 2010). *PPAR γ* играет, таким образом, ключевую роль в поддержании энергетического баланса и метаболизма липидов и глюкозы (Grygiel-Gorpiak, 2014). Предполагается, что *PPAR γ* определяет функцию клеток жировой ткани, в том числе участвуя в регуляции секреции адипоцитокинов (Mirzaei et al., 2013).

Т а б л и ц а 1

Антропометрические характеристики индивидуумов из группы с абдоминальным ожирением и группы контроля

Характеристики	Все индивидуумы, вошедшие в исследование	Индивидуумы с избыточной массой тела и абдоминальным ожирением	Индивидуумы с нормальной массой тела
n	34	20	14
Пол (мужчины : женщины)	7 : 27	4 : 16	3 : 11
Возраст, годы	45.00 (30.00—55.00)	47.00 (30.00—55.00)	42.00 (30.00—54.00)
Масса, кг	78.00 (47.00—176.00)	89.50 (67.00—176.00)	70.00 (47.00—78.00)
ИМТ, кг/м ²	28.73 (18.13—56.18)	34.09 (26.60—56.18)	22.46 (18.13—24.54)
Объем талии (ОТ), см	96.00 (56.00—160.00)	105.50 (88.00—160.00)	80.00 (56.00—90.00)
Объем бедер (ОБ), см	107.00 (87.00—175.00)	115.50 (102.00—175.00)	101.00 (87.00—113.00)
ОТ : ОБ	0.88 (0.50—1.00)	0.91 (0.84—1.11)	0.76 (0.65—0.84)

Примечание. Данные представлены в виде медианы (минимум—максимум).

Была продемонстрирована значимость PPAR γ в контроле экспрессии генов некоторых адипоцитокинов, таких как адипонектин, висфатин и резистин (Iwaki et al., 2003; Patel et al., 2003; Mayi et al., 2010; Singh et al., 2010; Tian et al., 2013). Адипокин оментин 1 обладает противовоспалительной активностью, принимает участие в метаболизме липидов и контроле чувствительности к инсулину, его уровень в сыворотке крови снижен при ожирении и СД2 (Souza Batista et al., 2007; Gürsoy et al., 2010; Shibata et al., 2012; Greulich et al., 2013; Urbanova et al., 2014). На сегодняшний день остается неизвестным, каким образом происходит тканеспецифическая регуляция экспрессии гена оментина 1 (*ITLN1*) в жировой ткани, которая в свою очередь может определять концентрацию оментина 1 в сыворотке крови. Мы предположили, что на экспрессию гена *ITLN1* в жировой ткани кроме ключевого регулятора адипогенеза PPAR γ может влиять провоспалительный цитокин TNF α , секреция которого клетками жировой ткани увеличивается при ожирении и который рассматривается в качестве негативного модулятора функции жировой ткани (Cawthorn, Sethi, 2008).

Провоспалительный цитокин TNF α , секреция которого увеличивается при ожирении, является негативным модулятором функции жировой ткани (Cawthorn, Sethi, 2008). В жировой ткани TNF α замедляет дифференцировку адипоцитов, блокируя экспрессию транскрипционных факторов, вовлеченных в адипо- и липогенез, в том числе PPAR γ (Zhang et al., 1996; Ruan et al., 2002; Kajita et al., 2004; Cawthorn, Sethi, 2008). Продуцируемый макрофагами TNF α способен изменять экспрессию генов в клетках жировой ткани, например таких секретируемых адипоцитами факторов, как лептин, интерлейкин 6, ингибитор активатора плазминогена 1, адреномодулин и др., которые принимают активное участие в развитии метаболического синдрома и инсулинорезистентности (Medina et al., 1999; Ruan et al., 2002; Bullo et al., 2002; Aubin et al., 2015).

Целью настоящей работы явилось исследование уровня экспрессии генов *ITLN1*, *TNF α* и *PPAR γ* в образцах инт-

раабдоминальной жировой ткани и уровня TNF α и оментина 1 в сыворотке крови у индивидуумов без СД2 и ССЗ с различными значениями индекса массы тела (ИМТ).

Материал и методика

Проведение данного исследования одобрено этическим комитетом 1-го С.-Петербургского медицинского университета им. акад. И. П. Павлова.

В исследованную выборку вошли 34 индивидуума (27 женщин и 7 мужчин, средний возраст 42.50 ± 12.50 , ИМТ 37.20 ± 19.03 кг/м²) с отсутствием СД2 и ССЗ. Все индивидуумы были разделены на две группы в соответствии со значениями ИМТ: на группу пациентов с избыточной массой тела и абдоминальным ожирением ($n = 20$, 16 женщин, 4 мужчины, средний возраст 40 ± 10 лет, ИМТ 37.80 ± 12.80 кг/м²) (ИМТ ≥ 25 кг/м²) и группу пациентов с нормальной массой тела (контроль) ($n = 14$, 11 женщин и 3 мужчины, средний возраст 42 ± 12 лет, ИМТ 22.43 ± 2.18 кг/м²) (ИМТ < 25 кг/м²). ИМТ считается основным критерием для определения степени абдоминального ожирения: нормальная масса тела — ИМТ менее 25 кг/м², избыточная масса — ИМТ в пределах 25—29.9 кг/м², ожирение — ИМТ ≥ 30 кг/м². Антропометрические характеристики исследуемых групп представлены в табл. 1.

Висцеральный интраабдоминальный жир был получен во время лапароскопической холецистэктомии путем забора от большого сальника в 1-м С.-Петербургском медицинском университете им. акад. И. П. Павлова. Полученный материал помещали в стерильный эппендорф, замораживали в жидком азоте и хранили при -70 °С до проведения исследования не более 1 года.

Оценка относительного уровня мРНК генов *ITLN1*, *TNF α* и *PPAR γ* в жировой ткани. Препараты тотальной РНК получали с помощью набора RNeasy Mini Kit (Qiagen, 74104, США). Концентрацию мРНК определяли при длине волны 260 нм. Чистоту вы-

Т а б л и ц а 2

Нуклеотидная последовательность праймеров и зондов

Ген	Последовательность (5'—3') прямого праймера, обратного праймера и зонда
<i>TNFα</i>	5' — cca-ggg-acc-tct-ctc-taa-tca — 3'
	5' — cta-caa-cat-ggg-cta-cag-gc — 3'
	5' — (FAM) — ctc-tgg-ccc-agg-cag-tcg-aat-ca — (BHQ1) — 3'
<i>PPARγ</i>	5' — tga-cag-cga-ctt-ggc-aat — 3'
	5' — tgg-gct-tca-cat-tca-gca — 3'
	5' — (FAM) — tat-tct-cag-tgg-aga-ccg-ccc-agg-t (RTQ1) — 3'
<i>ITLN1</i>	5' — aac-gcc-ttg-tgt-gct-gga-at — 3'
	5' — gta-tcc-tcc-tcc-acc-aat-gca — 3'
	5' — (FAM) — tca-ccg-gat-gta-aca-ctg-ag — (BHQ1) — 3'
<i>GNB2L1</i>	5' — gaa-tac-cct-ggg-tgt-gtg-caa — 3'
	5' — gga-cac-aag-aca-ccc-act-ctg-a — 3'
	5' — (R6G) — ta-cac-tgt-cca-gga-tga-ga (BHQ2) — 3'

деленных образцов РНК оценивали спектрофотометрически по отношению их оптических плотностей при 260 и 280 нм (критерий чистоты 1.8). Целостность фракций рибосомной РНК проверяли при помощи электрофореза в 1%-ном агарозном геле по соотношению интенсивности полос, соответствующих 28S и 18S рРНК (2 : 1 в случае отсутствия деградации). кДНК получали реакцией обратной транскрипции с использованием набора Revert Aid First cDNA Synthesis kit (K1622, Thermo scientific, Литва).

Определение относительного уровня мРНК генов *ITLN1*, *TNF α* и *PPAR γ* проводили методом количественной ПЦР в режиме реального времени на приборе CFX96 Touch (BioRad, США). Последовательности праймеров и зондов TaqMan, подобранные таким образом, чтобы праймеры располагались в соседних экзонах, а зонды отжигались в области экзонных стыков, представлены в табл. 2. В качестве референсного гена был использован конститутивно экспрессирующийся в клетках ген *GNB2L1* (guanine nucleotide binding protein (G protein), beta polypeptide 2-like). Оценку относительного уровня мРНК генов *ITLN1*, *TNF α* и *PPAR γ* проводили с использованием метода относительных измерений $\Delta\Delta C_t$ (<http://docs.appliedbiosystems.com/pebi/docs/04303859.pdf>).

Измерение уровня оментина 1 и *TNF α* в сыворотке крови. Уровень оментина 1 в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с помощью набора ELISA (Bio Vendor Laboratorni, Чешская Республика) согласно прилагаемой инструкции. Стандарты приготовлены на основе рекомбинантного белка. Уровень *TNF α* в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с помощью набора ELISA (Bender MedSystem, Австрия) согласно прилагаемой инструкции. В качестве стандарта использовали лиофилизированный *TNF α* в концентрации 1000 пг/мл после растворения.

Оценка содержания белка *PPAR γ* в жировой ткани. Уровень белка *PPAR γ* определяли методом Вестерн-блоттинга. Клетки лизировали в растворе (50 мМ Трис, pH 8.0, 150 мМ NaCl, 1 % Тритона X-100, 0.5 % дезоксихолата натрия и 0.1 % SDS), содержащем смесь ингибиторов протеаз (Roche, Швейцария). Количество общего белка определяли по методу Бредфорда. В работе использовали первичные кроличьи поликлональные антитела к *PPAR γ* (1 : 1000; ab27649, Abcam, Великобритания) и вторичные козлиные антитела к иммуноглобулинам кролика,

конъюгированные с пероксидазой хрена (1 : 3000; ab6721, Abcam, Великобритания). Связанные с соответствующим белком на фрагментах мембраны вторичные антитела идентифицировали с использованием набора Amersham ECLTM Plus System (Amersham, Великобритания). Данные вестерн-блоттинга анализировали с помощью программы ImageJ (версия 1,38a для Windows, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>). Содержание *PPAR γ* нормировали к содержанию β -актина.

Статистическая обработка результатов. Статистический анализ был проведен с использованием программы SPSS версия 17.0. Проверку полученных вариационных рядов на соответствие нормальному распределению проводили по методу Шапиро—Уилка. Сравнение вариационных рядов между двумя группами сравнения проводили с использованием U-критерия Манна—Уитни (в случае отсутствия соответствия нормальному распределению). Корреляционный анализ проводили с использованием коэффициента Спирмана. Значения $p < 0.05$ считали статистически значимыми. Данные представлены в виде медианы (минимум—максимум).

Результаты

В ходе данного исследования был оценен уровень мРНК генов *ITLN1*, *TNF α* , *PPAR γ* и уровня белка *PPAR γ* в интраабдоминальной жировой ткани, а также определены уровень *TNF α* и уровень оментина 1 в сыворотке крови в группе лиц с избыточной массой тела и ожирением (ИМТ ≥ 25 кг/м²) и в контрольной группе лиц с нормальной массой тела (ИМТ < 25 кг/м²). Уровень *TNF α* в сыворотке крови значимо различался между исследуемыми группами ($p = 0.023$) (рис. 1). Значения медианы уровня *TNF α* в сыворотке крови в группе лиц с избыточной массой тела и ожирением составили 20.40 (1.41—80.00) пг/мл и в группе индивидуумов с нормальной массой тела — 7.38 (3.10—27.20) пг/мл. Достоверно значимых различий в уровне мРНК *ITLN1*, *TNF α* и *PPAR γ* в интраабдоминальной жировой ткани и уровне оментина 1 в сыворотке крови между исследуемыми группами выявлено не было ($p > 0.05$) (данные не приведены).

Методом корреляционного анализа по Спирману была выявлена положительная корреляция между уровнем мРНК гена *PPAR γ* и мРНК гена *ITLN1* в интраабдо-

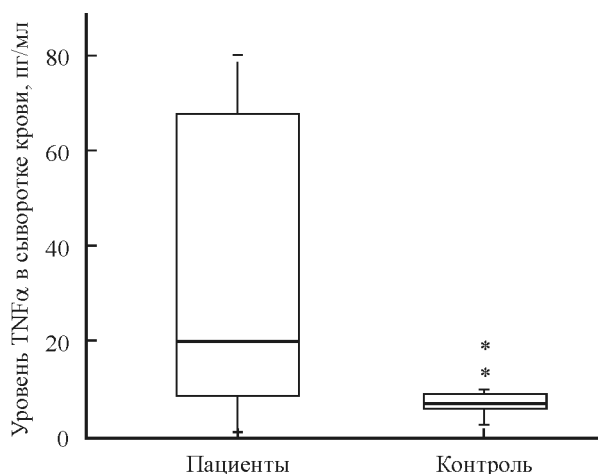


Рис. 1. Уровень TNF α в сыворотке крови у лиц с различным индексом массы тела ($p = 0.023$).

Пациенты — группа индивидуумов с избыточной массой тела и абдоминальным ожирением ($n = 20$), контроль — группа индивидуумов с нормальной массой тела ($n = 14$). Результаты представлены в виде медиан и квартилей (25 и 75 %), горизонтальные отрезки — медианы, звездочки — выбросы.

минальной жировой ткани ($r = 0.516$; $p 0.03$) (рис. 2, а), а также между уровнем мРНК гена *PPAR γ* в интраабдоминальной жировой ткани и уровнем оментина 1 в сыворотке крови ($r = 0.550$, $p < 0.05$) (рис. 2, б, в). Кроме того, наблюдали положительную корреляцию уровня белка *PPAR γ* в интраабдоминальной жировой ткани с уровнем оментина 1 в сыворотке крови ($r = 0.581$, $p < 0.03$). Данная корреляционная связь была более выраженной в группе пациентов с избыточной массой тела и ожирением ($r = 0.731$, $p < 0.05$) (рис. 2, г). Также для группы лиц с избыточной массой тела и ожирением была продемонстрирована отрицательная корреляция уровня мРНК гена *TNF α* в интраабдоминальной жировой ткани с уровнем мРНК как гена *PPAR γ* ($r = -0.549$, $p < 0.05$), так и гена *ITLN1* ($r = -0.475$, $p < 0.05$).

Обсуждение

В настоящем исследовании впервые проведена одновременная оценка тканеспецифичной экспрессии генов *ITLN1*, *TNF α* и *PPAR γ* в интраабдоминальной жировой ткани и уровня оментина 1 и TNF α в сыворотке крови у лиц как с избыточной, так и у лиц с нормальной массой тела. Ранее исследования тканеспецифичной экспрессии генов, вовлеченных в адипогенез и контролирующих секрецию адипокинов, в основном проводили на образцах подкожной жировой ткани (Bastard et al., 1999; Bulló et al., 2002; Wolfs et al., 2010). Тем не менее развитие сопутствующих ожирению патологий связывают с патологическим разрастанием именно висцеральной жировой ткани, которая отличается большей эндокринной активностью по сравнению с подкожной жировой тканью (Wajchenberg et al., 2002). В частности, оментин 1 является адипокином, селективно экспрессирующимся в висцеральной жировой ткани, которая и служит основным источником пула оментина 1 в сыворотке крови (Schaffler et al., 2005; Yang et al., 2006). Логично предположить, что уровень оментина 1 в сыворотке крови в первую очередь определяется уровнем экспрессии гена *ITLN1* в жировой ткани.

Особенности регуляции экспрессии гена *ITLN1* в интраабдоминальной жировой ткани до настоящего времени оставались неизученными. Исследование тканеспецифичной экспрессии генов и механизмов ее регуляции позволит обозначить новые мишени для лекарственной терапии.

Ранее было показано, что уровень циркулирующего в сыворотке крови *PPAR γ* имеет тенденцию положительно коррелировать с уровнем оментина 1 (Mirzaei et al., 2013). В настоящем исследовании нами впервые выявлена положительная корреляция между уровнем мРНК *PPAR γ* и уровнем мРНК гена *ITLN1* в интраабдоминальной жировой ткани. Выявленная положительная корреляция между уровнем мРНК *PPAR γ* и мРНК *ITLN1* в интраабдоминальной жировой ткани позволяет высказать предположение о том, что *PPAR γ* может участвовать в регуляции экспрессии гена *ITLN1*. Это предположение дополнительно подкрепляется наличием положительной корреляции между уровнем мРНК *PPAR γ* и белка *PPAR γ* и уровнем оментина 1 в сыворотке крови, продемонстрированной в настоящем исследовании. Таким образом, можно предположить значимую роль *PPAR γ* не только в регуляции экспрессии гена *ITLN1* в интраабдоминальной жировой ткани, но и в регуляции секреции оментина 1 жировой тканью.

PPAR γ является транскрипционным фактором, регулирующим экспрессию ряда генов, активно транскрибирующихся в жировой ткани (Leff, Granneman, 2010). Механизмы, с помощью которых *PPAR γ* связывается с ДНК и регулирует транскрипцию, подробно изучен. Взаимодействуя с различными лигандами, *PPAR γ* формирует гетеродимерный комплекс с другими факторами транскрипции. Данный комплекс связывается с особыми последовательностями ДНК, так называемыми элементами, отвечающими пероксисомным пролифераторам (peroxisome proliferator response element, PPRE), которые расположены в промоторных областях регулируемых генов и содержат последовательности AGGTCA и AGGTCA (Leff, Granneman, 2010). Показано, что промоторная область гена *ITLN1* содержит элемент PPRE (Akoum, 2014). Тем самым можно предположить прямую регуляцию экспрессии гена *ITLN1* ядерным фактором *PPAR γ* в интраабдоминальной жировой ткани.

В настоящее время агонисты *PPAR γ* — тиазолидиндионы — широко применяются при лечении СД2 (Karak et al., 2013; Choi et al., 2014). Тиазолидиндионы регулируют экспрессию генов, которые вовлечены в процесс метаболизма глюкозы, липидов и белков, усиливая чувствительность тканей к инсулину. Наши результаты свидетельствуют о том, что регуляция экспрессии и секреции оментина 1 может быть одним из механизмов действия данных препаратов. Физиологическая функция оментина 1 в настоящее время в полной мере неизвестна. Показано, что оментин 1 может оказывать модулирующие эффекты на процессы воспаления и гомеостаз липидов и глюкозы, а также имеет протективный эффект в отношении развития ССЗ и СД2 (Zhong et al., 2011; Shibata et al., 2012; Tan et al., 2015). Необходимо, однако, отметить, что данные носят противоречивый характер, и в недавнем проспективном исследовании, наоборот, было показано, что повышенный уровень оментина 1 в сыворотке крови является фактором риска развития ССЗ (Saely et al., 2016). Можно предположить, что ассоциация пониженного уровня оментина 1 с развитием ССЗ и СД2 в первую очередь проявляется у лиц, имеющих избыточную массу тела, что нашло подтверждение в ряде исследований (Cai et al., 2009; Pan et al., 2010; Liu et al., 2011). Можно предположить,

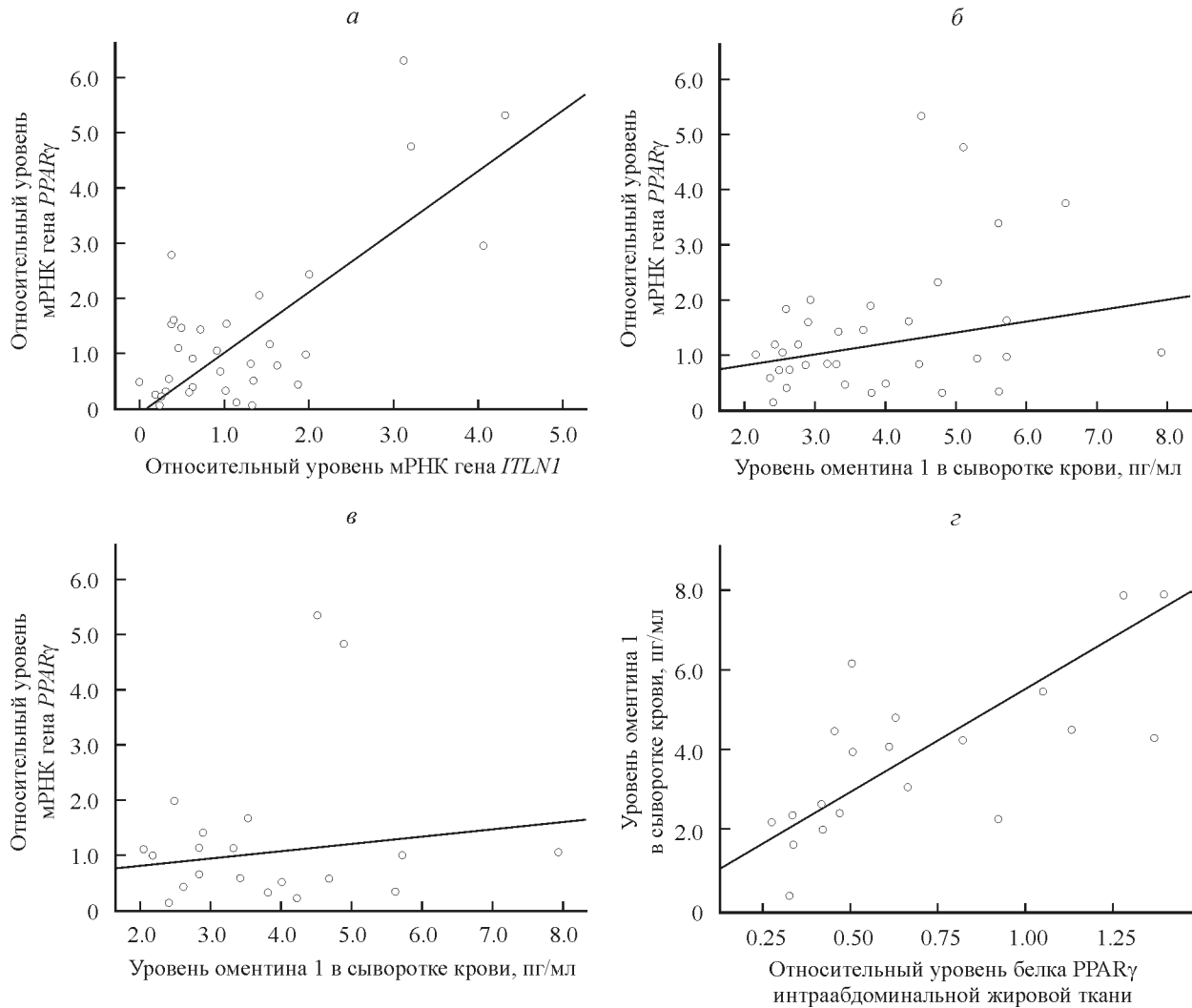


Рис. 2. Результаты корреляционного анализа уровня мРНК гена *PPAR γ* в интраабдоминальной жировой ткани и уровней оментина 1 и мРНК данного белка.

a — относительный уровень мРНК гена *PPAR γ* и относительный уровень мРНК гена *ITLN1* в интраабдоминальной жировой ткани среди всех участников исследования ($n = 34$, $r = 0.516$, $p < 0.03$); *б* — относительный уровень мРНК гена *PPAR γ* в интраабдоминальной жировой ткани и уровень оментина 1 в сыворотке крови среди всех участников исследования ($n = 34$, $r = 0.550$, $p < 0.05$); *в* — относительный уровень мРНК гена *PPAR γ* в интраабдоминальной жировой ткани и уровень оментина 1 в сыворотке крови в группе лиц с избыточной массой тела и ожирением ($n = 20$, $r = 0.690$, $p < 0.05$); *г* — относительный уровень белка *PPAR γ* в интраабдоминальной жировой ткани и уровень оментина 1 в сыворотке крови в группе пациентов с избыточной массой тела и ожирением. Уровень мРНК нормировали по *GNB2L1*.

что полученные нами данные об отсутствии различий в уровне оментина 1 сыворотки крови и уровне мРНК гена *ITLN1* между группами лиц с нормальной и избыточной массой тела связаны с отсутствием сопутствующих ожирению заболеваний у индивидуумов, включенных в исследование, таких как СД2 и ССЗ, которые, как было показано, могут влиять на уровень данного адипокина в крови (Gürsoy et al., 2010; Shibata et al., 2012; Greulich et al., 2013).

Нами не было выявлено значимых различий в уровне экспрессии гена *PPAR γ* в интраабдоминальной жировой ткани между группой лиц с избыточной массой тела и ожирением и группой индивидуумов с нормальной массой тела. Аналогичные результаты были получены в исследовании Кремплера с соавторами (Krempler et al., 2000), также выполненном на образцах интраабдоминальной жировой ткани. В то же время известно, что в подкожной жировой ткани при ожирении уровень мРНК гена *PPAR γ* повышается (Redonnet et al., 2002; Verhouma et al., 2013), что может указывать на различные механизмы ре-

гуляции экспрессии гена *PPAR γ* в подкожной и интраабдоминальной жировой ткани.

Нами было показано 3-кратное увеличение концентрации *TNF α* в сыворотке крови в группе лиц с избыточной массой тела и ожирением по сравнению с группой лиц с нормальной массой тела, что согласуется с результатами других исследователей (Kursawe et al., 2010). В то же время значимых различий в уровне мРНК гена *TNF α* в интраабдоминальной жировой ткани между исследуемыми группами выявить не удалось. Можно предположить, что возрастание концентрации *TNF α* в сыворотке крови в первую очередь определяется уровнем его продукции циркулирующими макрофагами в ходе хронической воспалительной реакции, которая реализуется при развитии ожирения (Subramanian, Ferrante, 2009). У лиц, страдающих избыточной массой тела и ожирением, нами была выявлена отрицательная корреляция уровня мРНК гена *TNF α* в интраабдоминальной жировой ткани с уровнем мРНК генов *PPAR γ* и *ITLN1*, что согласуется с негатив-

ной ролью TNF α в регуляции функции жировой ткани. Следует отметить, что в ряде исследований продемонстрирована противовоспалительная роль оментина 1, реализующаяся в том числе путем ингибирования TNF α (Yamawaki et al., 2011; Kazama et al., 2012). Необходимо отметить, что в жировой ткани TNF α оказывает угнетающее влияние на дифференцировку адипоцитов, блокируя экспрессию транскрипционных факторов, вовлеченных в адипо- и липогенез, в частности снижает активность PPAR γ на транскрипционном и посттрансляционном уровнях (Zhang, 1996; Ruan et al., 2002; Kajita et al., 2004; Cawthorn, Sethi, 2008; Nagy et al., 2013).

Таким образом, настоящее исследование впервые продемонстрировало корреляционную взаимосвязь между уровнем экспрессии гена PPAR γ в интраабдоминальной жировой ткани с уровнем экспрессии и секреции оментина 1. Наши результаты позволяют предположить, что PPAR γ может регулировать экспрессию гена *ITLN1* в интраабдоминальной жировой ткани, и влиять на секрецию и концентрацию оментина 1 в сыворотке крови.

Список литературы

- Деркач К. В., Кузнецова Л. А., Шарова Т. С., Игнатьева П. А., Бондарева В. М., Шпаков А. О. 2015. Влияние длительной обработки метформином на активность аденилатциклазной системы и NO-синтаз в мозге и миокарде крыс с ожирением. Цитология. 57 (5) : 360—369. (Derkach K. V., Kuznetsova L. A., Sharova T. S., Ignat'eva P. A., Bondareva V. M., Shpakov A. O. 2015. The effect of prolonged metformin treatment on the activity of the adenylyl cyclase system and NO-synthase in the brain and myocardium of obese rats. Cell Tissue Biol. 9 (5) : 385—394.)
- Akoum S. E. 2014. PPAR gamma at the crossroads of health and disease: a masterchef in metabolic homeostasis. Endocrinol. Metab. Syndr. 3 : 126.
- Amato M. C., Pizzolanti G., Torregrossa V., Misiano G., Milano S., Giordano C. 2014. Visceral adiposity index (VAI) is predictive of an altered adipokine profile in patients with type 2 diabetes. PLoS ONE. 9 : e91969.
- Aubin K., Safoine M., Proulx M., Audet-Casgrain M. A., Cote J. F., Tetu F. A., Roy A., Fradette J. 2015. Characterization of *in vitro* engineered human adipose tissues: relevant adipokine secretion and impact of TNF- α . PLoS ONE. 10 : e0137612.
- Bastard J. P., Hainque B., Dusserre E., Bruckert E., Robin D., Vallier P., Perche S., Robin P., Turpin G., Jardel C., Laville M., Forest C., Vidal H. 1999. Peroxisome proliferator activated receptor-gamma, leptin and tumor necrosis factor-alpha mRNA expression during very low calorie diet in subcutaneous adipose tissue in obese women. Diabetes Metab. Res. Rev. 15 : 92—98.
- Berhouma R., Kouidhi S., Ammar M., Abid H., Ennafaa H., Benammar-Elgaaid A. 2013. Correlation of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR- γ) mRNA expression with Pro12Ala polymorphism in obesity. Biochem. Genet. 51 : 256—263.
- Bulló M., García-Lorda P., Peinado-Onsurbe J., Hernández M., Del Castillo D., Argilés J. M., Salas-Salvado J. 2002. TNF- α expression of subcutaneous adipose tissue in obese and morbid obese females: relationship to adipocyte LPL activity and leptin synthesis. Int. J. Obesity. 26 : 652—658.
- Cai R. C., Wei L., Di J. Z., Yu H. Y., Bao Y. Q., Jia W. P. 2009. Expression of omentin in adipose tissues in obese and type 2 diabetic patients. Zhonghua Yi Xue Za Zhi. 89 : 381—384.
- Cawthorn W. P., Sethi J. K. 2008. TNF- α and adipocyte biology. FEBS Lett. 582 : 117—131.
- Choi S. S., Park J., Choi J. H. 2014. Revisiting PPAR γ as a target for the treatment of metabolic disorders. BMB Rep. 47 : 599—608.
- Greulich S., Chen W. J. Y., Maxhera B., Rijzewijk L. J., van der Meer R. W. 2013. Cardioprotective properties of omentin-1 in type 2 diabetes: evidence from clinical and *in vitro* studies. PLoS ONE. 8 : e59697.
- Grygiel-Gorniak B. 2014. Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: nutritional and clinical implications—a review. Nutr. J. 13 : 17.
- Gürsoy G., Kirnap N. G., Ebah O., Acar Y., Demirba B., Akçayöz S., Öztürk A. 2010. The relationship between plasma omentin-1 levels and insulin resistance in newly diagnosed type 2 diabetic women. Clin. Rev. Opin. 2 : 49—54.
- Iwaki M., Matsuda M., Maeda N., Funahashi T., Matsuzawa Y., Makishima M., Shimomura I. 2003. Induction of adiponectin, a fat-derived antidiabetic and antiatherogenic factor, by nuclear receptors. Diabetes. 52 : 1655—1663.
- Kajita K., Mune T., Kanoh Y., Natsume Y., Ishizawa M., Kawai Y., Yasuda K., Sugiyama C., Ishizuka T. 2004. TNF α reduces the expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) via the production of ceramide and activation of atypical PKC. Diabetes Res. Clin. Pract. 66 : 79—83.
- Karak M., Bal N. C., Bal C., Sharon A. 2013. Targeting peroxisome proliferator-activated receptor gamma for generation of antidiabetic drug. Curr. Diabetes Rev. 9 : 275—285.
- Kazama K., Usui T., Okada M., Hara Y., Yamawaki H. 2012. Omentin plays an anti-inflammatory role through inhibition of TNF- α -induced superoxide production in vascular smooth muscle cells. Eur. J. Pharmacol. 686 : 116—123.
- Kim J., van de Wall E., Laplante M., Azzara A., Trujillo M. E., Hofmann S. M., Schraw T., Durand J. L., Li H., Li G., Jelicks L. A., Mehler M. F., Hui D. Y., Deshaies Y., Shulman G. I., Schwartz G. J., Scherer P. E. 2007. Obesity-associated improvements in metabolic profile through expansion of adipose tissue. J. Clin. Invest. 117 : 2621—2637.
- Krempler F., Breban D., Oberkofler H., Esterbauer H., Hell E., Paulweber B., Patsch W. 2000. Leptin, peroxisome proliferator-activated receptor-gamma, and CCAAT/enhancer binding protein-alpha mRNA expression in adipose tissue of humans and their relation to cardiovascular risk factors. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 20 : 443—449.
- Kursawe R. I., Narayan D., Cali A. M., Shaw M., Pierpont B., Shulman G. I., Caprio S. 2010. Downregulation of ADIPOQ and PPAR γ 2 gene expression in subcutaneous adipose tissue of obese adolescents with hepatic steatosis. Obesity (Silver Spring). 10 : 1911—1917.
- Leff T., Granneman J. G., 2010. Adipose tissue in health and disease. Weinheim WILEY-VCH Verlag GmbH&Co KGaA, 491 p.
- Liu R., Wang X., Bu P. 2011. Omentin-1 is associated with carotid atherosclerosis in patients with metabolic syndrome. Diabetes Res. Clin. Pract. 93 : 21—25.
- Mayi T. H., Duhem C., Copin C., Bouhrel M. A., Rigamonti E., Pattou F., Staels B., Chinetti-Gbaguidi G., 2010. Visfatin is induced by peroxisome proliferator-activated receptor gamma in human macrophages. FEBS J. 277 : 3308—3320.
- Medina E. A., Stanhope K. L., Mizuno T. M., Mobbs C. V., Gregoire F., Hubbard N. E., Erickson K. L., Havel P. J. 1999. Effects of tumor necrosis factor alpha on leptin secretion and gene expression: relationship to changes of glucose metabolism in isolated rat adipocytes. Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. 23 : 896—903.
- Mirzaei K., Hossein-Nezhad A., Keshavarz S. A., Koohdani F., Saboor-Yaraghi A. A., Hosseini S., Eshraghian M. R., Djalali M. 2013. Crosstalk between circulating peroxisome proliferator-activated receptor gamma, adipokines and metabolic syndrome in obese subjects. Diabetol. Metab. Syndr. 5 : 79.
- Nagy Z. S., Czimmerer Z., Szanto A., Nagy L. 2013. Pro-inflammatory cytokines negatively regulate PPAR γ mediated gene expression in both human and murine macrophages via multiple mechanisms. Immunobiology. 218 : 1336—1344.
- Pan H. Y., Guo L., Li Q. 2010. Changes of serum omentin-1 levels in normal subjects and in patients with impaired glucose regulation and with newly diagnosed and untreated type 2 diabetes. Diabetes Res. Clin. Pract. 88 : 29—33.
- Patel L., Buckels A. C., Kinghorn I. J., Murdock P. R., Holbrook J. D., Plumpton C., Macphee C. H., Smith S. A. 2003. Resistin is

expressed in human macrophages and directly regulated by PPAR gamma activators. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 300 : 472—476.

Redonnet A., Bonilla S., Noël-Suberville C., Pallet V., Dabadie H., Gin H., Higuieret P. 2002. Relationship between peroxisome proliferator-activated receptor gamma and retinoic acid receptor alpha gene expression in obese human adipose tissue. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 26 : 920—927.

Ruan H., Miles P. D., Ladd C. M., Ross K., Golub T. R., Olefsky J. M., Lodish H. F. 2002. Profiling gene transcription *in vivo* reveals adipose tissue as an immediate target of tumor necrosis factor-alpha: implications for insulin resistance. *Diabetes.* 51 : 3176—3188.

Saely C. H., Leihener A., Muendlein A., Vonbank A., Rein P., Geiger K., Malin C., Drexel H. 2016. High plasma omentin predicts cardiovascular events independently from the presence and extent of angiographically determined atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 244 : 38—43.

Schäffler A., Neumeier M., Herfarth H., Fürst A., Schölmicher J., Büchler C. 2005. Genomic structure of human omentin, a new adipocytokine expressed in omental adipose tissue. *Biochim. biophys. acta.* 1732 : 96—102.

Shibata R., Ouchi N., Takahashi R., Terakura Y., Ohashi K., Ikeda N. 2012. Omentin as a novel biomarker of metabolic risk factors. *Diabetol. Metab. Syndr.* 4 : 37.

Singh A. K., Battu A., Mohareer K., Hasnain S. E., Ehtesham N. Z. 2010. Transcription of human resistin gene involves an interaction of Sp1 with peroxisome proliferator-activating receptor gamma (PPARgamma). *PLoS ONE.* 5 : e9912.

Souza Batista C. M., Yang R. Z., Lee M. J., Glynn N. M., Yu D. Z., Pray J., Ndubuizu K., Patil S., Schwartz A., Kligman M., Fried S. K., Gong D. W., Shuldiner A. R., Pollin T. I., McLenithan J. C. 2007. Omentin plasma levels and gene expression are decreased in obesity. *Diabetes.* 56 : 1655—1661.

Subramanian V., Ferrante A. W. 2009. Obesity, inflammation, and macrophages. *Nestle Nut. Workshop Ser. Pediatr. Program.* 63 : 151—159.

Tan Y. L., Zheng X. L., Tang C. K. 2015. The protective functions of omentin in cardiovascular diseases. *Clin. Chim. Acta.* 448 : 98—106.

Tian C., Ye X., Zhang R., Long J. 2013. Green tea polyphenols reduced fat deposits in high fat-fed rats via erk1/2-PPARgamma- adiponectin pathway. *PLoS ONE.* 8 : e53796.

Urbanová M., Dostálová I., Trachta P., Drápalová J., Kaválková P., Haluzíková D., Matoulek M., Lacinová Z., Mráz M., Kasalický M., Haluzík M. 2014. Serum concentrations and subcutaneous adipose tissue mRNA expression of omentin in morbid obesity and type 2 diabetes mellitus: the effect of very-low-calorie diet, physical activity and laparoscopic sleeve gastrectomy. *Physiol. Res.* 63 : 207—218.

Wajchenberg B. L., Giannella-Neto D., da Silva M. E., Santos R. F. 2002. Depot-specific hormonal characteristics of subcutaneous and visceral adipose tissue and their relation to the metabolic syndrome. *Horm. Metab. Res.* 34 : 616—621.

Wolfs M., Rensen S. S., Bruin-Van Dijk E. J., Verdam F. J., Greve J.-W., Sanjabi B., Bruinenberg M., Wijmenga C., van Haef-ten T. W., Buurman W. A., Franke L., Hofker M. H. 2010. Co-expressed immune and metabolic genes in visceral and subcutaneous adipose tissue from severely obese individuals are associated with plasma HDL and glucose levels: a microarray study. *BMC Medical Genomics.* 3 : 34.

Yamawaki H., Kuramoto J., Kameshima S., Usui T., Okada M., Hara Y. 2011. Omentin, a novel adipocytokine inhibits TNF-induced vascular inflammation in human endothelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 408 : 339—343.

Yang R. Z., Lee M. J., Hu H., Pray J., Wu H. B., Hansen B. C. 2006. Identification of omentin as a novel depot-specific adipokine in human adipose tissue: possible role in modulating insulin action. *Amer. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 290 : 1253—1261.

Zhang B., Berger J., Hu E., Szalkowski D., White-Carrington S., Spiegelman B. M., Moller D. E. 1996. Negative regulation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene expression contributes to the antiadipogenic effects of tumor necrosis factor-alpha. *Mol. Endocrinol.* 110 : 1457—1466.

Zhong X., Zhang H. Y., Tan H., Zhou Y., Liu F. L., Chen F. Q., Shang D. Y., 2011. Association of serum omentin-1 levels with coronary artery disease. *Acta Pharmacol. Sin.* 32 : 873—878.

Поступила 24 V 2016

ITLN1, *PPARγ* AND *TNFα* GENE EXPRESSION IN VISCERAL ADIPOSE TISSUE

T. S. Usenko,^{1,2} V. V. Miroshnikova,¹ E. A. Bazhenova,² M. A. Nikolaev,^{1—3} D. L. Brovin,²
A. E. Kopytova,¹ A. A. Panteleeva,^{1—3} J. He,² I. A. Semenova,¹ N. D. Razgildina,¹
A. E. Neimark,² O. A. Berkovich,² O. D. Belyaeva,² E. I. Baranova,² S. N. Pchelina^{1—3,*}

¹ Petersburg Nuclear Physics Institute, Gatchina, Leningrad Region, 188350,

² 1st I. P. Pavlov State Medical University of St. Petersburg, 197022, St. Petersburg

and ³ St. Petersburg Academic University — Nanotechnology Research and Education Centre RAS, St. Petersburg, 194021;

* e-mail: sopchelina@hotmail.com

The adipose tissue is considered today as an endocrine organ in which tissue-specific regulation of gene expression plays a key role in the processes of development of obesity and comorbidities, such as diabetes and cardiovascular disease. The present study is focused on *ITLN1*, *PPARγ* and *TNFα* gene expression in intra-abdominal adipose tissue and its effect on the serum levels of omentin 1 and *TNFα* in individuals with different body mass. It has been shown that serum *TNFα* level is significantly higher in the subgroup of patients with overweight and obesity (BMI ≥ 25 kg/m²) as compared to individuals with normal body weight (BMI < 25 kg/m²) ($p < 0.03$). We have demonstrated that the expression level of the *PPARγ* gene is positively correlated with the *ITLN1* gene expression level in the intra-abdominal adipose tissue ($r = 0.516$, $p = 0.020$). Serum level of omentin 1 positively correlates with *PPARγ* mRNA and protein levels in intra-abdominal adipose tissue ($r = 0.550$, $p < 0.05$ and $r = 0.581$, $p < 0.03$, respectively). For the subgroup of patients with overweight and obesity, we have shown negative correlation of the level of *TNFα* mRNA with *PPARγ* and *ITLN1* mRNA levels was shown ($r = -0.549$, $p < 0.05$ and $r = -0.475$, $p < 0.05$, respectively). This study is the first to show a correlation relationship between *PPARγ* gene expression level in the intra-abdominal adipose tissue and the expression and secretion levels of omentin 1.

Key words: adipose tissue, omentin 1, *PPARγ*, *TNFα*, gene expression.