

## **АПЕЛИН КАК МАРКЕР ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ У БОЛЬНЫХ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ**

*Демиденко Анна Валерьевна*

*канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры пропедевтики внутренней медицины № 1, основ биоэтики и биобезопасности Харьковского национального медицинского университета, Украина, г. Харьков*

*E-mail: [annademid@rambler.ru](mailto:annademid@rambler.ru)*

## **APELIN AS A MARKER OF AN INSULIN RESISTANCE IN PATIENTS WITH ESSENTIAL HYPERTENSION**

*Ganna Demydenko*

*MD, PhD, associate professor of propedeutics to internal medicine department №1, basis of bioethics and biosafety of Kharkiv National Medical University, Kharkiv*

### **АННОТАЦИЯ**

Целью исследования был анализ уровня апелина в крови больных ГБ с инсулинорезистентностью. Обследовано 94 пациента с ГБ. Использовались общеклинические, лабораторные методы исследования. Наличие инсулинорезистентности установлено в 54,5 % случаев, что сопровождалось большей экспрессией пептида апелина, высоким риском развития СД 2 типа, выраженными изменениями липидограммы с более высоким индексом атерогенности. Возможно использовать активность пептида в качестве маркера инсулинорезистентности у больных с гипертонической болезнью.

### **ABSTRACT**

Aim of investigation was to estimate a serum level of apelin in patients with essential hypertension and insulin resistance. 94 patients were examined. Clinical and laboratory methods were used. Insulin resistance was estimated in 54,5 %. It was accompanied by overexpression of apelin, increased risk of type 2 diabetes development, pronounced changes in lipids and high atherogenic index. It's possible to use apelin activity as a marker of insulin resistance in patients with essential hypertension.

**Ключевые слова:** апелин; гипертоническая болезнь; инсулинорезистентность; сахарный диабет 2 типа.

**Key words:** apelin; essential hypertension; insulin resistance; type 2 diabetes.

Гипертоническая болезнь остается одной из актуальнейших проблем современной кардиологии. По данным статистики, в Украине около 56 % населения имеют заболевания системы кровообращения. Наиболее распространенной является ГБ: 11,9 млн. людей, из которых 5,0 млн. работоспособного возраста [1, 96; 2, 32].

В развитии и прогрессировании ГБ большая роль отводится нарушениям углеводного обмена. Известно, что инсулинорезистентность (ИР) при ГБ формируется в результате дефектов рецепторов к инсулину, нарушения транспорта глюкозы на пострецепторном уровне и изменениях внутриклеточного метаболизма глюкозы. ИР развивается в скелетных мышцах, жировой ткани и печени. Снижение чувствительности периферических тканей к инсулину вызывает гипергликемия, в ответ на это увеличивается секреция инсулина  $\beta$ -клетками поджелудочной железы, формируется гиперинсулинемия (ГИ). ГИ способствует ускорению реабсорбции катиона натрия. Так же инсулин влияет на активность Na, K-АТФазы, Ca, Mg-АТФазы. Следствием ИР может быть увеличение уровня внутриклеточного натрия и калия. В результате накопления этих катионов, усиливается чувствительность сосудистой стенки к прессорным эффектам норадреналина и АГ II. Кроме того, активация симпатической нервной системы приводит к увеличению сердечного выброса и констрикции периферических кровеносных сосудов [6, с. 347].

Инсулинорезистентность (ИР) рассматривается как предиктор развития таких патологических состояний и заболеваний, как ожирение, СД 2 типа, атеросклероз [9, с. 460]. ИР является независимым фактором риска сосудистых катастроф, и дополнительным фактором, ухудшающим течение и прогноз ГБ. Продолжаются интенсивные исследования механизма развития ИР и возможностей коррекции при ГБ.

Внимание ученых привлек относительно недавно открытый пептид, апелин, сходный построению с лигандом ангиотензина II 1 типа.

Апелин и G-белковый рецептор (APLNR) были открыты в 1993 году O'Dowd и коллегами в процессе поиска рецепторов к вазопрессину.

APLNR, вначале названный APJ, является 377 аминокислотным 7 трансмембранным доменом G-протеинового рецептора, ген которого локализуется в 11 хромосоме. APLNR человека гомологичен с таковым крыс на 74 %.

Физиологическая и патофизиологическая роль данного пептида все еще не изучена и неоднозначна. Одним из важных прогностических эффектов апелина является влияние на углеводный метаболизм, т. к. идентификация апелина как адипокина привела к выводу про связь апелина с инсулиновым сигнальным путем.

Связь апелина с глюкометаболическими нарушениями подтверждена в лабораторных условиях несколькими группами исследователей [7, с. 1592].

Boucher et al. продемонстрировали, что инсулин непосредственно вовлечен в механизм регуляции синтеза апелина на модели мышей *in vivo* и *in vitro*. Но статистически значимой взаимосвязи адипоцитарной экспрессии транскрипции гена апелина и глюкозы не выявлено [4, с. 1769].

Остается ряд спорных вопросов относительно взаимосвязи апелина с показателями углеводного, липидного обменов, метаболическими нарушениями при ГБ.

**Цель исследования:** анализ уровня апелина в крови больных ГБ в зависимости от наличия инсулинорезистентности.

**Материал и методы.** Обследовано 94 пациента с ГБ. Средний возраст обследованных больных ГБ составил  $58,16 \pm 0,66$  лет; мужчин —  $n=42$ ,  $59,57 \pm 1,16$  лет; женщин —  $n=52$ ,  $60,64 \pm 1,53$  лет. которые проходили обследование в Харьковском городском центре диагностики и лечения артериальной гипертензии на базе терапевтического отделения городской клинической больницы № 11 г. Харькова.

Верификацию диагноза, определение степени, стадии ГБ проводили на основании клиничко-anamnestического и лабораторно-инструментального

исследований согласно критериям Украинского общества кардиологов и рекомендаций Европейского общества гипертензии/кардиологов (ESH/ESH, 2009) [10, с. 1231].

Оценка суммарного 10-летнего риска развития сахарного диабета 2 типа проводилась с использованием опроса по анкете FINDRISK.

В исследование не включали пациентов с вторичной АГ, сопутствующей аутоиммунной, эндокринологической патологией, с хроническими заболеваниями печени и почек, выраженными нарушениями сердечного ритма и проводимости, острого коронарного синдрома, хронической сердечной недостаточности III ст.

Кровь для биохимического и иммуноферментного анализа набирали из локтевой вены утром натощак после 12-часового голодания. Для контроля углеводного обмена в сыворотке крови определяли уровень глюкозы глюкозооксидазным методом, реакцию оценивали по степени окрашивания жидкости хинолином, интенсивность которого пропорциональна количеству перекиси водорода, образованному при окислении глюкозы.

Имуноферментным методом с использованием набора реактивов DRG® Инсулин (DRG Instruments GmbH, Германия, Марбург) определяли уровень инсулина натощак и через 120 мин. после стандартной пероральной нагрузки глюкозой (75 г.).

Плазматический уровень инсулина натощак, превышающий 12,2 мкЕд/мл рассматривался как критерий ИР.

Также для оценки ИР использовалась гомеостатическая модель, или индекс НОМА (Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance): концентрация инсулина (мкЕД/мл)  $\times$  глюкоза натощак (ммоль/л) / 22,5. ИР устанавливали при значении НОМА  $>2,77$ .

Индекс Caro как отношение уровня глюкозы к инсулину натощак.

Липидный спектр крови определяли по концентрации общего холестерина (ХС), триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП) ферментативным методом.

Уровень холестерина низкой плотности (ХС ЛПНП рассчитывали по формуле) W.T. Friedewald:

$$\text{ХС ЛПНП} = \text{ОХС} - (\text{ХС ЛПВП} + \text{ТГ} / 2,22) \quad 1,$$

где: ТГ / 2,22 — уровень холестерина в составе липопротеидов очень низкой плотности (ХС ЛПОНП) [8, с. 238].

Коэффициент атерогенности (КА) рассчитывали по формуле А.М. Климова:

$$\text{КА} = (\text{ОХС} - \text{ХС ЛПВП}) / \text{ХС ЛПВП} \quad 2,$$

где: ОХС — общий холестерин;

ХС ЛПВП — холестерин липопротеидов высокой плотности.

Уровень апелина определялся в сыворотке крови иммуноферментным методом ELISA с использованием набора реактивов “Phoenix”, USA.

Статистическую обработку данных проводили методами параметрической и непараметрической статистики. В выборках с непараметрическим распределением данных результаты представлены в виде Me (Q<sub>25</sub>-Q<sub>75</sub>), где Me — медиана (50-й процентиль), Q<sub>25</sub> та Q<sub>75</sub> — 25-й и 75-й процентиля соответственно (верхний и нижний квартили). Для сравнения результатов использовали критерий Вилкоксона, критерий Колмогорова-Смирнова и Манна-Уитни, медианный тест. Для оценки взаимосвязей показателей использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Нулевую гипотезу отбрасывали при уровне достоверности (p<0,05).

### **Результаты исследования и обсуждение.**

У 57 пациентов с ГБ выявлена ГИ (60,0 % случаев), что подтверждает факт о высокой степени распространенности гиперинсулинемии у лиц с сердечно-сосудистой патологией.

Больные ГБ были разделены на 2 группы в зависимости от уровня инсулина натощак.

1-я группа 57 больных ГБ с уровнем инсулина натощак более 12,2 мкЕд/мл, возраст 58,0 (51,5;65,0) лет, из которых 21 мужчин, 36 женщин.

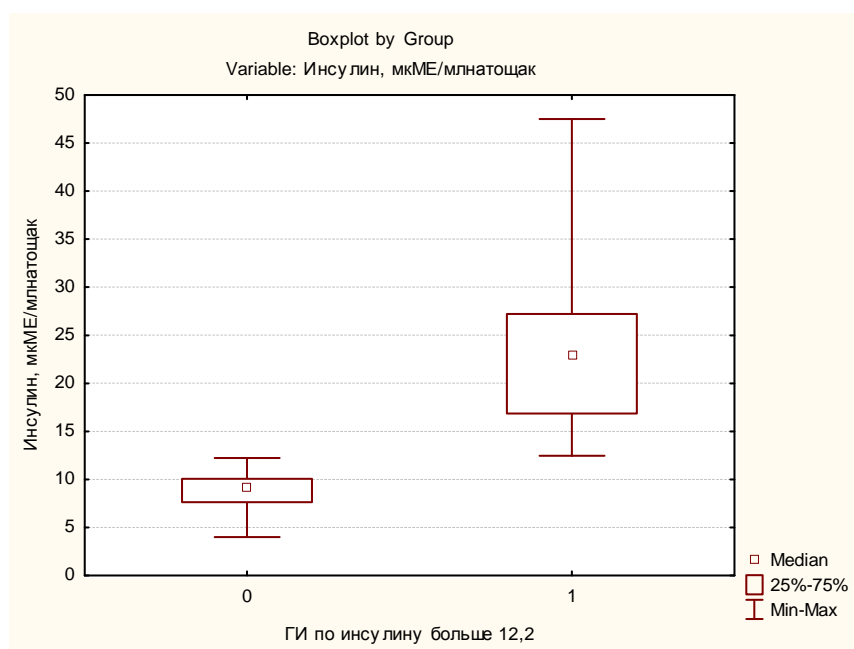
2-я группа: 37 больных ГБ с уровнем инсулина натощак менее 12,2 мкЕд/мл, возраст 59,5 (49,0;63,0) лет, из которых 19 мужчин и 18 женщин.

Пациенты в группах достоверно не отличались по возрасту, сопоставимы по полу. Следует отметить, что большинство больных работоспособного возраста, что подчеркивает социальную важность данной проблемы.

При графическом отображении уровня инсулина натощак у больных с ГБ (рис. 1), обращает внимание разброс данных в группе с показателями инсулина более 12,2 мкМЕд/мл, что может быть связано с длительностью заболевания, степенью выраженности сопутствующих глюко-метаболических нарушений. Во 2-й группе уровень инсулина достоверно коррелировал с весом ( $r=0,30$ ;  $<0,05$ ), ИМТ ( $r=0,38$ ;  $<0,05$ ), ОТ( $r=0,29$ ;  $<0,05$ ), ОБ( $r=0,29$ ;  $<0,05$ ), что согласуется с данными литературы о прогностической роли инсулина в развитии ожирения.

Анамнестические данные, показатели периферической гемодинамики, лабораторного обследования представлены в таблице 1.

У больных 1-й группы зафиксирован более длительный анамнез ГБ, что может свидетельствовать о постепенном развитии синдрома ИР по мере прогрессирования ГБ. Анализируя показатели периферической гемодинамики, выявлено достоверно более высокие показатели САД в группе больных с ИР.



**Рисунок 1. показатели инсулина натощак в группах: 0 — больные с ГБ без ИР; 1 — пациенты с ГБ и ИР**

**Таблица 1.**

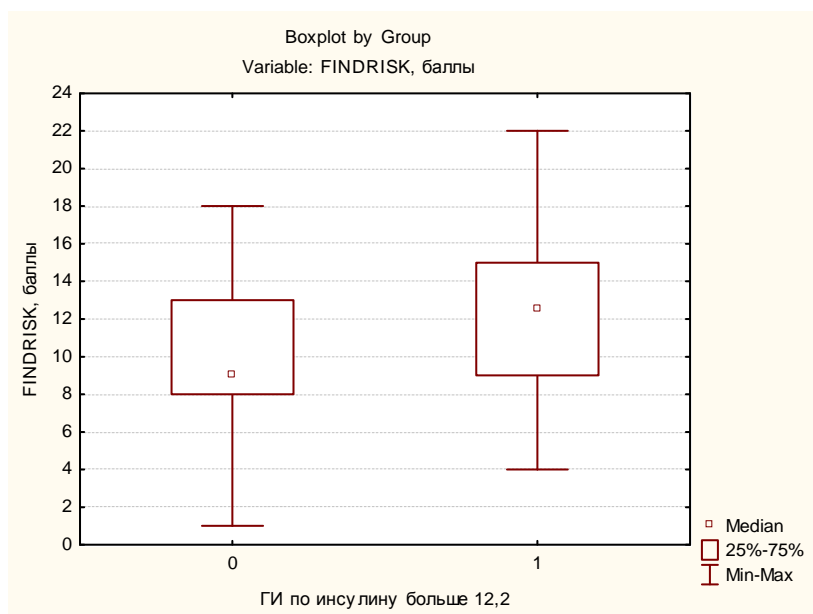
**Сравнительная характеристика анамнестических данных, показателей периферической гемодинамики, антропометрии у больных ГБ в зависимости от наличия инсулинорезистентности**

Показатели	1-я группа Пациенты с ГБ и ИР	2-я группа Пациенты с ГБ без ИР	p (Kruskal-Wallis ANOVA)
Возраст, годы	51,5 (58; 65)	59 (49; 63)	>0,05
Длительность ГБ, годы	9 (7; 15)	7 (5; 10)	>0,05
САД, мм.рт.ст.	170(159; 180)	160 (155; 177)	<0,05
ДАД, мм.рт.ст.	100 (90; 100)	100 (90; 100)	>0,05
Пульс	88(72; 80)	76 (75; 86)	>0,05
FINDRISK, баллы	12,5 (9,0; 15,0)	9,0 (8,0; 13,0)	<0,05
Вес, кг	88(76; 94)	80 (68; 88)	<0,05
Рост, м	1,69 (1,62; 1,75)	1,65 (1,60; 1,72)	>0,05
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	32,5 (36,0; 34,5)	29,0 (25,1; 33,3)	<0,05
ОТ, см	102 (90; 112)	94 (83; 105)	<0,05
ОБ, см	107 (100; 120)	103 (96; 112)	>0,05

Анализ антропометрических данных показал достоверное увеличение веса и ИМТ в группе больных с ГБ и ИР. Так же для пациентов с ГБ и ИР был характерен абдоминальный тип распределения ожирения, показатели ОТ

достоверно превышали таковые в группе больных с ГБ без ИР. Как известно, абдоминальное ожирение является независимым фактором риска развития СД 2 типа и предиктором сердечно-сосудистых осложнений.

Результаты опроса по шкале FINDRISK показали, что пациенты с ИР набрали большее количество баллов (рис. 2). Это свидетельствует о достоверно более высоком риске развития СД 2 типа в течение последующих 10 лет у данной категории больных.



**Рисунок 2. Количество баллов по результатам опроса анкеты FINDRISK у больных в зависимости от наличия синдрома инсулинорезистентности**

Достоверные корреляционные взаимосвязи антропометрических показателей и баллов FINDRISK позволяют сделать вывод о прогностической валидности опросника FINDRISK для выявления групп повышенного риска развития СД 2 типа. Так, в группе больных ГБ без ИР выявлена положительная корреляция баллов FINDRISK с возрастом ( $r=0,37$ ;  $<0,05$ ), весом ( $r=0,33$ ;  $<0,05$ ), ИМТ ( $r=0,51$ ;  $<0,05$ ), ОТ ( $r=0,55$ ;  $<0,05$ ), ОБ ( $r=0,48$ ;  $<0,05$ ). У пациентов с ГБ и ИР выявлены прямые взаимосвязи баллов FINDRISK с возрастом ( $r=0,35$ ;  $<0,05$ ); - весом ( $r=0,41$ ;  $<0,05$ ); — ИМТ ( $r=0,49$ ;  $<0,05$ ); — ОТ ( $r=0,39$ ;  $<0,05$ ); — ОБ ( $r=0,50$ ;  $<0,05$ ). Учитывая корреляционные взаимосвязи баллов FINDRISK с



антропометрическими показателями, можно сделать вывод о патогенетической роли ожирения в развитии СД 2 типа.

Анализ данных лабораторного обследования показал выраженные глюко-метаболические изменения у больных с ГБ. Детальный анализ показателей углеводного и липидного обменов у больных ГБ в зависимости от наличия ИР представлены в таблице 2.

**Таблица 2.**

**Параметры углеводного, липидного обменов, уровень апелина, показатели ИР у больных с ГБ в зависимости от наличия ИР**

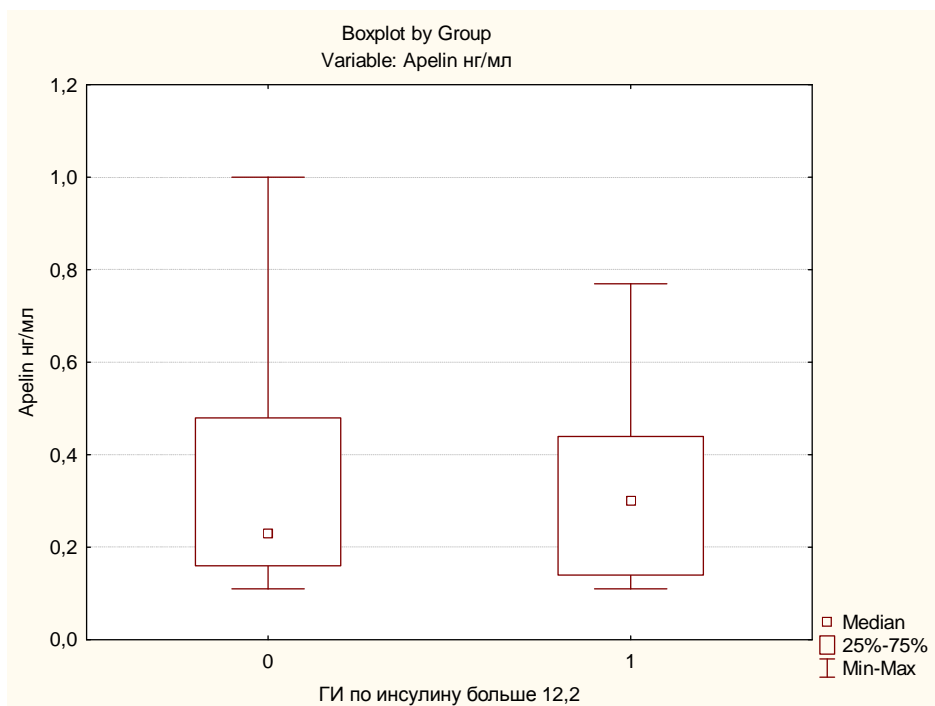
Показатели	1-я группа Пациенты с ГБ и ИР	2-я группа Пациенты с ГБ без ИР	p (Kruskal-Wallis ANOVA)
Глюкоза натощак, ммоль/л	5,41 (5,00; 6,09)	4,74 (4,11; 5,11)	<0,05
Глюкоза после ОГТТ, ммоль/л	6,48 (6,00; 7,02)	5,80 (5,72; 6,82)	<0,05
НbAc1, %	5,99 (4,80; 7,20)	5,0 (4,11; 6,62)	<0,05
Инсулин, натощак мкЕд/мл	22,93 (16,86; 27,20)	9,23 (7,64; 10,05)	<0,001
Инсулин, после ОГТТ мкЕд/мл	58,42 (43,18; 67,84)	45,53 (26,22; 66,11)	<0,001
НОМА	5,87 (3,52; 7,99)	1,75 (1,37; 2,10)	<0,001
Индекс Саго	0,24 (0,20; 0,31)	0,48 (0,42; 0,56)	<0,001
Апелин, нг/мл	0,32 (0,14; 0,44)	0,23 (0,16; 0,43)	<0,05
ХС, ммоль/л	5,72(4,82; 6,34)	5,37 (4,41; 6,1)	>0,05
ТГ, ммоль/л	2,66 (2,27; 3,00)	2,48 (2,19; 2,86)	>0,05
ХС ЛПВП, моль/л	0,90 (0,75;1,20)	0,98 (0,80; 1,28)	<0,05
ХС ЛПНП, моль/л	3,68 (2,99; 4,46)	3,26 (2,30; 3,26)	>0,05
ХС ЛПОНП, моль/л	1,21 (1,03; 1,36)	1,13 (0,94; 1,30)	>0,05
КА	5,14 (4,22; 6,37)	4,36 (3,55; 5,35)	<0,001

Показатели глюкозы, инсулина натощак и после проведения ОГТТ у больных ГБ с ИР достоверно превышали таковые у пациентов с ГБ без ИР. Индексы ИР достоверно отличались между группами. Так же выявлена дислипидемия у всех больных с ГБ, но при сравнении параметров липидного

обмена между группами в зависимости от наличия ИР, установлено достоверно более выраженные изменения липидограммы с более высоким индексом атерогенности у лиц с ГБ и сопутствующей ИР.

Корреляционный анализ в группах показал как прямую, так и обратную взаимосвязь параметров липидного и углеводного обмена. Так, в группе больных с ГБ без ИР прослеживается достоверная взаимосвязь индексов ИР с параметрами липидограммы: НОМА — ХСЛПНП ( $r=0,35$ ,  $<0,05$ ); Caro — ТГ ( $r = -0,40$ ;  $<0,05$ ). В группе лиц с ГБ и ИР уровень гликозилированного гемоглобина коррелировал с антропометрическими показателями: — ИМТ ( $r=0,52$ ;  $<0,05$ ); - ОТ ( $r=0,37$ ;  $<0,05$ ); - ОБ ( $r=0,30$ ;  $<0,05$ ).

Исследование активности апелина показало достоверное увеличение уровня пептида у больных ГБ в сравнении с группой контроля (0,24 (0,15; 0,46) против 0,13(0,12; 0,17)  $p<0,001$ ).



**Рисунок 3. Активность апелина у больных ГБ в зависимости от наличия синдрома ИР**

Анализ уровня апелина в группах ГБ в зависимости от наличия синдрома ИР показал более высокий уровень пептида у лиц с ИР (рис. 3). Данный

феномен связан непосредственно с уровнем инсулина в крови, что подтверждает непосредственное влияние апелина сигнальный путь инсулина. Выявлены корреляционные связи апелина с индексом ИР Caro ( $r = -0,38; <0,05$ ) и уровнем инсулина натощак ( $r = 0,49; <0,05$ ). Установлено, что инсулин контролирует в адипоцитах экспрессию генов, отвечающих за синтез апелина. Выявлено достоверную позитивную корреляцию адипоцитарной экспрессии транскрипции гена апелина и уровня инсулина у грызунов [4, с. 1766]. Группой ученых установлено, что корреляция апелина с ИР обусловлена гиперинсулинемией [11, с. 227].

В группе больных ГБ без ИР установлена корреляционная взаимосвязь уровня апелина с  $Hb_{A1c}$  ( $r=0,52 <0,05$ ). В эксперименте показано, что апелин способствует усвоению глюкозы мышечными клетками, культивированными скелетными мышцами и жировыми клетками [3, с. 25]. Введение апелина мышам привело к улучшению чувствительности к глюкозе на основании проведенного ОГТТ [5, с. 440].

Таким образом, на основании полученных данных и анализа литературных источников, возможно сдлать вывод о том, что апелин непосредственно вовлечен в регуляцию углеводного обмена у больных с ГБ, обладает способностями улучшать чувствительность к инсулину и глюкозе. Экспрессия апелина, наблюдающаяся при инсулинорезистентности имеет компенсаторный характер.

#### **Выводы:**

1. Выявлено повышение уровня апелина у больных гипертонической болезнью в сравнении с группой контроля.

2. Наличие инсулинорезистентности у больных с гипертонической болезнью установлено в 54,5 % случаев, что сопровождалось большей экспрессией пептида апелина.

3. Достоверные корреляции апелина с параметрами углеводного обмена позволяют использовать активность пептида в качестве маркера инсулинорезистентности у больных с гипертонической болезнью.

4. Наличие инсулинорезистентности у больных с гипертонической болезнью повышает риск развития сахарного диабета 2 типа.

### **Список литературы:**

1. Артеріальна гіпертензія. Оновлена та адаптована клінічна настанова, заснована на доказах (2012 рік) / Робоча група з артеріальної гіпертензії Української асоціації кардіологів // Артеріальна гіпертензія. — 2012. — № 1(21). — С. 96—152.
2. 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.
3. Attane C. Apelin stimulates glucose uptake but not lipolysis in human adipose tissue *ex vivo* / C. Attane, D. Daviaud, C. Dray et al. // *J. Mol. Endocrinol.* — 2011. — № 46(1). — P. 21—28.
4. Boucher J.A Newly Identified Adipokine Up-Regulated by Insulin and Obesity // J. Boucher, B. Masri, D. le Daviaud, S. Gesta, C. Guigne', A. Mazzucotelli, I. Castan-Laurell, I. Tack, B. Knibiehler, C. Carpe'ne', Y. Audigier, J. Saulnier-Blache, P. Valet Apelin. *Endocrinology.* — 2005. — № 146(4). — P. 1764—1771.
5. Dray C. Apelin stimulates glucose utilization in normal and obese insulin-resistant mice / C. Dray, C. Knauf, D. Daviaud [et al.] // *Cell. Metab.* — 2008. — № 8(5). — P. 437—445.
6. Ferrannini E. Insulin and Blood Pressure: Connected on a Circumference? / E. Ferrannini // *Hypertension.* — 2005. — Vol. 45. — P. 347—348.
7. Glassford A.J. HIF-1 regulates hypoxia- and insulin-induced expression of apelin in adipocytes / A.J. Glassford, P. Yue, A.Y. Sheikh [et al.] // *Am.J. Physiol. Endocrinol. Metab.* — 2007. — № 293(6). — P. 1590—1596.
8. Gotto A.M. Contemporary diagnosis and treatment of lipid disorders / A.M. Gotto. Pennsylvania : Handbooks in Health Care Co., 2001. — 238 p.

9. Henry P. Impaired fasting glucose, blood pressure and cardiovascular disease mortality / P. Henry, F. Thomas, A. Benetos [et al.] // *Hypertension*. — 2002. — Vol. 40. — P. 458—463.
10. Mancia G. Reappraisal of European guidelines on hypertension management: a European Society of Hypertension Task Force document / G. Mancia, S. Laurent, E. Agabiti-Rosei [et al.] // *J. Hypertension*. — 2009. — Vol. 27. — P. 2121—2158.
11. Xu S. Apelin and insulin resistance: another arrow for the quiver? / S. Xu, P.S. Tsao, Yue P. // *J. Diabetes*. — 2011. — № 3(3). — P. 225—231.