



УДК: 612.12-008.331;616.379-008.64;612.112.94.015.2

АКТИВАЦИЯ ТРИГГЕРНЫХ МЕХАНИЗМОВ АПОПТОЗА У БОЛЬНЫХ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ С СОПУТСТВУЮЩИМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

О.Н. КОВАЛЕВА
Т.В. АЩЕУЛОВА
Х.Х. АЛЬ ШЕЙХ ДИБ

*Харьковский национальный
медицинский университет*

e-mail: on_kovalyova@mail.ru

Проведено общеклиническое обследование 103 пациентов артериальной гипертензией (АГ) и 10 лиц контрольной группы. Показано, что плазматический уровень сигнальных молекул апоптоза – FasL (CD95L) и FasR (CD95, APO-1) при условии ассоциации АГ и СД 2 типа (7,85 (7,45; 8,10) нг/мл 8,35 (8,16; 8,56) нг/мл) достоверно превышает уровень пациентов с АГ без установленного диагноза СД 2 типа (6,50 (6,30; 6,70) нг/мл 7,60 (7,50; 7,80) нг/мл; $p < 0,05$) и аналогичные показатели группы контроля (2,68 (2,63; 2,70) нг/мл 3,80 (3,65; 4,05) нг/мл; $p < 0,05$). У пациентов АГ гипергликемия способствует активации триггерных механизмов апоптоза. Отмечена прямая зависимость между уровнем глюкозы и плазматической активностью циркулирующих маркеров апоптоза FasL (CD95L) и FasR (CD95, APO-1) у пациентов АГ, ассоциированной с СД 2 типа.

Ключевые слова: плазматические маркеры апоптоза, артериальная гипертензия, сахарный диабет 2 типа.

Сочетанное течение артериальной гипертензии (АГ) и сахарного диабета 2 типа (СД 2 типа) является наиболее агрессивным в контексте сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности. Метаболические детерминанты СД 2 типа потенциально способны запускать целый патофизиологический каскад, приводящий к эндотелиальной дисфункции, ремоделированию сердца и сосудов, активации иммуновоспалительных и апоптотических процессов [1,2].

Высокая концентрация циркулирующей глюкозы приводит к нарушению секреции инсулина и функции β -клеток поджелудочной железы при СД. Существует предположение, что в крайнем случае, один из этих эффектов может быть вызван глюкозо-индуцированным апоптозом β -клеток [3]. Апоптоз – сложный активный процесс, в результате которого осуществляется физиологически запрограммированная гибель клеток при эмбриогенезе и нормальной жизнедеятельности тканей для поддержания клеточного гомеостаза организма. С другой стороны, апоптоз играет важную роль при патологических состояниях, обусловлено влиянием различных повреждающих факторов [4].

Апоптотический каскад задействован в патогенез АГ, результатом чего является формирование кардиальной и эндотелиальной дисфункции. Апоптотическая гибель клеток контролируется взаимодействием проапоптотических и антиапоптотических факторов. Одними из экзогенных факторов, которые запускают апоптоз являются «Рецепторы смерти» семейства провоспалительного цитокина – фактора некроза опухоли- α (ФНО- α), в число которых входят ФНО-Р1, Fas (Fibloblast associated), DR3 (Death Receptor 3), DR4, DR5, DR6 и другие. В случае Fas-зависимого апоптоза, рецептор Fas (FasR (CD95, APO-1)) индуцирует апоптотический сигнал путем связывания со своим лигандом – Fas лигандом (FasL (CD95L)), так-называемая "FasR / FasL" система [5, 6].

В связи с вышеизложенным, целью нашего клинического исследования было изучение плазматической активности маркеров апоптоза FasR (CD95, APO-1) и FasL (CD95L) у пациентов АГ в зависимости от наличия у них сопутствующего СД 2 типа.

Материалы и методы исследования. Обследовано 103 пациента с АГ: 58 женщин, что составило 56,3% и 45 мужчин (43,7%), которым было проведено общеклиническое и лабораторно-инструментальное обследование и 10 практически здоровых лиц, составивших контрольную группу. Содержание глюкозы и инсулина в плазме крови определяли натощак после 8-14-часового ночного голодания. Исследование концентрации глюкозы в плазме венозной крови натощак проведено ферментативным методом с использованием стандартных наборов. Определение концентрации инсулина в крови натощак проведено с использованием набора реактивов DRG® Инсулин (EIA-2935), (DRG Instruments GmbH, Германия, Марбург). Определение гликозилированного гемоглобина (HbA1c) проводилось по реакции с тиобарбитуровой кислотой. Определение уровня FasL проводилось иммуноферментным методом с использованием набора "Human Fas Ligand/TNFSF6 Immunoassay" (R & D System Europe, Ltd. United Kingdom). Определение уровня FasR (CD95, APO-1)



проводилось иммуноферментным методом с использованием набора "Human APO-1/Fas/CD95" (Invitrogen Corporation, United Kingdom). Статистическая обработка полученных данных проведена методами непараметрической статистики с использованием пакета статистических программ Statistica 8.0 for Windows (Statsoft, USA).

Результаты и их обсуждение. Среди 103 пациентов, которые были обследованы нами, наблюдался примерно одинаковое распределение по полу, а именно – мужчин 44 (42, 7%), женщин – 59 (57,3%). В группе контроля, половина обследованных лиц (n = 5) были мужского пола (50%), и половина (n = 5) – женского пола (50%). Возраст пациентов АГ, которые были включены в исследование, колебался от 32 до 80 лет, возраст лиц контрольной группы составил 62 (46; 62) года.

В результате изучения показателей, характеризующих состояние углеводного обмена, гипергликемию натощак установлено у 24 пациентов (23,3%) АГ, гиперинсулинемию – у 26 пациентов (25,2%). В 59 больных (57,3%) выявлен повышенный уровень HbA1c. Инсулинорезистентность по индексу HOMA имели 35 больных, что составило 39,8%. Сопутствующий СД 2 типа диагностирован у 31 пациента АГ (34,0%).

Патогенез как АГ, так и СД 2 типа достаточно сложный, мультифакториальный и не до конца понятен. При изучении образцов панкреатической ткани, полученный при аутопсии, показано уменьшение количества β-клеток у умерших, которые при жизни страдали СД 2 типа по сравнению с теми, которые не имели СД 2 типа, что было обусловлено ростом апоптоза β-клеток. Точная причина такой апоптотической активации неизвестна, однако существует предположение о существовании молекул, являющихся токсичными по отношению к β-клеткам поджелудочной железы. В настоящее время показано вовлечения таких молекул, в состав которых входят глюкоза и цитокины, в апоптотический каскад панкреатических β-клеток *in vitro* [7].

Глюкоза является ключевым физиологическим регулятором секреции инсулина, поэтому вполне логично, что она также регулирует длительную адаптацию продукции инсулина путем воздействия на метаболизм β-клеток. По отношению к роли глюкозы в апоптозе β-клеток крайне важно генетическое обоснование. В образцах панкреатических островков грызунов, рост уровня глюкозы от физиологических концентраций 5,5 ммоль/до 11 ммоль/л приводит к уменьшению апоптотической активности. Дальнейший рост уровня глюкозы более 11 ммоль/л имеет или про-, или антиапоптотичный эффект в зависимости от состояния культуры, т.е. очищенные β-клетки или целые островки, или культура на матрице или в суспензии. В отличие от этих данных, у человека рост уровня глюкозы от 5, 5 ммоль/л до 33 ммоль/л индуцирует более мощный рост апоптоза β-клеток. Такая разница в чувствительности глюкозы может объяснить почему у животных, генетически склонных к диабету, гипергликемия повышают частоту апоптоза, в то время как у крыс после 90% панкреатэктомии, случаи апоптозу не изменялись, несмотря на повышение уровня глюкозы. Возможно, такая разница существует и у людей с разной генетической предрасположенностью [8-10]. По результатам некоторых исследований было предположено, что высокая концентрация глюкозы может вызывать апоптотической гибелью β-клеток поджелудочной железы и, в дополнение к потенциальной роли в дисфункции β-клеток при СД 2 типа, высокая концентрация циркулирующей глюкозы может также приводить к деструкции оставшиеся β-клеток при установлении диагноза СД 1 типа. Был предложен ряд механизмов глюкозо-индуцированной токсичности по отношению к островкам поджелудочной железы у человека. Так, предположено, что глюкоза может индуцировать панкреатическую продукцию ИЛ-1β, что приводит к активации NF-κB, повышение экспрессии FasR (CD95, APO-1) и апоптоз β-клеток поджелудочной железы как следствие привлечения Fas лиганда (FasL (CD95L)) – триггера апоптоза [11,12].

Таблица 1

Сравнительная характеристика показателей углеводного обмена в контрольной группе и пациентов АГ в зависимости от наличия сопутствующего СД 2 типа Me (LQ; UQ)

Показатели	Контроль	АГ	АГ и СД 2 типа
Инсулин, мкЕД/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)**
HbA1c, %	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)*

Примечание:

1. * – отличия с группой контроля достоверны при p<0,05;
2. † – отличия с группой пациентов АГ достоверны при p<0,05.

Показатели гликемического профиля пациентов АГ, включенных в наше исследование, в зависимости от наличия сопутствующего СД 2 типа и в контрольной группе представлены в таблице 1. При анализе плазматической активности сигнальных молекул апоптоза в нашем исследовании нами установлено, что циркулирующий уровень FasL (CD95L) у пациентов АГ, ассоциированной с СД 2 типа (7,85 (7,45; 8,10 пг/мл) достоверно превышал показатели пациентов АГ без СД 2 типа (6,50 (6,30; 6,70 пг/мл; $p < 0,05$) и соответствующие значения лиц контрольной группы (2,68 (2,63; 2,70) пг/мл; $p < 0,05$) (рис. 1).

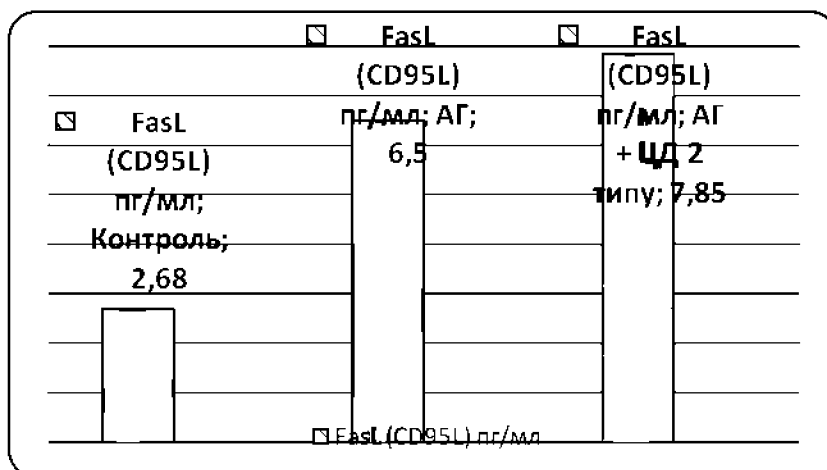


Рис. 1. Уровень FasL (CD95L) у пациентов с АГ в зависимости от наличия сопутствующего СД 2 типа и у лиц контрольной группы

Уровень FasR (CD95, APO-1) в условиях ассоциации АГ и СД 2 типа (8,35 (8,16; 8,56) нг/мл) достоверно превышал уровень пациентов АГ без установленного диагноза СД 2 типа (7,60 (7,50; 7,80) нг/мл; $p < 0,05$) и аналогичные показатели группы контроля (3,80 (3,65; 4,05) нг/мл; $p < 0,05$) (рис. 2).

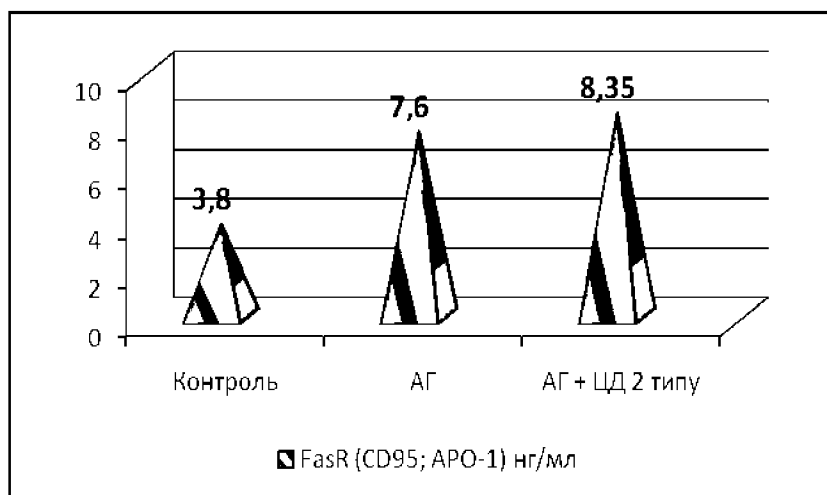


Рис. 2. Уровень FasR (CD95, APO-1) у пациентов с АГ в зависимости от наличия сопутствующего СД 2 типа и у лиц контрольной группы

Апоптоз сложный активный процесс, в результате которого осуществляется физиологически запрограммированная гибель клеток при эмбриогенезе и нормальной жизнедеятельности тканей для поддержания клеточного гомеостаза организма. С другой стороны, апоптоз играет важную роль при патологических состояниях, обусловлено влиянием различных повреждающих факторов. Это касается таких патологических состояний, как АГ, так и СД 2 типа. Для запуска апоптоза характерно каскад взаимодействий, триггерами которого являются цитокины, которые являются маркерами как иммунозапалення, так и апоптоза. Полученные нами результаты позволя-



ют утверждать о взаимосвязи глюкометаболических нарушений с активацией апоптотических и аутоиммунных сигнальных молекул, что было наиболее выражено при наличии сопутствующего СД 2 типа у больных АГ.

Выводы:

1. Уровень сигнальных молекул апоптоза – FasL (CD95L) и FasR (CD95, APO-1) в условиях ассоциации артериальной гипертензии и сахарного диабета 2 типа (7,85 (7,45; 8,10) пг/мл 8,35 (8,16; 8,56) нг/мл) достоверно превышает уровень пациентов с артериальной без установленного диагноза сахарного диабета 2 типа (6,50 (6,30; 6,70) пг/мл 7,60 (7,50; 7,80) нг/мл; $p < 0,05$) и аналогичные показатели группы контроля (2,68 (2,63; 2,70) пг/мл 3,80 (3,65; 4,05) нг/л; $p < 0,05$).

2. У пациентов артериальной гипертензией гипергликемия способствует активации триггерных механизмов апоптоза. Отмечено прямую зависимость между уровнем глюкозы и плазматической активностью циркулирующих маркеров апоптоза FasL (CD95L) и FasR (CD95, APO-1) у пациентов артериальной гипертензией, ассоциированной с сахарным диабетом 2 типа.

Литература

1. Горбась, І.М. Програма профілактики та лікування артеріальної гіпертензії в Україні: підсумки виконання / І.М. Горбась // Здоров'я України. – 2011. – №3(18). – С.32-34.
2. Colwell, J. A. Type 2 Diabetes, Pre-Diabetes, and the Metabolic Syndrome / J. A. Colwell. // JAMA. – 2011. – Vol. 306(2). – P.215.
3. Ehses, J. A. 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.
4. Ащеулова, Т.В. Дистанційні маркери апоптозу при артеріальній гіпертензії / Т.В. Ащеулова, О.М. Ковальова // Журн. АМН України. – 2007. – Том 13, №2. – С. 319-325.
5. Ащеулова, Т.В. sFasL – індуктор апоптозу при артеріальній гіпертензії / Т.В. Ащеулова // Український терапевтичний журнал. – 2007. – №4. – С.28-30.
6. Ащеулова, Т.В. Вміст плазматичного біомаркера апоптозу – sFasL в залежності від віку пацієнтів на артеріальну гіпертензію / Т.В. Ащеулова // Медицина і ... – 2007. – №2 (17). – С. 13-15.
7. Gelling, R. W. 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.
8. Jurgens, C. A. β -cell loss and β -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.
9. Weir, G. C. Five stages of evolving beta-cell dysfunction during progression to diabetes / GC Weir, S Bonner-Weir // Diabetes. – 2004. – Vol.53 (Suppl. 3). – P.S16-S21.
10. McKenzie, M. D. Proapoptotic BH3-Only Protein Bid Is Essential For Death Receptor-Induced Apoptosis of Pancreatic β -Cells / MD McKenzie, EM. Carrington, T Kaufmann // Diabetes. – 2008. – Vol.57. – P.1284-1292.
11. Brown, S. B. 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.
12. Ashkenazi, A. Death receptors: signaling and modulation / A Ashkenazi, V Dixit // Science. – 2008. – Vol.281. – P.1305-1308.

ACTIVATION OF APOPTOSIS TRIGGER MECHANISMS IN ARTERIAL HYPERTENSION PATIENTS WITH CONCOMITANT DIABETES MELLITUS 2 TYPE

O.N. KOVALYOVA
T.V. ASHCHEULOVA
H.H. AL SHEIKH DEEB

*Kharkov National
Medical University*

e-mail: on_kovalyova@mail.ru

103 patients with arterial hypertension and 10 healthy controls were examined. Plasma apoptosis signal molecules levels in arterial hypertension associated with diabetes mellitus 2 type (FasL (CD95L) – 7.85 (7.45; 8.10) pg/ml and FasR (CD95, APO-1) – 8.35 (8.16; 8.56) ng/ml) were significantly higher vs patients with arterial hypertension without diabetes mellitus 2 type (6.50 (6.30; 6.70) pg/ml, 7.60 (7.50; 7.80) ng/ml; $p < 0,05$) and control group (2.68 (2.63; 2.70) pg/ml, 3.80 (3.65; 4.05) ng/ml; $p < 0,05$). In patients with arterial hypertension hyperglycemia promotes apoptosis trigger mechanisms activation. Relationships between glucose levels and plasma circulating apoptosis markers activity FasL (CD95L) and FasR (CD95, APO-1) in patients with diabetes mellitus 2 type associated arterial hypertension were established.

Keywords: plasma apoptosis markers, arterial hypertension, diabetes mellitus 2 type.