

УДК 616.12-008.331.1+616.379-008.64]-074:577.175.85

ВЗАИМОСВЯЗЬ УРОВНЯ АПЕЛИНА С АКТИВНОСТЬЮ КОМПОНЕНТОВ СИСТЕМЫ ОКСИДА АЗОТА У БОЛЬНЫХ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ С ОЖИРЕНИЕМ

Демиденко А.В.

Харьковский национальный медицинский университет, Харьков, e-mail: annademid@rambler.ru

Обследовано 90 больных гипертонической болезнью с сопутствующим ожирением. Использовались общеклинические и лабораторные методы исследования. Установлено достоверное повышение уровня апелина у больных ГБ в сравнении с группой контроля. Ожирение сопровождается экспрессией пептида, в большей степени активность апелина зависит от выраженности сопутствующей дисгликемии и ИР. Нарушение функции эндотелия установлено в 89% случаев, что выражалось в снижении активности eNOS, повышении iNOS. Значительное повышение S-нитрозотиола свидетельствует о высокой степени депонирования и снижении биодоступности оксида азота. У больных ГБ, значительная дисгликемия, гиперинсулинемия, гиперцитокинемия сопровождалась снижением активности апелина в сравнении с пациентами ГБ без коморбидных нарушений углеводного обмена. Гиперэкспрессия апелина у больных ГБ с умеренными нарушениями углеводного обмена связана с компенсаторной реакцией.

Ключевые слова: гипертоническая болезнь, ожирение, апелин, оксид азота

INTERRELATIONS OF APELIN AND COMPONENTS OF NITRIC OXIDE SYSTEM IN PATIENTS WITH ESSENTIAL HYPERTENSION AND OBESITY

Demydenko A.V.

Kharkov National Medical University, Kharkov, e-mail: annademid@rambler.ru

Ninety patients with essential hypertension and obesity were examined. Clinical and laboratory analysis were used. Significant increasing of apelin level in patients with EH was estimated comparing to control group. Obesity is accompanied by peptide expression, and apelin activity more depends from comorbid dysglycemia and insulinresistance. Endothelial dysfunction was detected in 89% and was accompanied by decreasing of eNOS, increasing of iNOS. Significant increasing of S-nitrosothiol means high level of deponing and decreased bioavailability of NO. In patients with EH, significant dysglycemia, hyperinsulinemia, hypercytokinemia was associated with decreased apelin activity in comparing to the patients with EH without disorders of carbohydrate pool. Apelin hyperexpression in patients with EH and moderate carbohydrate abnormalities is supposed as compensatory reaction.

Keywords: essential hypertension, obesity, apelin, nitric oxide

Коморбидность гипертонической болезни (ГБ) и ожирения приводит к развитию инсулинорезистентности (ИР) и сахарного диабета (СД) 2 типа, повышению риска сердечно-сосудистых осложнений. Жировая ткань является локусом воспаления, где возникает активация TLR рецепторов липополисахаридами, повышается продукция провоспалительных цитокинов, что является одним из патогенетических звеньев развития сердечно-сосудистой патологии, СД 2 типа у больных с ожирением. Исследователи продолжают поиск механизмов снижения кардиоваскулярного риска у лиц с ожирением. Сравнительно недавно был открыт и синтезирован вазоактивный адипокин апелин, биологические эффекты которого интенсивно исследуются. Boucher et al. продемонстрировали, что апелин секретируется в адипоцитах людей. Уровень экспрессии апелина в жировой ткани практически сопоставлен с уровнем активности в клетках сердца и почек. [4]. Одним из важных прогностических эффектов апелина является положительное влияние на углеводный обмен, так как идентификация апелина как адипокина привела к выводу про связь апелина с инсулиновым сигналь-

ным путем. [10] Апелин непосредственно способствует усвоению глюкозы через АМФ протеинкиназный путь и eNOS. [11]. Существуют разногласия по поводу активности апелина при гипертонической болезни, синдроме ИР.

Цель исследования: изучить экспрессию адипокина апелина и его взаимосвязь с активностью компонентов системы оксида азота в группе Украинских пациентов с ГБ и ожирением.

Материалы и методы исследования

96 пациентов с ГБ были задействованы в исследовании. Расспрос, осмотр, лабораторные и инструментальные исследования проведены в соответствии с рекомендациями Украинского общества кардиологов, Европейского общества кардиологов и Европейского общества по артериальной гипертензии 2007/2009 [8].

Исследование утверждено локальной комиссией по этике, все пациенты давали письменное согласие на проведение исследования. Всем пациентам проведено измерение роста, веса при первом визите. Индекс массы тела (ИМТ) рассчитывали как вес в килограммах, разделенный на квадрат роста в метрах (кг/м²).

Проводилось три последовательных измерения систолического (САТ) и диастолического (ДАТ) артериального давления стандартизованным сфигмома-

нометром после 15-минутного отдыха в положении сидя, среднее арифметическое из трех измерений принималось к статистической обработке.

Кровь для исследований набирали утром, натощак, после 8-ми часового голодания. Пробы центрифугировали и замораживали до проведения лабораторного исследования. Углеводный обмен оценивали на основании уровня гликозилированного гемоглобина (HbA1c), глюкозы, инсулина натощак, и после проведения стандартного перорального глюкозотолерантного теста (ПГТТ) с 75 гр. глюкозы. Для исследования уровня инсулина использовался набор реактивов DRG® Insulin (DRG Instruments GmbH, Germany, Marburg). Для оценки инсулинорезистентности использовался индекс Саго, который рассчитывался как отношение глюкозы (моль/л) к уровню инсулина натощак (мЕд/мл). В норме индекс Саго превышает 0,33 [3].

Вазоактивный пул оксида азота оценивался на основании определения уровня нитратов (NO₂), нитритов (NO₃), эндотелиальной (eNOS) и индуцибельной (iNOS) синтаз оксида азота биохимическим методом с использованием реактива Griess по методике L. Green. S-нитозотиол (S-NO) исследовали в плазме крови флюорометрическим методом. [2]. С целью исключения влияния медикаментозной коррекции АД на систему генерации NO, забор крови для исследования проводился в первые дни пребывания в стационаре. Все больные находились в условиях одинаковой физической активности и не принимали нитратсодержащих препаратов. Уровень апелина определяли в плазме крови методом ELISA (Phoenix Pharmaceuticals, USA).

Статистическая обработка проведена с использованием программ Microsoft Excel и Statistica. Результаты поданы как медиана (Me) и значения нижнего и верхнего квартилей. Данные пациентов были категоризированы по апелину и ИМТ согласно методу

кластерного анализа с использованием k-средних. Достоверность различий определялась методом Kruskal-Wallis. Значение p менее 0,05 рассматривалось как статистически значимое.

Результаты исследования и их обсуждение

Средние значения ИМТ и апелина в общей выборке пациентов с ГБ (n=96) – $30,47 \pm 4,25$ кг/м² и $0,28 \pm 0,32$ нг/мл соответственно. 93% больных с ГБ имели повышенную массу тела. Данные значения статистически превышали (p<0,05) показатели контрольной группы: ИМТ – $21,23 \pm 1,01$ кг/м² и апелин – $0,12 \pm 0,01$ нг/мл. [1]. Исследование вазоактивного пула оксида азота показало наличие эндотелиальной дисфункции у 89% больных ГБ, что проявлялось снижением уровня eNOS ($0,60 \pm 0,11$ пмоль/мин х мг белка), NO₂ ($11,72 \pm 2,62$ мкмоль/л), NO₃ ($19,11 \pm 4,29$ мкмоль/л), p<0,05 в сравнении с группой контроля ($0,72 \pm 0,05$ пмоль/мин х мг белка, $12,54 \pm 2,58$ и $23,26 \pm 2,71$ мкмоль/л соответственно). Так же, у больных ГБ значения iNOS ($0,36 \pm 0,09$ пмоль/мин х мг белка) и S-NO ($0,42 \pm 0,13$ ммоль/л) в 2 раза превышали показатели группы контроля: $0,18 \pm 0,02$ пмоль/мин х мг белка и $0,20 \pm 0,02$ мкмоль/л соответственно.

Для изучения взаимосвязи повышенной массы тела с экспрессией адипокина апелина все пациенты распределены на 4 кластера (рис. 1).

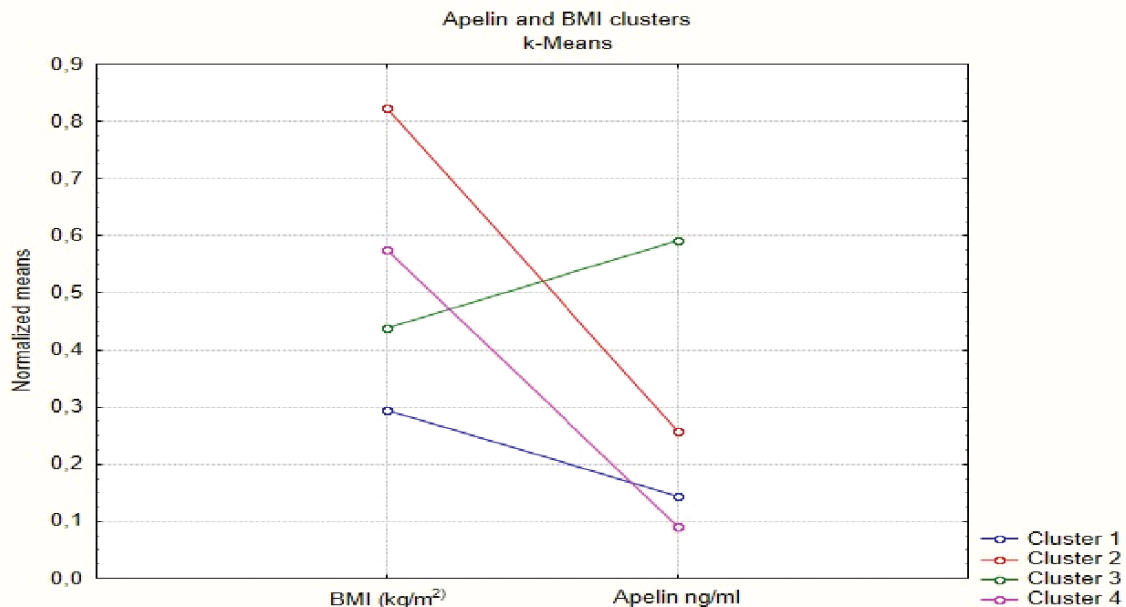


Рис. 1. Кластеризация результатов по апелину и ИМТ

В 1 кластере было 23 пациента с ГБ, возраст от 40 до 71 лет, Ме – 63,0 лет; 13 женщин и 10 мужчин. Во 2 кластере – 22 больных ГБ, возрастом от 35 до 72 лет, Ме – 60,5 лет; 12 женщин и 10 мужчин. 3 кластер составляли 14 пациента ГБ, от 54 до 74 лет, Ме – 61,5 лет; 8 женщин и 6 мужчин. В 4 кластере – 37 пациентов с ГБ от 30 до 72 лет, медиана возраста – 58,0 лет.

Проведен анализ пациентов с ожирением в каждом кластере согласно ИМТ. Так, в 1 кластере 21,7% с нормальной массой

тела, см. рис.2. 78% пациентов 1 кластера имели предожирение. Большинство пациентов 2 кластера – 59,1% – лица с ожирением 2 степени. 50% больных 3 кластера были с ожирением 1 степени и 45% – с предожирением. В 4 кластере, 70,3% пациентов с ГБ были с сопутствующим ожирением 1 степени, и 24,3% – с предожирением.

Данные длительности заболевания, САТ и ДАТ, результаты исследования углеводного обмена, вазоактивного пула оксида азота, уровня апелина представлены в табл. 1.

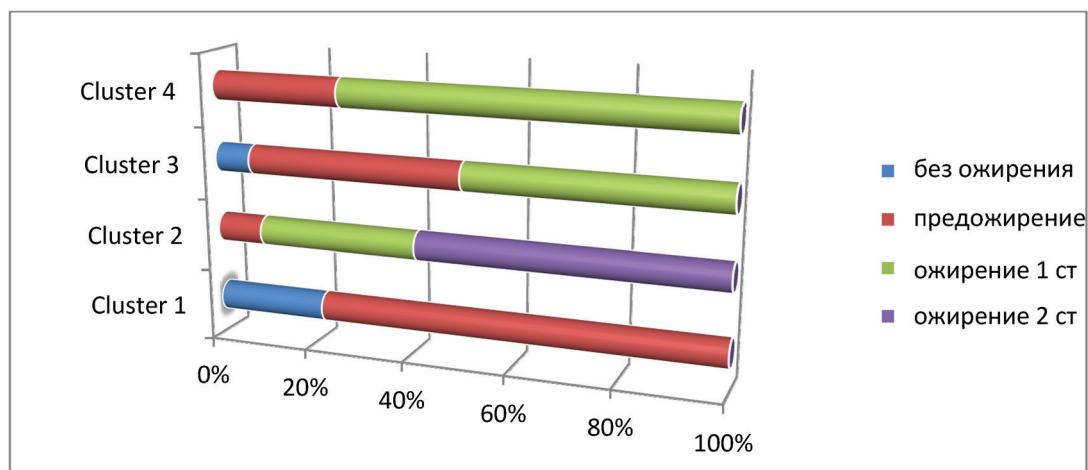


Рис. 2. Количество больных с ожирением при распределении пациентов на кластеры по уровню апелина и ИМТ

Пациенты 1 и 2 кластеров характеризовались противоположными значениями ИМТ. У больных 1 кластера, с наиболее низким ИМТ выявлен наименьший анамнез ГБ. Так же умеренные изменения в углеводном обмене сопровождались невыраженными изменениями параметров системы оксида азота. Пациенты 2 кластера отличались наиболее высоким значением ИМТ, САТ, ДАТ. В сравнении с больными 1 кластера, у пациентов 2 кластера выявлен более длительный анамнез заболевания, статистически более выраженная дисгликемия, которая сопровождалась достоверным снижением уровня eNOS в сравнении с группой контроля, достоверно значимым повышением уровня S-нитрозотиола и апелина в сравнении с пациентами 1 кластера. Обращает внимание, что именно во 2 кластере, где преобладают пациенты со 2 степенью ожирения, уровень eNOS наименьший в целой выборке.

Несмотря на незначительные различия в ИМТ пациентов 3 и 4 кластеров, выявлены противоположные значения апелина. У больных 4 кластера установлено наименьшую во всей выборке активность апелина, у пациентов 3 – наибольшую. Уровень пепти-

да у больных 3 кластера в 3 раза превышал средние значения других групп. У пациентов 3 и 4 кластеров длительность заболевания самая большая среди всех пациентов. Анализ лабораторных и инструментальных исследований показал более высокие показатели САТ и ДАТ у больных 3 группы в сравнении с 4. У больных 4 кластера, на фоне самого низкого уровня апелина в целой выборке, отмечено достоверно высокие уровни S-NO, iNOS и низкий уровень eNOS. Наиболее выраженные изменения углеводного обмена выявлены у больных 4 кластера. Значения глюкозы, инсулина натощак и после ПГТТ, а так же HbA1c, индекс НОМА у больных 4 кластера превышали таковые в других группах.

В организме NO могут связываться в стабильные соединения и депонироваться в клетках, или транспортироваться по мере надобности. В качестве депо NO выступают динитрозолные комплексы железа с серосодержащими лигандами и S-нитрозотиолы. При этом, депонирование NO в стенке сосудов начинается независимо от причины, а высвобождение опосредовано ионами металлов, аскорбатом, тиоловыми соединениями и некоторыми ферментами, например, каталазой и глутатионпероксидазой.

Таблица 1

Анамнестические, антропометрические данные, результаты лабораторного исследования пациентов с ГБ

Группы Показатели	Кластер 1, 23 пациентов с ГБ	Кластер 2, 22 пациентов с ГБ	Кластер 3, 14 пациентов с ГБ	Кластер 4, 37 пациентов с ГБ	Kruskal-Wallis ANOVA; медианный тест
Длительность ГБ, годы	8,0 (5,0;12,0)	10,0 (6,0;13,0)	11,5 (5,0; 13,0)	12,0 (6,0; 17,0)	p>0,05
САТ, мм рт.ст.	160 (150;180)	180 (160;185)	166 (160;180)	160 (150;165)	p<0,05
ДАТ, мм рт.ст.	90 (90;100)	100 (90;100)	99 (89;100)	95 (90;100)	p>0,05
ИМТ, кг/м ²	26,09 (25,15;27,15)	35,82 (34,92;37,12)	29,50 (26,00;30,40)	31,21 (29,70;32,89)	p<0,05
NO ₂ , мкмоль/л	11,62 (9,45; 14,11)	12,11 (10,42; 13,36)	11,70 (11,70; 12,15)	11,69 (8,73; 12,75)	p>0,05
NO ₃ , мкмоль/л	18,16 (15,47; 22,48)	20,08 (15,32; 20,79)	17,76 (16,96; 20,25)	19,22 (13,42; 21,48)	p>0,05
S-NO, ммоль/л	0,39 (0,28; 0,47)	0,46 (0,36; 0,55)	0,37 (0,31; 0,53)	0,51 (0,37; 0,57)	p<0,05
eNOS, пмоль/ мин х мг белка	0,62 (0,52; 0,71)	0,58 (0,50; 0,66)	0,62 (0,59; 0,68)	0,60 (0,60; 0,70)	p>0,05
iNOS, пмоль/ мин х мг белка	0,33 (0,31; 0,41)	0,31 (0,28; 0,43)	0,33 (0,28; 0,40)	0,34 (0,28; 0,40)	p>0,05
Глюкоза натощак, ммоль/л	5,51 (4,73; 6,65)	5,21 (4,90; 7,20)	6,51 (5,62; 9,55)	6,90 (5,99; 8,25)	p<0,05
Глюкоза 2 ч после ПГТТ, ммоль/л	5,96 (5,66; 6,59)	6,48 (6,32; 7,09)	5,57 (5,42; 5,72)	7,13 (6,48; 8,04)	p<0,05
Инсулин натощак, ммоль/л	20,58 (12,47; 26,18)	19,78 (11,74; 23,22)	26,5 (18,96; 34,03)	24,62 (14,10; 29,87)	p>0,05
Инсулин 2 ч после ПГТТ, ммоль/л	55,65 (43,68; 59,38)	67,69 (57,14; 69,18)	42,87 (40,22; 45,53)	68,81 (54,48; 80,29)	p<0,01
Сагo	0,31 (0,27; 0,42)	0,30 (0,26; 0,42)	0,29 (0,25; 0,34)	0,31 (0,23; 0,52)	p>0,05
HbA1c	7,00 (4,90; 8,00)	7,15 (6,90; 7,90)	5,70 (4,77; 9,20)	7,35 (5,30; 8,10)	p>0,05
Апелин, нг/мл	0,29 (0,16; 0,38)	0,37 (0,23; 0,64)	0,87 (0,68; 1,00)	0,18 (0,14; 0,25)	p<0,01
ИЛ-10, пкг/мл	80,56 (76,50; 88,60)	90,45 (79,50; 91,60)	78,84 (74,85; 83,80)	88,30 (78,74; 90,60)	p>0,05

Данные представлены как медиана, нижний и верхний квартили.

Сокращения: САТ, систолическое артериальное давление; ДАТ, диастолическое артериальное давление; ИМТ, индекс массы тела; NO₃, нитрит; NO₂, нитрат; S-NO, S-нитрозотиол; eNOS, эндотелиальная синтаза оксида азота; iNOS, индуцибельная синтаза оксида азота; ПГТТ, пероральный глюкозотолерантный тест.

Большая роль в формировании макрососудистых осложнений, патогенетическим моментом которых является эндотелийзависимая вазодилатация, отводится оксидантному стрессу, который приводит к ускоренной инактивации NO супероксидным анион-радикалом, в результате чего образуется пероксинитрит, который, в свою очередь, может вступать в реакцию с тирозиновыми остатками белков с образованием нитротирозина, и с тиолами алтбумина или глутатиона, образуя S-нитрозотиолы. Таким образом, взаимодействие с тиолами может предотвращать токсичные эффекты пероксинитрита, но при

этом снижается биодоступность оксида азота при его неизменном синтезе [9].

В целой выборке пациентов с ГБ корреляционный анализ показал достоверные взаимосвязи активности апелина с компонентами вазоактивного пула оксида азота. Выявлены корреляции апелина с уровнем S-нитрозотиола (R=0,26, p<0,05), iNOS (R=0,39, p<0,05), eNOS (R=-0,27, p<0,05), индексом Сагo (R=-0,29, p<0,05). У пациентов 1 кластера установлена положительная корреляция апелина с HbA1c (R=0,53, p<0,05). У больных 2 и 4 кластеров выявлены достоверные корреляции апелина

и ИМТ ($R=-0,72$ и $R=-0,41$ соответственно, $p<0,05$), так же адипокина с уровнем S-нитрозотиола ($R=0,60$, $p<0,05$). У пациентов 3 кластера уровень пептида прямо коррелировал с NO_2 ($R=0,64$, $p<0,05$) и NO_3 ($R=0,70$, $p<0,05$), и так же установлена обратная зависимость активности апелина и S-нитрозотиола ($R=-0,58$, $p<0,05$).

Апелин непосредственно способствует усвоению глюкозы через АМФ протеинкиназный путь и eNOS. Апелин так же угнетает липолиз за счет регулирования фосфорилирования гормончувствительной липазы, уменьшая высвобождение СЖК в кровоток, способствуя повышению чувствительности к инсулину. [11]. Учитывая то, что APJ-AMF-eNOS путь является наиболее изученным, обращает внимание так же и другие патогенетические особенности активности апелина. Так, показано, что апелин ингибирует активность NF-kB путем взаимодействия между APJ и рецепторами ангиотензина II 1 типа [5]. Угнетение активности NF-kB, в свою очередь, приводит к ингибированию TNF- α -зависимой инсулинорезистентности. Исследование эффектов апелина на инсулинзависимое поглощение глюкозы на модели культивированных адипоцитов также подтвердило эту идею [12]. В частности, апелин приводит к уменьшению продукции провоспалительных цитокинов (ИЛ-6), реактивных форм кислорода и MCP1 (monocyte chemoattractant protein-1) [3, 4].

Таким образом, исследование показало достоверное повышение уровня апелина у больных ГБ в сравнении с группой контроля. Ожирение сопровождается экспрессией пептида, в большей степени активность апелина зависит от выраженности сопутствующей дисгликемии и ИР. Нарушение функции эндотелия установлено в 89% случаев, что выражалось в снижении активности eNOS, повышении iNOS. Значительное повышение S-нитрозотиола свидетельствует о высокой степени депонирования и снижении биодоступности оксида азота. У больных ГБ, значительная дисгликемия, гиперинсулинемия, гиперцитокемия сопровождалась снижением активности апелина в сравнении с пациентами ГБ без коморбидных нарушений углеводного обмена. Гиперэкспрессия апелина у больных ГБ с умеренными нарушениями углеводного обмена связана с компенсаторной реакцией.

Дальнейшие исследования активности апелина позволят более точно установить взаимосвязь уровня пептида и глюкометаболических нарушений.

Выводы

Плазменный уровень адипокина апелина повышен у больных гипертонической болезнью с ожирением.

Ожирение у лиц с ГБ ассоциировано с экспрессией адипокина и сопутствующими нарушениями углеводного обмена.

Дисфункция эндотелия у больных ГБ выявлена в 89%, что сопровождалось снижением эндотелиальной синтазы оксида азота, повышением индуцибельной синтазы оксида азота и S-нитрозотиола.

У больных гипертонической болезнью с ожирением, изменения, проявляющиеся высоким уровнем депонирования оксида азота, провоспалительных цитокинов, выраженной дисгликемией, гиперинсулинемией сопровождаются снижением уровня апелина и негативной корреляцией пептида с ИМТ в сравнении с пациентами с гипертонической болезнью без ожирения.

Гиперэкспрессия апелина более 0,65 нг/мл у пациентов с гипертонической болезнью с умеренными нарушениями углеводного обмена является компенсаторной реакцией.

Список литературы

1. Демиденко Г.В. Активність апеліну у хворих на гіпертонічну хворобу: вікові та гендерні особливості / Г.В. Демиденко, О.М. Ковальова // Український кардіологічний журнал. – 2013. – №6. – С. 35-39.
2. Ковальова О.М. Діагностика ендотеліальної функції – оцінка вазоактивного пулу оксиду азота. Методичні рекомендації / О.М. Ковальова, Г.В. Демиденко, Т.В. Горбач – Київ. – 2007. – 19 с.
3. Мітченко О.І. Діагностика і лікування метаболічного синдрому, цукрового діабету, пре діабету і серцево-судинних захворювань / О.І. Мітченко, В.В. Корпачев, А.Е. Багрий // методичні рекомендації Робочої групи з проблем метаболічного синдрому, цукрового діабету, пре діабету та серцево-судинних захворювань Української асоціації кардіологів і Української асоціації ендокринологів. – Київ, 2009. – 40 с.
4. Boucher J. A Newly Identified Adipokine Up-Regulated by Insulin and Obesity / J. Boucher, B. Masri, D. Je Daviaud, S. et al. // Endocrinology. – 2005. – 146(4). – P. 1764-1771.
5. Chun H.J. Apelin signaling antagonizes Ang II effects in mouse models of atherosclerosis / H.J. Chun, Z.A. Ali, Y. Kojima, et al. // J Clin Invest. – 2008. – 118(10). – P. 3343-3354.
6. Leeper N.J. Apelin prevents aortic aneurysm formation by inhibiting macrophage inflammation / Leeper NJ, Tedesco MM, Kojima Y, et al. // Am J Physiol Heart Circ Physiol. – 2009. – 296(5). – P. 1329-1335.
7. Piya M.K. Adipokine inflammation and insulin resistance: the role of glucose, lipids and endotoxin / Piya M.K. McTernan P.G., Kumar S. // J. of Endocrinology. – 2013. – 216. – P. 1-15.
8. Reappraisal of European guidelines on hypertension management: a European Society of Hypertension Task Force document // Hypertension. – 2009. – 27. – P. 2121-2158.
9. Tsikas D. Nitric oxide and hypertension / D. Tsikas, S. Haufe, D. Stichtenoth et al. // Journal of Hypertension. – 2012. – V.30 (3). – P. 625-626.
10. Xu S. Apelin and insulin resistance: another arrow for the quiver? / S. Xu, P. S. Tsao, P. J. Yue // Diabetes. – 2011. – 3(3). – P. 225 – 231.
11. Yue P. Apelin decreases lipolysis via G(q), G(i), and AMPK-Dependent Mechanisms / P. Yue, H. Jin, S. Xu, et al. // Endocrinology. – 2011. – 152(1). – P. 59-68.
12. Zhu S. Apelin stimulates glucose uptake through the PI3K/Akt pathway and improves insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes / S. Zhu, F. Sun, W. Li, et al. // Mol Cell Biochem. – 2011. – 353(1-2). – P. 305-313.