

Т.В. АЩЕУЛОВА

**АПОПТОЗ:  
СИГНАЛЬНІ ШЛЯХИ ТА  
ЗНАЧЕННЯ ПРИ  
КАРДІОМЕТАБОЛІЧНІЙ  
ПАТОЛОГІЇ**

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ

Т.В. АЩЕУЛОВА

**АПОПТОЗ:  
СИГНАЛЬНІ ШЛЯХИ ТА  
ЗНАЧЕННЯ ПРИ  
КАРДІОМЕТАБОЛІЧНІЙ  
ПАТОЛОГІЇ**

ХАРКІВ  
2016

БКК: 54.10

УДК:[616.1:616.379-008.64]-008.9-092.18

A 98

A98 **Ащеулова Т.В.** Апоптоз: сигнальні шляхи та значення при кардіометаболічній патології. – Харків, 2016. – 110 с.

У науковому виданні представлено відомості щодо визначення, механізмів, сигнальних шляхів апоптозу. Висвітлено відмінності між некрозом та апоптозом. Підсумовано відомості щодо патогенетичного значення апоптозу при кардіальній патології. Наведено дані власного клінічного дослідження дистантних маркерів апоптозу у хворих на артеріальну гіпертензію. Проаналізовано літературні данні та данні власного дослідження апоптотичного каскаду у хворих на артеріальну гіпертензію з супутнім предіабетом та цукровим діабетом 2 типу. Видання призначено для науковців в області кардіології, терапії, загальної патології.

Затверджено на засіданні вченої ради Харківського національного медичного університету (протокол № від 24.11.2016 р.)

Рецензенти:

**Більченко А.В.** – д.мед.н., професор, завідувач кафедри терапії та нефрології Харківської медичної академії післядипломної освіти

**Журавльова Л.В.** – д.мед.н., професор, завідувач кафедри терапії №3 Харківського національного медичного університету

**Рудик Ю.С.** – д.мед.н., керівник відділу клінічної фармакології та фармакотерапії ДУ «Національний інститут терапії імені Л.Т. Малої НАМН України»

© Т.В. Ащеулова, 2016

**ЗМІСТ**

<b>РОЗДІЛ 1</b>	Апоптоз: визначення, сигнальні шляхи, значення при серцево-судинній патології .....	4
<b>РОЗДІЛ 2</b>	Дистантні маркери апоптозу у пацієнтів на артеріальну гіпертензію .....	22
<b>РОЗДІЛ 3</b>	Апоптотичний каскад при артеріальній гіпертензії, що асоційована з цукровим діабетом 2 типом .....	40
<b>РОЗДІЛ 4</b>	Дистантні маркери апоптозу у пацієнтів на артеріальну гіпертензію з предіабетом чи цукровим діабетом 2 типу .....	<b>57</b>
	Заключення .....	86
	Список літератури .....	96

## РОЗДІЛ 1

### Апоптоз: визначення, сигнальні шляхи, значення при серцево-судинній патології

Живий організм це ексклюзивна інтегрована колекція диференційованих клітин, які балансують між життям та смертю. Для кожної клітини є час жити та є час померати. Довгий час любу смерть клітини називали некрозом. Однак зараз вже відомо, що загибель клітини може бути обумовлена не тільки некрозом, але й іншим механізмом, який отримав назву “апоптоз” (Аруин Л.И., 2000).

З тих пір, як у 1972 році австралійський патологоанатом Kerr JF ввів у літературу термін “апоптоз” для морфологічно іншого, в порівнянні з некрозом, способу гибелі клітини, ця концепція програмованого самознищення клітини визвало величезний інтерес в цитології та патології.

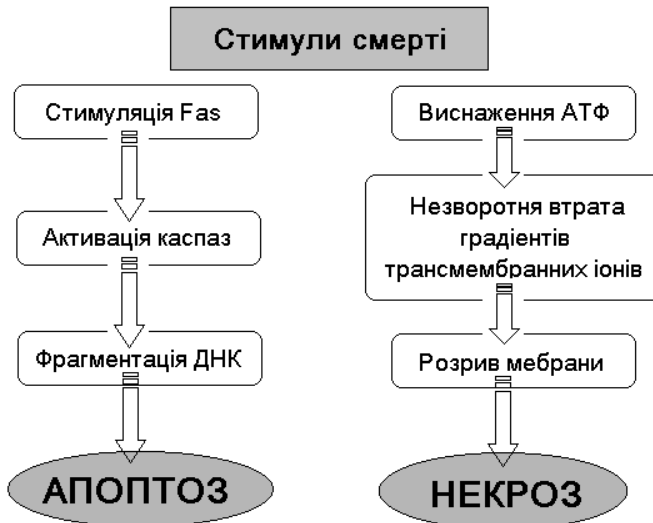
Апоптоз це енергетично-залежний процес, що управляється генетичною програмою, в результаті якого відбувається фрагментація ДНК та клітина ділиться на невеличкі апоптотичні тільця (Nagata S., 1997). Слід зазначити, що так як цілісність клітинної мембрани зберігається, внутрішньоклітинний вміст не потрапляє в міжклітинний простір і тому не спостерігається типової для некрозу запальної реакції. Більшість апоптотичних клітин *in vivo* зазнають фагоцитозу і вторинної дегенерації у фаголізосомах. Причому небезпека переносу генетичного матеріалу при цьому відсутня, так як ДНК у таких тільцях підлягає попередньому руйнуванню (Аруин Л.И., 2000).

Некроз, на відміну від апоптозу, є енергетично-незалежним процесом дегенерації клітини, в результаті якого відбувається розрив клітинної мембрани та вихід токсичного внутріклітинного вмісту у позаклітинний простір, що викликає швидкий розвиток стереотипної запальної реакції на

загиблі клітини. Гинуть при некрозі, як правило групи клітин (Yeh ET., 1997).

Некроз – процес пасивний, який обумовлено дією зовнішніх факторів. Апоптоз – процес активний, його можуть ініціювати ті ж самі фактори, що і некроз, але дія їх є опосередкованою. Апоптоз управляється складною генетично детермінованою програмою і тому його відносять до програмованої загибелі клітин. На підставі цих даних Jacquelyn J. Та Gregory J.G. у статті з доволі незвичною назвою “Апоптоз: німий вбивця або нейтронна бомба?” зробили висновок, що якщо некроз це вбивство клітини, то апоптоз можна назвати її самогубством (Jacquelyn J, 1998).

Таким чином, апоптоз відрізняється від некрозу морфологічно, за механізмом та за наслідками (рис. 1.1).



**Рис. 1.1.** Форми клітинної смерті в залежності від біологічних та морфологічних ознак (модифіковано з Majno G, Joris I, 1995).

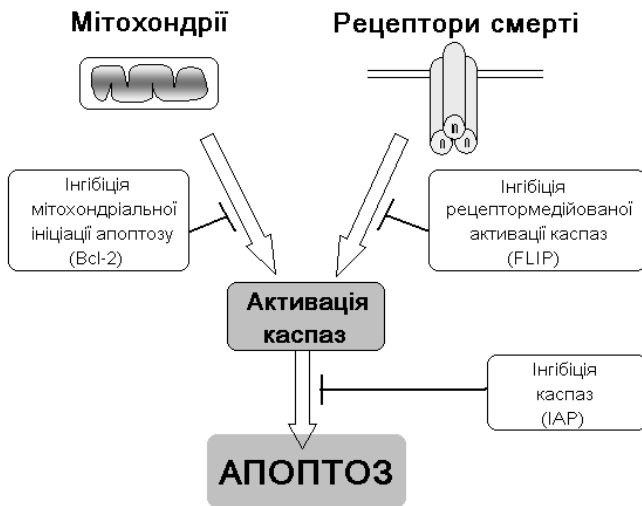
**Примітка:** Fas - рецептор смерті, медіатор апоптозу.

За думкою Bennett MR, апоптозу передують дві фази: фаза “рішення” та фаза “виконання”. Фаза “рішення” включає в себе інтеграцію про- та антиапоптотичних сигналів з поверхні клітини та з внутрішньоклітинного простору. Якщо баланс цих сигналів схиляється на користь апоптозу, запускається каскад взаємодій, який призводить у фіналі до дезінтеграції клітин (Bennett MR., 1999). За іншими даними, існує три фази апоптозу: початкова фаза, ефекторна фаза та фаза деградації. У початкову фазу клітина отримує сигнали, які запускають апоптотичний процес. Ефекторна фаза характеризується тим, що вже активуються безпосередньо механізми апоптозу, але на даному етапі процес залишається оберненим. Фаза деградації – це необернені зміни, клітина зазнає самодеструкції.

Апоптоз регулюється комплексною взаємодією сигналів з поверхні клітин. За тривалість та динаміку морфологічних змін клітин в процесі апоптозу залежить від типу клітин та від стимулів, які на неї впливають. Зазвичай, процес триває від 12 до 24 годин. Морфологічні зміни клітин, у вигляді фрагментації ядерної ДНК на олігонуклесомиди та нуклеосомиди, яка вважається біохімічним маркером апоптозу, спостерігаються у останні 2-3 години, тобто у фазу деградації. Саме визначення такої фрагментації ядерної (але не мітохондріальної) ДНК лежить в основі сучасних гістохімічних та імуногістохімічних методів діагностики апоптозу (Bonkhoff H, Fixemer T, 1999).

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. Ключовим моментом апоптозу клітин є активація аспартатспецифічних протеаз, у крайньому разі 18 представників яких зараз ідентифіковано (Nicholson DW., 1997). Для того, щоб уніфікувати існуючі протиріччя у

термінології відомих аспартатспецифічних протеаз, було запропоновано нову номенклатуру, яка об'єднала усі протеази терміном “каспази” (**C**ytosolic **A**spartate-**S**pecific **P**roteases – **CASP**ases), до якого додано номер відповідно часу її винайдення. Активація каспаз може мати місце чи то під впливом мітохондрій залежних механізмів, чи то бути результатом утворення комплексів з так-званими “рецепторами смерті”, розташованими на цитоплазматичних мембранах (рис. 1.2) (Haunstetter A, 1998).



**Рис. 1.2.** Схематичне зображення шляхів апоптотичної смерті (модифіковано з Haunstetter A, Izumo S, 1998).

У класичному розумінні апоптоз є самогубством, тобто при певних умовах клітина здатна автономно ініціювати свою загибель. Виявлення екзогенних індукторів апоптозу та їх рецепторів на поверхні клітин свідчить про те, що процес у ряді випадків стимулюється ззовні (Степанов Ю.М., 2000). Одними з екзогенних факторів, які запускають апоптоз є сімейство ФНП- $\alpha$ .

Зв'язування екстрацеллюлярних сигнальних протеїнів смерті (сімейство цитокіну ФНП- $\alpha$ ) зі своїми спорідненими рецепторами є одним з найбільш характерних шляхів запуску апоптозу.

Члени родини ФНП- $\alpha$  взаємодіють з відповідними рецепторами ФНП- $\alpha$ , які утворюють сімейство ФНП-Р (Smith SA, Farrah T, 1994), до числа яких входять ФНП-Р1, Fas (Fibloblast associated), відомий також під назвою АРО-1 (АРОptosis-1) або CD95, DR3 (Death Receptor 3), DR4, DR5, DR6 та інші. Сімейство цих білків постійно поповнюється (Truneh A, S, 2000; Yamanaka T, 2000).

Серед членів сімейства ФНП-Р вирізняють рецептори, що характеризуються наявністю 80 амінокислотних цитоплазматичних доменів, які і запускають інтрацеллюлярний апоптичний сигнальний каскад. Тому вони отримали назву “домен смерті” (Death Domain – DD). Шість рецепторів, які містять такі “домени смерті”, що здатні опосередковувати передачу проапоптотичного сигналу, було названо “рецепторами смерті” (Death Receptors – DR) (табл. 1.1)

**Таблиця 1.1**

“Рецептори смерті” та їх ліганди (Ю.М. Степанов та співавт., 2000)

“Рецептори смерті”	“Ліганди смерті”	Рецептори – “пастки”
TNFR1	TNF	sTNFR1*
Fas	FasL	sFas*
DR3	Аро3L	?
DR4	Аро2L	DcR1, DcR2, OPG*
DR5	Аро2L	DcR1, DcR2, OPG*
DR6	?	?

**Примітка:** TNF – ФНП, TNFR1 – ФНП-Р1, FasL – Fas ліганд, DcR1 – (Decoy Receptor 1) DcR2 – (Decoy Receptor 2), OPG –

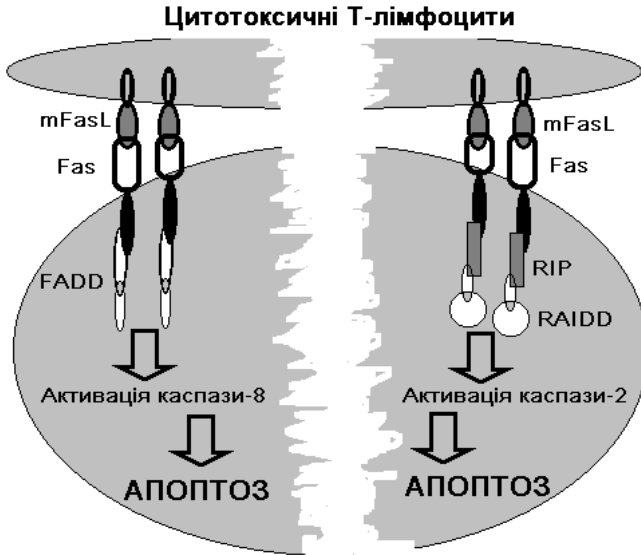
остеопротегерин, \* - розчинні форми рецепторів (Ford E.S., 2010)

Передача сигналу через рецептори смерті залучає унікальну мережу протеїнів, які не являються частиною інших сигнальних шляхів трансдукції. Після зв'язування зі своїми спорідненими лігандами, рецептори смерті утворюють гомотриметричний комплекс та шляхом протеїн-протеїн взаємодій, через медіацію доменами смерті, прикріплюють внутрішньоклітинні адаптери протеїнів до клітинної мембрани (Seol DW, Li J, 2001; Нао С, Bequinot F 2001) Ліганди, які активують рецептори смерті, відносяться також до суперсімейства ФНП та являють собою молекули, які схожі за структурою.

Характеристику ФНП- $\alpha$  та ФНП-Р вже надано вище, однак у контексті апоптозу слід підкреслити, що хоча обидва рецептори ФНП-Р1 та ФНП-Р2 можуть приймати участь у зв'язуванні цього “ліганду смерті”, передача проапоптотичного сигналу частіше за все здійснюється через ФНП-Р1 (Fiers W, Beyaert R, 1996).

Рецептор Fas індукує апоптотичний сигнал шляхом зв'язування зі своїм лігандом – Fas лігандом (FasL), так-звана “Fas-FasL” система. Експресія FasL спостерігається переважно на активованих Т-клітинах та на природних клітинах-кіллерах. Пізніше встановлено експресію FasL і на інших клітинах, в тому числі і на ендотеліальних клітин судин (Sata M, 1998). FasL існують у двох формах: мембранзв'язаної (mFasL) та розчинної (sFasL). Мембранзв'язана форма перетворюється на розчинну під впливом металлопротеїнази матрилізіна (Powell WC, 1999). Такий механізм утворення розчинних форм шляхом відокремлення від молекул-попередників, зв'язаних з мембраною, є характерним для багатьох представників сімейства ФНП- $\alpha$  (наприклад механізм утворення розчинних форм ФНП-Р).

У випадку Fas-залежного механізму запуску апоптозу, цитоплазматичний домен Fas зв'язується з адаптерним протеїном FADD (Fas-Associated Protein with Death Domain), який є відповідальним в наступній передачі апоптотичного сигналу до каспази-8 (Bang S, 2000; Kuang AA, 2000). Було винайдено ще один адаптерний протеїн – RAIDD, який приймає участь у Fas-активованому апоптозі шляхом активації каспази-2 (Duan H, 1997) (рис.1.3). Ідентифіковано, що зв'язування mFasL з Fas може індукувати апоптоз через адапторні протеїни RIP (Receptor Interaction Protein) та RAIDD, з послідуною активацією каспази-2.

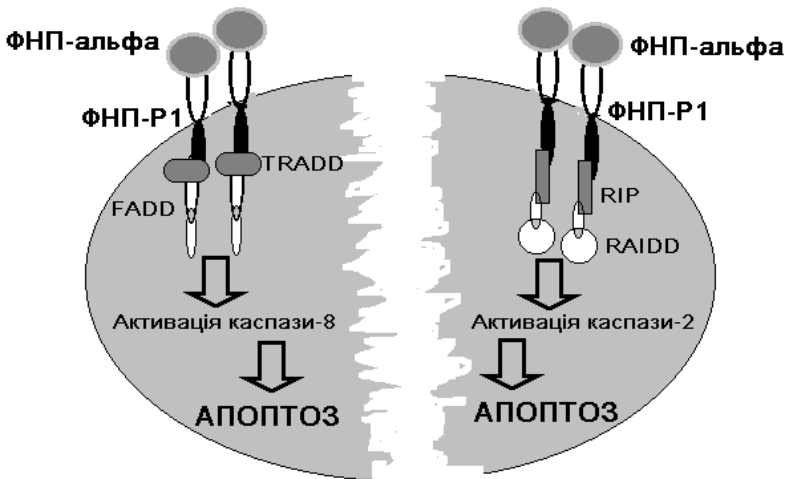


**Рис. 1.3.** Сигнальні шляхи передачі Fas-залежного проапоптотичного сигналу.

Однак нещодавно експериментальні дослідження, які було проведено на RIP-дефіцитних мишах, показали, що цей протеїн скоріш за все залучено до ФНП-Р1-залежного апоптозу. Дослідники пояснили це припущення тим фактом,

що відсутність RIP не перешкоджало Fas-залежному апоптозу (Kelliher MA, 1998).

При активації ФНП-Р1, з одного відбувається активація каспази-8 за участю адаптерного протеїну TRADD (Tumor necrosis factor Receptor-Associated with Death Domain) та FADD. З іншого боку проапоптотичний сигнал може проводитися через RIP та RAIDD (RIP-Associated ICH-1/Ced-3-homologous Death Domain protein) до каспази-2 (Haunstetter A, 1998) (рис.1.4).



**Рис. 1.4.** Сигнальні шляхи передачі ФНП-Р1-залежного проапоптотичного сигналу.

Довгий час апоптоз визнавався як механізм, завдяки якому організм, з одного боку, видаляє “не потрібні” в певний момент нормальні клітини (в процесі ембріогенезу, клітини слизових оболонок, старіючі клітини (Andersson R, 1997), а з другого боку – патологічні клітини. Наприклад, клітини з генетичними ураженнями або клітини пошкоджені вірусами, небажаність яких для організму зрозуміла. Тому апоптоз у таких випадках було названо – “альтруїстичним суїцидом”

клітини, бо клітина шляхом своєї загибелі рятує весь організм (Jacquelyn J, 1998).

Нещодавно було встановлено, що апоптоз відіграє критичну роль при деяких серцево-судинних захворюваннях (MacLellan WR, 1997). Довгий час вважалося, що такі високо диференційовані клітини як кардіоміоцити не гинуть у результаті апоптозу. І лише останніми роками в експериментальних роботах показано, що кардіоміоцити підлягають апоптозу під впливом ішемії, імунозапалення та токсичних факторів. Апоптоз може відігравати суттєву роль в атеросклеротичних змінах стінок судин (Mallat Z, 1997). Одним із механізмів при цьому є активація програмованої клітинної загибелі рецепторами смерті сімейства ФНП- $\alpha$  (Geng YJ, 1997; Cai W, 1997).

Апоптоз судинних гладенько-м'язових клітин (ГМК), який призводить до розриву атеросклеротичної бляшки представляється заманливою концепцією для пояснення відносної кількості ГМК та макрофагів, знайдених у нестабільній бляшці. Місця розриву характеризуються малою кількістю ГМК та великою кількістю макрофагів та запальних клітин. Апоптоз судинних ГМК знайдено по краям бляшки, тобто у місцях більш вірогідного її розриву, що не виключає можливості того, що апоптоз може передувати розриву бляшки. Однак зараз не вистачає переконливих доказів про роль апоптозу ГМК у розриві атеросклеротичної бляшки, частково через відсутність хороших експериментальних моделей тварин, частково через технічні складності ідентифікації апоптотичних судинних ГМК у такій комплексній тканині, як атеросклеротична бляшка (Bennett MR., 1999).

Інфаркт міокарду впродовж тривалого часу характеризувався загибеллю клітин в результаті некрозу, але зростає кількість доказів того, що втрата міоцитів під час гострої стадії інфаркту міокарду обумовлена як неапоптотичною так і апоптотичною клітинною смертю

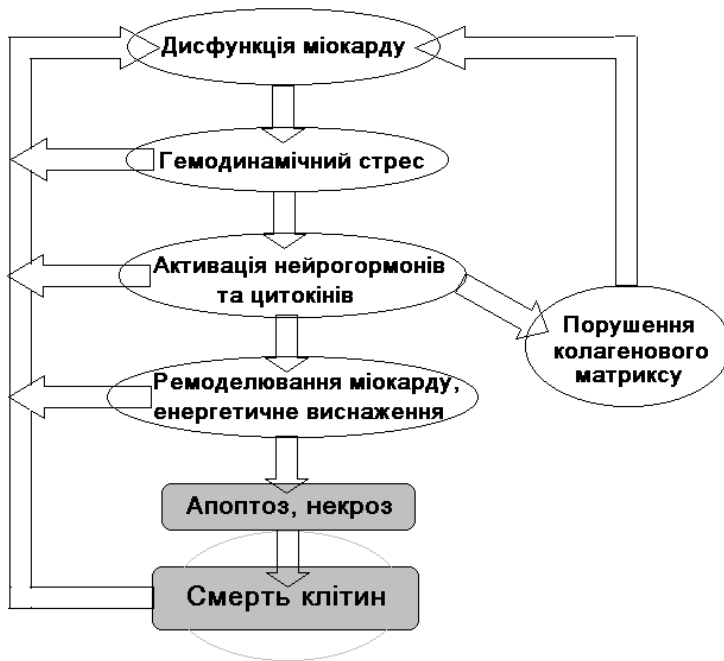
(Saraste A, 1997). Як ішемія, так і ФНП- $\alpha$ , який секретується під час ішемії, викликають і апоптоз і некроз тканин міокарду. Реперфузія ішемічного міокарду може сама бути причиною ушкодження. Вважається, що феномен “реперфузійного ушкодження” обумовлено викидом ряду медіаторів, серед яких такі прозапальні цитокіни, як деякі інтерлейкіни та ФНП- $\alpha$ . У зв’язку з цим було проведено ряд досліджень, присвячених вивченню взаємозв’язків між ФНП- $\alpha$ , гіпоксією-реоксигенацією та апоптозом. Ці спостереження показали, що гіпоксія *per se* викликає часу-залежний апоптоз, а реоксигінація та ФНП- $\alpha$  є важливими додатковими медіаторами суїцидальної програми. Реоксигенація збільшує апоптоз, викликаний ішемією; ФНП- $\alpha$  сам є тригером апоптозу, та більш того погіршує апоптоз, викликаний гіпоксією-реоксигенацією (Li D, Yang B, 1999).

Серцева недостатність є маніфестацією погіршення перебігу серцево-судинних захворювань та характеризується втратою контрактильних елементів міокарду та/або перевантаженням об’ємом або тиском. Однією з основних причин розвитку СН є артеріальна гіпертензія (Fortuno MA, 2001). Гіпертрофія лівого шлуночка (ГЛШ) компенсує перевантаження тиском та нормалізує систолічний стрес стінки, тому серцева функція залишається збереженою. Однак в подальшому, ця адаптивна гіпертрофія супроводжується структурними модифікаціями в серцевому м’язі, до складу яких входять порушення експресії генів, недостатня васкуляризація, фіброз та втрата кардіоміоцитів. Таким чином, компенсаторна відповідь неминуче призводить до переходу до СН та прогресу контрактильної дисфункції (Diez J, 1998).

На підставі того, що некроз кардіоміоцитів не характерне явище для гістологічної картини СН, виникло припущення про те, що втрату функціонуючих клітин, яка спостерігається при переході від компенсаторної гіпертрофії до СН, обумовлено саме апоптозом (Li Z, 1997). Інші

дослідники вважають, що клітинна загибель може бути обумовлена комбінацією апоптозу та некрозу.

Останніми роками стало цілком очевидно, що застійна СН це синдром, який пов'язано з комплексом змін на різноманітних рівнях починаючи з субклітинного та закінчуючи органним рівнем в цілому. Було запропоновано парадигм подій, які можуть призводити до прогресу застійної СН (рис.1.5).



**Рис. 1.5.** Можливі механізми прогресу захворювання при серцевій недостатності (Модифіковано з Moe GW, Armstrong P, 1999) (Moe GW, 1999).

Ці події представляють собою “замкнуте коло”. Кульмінацією глибоких структурних та функціональних змін є смерть кардіоміоцитів. Залучено до процесу активацію

нейрогормональної системи та прозапальних цитокінів, які в свою чергу сприяють прогресу ремоделювання та дисфункції ЛШ, порушенню екстрацелюлярного матриксу серця та апоптозу.

Втрата кардіоміоцитів у результаті апоптозу представляється важливим фактором, призводящим до ремоделювання міокарду у відповідь на гемодинамічне навантаження. У контексті гіпертензії, до локальних факторів, які можуть бути тригерами апоптотичної програми, належать механічний стрес, гіпоксія, прозапальні цитокіни, ангіотензін II та інші (Fortuno MA, 2001).

Слід зазначити, що апоптотичні сигнали керуються тими ж факторами, які викликають адаптивну гіпертрофію кардіоміоцитів. Тому було припущено, що якщо сигнали росту присутні тривалий час у термінально диференційованих клітинах, вони можуть викликати генетичний захист та запускати апоптотичну відповідь (Narula J, Kolodgie F, 2000). Молекулярним поясненням такої подвійної відповіді може бути наступне: тривалий вплив стимулів росту спричинює у гіпертрофованих кардіоміоцитах втрату внутрішньоклітинних сигналів виживання, які в нормі пригнічують розвиток апоптотичного процесу, і як наслідок фактори росту стають апоптотичними факторами. Не виключена можливість існування генетичної схильності, яка визначає чи то клітини підлягають апоптозу, чи то гіпертрофії у відповідь на локальні екзогенні стимули (Fortuno MA, 2001).

Механічні сили, які присутні у перевантаженому тиском серці, є однією з основних форм клітинного пошкодження, яке може бути причиною апоптотичної загибелі клітин. Було встановлено, що ізометричне розтягування папілярних м'язів або кардіоміоцитів, ізольованих з дорослих щурів викликає підвищення проценту апоптотичних клітин (Leri A, 1998). Подібні дані одержано при вивченні експериментальних моделей гіпертензії у

тварин. Наявність підвищеної кількості апоптотичних клітин продемонстровано у щурів, мишей (Ding B, 2000) та хом'яків (Shiota N, 1997). На відміну від цих результатів, у генетичних моделях гіпертензії показано, що механічних стрес не є основним індуктором апоптозу, так як феномен апоптозу спостерігався незалежно від рівня артеріального тиску (Moreau P, 1997). У цих дослідженнях показано відсутність чіткого взаємозв'язку між апоптозом кардіоміоцитів та рівнем кров'яного тиску при генетичній гіпертензії.

Значно менше знайдено даних щодо вивчення апоптозу при артеріальній гіпертензії у людини.

Аналіз кардіального ремоделювання у популяції гіпертензивних пацієнтів середнього віку з відсутніми клінічними ознаками серцевої дисфункції та ішемічної кардіоміопатії показав, що збільшення розмірів кардіоміоцитів супроводжується зменшенням їх кількості та численними ділянками фіброзу. Пізніше у ряді досліджень було визначено втрату кардіоміоцитів у результаті апоптозу у хворих на кінцеву стадію СН (Olivetti G, 1997). Ці дані, поряд зі експериментальними спостереженнями, привели до появи гіпотези про те, що втрата кардіоміоцитів, яка була визначена у гіпертрофованому ЛШ хворих на АГ можливо обумовлена саме апоптозом.

Цитоплазматичні та ядерні апоптотичні події було вивчено у гіпертрофованому міокарді людини при хронічному перевантаженні. При аналізі природи смерті кардіоміоцитів з'ясовано, що цитоплазматичний протеоліз є раннім само-контрольованим процесом, який призводить в подальшому до елімінації апоптотичних ядер в кардіоміоцитах. Цікавим виявився той факт, що більшу кількість апоптотичних тілець було визначено у серцях хворих з ексцентричною гіпертрофією в порівнянні з концентричною гіпертрофією. Автори зробили висновок, що це може бути відображенням стану міокарду та індикатором гіршого прогнозу (Yamamoto S, 2000).

З метою більш глибокого вивчення гіпертензивного кардіального ремоделювання було обстежено середнього віку хворих на АГ I та II ст. з ГЛШ або діастолічною дисфункцією. До дослідження не включались хворі на ішемічну кардіоміопатію та/або хворі з наявністю систолічної дисфункції. Однією з задач, була перевірка припущення про те, що у гіпертензивних хворих з ранніми серцевими порушеннями може спостерігатися надмірний апоптоз кардіоміоцитів. Результати показали, що поряд зі зростанням вмісту колагену у перевантаженому міокарді людини, спостерігається підвищена кількість апоптотичних кардіоміоцитарних та некардіоміоцитарних клітин в порівнянні з біопсіями міокарду, отриманого у нормальних осіб без клінічних та анатомічних ознак серцево-судинних захворювань (Querejeta R, 2000).

Деякі спостереження свідчать про те, що не гемодинамічні фактори також може бути залучено до ушкодження клітин, що призводить до апоптотичної їх загибелі при генетичній гіпертензії. Серед інших кандидатів розглядається роль факторів росту як результат активації нейрогуморальної системи. Відзначено, наприклад, зростання апоптозу кардіоміоцитів у гіпертрофованому лівому шлуночку дорослих гіпертензивних щурів, що було пов'язано з активністю ангіотензин-перетворюючого ферменту (АПФ). Встановлено прямий кореляційний зв'язок між цими двома параметрами у гіпертензивних тварин (Diez J, 1997). Лікування інгібіторами АПФ або антагоністами рецепторів ангіотензину II попереджували апоптоз кардіоміоцитів у цих моделях, означаючи, що локальну активацію ренін-ангіотензинової системи може бути залучено до запуску апоптотичного каскаду (Fortuno MA, 1999). В ізольованих кардіоміоцитах неонатальних та дорослих нормотензивних щурів показано, що ангіотензин II індукує апоптоз зв'язуючись зі  $AT_1$  рецептором. Кардіоміоцити, ізольовані з гіпертензивних щурів більш чутливі до апоптотичних ефектів

ангіотензину II, в порівнянні з кардіоміоцитами, ізольованими з нормотензивних щурів (Ravassa S, Fortunato M, 2006). Ці спостереження не виключають можливості того, що наряду з іншими факторами, такими як генетична схильність, ангіотензин II може спричиняти надмірну апоптотичну загибель клітин у експериментальних моделях. Важливо зазначити, що ангіотензин II є промотором гіпертрофії та апоптозу, зв'язуючись з  $AT_1$  рецепторами кардіоміоцитів, в той час як на інших типах клітин апоптотичний каскад запускається шляхом взаємодії з  $AT_2$  рецептором. Але існують деякі протиріччя щодо передачі апоптотичного сигналу. Деякі дослідники вважають, що передача здійснюється через  $AT_2$  рецептор (Jöhren O, 2004). У ГМК щурів, наприклад, показано, що активація  $AT_2$  рецептора викликала протилежні до  $AT_1$  рецепторів дії та посилювала апоптоз (Cui T, 2001). В експериментальних моделях мишей та щурів також встановлено, що  $AT_2$  рецептори є тригерами програмованої клітинної загибелі (Fisher TA, 1998). Існує ще одна думка щодо значення  $AT_1$  та  $AT_2$  рецепторів у ініціації апоптотичного процесу. Згідно цієї думки, промотором апоптозу є взаємодія  $AT_1$  та  $AT_2$  рецепторів. Таку можливість автори припустили після дослідження культивованих кардіоміоцитів щурів (Goldenberg I, 2001).

Обмеженість кількості досліджень апоптотичної загибелі клітин в організмі людини при серцево-судинній патології може бути пояснена технічною складністю методів визначення апоптозу. Найбільш переконливим доказом є пряме визначення у зразках тканин апоптотичних тілець, які містять ядра з характерними ознаками апоптозу, які краще за все візуалізуються при електронній мікроскопії.

Однак, так як апоптотичні тільця фагоцитуються впродовж кількох годин після загибелі клітини, виникають певні труднощі при їх визначенні. Більш того, програмована клітинна загибель – це процес, який протікає асинхронно, може уражати обмежену кількість клітин або спостерігається

скупчення групами разом з некрозом (Haunstetter A, 1998). Тому для верифікації апоптозу у препаратах міокарду, а також ендоміокардіальних біоптатах використовується TUNEL - метод (Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP Nick End-Labeling). Метод є комбінацією молекулярно-біологічної, гісто- та цитохімічної методик (Симоненко В.Б., 2000). TUNEL – метод має і деякі недоліки. По-перше, TUNEL – позитивними можуть бути не тільки апоптотично-фрагментовані ядра ДНК (наприклад, неспецифічні ушкодження ДНК або відновлення ДНК), що потенційно обмежує специфічність цієї методики. По-друге, це складність та по-третє – дороговизна, що обмежує його використання у клінічній практиці. Крім того, так як ензиматична фрагментація ДНК це пізня подія в апоптотичному процесі, продовжується пошук маркерів, які дозволять визначати клітини, що знаходяться на ранніх стадіях апоптозу (Nicholson DW, 1997).

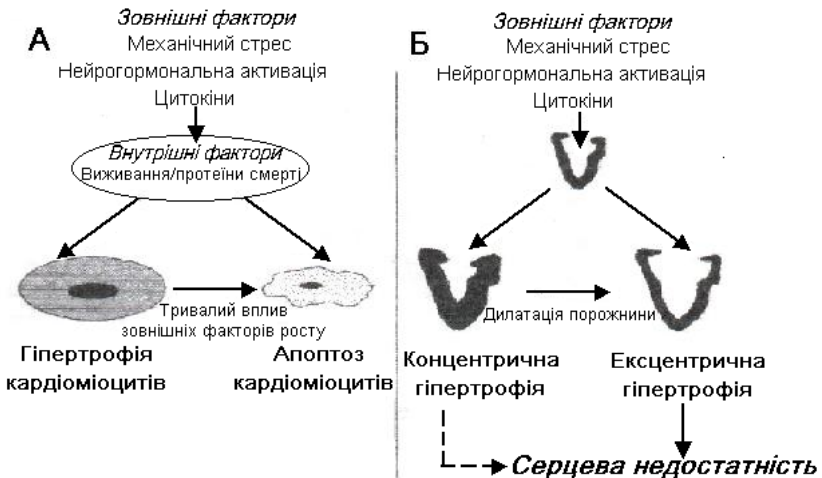
Поряд з інвазивними методами прямого визначення дефрагментованих апоптотичних ДНК, виникли нові підходи до діагностики такого виду загибелі клітин. Це методи, які базуються на вивченні специфічних частин апоптотичного каскаду, наприклад активності каспаз та sFas/sFasL системи. Таке визначення циркулюючих маркерів апоптозу у плазмі крові є більш прийнятним у клінічній практиці.

У літературі знайдено незначну кількість клінічних робіт, присвячених вивченню плазматичних маркерів апоптозу при серцево-судинній патології. Наприклад показано, що циркулюючий рівень sFas, молекули, яка є інгібітором апоптозу, був підвищений у хворих на застійну серцеву недостатність (Okuyama M, 1997). В протилежність цим даним, в іншому дослідженні у хворих на застійну СН встановлено підвищений циркулюючий рівень sFasL, молекули, яка є промотором апоптозу (Yamaguchi S, 1997). Визначено, що рівень sFas у плазмі крові хворих на гострий

інфаркт міокарду був значно вищий за аналогічний показник хворих з інфарктом міокарду в анамнезі та хворих на стабільну стенокардію. В той час, як рівень sFasL не відрізнявся в цих групах хворих. На підставі одержаних даних, автори зробили висновок про те, що циркулюючий sFas може відігравати важливу роль як маркер патофізіологічних станів, пов'язаних з апоптозом кардіоміоцитів при гострому інфаркті міокарду (Ohtsuka T, 1999).

Таким чином, незважаючи на те, що деякі докази свідчать про те, що феномен апоптозу погіршує серцеву функцію, аспекти патологічної втрати кардіоміоцитів при АГ залишаються не повністю встановленими. В результаті зменшення кількості контрактильних клітин зростає навантаження на клітини, які залишилися, що і призводить до погіршення функції шлуночків серця (Anversa P. 1997), як це було показано при експериментальній гіпертензії.

Як вже згадувалося, деякі сигнали, які сприяють росту кардіоміоцитів та призводять до компенсаторної ГЛШ можуть також бути і індукторами апоптозу (рис. 1.6).



**Рис. 1.6.** Схеми двох альтернативних відповідей кардіоміоцитів (А), які лежать в основі морфологічних порушень (Б) присутніх у гіпертензивному серці (модифіковано з Fortuno M, et al, 2001).

Хоча походження та час впливу цих сигналів на відповідь кардіоміоцитів залишається невідомим, виникло припущення про те, що якщо після гіпертрофії спостерігається апоптоз, спричинений тривалим впливом стимулів росту, може розвинутилася концентрична компенсаторна гіпертрофія з послідуною дилатацією порожнини ЛШ. З іншого боку, якщо одразу розвивається ексцентрична гіпертрофія, яка має гірший прогноз, це може свідчити про перевагу апоптотичної відповіді кардіоміоцитів (Fortuno MA, 2001).

Така можливість підтверджена даними про більшу кількість апоптотичних ядер у міокарді хворих з ексцентричною гіпертрофією в порівнянні з концентричною гіпертрофією (Yamamoto S, 2000). Функціональні наслідки цих структурних змін міокарду призводять до погіршення серцевої функції, кульмінацією чого є серцева недостатність. Однак більшість важливих запитань залишається без відповіді. Важливим є встановлення прогностичного значення апоптотичного процесу – чи це одна із ранніх причин, чи то він супроводжує термінальну стадію захворювання. Уточнення стимулів та механізмів програмованої загибелі при АГ може дозволити окреслити потенційні цілі для терапевтичного втручання.

## **РОЗДІЛ 2**

### **Дистантні маркери апоптозу у пацієнтів на артеріальну гіпертензію**

Нами було обстежено 284 пацієнта на есенціальну АГ, серед них чоловіків – 113 (39,79 %), жінок – 171 (60,21 %) середнім віком  $54,69 \pm 0,58$  років (від 24 до 78 років).

При опитуванні наявність церебральних скарг з'ясовано у 278 пацієнтів, що становило 97,89 %: головного болю – у 272 (95,77 %), запаморочення – у 228 (80,28 %), тимчасового порушення зору („мушки” перед очима) – у 77 (24,11 %), шуму у вухах – у 75 (26,41 %). Скарги кардіального характеру спостерігалися у 270 пацієнтів (95,07 %): біль у ділянці серця – у 216 (76,06 %), серцебиття при звичайному фізичному навантаженні – у 82 (28,87 %), серцебиття при незначному фізичному навантаженні – у 98 (35,51 %), серцебиття при будь-якому фізичному навантаженні та у стані спокою – у 21 (7,39 %), задуха при звичайному фізичному навантаженні – у 92 (32,39 %), задуха при незначному фізичному навантаженні – у 118 (41,55 %), задуха при будь-якому фізичному навантаженні та у стані спокою – у 20 (7,04 %) та периферичні набряки – у 89 пацієнтів (31,34 %). Скарги астено-невротичного характеру мали місце у 262 випадках (92,25 %): стомлюваність при звичайному фізичному навантаженні – у 115 (40,49 %), стомлюваність при незначному фізичному навантаженні – у 113 (39,79 %), стомлюваність при будь-якому фізичному навантаженні та у стані спокою – у 18 (6,34 %).

Тривалість захворювання коливалася від 1 місяця до 40 років та в середньому становила  $10,09 \pm 0,48$  років. Термін підвищення рівня АТ до 5 років мав місце у 86 пацієнтів (30,28 %), від 5 до 10 років – у 98 (34,51 %), більше 10 років – у 100 (35,21 %). У 9 хворих (3,17 %) в анамнезі мав місце ішемічний інсульт, у 19 (6,69 %) – інфаркт міокарду.

Рівень АТ коливався: САД – від 134,70 мм рт.ст. до 250,00 мм рт.ст., в середньому –  $170,96 \pm 1,33$  мм рт.ст.; ДАТ – від 80,7 мм рт.ст. до 160,00 мм рт.ст., в середньому –  $103,14 \pm 0,63$  мм рт.ст. Середнє значення ЧСС становило  $80,32 \pm 0,69$  уд/хв (від 50 до 120 уд/хв).

Електрокардіографічне дослідження показало наявність ознак гіпертрофії міокарду ЛШ у 131 (46,13 %) пацієнта; порушення серцевого ритму – у 88 (30,99 %), серед яких: синусова тахікардія – у 33 (11,62 %), синусова брадікардія – 18 (6,34 %), мерехтлива аритмія – 7 (2,46 %), шлуночкова екстрасистолія – 10 (3,52 %) та порушення провідності спостерігалися у 20 пацієнтів (7,04 %).

За даними рентгенологічного дослідження органів грудної порожнини встановлено збільшення розмірів лівого шлуночка у 107 хворих, що становило 37,68 %.

Ехокардіографічні показники структурно-функціонального стану ЛШ хворих на АГ наведено в табл. 2.1.

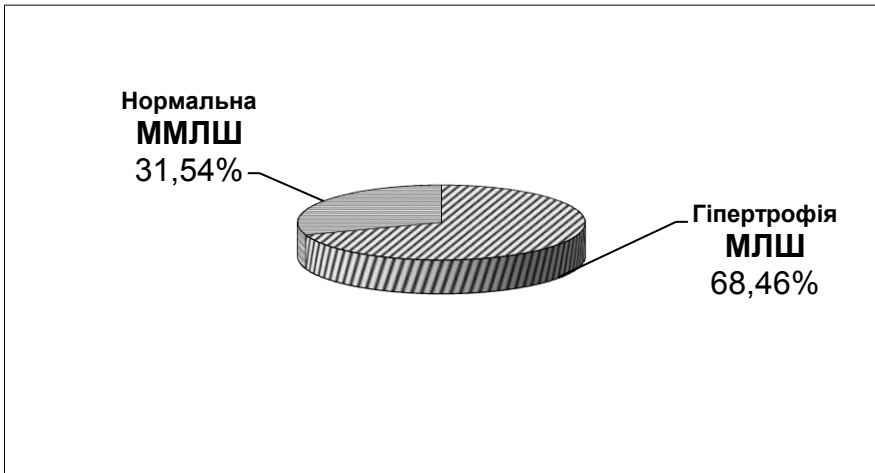
**Таблиця 2.1**

**Ехокардіографічні показники центральної кардіогемодинаміки у пацієнтів на АГ**

Показники	$M \pm m$	Min	Max
КДР (см)	$4,95 \pm 0,03$	3,8	7,8
іКДР (см/м <sup>2</sup> )	$2,59 \pm 0,02$	1,82	3,69
КСР (см)	$3,23 \pm 0,04$	2,08	6,08
ТМЗС (см)	$1,13 \pm 0,01$	0,78	1,60
ТМШП (см)	$1,15 \pm 0,01$	0,70	2,20
ВТСЛШ	$0,46 \pm 0,004$	0,23	0,83
ММЛШ (г)	$256,47 \pm 4,31$	117,42	599,75
ІММЛШ (г/м <sup>2</sup> )	$133,47 \pm 2,01$	61,19	319,02

ҚДО (мл)	117,38±1,90	61,95	297,81
іҚДО (мл/м <sup>2</sup> )	61,52±0,95	33,43	133,64
КСО (мл)	44,06±1,37	18,12	186,23
іКСО (мл/м <sup>2</sup> )	23,31±0,81	8,37	135,34
УО (мл)	73,39±1,06	39,96	142,75
УІ (мл/м <sup>2</sup> )	38,58±0,58	17,23	71,64
ХО (л/хв)	5,55±0,09	2,14	11,05
СІ (л/хв/м <sup>2</sup> )	2,92±0,05	1,16	6,59
ФВ (%)	61,42±0,51	25	78

Гіпертрофія міокарду ЛШ мала місце у 165 пацієнтів (68,46 %) (Рис. 2.1).

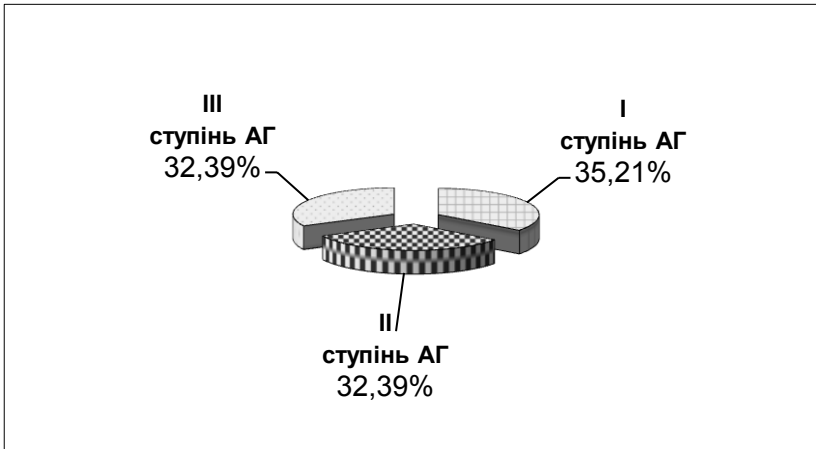


**Рис. 2.1.** Розподіл пацієнтів залежності від наявності ГМЛШ

При вивченні стану очного дна встановлено наявність ангіопатії сітківки за гіпертензивним типом у 70 пацієнтів (59,86 %). Неврологічне обстеження показало наявність дисциркуляторної енцефалопатії за гіпертензивним типом I ступеня у 46 хворих (16,20 %), II ступеня – у 107 (37,68 %), з астено-невротичним

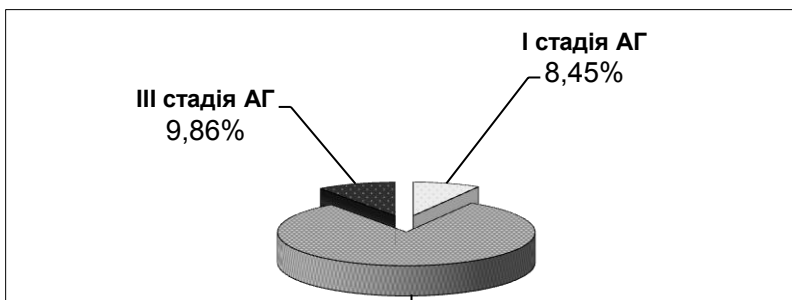
синдромом у 59 випадках, вестибуло-атактичним – у 42 (14,79%) та лікворною гіпертензією – 34 (11,97%).

В залежності від ступеня підвищення АТ, пацієнти були розділені наступним чином: у 100 пацієнтів (35,21 %) було діагностовано АГ I ступеня, при цьому середні цифри АТ становили: САТ –  $149,39 \pm 0,56$  мм рт. ст.; ДАТ –  $95,96 \pm 0,46$  мм рт. ст.; АГ II ступеня спостерігалася у 92 хворих (32,39 %) при середніх значеннях САТ –  $166,33 \pm 0,67$  мм рт. ст. та ДАТ –  $102,53 \pm 0,72$  мм рт. ст.; АГ III ступеня – у 92 (32,39 %) при САТ –  $196,54 \pm 1,72$  мм рт. ст. та ДАТ –  $111,46 \pm 1,29$  мм рт. ст. (Рис. 2.2).



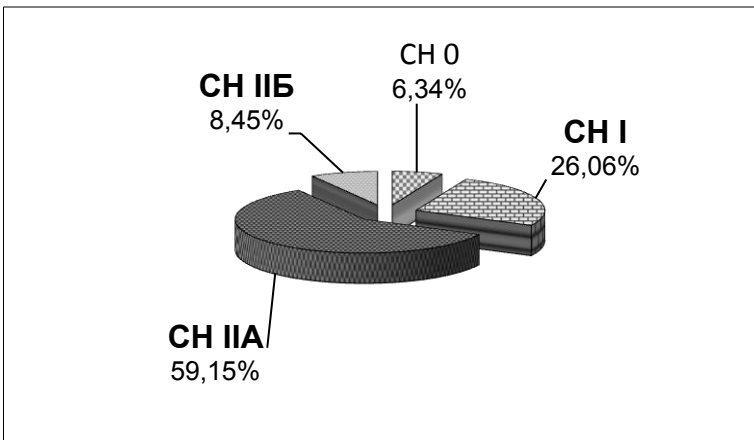
**Рис. 2.2.** Розподіл пацієнтів в залежності від ступеня АГ

В залежності від ступеня ураження органів-мішеней, АГ I стадії встановлена у 24 хворих (8,45 %); II стадії – у 232 хворих (81,69 %) та III стадія АГ спостерігалася у 28 пацієнтів (9,86 %) (Рис. 2.3).



**Рис. 2.3.** Розподіл пацієнтів в залежності від стадії АГ

У 266 хворих (93,66 %) перебіг АГ було ускладнено серцевою недостатністю (СН). У 74 хворих (26,06 %) встановлено СН I ступеня, у 168 (59,15 %) – СН IIА ступеня та 24 випадках (8,45 %) – СН IIБ ступеня. У 18 пацієнтів (6,34 %) ознаки СН не спостерігалися (Рис. 2.4). Слід зазначити, що у більшості пацієнтів – 248 (87,32%) мав місце діастолічний варіант СН ( $\Phi B \geq 50\%$ ), лише у 3 (1,06%) – систолічний варіант ( $\Phi B \leq 40\%$ ) та у 15 (5,28%) – невизначений варіант СН ( $40\% < \Phi B < 50\%$ ).



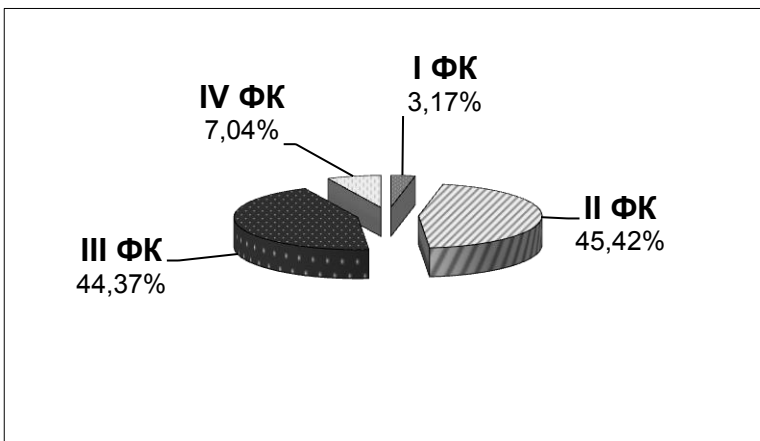
**Рис. 2.4.** Розподіл пацієнтів в залежності від ступеня СН

Розподіл за функціональним класом (NYHA) показав наявність I ФК у 9 (3,17 %) пацієнтів, II ФК – у 129 (45,42 %),

III ФК – у 126 (44,37 %) та IV ФК – у 20 (7,04 %) пацієнтів на АГ (Рис. 2. 5).

Супутня ішемічна хвороба серця (ІХС) спостерігалася у 207 хворих (72,89 %), причому при I ступені АГ (n=100) наявність ІХС діагностовано у 57 хворих (57,00 %), в той час, як у хворих II (n=92) та III ступеня АГ (n=92) частота ІХС була значно більшою та виявлялася у 71 (77,17 %) та 79 (85,87 %) хворих, відповідно.

Забір крові для дослідження вмісту ФНП- $\alpha$ , рФНП-Р1, СРБ та маркера апоптозу sFas-L проводився в перші дні перебування пацієнтів в стаціонарі та через 10-12 тижнів після лікування у ранкові часи, натще. Пацієнти в цей час не приймали антигіпертензивних препаратів. Забір крові здійснювали з кубітальної вени в скляні пробірки. Проби крові центрифугували при 2000 об/хв впродовж 15 хвилин. Плазму відбирали в пластикові пробірки та зберігали при температурі не вище за 20° С до виконання аналізу.



**Рис. 2. 5.** Розподіл пацієнтів в залежності від ФК (NYHA)

Методика визначення рівня фактору некрозу пухлин- $\alpha$

Визначення рівню ФНП- $\alpha$  здійснювалося з використанням набору реагентів ProCon TNF $\alpha$  («Протеиновый контур», С.-Петербург, Россия), який призначено для кількісного визначення ФНП- $\alpha$  людини в плазмі, сироватці і культуральних рідинах в інтервалі концентрацій 20-2000 пкг/мл. В наборі ProCon TNF $\alpha$  для визначення ФНП- $\alpha$  використано твердофазний імуоферментний метод з застосуванням пероксидази хрому в якості індикаторного ферменту. Згідно методики нормальний рівень ФНП- $\alpha$  у сироватці крові здорових людей, зазвичай, не перевищує 50 пкг/мл.

**Методика визначення рівня розчинних рецепторів до фактору некрозу пухлин –  $\alpha$  1 типу**

Визначення рівню рФНП-P1 у плазмі крові пацієнтів проводилося за допомогою наборів реагентів sTNF-RI EASIA (BioSource Europe S.A., Belgium). Набір реактивів призначений для кількісного визначення рФНП-P1 людини методом твердофазного імуоферментного аналізу у сироватці, плазмі клітинних культурах та інших біологічних рідинах. Метод засновано на олігоклональній системі, у якій використано суміш моноклональних антитіл направлених проти окремих епітопів рФНП-P1. Згідно нормативам даної методики, нормальний рівень рФНП-P1, який виміряно у 129 здорових осіб, знаходиться у межах від 0,3 нг/мл до 2,9 нг/мл, при середньому значенні –  $1,2 \pm 0,6$  нг/мл.

**Методика визначення рівня маркера апоптозу sFas-L**

Вміст sFasL у плазмі крові визначено тест-системою “human sFas Ligand ELISA” (Bender MedSystems, Vienna, Austria). Набір реагентів призначено для кількісного визначення sFasL людини у таких розчинах, як супернатанти або рідинах організму людини шляхом фермент-зв’язаного імуносорбентного аналізу (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay – ELISA).

Статистична обробка даних проводилась відповідно правил обробки медико-біологічної інформації після створення бази даних у програмі Microsoft® Excel.

Перевірка нормальності розподілу числового масиву даних проводилася за допомогою показників асиметрії –  $A_s$  (приймає значення від -1 до 1, а у випадку симетричного розподілу дорівнює 0), ексцесу –  $E_x$  (для нормального розподілу дорівнює 3), а також у випадках відносно малої кількості даних – візуально за графіками (якщо спостерігалася близькість експериментальних точок до прямої лінії, це дозволяло не відкидати гіпотезу щодо нормальності розподілу). При кількості спостережень більш за 100, розподіл вважався не нормальним. Уразі, коли дані відповідали нормальному закону розподілу, використовували методи параметричної статистики; якщо нормальність розподілу не підтверджувалася, застосовували непараметричні методи.

Перевірка гіпотез про рівність двох середніх проводилася за допомогою двовибіркового t-критерію Стьюдента для незалежних виборок та парного t-критерію Стьюдента – для залежних виборок при наявності нормального розподілу. Перевірка гіпотез про рівність двох середніх при розподілі, що відрізняється від нормального, проводилася за допомогою критерія U-тест Манна-Уитні для незалежних виборок та парного критерію Вілкоксона – для залежних виборок. При виявленні достовірності розбіжностей двох відносних або виражених у відсотках величин використовували критерій згоди  $\chi^2$ . При рівні значимості  $p < 0,05$  розбіжності вважалися достовірними. При перевірці гіпотез про рівність більше двох середніх застосовували однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA – ANalysis Of VAriance).

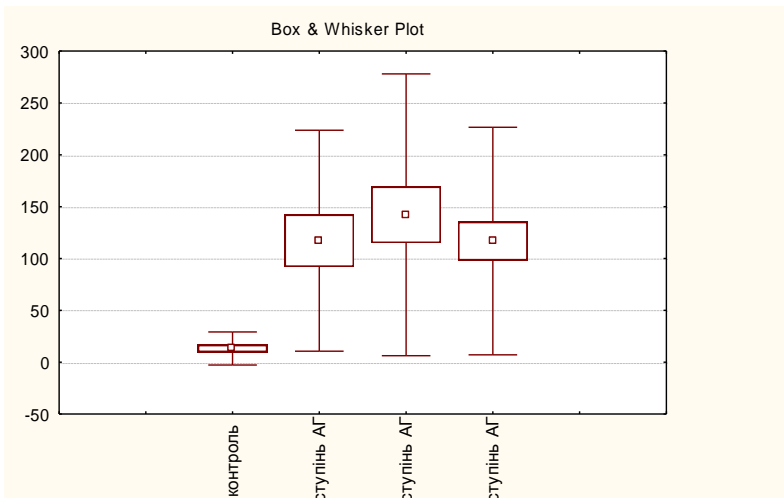
Для дослідження взаємозв'язку між показниками проведено кореляційний аналіз з розрахунком у випадку нормального розподілу даних парних коефіцієнтів кореляцій

Пірсона ( $r$ ) та у випадку ненормального розподілу – коефіцієнтів рангової кореляції Спірмена ( $r_s$ ). Дані оброблено з використанням методів дисперсійного аналізу, покрового множинного регресійного аналізу.

Статистична обробка даних проводилася за допомогою пакету комп'ютерних програм „STATISTICA 6.0” for Windows (Stat Soft Inc., USA); дані наведено як  $M \pm m$ , де  $M$  – середнє значення,  $m$  – стандартна похибка середнього значення.

Результати проведених останніми роками досліджень свідчать про те, що ФНП- $\alpha$  є медіатором кардіальної патології, що діє, частково, via імунозапальні механізми та, частково, via активацію програмованої загибелі клітин – апоптозу. Зв'язування ФНП- $\alpha$  зі своїми рецепторами 1 типу призводить до формування мультимолекулярного сигнального комплексу, що швидко активує подальший каскад імунозапальних та проапоптотичних внутрішньоклітинних взаємодій.

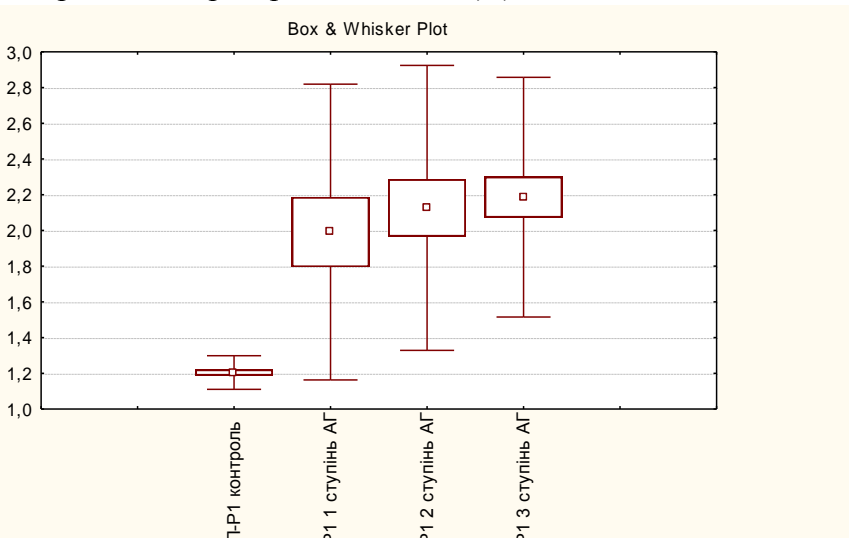
У зв'язку з тим, що існують свідчення щодо підвищеної продукції прозапальних цитокінів у відповідь на гемодинамічне перевантаження тиском, нами проаналізовано їх активність в залежності від рівня АГ. Пацієнтів було розділено на три групи відповідно до ступеня АГ: 1 група ( $n=18$ ) – 1 ступінь АГ, 2 група ( $n=25$ ) – 2 ступінь АГ, 3 група ( $n=35$ ) – 3 ступінь АГ (Рис. 2.6).



**Рис. 2.6.** Плазматичний рівень ФНП- $\alpha$  здорових осіб та пацієнтів на АГ в залежності від рівня підвищення АТ

Встановлено, що середній рівень ФНП- $\alpha$  в плазмі крові пацієнтів всіх груп достовірно перевищував середнє значення здорових осіб (контроль vs 1 групи  $p=0,00006$ ; vs 2 групи  $p=0,00006$ ; vs 3 групи  $p=0,00005$  згідно U тест Манна-Уитні). Максимальний вміст даного цитокіна відзначено при 2 ступені АГ ( $p=0,010$  vs 1 ступенем згідно U тест Манна-Уитні). У пацієнтів з 3 ступенем АГ рівень ФНП- $\alpha$  знижувався в порівнянні з 2 ступенем АГ ( $p=0,054$  згідно U тест Манна-Уитні) та практично не відрізнявся від середнього рівня пацієнтів з 1 ступенем АГ ( $p=0,163$  згідно U тест Манна-Уитні).

Циркулюючий рівень рФНП-Р1 гіпертензивних пацієнтів всіх трьох груп був достовірно вищим за середнє нормальне значення ( $p<0,001$  в усіх випадках згідно двовибіркового t-критерію Стьюдента) (Рис. 2.7).



**Рис. 2.7.** Плазматичний рівень рФНП-Р1 здорових осіб та пацієнтів на АГ в залежності від рівня підвищення АГ

Аналіз динаміки вмісту рФНП-Р1 показав тенденцію зростання його вмісту паралельно підвищенню величини АГ (1 гр. vs 2 гр.  $p=0,59$ ; 1гр. vs 3 гр.  $p=0,36$ ; 2гр. vs 3 гр.  $p=0,75$  згідно двовибіркового t-критерію Стьюдента в усіх випадках).

Величина ФНП- $\alpha$ /рФНП-Р1, що відображує співвідношення комплексу ліганд/рецептор, контрольної групи практично здорових осіб становила  $11,03 \pm 2,84$ . Вивчення динаміки даного показника показало його зростання у пацієнтів з різним ступенем АГ в порівнянні зі здоровими особами (контроль vs 1 групи  $p=0,0004$ ; vs 2 групи  $p=0,0001$ ; vs 3 групи  $p=0,0006$  згідно двовибіркового t-критерію Стьюдента). Максимальне значення виявлено у пацієнтів з 2 ступенем АГ, що відображує більш значне зростання ФНП- $\alpha$  в порівнянні з його природним антагоністом – рФНП-Р1 ( $p=0,34$  vs 1 ступеня АГ;  $p=0,61$  vs 3 ступеня АГ згідно двовибіркового t-критерію Стьюдента). У пацієнтів з 3 ступенем АГ спостерігалось незначне зниження величини ФНП- $\alpha$ /рФНП-Р1 в порівнянні з 2 ступенем АГ, яка, однак, залишалася вищою за аналогічну величину пацієнтів з 1 ступенем АГ ( $p=0,59$  згідно двовибіркового t-критерію Стьюдента) та здорових осіб.

Кореляційний аналіз виявив позитивний взаємозв'язок між САГ та рФНП-Р1 ( $r_s=0,41$ ;  $p=0,040$ ) у пацієнтів з 2 ступенем АГ; між ДАТ та ФНП- $\alpha$  ( $r_s=0,51$ ;  $p=0,002$ ), ФНП- $\alpha$ /рФНП-Р1 ( $r_s=0,49$ ;  $p=0,003$ ) у пацієнтів з 3 ступенем АГ.

Таким чином, незважаючи на виявлене нами підвищення концентрації рФНП-Р1, природного інгібітора ФНП- $\alpha$ , та незначне зниження показника ФНП- $\alpha$ /рФНП-Р1, рівень цитокіна залишався високим, що не виключає наявності ФНП-Р1-залежного шляху реалізації апоптозу у пацієнтів на АГ.

Альтернативним механізмом реалізації апоптотичної загибелі клітин є зв'язування рецептора Fas з відповідним лігандом (FasL). Відсоток наявності індуктора апоптозу – sFasL у крові загальної когорти пацієнтів становив –  $73 \pm 5\%$  (57 осіб), при середньому значенні –  $0,38 \pm 0,03$  нг/мл (в інтервалі концентрацій від 0 до 0,91 нг/мл).

Нами з'ясовано значну частоту виявлення sFasL у пацієнтів на АГ, що залежала від ступеня АГ (Табл. 2.2.).

**Таблиця 2.2**

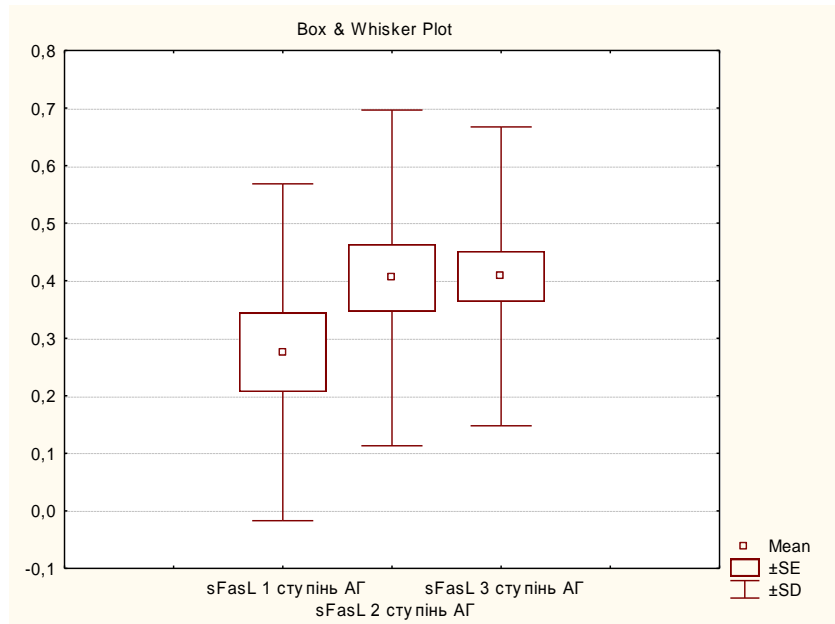
**sFasL в залежності від рівня підвищення АГ**

<b>Показники</b>	<b>1 ступінь АГ (n=18)</b>	<b>2 ступінь АГ (n=25)</b>	<b>3 ступінь АГ (n=35)</b>
Вік (роки)	52,83 $\pm$ 1,46	53,40 $\pm$ 2,35	55,94 $\pm$ 1,56
Тривалість АГ (роки)	5,51 $\pm$ 1,20	7,52 $\pm$ 1,36	13,20 $\pm$ 1,56
САТ (мм рт.ст.)	149,08 $\pm$ 1,51	164,97 $\pm$ 1,13	196,40 $\pm$ 2,83
ДАТ (мм рт.ст.)	96,04 $\pm$ 1,21	102,03 $\pm$ 1,53	113,52 $\pm$ 2,06
sFasL (нг/мл)	0,28 $\pm$ 0,07	0,40 $\pm$ 0,06	0,41 $\pm$ 0,04
Частота виявлення (%)	56 $\pm$ 12	76 $\pm$ 9	80 $\pm$ 7

Абсолютна кількість пацієнтів ( <i>n</i> )	10	19	28
--	----	----	----

Так, при 1 ступені АГ наявність sFasL у плазмі крові виявлено приблизно у половини пацієнтів; при 2 ступені АГ частота була вищою – ( $p=0,082$  згідно критерію згоди  $\chi^2$ ); при 3 ступені АГ спостерігалася тенденція подальшого зростання частоти виявлення sFasL – ( $p=0,75$  vs 2 ступеня АГ;  $p=0,040$  vs 1 ступеня АГ згідно критерію згоди  $\chi^2$ ).

Вивчення динаміки середнього рівня sFasL показало подібну тенденцію його підвищення (рис. 2.8).



**Рис. 2.8.** Середній плазматичний рівень sFasL пацієнтів на АГ в залежності від рівня підвищення АТ

Середні значення sFasL плазмі крові пацієнтів з 2 й 3 ступенем АГ істотно не відрізнялися між собою ( $p=0,97$  згідно двовибіркового t-критерію Стьюдента) та були вищими за середній рівень при 1 ступені АГ ( $p=0,16$ ;  $p=0,10$  відповідно згідно двовибіркового t-критерію Стьюдента).

Проведений кореляційний аналіз показав наявність позитивної залежності між віком пацієнтів та sFasL ( $r=0,40$ ;  $p=0,048$ ); негативної – між sFasL та ФНП- $\alpha$  ( $r=-0,55$ ;  $p=0,005$ ), ФНП- $\alpha$ /рФНП-Р1 ( $r=-0,45$ ;  $p=0,023$ ) у пацієнтів 2 групи, між sFasL та ФНП- $\alpha$  ( $r_s=-0,54$ ;  $p=0,0008$ ), ФНП- $\alpha$ /рФНП-Р1 ( $r_s=-0,55$ ;  $p=0,0006$ ) у пацієнтів 3 групи.

Виявлена нами значна частота sFasL та тенденція зростання його середнього рівня поряд зі збільшенням величини АТ вказує на вірогідність наявності Fas-залежного апоптозу у пацієнтів на АГ.

З метою вивчення можливого впливу терміну підвищення АТ на плазматичний вміст маркеру апоптозу sFasL, пацієнтів було розділено на 3 групи: 1 група – 27 пацієнтів з терміном АГ до 5 років; 2 група – 25 пацієнтів з терміном АГ від 5 до 10 років; 3 група – 26 пацієнтів, термін захворювання яких перевищував 10 років (Табл. 2.3).

**Таблиця 2.3**

**Маркер апоптозу sFasL у плазмі крові пацієнтів на АГ в залежності від тривалості підвищення АТ**

Показники	До 5 років ( $n=27$ )	Від 5 до 10 років ( $n=25$ )	Понад 10 років ( $n=26$ )
Вік (роки)	50,78±1,98	53,83±1,95	58,77±1,43
Тривалість АГ (роки)	2,23±0,26	7,52±0,44	19,42±1,21
САТ (мм рт.ст.)	168,28±3,72	171,77±4,92	188,05±4,29

ДАТ (мм рт.ст.)	102,84±1,56	104,72±3,12	110,59±2,25
sFasL (нг/мл)	0,40±0,06	0,34±0,53	0,40±0,05
Частота виявлення (%)	70±9	72±9	77±9
Абсолютна кількість пацієнтів (n)	19	18	20

Як видно з представленої таблиці, середній плазматичний вміст sFasL істотно не відрізнявся поміж групами, що аналізувалися. Незначне його зниження у пацієнтів 2 групи з тривалістю АГ від 5 до 10 років було недостовірним, як в порівнянні з 1 групою ( $p=0,45$  згідно двовибіркового t-критерію Стьюдента), так і у порівнянні з 3 групою ( $p=0,42$  згідно двовибіркового t-критерію Стьюдента). Середні значення sFasL у пацієнтів 1 групи з мінімальною тривалістю захворювання (до 5 років) й у пацієнтів 3 групи з максимальною тривалістю захворювання (понад 10 років) характеризувалися практично однаковими цифрами ( $p=0,99$  згідно двовибіркового t-критерію Стьюдента).

Таким чином, за нашими результатами на початкових стадіях захворювання (до 5 років) при відносно незначному збільшенні рівня АТ (1 ступінь АГ) відзначено зростання ФНП- $\alpha$ , рФНП-Р1 та високу частоту виявлення sFasL в плазмі крові пацієнтів. Відрив екстрацелюлярних частин ФНП-Р при високому циркулюючому рівні цитокіна можна розцінити як адаптивний механізм, який, з одного боку, зменшує кількість активних рецепторів на поверхні клітин-мішеней, а з іншого – шляхом зв'язування з ФНП- $\alpha$  нейтралізує його проапоптотичну активність. У пацієнтів з тривалістю АГ від 5 до 10 років та 2 ступінь АГ відбувається більш виражене підвищення продукції ФНП- $\alpha$  й подальше зростання середнього рівня sFasL та частоти його виявлення.

Незважаючи на паралельне зростання рФНП-Р1, як це спостерігалось у нашому дослідженні у даної категорії пацієнтів, такого циркулюючого рівня розчинних рецепторів можливо недостатньо для нейтралізації проапоптотичної дії ФНП- $\alpha$  (підвищення співвідношення ФНП- $\alpha$ /рФНП-Р1). При максимальній тривалості захворювання (понад 10 років) та максимальному рівні АТ (3 ступінь АГ) вміст ФНП- $\alpha$  знижувався, що частково можливо обумовлено його зв'язуванням зі своїми рецепторами. Також, не виключена можливість того, що ФНП- $\alpha$  запускає апоптотичний каскад, що призводить до загибелі клітин продуцентів цитокіна. Виявлена нами значна частота sFasL та тенденція зростання його середнього рівня поряд зі збільшенням величини АТ та тривалості АГ вказує на вірогідність наявності Fas-залежного апоптозу у пацієнтів на АГ.

З метою вивчення можливих вікових особливостей плазматичної концентрації індуктора апоптотичної загибелі клітин – sFasL, ми проаналізували його величину у пацієнтів на АГ різних вікових категорій (Табл. 2.4).

**Таблиця 2.4**

**Плазматичний вміст sFasL в залежності від віку пацієнтів на АГ**

Показники	Вік пацієнтів на АГ			
	25-49 років	50-54 років	55-61 років	62-71 років
Вік (роки)	42,25±1,54	52,21±0,38	58,25±0,43	65,79±0,53
Тривалість АГ (роки)	6,20±1,51	9,74±1,91	9,40±1,61	13,43±2,14
ЧСС (уд/хв)	74,36±1,33	79,25±2,42	79,40±2,18	79,74±2,07
САТ (мм рт.ст.)	174,88±4,2 7	173,34±5,5 5	174,81±6,4 3	179,57±4,6 7
ДАТ (мм рт.ст.)	107,45±2,0 0	106,09±2,9 7	107,67±3,5 1	109,11±1,9 5

sFasL (нг/мл)	0,26±0,06	0,38±0,01	0,43±0,05	0,44±0,05
Частота виявлення (%)	55±11	63±11	85±8	89±7
Абсолютна кількість пацієнтів (n)	11	12	17	17

Хворих було розділено на квартали: 1 квартал – пацієнти від 25 до 49 років (n=20); 2 квартал – від 50 до 54 років (n=19); 3 квартал – від 55 до 61 року (n=20); 4 квартал – від 62 до 71 року (n=19).

Тривалість АГ була мінімальною у пацієнтів 1 квартіля ( $p < 0,05$  згідно двовибіркового t-критерію Стьюдента в порівнянні з усіма іншими кварталями), практично не відрізнялася поміж собою у 2 та 3 квартали ( $p = 0,89$  згідно двовибіркового t-критерію Стьюдента), та характеризувалася максимальним середнім значенням у пацієнтів 4 квартіля ( $p < 0,05$  згідно двовибіркового t-критерію Стьюдента в усіх випадках).

Величина ЧСС була найменшою, також, у пацієнтів 1 квартіля, при приблизно однакових значеннях у пацієнтів старших вікових категорій ( $p > 0,05$  згідно двовибіркового t-критерію Стьюдента в усіх випадках). Суттєвих та достовірних розбіжностей рівня САГ та ДАГ у перших трьох кварталях не відзначено ( $p > 0,05$  згідно двовибіркового t-критерію Стьюдента в усіх випадках). В той час, як у пацієнтів 4 квартіля середній рівень АГ був незначно вищим.

Аналіз показників sFasL показав чітку тенденцію зростання його середнього значення та частоти виявлення у плазмі крові паралельно до збільшення віку пацієнтів на АГ. Середнє значення плазматичного рівня sFasL пацієнтів 3 та 4 квартіля достовірно перевищувало аналогічне пацієнтів 1 квартіля ( $p = 0,043$ ;  $p = 0,036$  відповідно згідно двовибіркового

t-критерію Стьюдента). У всіх інших випадках розбіжності виявилися недостовірними. Частота виявлення sFasL у плазмі крові пацієнтів старших вікових категорій 3 та 4 квартіля, також, достовірно перевищувала частоту у 1 квартілі ( $p=0,011$ ;  $p=0,005$  відповідно згідно критерію згоди  $\chi^2$ ). Крім того, незважаючи на відсутність достовірної відмінності середнього плазматичного рівня sFasL у пацієнтів 2 та 4 квартіля, частота його виявлення у плазмі крові пацієнтів 4 квартіля суттєво перевищувала частоту 2 квартіля ( $p=0,035$  згідно критерію згоди  $\chi^2$ ).

В результаті проведеного кореляційного аналізу встановлено наявність позитивного зв'язку між віком та плазматичним рівнем sFasL у пацієнтів 2 та 3 квартіля ( $r=0,485$  та  $r=0,274$  відповідно;  $p<0,05$  в обох випадках). При аналізі взаємозв'язку між тривалістю АГ та sFasL з'ясовано найбільш щільну кореляцію у пацієнтів старших вікових груп – 3 ( $r=0,312$ ;  $p<0,05$ ) та 4 квартіля ( $r=0,423$ ;  $p<0,05$ ). Суттєвих та достовірно значимих кореляційних зв'язків між рівнем САТ, ДАТ та sFasL нами не було виявлено. Це можна пояснити тим, що з одного боку рівень АГ – величина не постійна, мобільна та може коливатися впродовж доби. З іншого боку, гемодинамічний стрес, що обумовлено високим АГ, одна із, але не єдина причина посиленої продукції цитокінів.

### РОЗДІЛ 3

#### **Апоптотичний каскад при артеріальній гіпертензії, що асоційована з цукровим діабетом 2 типом**

Артеріальна гіпертензія (АГ), незважаючи на певний успіх у вивченні патогенезу, клініки та лікування, залишається одним із розповсюджених та прогностично неблагоприємним серцево-судинним захворюванням на Україні та у всьому світі (Дорогой А.П., 2011). В Україні за даними офіційної статистики 56% населення страждають на хвороби системи кровообігу. Найбільш поширеною серед них є саме АГ – 11,9 млн чоловік, з яких це 5,0 млн осіб працездатного віку. Станом на 2010 рік в Україні відсоток поширеності АГ серед хвороб системи кровообігу становить 46,8% (Горбась І.М., 2011).

Перебіг та прогноз АГ значно погіршується за наявності супутньої патології, насамперед цукрового діабету 2 типу (ЦД 2 типу), які, як припущено, мають деякі спільні ланки патогенезу. Це стосується цитокінів, гіперактивація яких визнається однією з причин виникнення та прогресування як АГ, так і ЦД 2 типу (Colwell J.A., 2011).

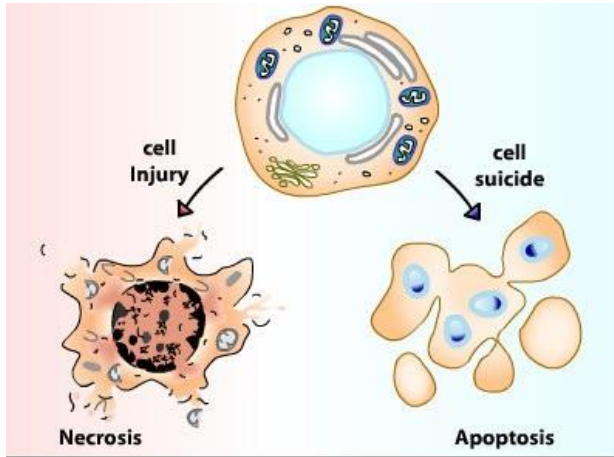
Поєднання АГ та ЦД 2 типу підвищує ризик серцевих та цереброваскулярних ускладнень у середньому в 5-6 разів порівняно з хворими на АГ без ЦД. Висока концентрація циркулюючої глюкози призводить до порушення секреції інсуліну та функції  $\beta$ -клітин підшлункової залози при ЦД. Існує припущення, що у крайньому разі, один із цих ефектів може бути спричинений глюкозо-індукованим апоптозом  $\beta$ -клітин (McKenzie M.D., 2010). Апоптотичний каскад задіяно до патогенезу АГ, результатом чого є формування кардіальної та ендотеліальної дисфункції (Ащеулова Т.В., 2010). Апоптотична загибель клітин контролюється взаємодією проапоптотичних та протиапоптотичних факторів. Одними з екзогенних факторів, які запускають апоптоз є рецептори смерті сімейства прозапального цитокіна – фактора некрозу пухлин- $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ), до числа яких входять

ФНП-P1, Fas (Fibroblast associated), DR3 (Death Receptor 3), DR4, DR5, DR6 та інші. У випадку Fas-залежного апоптозу, рецептор Fas (FasR) індукує апоптотичний сигнал шляхом зв'язування зі своїм лігандом - Fas лігандом (FasL), так-звана "FasR/FasL" система (Elmore S., 2007).

Аналіз даних, що отримані у вже проведених експериментальних та клінічних дослідженнях свідчить про важливе значення активації цитокінів в контексті впливу на кардіометаболічні порушення у хворих на артеріальну гіпертензію. Разом з тим, недостатньо вивченими є плазматичний вміст прозапальних та протизапальних цитокінів, а саме ІЛ-18 та ІЛ-10 у взаємозв'язку з параметрами вуглеводного метаболізму у хворих на АГ, що асоційована з ЦД 2 типу. Невирішеними на теперішній час залишаються механізми взаємозв'язку інтерлейкінової активації, маркерів апоптозу ("FasR/FasL" системи), параметрів глікемічного профілю при серцево-судинній патології, а особливо у пацієнтів на АГ з ЦД 2 типу.

Апоптоз це складний активний процес, в результаті якого, з одного боку, 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 (Taylor RC., 2008).

На відміні від некрозу, апоптоз це енергетично-залежний процес, що управляється генетичною програмою, в результаті якого відбувається фрагментація ДНК та клітина ділиться на невеличкі апоптотичні тільця (рис. 3.1). При цьому, слід зазначити, що оскільки цілісність клітинної мембрани зберігається, внутрішньоклітинний вміст не потрапляє в міжклітинний простір і тому не спостерігається типової для некрозу запальної реакції.



CELL DEATH:  
NECROSIS VS. APOPTOSIS

**Рис. 3.1.** Види клітинної загибелі: некроз та апоптоз (Elmore S., 2007)

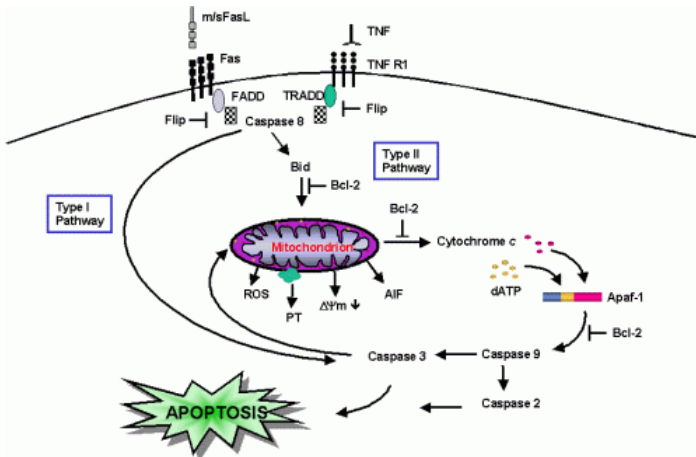
У організмі здорової людини клітинний гомеостаз підтримується за рахунок балансу між загибеллю та проліферацією клітин. Апоптоз це нормальний компонент розвитку та здоров'я багатоклітинних організмів, який запускається специфічними сигналами та позбавляє організм від ослаблених, непотрібних та пошкоджених клітин. Щодня приблизно 5% клітин організму піддаються апоптозу, а їх місце займають нові клітини. В процесі апоптозу клітина зникає безслідно впродовж 15-120 хвилин (Arends M.J., 2001).

У класичному розумінні апоптоз є самогубством, тобто за певних умов клітина здатна автономно ініціювати свою загибель. Виявлення екзогенних індукторів апоптозу та їх рецепторів на поверхні клітин свідчить про те, що процес у ряді випадків стимулюється ззовні. Існує декілька шляхів запуску апоптотичного каскаду взаємодій, серед яких вирізнять рецепторний та мітохондріальний шлях проапоптотичної реалізації. У випадку рецептор-

медійованого апоптозу залучено так-звані «рецептори смерті», що належать до суперсімейства прозапального цитокіна – фактора некрозу пухлин- $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ), до їх числа входять ФНП- $\alpha$  рецептори (ФНП-Р), Fas (Fibloblast associated), DR3 (Death Receptor 3), DR4, DR5, DR6 та інші, що запускають інтрацелюлярний апоптотичний сигнальний каскад (Ащеулова Т.В., Ковальова О.М., 2007).

Передача проапоптотичного сигналу через «рецептори смерті» залучає унікальний ланцюг протеїнів, що не є частиною інших сигнальних шляхів трансдукції (рис. 3.2).

Ліганди, що активують «рецептори смерті», належать також до суперродини ФНП- $\alpha$  та являють собою схожі за структурою молекули. У випадку ФНП-медійованого апоптозу, слід підкреслити, що хоча обидва рецептори – ФНП-Р1 та ФНП-Р2 можуть брати участь у зв'язуванні ФНП- $\alpha$  – цього «ліганду смерті», передача проапоптотичного сигналу частіше за все здійснюється через ФНП-Р1 (Bang S., 2000).



**Рис. 3.2.** Рецептор-медійований механізм запуску апоптотичного каскаду (Elmore S., 2007)

У випадку Fas-залежного апоптозу, рецептор Fas індукує апоптотичний сигнал шляхом зв'язування зі своїм лігандом – Fas лігандом (FasL), так-звана “Fas/FasL” система (Kiener P. A., 2007).

*Розчинний Fas (sFas).* Fas рецептор (FasR), також названий CD95 або APO-1, відноситься до класу рецепторів ФНП- $\alpha$ , є поверхневим протеїном з молекулярною вагою 36 kDa, який містить одиночну трансмембранну область та індукує загибель клітин шляхом зв'язування з FasL. sFas утворюється шляхом відщеплення 21 амінокислотного остатку від трансмембранного домена. Такий механізм утворення розчинних форм шляхом відокремлення від молекул-попередників, зв'язаних із мембраною, є характерним для багатьох представників родини ФНП- $\alpha$ . Вважається, що sFas виступає у якості інгібітору зв'язування Fas з FasL та відповідно блокує Fas-опосередкований апоптоз. Підвищення рівня данного рецептору було відзначено у хворих системний червоний вовчок (Strasser A., 2009).

*Fas-ліганд (sFasL).* sFasL, відомий як «фактор смерті», зв'язується з FasR та індукує загибель клітин. Система Fas-FasL ініціює знищення аутореактивних Т-клітин та розвиток гепатиту. Мембран-зв'язаний FasL під впливом металопртеїнази перетворюється у розчинну форму. Підвищення рівня FasL у сироватці крові спостерігається у пацієнтів з ревматизмом, гранулярним лімфоцитарним лейкозом та лімфоною клітинного типу НК. При експресії FasL на клітинах пухлин його розчинна форма може потрапляти у циркуляцію, провокуючи клітини, що мають на своїй поверхні FasR до апоптозу та тим самим, викликає мультиорганні ушкодження, які часто спостерігаються у онкологічних хворих (Mabrouk I., 2008).

FasR (CD95, APO-1) та ФНП-P1 мають додаткову гомологічну послідовність у внутрішньоклітинній частині молекулу, що є частиною трансдукції цитотоксичного сигналу. Цитоплазматичний C-кінець FasR (CD95, APO-1)

містить, також, так-званий «домен порятунку», видалення якого за даними експериментальних досліджень посилює цитотоксичну активність рецептору (Peter M.E., 2007).

FasL та ФНП- $\alpha$  є трансмембранними протеїнами другого типу з зовнішньоклітинним С-кінцевим, внутрішньоклітинним N-кінцевим та одним трансмембранним елементами, але вони можуть функціонувати й у розчинній формі. І FasL, і ФНП- $\alpha$  зв'язуються з відповідними рецепторами у вигляді тримеру, тобто «зшивають» три молекули рецепторів, що активує його для передачі проапоптотичного сигналу (Hughes P.D., 2008).

Взаємодія рецептора і ліганда призводить до утворення кластерів рецепторних молекул і зв'язуванні їх внутрішньоклітинних ділянок з адаптерами. Адаптер, зв'язавшись з рецептором, вступає у взаємодію з ефекторами, поки ще неактивними попередниками протеаз з сімейства ініціюючих каспаз. Взаємодія адаптера з рецептором і ефекторів здійснюється через гомофільний білок - білкові взаємодії невеликих доменів: DD (death domain - домен смерті), DED (death-effector domain - домен ефекторів смерті), CARD (caspase activation and recruitment domain - домен активації та рекрутування каспаз). Всі вони мають схожу структуру, містять по шість  $\alpha$ -спіральних ділянок. Домени DD є участь у взаємодії рецептора Fas с адаптером FADD (Fas-associated DD-protein) і у взаємодії рецепторів ФНП-P1 і DR3 з адаптером TRADD. Домени DED беруть участь у взаємодії адаптера FADD з прокаспазами 8 і 10. Адаптер RAIDD (RIP-associated Ich-1/CED-3 homologous protein with a death domain, RIP-receptor interacting protein) зв'язується з прокаспазой-2 через CARD-домени. Найбільш докладно охарактеризовано прокаспазу-8 (FLICE/MACH/Mch5), яка рекрутується рецептором Fas через адаптер FADD. Утворюються агрегати FasL - Fas - FADD - прокаспазу-8. Подібні агрегати, в яких відбувається активація каспаз, називаються апоптосомами, апоптозними шаперонами, або

сигнальними комплексами, які індукують смерть (DISC - death-inducing signaling complex) [Youle R.J., 2008].

Поряд з інвазивними методами прямого визначення дефрагментованих апоптотичних ДНК виникли нові підходи до діагностики такого виду загибелі клітин. Це методи, що базуються на вивченні специфічних частин апоптотичного каскаду, наприклад активності ФНП- $\alpha$ , рФНП-P1 та sFas/sFasL-системи. Таке визначення циркулюючих маркерів апоптозу у плазмі крові є більш прийнятним у клінічній практиці [Heatwole V.M., 1999].

Останніми роками спостерігається інтенсифікація досліджень присвячених вивченню таких біомаркерів апоптозу при різноманітній патології. Зокрема, показано його значення при окремих серцево-судинних захворюваннях: інфаркті міокарду, реперфузійному ушкодженні, серцевій недостатності та АГ [Ащеулова Т.В., 2007].

За результатами проведених експериментальних та клінічних досліджень було показано, що гладком'язові клітини (ГМК) судин здатні до проліферації, міграції, синтезу і руйнування сполучнотканинного матриксу при отриманні відповідного сигналу. Артерії дорослої людини у нормі мають низький індекс проліферації та апоптозу ГМК. Якщо у фізіологічних умовах гомеостаз ГМК судин визначається взаємодією між механічними, циркулюючими і тканинними факторами, то за наявності АГ регуляція перерахованих факторів змінюється і тому вони можуть виступати в ролі як індукторів, так і інгібіторів гіпертрофії і гіперплазії ГМК судин. Катехоламіни, володіючи трофічною функцією, стимулюють гіпертрофію ГМК судин. Трофічний ефект адренергічної стимуляції реалізується прямо чи опосередковано через збільшення секреції тромбоцитарного ростового фактора. Здатність ангіотензину II викликати гіперплазію ГМК судин продемонстровано в культуральних умовах і на прикладі експериментальних тварин [Vega F., 2009].

Існують свідчення того, що зміна просвіту в результаті ремоделювання судин при АГ може йти шляхом поєднання клітинної проліферації та апоптозу, а також активації синтезу сполучнотканинного матриксу і / або його деградації, що, ймовірно, має місце при еутрофічному типі ремоделювання судин у хворих з АГ. Показано присутність апоптозу в ГМК судин і при АГ у SHR-щурів порівняно з нормотензивними тваринами (Vobik A., 2004).

Низкою дослідників було визначено, що проблеми апоптозу ГМК тісно пов'язані з міжклітинним фіброзом, що збільшує жорсткість судинної стінки і знижує її податливість, як це було з'ясовано у ГМК у дрібних і м'язових артеріях гіпертензивних щурів, а, також, у ГМК радільної артерії людини (Hayakawa Y., 2009; Dickhout JG., 2009). Відомо, що збільшенню накопичення білків сполучнотканинного матриксу при АГ може сприяти і зміни активності металопротеїназ (ММР), ферментів, що здійснюють деградацію екстрацелюлярний протеїнів в судинній стінці. ММР-1, ММР-13 здійснюють ферментативне перетравлення фібрилярного колагену I і III типів. В експерименті показано збільшення рівня проколлагена I і зниження продуктів його деградації у сироватці крові спонтанно гіпертензивних щурів. Аналогічні зміни виявлені і при виконанні клінічних досліджень у сироватці крові хворих на АГ. Кількісна і якісна модифікація білків сполучної тканини опосередковано через систему адгезивних рецепторів може призводити до фенотипової трансформації ГМК в судинній стінці при АГ з формуванням секреторного і проліферативного їх фенотипу. Подібні зміни лежать в основі процесів проліферації і апоптотичної загибелі ГМК судин (Chamiot CP., 2009; Ford SM., 2009).

Останіми роками оримано дані, що свідчать про те, що при АГ поряд з "функціональним" зменшенням кровотоку за рахунок вазоконстрикції, гіпертрофії/гіперплазії медіального шару резистивних судин, присутній і "структурне"

зменшення кровопостачання. В основі даного патологічного процесу лежить вимкнення частини артеріол з кровотоку та повне їх зникнення. Однієї із причин зменшення кількості функціонуючих дрібних артерій і артеріол вважається апоптоз ендотеліальних клітин. Механізми програмованої загибелі ендотеліальних клітин при АГ остаточно не визначені. На експериментальних тварин і в культуральних дослідженнях показано, що розтягування судинної стінки викликає експресію NO-синтази і опосередковано збільшує продукцію оксиду азоту, що володіє цитопротективним ефектом. Існує гіпотеза, що якісне і кількісне співвідношення нейрогуморальних факторів визначає ступінь пошкодження ендотеліальних клітин. Підтвердженням чому, є отримані дані про те, що, з одного боку, поряд з механічним стресом, ендотелін-1, адреномедулін, судинний ендотеліальний ростовий фактор, основний фактор росту фіброblastів, ІЛ-10 і ряд інших факторів володіють захисним ефектом на ендотелій судин. З іншого боку, такі циркулюючі нейрогуморальні фактори, як ангіотензин ІІ,  $\beta$ 1-трансформуючий фактор росту, натрійуретичний пептид, є індукторами апоптозу ендотеліальних клітин при АГ (Kato H., 2007).

Вільнорадикальне пошкодження клітин в умовах гіпероксигенації, ішемії та реперфузійних змін на тлі вазоконстрикторних реакцій можуть бути причиною ініціації програмованої загибелі ендотеліальних клітин при АГ. Крім того, гіперпродукція оксиду азоту також може призводити до утворення пероксинітритов та індукції апоптозу ендотеліальних клітин. Збільшення напруги зсуву на ендотелії за рахунок підвищення гідростатичного тиску і в'язкості крові може призвести до втрати контактів ендотеліальних клітин з базальною мембраною, що є додатковим тригером проапоптотичних сигналів (Mombouli JV., 2009).

Підсумовуючи результати отримані у попередніх дослідженнях, можна зробити висновок про те, що такі судинні зміни при АГ, як проліферація, диференціювання та апоптоз клітин, залежать від кількісної характеристики, співвідношення циркулюючих факторів міжклітинних взаємодій та величини механічного гемодинамічного стресу. Також, існують деякі докази того, що з процесами апоптозу і проліферації тісно пов'язані місцеві запальні реакції і позаклітинний фіброз, що у підсумку призводить до зниження еластичних властивостей судин, прискоренню атерогенезу, активації системи згортання, а отже, і до збільшення ризику серцево-судинних ускладнень у хворих АГ (Cominacini L., 2008).

Донедавна вважалося, що такі високо диференційовані клітини як кардіоміоцити не гинуть у результаті апоптозу, однак останніми роками було встановлено, що апоптоз може відігравати критичну роль у патогенезі кардіальної патології. В експерименті на тваринах та у клінічних дослідженнях пацієнтів АГ було встановлено потенційну можливість залучення апоптотичної активації до загибелі кардіоміоцитів, що була стимульована різними ушкоджуючи ми факторами. Так, було показано, що кардіоміоцити підлягають апоптозу під впливом ішемії, імунозапалення та токсичних факторів.

У пацієнтів з АГ втрата функціонуючих кардіоміоцитів у результаті апоптозу представляється важливим фактором ремоделювання міокарду у відповідь на гемодинамічне навантаження, що призводить до погіршення скоротливої функції міокарду. Локальними тригерами апоптотичної програми у даному випадку є механічний стрес, гіпоксія, прозапальні цитокіни, ангіотензін II та інші (Bennett MR., 2002). Втрату кардіоміоцитів при переході від компенсаторної гіпертрофії міокарду до СН, також пояснюють саме апоптозом, оскільки некроз кардіоміоцитів не є характерним явищем для ХСН (Engel D., 2004).

Одним з найбільш значущих чинників, що призводять до пошкодження серцевого м'яза при ЦД є хронічна гіперглікемія. З одного боку, вона сприяє ураженню міокарда, з іншого - підсилює негативний вплив інших факторів ризику розвитку кардіоаскулярної патології. Кардіотоксичний ефект гіперглікемії реалізуються через механізми, що включають збільшення глікозилювання та оксидації білків, залучених в обмін ліпідів, систему згортання крові та судинного гомеостазу (Cioffi G., 2012; Lu D., 2012).

Гіперглікемія активує в ендотеліальних клітинах протеїн С, що може викликати гіперпродукцію судинозвужувальних простагландинів, ендотеліну-1 і АПФ, які володіють безпосереднім або опосередкованою дією на судинну реактивність. Більш того, гіперглікемія порушує продукцію матриксу ендотеліальними клітинами, що може привести до збільшення товщини базальної мембрани. Також у високих концентраціях глюкоза оказує безпосередньо токсичну дію на ендотеліальні клітини судин. Це токсична дія може вести до зменшення ендотелійзалежного розслаблення судин, збільшення вазоконстрикції, стимуляції гіперплазії гладком'язових клітин, ремоделювання судин і розвитку атеросклерозу (Halperin F., 2012).

Патогенез як АГ, так і ЦД 2 типу досить складний, мультифакторіальний та не до кінця зрозумілий. Так, вважається, що розвиток ЦД 2 типу пов'язано з дисфункцією панкреатичних  $\beta$ -клітин за наявності інсулінорезистентності (ІР). Результатом прогресуючої дисфункції  $\beta$ -клітин є недостатня секреція інсуліну з метою компенсації ІР. Досі не з'ясовано, що має більш вагомий внесок у розвиток захворювання, чи то зменшення кількості  $\beta$ -клітин, чи то функціональні дефекти секреції інсуліну (Muoio DM., 2008).

Висока концентрація циркулюючої глюкози призводить до порушення секреції інсуліну та функції  $\beta$ -клітин підшлункової залози при ЦД. Існує припущення, що у крайньому разі, один із цих ефектів може бути спричинений

глюкозо-індукованим апоптозом  $\beta$ -клітин (Guardado-Mendoza R., 2009).

При вивченні зразків панкреатичної тканини, що було отримано при аутопсії, показано приблизно 60% зменшення кількості  $\beta$ -клітин у померлих, які за життя страждали на ЦД 2 типу порівняно з тими, які не мали ЦД 2 типу. Таке зниження було обумовлено 10-разовим та триразовим зростанням апоптозу  $\beta$ -клітин у померлих з ЦД 2 типу з нормальною та надмірною масою тіла відповідно. Хоча точна причина такої апоптотичної активації невідома, не виключена можливість того, що існують молекули, що є токсичними по відношенню до  $\beta$ -клітин підшлункової залози. Наразі показано залучення таких молекул, до складу яких входять глюкоза, ненасичені жирні кислоти, цитокіни, до апоптотичного каскаду панкреатичних  $\beta$ -клітин *in vitro* (Jurgens CA., 2011).

Висока концентрація глюкози потенційно спроможна викликати апоптотичну загибель  $\beta$ -клітин, в додаток до ролі у формуванні дисфункції панкреатичних  $\beta$ -клітин при ЦД 2 типу. Висока циркулююча концентрація глюкози спроможна, також, призводити до деструкції  $\beta$ -клітин, що залишилися при ЦД 1 типу або коли маса  $\beta$ -клітин у трансплантатах острівків підшлункової залози була граничною (Dugas V., 2010).

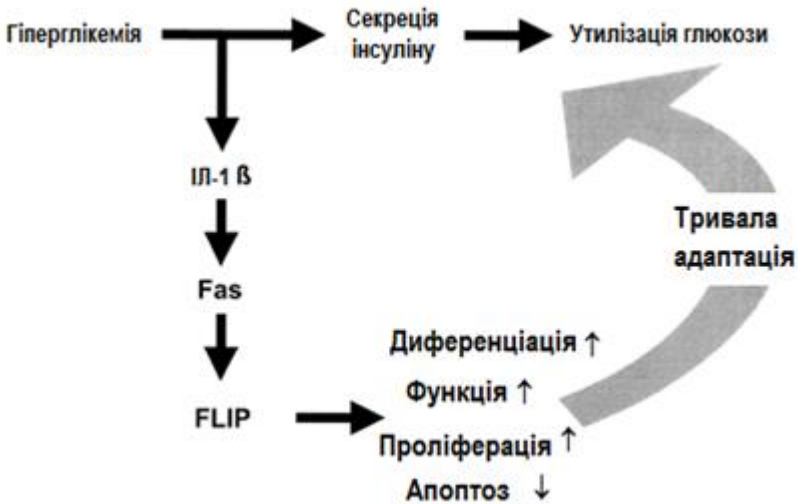
Апоптоз  $\beta$ -клітин, обумовлений глюкозо-токсичністю спостерігався у низці моделей експериментальних тварин з ЦД 2 типу, що включали *Psammomys obesus* пустельних піщанок, Zucker діабетичних щурів з ожирінням, та домашніх котів (Zini E., 2009). Ізольовані панкреатичні острівки у цих дослідженнях були сприйнятливими до глюкозо-залежної фрагментації ДНК.

Було запропоновано декілька механізмів такої глюкозо-індукованої токсичності. Так, у панкреатичних острівках людини не виключена можливість того, що глюкоза індукує внутрішньоострівкову продукцію ІІ-1 $\beta$ , що

призводить до активації NF $\kappa$ -B, регуляції Fas та апоптозу  $\beta$ -клітин як наслідок взаємодії з FasL, експресії новонароджених  $\beta$ -клітин (Ehses JA., 2007). Однак, отримані у цих дослідженнях дані не було підтверджено наступними результатами (Elouil H., 2005), що може свідчити про існування альтернативних механізмів.

Панкреатичні  $\beta$ -клітини уразливі до стресу ендоплазматичного ретикулу у зв'язку з їх понаднормовою потребою до синтезу та секреції інсуліну, що може бути загострено високим рівнем глюкози (Eizirik DL., 2008). Було показано вплив глюкозо-токсичності на індукцію інтрацелюлярних пероксидів, що сприяють загибелі  $\beta$ -клітин. Експресія внутрішніх антиоксидантних ферментів у нормі є відносно невисокою, та аденовірусна гіперекспресія Gpx-1 попереджує глюкозо-індукований апоптоз (Tanaka Y.A., 2002). Індукована глюкозою експресія проапоптотичного фактору – тиредоксинвзаємодіючий протеїну, котрий пригнічує редокс-активний білок тиредоксин, при його гіперекспресії сприяє каспаза-3-залежному апоптозу (Chen J., 2008). Виявлено, також, що глюкоза є промотором деградації CREB убіквітин-протеасомним шляхом, що призводить до апоптотичної загибелі  $\beta$ -клітини.

Більшість досліджень вивчали фактори, що можуть потенційно бути залученими до недостатності  $\beta$ -клітин острівкового апарату підшлункової залози, уразі відсутності генетичної схильності до ЦД. У цьому контексті, важливим було дізнатися чи є відміна панкреатичних острівців, що було ізольовано у здорових донорів органів та у хворих на ЦД. Кількість  $\beta$ -клітин збільшується при станах зростаючої потреби, таких, як ожиріння, та їх зменшення призводить до ЦД (Bonner-Weir S., 2000). Ця нездатність адаптуватися у пацієнтів з ЦД може бути пояснена ефектами глюкози на стан  $\beta$ -клітин підшлункової залози. У зв'язку з цим, було запропоновано гіпотезу, що може пояснити механізми, завдяки яким глюкоза регулює кількість  $\beta$ -клітин (рис. 3.3)



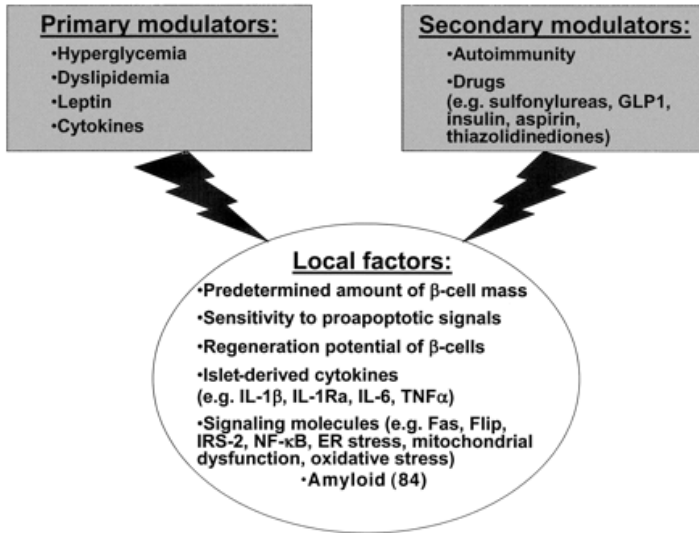
**Рис.3.3.** Гіпотетична модель, що ілюструє наслідки гіперглікемії на продукцію ІЛ-1 $\beta$  панкреатичними  $\beta$ -клітинами паралельно до секреції інсуліну. Паракринний ефект ІЛ-1 $\beta$  індукує залучення Fas, котрий за наявності FLIP призводить до диференціації, гіперфункції, проліферації та апоптозу панкреатичних  $\beta$ -клітин (Donath MY., 2005).

Відповідно до цієї гіпотези, тривала адаптація  $\beta$ -клітин до умов підвищених потреб може бути викликана впливом гіперглікемії. Такий вплив є тригером продукції ІЛ-1 $\beta$  панкреатичними  $\beta$ -клітинами (Ehses JA., 2009), з послідуною активацією Fas (Guardado Mendosa R., 2009). Уразі наявності інгібітора каспази-8 FLICE інгібіторного протеїну (FLIP), дія Fas направлена у бік проліферації. Однак, черезмірна стимуляція глюкозою може знижувати FLIP, перемикаючи цей адаптивний шлях у бік шкідливих сигналів та у кінцевому рахунку до діабету (Maedler K., 2002). У підтримку цієї гіпотези отримано дані, про наявність ІЛ-1 $\beta$  у  $\beta$ -клітинах пацієнтів з ЦД 2 типу, з супутньою індукцією Fas та зниженою експресією протеїну FLIP.

Нещодавно у двох експериментальних дослідженнях моделей ЦД 2 типу підтверджено панкреатичну експресію ІІ-1 $\beta$  в гіперглікемічних умовах (Mine T., 2006). Крім того, глюкозо-індуковану продукцію ІІ-1 $\beta$  продемонстровано при електронній мікроскопії зразків з ізольованих панкреатичних островків людини. Глюкозо-індукована експресія Fas була підтверджена *in vitro* та *in vivo*, що є підтвердженням молекулярного зв'язку між ЦД 1 типу і 2 типу (Mellado-Gil JM., 2004). В додаток до своїх ефектів на структуру  $\beta$ -клітин, гіперглікемія може також порушувати їх секреторну функцію (Donath MY., 2004). Ці глюкозо-токсичні ефекти є очевидними ще до того, як апоптоз призведе до значного зменшення кількості  $\beta$ -клітин. Оскільки гіперглікемія може регулювати експресію Fas, було припущено, що Fas-залежний шлях спроможен не тільки медіювати глюкозо-індуковані зміни структури  $\beta$ -клітин, але й впливати на секреторну функцію (Laybutt DR, 2003).

Крім того, вивчалася роль Fas-залежного проапоптотичного шляху у регуляції продукції та викиду інсуліну. Звичайно ІІ-1 $\beta$ -Fas-залежний шлях не є єдиним медіатором глюкозо-токсичної загибелі панкреатичних  $\beta$ -клітин. Однак, цей шлях розглядається як приклад мультимеханізмів, що здатні регулювати структуру та функцію панкреатичних  $\beta$ -клітин. Дослідниками на чолі Donath MY. було висунуто припущення про те, що глюкоза відіграє пілотну роль посеред факторів, що визначають стан панкреатичних  $\beta$ -клітин. В той час, як транзиторна постпрандіальна гіперглікемія переважно індукує проліферацію  $\beta$ -клітин у інсулінорезистентних осіб, ці адаптивні механізми можуть порушуватися завдяки наявності апоптозу уразі тривалого перебігу. Однак, скоріш за все, глюкозотоксичність не діє поодинці, а вносить свій негативний внесок у комплексі з НЖК, ліпопротеїдами, лептином, циркулюючими та локально-продуктованими

цитокінами призводить в подальшому до загибелі  $\beta$ -клітин (рис. 3.4). Ці фактори спроможні викликати апоптоз та/або некроз, що за наявності прозапальних цитокінів може активувати специфічний імунологічний феномен, який у кінцевому підсумку призводить до аутоімунної реакції.



**Рис. 3.4.** Запропонована модель механізмів, що регулюють функціональний стан  $\beta$ -клітин при ЦД 2 типу (Donath MY., 2005).

Як зазначено на даній схемі, розвитку ЦД 2 типу передують інсулінорезистентність, що може призводити до транзиторної постпрандіальної гіперглікемії. Іншими факторами, що визначають стан  $\beta$ -клітин є дисліпідемія, лептин, цитокіни. Генетична схильність до ЦД 2 типу може включати, як наперед визначену кількість  $\beta$ -клітин, так і різницю у сприйнятті апоптотичного сигналу та регенераційному потенціалі  $\beta$ -клітин. В додаток до цього, індукція локальних запальних медіаторів та апоптотичної

загибелі клітин може активувати імунну систему. Та нарешті, медичні препарати можуть чи то захищати, чи то пошкоджувати  $\beta$ -клітини (Rhodes CJ., 2005).

Таким чином, результати вже проведених досліджень свідчать про можливість залучення апоптотичних механізмів загибелі клітин, як до патогенезу АГ (апоптоз кардіоміоцитів, ГМК, ендотеліальних клітин), так і до патогенезу ЦД 2 типу (апоптоз панкреатичних  $\beta$ -клітин). Разом з тим, залишається доволі багато запитань щодо взаємозв'язку параметрів глікемічного профілю, дистанційних маркерів імунозапалення – прозапальних (ІЛ-18) та протизапальних (ІЛ-10) цитокінів та сигнальних молекул апоптозу (FasR (CD95, APO-1); FasL) у контексті ініціації проапоптотичних механізмів у хворих АГ, с супутніми порушеннями вуглеводного метаболізму.

## РОЗДІЛ 4

### Дистантні маркери апоптозу у пацієнтів на артеріальну гіпертензію з предіабетом чи цукровим діабетом 2 типу

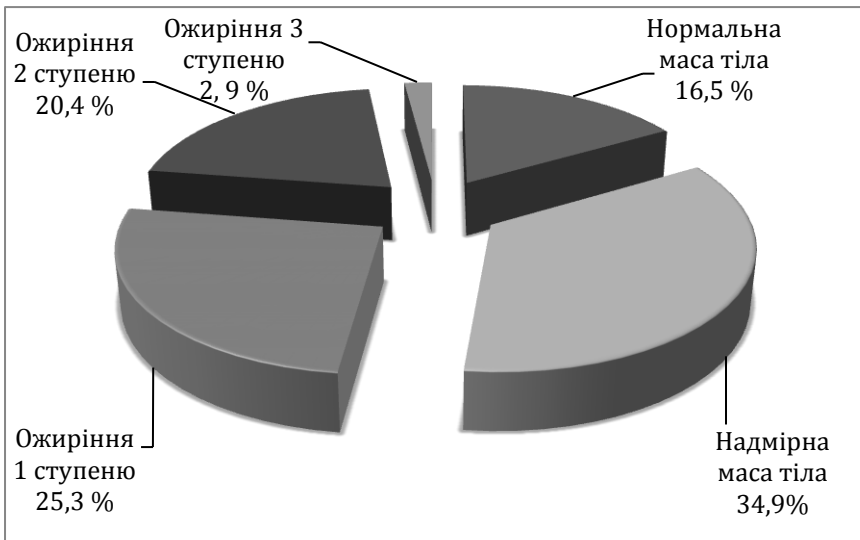
До нашого клінічного дослідження було включено 103 пацієнта з АГ, серед яких спостерігався приблизно однаковий розподіл за статтю, а саме – чоловіків 44 (42, 7 %), жінок – 59 (57,3 %). У групі контролю, половина обстежених осіб (n=5) були чоловічої статі (50 %), і половина (n=5) – жіночої статі (50 %). Вік пацієнтів АГ, яких було включено до дослідження коливався від 32 до 80 років, вік осіб контрольної групи становив 62 (46;62) роки. Тривалість АГ за даними анамнезу в середньому становила  $9,53 \pm 0,71$  років, від 1 до 30 років.

При аналізі скарг, що є характерними для підвищення рівню АТ, було з'ясовано наступні скарги:

- церебрального характеру: головний біль у 89 пацієнтів (86,4 %), запаморочення у 67 пацієнтів (65,0 %), тимчасове порушення зору у 54 хворих (52,4 %), тимчасове порушення слуху у 45 хворих (43,7 %);
- астено-невротичного характеру: стомлюваність при звичайному фізичному навантаженні – у 27 хворих (26, 2 %), при незначному навантаженні – у 53 хворих (51,4 %), при будьому навантаженні та у стані спокою – 4 хворих (3,9 %); емоційна лабільність виявлена у 32 пацієнтів (31,1 %), порушення сну у 29 пацієнтів (28,2 %), пітливість – у 18 хворих (17,5 %);
- кардіального характеру: серцебиття при звичайному фізичному навантаженні відзначено у 29 хворих (28,2 %), при незначному навантаженні – 48 хворих (46,6 %), при будьому навантаженні та у стані спокою – 4 хворих (3,9 %); біль у ділянці серця мали 72 пацієнти (69,9 %). Задишка мала місце при звичайному фізичному

навантаженні у 36 хворих (35,0 %), при незначному навантаженні у 59 хворих (57,3 %), при будьому навантаженні та у стані спокою – 4 хворих (3,9 %).

Аналіз антропометричних показників показав, що зріст обстежених хворих на АГ коливався в межах від 1,5 до 1,87 м, маса тіла – у межах від 56,0 до 138 кг. Показник ІМТ характеризувався наступними значеннями: мінімальне – 20,0 кг/м<sup>2</sup>, максимальне – 40,3 кг/м<sup>2</sup>. В результаті проведених антропометричних вимірювань встановлено нормальну масу тіла у 17 пацієнтів, надмірну масу тіла – у 36 пацієнтів, ожиріння 1 ступеня – у 26 пацієнтів, ожиріння 2 ступеня – у 21 хворих, і ожиріння 3 ступеня – у 3 хворих (рис. 4.1).

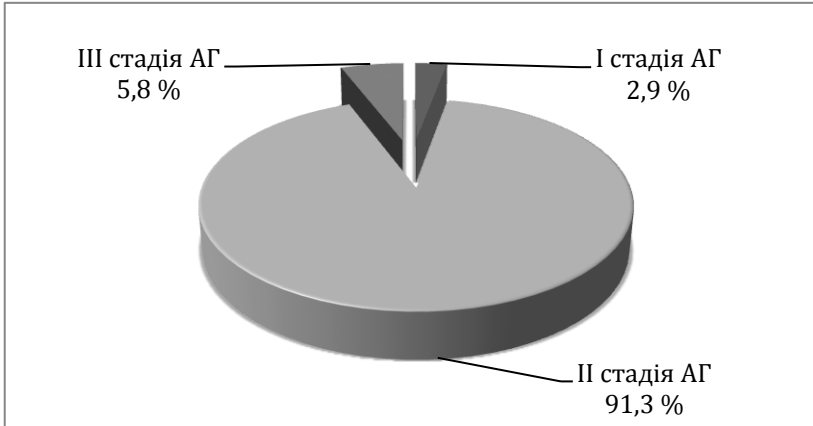


**Рис. 4.1.** Характеристика маси тіла загальної вибірки пацієнтів з АГ

Наявність абдомінального типу розподілу жирової тканини у більшості хворих, а саме у 78 хворих АГ, що

становило 75,7 %, відповідно у 25 пацієнтів ознак АО не виявлено (24,3 %).

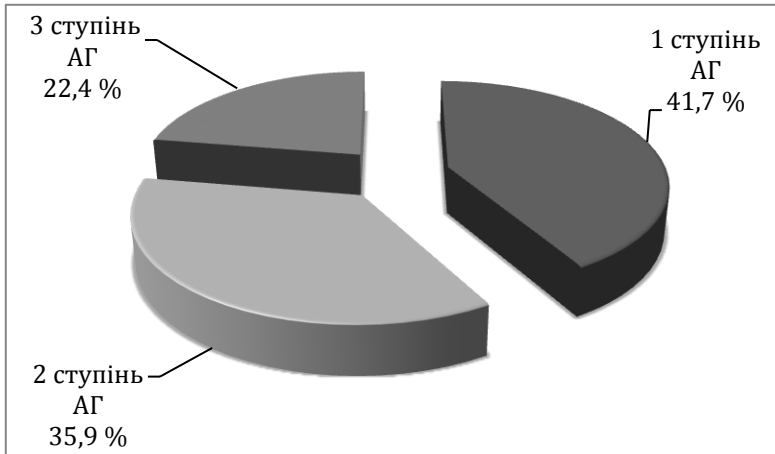
За стадією АГ мав місце наступний розподіл: у 3 пацієнтів діагностовано I стадію АГ, у 94 пацієнтів діагностовано АГ II стадії, в той час, як АГ III стадії – у 6 хворих (рис. 4.2).



**Рис. 4.2.** Розподіл пацієнтів за стадією АГ

За ступенем АГ обстежені хворі були представлені наступним чином: 43 хворих з АГ 1 ступеню (САТ – 140-159 мм рт.ст., ДАТ – 90-99 мм рт.ст.), 37 хворих з АГ 2 ступеню (САТ – 160-179 мм рт.ст., ДАТ – 100-109 мм рт.ст.) та 23 хворих з АГ 3 ступеню (САД  $\geq$  180 мм.рт.ст, ДАД  $\geq$  110 мм.рт.ст.) (рис. 4.3).

Таким чином, пацієнти були в основному представлені II стадією АГ та 1 ступенем підвищення рівню АТ.



**Рис. 4.3.** Розподіл пацієнтів за ступенем АГ

В результаті вивчення показників, що характеризують стан вуглеводного метаболізму, гіперглікемію натще встановлено у 24 пацієнтів (23,3 %) на АГ, гіперінсулінемію – у 26 пацієнтів (25,2 %). У 59 хворих (57,3 %) виявлено підвищений рівень НbA1c. Інсулінорезистентність за індексом НОМА мали 35 хворих, що склало 39,8 %. Супутній ЦД 2 типу діагностовано у 31 пацієнта АГ (34,0 %). Порівняльну характеристику антропометричних показників та параметрів периферичної гемодинаміки у контрольній групі та пацієнтів АГ, розділених на групи залежно від наявності ЦД 2 типу наведено у таблиці 4.1.

**Таблиця 4.1**

**Порівняльна характеристика антропометричних показників та параметрів гемодинаміки у контрольній групі та пацієнтів АГ залежно від наявності супутнього ЦД 2 типу  
Me (LQ; UQ)**

Показники	Контрольна група	АГ	АГ та ЦД 2 типу
Вік, років	62 (46; 62)	58 (50; 63)	62 (57; 67) <sup>†</sup>
Антропометричні показники			
Зріст, м	1,72 (1,68; 1,75)	1,72 (1,63; 1,75)	1,65 (1,56; 1,72) <sup>†</sup>
Маса тіла, кг	75 (70; 80)	85 (77; 94) <sup>*</sup>	83 (73; 92)
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	25,71 (23,67; 28,41)	28,73 (26,03; 33,95) <sup>*</sup>	29,34 (25,71; 34,11) <sup>*</sup>
ОТ, см	80 (78; 90)	100 (94; 107) <sup>*</sup>	100 (94; 110) <sup>*</sup>
ОС, см	92 (90; 98)	105 (98; 114) <sup>*</sup>	105 (95; 113) <sup>*</sup>
Гемодинамічні показники			
Тривалість АГ, років	0 (0; 0)	7 (4; 12)	10 <sup>†</sup> (6; 13)
САТ, мм рт. ст	120 (120; 120)	150 (140; 160) <sup>*</sup>	140 (130; 160) <sup>*</sup>
ДАТ, мм рт. ст	80 (75; 80)	90 (85; 100) <sup>*</sup>	90 (85; 100) <sup>*</sup>
ЧСС, уд/хв	76 (75; 80)	80 (78; 88) <sup>*</sup>	85 (80; 88) <sup>*</sup>

**Примітка:**

1. <sup>\*</sup> — відмінності відносно групи контролю вірогідні при  $p < 0,05$ ;

2. † — відмінності відносно групи пацієнтів з АГ вірогідні при  $p < 0,05$ .

Як видно з таблиці, групи порівняння співставні за віком та зростом. Маса тіла пацієнтів АГ достовірно перевищувала масу тіла осіб контрольної групи ( $p < 0,05$ ). Це, також стосувалося таких показників, як ІМТ, ОТ та ОС, значення котрих у пацієнтів АГ та АГ з супутнім ЦД 2 типу достовірно перевищували аналогічні показники групи контролю ( $p < 0,05$  в усіх випадках). При аналізі показників периферичної гемодинаміки встановлено, що величина САТ, ДАТ, ЧСС суттєво не відрізнялися у пацієнтів з АГ та при сполученому перебігу АГ та ЦД 2 типу ( $p > 0,05$ ), однак перевищували відповідні значення у осіб контрольної групи ( $p < 0,05$  в усіх випадках).

Показники стану вуглеводного метаболізму у групі контролю та групах пацієнтів АГ представлено у табл. 4.2.

**Таблиця 4.2**

**Порівняльна характеристика показників вуглеводного метаболізму у контрольній групі та пацієнтів АГ залежно від наявності супутнього ЦД 2 типу Me (LQ; UQ)**

Показники	Контроль	АГ	АГ та ЦД 2 типу
Інсулін, мкОД/мл	7,60 (7,01; 8,00)	8,79 (7,80; 16,11)*	9,30 (8,10; 13,16)*
Глюкоза, ммоль/л	4,80 (4,60; 5,00)	4,72 (4,20; 5,11)	5,40 (4,50; 6,20)*†
Hb <sub>A1c</sub> , %	5,63 (4,00; 6,77)	5,64 (4,80; 7,10)	7,70 (5,30; 8,80)*†
НОМА	1,68 (1,49; 1,72)	1,88 (1,54; 3,32)	2,43 (2,09; 3,20)*

**Примітка:**

1. \* — відмінності відносно групи контролю вірогідні при  $p < 0,05$ ;

2. † — відмінності відносно групи пацієнтів з АГ вірогідні при  $p < 0,05$ .

Рівень інсуліну, як у пацієнтів АГ, так і у пацієнтів на АГ з супутнім діабетом не відрізнявся поміж собою ( $p > 0,05$ ), але був в обох випадках достовірно вищим за рівень інсуліну контрольної групи ( $p < 0,05$  в обох випадках).

Рівень глюкози та  $Hb_{A1c}$  лише у групі пацієнтів АГ, що асоційована з ЦД 2 типу достовірно перевищували рівні глюкози та  $Hb_{A1c}$  практично здорових осіб контрольної групи ( $p < 0,05$ ). Така ж тенденція була притаманна і НОМА, значення якого було максимальним у хворих АГ та ЦД 2 типу.

Зіставлення вмісту маркерів імунзапалення і апоптозу у групах порівняння виявило максимальні значення прозапального цитокіну ІЛ-18 у пацієнтів АГ (табл. 4.3).

**Таблиця 4.3**

**Порівняльна характеристика плазматичних маркерів апоптозу у контрольній групі та пацієнтів АГ залежно від наявності супутнього ЦД 2 типу Me (LQ; UQ)**

Показники	Контроль	АГ	АГ та ЦД 2 типу
FasL (CD95L), пг/мл	2,68 (2,63; 2,70)	6,50 (6,30; 6,70)*	7,85 (7,45; 8,10)*†
FasR (CD95, АРО-1), пг/мл	3,80 (3,65; 4,05)	7,60 (7,50; 7,80)*	8,35 (8,16; 8,56)*†

**Примітка:**

1. \* — відмінності відносно групи контролю вірогідні при  $p < 0,05$ ;

2. † — відмінності відносно групи пацієнтів з АГ вірогідні при  $p < 0,05$ .

Апоптотичні маркери – FasR (CD95, APO-1) та FasL (CD95L) у хворих на АГ були статистично достовірно вищими проти значень контрольної групи ( $p < 0,05$  в обох випадках), а у хворих на АГ з ЦД 2 типу значення FasR (CD95, APO-1) та FasL (CD95L) перевищували значення і хворих на АГ, так і осіб контрольної групи ( $p < 0,05$  в усіх випадках).

Ми проаналізували показники, що вивчалися залежно від статі обстежених осіб контрольної групи (табл. 4.4).

**Таблиця 4.4**

**Порівняльна характеристика антропометричних показників, параметрів гемодинаміки, вуглеводного метаболізму, маркерів апоптозу у контрольній групі Me (LQ; UQ)**

Показники	Чоловіки	Жінки
Вік, років	46 (45; 62)	62 (58; 64)
Зріст, м	1,75 (1,72; 1,78)	1,68 (1,63; 1,73)
Маса тіла, кг	70 (69; 75)	78 (73; 84)
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	23,67 (23,32; 24,80)	28,05 (26,70; 28,86)
ОТ, см	82 (78; 90)	76 (74; 78)
ОС, см	98 (92; 100)	91 (90; 94)
САТ, мм рт. ст	120 (120; 120)	120 (120; 123)
ДАТ, мм рт. ст	80 (80; 80)	78 (75; 80)
ЧСС, уд/хв	80 (76; 80)	75 (73; 78)
Інсулін, мкОД/мл	7,63 (7,01; 10,00)	7,45 (7,04; 7,80)
Глюкоза, ммоль/л	4,65 (4,20; 5,00)	4,90 (4,70; 5,00)
Hb <sub>A1c</sub> , %	6,77 (6,30; 7,80)	3,99 (3,79; 4,10)*
НОМА	1,72 (1,36; 1,75)	1,59 (1,50; 1,69)
FasL (CD95L), пг/мл	2,65 (2,63; 2,68)	2,75 (2,55; 2,90)

FasR (CD95, APO-1), пг/мл	4,05 (3,80; 4,12)	3,64 (3,63; 3,69)*
---------------------------	-------------------	--------------------

**Примітка:**

1.\* — відмінності вірогідні при  $p < 0,05$ ;

При цьому статистично достовірні відмінності виявлено лише стосовно показників  $Hb_{A1c}$  та FasR (CD95, APO-1), які були вищими у чоловіків. У всіх інших випадках порівняння показники суттєво не відрізнялися у чоловіків та жінок контрольної групи ( $p > 0,05$ ).

Статеві відмінності показників, що аналізувалися у пацієнтів АГ залежно від наявності ЦД 2 типу відображено у табл. 4.5.

**Таблиця 4.5**

**Порівняльна характеристика антропометричних показників, параметрів гемодинаміки, вуглеводного метаболізму, маркерів імунозапалення та апоптозу у пацієнтів АГ залежно від наявності супутнього ЦД 2 типу Me (LQ; UQ)**

Показники	АГ		АГ та ЦД 2 типу	
	Чоловіки n=33	Жінки n=39	Чоловіки n=11	Жінки n=20
Вік, років	56 (50; 61)	59 (51; 64)	61 (57; 67)‡	63 (57; 67)‡
Зріст, м	1,73 (1,65; 1,76)	1,71 (1,62; 1,75)	1,70 (1,63; 1,79)	1,64 (1,55; 1,68)**‡
Маса тіла, кг	87 (82; 94)†	85 (72; 95)	86 (78; 96)	81 (72; 88)
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	28,73 (26,79; 32,89)†	29,36 (25,97; 34,67)	29,34 (23,92; 36,23)	29,36 (26,00; 33,72)
ОТ, см	100 (95; 107)	100 (94; 107)	99 (86; 120)	100 (95; 107)
ОС, см	105 (98; 112)	106 (99; 113)	105 (94; 116)	105 (100; 110)

	112)	117) <sup>†</sup>	110)	115) <sup>†</sup>
Тривалість АГ, роки	7 (3; 10) <sup>†</sup>	7 (5; 13) <sup>†</sup>	7 (5; 10) <sup>†</sup>	12 (7; 14) <sup>†</sup>
САТ, мм рт. ст	150 (140; 160) <sup>†</sup>	150 (135; 175) <sup>†</sup>	140 (130; 190) <sup>†</sup>	145 (130; 160) <sup>†</sup>
ДАТ, мм рт. ст	90 (90; 100) <sup>†</sup>	93 (85; 100) <sup>†</sup>	90 (80; 100) <sup>†</sup>	90 (88; 100) <sup>†</sup>
ЧСС, уд/хв	84 (78; 88)	80 (77; 88)	85 (78; 90)	84 (80; 86) <sup>†</sup>
Інсулін, мкОД/мл	8,79 (7,80; 15,00)	8,93 (7,89; 16,37) <sup>†</sup>	8,80 (8,53; 18,62)	9,65 (7,89; 12,82) <sup>†</sup>
Глюкоза, ммоль/л	4,72 (4,30; 5,00)	4,71 (4,11; 5,12)	6,13 (5,33; 7,40) <sup>†‡</sup>	5,16 (4,50; 6,00) <sup>‡</sup>
Hb <sub>A1c</sub> , %	5,30 (4,80; 7,10)	6,04 (4,80; 7,15) <sup>†</sup>	7,95 (4,90; 9,70) <sup>‡</sup>	7,45 (5,70; 8,35) <sup>†‡</sup>
НОМА	1,84 (1,58; 3,20)	1,99 (1,51; 3,36)	2,87 (2,26; 5,40) <sup>†‡</sup>	2,35 (1,98; 2,86) <sup>†</sup>
FasL (CD95L), пг/мл	6,50 (6,30; 6,60) <sup>†</sup>	6,53 (6,30; 6,70) <sup>†</sup>	7,65 (7,45; 8,02) <sup>†‡</sup>	7,85 (7,46; 8,11) <sup>†‡</sup>
FasR (CD95, АРО-1), пг/мл	7,60 (7,40; 7,90) <sup>†</sup>	7,60 (7,50; 7,80) <sup>†</sup>	8,21 (8,01; 8,54) <sup>†‡</sup>	8,39 (8,23; 8,57) <sup>†‡</sup>

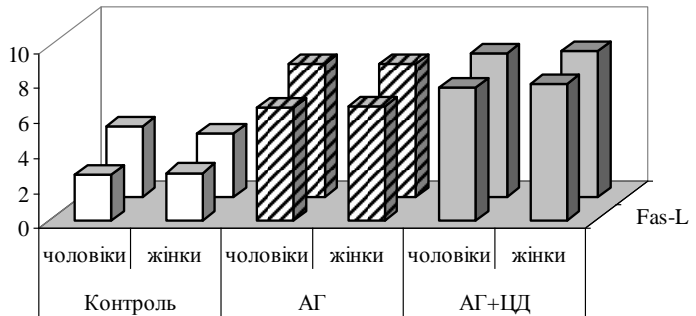
**Примітка:**

1. \* — відмінності відносно осіб тієї ж групи чоловічої статі вірогідні при  $p < 0,05$ ;
2. † — відмінності відносно осіб групи контролю тієї ж статі вірогідні при  $p < 0,05$ ;
3. ‡ — відмінності відносно пацієнтів з АГ тієї ж статі вірогідні при  $p < 0,05$ .

В обох групах порівняння переважали жінки, рівень АГ у пацієнтів АГ без ЦД 2 типу був вищим за САГ, ДАГ у пацієнтів АГ з ЦД 2 типу. Показники, що відображають стан вуглеводного метаболізму у хворих АГ, що асоційована з ЦД 2 типу були достовірно вищими в порівнянні з хворими на АГ. При аналізі відмінностей глюкометаболічних параметрів залежно від статі встановлено, що у хворих АГ рівень інсуліну,  $Hb_{A1c}$ , НОМА були вищими у жінок, а у пацієнтів АГ з ЦД 2 типу лише концентрація інсуліну була вищою у жінок, в той час, як інші показники були вищими у чоловіків.

Маркери апоптозу FasR (CD95, APO-1) та FasL (CD95L) незалежно від статі були вищими у пацієнтів АГ, перебіг якої супроводжувався ЦД 2 типу (рис. 4.4).

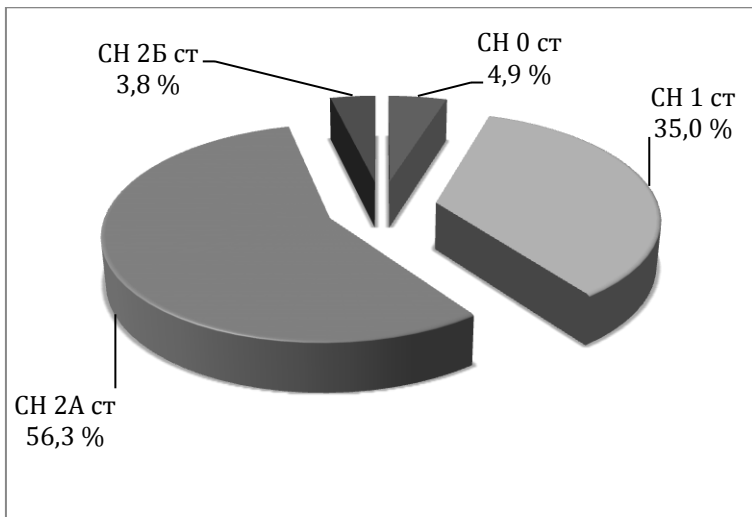
концентрація,  
нг/мл



**Рис. 4.4.** Статеві відмінності рівню маркерів апоптозу у осіб контрольної групи порівняно з пацієнтами АГ залежно від наявності супутнього ЦД 2 типу

У загальній виборці пацієнтів на АГ, яких було включено до дослідження мали місце наступні супутні захворювання та ускладнення, як: ІХС (89 хворих, 86,4 %), стабільна стенокардія (59 хворих, 57,3%), постінфарктний кардіосклероз (3 хворих, 2,9 %), дисциркуляторна енцефалопатія (36 хворих, 35,0 %), стан після перенесеного гострого порушення мозкового кровообігу (4 хворих, 3,9 %).

Серцеву недостатність згідно класифікації Стражеско Н.Д., Василенко В.Х. встановлено практично у всіх пацієнтів, яких було включено до дослідження, а саме – у 98 пацієнтів на АГ (95,1 %) та відповідно у 5 пацієнтів ознаки СН не виявлено (4,9 %) (рис. 4.5).



**Рис. 4.5.** Розподіл пацієнтів АГ залежно від стадії СН

У більшості пацієнтів встановлено СН 2А ст. (58 пацієнтів), СН 1 ст. – у 36 пацієнтів, та СН 2Б ст. – у 4 пацієнтів на АГ.

Критеріями виключення з дослідження слугували наявність вторинної АГ, 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 III ст., супутніх психічних захворювань, наркоманії, алкоголізму.

Клінічне обстеження передбачало збір скарг і анамнезу захворювання та життя: з'ясування паспортних даних; симптомів, що пов'язані з АГ – церебрального характеру (наявність головного болю, запаморочення, втрати свідомості, тимчасове порушення зору, слуху), астено-невротичного характеру (слабкість та стомлюваність неадекватні фізичним навантаженням, емоційна лабільність, порушення сну, пітливість та почуття жару), кардіального характеру (серцебиття, болю в області серця, задухи, набряків); перенесених в минулому інфаркта міокарду, мозкового інсульта, захворювань нирок, наявність супутніх захворювань; анамнестичних даних щодо терміну та рівню підвищення артеріального тиску, а також прийому антигіпертензивних препаратів. Проведено об'єктивне обстеження та лабораторно-інструментальні дослідження. Додатково проводили антропометричні дослідження з вимірюванням зросту, маси тіла, окружності талії (ОТ), окружність стегон (ОС).

Масу тіла пацієнтів визначали з використанням стандартизованих медичних вагів натще; зріст вимірювали медичним ростоміром.

Індекс маси тіла (ІМТ) розраховували за формулою:

$$\text{ІМТ (кг/м}^2\text{)} = \frac{\text{маса (кг)}}{\text{зріст (м)}^2} ,$$

(2.1.1)

Визначення наявності та ступеня ожиріння за критеріями, що наведено у таблиці 4.6.

**Таблиця 4.6**

**Діагностичне значення показника ІМТ**

Діагностичне значення		ІМТ
Маса тіла	недостатня	15,0 – 19,9 кг/м <sup>2</sup>
	нормальна	20,0 – 24,9 кг/м <sup>2</sup>
	надмірна	25,0 – 29,9 кг/м <sup>2</sup>
Ожиріння	1 ступеню	30,0 – 34,9 кг/м <sup>2</sup>
	2 ступеню	35,0 – 39,9 кг/м <sup>2</sup>
	3 ступеню	≥ 40,0 кг/м <sup>2</sup>

Тип розподілу жирової тканини визначали згідно значення ОТ. Збільшення ОТ у чоловіків більше 102 см та у жінок – більше 88 см вважалося ознакою абдомінального ожиріння (АО) згідно критеріям NCEP ATP III (2001).

Забір крові для проведення лабораторних досліджень проводився в перші дні перебування пацієнтів в стаціонарі у ранкові часи, натще. Пацієнти в цей час не приймали антигіпертензивних препаратів. Забір крові здійснювали з кубітальної вени в скляні пробірки. Проби крові центрифугували при 2000 об/хв впродовж 15 хвилин. Плазму відбирали в пластикові пробірки та зберігали при температурі не вище за -20° С до виконання аналізу.

***Визначення показників вуглеводного метаболізму***

Вміст глюкози та інсуліну в плазмі крові визначали натще після 8-14-годинного нічного голодування.

***Визначення рівню глюкози***

Дослідження концентрації глюкози в плазмі венозної крові натще проведено ферментативним методом з використанням стандартних наборів у біохімічному відділі центральної науково-дослідної лабораторії Харківського національного медичного університету.

***Визначення рівню інсуліну***

Визначення концентрації інсуліну в крові натще проведено з використанням набору реактивів DRG® Інсулін (EIA-2935), (DRG Instruments GmbH, Німеччина, Марбург) у відділі центральної науково-дослідницької лабораторії Харківського національного медичного університету. Згідно нормативів використаної методики, плазматичний вміст інсуліну натще, що перевищував 12,2 мОд/мл вважався за критерій гіперінсулінемії.

В основі методу лежить принцип твердофазного міченого ферментом імунсорбентного аналізу (ELISA) заснованого на принципі сэндвича. Мікротитрувальні лунки покриті моноклональними антитілами до унікальної антигенної структури молекули інсуліну. Аліквота із зразком пацієнта, що містить інсулін, інкубується в покритій лунці з ферментним кон'югатом (анті-інсулінові антитіла), кон'югировані з біотином. Після інкубації кон'югат, що не зв'язався, вимивається. Під час другої інкубації ферментний комплекс стрептавідін-пероксидаза зв'язується з біотинілірованим антитілом. Кількість пероксидазного комплексу, що зв'язався, пропорційна концентрації інсуліну в зразку. Додавши розчин субстрату, вимірюють інтенсивність фарбування, що утворилося, і є пропорційним концентрації інсуліну в зразку пацієнта.

Для оцінки наявності інсулінорезистентності використовувалася індекс НОМА (НОmeostasis Model Assessment), який розраховували за формулою:

$$\text{НОМА} = \frac{\text{інсулін натще} \left( \frac{\text{мкОд}}{\text{мл}} \right) \times \text{глюкоза натще} \left( \frac{\text{ммоль}}{\text{л}} \right)}{22,5}$$

(2.1.2)

Значення НОМА, що перевищує 2,77 вважається критерієм інсулінорезистентності.

*Визначення рівню глікозильованого гемоглобіну (HbA1c)*

Визначення глікозильованого гемоглобіну (HbA1c) проводилось за реакцією з тіобарбітуровою кислотою.

Принцип реакції. Еритроцити відмиваються від білків плазми і глюкози: глікозильований гемоглобін, що в них міститься гідролізується нагріванням з щавелевою кислотою, при цьому із залишків моносахариду утворюється 5-оксиметілфурфурол, кількість якого визначається по кольоровій реакції з тіобарбітуровою кислотою. Одночасно визначають концентрацію гемоглобіну в гемолізаті, результати виражають відсотками молекул гемоглобіну, що глікозильовані та розраховуються за формулою:

$$\text{HbA1c\%} = \frac{\text{гліHb} * 64}{\text{Hb} * 100},$$

(2.1.3)

де глі-Hb - вміст оксиметілфурфуролу у гемолізаті (ммоль/л);  
Hb - вміст гемоглобіну в гемолізаті (г/л).

В нормі рівень HbA1c не перевищує 5,7%.

### ***Визначення маркерів апоптозу***

#### ***Визначення рівню FasL***

Визначення рівню FasL проводилося імуноферментним методом з використанням набору “Human Fas Ligand/TNFSF6 Immunoassay” (R&D System Europe, Ltd. United Kingdom), що призначено для кількісного визначення концентрації Fas ліганда людини у клітинах культивованих супернатантів, сироватці, плазмі та клітинних лізатах.

Даний метод кількісного визначення засновано на твердофазному «сандвіч»-варіанті імуноферментного аналізу. Моноклональні антитіла специфічні до FasL сорбуються у мікропланшети. Стандарти та зразки вносяться піпеткою до лунок та у разі наявності FasL він зв'язується з іммобілізованими антитілами. Після промивки не зв'язані субстанції, ензим-зв'язані поліклональні антитіла специфічні до FasL додаються до лунок. В подальшому у процесі вимивання видаляються всі не зв'язані антитіл-ензимні реагенти, до лунок додається розчин субстрату, що викликає появу кольору пропорційно до кількості зв'язаного FasL на

початковому етапі. Забарвлення закінчується та вимірюється його інтенсивність.

Чутливість методу. Було проведено 29 тестів та визначено мінімальну дозу FasL, що виявляється у межах від 1,01 до 8,05 пг/мл, значення якої становило 2, 66 пг/мл. У зразках, що отримано від здорових волонтерів, які не мали ніякого медичного анамнезу встановлено наступний рівень FasL: сироватка крові (n=56) – у межах від 38,9 до 145 пг/мл, в середньому -  $85,2 \pm 25,6$  пг/мл ( $M \pm SD$ ); плазма з EDTA (n=26) – у межах від 31,3 до 150 пг/мл, в середньому  $84,4 \pm 29,6$  пг/мл, плазма з гепарином (n=26) – у межах від 33,1 до 154 пг/мл, в середньому  $84,2 \pm 29,5$  пг/мл.

#### *Визначення рівню FasR (CD95, APO-1)*

Визначення рівню FasR (CD95, APO-1) проводилося імуноферментним методом з використанням набору

#### ***Статистична обробка отриманих даних***

Характер розподілу кількісних ознак у більшості груп відрізнявся від нормального, що спонукало статистичний аналіз проводити непараметричними методами.

У всіх статистичних розрахунках пороговою величиною рівня значимості р обрано 0,05.

Для характеристики центральної закономірності та варіабельності ознак у групах обстежених осіб обчислювали медіану (Me) та міжквартильний інтервал із наведенням значень нижнього, 25 % квартиля (LQ) та верхнього, 75 % квартиля (UQ), результат для стислості 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-Уїтні (Mann-Whitney).

Аналіз зв'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.

Ведення банку даних дослідження, базові розрахунки похідних показників, частотну характеристику ознак, побудову діаграм здійснювали за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel 2010 (ліцензія № 01631-551-3027986-27852), статистичний аналіз проводили із використанням Statsoft Statistica 8.0 (ліцензія № STA862D175437Q) (Реброва О.Ю., 2006).

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.

За результатами досліджень, що проведено останніми роками було встановлено, що апоптоз відіграє визначальну роль при виникненні та прогресуванні деяких серцево-судинних захворюваннях, у тому числі АГ (Ащеулова Т.В., Ковалева О.Н., 2001). Крім того, існують поодинокі відомості щодо потенційної участі апоптозу у розвитку ЦД 2 типу.

У класичному розумінні апоптоз є самогубством, тобто при певних умовах клітина здатна автономно ініціювати свою загибель. Проте виявлення екзогенних індукторів апоптозу та їх рецепторів, так-званих «рецепторів смерті» на поверхні клітин, що входять до суперсімейства прозапального цитокіна – фактора некрозу пухлин- $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ), свідчить про те, що апоптотичний процес у ряді випадків стимулюється ззовні. Одними з екзогенних факторів, які запускають апоптоз є активація “Fas/FasL” системи. У випадку Fas-медійованого, рецептор Fas (CD95, APO-1) (FasR (CD95, APO-1)) індукує апоптотичний сигнал шляхом зв'язування зі своїм лігандом – Fas лігандом (CD95L) (FasL (CD95L)) (Taylor K., 2008).

У зв'язку з цим, з метою більш детального вивчення патогенетичного значення циркулюючого рівня апоптотичних маркерів FasL (CD95L) та FasR (CD95, АРО-1) ми розділили пацієнтів залежно від їх рівня у плазмі крові на тертильні групи.

Так, тертилі за рівнем FasL (CD95L) становили 6,4 пг/мл та 6,8 пг/мл, таким чином виділено тертильні групи: 1 групу з інтервалом значень FasL (CD95L) менше 6,4 пг/мл; 2 групу з інтервалом значень FasL (CD95L) 6,4–6,7 пг/мл; 3 групу з інтервалом значень FasL (CD95L) 6,8 пг/мл і більше (табл. 4.7).

Таблиця 4.7

**Порівняльна характеристика факторів кардіометаболічного ризику у пацієнтів АГ за тертильними групами рівня FasL (CD95L)**

Пацієнти, n (%)	Групи за тертилями рівня FasL(CD95L)		
	1 група, n=23	2 група, n=36	3 група, n=45
АГ	13 (33,4 %)	17 (43,6 %)	9 (23,0 %)
АГ та предіабет	6 (18,2 %)	18 (54,5 %)	9 (27,3 %)
АГ та ЦД 2 типу	0	2 (6,5%)	29 (93,5 %)
Абдомінальне ожиріння	19 (24,4 %)	27 (34,6 %)	32 (41,0 %)
Нормальна маса тіла	8 (36,4 %)	5 (22,7 %)	9 (40,9 %)
Надмірна маса тіла	15 (34,9 %)	11 (25,6 %)	17 (39,5 %)
Ожиріння 1 ступеня	4 (17,4 %)	10 (43,5 %)	9 (39,1 %)
Ожиріння 2 ступеня	5 (22,7 %)	8 (36,4 %)	9 (40,9 %)
Ожиріння 3 ступеня	0	2 (66,7 %)	1 (33,3 %)
Інсулінорезистентність	12 (34,3 %)	9 (25,7 %)	14 (40,0 %)
Гіперінсулінемія	8 (30,8 %)	10 (38,5 %)	8 (30,8 %)

Як видно з таблиці 4.7, простежується тенденція зростання частоти глюкометаболических порушень паралельно зростанню плазматичного рівню FasL (CD95L). Так, у 3 тертильній групі з максимальним плазматичним рівнем FasL (CD95L) відзначено максимальний відсоток пацієнтів на АГ з супутнім ЦД 2 типу, абдомінальним ожирінням, нормальною та надмірною масою тіла, ожирінням 2 ступеня, ІР, гіперглікемією.

При проведенні порівняльної характеристики у тертильних групах за рівнем FasL (CD95L) встановлено, що вік пацієнтів 2 та 3 групи достовірно перевищував вік пацієнтів 1 групи (табл. 4.8). Антропометричні параметри, такі як окружність талії (ОТ), маса тіла, ІМТ (індекс маси тіла); рівень систолічного артеріального тиску (САТ), діастолічного артеріального тиску (ДАТ), тривалість АГ у 2 тертильній групі перевищували аналогічні показники 1 та 3 групи, однак ці відмінності виявилися недостовірними ( $p > 0,05$ ).

Разом з тим, показники вмісту глюкози та  $Hb_{A1c}$  характеризувалися максимальними значеннями у пацієнтів 3 групи з максимальним рівнем FasL (CD95L) в плазмі крові 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 (CD95L) групі. При цьому встановлено відсутність достовірних взаємозв'язків між маркерами апоптозу та показниками, що вивчалися у 1 групі з мінімальним плазматичним вмістом FasL (CD95L). Достовірний кореляційний зв'язок мав місце між віком пацієнтів та значенням  $Hb_{A1c}$  ( $r=0,46$ ;  $p < 0,05$ ). Пряма залежність, також, виявлена між показником ОС та рівнем інсуліну натще ( $r=0,42$ ;  $p < 0,05$ ).

Серед найбільш суттєвих кореляційних взаємозв'язків у 2 групі, слід підкреслити пряму залежність між рівнем FasL

(CD95L) та FasR (CD95, APO-1) ( $r=0,44$ ;  $p<0,05$ ), 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. Так виявлено пряму залежність між FasL(CD95L) 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 (CD95, APO-1) ( $r=0,60$ ;  $p<0,05$ ) та зростом хворих ( $r=0,36$ ;  $p<0,05$ ).

Таблиця 4.8

**Антропометричні, гемодинамічні, вуглеводні показники пацієнтів на АГ, розподілених за тертильними групами рівню FasL (CD95L), Me (LQ; UQ)**

Показники	Групи за тертилями рівня FasL (CD95L)		
	1 група, n=23	2 група, n=36	3 група, n=45
Вік, роки	54 (41; 64)	61 (50; 67)*	60 (49; 69)*
Зріст, м	1,71 (1,62; 1,77)	1,71 (1,58; 1,82)	1,66 (1,54; 1,79)
Маса тіла, кг	82 (70; 96)	89 (70; 115)	85 (66; 100)
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	28,73 (23,92; 35,44)	31,05 (24,91; 37,98)	28,34 (23,31; 37,38)
ОГ, см	100 (82; 113)	102 (88; 121)	100 (84; 116)
ОС, см	105 (97; 120)	106 (92; 126)	105 (92; 123)
Тривалість АГ, роки	5,00 (2,00; 15,00)	10 (3; 25)	8,00 (2,00; 19,00)
САТ, мм рт. ст	140 (120; 180)	155 (120; 195)	150 (130; 190)
ДАТ, мм рт. ст	90 (80; 100)	93 (80; 105)	90 (80; 105)
ЧСС, уд/хв	80 (68; 92)	80 (65; 92)	85 (76; 96) <sup>†</sup>
Інсулін, мкОД/мл	12,47 (7,30; 30,18)	8,63 (7,50; 26,67)	9,02 (7,50; 22,63)
Глюкоза, ммоль/л	4,79 (4,00; 6,09)	4,68 (3,90; 5,13)	5,20 (4,30; 7,40) <sup>†</sup>
Hb <sub>A1c</sub> , %	5,84 (4,10; 7,75)	5,94 (4,10; 7,98)	7,00 (4,10; 9,70)
НОМА	2,87 (1,39; 8,40)	1,81 (1,34; 6,10)	2,24 (1,54; 5,40)
FasL (CD95L), пг/мл	6,20 (6,10; 6,30)	6,53 (6,40; 6,70)*	7,50 (6,80; 8,23) <sup>**†</sup>
FasR (CD95, APO-1), нг/мл	7,70 (7,30; 8,10)	7,60 (7,30; 8,01)	8,20 (7,50; 8,58) <sup>**†</sup>

**Примітка:**

1. \* — відмінності відносно 1 тертильної групи вірогідні при  $p < 0,05$ ;
2. † — відмінності відносно 2 тертильної групи вірогідні при  $p < 0,05$ ;

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 (CD95L). В той час, як лише 2 пацієнта (6,5%) з ЦД 2 типу мали такий плазматичний рівень FasL (CD95L), що дозволив розподілити їх до 2 тертильної групи.

В подальшому ми провели порівняльний аналіз антропометричних, гемодинамічних показників, параметрів вуглеводного метаболізму у гіпертензивних пацієнтів, розділених на групи залежно від плазматичного рівню FasR (CD95, APO-1).

Тертилі за рівнем FasR (CD95, APO-1) становили 7,50 пг/мл та 8,01 пг/мл, таким чином виділено тертильні групи: 1 групу з інтервалом значень FasR (CD95, APO-1) менше за 7,50 пг/мл, 2 групу з інтервалом значень FasR (CD95, APO-1) 7,50–8,00 пг/мл, 3 групу з інтервалом значень FasR (CD95, APO-1) 8,01 пг/мл і більше (табл. 4.9).

При порівняльному аналізі частоти супутнього предіабету, ЦД 2 типу, наявності абдомінального типу розподілу жирової тканини, нормальної чи надмірної маси тіла, ступеня ожиріння, порушень вуглеводного обміну у вигляді інсулінорезистентності та гіперінсулінемії натще у гіпертензивних хворих залежно від рівня маркеру апоптозу – FasR (CD95, APO-1) встановлено подібні до розподілу за рівнем FasL (CD95L) результати. Тобто переважну кількість пацієнтів з супутнім ЦД 2 типу віднесено до 3 тертильної групи, переважну частоту пацієнтів АГ без супутніх порушень вуглеводного метаболізму, а також, пацієнтів АГ,

перебіг якої ускладнено наявністю супутнього предіабету віднесено до 2 тертильної групи.

Таблиця 4.9

**Порівняльна характеристика факторів кардіометаболічного ризику у пацієнтів АГ за тертильними групами рівню FasR (CD95R)**

Пацієнти, n (%)	Групи за тертилями рівня FasR (CD95, APO-1) в крові		
	1 група, n=18	2 група, n=46	3 група, n=40
АГ	10 (25,6 %)	17 (43, 6 %)	12 (30,8 %)
АГ та предіабет	3 (9,1 %)	16 (48,5 %)	14 (42,4 %)
АГ та ЦД 2 типу	0	3 (9,7 %)	28 (90,3 %)
Абдомінальне ожиріння	17 (21,8 %)	32 (41,0 %)	29 (37,2 %)
Нормальна маса тіла	7 (31,8 %)	6 (27,3 %)	9 (40,9 %)
Надмірна маса тіла	12 (27,9 %)	15 (34,9 %)	16 (37,2 %)
Ожиріння 1 ступеня	7 (30,4 %)	8 (34,8 %)	8 (34,8 %)
Ожиріння 2 ступеня	1 (4,5 %)	14 (63,6 %)	7 (31,8 %)
Ожиріння 3 ступеня	0	3 (100 %)	0
Інсулінорезистентність	4 (11,4 %)	16 (45,7 %)	15 (42,9 %)
Гіперінсулінемія	3 (11,5 %)	15 (57,7 %)	8 (30,8 %)

Найбільшу частоту пацієнтів з наявністю АО відзначено у 2 та 3 тертильній групі. Це стосувалося, також, і пацієнтів з надмірною масою тіла, ожирінням 1 та 2 ступеню, максимальний відсоток яких з'ясовано у 2 та 3 групі. При аналізі частоти порушень вуглеводного метаболізму нами виявлено, зростання відсотку пацієнтів з наявністю інсулінорезистентності гіперінсулінемії паралельно зростанню рівню дистантного маркера апоптозу – FasR (CD95, APO-1).

Характеристику антропометричних, гемодинамічних параметрів та показників вуглеводного профілю хворих на АГ в тертильних за рівнем FasR (CD95, APO-1) групах наведено у таблиці 4.10.



**Таблиця 4.10**

**Антропометричні, гемодинамічні, вуглеводні показники пацієнтів на АГ, розподілених за тертилями рівня FasR (CD95, APO-1), Me (LQ; UQ)**

Показники	Групи за тертилями рівня FasR (CD95, APO-1) в крові		
	1 група, n=18	2 група, n=46	3 група, n=40
Вік, роки	57 (47; 65)	59 (44; 67)	62 (51; 69) <sup>†</sup>
Зріст, м	1,72 (1,64; 1,76)	1,71 (1,60; 1,82)	1,67 (1,54; 1,81)
Маса тіла, кг	87 (77; 103)	86 (69; 115)	83 (65; 99)
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	29,06 (24,49; 32,89)	31,67 (24,82; 38,30)	28,34 (23,61; 37,18)
ОТ, см	98 (89; 121)	99 (83; 118)	100 (85; 120)
ОС, см	105 (92; 117) <sup>‡</sup>	105 (92; 126)	106 (94; 121)
Тривалість АГ, роки	9 (3; 25)	6 (1; 16)	10 (3; 20) <sup>†</sup>
САТ, мм рт. ст	155 (125; 200)	140 (120; 190)	150 (130; 185)
ДАТ, мм рт. ст	98 (80; 120)	90 (80; 105)	90 (80; 100)
ЧСС, уд/хв	82 (60; 90)	80 (70; 92)	82 (73; 98)
Інсулін, мкОД/мл	8,78 (7,56; 27,66)	8,95 (7,30; 26,45)	8,96 (7,38; 27,30)
Глюкоза, ммоль/л	4,67 (3,97; 5,60)	4,69 (3,95; 5,55)	5,30 (4,34; 7,60) <sup>*†</sup>
Hb <sub>A1c</sub> , %	5,67 (4,10; 7,90)	5,57 (4,00; 8,10)	7,00 (4,04; 9,60) <sup>†</sup>
НОМА	1,81 (1,34; 6,29)	1,91 (1,38; 6,14)	2,41 (1,50; 7,13)
FasL (CD95L), пг/мл	6,50 (6,10; 6,90)	6,60 (6,20; 6,90)	7,63 (6,16; 8,27) <sup>*†</sup>
FasR (CD95, APO-1),	7,30 (7,10; 7,40)	7,68 (7,50;	8,25 (8,10;

нг/мл		7,90)*	8,59)*†
-------	--	--------	---------

**Примітка:**

1. \* — відмінності відносно 1 тертильної групи вірогідні при  $p < 0,05$ ;
2. † — відмінності відносно 2 тертильної групи вірогідні при  $p < 0,05$ ;

Щодо антропометричних (зріст, маса тіла, ІМТ, ОТ, ОС) та гемодинамічних (тривалість АГ, САТ, ДАТ, ЧСС) показників, то нами не виявлено суттєвих відмінностей їх значень у групах порівняння відповідно плазматичного рівню FasR (CD95, АРО-1). В той час, як показники вуглеводного метаболізму у хворих 3 тертильної групи характеризувалися максимальними значеннями, особливо це стосувалося рівня глюкози та Hb<sub>A1c</sub>. Вміст FasL (CD95L) підвищувався поряд з підвищенням вмісту FasR (CD95, АРО-1).

При проведенні кореляційного аналізу нами встановлено наявність негативного зв'язку між рівнем FasR (CD95, АРО-1) та зростом пацієнтів ( $r = -0,52$ ;  $p < 0,05$ ) у 1 тертильній групі.

У 2 тертильній групі за рівнем FasR (CD95, АРО-1) у плазмі крові пацієнтів АГ встановлено пряму залежність між вмістом FasL (CD95L) та значенням САТ ( $r = 0,33$ ;  $p < 0,05$ ).

Зворотна залежність мала місце між плазматичним рівнем FasR (CD95, АРО-1) та плазматичним рівнем ІІ-10 ( $r = -0,34$ ;  $p < 0,05$ ); пряму залежність виявлено між плазматичним рівнем FasL (CD95L) та величиною САТ ( $r = 0,33$ ;  $p < 0,05$ ). Рівень глюкози натще корелював з рівнем FasR (CD95, АРО-1) ( $r = 0,28$ ;  $p < 0,05$ ) та FasL (CD95L) ( $r = 0,20$ ;  $p < 0,05$ ). Подібну достовірну позитивну залежність виявлено стосовно значення Hb<sub>A1c</sub> та рівню FasR (CD95, АРО-1) ( $r = 0,28$ ;  $p < 0,05$ ) і рівню FasL (CD95L) ( $r = 0,20$ ;  $p < 0,05$ ).

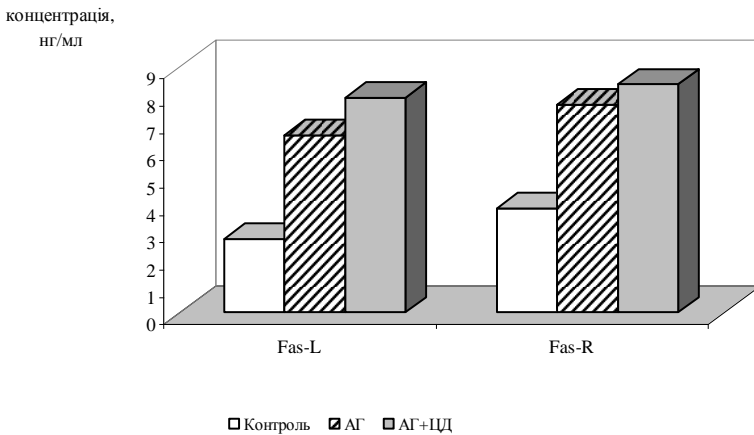
Крім того, виявлено зниження рівню інсуліну з віком, про, що свідчило наявність негативного кореляційного

зв'язку між показником віку пацієнтів та значенням інсуліну натще ( $r=0,31$ ;  $p<0,05$ ).

3 тертильна група за рівнем FasR (CD95, APO-1) у плазмі крові пацієнтів на АГ характеризувалася наявністю наступних кореляційних взаємозв'язків. Достовірні прямі взаємозв'язки виявлено між плазматичним рівнем FasR (CD95, APO-1) та віком пацієнтів ( $r=0,31$ ;  $p<0,05$ ), рівнем FasL (CD95L) ( $r=0,38$ ;  $p<0,05$ ), вмістом глюкози натще ( $r=0,31$ ;  $p<0,05$ ). Достовірні зворотні взаємозв'язки виявлено між плазматичним рівнем FasR (CD95, APO-1) та ОС ( $r=-0,35$ ;  $p<0,05$ ).

Рівень FasL (CD95L) прямо залежав від віку пацієнтів ( $r=0,44$ ;  $p<0,05$ ), рівню глюкози ( $r=0,24$ ;  $p<0,05$ ), Hb<sub>A1c</sub> ( $r=0,22$ ;  $p<0,05$ ).

При аналізі плазматичної активності сигнальних молекул апоптозу – FasL (CD95L) та FasR (CD95, APO-1) у групі контролю та пацієнтів АГ залежно від наявності у них супутнього ЦД 2 типу нами встановлено, що їх рівень за умов асоціації АГ та ЦД 2 типу достовірно перевищував рівень пацієнтів АГ без встановленого діагнозу ЦД 2 типу та аналогічні показники групи контролю (рис. 4.6).



**Рис. 4.6.** Рівень сигнальних молекул апоптозу FasL (CD95L) та FasR (CD95, APO-1) у групі контролю та

пацієнтів АГ залежно від наявності у них супутнього ЦД  
2 типу

Порівняльну характеристику значень апоптотичних маркерів FasL (CD95L) та FasR (CD95, APO-1) у плазмі крові контрольної групи практично здорових осіб, пацієнтів АГ залежно від наявності супутнього ЦД 2 типу наведено у таблиці 4.11.

**Таблиця 4.11**

**Порівняльна характеристика сигнальних молекул апоптозу у групі контролю та пацієнтів АГ залежно від наявності ЦД 2 типу, Me (LQ; UQ)**

Показники	Контроль	АГ	АГ+ЦД 2 типу
FasL (CD95L), пг/мл	2,68 (2,63; 2,70)	6,50 (6,30; 6,70)*	7,85 (7,45; 8,10)*†
FasR (CD95, APO-1), нг/мл	3,80 (3,65; 4,05)	7,60 (7,50; 7,80)*	8,35 (8,16; 8,56)*†

**Примітка:**

1. \* — відмінності відносно групи контролю вірогідні при  $p < 0,05$ ;
2. † — відмінності відносно групи пацієнтів з АГ вірогідні при  $p < 0,05$ .

Оскільки у групі пацієнтів АГ мали місце порушення вуглеводного обміну, ми розділили пацієнтів на підгрупи з урахуванням наявності у них предіабету, ІР, гіперінсулінемії та проаналізували активність апоптотичних маркерів FasL (CD95L) й FasR (CD95, APO-1) при такому розподілі.

При розподілі пацієнтів АГ на підгрупи залежно від наявності у них предіабету відзначено, що рівень FasR (CD95, APO-1) у пацієнтів АГ з предіабетом (7,80 (7,50; 8,10) нг/мл) достовірно був вищим за аналогічний рівень пацієнтів

АГ з нормальними глікемічними параметрами (7,60 (7,49; 7,80) нг/мл;  $p < 0,05$ ). Щодо рівню FasL (CD95L), то його значення у пацієнтів АГ з предіабетом (6,40 (6,20; 6,80) пг/мл) було недостовірно нижчим за значення пацієнтів АГ без предіабету (6,50 (6,30; 6,70) пг/мл;  $p > 0,05$ ).

В підгрупі пацієнтів АГ з нормальними показниками вуглеводного обміну встановлено наявність прямої залежності між рівнем FasL (CD95L) та величиною САТ ( $r = 0,25$ ;  $p < 0,05$ ); між рівнем FasR (CD95, APO-1) в плазмі крові та значенням ОС ( $r = 0,27$ ;  $p < 0,05$ ).

За наявності предіабету у гіпертензивних пацієнтів, нами виявлено достовірні кореляційні зв'язки між плазматичною активністю маркера апоптозу FasR (CD95, APO-1) та значенням НОМА ( $r = 0,66$ ;  $p < 0,05$ ), концентрацією інсуліну натще ( $r = 0,55$ ;  $p < 0,05$ ), що мали позитивний напрямок (рис. 4.9). Відзначено також кореляційний зв'язок між рівнем FasR (CD95, APO-1) та рівнем FasL (CD95L) ( $r = -0,62$ ;  $p < 0,05$ ), котрий також був достовірним, але мав негативний напрямок.

При аналізі кореляційних взаємозв'язків між рівнем FasL (CD95L) та показниками, що вивчалися, всі достовірні зв'язки мали зворотний характер. Так, відзначено залежність між рівнем FasL (CD95L) та вмістом глюкози натще ( $r = -0,50$ ;  $p < 0,05$ ), вмістом інсуліну ( $r = -0,28$ ;  $p < 0,05$ ), величиною НОМА ( $r = -0,55$ ;  $p < 0,05$ ).

Нами виявлено, що рівень FasR (CD95, APO-1) у плазмі крові пацієнтів АГ з наявністю ІР (7,65 (7,50; 7,80) нг/мл) перевищував рівень пацієнтів АГ без ІР (7,60 (7,40; 7,90) нг/мл;  $p > 0,05$ ). В той час, як стосовно рівню FasL (CD95L) в плазмі крові спостерігалася зворотна тенденція, тобто його рівень був вищим у пацієнтів АГ без ІР (6,53 (6,40; 6,80) пг/мл) проти рівню FasL (CD95L) у пацієнтів АГ з наявністю ІР (6,30 (6,12; 6,60) пг/мл;  $p < 0,05$ ).

При вивченні взаємозв'язків між антропометричними, гемодинамічними, вуглеводними показниками та маркерами

апоптозу у пацієнтів групи АГ без ознак ІР нами з'ясовано наявність прямої залежності між вмістом FasL (CD95L) та величиною САТ ( $r=0,32$ ;  $p<0,05$ ), ДАТ ( $r=0,33$ ;  $p<0,05$ ), рівнем глюкози ( $r=0,35$ ;  $p<0,05$ ), значенням НОМА ( $r=0,33$ ;  $p<0,05$ ) (рис. 4.10).

За наявності ІР у пацієнтів АГ відзначено щільні кореляційні зв'язки між антропометричними показниками (рис. 4.11): між значенням ІМТ та ОТ ( $r=0,75$ ;  $p<0,05$ ), ОС ( $r=0,67$ ;  $p<0,05$ ); між масою тіла та ОТ ( $r=0,75$ ;  $p<0,05$ ), ОС ( $r=0,65$ ;  $p<0,05$ ).

В результаті проведеного кореляційного аналізу встановлено достовірні взаємозв'язки позитивного напрямку між рівнем FasR (CD95, АРО-1) та всіма параметрами вуглеводного метаболізму, а саме FasR (CD95, АРО-1) корелював з рівнем глюкози ( $r=0,29$ ;  $p<0,05$ ), інсуліну ( $r=0,31$ ;  $p<0,05$ ), Hb<sub>A1c</sub> ( $r=0,27$ ;  $p<0,05$ ), індексом ІР НОМА ( $r=0,38$ ;  $p<0,05$ ).

При порівнянні активності апоптотичних маркерів у пацієнтів АГ залежно від наявності гіперінсулінемії нами виявлено, що як рівень FasL (CD95L) (6,50 (6,30; 6,80) пг/мл), так і рівень FasR (CD95, АРО-1) (7,65 (7,40; 7,90) нг/мл) у плазмі крові пацієнтів АГ без гіперінсулінемії незначно перевищували такі у пацієнтів АГ з гіперінсулінемією, у яких рівень FasL (CD95L) становив 6,40 (6,10; 6,60) пг/мл ( $p<0,05$ ), рівень FasR (CD95, АРО-1) – 7,60 (7,50; 7,70) нг/мл ( $p>0,05$ ). У пацієнтів з групи АГ без гіперінсулінемії виявлено позитивну залежність між рівнем FasL (CD95L) та величиною САТ ( $r=0,27$ ;  $p<0,05$ ), ДАТ ( $r=0,32$ ;  $p<0,05$ ). У пацієнтів АГ з гіперінсулінемією виявлено позитивну залежність між рівнем FasL (CD95L) та віком пацієнтів ( $r=0,44$ ;  $p<0,05$ ), антропометричними показниками, такими як величина ОТ ( $r=0,37$ ;  $p<0,05$ ), величина ОС ( $r=0,32$ ;  $p<0,05$ ), значення ІМТ ( $r=0,20$ ;  $p<0,05$ ), рівень Hb<sub>A1c</sub> ( $r=0,25$ ;  $p<0,05$ ). Подібні взаємозв'язки встановлено між рівнем FasR (CD95, АРО-1) в плазмі крові та значенням ОТ ( $r=0,20$ ;  $p<0,05$ ), значенням ОС

( $r=0,37$ ;  $p<0,05$ ), величиною показника ІМТ ( $r=0,34$ ;  $p<0,05$ ), вмістом  $Hb_{A1c}$  в плазмі крові ( $r=0,37$ ;  $p<0,05$ ) пацієнтів АГ з гіперінсулінемією натще.

Таким чином, нами виявлено підвищення плазматичного рівню FasL (CD95L) та FasR (CD95, APO-1) у пацієнтів АГ, що було найбільш виражено за наявності супутнього предіабету та ЦД 2 типу у гіпертензивних пацієнтів. Отримані дані свідчать про проапоптотичну активацію, як у пацієнтів АГ, так і пацієнтів АГ, що асоційована з предіабетом та ЦД 2 типу. Встановлено наявність взаємозв'язків між порушеннями глікемічного профілю та активацією тригерних механізмів апоптозу у пацієнтів на АГ.

## ЗАКЛЮЧЕННЯ

Останніми роками спостерігається зростання кількості пацієнтів з серцево-судинними захворюваннями та коморбідною патологією. Яскравим прикладом такого сполучення є супутній перебіг АГ та ЦД 2 типу. Асоціація АГ та ЦД 2 типу є найбільш агресивною у контексті серцево-судинної захворюваності та смертності, що обумовлено синергичним неблагоприятним ефектом гемодинамічного стресу, притаманного АГ, та метаболічних порушень, притаманних ЦД 2 типу. Співіснування АГ та ЦД 2 типу є неблагоприятним прогностичною ознакою, оскільки є фактором множинного ризику, що пов'язано з ІХС, застійної СН та кардіальною смертю (Caterina RD., 2010).

Значну увагу зосереджено на питаннях порушення вуглеводного обміну (гранична гіперглікемія натще та/або порушення толерантності до глюкози), що передують ЦД 2 типу. Дані порушення було запропоновано визначити терміном «предіабет» для того щоб акцентувати увагу на клінічному значенні цього стану та підкреслити високий ризик розвитку ЦД в подальшому. Важливість предіабету визначається тим, що він є предиктором розвитку не лише

ЦД, а й серцево-судинних і цереброваскулярних захворювань (Ford E.S., 2010).

Метаболічні детермінанти ЦД 2 типу потенційно здатні запускати цілий патофізіологічний каскад, що призводить до ендотеліальної дисфункції, ураженню системи окислювально-антиоксидантного балансу, гемостазу, ремоделюванню серця та судин, активації імунозапальних процесів (Preiss D., 2010).

Тому цілком логічним представляється комплексний мультидисциплінарний підхід до вирішення проблем діагностики та відповідно лікування АГ, що сполучена з предіабетом та ЦД 2 типу, оснований на розумінні особливостей патогенезу цих різних патологічних станів та їх взаємообтяження.

На сучасному етапі найбільш перспективними маркерами порушень процесів імунорегуляції при запальних процесах визнаються цитокіни. Продукція цитокінів носить активаційний характер та забезпечує інформаційний обмін між клітинами, що залучено до запальної відповіді. Одна частина цитокінів володіє плюрипотентною дією, тобто діє на різноманітні клітини-мішені, інша – спричинює специфічний вплив на певні клітинні лінії. При аналізі активності цитокінів слід враховувати, що вплив цитокінів на проліферацію та диференціацію клітин-мішеней підпорядковується певній послідовності; важливим є тривалість, концентрація і комбінація цитокінів. Серед особливостей цитокінів виділяють наступне: один цитокін може продукуватися більш ніж одним типом клітин; одна клітина може продукувати більш ніж один цитокін; один цитокін може діяти на більш ніж один тип клітин; більш ніж один цитокін може індукувати однакову функцію у певного типа клітин (Дранник Г.Н., 2010). Оскільки всі цитокіни взаємодіють між собою, утворюючи єдину робочу мережу, то послаблення або посилення продукції окремих цитокінів,

особливо тих, що володіють плейотропними властивостями, призводить до дисбалансу всієї цитокінової мережі.

Висока концентрація циркулюючої глюкози призводить до порушення секреції інсуліну та функції  $\beta$ -клітин підшлункової залози при ЦД. Існує припущення, що у крайньому разі, один із цих ефектів може бути спричинений глюкозо-індукованим апоптозом  $\beta$ -клітин (Ehses JA., 2009).

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 (Fadok V., 2009).

Апоптотичний каскад задіяно до патогенезу АГ, результатом чого є формування кардіальної та ендотеліальної дисфункції. Апоптотична загибель клітин контролюється взаємодією проапоптотичних та протиапоптотичних факторів. Одними з екзогенних факторів, які запускають апоптоз є рецептори смерті сімейства прозапального цитокіна – фактора некрозу пухлин- $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ), до числа яких входять ФНП-Р1, Fas (Fibloblast associated), DR3 (Death Receptor 3), DR4, DR5, DR6 та інші. У випадку Fas-залежного апоптозу, рецептор Fas (FasR (CD95, APO-1)) індукує апоптотичний сигнал шляхом зв'язування зі своїм лігандом - Fas лігандом (FasL (CD95L)), так-звана "FasR/FasL" система (Suc I., 2007).

Патогенез як АГ, так і ЦД 2 типу досить складний, мультифакторіальний та не до кінця зрозумілий. При вивченні зразків панкреатичної тканини, що було отримано при аутопсії, показано зменшення кількості  $\beta$ -клітин у померлих, які за життя страждали на ЦД 2 типу порівняно з тими, які не мали ЦД 2 типу, що було обумовлено зростанням апоптозу  $\beta$ -клітин. Точна причина такої апоптотичної активації невідома, однак існує припущення щодо існування молекул, що є токсичними по відношенню до  $\beta$ -клітин

підшлункової залози. Наразі показано залучення таких молекул, до складу яких входять глюкоза та цитокіни до апоптотичного каскаду панкреатичних  $\beta$ -клітин *in vitro* (Gelling RW., 2009).

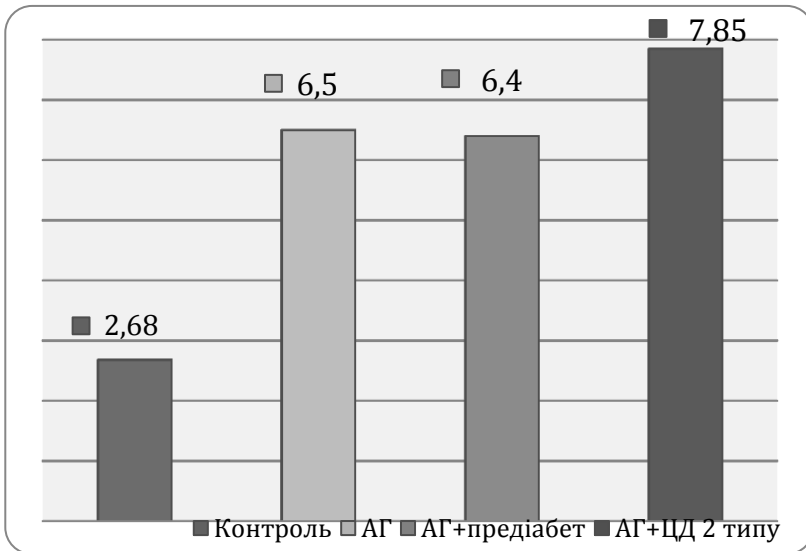
Глюкоза є ключовим фізіологічним регулятором секреції інсуліну; тому цілком логічно, що вона також регулює тривалу адаптацію продукції інсуліну шляхом впливу на метаболізм  $\beta$ -клітин. По відношенню до ролі глюкози у апоптозі  $\beta$ -клітин вкрай важливим є генетичне підґрунття. У зразках панкреатичних острівків гризунів, зростання рівню глюкози від фізіологічних концентрацій 5,5 ммоль/л до 11 ммоль/л призводить до зменшення апоптотичної активності. Подальше зростання рівню глюкози понад 11 ммоль/л має або про-, або протиапоптотичний ефект залежно від стану культури, тобто очищені  $\beta$ -клітини чи цілі острівки, або культура на матриці чи в суспензії. На відміну від цих даних, у людини зростання рівню глюкози від 5,5 ммоль/л до 33 ммоль/л індукує лінійне та більш потужне зростання апоптозу  $\beta$ -клітин (Federici M., 2001). Така різниця у чутливості глюкози може пояснити чому у тварин, що генетично схилні до діабету, гіперглікемія підвищую частоту апоптозу, в той час, як у щурів після 90 % панкреатектомії, випадки апоптозу не змінювалися незважаючи на підвищення рівню глюкози. Можливо така різниця існує і у людей з різною генетичною схильністю (McKenzie MD., 2008).

За результатами деяких досліджень було припущено, що висока концентрація глюкози може спричинювати апоптотичну загибель  $\beta$ -клітин підшлункової залози та, в додаток до потенційної ролі у дисфункції  $\beta$ -клітин при ЦД 2 типу, висока концентрація циркулюючої глюкози може також призводити до деструкції  $\beta$ -клітин, що залишилися при встановленні діагнозу ЦД 1 типу (McKenzie MD., 2010). Було запропоновано низку механізмів глюкоз-індукованої токсичності по відношенню до острівків підшлункової залози у людини. Так, припущено, що глюкоза може індукувати

панкреатичну продукцію ІЛ-1 $\beta$ , що призводить до активації NF- $\kappa$ B, підвищення експресії FasR (CD95, APO-1) та апоптоз  $\beta$ -клітин підшлункової залози як наслідок залучення Fas ліганду (FasL (CD95L)) – тригеру апоптозу (Brown SB., 2009; Ashkenazi, 2008).

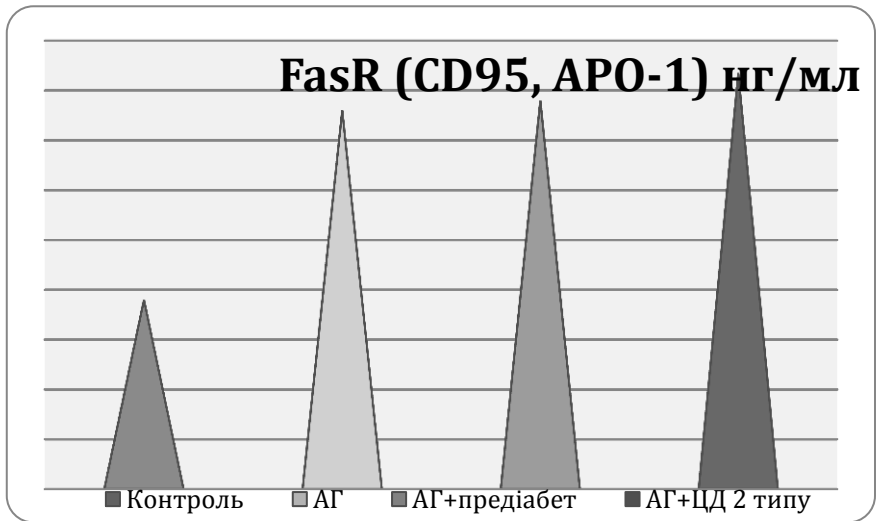
При аналізі плазматичної активності сигнальних молекул апоптозу – FasL (CD95L) та FasR (CD95, APO-1) у нашому дослідженні нами встановлено, що їх рівень за умов асоціації АГ, предіабету та ЦД 2 типу достовірно перевищував рівень пацієнтів АГ без встановленого діагнозу ЦД 2 типу та аналогічні показники групи контролю.

Плазматичний рівень сигнальних молекул апоптозу – FasL (CD95L) у пацієнтів на АГ без дисглікемії (6,50 (6,30; 6,70) пг/мл), за умов асоціації АГ та предіабету (6,40 (6,20; 6,80) пг/мл) та ЦД 2 типу (7,85 (7,45; 8,10) пг/мл) перевищує рівень групи контролю (2,68 (2,63; 2,70) пг/мл) (Рис. 4.7).



**Рис. 4.7.** Плазматичний рівень FasL (CD95L) (пг/мл) у пацієнтів на АГ залежно від наявності супутнього ЦД 2 типу та у осіб контрольної групи.

Рівень FasR (CD95, APO-1) у пацієнтів АГ з ЦД 2 типу (8,35 (8,16; 8,56) нг/мл), предіабетом (7,80 (7,50; 8,10) нг/мл) достовірно був вищим за аналогічний рівень пацієнтів АГ з нормальними глікемічними параметрами (7,60 (7,49; 7,80) нг/мл;  $p < 0,05$ ) та рівень FasR (CD95, APO-1) контрольної групи (3,80 (3,65; 4,05) нг/мл;  $p < 0,05$ ) (Рис. 4.8).



**Рис. 4.8.** Плазматичний рівень FasR (CD95, APO-1) у пацієнтів на АГ залежно від наявності супутнього ЦД 2 типу та у осіб контрольної групи.

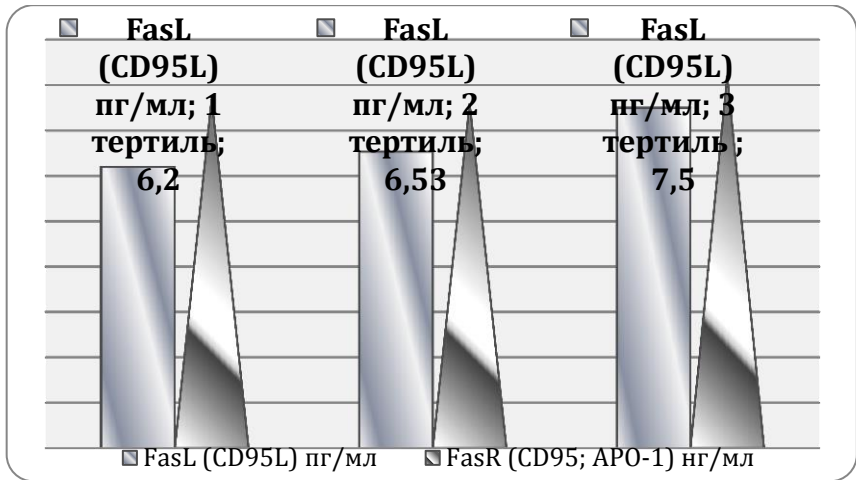
З метою більш детального вивчення патогенетичного значення циркулюючого рівня апоптотичних маркерів FasL

(CD95L) та FasR (CD95, APO-1) ми розділили пацієнтів залежно від їх рівня у плазмі крові на тертильні групи.

Так, тертилі за рівнем FasL (CD95L) становили 6,4 пг/мл та 6,8 пг/мл, таким чином виділено тертильні групи: 1 групу з інтервалом значень FasL (CD95L) менше 6,4 пг/мл; 2 групу з інтервалом значень FasL (CD95L) 6,4–6,7 пг/мл; 3 групу з інтервалом значень FasL (CD95L) 6,8 пг/мл і більше.

При такому розподілі отримано дані, що підтверджують взаємозв'язок між гіперглікемією та активацією апоптотичних маркерів, а саме максимальний рівень FasL (CD95L) 7,50 (6,80; 8,23) пг/мл асоціювався з максимальним рівнем глюкози (5,20 (4,30; 7,40) ммоль/л), а також з максимальним рівнем Hb<sub>A1c</sub> (7,00 (4,10; 9,70)). Крім того, нами виявлено пряму залежність між рівнем FasL (CD95L) та ІЛ-10 ( $r=0,34$ ;  $p<0,05$ ), ОС ( $r=0,34$ ;  $p<0,05$ ) у 2 тертильній групі та також пряму залежність між FasL (CD95L) та віком пацієнтів ( $r=0,54$ ;  $p<0,05$ ), тривалістю захворювання ( $r=0,36$ ;  $p<0,05$ ), плазматичним вмістом глюкози натще ( $r=0,34$ ;  $p<0,05$ ), у пацієнтів 3 тертильної групи. Активність FasR (CD95, APO-1) зростала паралельно підвищенню вмісту FasL (CD95L) у гіпертензивних пацієнтів (рис. 4.9) та цей взаємозв'язок підтверджено наявністю достовірних кореляційних зв'язків між даними показниками у 2 тертильній групі ( $r=0,44$ ;  $p<0,05$ ) та 3 тертильній групі ( $r=0,60$ ;  $p<0,05$ ).

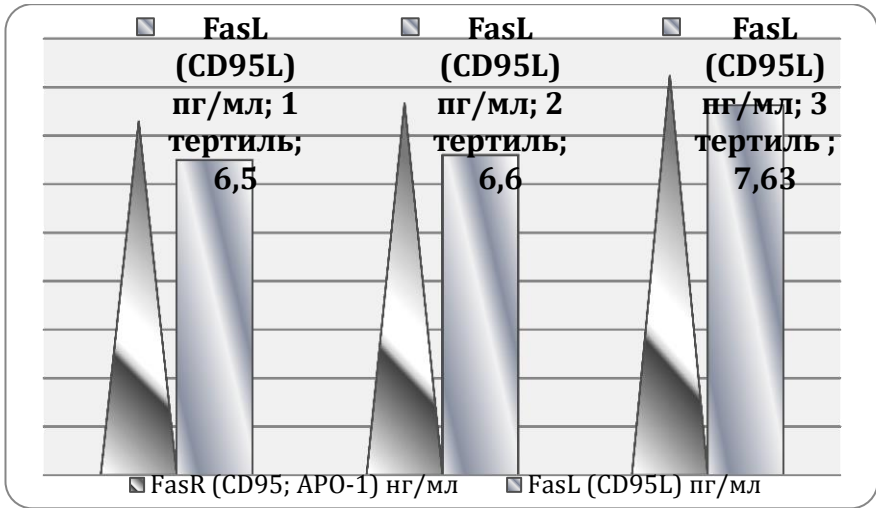
Важливо підкреслити той факт, що більшість хворих на АГ з супутнім ЦД 2 типу, а саме – 29 хворих, що становило 93,5% віднесено до 3 групи з максимальним рівнем проапоптотичного маркеру FasL (CD95L), що можна вважати ще одним свідченням взаємозв'язку між активацією апоптотичних маркерів та розвитком ЦД 2 типу.



**Рис. 4.9.** Плазматичний рівень апоптотичних сигнальних молекул FasL (CD95L) та FasR (CD95, APO-1) у пацієнтів на АГ в тертильних групах залежно від рівню FasL (CD95L).

Тертилі за рівнем FasR (CD95, APO-1) становили 7,50 пг/мл та 8,01 пг/мл, таким чином виділено тертильні групи: 1 групу з інтервалом значень FasR (CD95, APO-1) менше за 7,50 пг/мл, 2 групу з інтервалом значень FasR (CD95, APO-1) 7,50–8,00 пг/мл, 3 групу з інтервалом значень FasR (CD95, APO-1) 8,01 пг/мл і більше.

Нами встановлено, що зростання рівню FasR (CD95, APO-1) асоціювалося погіршенням вуглеводного метаболізму, особливо це стосувалося рівня глюкози та Hb<sub>1с</sub>. Вміст FasL (CD95L) підвищувався поряд з підвищенням вмісту FasR (CD95, APO-1) (рис. 4.10).



**Рис. 4.10.** Плазматичний рівень апоптотичних сигнальних молекул FasR (CD95, APO-1) та FasL (CD95L) у пацієнтів на АГ в тертильних групах залежно від рівню FasR (CD95, APO-1)

Переважну кількість пацієнтів з супутнім ЦД 2 типу (90,3 %) віднесено до 3 тертильної групи. При аналізі частоти порушень вуглеводного метаболізму нами виявлено, зростання відсотку пацієнтів з наявністю інсулінорезистентності та гіперінсулінемії паралельно зростанню рівню дистантного маркера апоптозу – FasR (CD95, APO-1).

FasR (CD95, APO-1) – клітинний рецептор, що відіграє центральну роль у регуляції загибелі багатьох типів клітин, у тому числі і  $\beta$ -клітин, може бути залученим до розвитку, як ЦД 1 типу, так і ЦД 2 типу. Глюкозо-індукований апоптоз  $\beta$ -клітин підшлункової залози людини залучає активацію FasR (CD95, APO-1) з наступною взаємодією з FasL (CD95L). Однак, підвищена концентрація глюкози має подвійний ефект на метаболізм  $\beta$ -клітин: при короткостроковому впливі гіперглікемія спричинює проліферацію, при довгостроковому

– апоптоз, що залежить від активності інгібітора каспази-8 FLIP. Було також встановлено, що Fas-залежний шлях регулює також секреторну функцію  $\beta$ -клітин, тобто впливає на продукцію та викид інсуліну (Martin W., 2011).

При вивченні взаємозв'язків у нашому дослідженні отримано подібні дані. Так, рівень глюкози натще корелював з рівнем FasR (CD95, APO-1) ( $r=0,28$ ;  $p<0,05$ ) та FasL (CD95L) ( $r=0,20$ ;  $p<0,05$ ). Подібну достовірну позитивну залежність виявлено стосовно значення  $Hb_{A1c}$  та рівню FasR (CD95, APO-1) ( $r=0,28$ ;  $p<0,05$ ) і рівню FasL (CD95L) ( $r=0,20$ ;  $p<0,05$ ) у 2 тертильній групі.

Достовірні прямі взаємозв'язки виявлено між плазматичним рівнем FasR (CD95, APO-1) та віком пацієнтів ( $r=0,31$ ;  $p<0,05$ ), рівнем FasL (CD95L) ( $r=0,38$ ;  $p<0,05$ ), вмістом глюкози натще ( $r=0,31$ ;  $p<0,05$ ). Рівень FasL (CD95L) прямо залежав від віку пацієнтів ( $r=0,44$ ;  $p<0,05$ ), рівню глюкози ( $r=0,24$ ;  $p<0,05$ ),  $Hb_{A1c}$  ( $r=0,22$ ;  $p<0,05$ ) у пацієнтів АГ 3 тертильної групи з максимальним рівнем плазматичного маркера апоптозу FasR (CD95, APO-1).

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 імунзапалення, так і апоптозу (Dickhout JG., 2009). Отримані нами результати дають змогу стверджувати про взаємозв'язок глюкометаболічних порушень з активацією апоптотичних та імунзапальних сигнальних молекул, що було найбільш виражено за наявності супутнього ЦД 2 типу у хворих на АГ.

Таким чином, плазматичний рівень сигнальних молекул апоптозу – FasL (CD95L) та FasR (CD95, APO-1) за умов

асоціації артеріальної гіпертензії та предіабету (6,40 (6,20; 6,80) пг/мл; 7,80 (7,50; 8,10) нг/мл) та цукрового діабету 2 типу (7,85 (7,45; 8,10) пг/мл; 8,35 (8,16; 8,56) нг/мл) перевищує рівень пацієнтів з артеріальною гіпертензією без порушень вуглеводного обміну (6,50 (6,30; 6,70) пг/мл;  $p > 0,05$ ; (7,60 (7,49; 7,80) нг/мл нг/мл;  $p < 0,05$ ) та аналогічні показники групи контролю (2,68 (2,63; 2,70) пг/мл; 3,80 (3,65; 4,05) нг/мл;  $p < 0,05$ ).

У пацієнтів артеріальною гіпертензією гіперглікемія сприяє активації тригерних механізмів апоптозу. Відзначено пряму залежність між рівнем глюкози та плазматичною активністю циркулюючих маркерів апоптозу FasL (CD95L) та FasR (CD95, APO-1) у пацієнтів артеріальною гіпертензією, що асоційована з цукровим діабетом 2 типу.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Smith CA. The TNF receptor superfamily of cellular and viral proteins: activation, costimulation, and death / CA. Smith, T. Farrah, RG. Goodwin // Cell. – 1994. – Vol.76. – P.959-962.
2. Haunstetter A. Apoptosis. Basis mechanisms and implications for cardiovascular diseases / A. Haunstetter, S. Izumo // Circ. Res. – 1998. – Vol.82. – P.1111-1129.
3. Симоненко В.Б. Апоптоз и патология миокарда / В.Б. Симоненко, С.А. Бойцов, А.А. Глухов // Клиническая медицина. – 2000. – №8. – С.12-16.
4. Fortuno MA. Cardiomyocyte apoptotic cell death in arterial hypertension. Mechanisms and potential management / MA. Fortuno, S. Ravassa, A. Fortuno, et al. // Hypertens. – 2001. – Vol.38. – P.1406-1412.
5. Степанов Ю.М., Фильченков А.А., Кушлинский Н.Е. Система Fas/Fas-лиганд. / Ю.М. Степанов, А.А. Фильченков, Н.Е.Кушлинский. – К.: Изд-во «ДИА», 2000. – 48 с.

6. Аруин Л.И. Апоптоз при патологических процессах в органах пищеварения / Л.И. Аруин // *Клин. Мед.* – 2000. – №1. – С.5-10.
7. Yeh ET. Life and death in the cardiovascular system / ET. Yeh // *Circulation.* – 1997. – Vol.95. – P.782-786.
8. Jacquelyn J. Apoptosis: silent killer or neutron Bomb? /J. Jacquelyn, JG. Gregory // *Hepatology.* – 1998. – Vol.28. – P.865-867.
9. Bennett MR. Apoptosis of vascular smooth muscle cells in vascular remodeling and atherosclerotic plaque rupture /MR. Bennett // *Cardiovasc. Res.* – 1999. – Vol.41. – P.361-368.
10. Bonkhoff H. Simultaneous detection of DNA fragmentation (apoptosis), cell proliferation (MIB-1), and phenotype markers in routinely processed tissue sections / H Bonkhoff, Fixemer T, Hunsicker I, et al. // *Virchows Arch.* – 1999. – Vol.434. – P.71-73.
11. Nicholson DW. Caspases: killer proteases / DW. Nicholson, NA. Thornberry // *Trends Biochem. Sci.* – 1997. – Vol.22. – P.299-306.
12. Truneh A. Temperature-sensitive differential affinity of TRAIL for its receptors. DR5 is the highest affinity receptor / A. Truneh, S. Sharma, C. Silverman, et al. // *J Biol Chem.* – 2000. – Vol.275. – P.23319-23325.
13. Yamanaka T. Chemotherapeutic agents augment TRAIL-induced apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell lines / T. Yamanaka, K. Shiraki, K. Sugimoto, et al. // *Hepatology.* – 2000. – Vol.32. – P.482-490.
14. Seol DW. Signaling events triggered by tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL): caspase-8 is required for TRAIL-induced apoptosis / DW. Seol, J. Li, MH. Seol, et al. // *Cancer Res.* – 2001. – Vol.61. – P.1138-1143.
15. Hao C. Induction and intracellular regulation of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)

- mediated apoptosis in human malignant glioma cells / C. Hao, F. Bequinet, G. Condorelli, et al. // *Cancer Res.* – 2001. – Vol.61. – P.1162-1170.
16. Gruss HJ. Tumor necrosis factor ligand superfamily: involvement in the pathology of malignant lymphomas / HJ. Gruss, SK. Dower // *Blood.* – 1995. – Vol.95. – P.3378-3404.
  17. Sata M. TNF- $\alpha$  regulation of Fas ligand expression on the vascular endothelium modulates leukocyte extravasation / M. Sata, K. Walsh // *Nat. Med.* – 1998. – Vol.4. – P.415-420.
  18. Powell WC. The metalloproteinase matrilysin proteolytically generates active soluble Fas ligand and potentiates epithelial cell apoptosis / WC. Powell, B. Fingleton, CL. Wilson, et al. // *Cur Biol.* – 1999. – Vol.9. – P.1441-1447.
  19. Bang S. Fas- and tumor necrosis factor-mediated apoptosis uses the same binding surface of FADD to trigger signal transduction. A typical model for convergent signal transduction / S. Bang, EJ. Jeong, IK. Kim, et al. // *J Biol Chem.* – 2000. -Vol.275. – P.36217-36222.
  20. Kuang AA. FADD is required for DR4- and DR5-mediated apoptosis. Lack of TRAIL-induced apoptosis in FADD-deficient mouse embryonic fibroblast /AA. Kuang, GE. Diehl, J. Zhang, A. Winoto // *J Biol Chem.* – 2000. – Vol.275. – P.25065-25068.
  21. Duan H. RAIDD is a new "death" adaptor molecule / H. Duan, VM. Dixit // *Nature.* – 1997. – Vol.385. - P.86–89.
  22. Kelliher MA. The death domain kinase RIP mediates the TNF-induced NF-kappaB signal / MA. Kelliher, S. Grimm, Y. Ishida, et al. // *Immunity.* – 1998. – Vol.8. – P.297-303.
  23. Andersson R. The significance and molecular mechanisms of gastrointestinal barrier homeostasis / R. Andersson, X.

- Wang // *Scand. J Gastroenterol.* – 1997. – Vol.32. – P.1073-1082.
24. MacLellan WR. Death by design: programmed cell death in cardiovascular biology and disease/ WR. MacLellan, MD. Schneider // *Circ. Res.* – 1997. – Vol.81. – P.137-144.
  25. Mallat Z. Colocalization of CPP-32 with apoptotic cells in human atherosclerotic plaques / Z. Mallat, J. Ohan, G. Leseche, et al. // *Circulation.* – 1997. – Vol.96. – P.424–428
  26. Geng YJ. Fas is expressed in human atherosclerotic intima and promotes apoptosis of cytokine-primed human vascular smooth muscle cells / YJ. Geng, LE. Henderson, EB. Levesque, et al // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 1997. – Vol.17. – P.2200–2208.
  27. Cai W. The role of Fas/APO 1 and apoptosis in the development of human atherosclerotic lesions / W. Cai, B. Devaux, W. Schaper, J. Schaper // *Atherosclerosis.* – 1997. – Vol.131. – P.177–186.
  28. Saraste A. Apoptosis in human acute myocardial infarction / A. Saraste, K. Pulkki, M. Kallajoki, et al. // *Circulation.* – 1997. – Vol.95. – P.320–323.
  29. Li D. Tumor necrosis factor -  $\alpha$  enhances hypoxia-reoxygenation-mediated apoptosis in cultured human coronary artery endothelial cells: critical role of protein kinase C / D. Li, B. Yang, JL. Mehta // *Cardiovasc. Res.* – 1999. – Vol.42. – P.805-813.
  30. Diez J. Apoptosis in hypertensive heart disease / J. Diez, M. Fortuno, S. Ravassa // *Curr. Opin. Cardiol.* - 1998. – Vol.13. – P.317-325.
  31. Li Z. Increased cardiomyocyte apoptosis during the transition from hypertrophy to heart failure in the spontaneously hypertensive rat / Z. Li, OH. Bing, X. Long,

- et al. // *Am. J Physiol.* - 1997. - Vol.272 (Heart Circ. Physiol. 41). - P.H2313-H2319.
32. Moe GW. Pacing-induced heart failure: a model to study the mechanism of disease progression and novel therapy in heart failure / GW. Moe, P. Armstrong // *Cardiovasc. Res.* - 1999. - Vol.42. - P.591-599.
  33. Narula J. Apoptosis and cardiomyopathy / J. Narula, F. Kolodgie, R. Virmani // *Curr. Opin. Cardiol.* - 2000. - Vol.15. - P.183-188.
  34. Leri A. Stretch-mediated release of angiotensin II induces myocytes apoptosis by activating p53 that enhances the local renin-angiotensin system and decreased the Bcl-2-to-Bax protein ration in the cell / A. Leri, PP. Claudio, Q. Li, et al. // *J Clin. Invest.* - 1998. - Vol.10. P.1326-1342.
  35. Ding B. Left ventricular hypertrophy in ascending aortic stenosis mice: anoikis and the progression of early failure / B. Ding, R. Price, E. Golsmith, et al. // *Circulation.* - 2000. - Vol.101. - P.2854-2862.
  36. Shiota N. Chymase is activated in the hamster heart following ventricular fibrosis during chronic stage of hypertension / N. Shiota, D. Jin, S. Takai, et al. // *FEBS Lett.* - 1997. - Vol.406. - P.301-304.
  37. Moreau P. Altered balance between cell replication and apoptosis in hearts and kidneys of newborn SHR / P. Moreau, BS. Tea, TV. Dam, P. Hamet // *Hypertension.* - 1997. - Vol.30. - P.720-724.
  38. Diez J. Cardiomyocyte apoptosis and cardiac angiotensin-converting enzyme in spontaneously hypertensive rats / J. Diez, A. Panizo, M. Hernandez, et al. // *Hypertension.* - 1997. - Vol.30. - P.1029-11034.
  39. Olivetti G. Apoptosis in the failing human heart / G. Olivetti, R. Abbi, F. Quaini, et al. // *N. Engl. J Med.* - 1997. - Vol.336. - P.1131-1141.
  40. Yamamoto S. On the nature of cell death during remodeling of hypertrophied human myocardium / S.

- Yamamoto, K. Sawada, H. Shimomura, et al. // *J Mol. Cell. Cardiol.* – 2000. – Vol.32. – P. 161-175.
41. Querejeta R. Serum carboxy-terminal propeptide of procollagen type I is a marker of myocardial fibrosis in hypertensive heart disease / R. Querejeta, N. Varo, B. Lopez, et al. // *Circulation.* – 2000. – Vol.101. – P.1729-1735.
  42. Fortuno MA. p53-mediated upregulation of BAX gene transcription is not involved in Bax- $\alpha$  protein overexpression in the left ventricle in spontaneously hypertensive rats / MA. Fortuno, G. Zalba, S. Ravassa, et al. // *Hypertension.* – 1999. – Vol.30. – P.1348-1352.
  43. Ravassa S. Mechanisms of increased susceptibility to angiotensin II-induced apoptosis in ventricular myocytes of spontaneously hypertensive rats / S. Ravassa, M. Fortuno, A. Gonzalez, et al // *Hypertension.* – 2000. – Vol.36. – P.1065-1071.
  44. Jöhren O. Cardiovascular and renal function of angiotensin II type-2 receptor / O. Jöhren, A. Dendorfer, P. Dominiak // *Cardiovasc. Res.* – 2004. – Vol.62. – P.460-467.
  45. Cui T. Pivotal role of tyrosine phosphatase SHP-1 in AT2 receptor-mediated apoptosis in rat fetal vascular smooth muscle cell / T. Cui, H. Nakagami, M. Iwai, et al. // *Cardiovasc. Res.* – 2001. – Vol.49. – P.863-871.
  46. Fisher TA, Singh K, O'Hara DS, et al. Role of AT1 and AT2 receptors in regulation of MARKs and MKP-1 by ANG II in adult cardiac myocytes // *Am. J Physiol.* – 1998. – Vol.275. – P.H906-H916.
  47. Goldenberg I. Angiotensin II-induced apoptosis in rat cardiomyocyte culture: a possible role of AT1 and AT2 receptors / I. Goldenberg, E. Grossman, KA. Jacobson, et al. // *J Hypertens.* – 2001. – Vol.19. – P.1681-1689.
  48. Nicholson DW. Caspases: killer proteases / DW. Nicholson, NA. Thornberry // *Trends Biochem. Sci.* – 1997. – Vol.22. – P.299–306.

49. Okuyama M. Soluble form of Fas molecule and expression of Fas antigen in patients with congestive heart failure / M. Okuyama, S. Yamaguchi, M. Yamaoka // *Circulation*. – 1997. – Vol.96. – P.150.
50. Yamaguchi S. Elevated circulating levels of soluble Fas ligand in patients with congestive heart failure / S. Yamaguchi, M. Yamaoka, M. Okuyama // *Circulation*. – 1997. – Vol.96. – P.1-150.
51. Ohtsuka T. Clinical implications of circulating soluble Fas and Fas ligand in patients with acute myocardial infarction / T. Ohtsuka, M. Hamada, O. Sasaki, et al. // *Coron. Artery Dis.* – 1999. – Vol.10(4). – P.221-225. Anversa P. Myocyte cell death and ventricular remodeling / P. Anversa, G. Olivetti, A. Leri, et al. // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* – 1997. – Vol.6. – P.169-176.
52. Дорогой А.П. Термін виконання «Програми профілактики і лікування артеріальної гіпертензії в Україні» закінчився, проблеми залишилися, що далі? / А.П. Дорогой // *Артериальная гипертензия*. – 2011. – №3(17). – С.29-36.
53. 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.
54. Colwell J. A. Type 2 Diabetes, Pre-Diabetes, and the Metabolic Syndrome / J.A. Colwell. // *JAMA*. – 2011. – Vol. 306(2). – P.215.
55. 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.
56. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death / S.Elmore // *Toxicol Pathol.* – 2007. – Vol.35(4). – P.495-516.

57. Ford E.S. Pre-diabetes and the risk for the cardiovascular disease: a systemic review of the evidence / E.S. Ford, G. Zhao, C. Li // *Diabetes*. – 2010. – Vol.55. – P.1310-1317.
58. Taylor RC. Apoptosis: controlled demolition at the cellular level / RC Taylor , SP Cullen , SJ Martin // *Nat Rev Mol Cell Biol*. – 2008. – Vol.9(3). – P.231-241.
59. Arends M.J. Apoptosis. Mechanism and role in pathology / M.J. Arends, A.H. Wyllie // *Intern.Rev.Exp.Pathol*. – 2001. – Vol.32. - P.223-254.
60. Ащеулова Т.В., Ковальова О.М. Дистанційні маркери апоптозу при артеріальній гіпертензії // *Журн. АМН України*. – 2007. – Том 13, №2. – С. 319-325.
61. Bang S. Fas- and tumor necrosis factor-mediated apoptosis uses the same binding surface of FADD to trigger signal transduction. A typical model for convergent signal transduction / Bang S, Jeong EJ, Kim IK, [et al.] // *J Biol Chem*. – 2000. -Vol.275. – P.36217-36222.
62. Kiener P. A. Differential induction of apoptosis by Fas-Fas ligand interactions in human monocytes and macrophages / P.A.Kiener, P.M. Davis, G.C. Starling [et al.] // *J. Exp. Med*. – 2007. – Vol.185. – P.1511-1516.
63. Strasser A. The many roles of Fas receptors signaling in the immune system / A.Strasser, P.J. Jost, S. Nagata // *Immunity*. – 2009. – Vol.30. – P.180-192.
64. Mabrouk I. Prevention of autoimmunity and control of recall response to exogenous antigen by Fas death receptor ligand expression on T cells / I. Mabrouk, S. Buart, M. Hasmim, [et al] // *Immunity*. – 2008. – Vol.29. – P.922-933.
65. Peter, M.E. The CD95 receptor: apoptosis revisited / M.E. Peter, R.C. Budd, J. Desbarats, [et al] // *Cell*. – 2007. – Vol.129. – P.447-450.
66. Hughes P.D. Apoptosis regulators Fas and Bim cooperate in shutdown of chronic immune responses and prevention

- of autoimmunity / P.D. Hughes, G.T. Belz, K. Fortner, [et al] // *Immunity*. – 2008. – Vol.28. – P.197-205.
67. Youle R.J. The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death / R.J. Youle, A. Strasser // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2008. – Vol.9. – P.47-59.
68. Heatwole V.M. TUNEL assay for apoptotic cells / V.M. Heatwole // *Methods in Molecular Biology*. – 1999. – Vol.115. – P.141-148.
69. Ащеулова Т.В. Гемодинамічні аспекти апоптозу при артеріальній гіпертензії / Т.В. Ащеулова // *Врачебная практика*. – 2007. – №4 (58). – С. 42-45.
70. Ащеулова Т.В. Проапоптотичні фактори та потенційні можливості їх корекції антигіпертензивними препаратами / Ащеулова Т.В. // *Проблеми екології та медицини*. – 2007. – Том 11, №3-4. – С.3-6.
71. Vega F. Susceptibility to apoptosis measured by MYC, BCL-2, and BAX expression in arterioles and capillaries of adult spontaneously hypertensive rats / F Vega, A Panizo, J Pardo-Mindan, J Diez // *Am J Hypertens.* – 2009. – Vol.12. – P.815-820.
72. Bobik A. Angiotensin II and noradrenaline increase PDGF – BB receptors and potentiate PDGF-BB stimulated DNA synthesis in vascular smooth muscle / A Bobik, S Grinpukel, PJ Little, [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2004. – Vol.166. – P.580-588.
73. Dickhout JG. Apoptosis in the muscular arteries from young spontaneously hypertensive rats / JG Dickhout, RM Lee // *J Hypertens.* – 2009. – Vol.17. – P.1413-1419.
74. Hayakawa Y. Apoptosis and overexpression of Bax protein and bax mRNA in smooth muscle cells within intimal hyperplasia of human radial arteries / Y Hayakawa, G Takemura, J Misao, [et al] // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – Vol.2009. – Vol.19. – P.2066-2077.
75. Chamiot CP. Collagen I and III and mechanical properties of conduit arteries in rats with genetic hypertension / CP

- Chamiot, JF Renaud, J Blacher, [et al] // *J Vasc Res.* – 2009. – Vol.36. – P.139-146.
76. Ford CM. Angiotensin II stimulates collagen synthesis in human vascular smooth muscle cells. Involvement of the AT1 receptor, transforming growth factor- $\beta$ , and tyrosine phosphorylation // CM Ford, S Li, JC Pickering // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2009. – Vol.19. – P.1843-1851.
77. Kato H. Adrenomedullin 1 as an autocrine/ paracrine apoptosis survival factor for rat endothelial cells / H Kato, M Shichiri, F Marumo, [et al] // *Endocrinology.* – 2007. – Vol.138. – P.2615-2620.
78. Mombouli JV. Endothelial dysfunction: from physiology to therapy / JV Mombouli, PM Vanhoutte // *J Mol Cell Cardiol.* – 2009. – Vol.31. – P.61-74.
79. Ащеулова Т.В. Сигнальні молекули апоптозу та ремоделювання міокарду у пацієнтів на артеріальну гіпертензію / Т.В. Ащеулова, О.М. Ковальова // *Болезни цивилизации и медицинская практика: Материалы Южноукраинской научно-практической конференции.* – Одесса, 2007. – С. 12.
80. Cominacini L. Oxidized low-density lipoprotein increases the production of intracellular reactive oxygen species in endothelial cells: inhibitory effect of lacidipine / L Cominacini, U Garbin, AF Pasini // *J Hypertens.* – 2008. – Vol.16. – P.1913-1919.
81. Bennett MR. Apoptosis in cardiovascular system / MR Bennett // *Heart.* – 2002. – Vol.87. – P.480-487.
82. Engel D. Cardiacmyocyte apoptosis provokes adverse cardiac remodeling in transgenic mice with targeted TNF overexpression / D Engel, R Peshock, RC Armstong, [et al.] // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2004. – Vol.287. – P.1303-1311.
83. Cioffi G. Analysis of midwall shortening reveals high prevalence of left ventricular myocardial dysfunction in

- patients with diabetes mellitus: the DYDA study / G Cioffi, CB Giorda, M Chinali, [et al] // *European Journal of Preventive Cardiology*. – 2012. – Vol.19. – P.935-943.
84. Lu D. Knockdown of Cytochrome P450 2E1 Inhibits Oxidative Stress and Apoptosis in the cTnTR141W Dilated Cardiomyopathy Transgenic Mice / D. Lu, Y Ma, W Zhang, [et al] // *Hypertension*. – 2012. – Vol.60. – P.81-89.
85. Halperin F. Insulin Augmentation of Glucose-Stimulated Insulin Secretion Is Impaired in Insulin-Resistant Humans / F. Halperin, X. Lopez, R.I Manning // *Diabetes*. – 2012. – Vol.61 (2). – P.301-309.
86. Muoio DM. Mechanisms of disease: molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and beta-cell failure in type 2 diabetes / DM Muoio, CB Newgard // *Nat Rev Mol Cell Biol*. – 2008. – Vol.9. – P.193-205.
87. Guardado-Mendoza R. Pancreatic islet amyloidosis, beta-cell apoptosis, and alpha-cell proliferation are determinants of islet remodeling in type-2 diabetic baboons / R Guardado-Mendoza, AM Davalli, AO Chavez, [et al] // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2009. – Vol.106. – P.13992-13997.
88. Gelling RW. Pancreas beta-cell overexpression of the glucagone receptor gene results in enhanced beta-cell function and mass / RW Gelling, PM Vuguin, XQ Du, [et al] // *Am J Physiol Endocrinol Metabol*. – 2009. – Vol.297. – P.E695-E707.
89. Jurgens CA.  $\beta$ -cell loss and  $\beta$ -cell apoptosis in human type 2 diabetes are related to islet amyloid deposition / CA Jurgens, MN Toukatly, CL Fligner, [et al.] // *Am J Pathol*. – 2011. – Vol.178. – P.2632-2640.
90. Dugas V. Implication of the CD47 pathway in autoimmune diabetes / V Dugas, C Beauchamp, G Chabot-Roy, [et al.] // *J Autoimmun*. – 2010. – Vol.35. – P.23-32.

91. Zini E. Hyperglycaemia but not hyperlipidaemia causes beta cell dysfunction and beta cell loss in the domestic cat / E Zini, M Osto, M Franchini, [et al] // *Diabetologia*. – 2009. – Vol.52. – P.336-346.
92. Elouil H. High glucose and hydrogen peroxide increase c-Myc and haeme-oxygenase 1 mRNA levels in rat pancreatic islets without activating NFkappaB / H Elouil, AK Cardozo, DL Eizirik, [et al] // *Diabetologia*. – 2005. – Vol.48. – P.496-505.
93. Eizirik DL. The role for endoplasmic reticulum stress in diabetes mellitus / DL Eizirik, AK Cardozo, M Cnop // *Endocr Rev*. – 2008. – Vol.29. – P.42-61.
94. Tanaka Y. A role for glutathione peroxidase in protecting pancreatic beta cells against oxidative stress in a model of glucose toxicity / Y Tanaka, PO Tran, J Harmon, RP Robertson // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 2002. – Vol.99. – P.12363-12368.
95. Chen J. Thioredoxin-interacting protein: a critical link between glucose toxicity and beta-cell apoptosis / J Chen, G Saxena, IN Mungrue, [et al] // *Diabetes*. – 2008. – Vol.57. – P.938-944.
96. Bonner-Weir S. Islet growth and development in the adult / Bonner-Weir S // *J Mol Endocrinol*. – 2000. – Vol.24. – P.297-302.
97. Donath MY. Mechanisms of  $\beta$ -Cell Death in Type 2 Diabetes / MY. Donath, JA. Ehses, K Maedler, [et al] // *Diabetes*. – 2005. – Vol. 54 (2). – P.S108-S113.
98. Ehses JA. IL1 antagonism reduces hyperglycemia and tissue inflammation in the Type 2 diabetic GK rat / JA Ehses, G Iacraz, MH Giroix, [et al] // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2009. – Vol.106. P.13998-14003.
99. Guardado Mendosa R. Pancreatic islets amyloidosis, and alpha-cell proliferation are determinants of islets remodeling in Type-2 diabetics baboons / R Guardado-

- Mendoza, AMDavalli, AO Chavez, [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA. – 2009. – Vol.106. – P.13992-13997.
100. Laybutt DR. Critical reduction in beta-cell mass results in two distinct outcomes over time: adaptation with impaired glucose tolerance or decompensated diabetes / DR Laybutt, M Glandt, G Xu, [et al.] // J Biol Chem. – 2003. – Vol.278. – P.2997-3005.
101. Maedler K. FLIP switches Fas-mediated glucose signaling in human pancreatic  $\beta$  cells from apoptosis to cell replication / K Maedler, A Fontana, F Ris, [et al.] // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2002. – Vol.99. – P.8236-8241.
102. Mine T. Gene expression profile in the pancreatic islets of Goto-Kakizaki (GK) rats with repeated postprandial hyperglycemia / T Mine, K Miura, T Okutsu, [et al.] // Diabetes. – 2006. – Vol.53 (Suppl. 2). – P.2475.
103. Mellado-Gil JM. High glucose potentiates cytokine- and streptozotocin-induced apoptosis of rat islet cells: effect on apoptosis-related genes // JM Mellado-Gil, M Aguilar-Diosdado // J Endocrinol. – 2004.- Vol.183. – P.155-162.
104. Donath MY. Decreased beta-cell mass in diabetes: significance, mechanisms and therapeutic implications / MY Donath, PA Halban // Diabetologia. – 2004. – Vol.47. – P.581-589.
105. Rhodes CJ. Type 2 diabetes—a matter of beta-cell life and death? / CJ. Rhodes // Science. – 2005. – Vol.307. – P.380-384.
106. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю.Реброва. – М.: МедиаСфера, 2006. – 312с.
107. Caterina RD. Impaired fasting glucose and long-term cardiovascular risk: still a foggy relationship / RD

- Caterina, R Madonna // *Eur Heart J.* – 2010. – Vol.31. – P.1159-1162.
108. D. Fasting plasma glucose in non-diabetic participants and the risk for incident cardiovascular events, diabetes, and mortality: results from WOSCOPS 15-year follow-up / D Preiss, P Welsh, HM Murray, [et al] // *Eur Heart J.* – 2010 – Vol.31. – P.1230-1236.
109. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология / Г.Н. Дранник. – 4-е изд., доп. – ООО «Полиграф плюс»: К., 2010. – 552с.
110. Ehses JA. Pancreatic islet inflammation in Type 2 diabetes: from alpha to beta cell compensation to dysfunction / JA Ehses, H Ellingsgaard, M Boni-Schnetzler, MY Donath // *Arch Physiol Biochem.* – 2009. – Vol. 115. – P.240-247.
111. Fadok V.A receptor for phosphatidylserine-specific clearance of apoptotic cells / V. Fadok, D.M. Rose, A. Pearson, [et al.] // *Nature.* – 2009. – Vol.405. – P.85-90.
112. Ащеулова Т.В. sFasL – індуктор апоптозу при артеріальній гіпертензії / Т.В. Ащеулова // *Український терапевтичний журнал.* – 2007. – №4. – С.28-30.
113. Suc I. HDL and ApoA prevent cell death of endothelial cells induced by oxidized LDL / I. Suc, I. Escargueil-Blanc, M.Troly, [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2007. – Vol.17. – P.2158-2166.
114. Federici M. High glucose causes apoptosis in cultured human pancreatic islets of Langerhans: a potential role for regulation of specific Bcl family genes toward an apoptotic cell death program // M Federici, M Hribal, L Perego, [et al.] // *Diabetes.* – 2001. – Vol.50. – P.1290-1301.
115. McKenzie MD. Proapoptotic BH3-Only Protein Bid Is Essential For Death Receptor–Induced Apoptosis of

- Pancreatic  $\beta$ -Cells / MD McKenzie, EM. Carrington, T Kaufmann // *Diabetes*. – 2008. – Vol.57. – P.1284-1292.
116. Ehses JA. Increased number of islet-associated macrophages in Type 2 diabetes / JA Ehses, A Perren, E Eppler, [et al.] // *Diabetes*. – 2007. – Vol.56. – P.2356-2370.
117. Brown SB. Phagocytosis triggers macrophage release of Fas ligand and induces apoptosis of bystander leukocytes / SB Brown, J Savil // *J Immunol*. – 2009. – Vol.162. – P.480-485.
118. Ashkenazi. Death receptors: signaling and modulation / A Ashkenazi, V Dixit // *Science*. – 2008. – Vol.281. – P.1305-1308.
119. Martin W. Pharmacological modulation of cell death in atherosclerosis: a promising approach towards plaque stabilization? / W Martin, DM Schrijvers, GRY De Meyer // *Br J Pharmacol*. – 2011. – Vol.164(1). – P.1-13.
120. Dickhout JG. Apoptosis in the muscular arteries from young spontaneously hypertensive rats / JG Dickhout, RM Lee // *J Hypertens*. – 2009. – Vol.17. – P.1413-1419.