

# Вміст ендотеліального моноцитаактивуєчого пептиду II в сироватці крові при цукровому діабеті 1-го типу

Л.А. Могильницька, О.Є. Могильницька

Хмельницька обласна лікарня; e-mail: mogylnytska@mail.ua

*Досліджували вміст ендотеліального моноцитаактивуєчого пептиду II (EMAP-II) в сироватці крові при цукровому діабеті (ЦД) 1-го типу, ендотелійзалежну дилатацію, встановлювали можливий зв'язок між цими показниками у обстежених осіб. Виявлено підвищення вмісту EMAP-II в сироватці крові та ослаблення ендотелійзалежної дилатації. Вміст пептиду прямо корелював зі вмістом глікозильованого гемоглобіну, глюкози крові, загального холестерину, ліпопротеїдів низької щільності, тригліцеридів та зворотно – зі вмістом ліпопротеїдів високої щільності та ендотелійзалежною дилатацією. Підвищення вмісту EMAP-II може бути одним з проявів ендотеліальної дисфункції при ЦД 1-го типу, а порушення вуглеводного та ліпідного обміну – впливати на розвиток виявлених зрушень.*

*Ключові слова: ендотеліальний моноцитаактивуєчий пептид II; цукровий діабет 1-го типу; ендотеліальна дисфункція.*

## ВСТУП

Численні дослідження вказують на підвищення рівня серцево-судинних захворювань при цукровому діабеті (ЦД) 1-го типу [1]. Відомо, що такі три основні дефекти, як ендотеліальна дисфункція, зміни в продукції/вивільненні гормонів і порушення метаболізму в клітинах гладенької мускулатури є основними у розвитку ушкоджень дрібних артерій і капілярів (мікроангіопатій) внаслідок гіперглікемії, а також сприяють атерогенезу при ЦД [2, 3].

Ендотеліальна дисфункція – ранній та важливий крок у розвитку діабетичних ангіопатій [4]. Вона відіграє важливу роль у розвитку атеросклеротичного процесу. Функціональний стан ендотелію характеризується, з одного боку, ендотелійзалежною дилатацією, а з іншого, – вмістом ендотеліальних вазоактивних факторів у сироватці крові.

Виявлено зворотний зв'язок між ендотелійзалежною дилатацією, систолічною,

діастолічною дисфункцією міокарда та тривалістю ЦД [5]. Показано також ослаблення ендотелійзалежної дилатації та збільшення товщини інтима-медіа каротидних артерій у дітей, хворих на ЦД 1-го типу порівняно зі здоровими однолітками та взаємозв'язок цих показників. Інші дослідження виявили ослаблення ендотелійзалежної дилатації хворих, що корелювало з показниками глікемічного контролю [6, 7].

Ендотеліальний моноцитаактивуєчий пептид II (EMAP-II) – це мультифункціональний поліпептид з прозапальною та антиангіогенною активністю. Він викликає прокоагулянтні зміни на поверхні ендотеліальних клітин, посилює експресію E-, P-селектину та туморнекротичного фактора  $\alpha$ , впливає на міграцію моноцитів та нейтрофілів, індукує апоптоз в ендотеліальних клітинах [8]. EMAP-II бере участь у процесі реваскуляризації та відновлення ушкодженої тканини при інфаркті міокарда [9]. В інших дослідженнях

показано, що його блокада моноклональними антитілами індукє ангіогенез та покращує відновлення серцевої функції після інфаркту міокарда через зменшення фіброзу серцевого м'язу та розмірів рубця, збільшує кількість капілярів та запобігає накопиченню моноцитів у вогнищі захворювання [10].

Вважають, що вазодилатація, яка відбувається під час ЕМАР-II-індукованого запалення, пов'язана з оксидом азоту. Це було продемонстровано на легеневих артеріях. Пептид викликає дилатацію легеневої артерії. ЕМАР-II-опосередкована вазодилатація – ендотелійзалежна, пов'язана з активацією експресії індубібельної NO-синтази мРНК в легеневій артерії. При блокаді оксиду азоту L-NAME – інгібітором NO-синтази, ЕМАР-II-індукована вазодилатація ослаблювалася [11]. Проте його роль у розвитку ендотеліальної дисфункції при ЦД 1-го типу невідома.

Метою нашого дослідження було визначити вміст ЕМАР-II в сироватці крові хворих на ЦД 1-го типу, вивчити ендотелійзалежну дилатацію, а також встановити можливий зв'язок між цими показниками.

## МЕТОДИКА

Обстежено 58 осіб, з них 30 хворих на ЦД 1-го типу, 28 контрольних осіб. Групи були відповідні за статтю та віком.

Серед хворих на ЦД 1-го типу було 17 жінок (59%) та 13 чоловіків (41%). Середня тривалість захворювання становила  $11,08 \pm 0,8$

років. В групу були включені пацієнти з такими вираженими мікросудинними ускладненнями, як нефро- та ретинопатія. Під час обстеження очного дна хворих у 20 (66,6%) з них виявлено проліферативну, у 5 (16,6%) – препроліферативну ретинопатію, у 5 (16,6%) – діабетичну ангіопатію сітківки за Kohner та Porta [12] У 27 (90%) хворих виявлена діабетична нефропатія IV (протеїнурична стадія). У 3 (10%) хворих – нефропатія III (мікроальбумінурія) [13]. Отже, у більшості пацієнтів незважаючи на молодий вік, були виражені ускладнення, а саме нефро- та ретинопатія III-IV стадії.

Усі хворі отримували інсулін у добовій дозі до 50 од. Артеріальна гіпертензія спостерігалась у 23 (76,6%) пацієнтів, які на момент обстеження знаходились у стані декомпенсації, ніхто з них не дотримувався гіполіпідемічної дієти.

Не обстежували осіб, які приймали препарати, що потенційно здатні впливати на функціональний стан ендотелію, а саме: гіполіпідемічні засоби, інгібітори ангіотензинперетворювального ферменту, блокатори рецепторів до ангіотензину-II, блокатори кальцієвих каналів, нітрати, гормональні контрацептивні засоби та препарати замісної гормональної терапії. Рівень глікемії визначали натще безпосередньо в тих зразках венозної крові, що використовували для подальших досліджень.

Вміст ЕМАР-II досліджували імуноферментним методом із використанням сорбцій-

### Клініко-лабораторна характеристика обстежених осіб.

Показник	Контроль (n=28)	Хворі на ЦД 1-го типу (n=30)
Вік, років	19,96±2,06	20,3±2,07
Індекс маси тіла, кг/м <sup>2</sup>	20,48±2,18	20,37±2,19
Глікозильований гемоглобін, %	5,33±0,45	10,32±1,59*
Глюкоза крові натще, ммоль/л	4,6±0,57	10,76±2,36*
Загальний холестерин, ммоль/л	4,14±0,51	5,34±0,92*
Тригліцериди, ммоль/л	1,46±0,29	2,53±0,57*
Ліпопротеїди високої щільності, ммоль/л	1,34±0,23	1,03±0,2*
Ліпопротеїди низької щільності, ммоль/л	2,63±0,4	3,32±1,01*

\* P<0,05

них колонок “Ampret” (“Amersham Lifesience”) та тест-систем “Amersham pharmacia biotech” (Велика Британія) на площковому ELISA-аналізаторі «Stat Fax-303 Plus» (США).

Ендотелійзалежну дилатацію вимірювали за стандартною технологією [14, 15]. Діаметр плечової артерії – за допомогою ультразвуку двічі: базальний та протягом реактивної гіперемії, базальний діаметр – після 10 хв спокою. Далі манжету тонометра накладали на передпліччя та нагнітали повітря до тиску 250 мм рт. ст. та утримували протягом 5 хв. Після цього повітря випускали та повторно вимірювали діаметр плечової артерії протягом 1-ї хвилини. Таким чином, виникала реактивна гіперемія та ендотелійзалежна дилатація.

Результати представлені як середнє ± стандартне відхилення. Їх статистичну обробку проводили методами варіаційної та описової статистики за допомогою стандартного пакета статистичного розрахунку даних програми Microsoft Excel. Вірогідність відмінностей середніх значень визначали за критерієм t Стьюдента. Відмінність вважали вірогідною при  $P < 0,05$ . Кореляційний аналіз розраховували, використовуючи коефіцієнт Пірсона.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

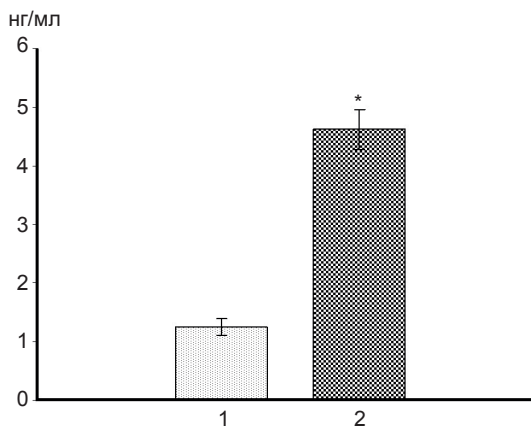
Виявлено, що вміст ЕМАР-II в сироватці крові хворих становив  $4,62 \pm 1,91$  нг/мл, у контролі –  $1,25 \pm 0,76$  нг/мл (рисунок 1).

Показано підвищення вмісту ЕМАР-II у сироватці крові хворих порівняно з контрольною групою у 3,69 раза ( $P < 0,05$ ). Це може вказувати на те, що така патологія супроводжується підвищенням вмісту ЕМАР-II, а також на роль гіперглікемії в розвитку згаданих зрушень. Наше припущення підтверджує виявлений статистично вірогідний прямий кореляційний зв'язок вмісту ЕМАР-II, глікозильованого гемоглобіну та глюкози в сироватці крові:

Показник	Коефіцієнт кореляції
Глікозильований гемоглобін	0,8
Глюкоза крові	0,66
Загальний холестерин	0,52
Тригліцериди	0,74
Ліпопротеїди низької щільності	0,61
Ліпопротеїди високої щільності	-0,58
Ендотелійзалежна дилатація	-0,54

Зміна концентрації циркулюючих ендотеліальних продуктів може вказувати на ендотеліальну активацію та дисфункцію на доклінічній стадії [16]. ЕМАР-II викликає активацію туморнекротичного фактора- $\alpha$ , інтерлейкіну-1  $\beta$ , інтерлейкіну-8, запальних білків макрофагів, а також ендотеліальних клітин з посиленням синтезу Е-селектину, ICAM, VCAM, тканинного фактора [17].

Оскільки у обстежених був порушений ліпідний обмін, то потрібно було з'ясувати вплив дисліпідемії на підвищення вмісту ЕМАР-II. Встановлено статистично вірогідний прямий кореляційний зв'язок між вмістом тригліцеридів, загального холестерину, ліпопротеїдів низької щільності та ЕМАР-II та зворотний кореляційний зв'язок між вмістом ЕМАР-II та ліпопротеїдами високої щільності (див. вивід). Ці результати свідчать про взаємозв'язок дисліпідемії та вмісту ЕМАР-II, адже порушення ліпідного



Вміст ЕМАР-II у сироватці крові хворих на ЦД 1-го типу: 1-контроль, 2-цукровий діабет 1-го типу

\* $P < 0,05$  порівняно з контролем

обміну відіграє важливу роль у ініціюванні та прогресуванні атеросклерозу, а також розвитку ендотеліальної дисфункції [18].

Ендотелійзалежна дилатація становила  $3,011 \pm 1,9$  % у хворих та  $8,4 \pm 4,08$  % у контрольній групі. Показано її ослаблення у 2,79 раза порівняно з контролем. Базовий діастолічний діаметр плечової артерії не відрізнявся від контрольної групи ( $P > 0,05$ ). Спостерігався прямий кореляційний зв'язок між ендотелійзалежною дилатацією та вмістом ЕМАР-II у сироватці крові хворих на ЦД (див. вивід).

ЕМАР-II має потужний вплив на ендотеліальні клітини, викликає їх апоптоз, пригнічує проліферацію, васкуляризацію та неоангіогенез, що може сприяти порушенню функціонального стану ендотелію [19]. Тому підвищення вмісту ЕМАР-II та кореляційний зв'язок з ендотелійзалежною дилатацією у хворих може бути проявом ендотеліальної дисфункції та активації при вказаній патології.

Таким чином, при ЦД 1-го типу підвищується вміст ЕМАР-II в сироватці крові, що пов'язане з гіперглікемією та дисліпідемією. Порушення ендотелійзалежної дилатації пов'язане з підвищенням вмісту ЕМАР-II в сироватці крові. Зміна концентрації цитокіну може бути одним з проявів ендотеліальної дисфункції при ЦД 1-го типу.

**Л.А.Могильницькая, О.Е.Могильницькая**

### **СОДЕРЖАНИЕ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО МОНОЦИТАКТИВИРУЮЩЕГО ПЕПТИДА-II В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 1-ГО ТИПА**

Определяли содержание эндотелиального моноцитактивирующего пептида II (EMAP-II) в сыворотке крови при сахарном диабете (СД) 1-го типа, исследовали эндотелий-зависимую дилатацию, а также устанавливали возможную связь между этими показателями у обследованных лиц. Выявлено повышение содержания ЕМАР-II в сыворотке крови и ослабление эндотелийзависимой дилатации при СД 1-го типа. Содержание ЕМАР-II прямо коррелировал с содержанием гликозилированного гемоглобина, глюкозы крови, общего холестерина, липопротеидов низкой плотности, триглицеридов и обратно коррелировал с содержанием липопротеидов высокой плотности и эн-

дотелийзависимой дилатацией. Повышение содержания ЕМАР-II может быть одним из проявлений эндотелиальной дисфункции при СД 1-го типа, а нарушение углеводного и липидного обмена – влиять на развитие выявленных нарушений.

Ключевые слова: эндотелиальный моноцитактивирующий пептид II; сахарный диабет; эндотелиальная дисфункция.

**L.A. Mogylnytska, O.E. Mogylnytska**

### **SERUM LEVELS OF ENDOTHELIAL MONOCYTE ACTIVATING PEPTIDE II IN TYPE 1 DIABETES**

Was investigated serum level of endothelial monocyte activating peptide II (EMAP-II) and endothelium-dependent dilatation in type 1 diabetes and possible relation between those. We found an increase serum level of EMAP-II and decrease of endothelium-dependent dilatation in type 1 diabetes. It was significant correlation between EMAP-II and HbA<sub>1c</sub>, blood glucose, total cholesterol, LDL, triglycerides and inverse correlation between EMAP-II and HDL, endothelium-dependent dilatation. The revealed change of EMAP-II serum level reflects an endothelial dysfunction in type 1 diabetes, alteration of carbohydrate and lipid metabolism could influence of this pathway.

Key words: EMAP-II; diabetes; endothelial dysfunction.

*Khmelnitsky regional hospital*

### **REFERENCES**

1. Theilade S, Lajer M, Jorsal A, Tarnow L, Parving H.H., Rossing P. Arterial stiffness and endothelial dysfunction independently and synergistically predict cardiovascular and renal outcome in patients with type 1 diabetes. *Diabet Med.* 2012 Aug;29(8):990-4.
2. Adameova A, Dhalla NS. Role of microangiopathy in diabetic cardiomyopathy. *Heart Fail Rev.* 2014 Jan; 19(1):25-33.
3. Chillarón JJ, Flores Le-Roux JA, Benaiges D, Pedro-Botet J. Type 1 diabetes, metabolic syndrome and cardiovascular risk. *Metabolism.* 2014 Feb;63(2):181-7.
4. Paneni F, Beckman JA, Creager MA, Cosentino F. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part I. *Eur Heart J.* 2013 Aug;34(31):2436-43.
5. Ladeia AM, Sampaio RR, Hita MC, Adan LF. Prognostic value of endothelial dysfunction in type 1 diabetes mellitus. *World J Diabetes.* 2014 Oct 15;5(5):601-5.
6. Hurks R, Eisinger MJ, Goovaerts I, van Gaal L, Vrints C, Weyler J, Hendriks J, van Schil P, Lauwers P. Early endothelial dysfunction in young type 1 diabetics. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2009 May;37(5):611-5.
7. Eltayeb AA, Ahmad FA, Sayed DM, Osama AM. Subclinical vascular endothelial dysfunctions and myocardial changes with type 1 diabetes mellitus

- in children and adolescents. *Pediatr Cardiol.* 2014 Aug;35(6):965-74.
8. Van Horsen R, Eggermont AM, ten Hagen TL. Endothelial monocyte-activating polypeptide-II and its functions in (patho)physiological processes. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2006 Oct;17(5):339-48.
  9. Thompson JL, Ryan JA, Barr ML, Franc B, Starnes VA, Schwarz MA. Potential role for antiangiogenic proteins in the myocardial infarction repair process. *J Surg Res.* 2004 Jan;116(1):156-64.
  10. Yuan C, Yan L, Solanki P, Vatner SF, Vatner DE, Schwarz MA. Blockade of EMAP II protects cardiac function after chronic myocardial infarction by inducing angiogenesis// *J Mol Cell Cardiol.* 2015 Feb;79:224-31.
  11. Tsai BM, Wang M, Clauss M, Sun P, Meldrum DR. Endothelial monocyte-activating polypeptide II causes NOS-dependent pulmonary artery vasodilation: a novel effect for a proinflammatory cytokine. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2004 Oct;287(4):R767-71.
  12. Kohner EM, Porta M. Protocols for screening and treatment of diabetic retinopathy in Europe. *Eur J Ophthalmol.* 1991 Jan-Mar; 1(1):45-54.
  13. Mogensen CE. Diabetes mellitus and the kidney. *Kidney Int.* 1982 May; 21(5):673-5.
  14. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK, Deanfield JE. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk for atherosclerosis *Lancet.* 1992 Nov 7;340(8828):1111-5.
  15. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, Deanfield J, Drexler H, Gerhard-Herman M, Herrington D, Vallance P, Vita J, Vogel R. International Brachial Artery Reactivity Task Force. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery *J Am Coll Cardiol.* 2002 Jan 16;39(2):257-65.
  16. Eltayeb AA, Ahmad FA, Sayed DM, Osama AM. Subclinical vascular endothelial dysfunctions and myocardial changes with type 1 diabetes mellitus in children and adolescents. *Pediatr Cardiol* 2014; 35: 965-974.
  17. Martinet W, De Meyer I, Cools N, Timmerman V, Bult H, Bosmans J, De Meyer GR. Cell death-mediated cleavage of the attraction signal p43 in human atherosclerosis: implications for plaque destabilization. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010 Jul;30(7):1415-22.
  18. Symons JD, Abel ED. Lipotoxicity contributes to endothelial dysfunction: a focus on the contribution from ceramide. *Rev Endocr Metab Disord.* 2013 March; 14(1): 59–68.
  19. Awasthi N, Schwarz MA, Verma V, Cappiello C, Schwarz RE. Endothelial monocyte activating polypeptide II interferes with VEGF-induced proangiogenic signaling. *Lab Invest.* 2009 Jan;89(1):38-46.

*Матеріал надійшов  
до редакції 30.01.2015*