УДК: 616.12.-008.331.1-05652-07

Ащеулова Т.В., Аль Шейкх Діб Х. Х.

**СИГНАЛЬНІ МОЛЕКУЛИ АПОПТОЗУ ТА ІМУНОЗАПАЛЕННЯ У ХВОРИХ НА АРТЕРІАЛЬНУ ГІПЕРТЕНЗІЮ З СУПУТНІМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ**

Харківський національний медичний університет, кафедра пропедевтики внутрішньої медицини №1, основ біоетики та біобезпеки, tatiana.ashcheulova@gmail.com

Напрямок роботи входить до тематичного плану Харківського національного медичного університету як фрагмент науково-дослідної роботи кафедри пропедевтики внутрішньої медицини №1 «Роль системного запалення, апоптозу, дисфункції ендотелію в ремоделюванні серця та судин у хворих на гіпертонічну хворобу з цукровим діабетом 2 типу» (державний реєстраційний номер 0110U000652)

Артеріальна гіпертензія (АГ) залишається однією з найбільш актуальних, складних та комплексних медико-соціальних проблем сучасної кардіології [1]. Перебіг та прогноз АГ значно погіршується за наявності супутньої патології, насамперед цукрового діабету 2 типу (ЦД 2 типу).

Апоптоз або запрограмована клітинна загибель – це процес, який на відміну від некротичної загибелі залежить від de novo синтезу протеїнів, які ініціюють суїцидальну програму у відповідь на специфічні стимули У класичному розумінні апоптоз є самогубством, тобто при певних умовах клітина здатна автономно ініціювати свою загибель. Проте виявлення екзогенних індукторів апоптозу та їх рецепторів на поверхні клітин, свідчить про те, що процес у ряді випадків стимулюється ззовні [2,3].

Нещодавно було встановлено, що апоптоз відіграє визначальну роль при виникненні та прогресуванні деяких серцево-судинних захворюваннях, у тому числі АГ [4,5]. Крім того, існують відомості щодо потенційної участі апоптозу у розвитку ЦД 2 типу [6].

Метою нашого дослідження було вивчення плазматичного рівню сигнальних молекул апоптозу: FasL, FasR та імунозапалення: ІЛ-18, ІЛ-10 у хворих на АГ з супутніми порушеннями вуглеводного метаболізму.

**Матеріали та методи дослідження.** Обстежено 113 осіб, з них 104 пацієнта на АГ: 59 жінок (56,7 %) та 45 чоловіків (43,3 %) та 10 практично здорових осіб контрольної групи, яким було проведено загально-клінічне та лабораторно-інструментальне обстеження. Верифікацію діагнозу, визначення стадії та ступеня АГ проведено згідно критеріїв, рекомендованих Українським товариством кардіологів та Європейським товариством з артеріальної гіпертензії / Європейським товариством з кардіології [7]. Супутній ЦД 2 типу мав місце у 31 (29,8%) хворих на АГ.

До дослідження не включали пацієнтів з вторинною АГ, за наявності супутньої аутоімунної, онкологічної патології, гострих та хронічних захворюваннях печінки та нирок, запальних процесів чи захворювань, виражених порушень серцевого ритму та провідності, гострого інфаркту міокарда чи інсульту, гострої ліво- чи правошлуночкової недостатності, хронічної серцевої недостатності ІІІ ст., супутніх психічних захворювань, наркоманії, алкоголізму.

Для оцінки глікемічного профілю визначали плазматичний рівень глюкози, інсуліну натще та HbA1c. Дослідження концентрації глюкози в плазмі крові натще здійснено ферментативним методом з використанням стандартних наборів. Визначення концентрації інсуліну натще проведено з використанням набору реактивів DRG® Інсулін (EIA-2935), (DRG Instruments GmbH, Німеччина, Марбург). Плазматичний вміст інсуліну натще, що перевищував 12,2 млОд/мл вважався за критерій гіперінсулінемії. Визначення глікозільованого гемоглобіну (HbA1c) проводилось за реакцією з тіобарбітуровою кислотою. Визначення плазматичного рівню FasR та FasL проводилося імуноферментним методом з використанням набору “Human Fas Ligand/TNFSF6 Immunoassay” (R&D System Europe, Ltd. United Kingdom). Визначення плазматичного рівню ІЛ-18проводилося імуноферментним методом з використанням набору реагентів “Human Interleukin 18, IL-18 ELISA Kit” виробництва “Wuhan EIAab Science Co.,Ltd”, China. Визначення плазматичного рівню ІЛ-10 проводилося з використанням набору реагентів «Интерлейкин-10-ИФА-БЕСТ» виробництва «Вектор-Бест», Новосибирск, Россия.

Статистичну обробку отриманих даних проведено методами непараметричної статистики з використанням пакету статистичних програм Statistica 8.0 for Windows (Statsoft, USA). Для характеристики центральної закономірності та варіабельності ознак у групах обстежених осіб обчислювали медіану (Mе) та міжквартильний інтервал із наведенням значень нижнього, 25 % квартиля (LQ) та верхнього, 75 % квартиля (UQ), результат виражали у вигляді Me (LQ; UQ). Визначення тертилів проведено за 33,3 та 66,6 процентилями. Вірогідність відмінностей у незалежних групах оцінювали за допомогою U-критерія Манна-Уітні (Mann-Whitney). У всіх статистичних розрахунках пороговою величиною рівня значимості р обрано 0,05. Аналіз взаємозв’язку показників здійснювали за допомогою рангової кореляції за Спірменом (Spearman) із обчисленням коефіцієнта кореляції R. На рисунках позитивний кореляційний зв’язок зображено безперервною лінією, негативний зв’язок – пунктирною.

**Результати дослідження та їх обговорення**.

За результатами деяких досліджень було припущено, що висока концентрація глюкози може спричинювати апоптотичну загибель β-клітин підшлункової залози та, в додаток до потенційної ролі у дисфункції β-клітин при ЦД 2 типу, висока концентрація циркулюючої глюкози може також призводити до деструкції β-клітин, що залишилися при встановленні діагнозу ЦД 1 типу [8]. Було запропоновано низку механізмів глюкоз-індукованої токсичності по відношенню до острівків підшлункової залози у людини. Так, припущено, що глюкоза може індукувати панкреатичну продукцію ІЛ-1β, що призводить до активації NF-κB, підвищення експресії Fas та апоптоз β-клітин підшлункової залози як наслідок залучення Fas ліганду (FasL) – тригеру апоптозу. У зв’язку з цим, пацієнтів було розділено залежно від плазматичного рівню FasL на тертилі.

Оскільки тертилі за рівнем FasL становили 6,4 пг/мл та 6,8 пг/мл, виділено наступні тертильні групи: 1 група: інтервал значень менше за 6,4 пг/мл, 2 група: інтервал значень 6,4–6,7 пг/мл, 3 група: інтервал значень 6,8 пг/мл та вище. При зіставленні параметрів, порівняльну характеристику яких наведено у таблиці 1, встановлено відмінності у хворих на АГ порівняно з контрольною групою практично здорових осіб.

Таблиця 1

**Антропометричні, гемодинамічні, вуглеводні показники контрольної групи та пацієнтів на АГ, розподілених за тертилями рівня FasL, Me (LQ; UQ)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показники | Контрольна група | Групи за тертилями рівню FasL |
| n=10 | 1 група,n=23 | 2 група,n=36 | 3 група,n=45 |
| Вік, років | 62 (46; 62) | 54 (41; 64) | 61 (50; 67)\* | 60 (49; 69)\* |
| ОТ, см | 100 (100; 110) | 100 (82; 113) | 102 (88; 121) | 100 (84; 116) |
| ОС, см | 92 (90; 98) | 105 (97; 120)‡ | 106 (92; 126) | 105 (92; 123) |
| Маса тіла, кг | 75 (70; 80) | 82 (70; 96) | 89 (70; 115) | 85 (66; 100) |
| Зріст, м | 1,72 (1,68; 1,75) | 1,71 (1,62; 1,77) | 1,71 (1,58; 1,82) | 1,66 (1,54; 1,79) |
| ІМТ, кг/м2 | 25,71 (23,67; 28,41) | 28,73 (23,92; 35,44) | 31,05 (24,91; 37,98) | 28,34 (23,31; 37,38) |
| САТ, мм рт. ст | 120 (120; 120) | 140 (120; 180)‡ | 155 (120; 195) | 150 (130; 190) |
| ДАТ, мм рт. ст | 80 (75; 80) | 90 (80; 100)‡ | 93 (80; 105) | 90 (80; 105) |
| Тривалість АГ, роки | 0 (0; 0) | 5,00 (2,00; 15,00)‡ | 10 (3; 25) | 8,00 (2,00; 19,00) |
| Інсулін, мкОД/мл | 7,60 (7,01; 8,00) | 12,47 (7,30; 30,18)‡ | 8,63 (7,50; 26,67) | 9,02 (7,50; 22,63) |
| Глюкоза, ммоль/л | 4,80 (4,60; 5,00) | 4,79 (4,00; 6,09) | 4,68 (3,90; 5,13) | 5,20 (4,30; 7,40)† |
| HbA1c, % | 5,63 (4,00; 6,77) | 5,84 (4,10; 7,75) | 5,94 (4,10; 7,98) | 7,00 (4,10; 9,70) |
| HOMA | 1,68 (1,49; 1,72) | 2,87 (1,39; 8,40) | 1,81 (1,34; 6,10) | 2,24 (1,54; 5,40) |
| ІЛ-18, пг/мл | 155 (153; 158) | 181 (171; 195)‡ | 180 (170; 204) | 156 (135; 183)\*† |
| ІЛ-10, пг/мл | 61,50 (61,30; 62,10) | 90,30 (87,30; 92,30)‡ | 90,50 (87,00; 95,60) | 80,10 (74,30; 90,80)\*† |
| FasL, пг/мл | 2,68 (2,63; 2,70) | 6,20 (6,10; 6,30)‡ | 6,53 (6,40; 6,70)\* | 7,50 (6,80; 8,23)\*† |
| FasR, пг/мл | 3,80 (3,65; 4,05) | 7,70 (7,30; 8,10)‡ | 7,60 (7,30; 8,01) | 8,20 (7,50; 8,58)\*† |

Примітки:

ОТ – окружність талії; ІМТ – індекс маси тіла; САТ – систолічний артеріальний тиск; ДАТ – діастолічний артеріальний тиск; ЧСС – частота серцевих скорочень; НОМА – індекс інсулінорезистентності.

1. \* — відмінності проти 1 тертильної групи вірогідні (р<0,05);

2. † — відмінності проти 2 тертильної групи вірогідні (р<0,05);

3. ‡ — відмінності проти групи контролю вірогідні (р<0,05).

 Звертає на себе увагу, що серед тертильних груп хворих максимальні значення таких показників вуглеводного метаболізму, як глюкоза та HbA1c відзначено у 3 групі з максимальними значеннями маркеру апоптозу – FasL.

Інтерлейкін-18 (ІЛ-18) – нещодавно відкритий прозапальний цитокін (клонований у 1995 році), структурно подібний до ІЛ-1. Експериментальні докази свідчать про можливість залучення ІЛ-18 до патогенезу АГ [9]. Крім того, нещодавні дослідження виявили зростання плазматичного рівню ІЛ-18 у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу [10] та у осіб з надмірною масою тіла і ожирінням [11]. У нашому дослідженні вміст ІЛ-18 у хворих на АГ був вище у 2 та 3 групі порівняно з контролем. В той час, як у 3 групі рівень ІЛ-18 суттєво не відрізнявся від рівня осіб контрольної групи.

Інтерлейкін-10 (ІЛ-10) є одним із представників сімейства протизапальних цитокінів. Результати вже проведених експериментальних та клінічних досліджень дещо суперечливі. Так, в одному дослідженні з’ясовано підвищений циркулюючий рівень ІЛ-10 при ожирінні та низький рівень ІЛ-10, що був асоційованим з метаболічним синдромом. У іншому дослідженні пацієнтів з ожирінням рівень ІЛ-10 також був підвищеним, однак метаболічний синдром не був асоційованим зі зниженням рівню ІЛ-10 [12]. Продемонстровано значну позитивну кореляцію між циркулюючим рівнем ІЛ-10 та тканьовою чутливістю до інсуліну [13]. При аналізі плазматичного вмісту ІЛ-10 у нашому дослідженні пацієнтів на АГ виявлено його підвищення в порівнянні з контрольною групою практично здорових осіб. Щодо тертильних груп, то величина ІЛ-10 у 3 групі була нижчою за аналогічну величину у 1 та 2 групі. Тобто, зростання циркулюючого рівню маркеру апоптозу – FasL асоціювалося зі зниженням концентрації ІЛ-10 у хворих на АГ.

Для більш детального вивчення взаємозв’язків між маркерами апоптозу, імунозапалення та показниками вуглеводного метаболізму нами проведено кореляційний аналіз у кожній тертильній за рівнем FasL групі. При цьому встановлено відсутність достовірних взаємозв’язків між показниками, що вивчалися у 1 групі з мінімальним плазматичним вмістом FasL. Статистично достовірні взаємозв’язки між показниками, що вивчалися у 2 та 3 групах наведено у рис. 1 та рис. 2.

Рис. 1. Вірогідні кореляційні зв’язки при рівні FasL в крові 6,4–6,7 пг/мл (2 тертильна група).

Рис. 2. Вірогідні кореляційні зв’язки при рівні FasL в крові 6,8 нг/мл і більше (3 тертильна група).

Серед найбільш суттєвих кореляційних взаємозв’язків у 2 групі, слід підкреслити пряму залежність між рівнем FasL та ІЛ-10 (r=0,34; p<0,05), FasR (r=0,44; p<0,05), ОС (r=0,34; p<0,05). Встановлено взаємозв’язок між рівнем глюкози та інсуліну (r=0,51; p<0,05), антропометричними показниками: масою тіла (r=0,36; p<0,05), ІМТ (r=0,36; p<0,05), ОТ (r=0,35; p<0,05).

 У 3 групі відзначено найбільшу кількість достовірних кореляційних взаємозв’язків (рис. 2). Так виявлено пряму залежність між FasL та віком пацієнтів (r=0,54; p<0,05), тривалістю захворювання (r=0,36; p<0,05), плазматичним вмістом глюкози натще (r=0,34; p<0,05), FasR (r=0,60; p<0,05) та зворотну з рівнем ІЛ-18 (r=-0,64; p<0,05), зростом хворих (r=0,36; p<0,05). Негативний зв’язок мав місце між рівнем глюкози та ІЛ-18 (r=-0,44; p<0,05).

 Важливо підкреслити той факт, що більшість хворих на АГ з супутнім ЦД 2 типу, а саме – 29 хворих, що становило 93,5% віднесено до 3 групи з максимальним рівнем проапоптотичного маркеру FasL. В той час, як лише 2 пацієнта (6,5%) з ЦД 2 типу мали такий плазматичний рівень FasL, що дозволив розподілити їх до 2 тертильної групи.

 Апоптоз складний активний процес, в результаті якого здійснюється фізіологічно запрограмована загибель клітин при ембріогенезі та нормальній життєдіяльності тканин для підтримки клітинного гомеостазу організму. З іншого боку, апоптоз відіграє важливу роль при патологічних станах, які обумовлено впливом різноманітних ушкоджуючих факторів. Це стосується таких патологічних станів, як АГ, так і ЦД 2 типу. Для запуску апоптозу характерним є каскад взаємодій, тригерами якого є цитокіни, що є маркерами як імунозапалення, так і апоптозу. Отримані нами результати дають змогу стверджувати про взаємозв’язок глюкометаболічних порушень з активацією апоптотичних та імунозапальних сигнальних молекул, що було найбільш виражено за наявності супутнього ЦД 2 типу у хворих на АГ.

 **ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Горбась І.М. Програма профілактики та лікування артеріальної гіпертензії в Україні: підсумки виконання / І.М. Горбась // Здоров’я України. – 2011. – №3(18). – С.32-34.
2. Fortuno MA, Ravassa S, Fortuno A, et al. Cardiomyocyte apoptotic cell death in arterial hypertension. Mechanisms and potential management // Hypertens. – 2001. – Vol.38. – P.1406-1412.
3. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death / S.Elmore // Toxicol Pathol. – 2007. – Vol.35(4). – P.495-516.
4. Ащеулова Т.В. Дистанційні маркери апоптозу при артеріальній гіпертензії / Т.В. Ащеулова, О.М. Ковальова // Журн. АМН України. – 2007. – Том 13, №2. – С. 319-325.
5. Ащеулова Т.В. Прозапальні цитокіни, апоптоз: зв’язок зі структурно-функціональними параметрами гіпертензивного серця / Т.В. Ащеулова // Медицина сьогодні і завтра. – 2007. – №2. – С. 59-63.
6. McKenzie M.D.Glucose Induces Pancreatic Islet Cell Apoptosis That Requires the BH3-Only Proteins Bim and Puma and Multi-BH Domain Protein Bax / M.D. McKenzie, E. Jamieson, E.S. Jansen [et al.] // Diabetes. – 2010. – Vol. 59(3). – P.644-652.

Mancia G. Reappraisal of European guidelines on hypertension management: a European Society of Hypertension Task Force document / G.Mancia, S.Laurent, E.Agabiti – Rosei [et al.] // J. Hypertension. – 2009. –Vol.27. – P. 2121-2158.

1. Prentki M. Islet beta cell failure in type 2 diabetes / M Prentki, CJ Nolan //  J Clin Invest. – 2006. – Vol.116. – P.1802-1812.
2. Rabkin SW. The role of interleukin 18 in the pathogenesis of hypertension-induced vascular disease / SW. Rabkin // Nature Reviews Cardiology. – 2009. – Vol.6. – P.192-199.
3. Fischer CP. Elevated plasma interleukin-18 is a marker of insulin-resistance in type 2 diabetic and non-diabetic humans / CP Fischer, LB Perstrup, A Berntsen, [et al.] // Clin Immunol. – 2005. – Vol.117. – P.152-160.
4. Escobar-Morreale HF. Serum interleukin-18 concentrations are increased in the polycystic ovary syndrome: relationship to insulin resistance and to obesity / HF Escobar-Morreale, JI Botella-Carretero, G Villuendas, [et al.] // J Clin Endocrinol Metab. – 2004. – Vol.89. – P.806-811.
5. [Calcaterra V](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Calcaterra%20V%22%5BAuthor%5D). Adiponectin, IL-10 and metabolic syndrome in obese children and adolescents / V. [Calcaterra](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Calcaterra%20V%22%5BAuthor%5D) , M. [D e Amici](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22De%20Amici%20M%22%5BAuthor%5D), C. [Klersy](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%22Klersy%20C%22%5BAuthor%5D), [et al]. // [Acta Biomed.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&Cmd=Retrieve&list_uids=19848048&dopt=abstractplus) – 2009. – Vol.80(2). – P.117-123.
6. Straczkowski M. Plasma interleukin-10 concentration is positively related to insulin sensitivity in young healthy individuals / M. Straczkowski, I. Kowalska, A. Nokolajul, [et al.] // Diabetes Care. – 2005. – Vol.28. – P.2036-2037.

**Ключові слова**: апоптоз, імунозапалення, глюкометаболічні порушення, артеріальна гіпертензія, цукровий діабет 2 типу.

 **Ключевые слова**: апоптоз, иммуновоспаление, глюкометаболические нарушения, артериальная гипертензия, сахарный диабет 2 типа.

 **Kew words**: apoptosis, immune inflammation, glucometabolic disorders, arterial hypertension, diabetes mellitus 2 type.

**СИГНАЛЬНІ МОЛЕКУЛИ АПОПТОЗУ ТА ІМУНОЗАПАЛЕННЯ У ХВОРИХ НА АРТЕРІАЛЬНУ ГІПЕРТЕНЗІЮ З СУПУТНІМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ**

Ащеулова Т.В., Аль Шейкх Діб Х. Х.

Метою нашого дослідження було вивчення плазматичного рівню сигнальних молекул апоптозу: FasL, FasR та імунозапалення: ІЛ-18, ІЛ-10 у хворих на артеріальну гіпертензію (АГ) з супутніми порушеннями вуглеводного метаболізму.

Обстежено 113 осіб, з них 104 пацієнта на АГ та 10 практично здорових осіб контрольної групи. Супутній цукровий діабет 2 типу (ЦД 2 типу) мав місце у 31 (29,8%) хворих на АГ.

Було виділено наступні тертильні групи згідно плазматичного рівню FasL: 1 група: інтервал значень менше за 6,4 пг/мл, 2 група: інтервал значень 6,4–6,7 пг/мл, 3 група: інтервал значень 6,8 пг/мл та вище.

Отримані нами результати дають змогу стверджувати про взаємозв’язок глюкометаболічних порушень з активацією апоптотичних та імунозапальних сигнальних молекул, що було найбільш виражено за наявності супутнього ЦД 2 типу у хворих на АГ.

**СИГНАЛЬНЫЕ МОЛЕКУЛЫ АПОПТОЗА И ИММУНОВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ С СОПУТСТВУЮЩИМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА**

Ащеулова Т.В., Аль Шейкх Диб Х.Х.

 Целью нашего исследования было изучение плазматического уровня сигнальных молекул апоптоза: FasL, FasR и иммуновоспаления: ИЛ-18, ИЛ-10 у больных артериальной гипертензией (АГ) с сопутствующими нарушениями углеводного метаболизма.

 Обследовано 113 лиц, из которых 104 пациента АГ и 10 практически здоровых лиц контрольной группы. Сопутствующий сахарный диабет 2 типа (СД 2 типа) имел место у 31 (29,8%) больных АГ.

 Были выделены следующие тертильные группы согласно плазматического уровня FasL: 1 группа интервал значений менее 6,4 пг/мл, 2 группа: интервал значений 6,4-6,7 пг/мл, 3 группа: интервал значений 6,8 пг/мл и выше.

Полученные нами результаты позволяют утверждать о взаимосвязи глюкометаболических нарушений с активацией апоптотических и иммуновоспалительных сигнальних молекул, что было наиболее выражено при налички сопутствующего СД 2 типа у больных АГ.

**SIGNAL MOLECULES OF APOPTOSIS AND IMMUNE INFLAMMATION IN PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION ASSOCIATED WITH DIABETES MELLITUS 2 TYPE**

Ashcheulova T.V., Al Sheikh Dib H.H.

The aim of our study was to investigate plasma levels of signal molecules of apoptosis: FasL, FasR and immune inflammation: IL-18, IL-10 in patients with arterial hypertension (AH) with concomitant carbohydrates metabolism disorders.

It was examined 113 subjects, 104 patients with AH and 10 practically health persons of control group. Concomitant diabetes mellitus 2 type (DM 2 type) was diagnosed in 31 patients (29.8%) with AH.

According to plasma FasL levels following tertile group were detected: 1 group: means interval less than 6.4 pg/ml, 2 group: means interval 6.4-6.8 pg/ml, 3 group: means interval more than 6.8 pg/ml.

Obtained results can suggest relationships between glucometabolic disorders and apoptosis and immune inflammation signal molecule activation, most evident in presence of concomitant DM 2 type in patients with AH.