

*У. С. Ооржак, Т. Е. Таранушенко, А. Б. Салмина, В. Н. Панфилова, С. В. Михуткина***АПОПТОЗ АДИПОЦИТОВ И ПРОГРЕССИРУЮЩИЕ ФОРМЫ ОЖИРЕНИЯ У ДЕТЕЙ\***

Кафедра детских болезней № 1, кафедра биохимии с курсом медицинской химии Красноярской государственной медицинской академии

Ожирение является одной из актуальных проблем современного здравоохранения. В XXI столетии ожирение, относящееся к числу наиболее распространенных хронических заболеваний, принимает характер глобальной эпидемии, охватывающей практически все страны и народы мира. Эксперты ВОЗ предполагают, что количество лиц с ожирением к 2005 г. по сравнению с 2000 г. увеличится почти в 2 раза и составит более 300 млн человек. С каждым годом ситуация ухудшается, ожирение "молодеет", становится проблемой не только взрослых, но детей и подростков. В настоящее время в развитых странах мира до 20% подростков имеют избыточную массу тела, а 15% страдают ожирением. В Российской Федерации ожирение имеют 5,5% детей, проживающих в сельской местности, и 8,5% детей — в городской. Ожирение является социальной проблемой, так как приводит к ранней инвалидизации и сокращает среднюю предполагаемую продолжительность жизни. Наконец, ожирение сопровождается такими заболеваниями, как сахарный диабет 2-го типа, артериальная гипертензия, дислипидемия, ишемическая болезнь сердца, а также инсулинорезистентность и гиперинсулинемия.

Ранее считалось, что снижение массы тела ассоциируется с уменьшением размера адипоцитов, но не их количества, однако в последние 5—7 лет акценты в понимании регуляции массы жировой ткани стали существенно меняться. Так, было показано, что редуцирование массы жировой ткани сопровождается гибелью части адипоцитов, реализуемой по варианту апоптоза (Prins, 1997), однако этот процесс не индуцируется простым снижением калорийности потребляемой пищи.

Цель работы — изучение выраженности апоптоза в жировой ткани с учетом клинико-анамнестических параметров (отягощенная наследственность, большая масса тела при рождении, тип и степень тяжести данной патологии).

**Материалы и методы**

Рассмотрены особенности апоптоза адипоцитов у 18 детей (средний возраст  $12,7 \pm 2,1$  года) с ожирением. В зависимости от поставленной задачи из числа обследованных формировались следующие подгруппы: 1-я — дети с ожирением II или III степени (тяжесть ожирения определяли по ИМТ с последующим расчетом процента избыточной массы

тела — по рекомендациям Ю. А. Князева [2]; превышение массы тела на 30—49% от возрастно-половой нормы соответствовало II степени, на 50—99% — III степени ожирения); 2-я — пациенты с отягощенной наследственностью по ожирению или без указаний на ожирение у родственников; 3-я — дети с массой тела при рождении более 3900 г или с нормальной массой; 4-я — больные с абдоминальным или общим ожирением (в зависимости от показателя соотношения окружности талии — ОТ к окружности бедер — ОБ, при  $ОТ/ОБ > 0,85$  у девочек и  $ОТ/ОБ > 0,9$  у мальчиков диагностировали абдоминальную форму ожирения).

Гистологическим материалом служила подкожная жировая ткань окологупочной области, полученная при оперативной биопсии. Детекция апоптоза осуществлена в депарафинизированных срезах жировой ткани с помощью набора "Mebstain Apoptosis Detection kit" ("Immunotech", Франция) согласно протоколу фирмы-производителя. Подсчитывали общее количество TUNEL<sup>+</sup> (апоптотических) клеток жировой ткани в 20 полях зрения ( $\times 900$ ) с последующим расчетом апоптотического индекса — АИ (АИ = число TUNEL<sup>+</sup>-клеток в 1 поле зрения). В связи с отсутствием нормативной базы по оценке апоптоза клеток жировой ткани настоящий анализ полученных данных проведен на основании расчета центильных значений числа TUNEL<sup>+</sup>-клеток. Наряду с этим АИ оценивали в пределах заданных интервалов: замедленный апоптоз — АИ в интервале 0,1—2,5; допустимая программированная гибель адипоцитов — АИ 2,6—5,0 и ускоренный апоптоз — АИ в пределах 5,1—7,5.

Статистическая обработка результатов осуществлена с применением прикладных программ "Statistica" 6.0 for Windows, MS Excel 9.0 с расчетом средних арифметических значений и их стандартных отклонений.

**Результаты и их обсуждение**

Анализ выраженности апоптоза адипоцитов с учетом степени тяжести ожирения показал, что при II степени ожирения допустимые значения TUNEL<sup>+</sup>-клеток в интервале 25—75 центиля имели 5 (71,4%) обследованных, при III степени ожирения указанному интервалу соответствовали результаты обследований 6 (54,5%) детей, статистических значимых различий с предыдущей подгруппой не было. Однако у пациентов с ожирением III степени общий показатель погранично сниженного (число TUNEL<sup>+</sup>-клеток ниже 10-го центиля) и патологически сниженного (число TUNEL<sup>+</sup>-клеток менее

\*Должено на Всероссийской конференции по детской эндокринологии "Достижения науки — в практику детской эндокринологии".

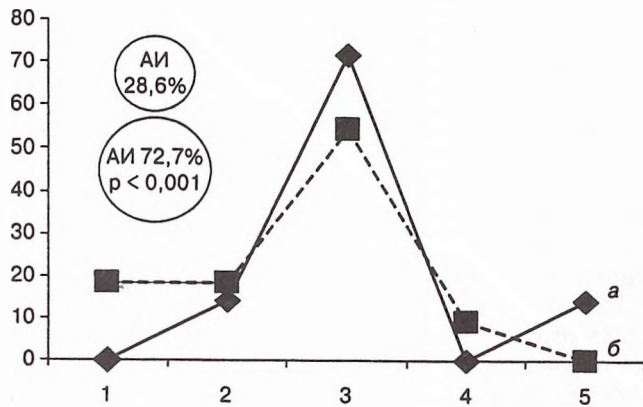


Рис. 1. Апоптоз у детей с ожирением II (а) и III (б) степени.

Здесь и на рис. 2—4: по осям абсцисс — число TUNEL<sup>+</sup>-клеток ( $M \pm \delta$ ), по осям ординат — количество детей (%). Здесь и на рис. 2—4: 1 — патологически замедленный апоптоз, 2 — погранично замедленный апоптоз, 3 — норма, 4 — погранично ускоренный апоптоз, 5 — патологически ускоренный апоптоз.

3-го центиля) апоптоза был в 2 раза выше и составил 36,4% против 14,3% при ожирении II степени. Частота встречаемости случаев ускоренного апоптоза адипоцитов не имела существенных различий в рассматриваемых подгруппах. Оценка апоптоза по данным АИ при ожирении разной степени тяжести показала, что число случаев с низкими значениями АИ, указывающими на замедленный апоптоз, было значительно выше при ожирении III степени (72,7% против 28,6%;  $p < 0,05$ ).

Повышенные показатели АИ, указывающие на ускоренный апоптоз, выявлялись в подгруппах с примерно одинаковой частотой — 14,3 и 9,1% (рис. 1).

Наряду с изучением выраженности апоптоза в зависимости от степени тяжести ожирения рассмотрена возможность взаимосвязи отягощенной наследственности по ожирению и запрограммированной гибели адипоцитов. В подгруппе из 7 детей с ожирением и отягощенной наследственностью по данной патологии допустимые значения апоптоза имели 4 (57,1%) ребенка, а при неотягощенной наследственности — 7 (63,6%) пациентов из 11.

Результаты погранично замедленного и патологически сниженного апоптоза выявлялись с примерно одинаковой частотой независимо от указаний на избыточную массу тела у родственников. Высокие значения числа TUNEL<sup>+</sup>-клеток выявлены только у 1 (14,3%) ребенка с ожирением и отягощенной наследственностью. При оценке АИ установленный процент анализов, свидетельствующих о замедленном, допустимом и ускоренном апоптозе, был примерно одинаковым и не зависел от отягощенной наследственности. В обеих подгруппах отмечено увеличение числа детей, имеющих низкие показатели АИ: соотношение крайних интервальных значений (АИ 0,1—2,5 и 5,1—7,5) составило 4:1 при ожирении с отягощенной наследственностью и 6:1 при ожирении без указания на избыточную массу тела у родственников. Полученные данные свидетельствуют в целом о существенном (в 4—6 раз) преобладании доли детей с замедленным апоптозом адипоцитов и низким удельном весе пациентов с ускоренной за-

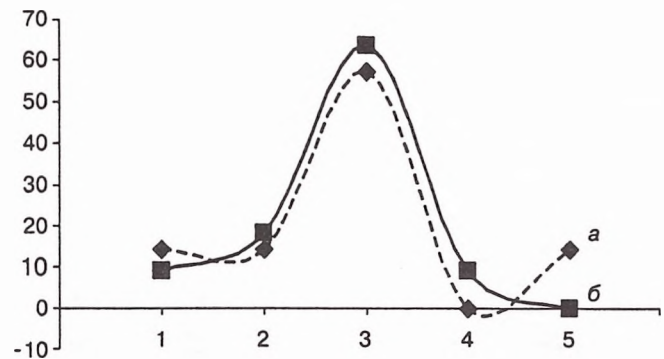


Рис. 2. Апоптоз при ожирении у детей с отягощенной (а) и неотягощенной (б) наследственностью.

программированной гибелью жировых клеток при ожирении (рис. 2).

Кроме степени тяжести ожирения и наследственного фактора, рассмотрена выраженность апоптоза адипоцитов в зависимости от массы тела при рождении. Из числа больных выделены 2 подгруппы: в 1-ю вошли 5 детей с массой тела при рождении 3900 г и более, во 2-ю — 13 пациентов с нормальной массой тела при рождении. Установлено, что в 1-й подгруппе детей допустимые показатели выраженности апоптоза (пределы 25—75-го центиля) имели 3 (60%) ребенка, а во 2-й — 8 (61,5%) пациентов. Показатель TUNEL<sup>+</sup>-клеток, указывающих на патологически замедленный апоптоз, отмечен в 2 (40%) случаях (только среди детей с большой массой тела при рождении). Патологически ускоренный апоптоз адипоцитов отмечен только в 1 (7,7%) случае из числа детей с нормальной массой тела при рождении. АИ в 1-й и 2-й подгруппах составил 20,0 и 38,5% соответственно. Выявлена тенденция к увеличению доли детей с замедленным апоптозом адипоцитов в подгруппе пациентов с большой массой тела при рождении по сравнению с больными с нормальной массой тела при рождении (80,0% против 46,1%) (рис. 3).

Рассмотрены особенности апоптоза адипоцитов у детей с учетом типа ожирения: 1-ю подгруппу составили 9 пациентов с абдоминальным типом ожирения, 2-ю — 9 детей с общим ожирением. Изучение выраженности апоптоза показало, что в 1-й подгруппе допустимое количество TUNEL<sup>+</sup>-клеток (25—75-й центиль) регистрировалось у 5 (55,5%)

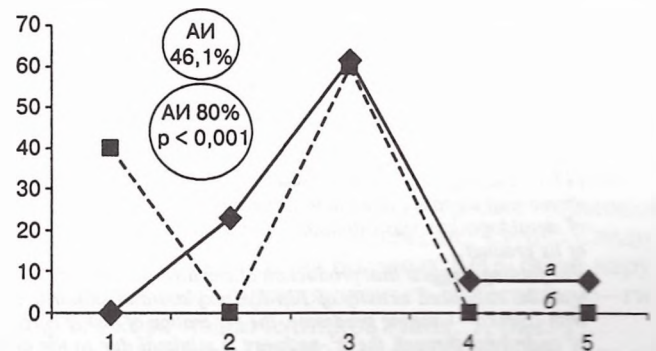


Рис. 3. Апоптоз при ожирении у детей с нормальной (а) и большой (б) массой тела.

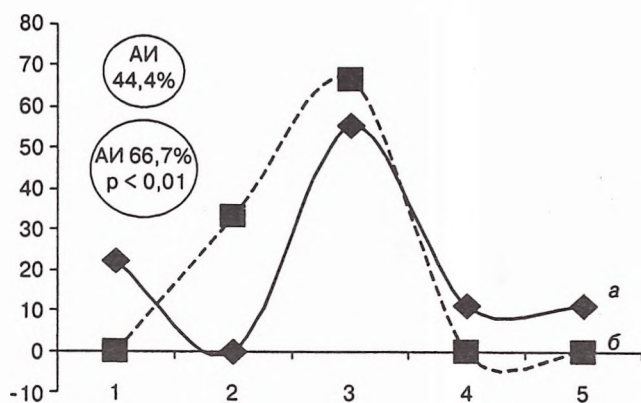


Рис. 4. Апоптоз при абдоминальной (а) и общей (б) формах ожирения.

детей, а во 2-й — у 6 (66,7%) детей. Патологически низкая (ниже 3-го центиля) и высокая (выше 97-го центиля) апоптотическая активность отмечена соответственно в 2 (22,2%) и 1 (11,1%) исследованиях только при абдоминальном типе ожирения. Сравнение данных подгрупп выявляет отсутствие патологических отклонений в числе TUNEL<sup>+</sup>-клеток (и в первую очередь замедленный апоптоз) при общем ожирении. При анализе показателей АИ не отмечено статистически значимых различий частоты выявляемости низких (интервал 0,1—2,5) и средних (интервал 2,6—5,0) значений в указанных подгруппах; однако высокие значения АИ (интервал 5,1—7,5) установлены только у 2 больных с абдоминальным ожирением (рис. 4).

Таким образом, проведенные исследования позволили установить различия в выраженности апоптотических процессов на фоне ожирения, которые характеризовались увеличением результатов с замедленным апоптозом адипоцитов при более выраженных формах ожирения ( $p < 0,05$ ). Это не исключает причастности нарушения реализации запрограммированной клеточной гибели в жировой ткани к избыточному накоплению подкожного жира и прогрессированию ожирения с дальнейшей прибавкой массы тела.

Вместе с тем установлен факт ускоренного апоптоза при абдоминальном ожирении, т. е. адипоциты жировой ткани детей с абдоминальным ожирением демонстрируют ускорение реализации программы апоптоза, что, возможно, является проявлением липотоксичности при данной патологии.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Беляков Н. А., Мазуров В. И. Ожирение. — СПб., 2003.
2. Князев Ю. А. Возрастные гормонально-метаболические нормативы: Научно-метод. пособие для педиатров и эндокринологов. — М., 1998.
3. Дедов И. И., Мельниченко Г. А. Ожирение. — М., 2004.
4. Ян Тамонь. Ожирение. Патология, диагностика, лечение. — Варшава, 1981. — С. 69—84.
5. Laura L., Xianlin Han. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2003. — Vol. 100, N 6. — P. 3077—3082.
6. Roger H. Unger. // Medical Sciences. — 1999. — Vol. 96, N 5. — P. 2327—2332.
7. Roger H. Unger. // Physiol. — 2003. — Vol. 65. — P. 333—347.

Поступила 26.10.05

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2007

УДК 616.453.008.61-07:616.154:577.175.53

Н. П. Гончаров, Г. С. Колесникова, Т. Н. Тодуа, Л. Я. Рожинская, Е. И. Марова

### СТЕРОИДОГЕНЕЗ В КОРЕ НАДПОЧЕЧНИКОВ И СЕКРЕЦИЯ НАДПОЧЕЧНИКОВЫХ АНДРОГЕНОВ ПРИ БОЛЕЗНИ И СИНДРОМЕ ИЦЕНКО—КУШИНГА

ГУ Эндокринологический научный центр (дир. — акад. РАН и РАМН И. И. Дедов) РАМН, Москва

Исследовали суточную динамику секреции дегидроэпиандростерона, его сульфата и кортизола, а также их предшественников (17-гидроксипрегненолона, 17-гидроксипрогестерона и 11-дезоксикортизола) у больных с синдромом и болезнью Иценко—Кушинга. Для каждого гормона были вычислены среднесуточные концентрации в крови. Оценивали активность ферментных систем стероидогенеза по отношению среднесуточных концентраций предшественника и продукта ферментативной реакции.

Полученные результаты показывают, что для больных болезнью Иценко—Кушинга характерно образование повышенных количеств кортикостероидов (как кортизола, так и андрогенов) через  $\Delta^3$ -путь с возрастанием активности  $11\beta$ -гидроксилазы и сульфатазы. У больных с синдромом Кушинга образование повышенных количеств кортизола осуществляется через  $\Delta^4$ -путь, тогда как синтез андрогенов по  $\Delta^5$ -пути минимален (вследствие снижения активности 17,20-десмолазы).

Ключевые слова: стероидогенез, болезнь Иценко—Кушинга, аденома коры надпочечников.

The daily time course of changes in the secretion of dehydroepiandrosterone, its sulfate, and cortisol, as well as their precursors (17- $\alpha$ -hydroxypregnenolone, 17- $\alpha$ -hydroxyprogesterone, and 11-deoxycortisol) was studied in patients with Itsenko—Cushing syndrome and disease. The mean daily blood concentrations were calculated for each hormone. The activity of the enzymatic systems of steroidogenesis was estimated from the ratio of the mean daily concentrations of the precursor of an enzymatic reaction to those of its product.

The findings suggest that production of elevated concentrations of corticosteroids (both cortisol and androgens) through the  $\Delta^3$ -pathway with the enhanced activity of  $11\beta$ -hydroxylase and sulfatase is characteristic of patients with Itsenko—Cushing disease. In patients with Itsenko—Cushing syndrome, the generation of higher cortisol levels is accomplished through the  $\Delta^4$ -pathway whereas the synthesis of androgens through the  $\Delta^5$ -pathway is minimal due to the decreased activity of 17,20-desmolase.

Key words: steroidogenesis, Itsenko—Cushing disease, adrenal cortical adenoma.