

**В.В. Малащенко, О.Г. Хазиахматова, К.А. Юрова, М.М. Бограя,
Н.Д. Газатова, М.А. Вульф, Н.М. Тодосенко, О.Б. Мелашенко,
М.А. Белецкая, Л.С. Литвинова**

ПРОЯВЛЕНИЕ КОМПОНЕНТОВ ХРОНИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ НА ПРИМЕРЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРОВосПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МОНОЦИТ/МАКРОФАГОВ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ КЛЕТОЧНОЙ МОДЕЛИ

ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта»,
г. Калининград, Российская Федерация

Резюме. Метаболический синдром (МС) – одна из наиболее распространённых и социально значимых проблем 21-го века. Его прогрессирование способствует появлению и развитию ряда сопутствующих тяжелых патологий, таких как инсулинрезистентность/сахарный диабет, поражение печени и почек, сердечно-сосудистые патологии. Такой широкий профиль сопутствующих заболеваний обусловлен формированием системного хронического воспаления. Ключевыми клетками, вовлечёнными в этот процесс, являются тканевые/резидентные макрофаги. Мы предполагаем, что негативное воздействие провоспалительных факторов при МС, в целом, может затрагивать и моноцитарно-макрофагальное звено иммунной системы. **Цель исследования** – выявить различия в активности моноцит/макрофагов у лиц с МС относительно условно здоровых доноров. **Материалы и методы.** В работе использованы культуры моноцит/макрофагов, полученные из цельной крови лиц с МС методом иммуномагнитной сепарации. Была разработана экспериментальная модель *in vitro*, для определения чувствительности иммунных клеток к провоспалительному стимулу (ЛПС), оцениваемое по продукции клетками цитокинов MCP-1, TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 и IL-10. **Результаты и выводы.** При МС наблюдается снижение активности моноцитов периферической крови, они демонстрируют пониженную базальную секрецию цитокинов, что может указывать на супрессию их цитокинпродуцирующей активности, обусловленную высокой концентрацией провоспалительных факторов в циркуляции при МС. Для IL-6 и IL-10, но не для других исследуемых цитокинов, показано дополнительное усиление ЛПС-индуцированной секреции моноцитами больных МС, что может быть следствием как «обогащения» субпопуляционного состава моноцитов периферической крови «промежуточными» и «неклассическими» моноцитами, так и потенциальной супрессорной активностью IL-6. Важную роль в *in vitro* исследовании активности моноцит/макрофагов у больных МС, играет корректное формирование целевых групп. В частности, деление больных МС на группы по степени ожирения (ИМТ) может быть более информативным, чем вариант, основанный на группировке данных по компонентам МС.

Ключевые слова: метаболический синдром, хроническое воспаление, моноциты, макрофаги, провоспалительные цитокины, индекс массы тела (ИМТ)

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Литвинова Лариса Сергеевна

larisalitvinova@yandex.ru

Дата поступления 24.04.2025

Образец цитирования: Малащенко В.В., Хазиахматова О.Г., Юрова К.А., Бограя М.М., Газатова Н.Д., Вульф М.А., Тодосенко Н.М., Мелашенко О.Б., Белецкая М.А., Литвинова Л.С. Проявление компонентов хронического воспаления при метаболическом синдроме на примере изменения провоспалительной активности моноцит/макрофагов в экспериментальной клеточной модели. [Элек-

Введение

Метаболический синдром (МС) имеет широкую географию, от отдельных его компонентов, таких как ожирение и сахарный диабет второго типа (СД2Т), страдают до 20% населения планеты. И если к СД2Т – серьезно относятся не только врачи, но и страдающие им, то актуальность проблемы ожирения (избыточного веса) – далеко не так очевидна и зачастую представляется, как снижение качества жизни.

Одним из ключевых компонентов метаболического синдрома является избыточная масса тела. В современном обществе ведется большая дискуссия по поводу так называемого «метаболически здорового» ожирения [1]. Она тесно с движением «бодипозитива» и носит, в первую очередь, не научный, а скорее, социально-политический характер. В научной литературе так же встречаются данные, свидетельствующие о наличии феномена «метаболически здорового» ожирения, но среди специалистов доминирует точка зрения, что это начальный этап формирования МС [2].

При положительном балансе между приходом и расходом энергии происходит запасание питательных веществ, что сопровождается ростом жировой ткани и является нормальным биологическим процессом [3]. В норме, увеличение объема жировой ткани реализуется за счет гиперплазии адипоцитов [4] и защищает от метаболических осложнений ожирения. С другой стороны, экспериментальные данные показывают, что гипертрофия так же является нормальным физиологическим процессом [4]. Процессы гипертрофии и гиперплазии могут протекать параллельно, но при хроническом избыточном энергетическом балансе, в адипоцитах начинает преобладать процесс гипертрофии. В таком случае адипоциты достигают критических размеров, становятся перегруженными липидами и инсулинорезистентными [5]. В гипертрофированных адипоцитах так же повышен базальный липолиз, что способствует утечке свободных жирных кислот (СЖК) [6] и продукции этими клетками провоспалительных цитокинов: моноцитарного хемотаксического белка-1 (MCP-1), фактора некроза опухоли α (TNF- α), интерлейкина 1 бета (IL-1 β) и интерлейкина 6 (IL-6) и др. [7]. Секретируемый адипоцитами и резидентными макрофагами ЖТ MCP-1 рекрутирует моноциты в жировую ткань за счет хемотаксиса, опосредованного CCR2 [8]. Резидентные провоспалительные M1-макрофаги, выделяя провоспалительные цитокины, включая MCP-1, IL-1 β и IL6, также способствуют привлечению моноцитов в жировую ткань [9]. Повышенная секреция провоспалительных цитокинов приводит к сериновому фосфорилированию субстрата рецептора инсулина-1 (IRS-1), предотвращая тем самым, сигнализацию инсулина. Этот механизм является основным триггером системной инсулинорезистентности (ИР).

В связи с вышесказанным, учитывая важную роль хронического воспаления в патогенезе МС и его компонентов, важно оценивать способность клеток иммунной системы реагировать на различные стимулы, в том числе и провоспалительные. В данной работе мы предприняли попытку оценить уровни базальной и ЛПС-стимулированной продукции этих цитокинов культурами моноцит/макрофагов, полученными от пациентов с МС. На наш взгляд, изменение продукции исследуемых цитокинов клетками моноцитарного ряда может не только характеризовать хроническое воспаление, но и указывать на нарушения/изменения в работе врожденного иммунитета при МС.

Материалы и методы

Объект исследования

В работе были использованы культуры моноцит/макрофагов, полученные из цельной крови лиц с метаболическими нарушениями и от условно здоровых доноров, методом иммуномагнитной сепарации.

Для всех лиц, участвующих в исследовании, были применены следующие критерии включения и исключения: возраст от 18 до 65 лет; отсутствие острых инфекционных заболеваний; отсутствие онкологических заболеваний; обязательное подписание информированного согласия на участие в исследовании и использование биологического материала в целях исследования; дополнительно для пациентов с метаболическими нарушениями - верифицированный в условиях стационара диагноз ожирение (ИМТ > 30 кг/м²); верифицированный в условиях стационара диагноз СД 2 типа.

Обследование и верификация диагноза проводились в областной клинической больнице г. Калининград, а также в клиничко-диагностическом центре БФУ им. И. Канта.

Исследование проводилось в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (ВМА) (2000) и Протоколом к конвенции о правах человека и биомедицине (1999). Для проведения исследования было получено разрешение в независимом этическом комитете Центра клинических исследований «БФУ им. И. Канта» (протокол №40 от 26.06.2023 г.).

Моноцит/макрофаги выделяли методом иммуномагнитной колоночной сепарации с использованием системы MACS Multistand (Miltenyi Biotec, Германия), колонок для сепарации LS Separation Columns (Miltenyi Biotec, Германия) и магнитных частиц специфичных к CD14 (Miltenyi Biotec, Германия).

Формирование групп исследования

Исходно было сформировано 3 группы исследования: условно здоровые доноры с ИМТ менее 30 кг/м² (n=85), пациенты с ИМТ 30-40 кг/м² (n=67) и пациенты с ИМТ более 40 кг/м² (n=27). Во время оценки/обсуждения полученных результатов возникла дискуссия о группе людей, попавших в исследование, но которых нельзя отнести ни к УЗД ни к больным МС. Это люди с избыточной массой тела (ИМТ 24-30 кг/м²) или ожирением (>30 кг/м²), имеющие дополнительно только один из критериев МС. В научной периодике такую категорию лиц характеризуют/относят к группе метаболически здорового ожирения (10.1172/JCI129186). В итоге, дополнительно было проведено формирование новых групп исследования: условно здоровые доноры (УЗД) (без ожирения, 0 компонентов МС) (n=66); группа сравнения (ГС) (избыточный вес или ожирение +0/1 компонент МС) (n=37); и пациенты с метаболическим синдромом (МС) (минимум 2 критерия МС) (n=76).

Экспериментальная модель

Для оценки базальной и стимулированной продукции провоспалительных цитокинов моноцитами/макрофагами была разработана экспериментальная модель двойной стимуляции липополисахаридом (ЛПС).

В рамках данной модели, CD14⁺ клетки получали стимул в начале эксперимента, либо на 6 сутки при замене среды, либо оба раза. ЛПС (Sigma, США) добавляли в конечной концентрации 0,1 мкг/мл. Контрольный образец культивировали без ЛПС. Образцы для последующего анализа собирали на 1е сутки (базальная секреция и первичная ЛПС-стимулированная секреция) и на 7е сутки (базальная, первичная ЛПС-стимулированная и повторно ЛПС-стимулированная секреция).

Иммуноферментный анализ

Концентрацию про- и противовоспалительных цитокинов MCP-1, TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 и IL-10 в супернатантах клеточных культур оценивали методом иммуноферментного анализа, с использованием коммерческих тест-систем (Вектор Бест, Россия). Оценку проводили на микропланшетном ридере AMR-100 (Allsheng, Китай).

Статистическая обработка

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программ SPSS Statistics, Microsoft Excel и GraphPad Prism. Для множественного сравнения данных, не поддающихся нормальному распределению, использовали критерий Краскела-Уоллиса, который является многомерным обобщением критерия Уилкоксона-Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение

Как уже упоминалось ранее, основная концепция патогенеза МС и его компонентов/осложнений, связана с формированием хронического воспаления жировой ткани [10], где ключевая роль принадлежит тканевым/резидентным макрофагам. Так, атеросклероз – прогрессирующее воспалительное заболевание стенок артериальных сосудов, характеризуется существенной инфильтрацией макрофагов, имеющих провоспалительный фенотип M1 [11, 12]. Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБ), как одно из осложнений МС, характеризуется накоплением липидов в печени, окислительным стрессом и хроническим воспалением. Прогрессирование НАЖБ обусловлено патофизиологи-

ей «множественного удара», включающего резистентность к инсулину, дисфункцию митохондрий, окислительный стресс и нарушение регуляции цитокинового сигналинга (например, TNF- α и IL-6) [13] и сопровождается ростом инфильтрации печени M0- и M1-макрофагами [14]. Развитие компонентов МС – инсулинорезистентности сахарного диабета 2 типа также сопряжено с хроническим воспалением и вовлечением в этот процесс провоспалительных макрофагов [7].

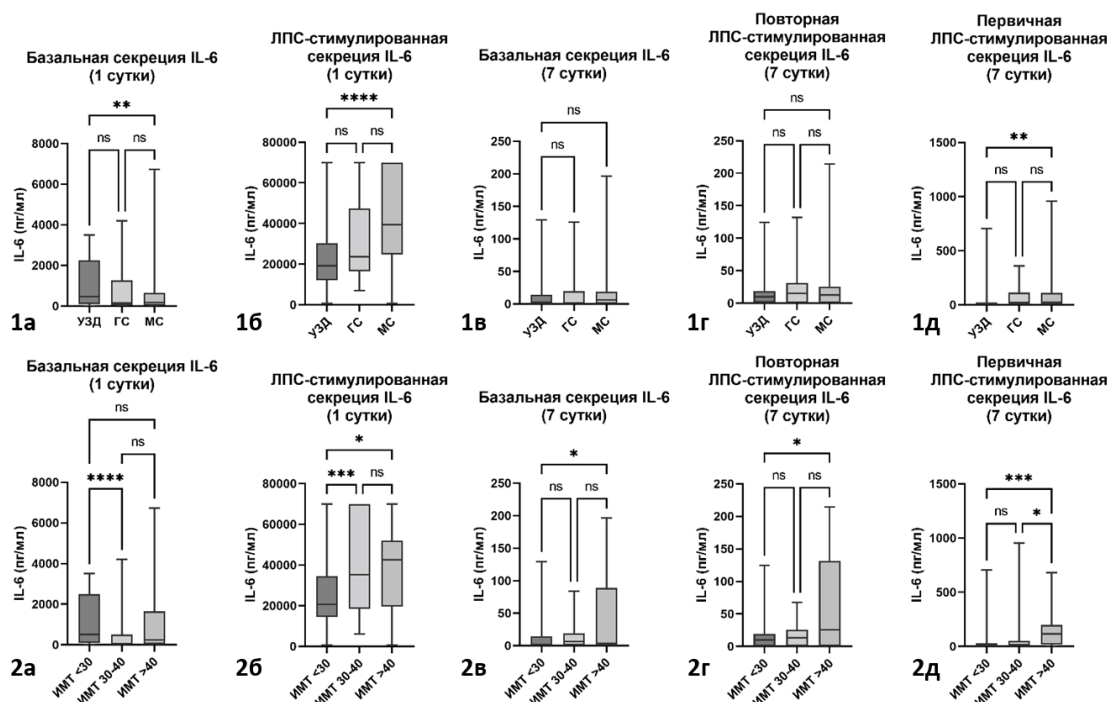


Рисунок 1. Секреция IL-6 моноцит/макрофагами в экспериментальной модели.

1a-1d – разделение по группам: условно здоровые доноры (УЗД) (без ожирения, 0 компонентов МС) (n=66); группа сравнения (ГС) (избыточный вес или ожирение +0/1 компонент МС) (n=37); и пациенты с метаболическим синдромом (МС) (минимум 2 критерия) (n=76); 2a-2d – разделение по ИМТ: (УЗД по ИМТ) ИМТ менее 30 кг/м² (n=85), пациенты с ИМТ 30–40 кг/м² (n=67) и пациенты с ИМТ более 40 кг/м² (n=27). а. – базальная секреция (1 сутки), б. – ЛПС-стимулированная секреция (1сутки), в. – базальная секреция (7 сутки), г. – повторная ЛПС-стимулированная секреция (7 сутки), д. – первичная ЛПС-стимулированная секреция (7 сутки).

Figure 1. Secretion of IL-6 by monocytes/macrophages in the experimental model.

1a-1d – Classification into groups: conditionally healthy donors (UZD) (without obesity, 0 MS components) (n=66); comparison group (CG) (overweight or obesity +0/1 MS component) (n=37); and patients with metabolic syndrome (MS) (at least 2 criteria) (n=76); 2a-2d – Classification according to BMI: (UZD by BMI) BMI less than 30 kg/m² (n=85), patients with BMI 30–40 kg/m² (n=67) and patients with BMI over 40 kg/m² (n=27). a. – basal secretion (1 day), b. – LPS-stimulated secretion (1 day), c. – basal secretion (7th day), g. – repeated LPS-stimulated secretion (day 7), d. – primary LPS-stimulated secretion (day 7).

Известно, что макрофаги могут приобретать широкий спектр фенотипов от провоспалительного M1 до противовоспалительных M² (M² a, M² b, M² c и M² d), через варианты M4, Mox, M(hem), M(Hb) [15]. Зачастую, употребляя термин макрофагальный континуум, подчеркивают нелинейность изменения фенотипов макрофагов [16]. В жировой ткани при ожирении происходит резкое увеличение количества макрофагов, обусловленное большим притоком моноцитов из периферической крови и смена их активности с противовоспалительной на провоспалительную. Моноциты так же неоднородны, по устоявшейся классификации их принято делить на «классические» CD14⁺⁺CD16⁻, «промежуточные» CD14⁺⁺CD16⁺ и «неклассические» CD14⁺CD16⁺⁺ [17]. В некоторых работах описано увеличение доли «промежуточных» и «неклассических» моноцитов в периферической крови и снижение числа противовоспалительных M²-макрофагов в очагах поражения у пациентов с сердечно-сосудистыми патологиями [18]. Это, по-видимому, актуально и для МС, и связано с активным рекрутированием классических моноцитов из циркуляции по оси CCL2 (MCP-1) – CCR2, что и приводит к

локальному увеличению промежуточных и неклассических моноцитов в крови. Существует мнение, что циркулирующие моноциты могут влиять на нисходящую поляризацию макрофагов, и определение подтипов моноцитов и макрофагов имеет потенциал в качестве биомаркеров заболеваний, ассоциированных с хроническим воспалением [18].

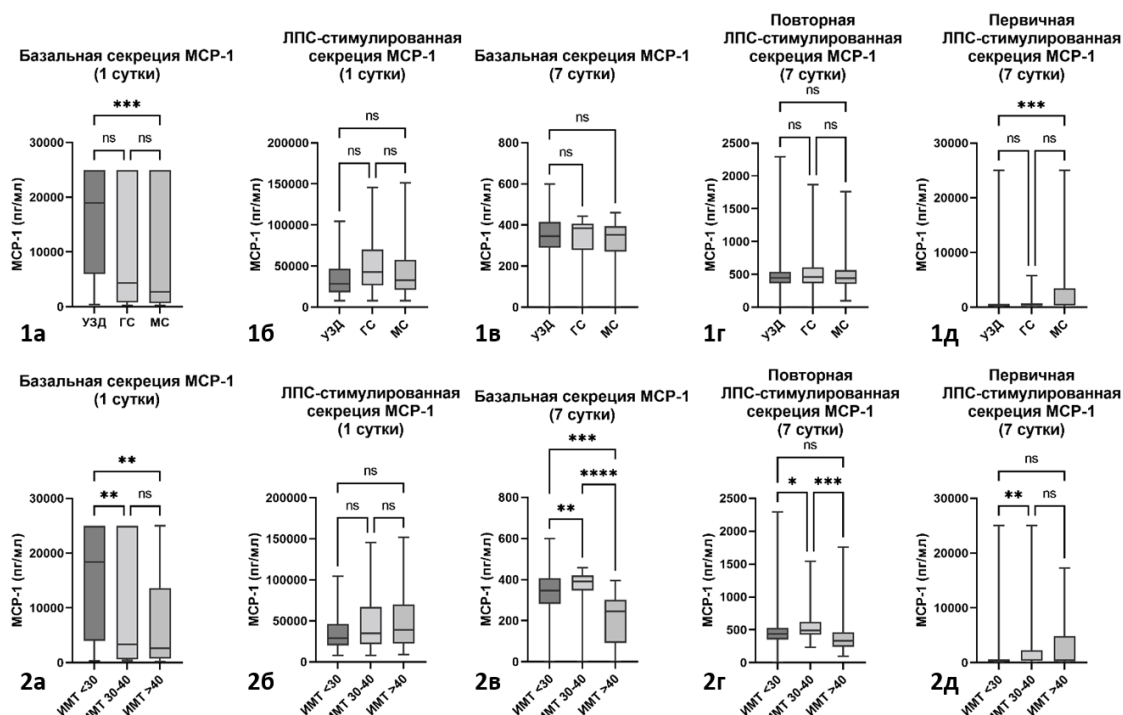


Рисунок 2. Секретция MCP-1 моноцит/макрофагами в экспериментальной модели.

1a-1d – разделение по группам: условно здоровые доноры (УЗД) (без ожирения, 0 компонентов МС) (n=66); группа сравнения (ГС) (избыточный вес или ожирение +0/1 компонент МС) (n=37); и пациенты с метаболическим синдромом (МС) (минимум 2 критерия) (n=76); 2a-2d – разделение по ИМТ: (УЗД по ИМТ) ИМТ менее 30 кг/м² (n=85), пациенты с ИМТ 30-40 кг/м² (n=67) и пациенты с ИМТ более 40 кг/м² (n=27). а. – базальная секретия (1 сутки), б.- ЛПС-стимулированная секретия (1сутки), в. – базальная секретия (7 сутки), г. – повторная ЛПС-стимулированная секретия (7 сутки), д. – первичная ЛПС-стимулированная секретия (7 сутки).

Figure 2. Secretion of MCP-1 by monocytes/macrophages in the experimental model.

1a-1d – Classification into groups: conditionally healthy donors (UZD) (without obesity, 0 MS components) (n=66); comparison group (CG) (overweight or obesity +0/1 MS component) (n=37); and patients with metabolic syndrome (MS) (at least 2 criteria) (n=76); 2a-2d – Classification according to BMI: (UZD by BMI) BMI less than 30 kg/m² (n=85), patients with BMI 30-40 kg/m² (n=67) and patients with BMI over 40 kg/m² (n=27). a. – basal secretion (1 day), b. – LPS-stimulated secretion (1 day), c. – basal secretion (7th day), g. – repeated LPS-stimulated secretion (day 7), d. – primary LPS-stimulated secretion (day 7).

В рамках нашего исследования была проведена оценка секреции культурами моноцит/макрофагов следующих факторов: MCP-1, TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 и IL-10 с учетом двух вариантов группировки данных. Первый вариант – классификация на основе компонентов МС: (УЗД) – без ожирения, 0 компонентов МС; (ГС) – избыточный вес или ожирение +0/1 компонент МС и группа (МС) минимум 2 критерия МС. Второй вариант – классификация по ИМТ: условно здоровые доноры с ИМТ менее 30 кг/м² (УЗД по ИМТ), пациенты с ИМТ 30-40 кг/м² (ИМТ 30-40) и пациенты с ИМТ более 40 кг/м² (ИМТ>40).

В тоже время в рамках группировки данных по ИМТ базальная секретия IL-6 в 1е сутки также была выше в контрольной группе (УЗД по ИМТ), относительно группы (ИМТ 30-40). При стимуляции ЛПС в 1е сутки в группе (УЗД по ИМТ) были зафиксированы более низкие уровни IL-6 относительно групп (ИМТ 30-40) и (ИМТ>40). На 7е сутки уровень IL-6 был выше в группе (ИМТ>40) относительно группы (УЗД по ИМТ) как при базальной секретии, так и в условиях повторной ЛПС-стимуляции.

А при первичной стимуляции ЛПС на 7е сутки уровень IL-6 в группе (ИМТ>40) был значимо выше, чем в группах (ИМТ 30-40) и (УЗД по ИМТ) (Рис.1 2а-2д).

Таким образом, в односуточной компоненте экспериментальной модели мы не видели принципиальных различий, зависящих от способа формирования групп исследования. Однако при более длительном культивировании выделение групп по ИМТ оказалось более показательным. Важно отметить, что базальный уровень IL-6 в группах исследования (МС) и (ИМТ 30-40) был понижен, в то время как их ответ на ЛПС более выражен.

При разделении на группы по компонентам МС базальная секреция МСР-1 демонстрировала схожую картину с IL-6, но в тоже время при стимуляции ЛПС мы не наблюдали значимых различий между группами. На 7е сутки только в модели первичной ЛПС-стимуляции уровень МСР-1 в группе (МС) был значимо выше, чем в группе (УЗД) (Рис.2 1а-1д).

При разделении на группы по ИМТ, базальная секреция МСР-1 так же была выше в группе (УЗД по ИМТ) относительно групп (ИМТ 30-40) и (ИМТ>40). При стимуляции ЛПС значимые различия между группами выявлены не были. На 7е сутки мы наблюдали выраженное снижение как базальной, так и повторной ЛПС-стимулированной секреции МСР-1 в группе (ИМТ>40). При первичной стимуляции ЛПС на 7е сутки концентрация цитокина была значимо выше в группе (ИМТ 30-40) относительно (УЗД по ИМТ) (Рис.2 2а-2д).

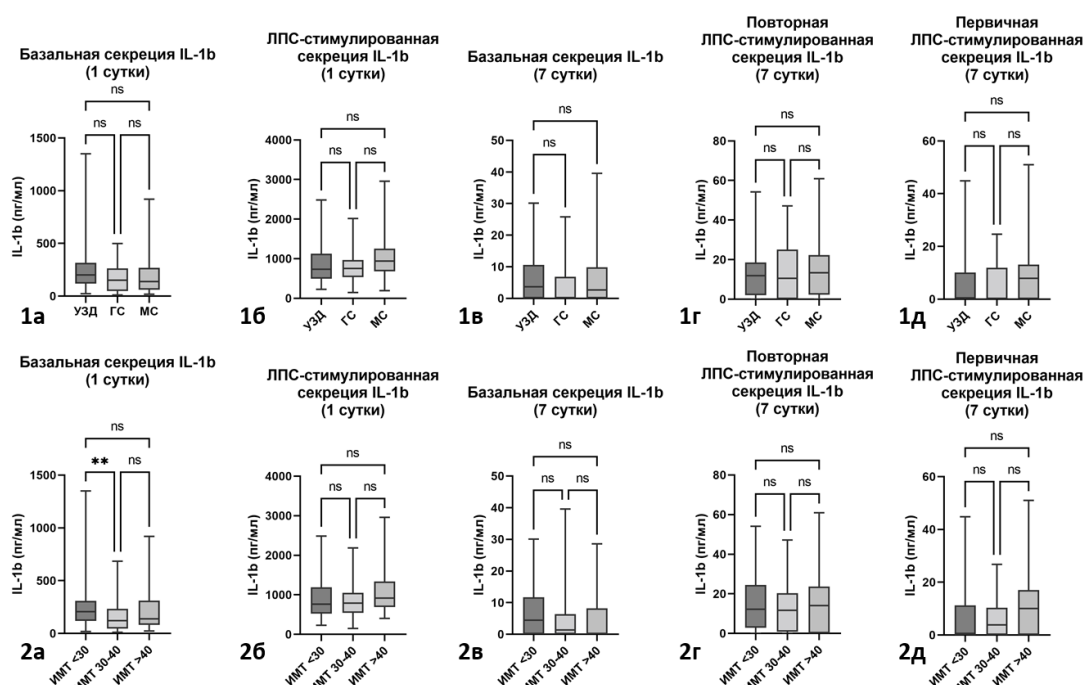


Рисунок 3. Секреция IL-1β моноцит/макрофагами в экспериментальной модели.

1а-1д – разделение по группам: условно здоровые доноры (УЗД) (без ожирения, 0 компонентов МС) (n=66); группа сравнения (ГС) (избыточный вес или ожирение +0/1 компонент МС) (n=37); и пациенты с метаболическим синдромом (МС) (минимум 2 критерия) (n=76); 2а-2д – разделение по ИМТ: (УЗД по ИМТ) ИМТ менее 30 кг/м² (n=85), пациенты с ИМТ 30-40 кг/м² (n=67) и пациенты с ИМТ более 40 кг/м² (n=27). а. – базальная секреция (1 сутки), б. – ЛПС-стимулированная секреция (1сутки), в. – базальная секреция (7 суток), г. – повторная ЛПС-стимулированная секреция (7 суток), д. – первичная ЛПС-стимулированная секреция (7 суток).

Figure 3. Secretion of IL-1β by monocytes/macrophages in the experimental model.

1а-1д – Classification into groups: conditionally healthy donors (UZD) (without obesity, 0 MS components) (n=66); comparison group (CG) (overweight or obesity +0/1 MS component) (n=37); and patients with metabolic syndrome (MS) (at least 2 criteria) (n=76); 2а-2д – Classification according to BMI: (UZD by BMI) BMI less than 30 kg/m² (n=85), patients with BMI 30-40 kg/m² (n=67) and patients with BMI over 40 kg/m² (n=27). а. – basal secretion (1 day), б. – LPS-stimulated secretion (1 day), в. – basal secretion (7th day), г. – repeated LPS-stimulated secretion (day 7), д. – primary LPS-stimulated secretion (day 7).

В рамках классификации групп экспериментальной модели по компонентам МС IL-1 β не показал значимых различий (Рис.3 1а-1д).

Только при использовании классификации, основанной на ИМТ, базальная секреция этого цитокина была выше в группе (УЗД по ИМТ) относительно группы (ИМТ 30-40). (Рис.3 2а-2д). По-видимому, это обусловлено меньшей вовлеченностью данного цитокина в хроническое воспаление при МС.

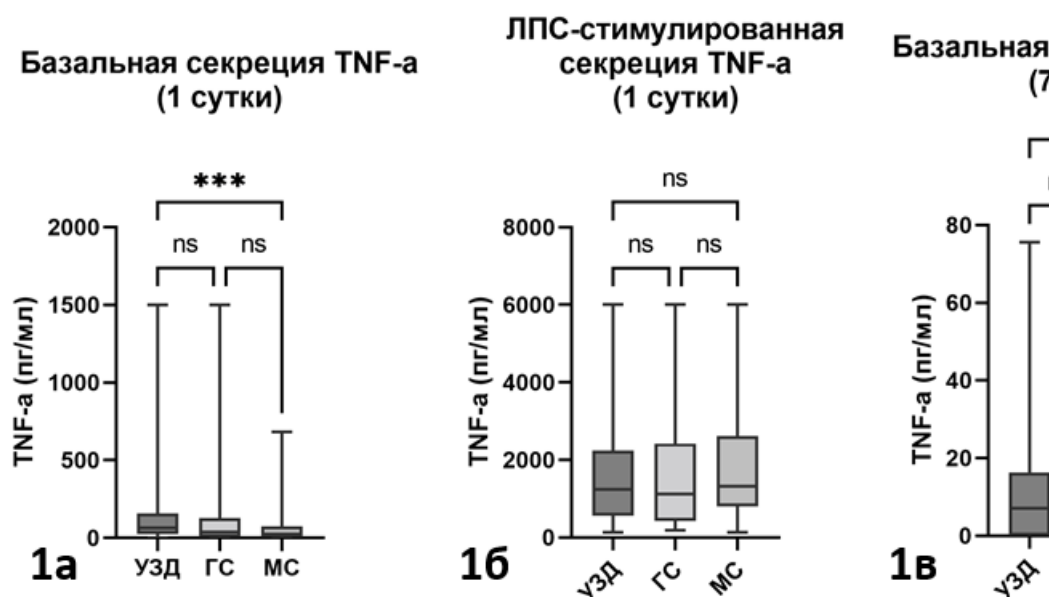


Рисунок 4. Секреция TNF- α моноцит/макрофагами в экспериментальной модели.

1а-1д – разделение по группам: условно здоровые доноры (УЗД) (без ожирения, 0 компонентов МС) (n=66); группа сравнения (ГС) (избыточный вес или ожирение +0/1 компонент МС) (n=37); и пациенты с метаболическим синдромом (МС) (минимум 2 критерия) (n=76); 2а-2д – разделение по ИМТ: (УЗД по ИМТ) ИМТ менее 30 кг/м² (n=85), пациенты с ИМТ 30-40 кг/м² (n=67) и пациенты с ИМТ более 40 кг/м² (n=27). а. – базальная секреция (1 сутки), б. – ЛПС-стимулированная секреция (1сутки), в. – базальная секреция (7 сутки), г. – повторная ЛПС-стимулированная секреция (7 сутки), д. – первичная ЛПС-стимулированная секреция (7 сутки).

Figure 4. TNF- α secretion by monocytes/macrophages in the experimental model.

1а-1д – Classification into groups: conditionally healthy donors (UZD) (without obesity, 0 MS components) (n=66); comparison group (CG) (overweight or obesity +0/1 MS component) (n=37); and patients with metabolic syndrome (MS) (at least 2 criteria) (n=76); 2а-2д – Classification according to BMI: (UZD by BMI) BMI less than 30 kg/m² (n=85), patients with BMI 30-40 kg/m² (n=67) and patients with BMI over 40 kg/m² (n=27). а. – basal secretion (1 day), б. – LPS-stimulated secretion (1 day), в. – basal secretion (7th day), г. – repeated LPS-stimulated secretion (day 7), д. – primary LPS-stimulated secretion (day 7).

При варианте группировки по компонентам МС, минимальный уровень базальной секреции TNF- α в 1е сутки регистрировался в группе (МС); в ответ на стимуляцию ЛПС значимых различий выявлено не было. На 7е сутки при повторной стимуляции ЛПС мы регистрировали более высокие уровни TNF- α в группе (УЗД) относительно (МС) (Рис.4 1а-1д).

При разделении на группы по ИМТ, в 1е сутки минимальный уровень базальной секреции TNF- α был в группе (ИМТ 30-40). При стимуляции ЛПС значимых различий между группами не наблюдалось. На 7е сутки базальная и повторная ЛПС-стимулированная секреция TNF- α была выше в группе (УЗД по ИМТ) относительно группы (ИМТ 30-40) (Рис.4 2а-2д). Выявленные нами изменения могут указывать на снижение активности моноцит/макрофагов, полученных от пациентов с метаболическими нарушениями.

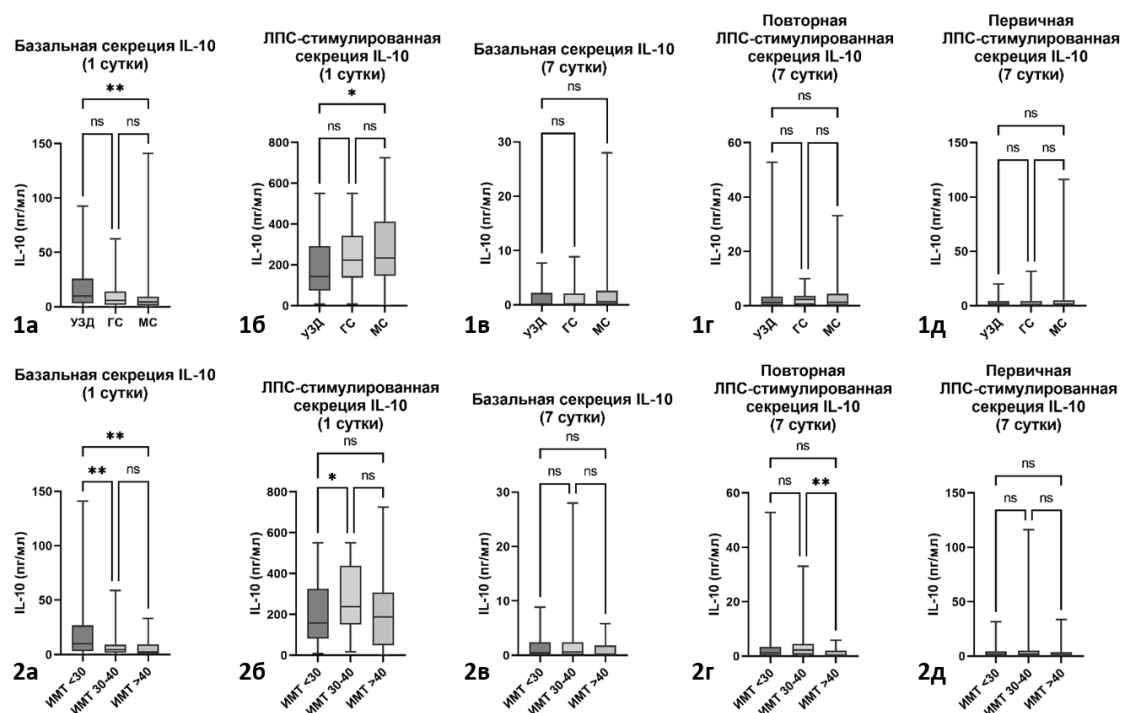


Рисунок 5. Секреция IL-8 моноцит/макрофагами в экспериментальной модели.

1а-1д – разделение по группам: условно здоровые доноры (УЗД) (без ожирения, 0 компонентов МС) (n=66); группа сравнения (ГС) (избыточный вес или ожирение +0/1 компонент МС) (n=37); и пациенты с метаболическим синдромом (МС) (минимум 2 критерия) (n=76); 2а-2д – разделение по ИМТ: (УЗД по ИМТ) ИМТ менее 30 кг/м² (n=85), пациенты с ИМТ 30-40 кг/м² (n=67) и пациенты с ИМТ более 40 кг/м² (n=27). а. – базальная секреция (1 сутки), б. – ЛПС-стимулированная секреция (1сутки), в. – базальная секреция (7 сутки), г.- повторная ЛПС-стимулированная секреция (7 сутки), д. – первичная ЛПС-стимулированная секреция (7 сутки).

Figure 5. Secretion of IL-8 by monocytes/macrophages in the experimental model.

1а-1д – Classification into groups: conditionally healthy donors (UZD) (without obesity, 0 MS components) (n=66); comparison group (CG) (overweight or obesity +0/1 MS component) (n=37); and patients with metabolic syndrome (MS) (at least 2 criteria) (n=76); 2а-2д – Classification according to BMI: (UZD by BMI) BMI less than 30 kg/m² (n=85), patients with BMI 30-40 kg/m² (n=67) and patients with BMI over 40 kg/m² (n=27). а. - basal secretion (1 day), б. – LPS-stimulated secretion (1 day), в. – basal secretion (7th day), г. - repeated LPS-stimulated secretion (day 7), д. – primary LPS-stimulated secretion (day 7).

В случае формирования групп по компонентам МС наблюдалась сниженная базальная секреция IL-8 в группах (ГС) и (МС) относительно (УЗД) в 1е сутки культивирования, и в группе (МС) относительно (УЗД) – на 7е. А при первичной стимуляции ЛПС на 7е сутки наблюдалось значимое увеличение концентрации IL-8 в группе (МС) относительно (УЗД) (Рис.5 1а-1д).

В случае формирования групп по ИМТ при оценке базальной секреции IL-8 в 1е сутки наблюдалось снижение концентрации цитокина при увеличении ИМТ, а на 7е сутки – снижение концентрации IL-8 в группах (ИМТ 30-40) и (ИМТ>40) относительно (УЗД по ИМТ). При первичной стимуляции ЛПС показано снижение уровня IL-8 в группе (ИМТ>40) относительно (УЗД по ИМТ) (Рис.5 2а-2д).

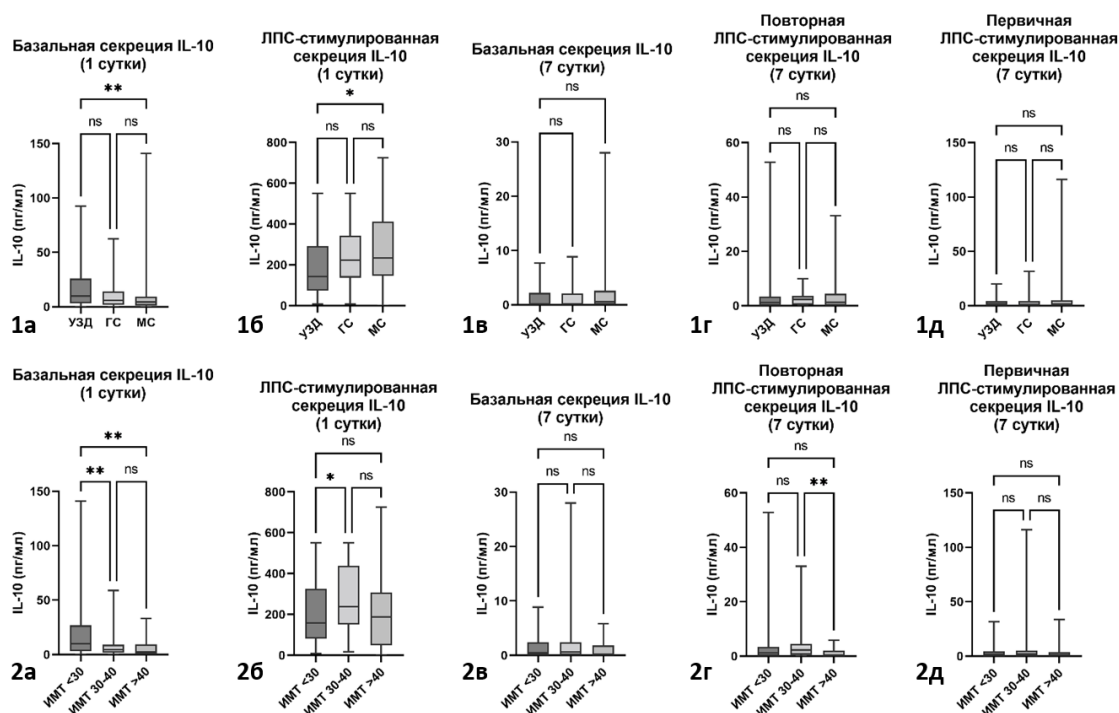


Рисунок 6. Секреция IL-10 моноцит/макрофагами в экспериментальной модели.

1a-1д – разделение по группам: условно здоровые доноры (УЗД) (без ожирения, 0 компонентов МС) (n=66); группа сравнения (ГС) (избыточный вес или ожирение +0/1 компонент МС) (n=37); и пациенты с метаболическим синдромом (МС) (минимум 2 критерия) (n=76); 2a-2д – разделение по ИМТ: (УЗД по ИМТ) ИМТ менее 30 кг/м² (n=85), пациенты с ИМТ 30-40 кг/м² (n=67) и пациенты с ИМТ более 40 кг/м² (n=27). а. – базальная секреция (1 сутки), б. – ЛПС-стимулированная секреция (1 сутки), в. – базальная секреция (7 сутки), г. – повторная ЛПС-стимулированная секреция (7 сутки), д. – первичная ЛПС-стимулированная секреция (7 сутки).

Figure 6. Secretion of IL-10 by monocytes/macrophages in the experimental model.

1a-1d – classification into groups: conditionally healthy donors (UZD) (without obesity, 0 MS components) (n=66); comparison group (CG) (overweight or obesity +0/1 MS component) (n=37); and patients with metabolic syndrome (MS) (at least 2 criteria) (n=76); 2a-2d – classification according to BMI: (UZD by BMI) BMI less than 30 kg/m² (n=85), patients with BMI 30-40 kg/m² (n=67) and patients with BMI over 40 kg/m² (n=27). a. – basal secretion (1 day), б. - LPS-stimulated secretion (1 day), в. – basal secretion (7th day), г. – repeated LPS-stimulated secretion (day 7), д. – primary LPS-stimulated secretion (day 7).

При разделении на группы по компонентам МС для IL-10 мы так же детектировали более высокие базальные уровни в супернатантах культур, полученных от моноцит/макрофагов в группе (УЗД) относительно (МС) в 1е сутки. А вот первичная стимуляция ЛПС, наоборот, приводила к увеличению концентрации IL-10 в группе (МС) относительно (УЗД). На 7е сутки значимых отличий между группами выявлено не было ни в одной из экспериментальных точек. (Рис.6 1a-1д).

При разделении на группы по ИМТ базальная секреция в 1е сутки была значимо выше в группе (УЗД по ИМТ) относительно групп (ИМТ 30-40) и (ИМТ>40). А при первичной стимуляции ЛПС более высокие уровни IL-10 были в группе (ИМТ 30-40) относительно группы (УЗД по ИМТ). На 7е сутки значимых отличий между группами также не выявлено. Хотя статистически показана значимая разница между группами (ИМТ 30-40) и (ИМТ>40) при повторной стимуляции ЛПС, но эта разница ниже чувствительности тест системы (Рис.6 2a-2д).

В целом, согласно полученным результатам, мы обнаружили факт снижения базальной секреции моноцит/макрофагами, полученными от лиц с метаболическими нарушениями, исследуемых факторов с провоспалительной активностью. Мы предполагаем, что это может быть связано с супрессией цитокинпродуцирующей активности моноцитов, обусловленной повышенным провоспалительным цитокиновым фоном при МС. С другой стороны, нами было показано усиление ЛПС-стимулированной секреции IL-6 и IL-10 моноцит/макрофагами больных МС. Для IL-10 выявленные

изменения можно объяснить описанным в литературе «обогащением» субпопуляционного состава моноцитов периферической крови «промежуточными» и «неклассическими» моноцитами. Но чем обусловлена избыточная секреция IL-6 – не совсем понятно. Возможно, разница в продукции провоспалительных цитокинов в ответ на ЛПС проявляется за счет ауторегуляции. Так, в некоторых условиях IL-6 может подавлять продукцию TNF- α и IL-1 β в ответ на эндотоксин [19]. Здесь стоит оговориться что в работе коллег рассматривается IL-6 из мышечной ткани, но возможно, что в модели *in vitro*, содержащей только моноцит/макрофаги, может наблюдаться схожий супрессивный эффект, в связи с чем при чрезмерном увеличении продукции IL-6 в культуре не наблюдается кратного увеличения продукции других провоспалительных цитокинов.

Выводы

При метаболическом синдроме наблюдается изменение активности моноцитов периферической крови, они демонстрируют сниженную базальную секрецию цитокинов: MCP-1, TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 и IL-10. Это может указывать на супрессию их продукции, обусловленную более высокой концентрацией провоспалительных факторов при хроническом воспалении.

Для IL-6 и IL-10, но не для других исследуемых цитокинов, показано дополнительное усиление секреции в ответ на ЛПС относительно моноцитов, полученных от условно здоровых доноров. Что может быть следствием как «обогащения» субпопуляционного состава моноцитов периферической крови «промежуточными» и «неклассическими» моноцитами, так и потенциальной супрессорной активностью IL-6.

Важную роль в *in vitro* исследовании активности моноцит/макрофагов играет корректное формирование групп исследования. В частности, деление групп исследования по ИМТ может быть более информативным, чем вариант, основанный на группировке данных по компонентам МС. Мы предполагаем, что это может быть обусловлено вкладом висцеральной жировой ткани в развитие патологического ожирения.

Работа выполнена в рамках проекта № 23-15-00061 «Выявление взаимосвязи между митохондриальными мутациями и воспалительным ответом моноцитов/макрофагов при метаболическом синдроме».

ЛИТЕРАТУРА

1. Blüher M. The Distinction of Metabolically “healthy” from “Unhealthy” Obese Individuals. *Curr Opin Lipidol.* 2010, Vol. 21 (1), pp. 38–43. DOI: 10.1097/MOL.0b013e3283346ccc.
2. Rey-López J.P., de Rezende L.F., de Sá T.H.; et al. Is the Metabolically Healthy Obesity Phenotype an Irrelevant Artifact for Public Health? *Am J Epidemiol.* 2015, Vol. 182 (9), pp. 737–741. DOI: 10.1093/aje/kwv177.
3. Choe S.S., Huh J.Y., Hwang I.J.; et al. Adipose Tissue Remodeling: Its Role in Energy Metabolism and Metabolic Disorders. *Front. Endocrinol.* 2016, Vol. 7. DOI: 10.3389/fendo.2016.00030.
4. Spalding K.L., Arner E., Westermarck P.O.; et al. Dynamics of Fat Cell Turnover in Humans. *Nature.* 2008, Vol. 453 (7196), pp. 783–787. DOI: 10.1038/nature06902.
5. Blüher M. Adipose Tissue Inflammation: A Cause or Consequence of Obesity-Related Insulin Resistance? *Clin Sci (Lond).* 2016, Vol. 130 (18), pp. 1603–1614. DOI: 10.1042/CS20160005.
6. Wueest S., Rapold R.A., Rytka J.M.; et al. Basal Lipolysis, Not the Degree of Insulin Resistance, Differentiates Large from Small Isolated Adipocytes in High-Fat Fed Mice. *Diabetologia.* 2009, Vol. 52 (3), pp. 541–546. DOI: 10.1007/s00125-008-1223-5.
7. Ahmed B., Sultana R., Greene M.W. Adipose Tissue and Insulin Resistance in Obese. *Biomed Pharmacother.* 2021, Vol. 137, pp. 111315. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.111315.
8. Neels J.G., Olefsky J.M. Inflamed Fat: What Starts the Fire? *J Clin Invest.* 2006, Vol. 116 (1), pp. 33–35. DOI:10.1172/JCI27280.
9. Deshmane S.L., Kremlev S., Amini S.; et al. Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1): An Overview. *J Interferon Cytokine Res.* 2009, Vol. 29 (6), pp. 313–326. DOI: 10.1089/jir.2008.0027.
10. Tylutka A., Morawin B., Walas, Ł.; et al. Assessment of Metabolic Syndrome Predictors in Relation to Inflammation and Visceral Fat Tissue in Older Adults. *Sci Rep.* 2023, Vol. 13 (1), pp. 89. DOI: 10.1038/

s41598-022-27269-6.

11. Zong J., Wang C., Zhou H.; et al. ApoE [-/-] CA1-Overexpressing Knock-in Mice Aggravated Atherosclerosis by Increasing M1 Macrophages. *Atheroscler Plus*. 2025, Vol. 60, pp. 6–19. DOI: 10.1016/j.athplu.2025.03.003.

12. De Meyer G.R.Y., Zurek M., Puylaert P.; et al. Programmed Death of Macrophages in Atherosclerosis: Mechanisms and Therapeutic Targets. *Nat Rev Cardiol*. 2024, Vol. 21 (5), pp. 312–325. DOI: 10.1038/s41569-023-00957-0.

13. Ren Q., Tan Y., Zhang G.; et al. Efficacy of Hypoglycemic Agents in Metabolic Dysfunction Associated Steatotic Liver Disease (MASLD): A Systematic Review and Network Meta-Analysis. *J Evid Based Med*. 2025, Vol. 18 (2), e70021. DOI: 10.1111/jebm.70021.

14. Wang J., Wang H., Yang W.; et al. GPNMB Regulates the Differentiation and Transformation of Monocyte-Derived Macrophages during MASLD. *Int Immunopharmacol*. 2025, Vol. 154, pp. 114554. DOI: 10.1016/j.intimp.2025.114554.

15. Gianopoulos I., Daskalopoulou S.S. Macrophage Profiling in Atherosclerosis: Understanding the Unstable Plaque. *Basic Res Cardiol*. 2024, Vol. 119 (1), pp. 35–56. DOI: 10.1007/s00395-023-01023-z.

16. Almansour S., Dunster J.L., Crofts J.J.; et al. Modelling the Continuum of Macrophage Phenotypes and Their Role in Inflammation. *Math Biosci*. 2024, Vol. 377, pp. 109289. DOI: 10.1016/j.mbs.2024.109289.

17. Ziegler-Heitbrock L., Ancuta P., Crowe S.; et al. Nomenclature of Monocytes and Dendritic Cells in Blood. *Blood*. 2010, Vol. 116 (16), e74–80. DOI: 10.1182/blood-2010-02-258558.

18. Arnold K.A., Blair J.E., Paul J.D.; et al. Monocyte and Macrophage Subtypes as Paired Cell Biomarkers for Coronary Artery Disease. *Exp Physiol*. 2019, Vol. 104 (9), pp. 1343–1352. DOI: 10.1113/EP087827.

19. Pedersen B.K., Febbraio M. Muscle-Derived Interleukin-6--a Possible Link between Skeletal Muscle, Adipose Tissue, Liver, and Brain. *Brain Behav Immun*. 2005, Vol. 19 (5), pp. 371–376. DOI: 10.1016/j.bbi.2005.04.008.

Авторы

Малашенко Владимир Владимирович

Кандидат биологических наук, научный сотрудник

vlmalashchenko@kantiana.ru

Хазиахматова Ольга Геннадьевна

Кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

okhaziakhmatova@kantiana.ru

Юрова Кристина Алексеевна

Кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник

kristina_kofanova@mail.ru

Бограя Мария Михайловна

Младший научный сотрудник

mbograya@mail.ru

Газатова Наталья Динисламовна

Кандидат биологических наук, заведующая лабораторией экспериментальных исследований препаратов крови

n_gazatova@mail.ru

Вульф Мария Александровна

Кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

mary-jean@yandex.ru

Тодосенко Наталья Михайловна

Кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
tod_89@mail.ru

Мелашенко Ольга Борисовна
Научный сотрудник
OMelashchenko@kantiana.ru

Белецкая Мария Андреевна
Аспирант
mariyabel@bk.ru

Литвинова Лариса Сергеевна
Доктор медицинских наук, директор
larisalitvinova@yandex.ru

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта» (ФГАОУ ВО «БФУ им. И. Канта»)
Калининград, Российская Федерация

*V.V. Malashchenko, O.G. Khaziakhmatova, K.A. Yurova, M.M. Bograya,
N.D. Gazatova, M.A. Vulf, N.M. Todosenko, O.B. Melashchenko,
M.A. Beletskaya, L.S. Litvinova*

MANIFESTATION OF CHRONIC INFLAMMATORY COMPONENTS IN METABOLIC SYNDROME USING THE EXAMPLE OF CHANGES IN THE PROINFLAMMATORY ACTIVITY OF MONOCYTES/MACROPHAGES IN AN EXPERIMENTAL CELL MODEL

Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Abstract. Metabolic syndrome (MS) is one of the most common and socially significant problems of the 21st century. Its progression contributes to the onset and development of a number of serious comorbidities, such as insulin resistance/diabetes mellitus, liver and kidney damage, cardiovascular pathologies. Such a broad profile of comorbidities is due to the development of systemic chronic inflammation. The most important cells involved in this process are tissue-resident macrophages. We hypothesise that the negative effects of proinflammatory factors in MS in general may also affect the monocyte-macrophage component of the immune system. *The aim of the study* is to identify differences in monocyte/macrophage activity in individuals with MS compared to conditionally healthy donors. *Materials and methods.* Monocyte/macrophage cultures obtained from the whole blood of individuals with MS using the immunomagnetic separation method were used for the study. An experimental in vitro model was developed to determine the sensitivity of immune cells to a proinflammatory stimulus (LPS) as assessed by the production of the cytokines MCP-1, TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 and IL-10 by the cells. *Results and conclusions.* A decrease in the activity of peripheral blood monocytes is observed in MS; they show a decreased basal secretion of cytokines, which may indicate a suppression of their cytokine-producing activity due to a high concentration of proinflammatory factors in the circulation in MS. For IL-6 and IL-10, but not for other cytokines studied, an additional increase in LPS-induced secretion by monocytes in MS patients was demonstrated, which could be a consequence of both the "enrichment" of the monocyte subpopulation in the peripheral blood with "intermediate" and "non-classical" monocytes and the potential suppressor activity of IL-6. The correct formation of target groups plays an important role in the in vitro investigation of monocyte/macrophage activity in patients with MS. In particular, grouping MS patients by obesity level (BMI) could be more informative than the option based on grouping data by MS components.

Keywords: metabolic syndrome, chronic inflammation, monocytes, macrophages, proinflammatory cytokines, Body Mass Index (BMI)

There is no conflict of interest.

Contact information of the author responsible for correspondence:

Larisa S. Litvinova

larisalitvinova@yandex.ru

Received 24.04.2025

For citation: Malashchenko V.V., Khaziakhmatova O.G., Yurova K.A., Bograya M.M., Gazatova N.D., Vulf M.A., Todosenko N.M., Melashchenko O.B., Beletskaya M.A., Litvinova L.S. Manifestation of chronic inflammatory components in metabolic syndrome using the example of changes in the proinflammatory activity of monocytes/macrophages in an experimental cell model. [Online] Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2025, Vol. 22, no. 3, pp. 233–246. DOI: 10.22138/2500-0918-2025-22-3-233-246 (In Russ)

REFERENCES

1. Blüher M. The Distinction of Metabolically “healthy” from “Unhealthy” Obese Individuals. *Curr Opin Lipidol.* 2010, Vol. 21 (1), pp. 38–43. DOI: 10.1097/MOL.0b013e3283346ccc.
2. Rey-López J.P., de Rezende L.F., de Sá T.H.; et al. Is the Metabolically Healthy Obesity Phenotype an Irrelevant Artifact for Public Health? *Am J Epidemiol.* 2015, Vol. 182 (9), pp. 737–741. DOI: 10.1093/aje/kwv177.
3. Choe S.S., Huh J.Y., Hwang I.J.; et al. Adipose Tissue Remodeling: Its Role in Energy Metabolism and Metabolic Disorders. *Front. Endocrinol.* 2016, Vol. 7. DOI: 10.3389/fendo.2016.00030.
4. Spalding K.L., Arner E., Westermarck P.O.; et al. Dynamics of Fat Cell Turnover in Humans. *Nature.* 2008, Vol. 453 (7196), pp. 783–787. DOI: 10.1038/nature06902.
5. Blüher M. Adipose Tissue Inflammation: A Cause or Consequence of Obesity-Related Insulin Resistance? *Clin Sci (Lond).* 2016, Vol. 130 (18), pp. 1603–1614. DOI: 10.1042/CS20160005.
6. Wueest S., Rapold R.A., Rytka J.M.; et al. Basal Lipolysis, Not the Degree of Insulin Resistance, Differentiates Large from Small Isolated Adipocytes in High-Fat Fed Mice. *Diabetologia.* 2009, Vol. 52 (3), pp. 541–546. DOI: 10.1007/s00125-008-1223-5.
7. Ahmed B., Sultana R., Greene M.W. Adipose Tissue and Insulin Resistance in Obese. *Biomed Pharmacother.* 2021, Vol. 137, pp. 111315. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.111315.
8. Neels J.G., Olefsky J.M. Inflamed Fat: What Starts the Fire? *J Clin Invest.* 2006, Vol. 116 (1), pp. 33–35. DOI: 10.1172/JCI27280.
9. Deshmane S.L., Kremlev S., Amini S.; et al. Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1): An Overview. *J Interferon Cytokine Res.* 2009, Vol. 29 (6), pp. 313–326. DOI: 10.1089/jir.2008.0027.
10. Tylutka A., Morawin B., Walas, Ł.; et al. Assessment of Metabolic Syndrome Predictors in Relation to Inflammation and Visceral Fat Tissue in Older Adults. *Sci Rep.* 2023, Vol. 13 (1), pp. 89. DOI: 10.1038/s41598-022-27269-6.
11. Zong J., Wang C., Zhou H.; et al. ApoE [-/-] CA1-Overexpressing Knock-in Mice Aggravated Atherosclerosis by Increasing M1 Macrophages. *Atheroscler Plus.* 2025, Vol. 60, pp. 6–19. DOI: 10.1016/j.athplu.2025.03.003.
12. De Meyer G.R.Y., Zurek M., Puylaert P.; et al. Programmed Death of Macrophages in Atherosclerosis: Mechanisms and Therapeutic Targets. *Nat Rev Cardiol.* 2024, Vol. 21 (5), pp. 312–325. DOI: 10.1038/s41569-023-00957-0.
13. Ren Q., Tan Y., Zhang G.; et al. Efficacy of Hypoglycemic Agents in Metabolic Dysfunction Associated Steatotic Liver Disease (MASLD): A Systematic Review and Network Meta-Analysis. *J Evid Based Med.* 2025, Vol. 18 (2), e70021. DOI: 10.1111/jebm.70021.
14. Wang J., Wang H., Yang W.; et al. GPNMB Regulates the Differentiation and Transformation of Monocyte-Derived Macrophages during MASLD. *Int Immunopharmacol.* 2025, Vol. 154, pp. 114554. DOI: 10.1016/j.intimp.2025.114554.
15. Gianopoulos I., Daskalopoulou S.S. Macrophage Profiling in Atherosclerosis: Understanding the

Unstable Plaque. Basic Res Cardiol. 2024, Vol. 119 (1), pp. 35–56. DOI: 10.1007/s00395-023-01023-z.

16. Almansour S., Dunster J.L., Crofts J.J.; et al. Modelling the Continuum of Macrophage Phenotypes and Their Role in Inflammation. Math Biosci. 2024, Vol. 377, pp. 109289. DOI: 10.1016/j.mbs.2024.109289.

17. Ziegler-Heitbrock L., Ancuta P., Crowe S.; et al. Nomenclature of Monocytes and Dendritic Cells in Blood. Blood. 2010, Vol. 116 (16), e74-80. DOI: 10.1182/blood-2010-02-258558.

18. Arnold K.A., Blair J.E., Paul J.D.; et al. Monocyte and Macrophage Subtypes as Paired Cell Biomarkers for Coronary Artery Disease. Exp Physiol. 2019, Vol. 104 (9), pp. 1343–1352. DOI: 10.1113/EP087827.

19. Pedersen B.K., Febbraio M. Muscle-Derived Interleukin-6--a Possible Link between Skeletal Muscle, Adipose Tissue, Liver, and Brain. Brain Behav Immun. 2005, Vol. 19 (5), pp. 371–376. DOI: 10.1016/j.bbi.2005.04.008.

Authors

Vladimir V. Malashchenko

Ph.D., Researcher

vmlashchenko@kantiana.ru

Olga G. Khaziakhmatova

Ph.D., Researcher

okhaziakhmatova@kantiana.ru

Kristina A. Yurova

Ph.D. Researcher

kristina_kofanova@mail.ru

Maria M. Bograya

Junior scientist

mbograya@mail.ru

Natalia D. Gazatova

Ph.D., head laboratory of experimental studies of blood products

n_gizatova@mail.ru

Maria A. Vulf

Ph.D., Researcher

mary-jean@yandex.ru

Natalia M. Todosenko

Ph.D. Researcher

tod_89@mail.ru

Olga B. Melashchenko

Researcher

OMelashchenko@kantiana.ru

Maria A. Beletskaya

graduate student

mariyabel@bk.ru

Larisa S. Litvinova

Doctor of Medical Science, Head

larisalitvinova@yandex.ru

Immanuel Kant Baltic Federal University (IKBFU)

Kaliningrad, Russian Federation