

АПЕЛІН ТА ФАКТОР НЕКРОЗУ ПУХЛИН- α У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ З РІЗНИМ ФЕНОТИПОМ

Л.В. Журавльова, Ю.О. Шеховцова

Харківський національний медичний університет

Резюме. Ціль дослідження – вивчення взаємозв'язків між показниками вуглеводного обміну, концентраціями апеліну та фактору некрозу пухлин- α (ФНП- α) у плазмі крові у хворих на цукровий діабет 2 типу (ЦД2) з різним фенотипом. Матеріали та методи. Було обстежено 32 хворих на ЦД2 з різним фенотипом (13 чоловіків та 19 жінок, середній вік $56,77 \pm 1,79$ років). Контрольну групу склали 20 практично здорових осіб. Результати. Встановлені достовірно підвищення вмісту цих адипоцитокінів та наявність значимих кореляційних зв'язків між індексом маси тіла (ІМТ), апеліном, ФНП- α та показниками вуглеводного обміну. Висновки. Підвищення рівнів апеліну та ФНП- α в крові, їхня пряма взаємодія, а також зв'язок цих адипоцитокінів з антропометричними показниками та показниками вуглеводного обміну дає можливість припустити, що при підвищеній масі тіла активуються та поглиблюються механізми впливу гормонів жирової тканини на метаболічний статус.

Ключові слова: цукровий діабет типу 2, апелін, ФНП- α , ІМТ, підвищена маса тіла

Ожиріння та метаболічний синдром (МС) зараз розглядаються як глобальна епідемія неінфекційного генезу [4]. В Україні та Європі МС зустрічається у 17,9% чоловіків до 40 років та у 43,7% чоловіків від 40 – 55 років. Частота МС у жінок значно менша, і складає 7,1% - до 40 років і 19,9% у віці від 40 до 55 років [1].

МС – це кластер таких порушень, як інсулінорезистентність (ІР), дисліпідемія, вісцеральне (абдомінальне) ожиріння, гіперінсулінемія, артеріальна гіпертензія, порушення толерантності до глюкози або ЦД2, неалкогольна жирова хвороба печінки тощо.

Відомо, що жирова тканина являє собою ендокринний орган, що складається з певних клітин – адипоцитів, які секретують гормоноподібні речовини- адипоцитокіни. Основна фізіологічна роль адипоцитокінів полягає у запасанні триацилгліцеридів у періоди надлишку надходження калорій та в мобілізації цього запасу в ті періоди, коли витрати перевищують надходження. В жировій тканині регулювання даних процесів знаходиться під безпосереднім впливом гормонів, цитокінів та інших факторів, котрі приймають участь в метаболізмі енергії [8].

За сучасними даними, в білій жировій тканині синтезується велика кількість сигнальних речовин, а саме, лептин, ФНП- α [9], інтерлейкін-6 (ІЛ-6) [15], інтерлейкін-8 [7] і відповідні розчинні рецептори. Серед постійно зростаючої кількості описаних речовин, які секретуються адипоцитами, також можливо назвати ангіотензиноген, ангіотензин-ІІ, інгібітор активатора плазміногену-1 (РАІ-1), адипонектин, апелін.

Варто відзначити, що прозапальні зміни залежать від локалізації жирової тканини. Концентрація деяких адипокінів та активність низки ферментів вища у вісцеральному жирі, ніж у підшкірній жировій тканині. У вісцеральному жирі превалює (порівняно з підшкірною жировою тканиною) продукція РАІ-1, ангіотензиногену, ІЛ-6, вище співвідношення андрогенів/естрогенів, більша активність 17-гідроксистериддегідрогенази. У підшкірній жировій тканині переважає порівняно з вісцеральним жиром продукція адипонектину та лептину, вища активність ароматази.

Збільшення об'єму вісцеральної жирової тканини призводить до системного вивільнення білку резистину та проатерогенних інтерлейкінів. Підвищення рівня циркулюючих цитокінів пов'язано з розвитком ІР м'язової тканини. Так, у дослідженні характеру розподілу жирової тканини (за даними магнітно-резонансної томографії) та функції мікроциркуляторного русла (відеомікроскопічно) встановлено, що прозапальний стан організму асоційований із вісцеральним типом ожирінням та збіднінням мікроциркуляторного русла [10].

Таким чином, біла жирова тканина знаходиться в центрі системи аутокринних, паракринних та ендокринних сигнальних речовин. Існують декілька вказівок на те, що порушення регуляції синтезу та секреції адипоцитокінів впливає на розвиток метаболічних захворювань, таких як МС, ЦД2. Так, адипоцитокіни можуть служити сполучною ланкою, через яку ожиріння та ІР стають фактором ризику ЦД2.

Патологічний зв'язок ожиріння та ЦД2 підтверджується багатьма дослідженнями. Особливо наочно цей зв'язок демонструє 9-кратне збільшення ризику розвитку ЦД2 у чоловіків з індексом маси тіла більше 30 кг/м² [12]. Приблизно 80% хворих на ЦД2 мають абдомінальне ожиріння [12]. Особливе значення у розвитку цих патологій надається метаболічним розладам.

Поряд з відомими патогенетичними аспектами ЦД2, існує ряд факторів, які вивчені недостатньо, серед яких – вплив гормонів жирової тканини (адипоцитокінів).

Апелін та ФНП- α – адипоцитокіни, відомі своєю здатністю впливати на обмінні процеси. В дослідженнях доведено, що апелін секретується в клітинах жирової тканини мишей та людей [5]. Доведено, що високі рівні апеліну у плазмі крові та підвищення експресії його жировою тканиною визначається як у лабораторних тварин з ожирінням, гіперінсулінемією та гіперглікемією, так і у осіб з ожирінням та гіперінсулінемією і/або ЦД2.

Доведена роль ФНП- α у розвитку ІР, ожиріння та ЦД2, що підтверджується фактами позитивної кореляції цього адипоцитокіну з ожирінням та ІР [7].

В літературі описані механізми взаємозв'язків між апеліном та ФНП- α . Виявлено, що ФНП- α разом з інсуліном стимулюють секрецію апеліну [7].

Тому перспективним напрямком є ретельне дослідження участі адипоцитокінів у патогенезі ЦД2 та ожиріння. Своєчасне виявлення вищезазначених порушень сприяє поліпшенню результатів діагностики даної патології, особливо за наявності підвищеної маси тіла.

Ціль дослідження – вивчення взаємозв'язків між показниками вуглеводного обміну, концентрацією апеліну та ФНП- α у плазмі крові у хворих на ЦД2 у залежності від трофологічного статусу.

Матеріали і методи.

В умовах ендокринологічного відділення КЗОЗ «Обласна клінічна лікарня - центр екстреної медичної допомоги та медицини катастроф» міста Харкова було обстежено 32 хворих на ЦД2 (13 чоловіків та 19 жінок, середній вік $56,77 \pm 1,79$ років). Контрольну групу склали 20 практично здорових осіб, що були репрезентативні за віком і статтю.

Діагноз ЦД2 формулювався відповідно до класифікації глікемії (ВООЗ, 1999). Верифікація діагнозу ЦД2 ґрунтувалась на визначенні показників вуглеводного обміну. Вміст глюкози сироватки крові натще (ГКН) визначали глюкозооксидантним методом. Рівень імунореактивного інсуліну (ІРІ) в сироватці крові визначали методом твердофазного імуноферментного аналізу (набори DRG, США). Оцінка рівня ІР проводилась за допомогою НОМА (homeostasis model assesment) — моделі оцінки гомеостазу з розрахуванням індексу ІР (НОМА-ІР) за формулою: $\text{НОМА-ІР} = \text{інсулін, мкЕД/мл} * \text{глюкоза, ммоль/л} / 22,5$. У всіх досліджуваних хворих на ЦД2 рівень HbA1c був $< 8,5\%$.

Всім пацієнтам було проведено вимірювання маси тіла, зросту. Оцінку трофологічного статусу проводили за рекомендаціями ВООЗ (1997) за індексом маси тіла (ІМТ). ІМТ визначався за формулою: $\text{ІМТ} = \text{вага (кг)} / \text{рост (м}^2\text{)}$ та вимірювався в кг/м^2 . При ІМТ $18,5-24,9 \text{ кг/м}^2$ масу тіла оцінювали як нормальну. При $\text{ІМТ} > 25,0 \text{ кг/м}^2$ масу тіла оцінювали як підвищену. В залежності від рівня ІМТ всі хворі були розділені на 2 групи: 1 група – хворі на ЦД2 з нормальною масою тіла ($n=15$), 2 група – хворі на ЦД2 з підвищеною масою тіла ($n=17$).

Рівень плазмового апеліну (С-термінального пептиду) та ФНП- α визначалися імуноферментним методом за допомогою набору реактивів «Raybiotech» (США) та «Вектор-бест» (Росія), відповідно.

Статистичну обробку результатів досліджень здійснювали за допомогою дисперсійного та кореляційного аналізів з використанням пакетів програм Statistica версія 6.0.

Для порівняння середніх у декількох групах використовувався дисперсійний аналіз [2], який є найбільш загальним методом порівняння середніх, оскільки у порівнянні з іншими методами є найбільш ефективним і для малих вибірок більш інформативним.

Використання дисперсійного аналізу передбачає нормальність розподілу вибірок та однорідність їх дисперсій в кожній групі порівняння. Нормальність розподілу вибірок, які вивчаються, перевірялась за допомогою критерію Шапіро-Уилкса [2], а однорідність дисперсій – критерієм Левена [2]. Однак остання умова не була виконана, приймаючи до уваги робастість дисперсійного аналізу, а саме, можливість його використання навіть при деякому порушенні початкових передбачень, були проведені оцінки вибірових середніх трьох вибірок. При цьому міжгрупові порівняння виконувались з використанням критерію Тьюкі для нерівних обсягів вибірок.

Оскільки умова однорідності дисперсій у групах порівняння не виконувалось, для перевірки отриманих результатів використовувався і непараметричний критерій Краскела-Уолліса [2], коли порівняння середніх в декількох групах проводилось при порівнянні рангів для всіх груп. Обидва підходи показали повний збіг.

Порівняння частот наявності чоловіків та жінок у досліджуваних групах виконувалось за допомогою біноміального критерію [3] та показало повну однорідність груп за статтю.

Результати та обговорення.

Порівняльний аналіз середніх значень антропометричних показників в осіб досліджуваних та контрольної груп наведено в табл.1, причому значимих відмінностей у віці, стажі ІЦД2 та за статтю виявлено не було.

Таблиця 1. Антропометричні показники у хворих на ЦД2 в залежності від трофологічного статусу ($M \pm m$)

Показник	Контрольна група (n=20)	Група 1: ЦД2 з нормальною масою тіла (n=15)	Група 2: ЦД2 з підвищеною масою тіла (n=17)
Вік, роки	45,55±0,73	55,07±2,89	57,5±2,3
Стаж ЦД2, роки	-	12,13±1,54	10,1±2
Стать (ч/ж)	10/10	7/8	6/11
ІМТ, кг/м ²	21,75±0,2	23,18±0,4	29,9±0,7

У хворих на ЦД2 обох груп мало місце значиме підвищення рівня ГКН більш ніж в 2 рази відносно контрольної групи ($p < 0,05$). Значиме ($p < 0,05$) зростання показників HbA1c також спостерігалось в усіх групах досліджуваних хворих в порівнянні з контрольною групою. Проводячи порівняння рівня HbA1c, відмічена тенденція до збільшення HbA1c у групі з ЦД2 з підвищеною масою тіла у порівнянні з групою з ЦД2 з нормальною масою тіла свідчить про негативний вплив підвищеної маси на вуглеводний обмін. Зниження чутливості тканин до інсуліну по критерію НОМА-ІР спостерігалось у 100% хворих досліджуваних груп ($p < 0,05$). У хворих на ЦД2 обох груп мало місце значиме підвищення рівня ІРІ більш ніж в 3 рази відносно контрольної групи ($p < 0,05$) (рис. 1).

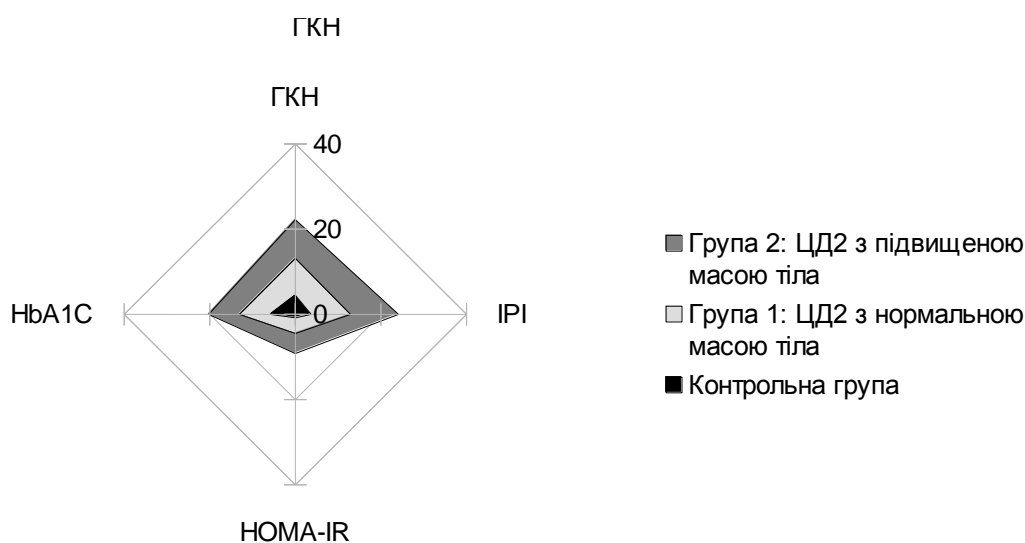


Рисунок 1. Сітчаста діаграма показників вуглеводного обміну в досліджуваних групах

Примітки: ГКН -глюкоза крові натще; HbA1c-глікозильований гемоглобін; ІРІ-інсулін; НОМА-ІР — індекс ІР

Виявлені порушення вуглеводного обміну свідчать про те, що незважаючи на підвищення показників вуглеводного обміну у всіх групах досліджуваних хворих, найгірше досягнення компенсації вуглеводного обміну мало місце у пацієнтів 2 групи з ЦД2 на підвищеною масою тіла.

Згідно з даними, наведеними в табл. 2, рівні апеліну та ФНП- α значно підвищувалися у хворих на ЦД2 і були максимально високим у хворих за наявності підвищеної маси тіла, що свідчило про вірогідну участь цих адипоцитокінів у патогенезі ЦД2 і прогресуванням її за наявності підвищеної маси тіла.

Таблиця 2. Стан адипоцитокінів у хворих на ЦД2 залежно від трофологічного статусу (M \pm m)

Показник, од. вимірювання	Контрольна група (n=20)	Група 1: ЦД2 з нормальною масою тіла (n=15)	Група 2: ЦД2 з підвищеною масою тіла (n=17)
Апелін, пг/мл	171 \pm 8,2	262,8 \pm 8,3 ^{*#}	296,7 \pm 9,2 ^{*#}
ФНП- α , пкг/мл	17,2 \pm 1,2	38,6 \pm 3,8 ^{*#}	60,0 \pm 4,1 ^{*#}

Примітка: * Різниця з групою контролю статистично значуща (p<0,05)

Різниця з 1 групою статистично значуща (p<0,05)

При аналізі рівнів адипоцитокінів в групах досліджуваних хворих спостерігалось достовірне підвищення рівнів апеліну та ФНП- α у плазмі крові у порівняння з контрольною групою (p<0,05) (рис.2).

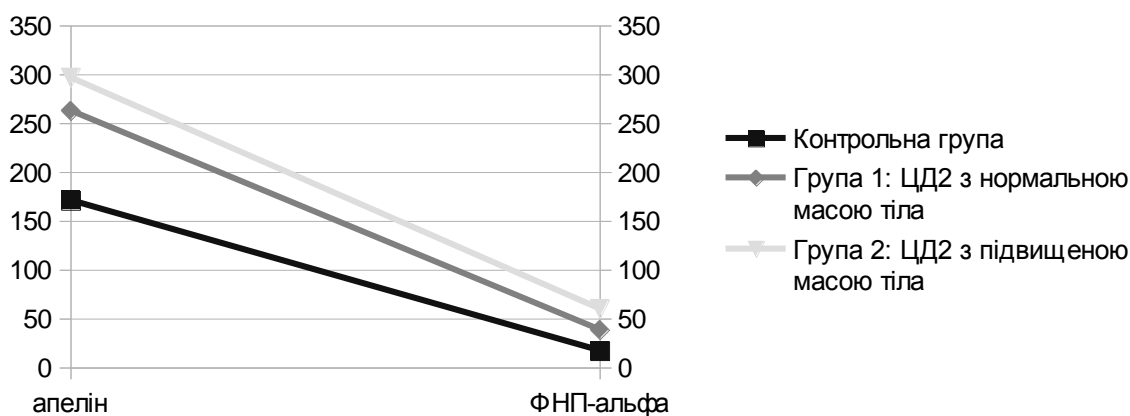


Рисунок 2. Рівень апеліну та ФНП- α у сироватці крові контрольної групи та хворих на ЦД2 залежно від ІМТ

Наявність статистично вищих рівнів апеліну у хворих з ІР та ЦД2 підтверджує зв'язок цього адипоцитокіну із сигнальним шляхом інсуліну. Тобто інсулін здатний контролювати секрецію апеліну та впливати на метаболізм завдяки опосередкованим ефектам.

Найбільше підвищення рівня апеліну (в 1,7 разів, $p < 0,05$) спостерігалось при ЦД2 з підвищеною масою тіла, що свідчило про вирогідну участь цих адипоцитокінів у патогенезі ЦД2 та прогресуванні за наявності підвищеної маси тіла.

Виявлено тісні кореляційні зв'язки між показниками вуглеводного обміну (рис. 3, рис. 4) у хворих на ЦД2 з різним фенотипом, особливо виражені між усіма показниками вуглеводного обміну в групі ЦД2 з підвищеною масою тіла, що дає змогу сказати, що підвищена маса тіла є допоміжним фактором порушення вуглеводного обміну, який впливає на перебіг та прогресування патологічних змін при ЦД2.

При аналізі впливу адипоцитокінів на показники вуглеводного обміну в обох групах з ЦД2 був виявлений позитивний кореляційний вплив адипоцитокінів на показники вуглеводного статусу. В групі ЦД2 з нормальною масою тіла ці зв'язки були дещо слабшими або відсутніми, а в групі з ЦД2 та підвищеною масою тіла спостерігалась тенденція до зростання цих взаємодій.

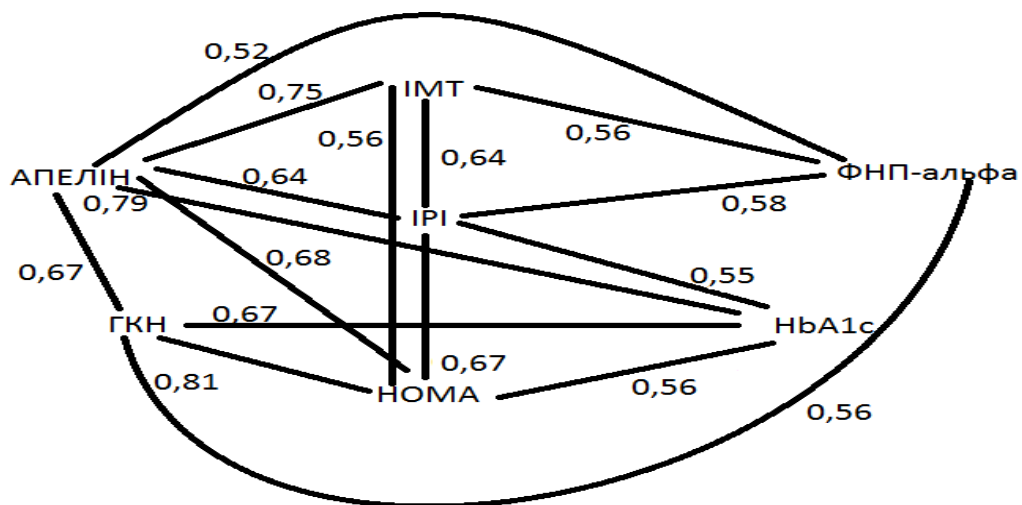


Рисунок 3. Кореляційні зв'язки між ІМТ, показниками вуглеводного обміну та адипоцитокінами у хворих на ЦД2 з нормальною масою тіла

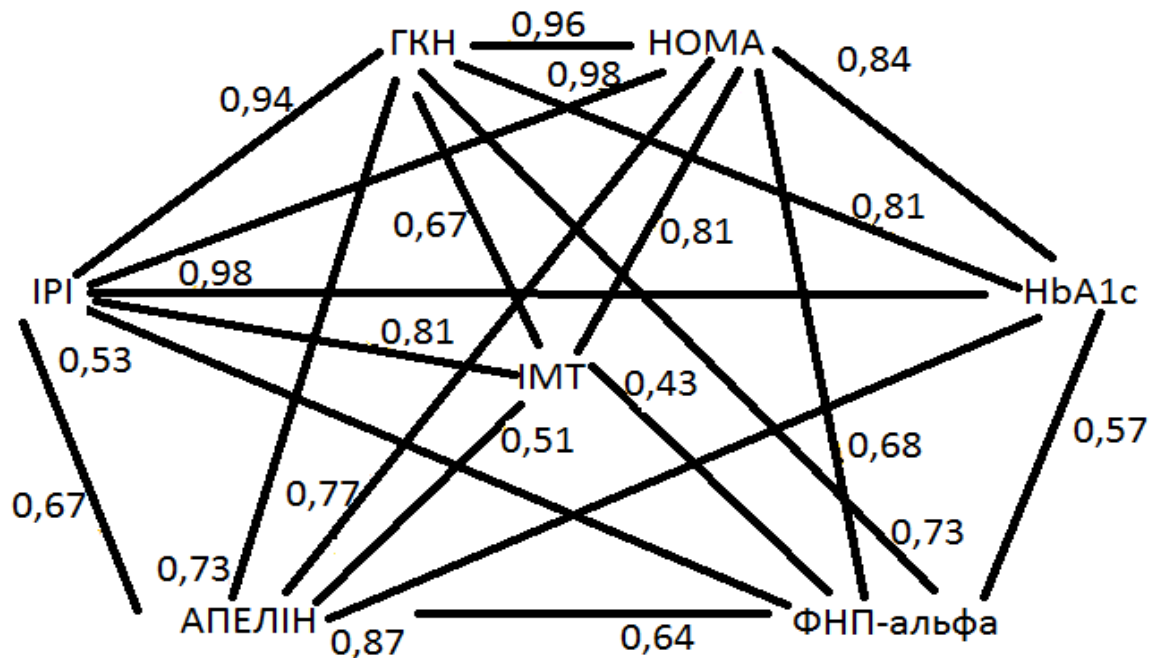


Рисунок 4. Кореляційні зв'язки між ІМТ, показниками вуглеводного обміну та адипоцитокінами у хворих на ЦД2 з підвищеною масою тіла

За даними деяких авторів інсулін безпосередньо залучений до механізмів регуляції синтезу апеліну [11], а саме контролює в адипоцитах експресію генів, які відповідають за синтез апеліну, що підтверджується наявністю значимого позитивного кореляційного зв'язку рівнів апеліну та ІРІ у нашому дослідженні з більш тісним зв'язком у хворих з підвищеною масою тіла. Вищезазначені дані дають змогу вважати апелін допоміжним діагностичним маркером ІР.

Виявлені тісні кореляційні зв'язки між адипоцитокінами також підтверджується даними деяких авторів про спільні механізми утворення цих адипоцитокінів, а саме про те, що ФНП- α ініціює продукцію апеліну жировою тканиною, особливо за наявності ЦД2 з підвищеною масою тіла [7]. Це дає змогу зрозуміти, що активність апеліну залежить не тільки від компенсації вуглеводного обміну, але й від рівня ФНП- α .

Результати проведеного дослідження свідчать про підвищення рівня адипоцитокінів в сироватці крові при ЦД2 у всіх обстежених хворих з різним фенотипом, що пов'язане з уповільненням метаболізму, який негативно впливає на організм в цілому, сприяє розвитку та поглибленню пізніх ускладнень, є чинником незадовільної компенсації вуглеводного обміну, що в результаті призводить до погіршення перебігу та прогресування ЦД2.

Висновки

1. У хворих на ЦД2 з нормальною масою тіла помірно підвищуються рівні показників вуглеводного обміну, апеліну та ФНП- α .

2. У хворих на ЦД2 з підвищеною масою тіла відмічається значне підвищення рівнів адипоцитокінів, тоді як рівні показників вуглеводного обміну підвищуються помірно. Ймовірно, у хворих на ЦД2 з ІМТ більше 25,0 додатковим показником прогресування метаболічних змін та поглиблення ІР є гіперапелінемія та гіпер- ФНП- α -емія.

3. Значимі кореляційні зв'язки між ІМТ, показниками вуглеводного обміну та адипоцитокінами в обох групах хворих можуть свідчити про взаємопотенціюючу роль цих чинників у прогресуванні ЦД2, що поглиблюється за умов підвищеної маси тіла.

Перспективи майбутніх досліджень

Продовження досліджень у цьому напрямку з метою встановлення інших, не менш вагомих факторів появи та прогресування ЦД2, зокрема при наявності змін фенотипу необхідно продовжувати подальші дослідження у цій галузі.

Перелік використаної літератури:

1. Ивашкин В.Т. Клинические варианты метаболического синдрома // М.: Изд-во «Мед. информ. Агенство».-2011.-220с.
2. Кобзарь А.И. Прикладная математическая статистика для инженеров и научных работников — 2 издание исправленное.- М.: ФИЗМАТЛИТ.- 2012.- 816 с.
3. Рунион Р. Справочник по непараметрической статистике: современный подход / Пер. С англ. Е.З. Демиденко; Предисл. Ю.Н. Тюрина.- М. : Финансы и статистика, 1982.- 198 с.

4. Фадеевко Г.Д. Стеатоз поджелудочной железы в рамках метаболического синдрома: уравнение со многими неизвестным // Вестник клуба Панкреатологов.-2010.-№1.-С.21-25.
5. Boucher J.A. Newly Identified Adipokine Up-Regulated by Insulin and Obesity / J. Boucher, B. Masri, D. le Daviaud et. al. // Endocrinology. — 2005. — 146(4). — P. 1764–1771.
6. Bruun J.M. Higher production of IL-8 in visceral vs. subcutaneous adipose tissue. Implication of nonadipose cells in adipose tissue / J.M. Bruun, A.S. Lihn, A.K. Madan et al. // Amer. J. Physiol. Endocrin. Metab.- 2004.- Vol. 286.- P. E8-E13.
7. De Alvaro C. Tumor necrosis factor alpha produced insulin resistance in skeletal muscle by activation of inhibitor kappaBkinase in ap38 MARK-deppendent manner / C. De Alvaro, T. Teruel, R. Hernandez, M. Lorenzo // J. Biol. Chem. – 2004. - Vol.279. – P. 17070–17078.
8. Fruhberg G. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation / G. Fruhberg, J. Gomes-Ambrosi, F.J. Muruzabal et al. // Amer. J. Physiol. Endocrin. Metab.- 2001.- Vol. 280.- P. E827-E847.
9. Hotamisligil G.S. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance / G.S. Hotamisligil, N.S. Shargill, B.M. Spiegelman // Science.- 1993.- Vol. 259.- P. 87-91.
- 10.Leeper N.J. Apelin prevents aortic aneurysm formation by inhibiting macrophage inflammation / N.J. Leeper, M.M. Tedesco, Y. Kojima et al. // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. — 2009. — 296(5). — P. 1329–1335.
- 11.Li L. Changes and relations of circulating visfatin, apelin, and resistin levels in normal, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetic subjects / L. Li, G. Yang, Q. Li et al. // Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes. — 2006. — 114. — P. 544–548.

12. Weinstein A.R. Relationship of physical activity vs body mass index with type 2 diabetes in women / A.R. Weinstein, H.D. Sesso, I.M. Lee et al. // JAMA. - 2004. - 292. - P.1188-1194.
13. Xu Shiming Apelin and insulin resistance: another arrow for the quiver? / Shiming Xu, Philip S. Tsao, Patrick Yue // J. Diabetes. - 2011. - Vol.3 (3). - P. 225-231.
14. Yue P. Apelin is necessary for the maintenance of insulin sensitivity / P. Yue, H. Jin, M. Aillaud-Manzanera et al. // Amer. J. Physiol. Endocrinol. Metab. — 2009. — 298. — P. 59–67
15. Yudkin J.S. Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link? / J.S. Yudkin, M. Kumari, S.E. Humphries, V. Mohammed-Ali // Atherosclerosis. - 2000. - Vol. 148. - P.209-214.
16. 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.

Апелин и фактор некроза опухоли- α у больных сахарным диабетом типа 2 с различным фенотипом

Журавлева Л.В., Шеховцова Ю.А.

Харьковский национальный медицинский университет

Резюме.

Цель исследования - изучение взаимосвязей между показателями углеводного обмена, концентрациями апелину и фактора некроза опухоли- α (ФНО- α) в плазме крови у больных сахарным диабетом типа 2 (СД2) с различным фенотипом.

Материалы и методы. Было обследовано 32 больных СД2 с различным фенотипом (13 мужчин и 19 женщин, средний возраст $56,77 \pm 1,79$ лет). Контрольную группу составили 20 практически здоровых лиц.

Результаты. Выявлены значимые повышения содержания этих адипоцитокинов и наличие значимых корреляционных связей между

индексом массы тела (ИМТ), апелином, ФНО- α и показателями углеводного обмена.

Выводы. Повышенные уровни апелина и ФНО- α в крови, их прямое взаимодействие, а также связь этих адипоцитокинов с антропометрическими показателями и показателями углеводного обмена дает возможность предположить, что при повышенной массе тела активируются и углубляются механизмы влияния гормонов жировой ткани на метаболический статус при СД2.

Ключевые слова: сахарный диабет типа 2, апелин, ФНО- α , ИМТ

Apelin and tumor necrosis factor- α in patients with type 2 diabetes mellitus with different phenotypes

Zhuravlyova L.V., Shekhovtsova Y.O.

Kharkiv National Medical University

Summary.

The purpose - to study the relationships between parameters of carbohydrate metabolism, plasma levels of apelin and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in patients with type 2 diabetes mellitus (DM2) with a different phenotype.

Materials and methods. The investigation involved of 32 patients with DM2 with a different phenotype (13 men and 19 women, mean age $56,77 \pm 1,79$ years). The control group consisted of 20 healthy individuals.

Results. The significant elevated levels of adipocytokines apelin and TNF- α were found. The significant correlation between body mass index (BMI), apelin, TNF- α and parameters of carbohydrate metabolism were defined.

Conclusions. Increased levels of apelin and TNF- α , their direct interaction, connection between these adipocytokines with anthropometric parameters and indices of carbohydrate metabolism suggests that elevated body weight activated and exacerbate the impact of adipose tissue hormones on metabolic status.

Key words: type 2 diabetes mellitus, apelin, TNF- α , BMI