DOI: 10.26693/jmbs05.05.185
УДК 616.37-008.64+616-056.527] 616-092.18
Солов'юк О. А.

ПАТОГЕНЕТИЧНІ ЗМІНИ ЕКСПРЕСІЇ АПОПТОТИЧНОГО МАРКЕРУ КАСПАЗИ-3 У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ ІІ ТИПУ З НАДЛИШКОВОЮ МАСОЮ ТІЛА ТА ОЖИРІННЯМ

ДУ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України», Запоріжжя, Україна

cardiology@mail.ru

Визначення молекулярних механізмів, шляхів генетичного контролю і модулювання апоптотичного процесу необхідно для розуміння патогенезу цукрового діабету 2 типу, особливо у поєднанні із ожирінням та надлишковою масою тіла, що в майбутньому, можливо, створить передумови для пошуку патогенетичного лікування.

Метою дослідження була оцінка стану процесів апоптозу у хворих на цукровий діабет типу 2 в поєднанні з надлишковою масою тіла та ожирінням в залежності від клінічних особливостей хворих.

Було обстежено 98 осіб з цукровим діабетом, першу групу склали 64 особи з надлишковою масою тіла та ожирінням (індекс маси тіла >25). Другу групу склали 34 особи з цукровим діабетом типу 2 та нормальною масою тіла (індекс маси тіла ≤25). В якості контролю була обстежена група з 28 практично здорових осіб, яка була зпівставною з першою та другою групою за статтю та віком.

Наявність у пацієнтів із цукровим діабетом 2 типу надлишкової маси тіла та ожиріння призводить до елевації маркера апоптотичної загибелі клітин організму – каспази-3 на 16,52%. Пацієнти із значеннями глікованого гемоглобіну HbA1c більше 8% демонстрували збільшення значень каспази-3 порівняно із пацієнтами із компенсованим перебігом цукрового діабету, різниця була більш виражена у хворих із надлишковою масою тіла та ожирінням (19,13%, p <0,05). Збільшення тривалості перебігу цукрового діабету 2 типу призводило до активації процесів апоптозу, що проявлялося в елевації досліджуваного маркера апоптозу – каспази-3 як у пацієнтів із ожирінням, так і без нього (p<0,05). Розвиток ускладненого перебігу цукрового діабету 2 типу у пацієнтів із ожирінням призводив до підйому значень каспази-3 на 29,04% (p <0,05) при відсутності значимих змін даного маркеру у хворих на цукровий діабет 2 типу без ожиріння.

Динаміка апоптотичних процесів у хворих на цукровий діабет типу 2 в поєднанні з надлишковою масою тіла та ожирінням в залежності від клінічних особливостей хворих простежується у тісному взаємозв'язку із рівнем маркера апоптозу – каспази групи цистеїнових протеїназ – каспази-3.

Ключові слова: апоптоз, метаболічний синдром, цистеїнові протеази, кардіоваскулярний ризик, компенсація цукрового діабету.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота є фрагментом НДР кафедри терапії, клінічної фармакології та ендокринології ДЗ «ЗМАПО МОЗ України» «Перебіг артеріальної гіпертензії в сполученні з загальними захворюваннями легень та суглобів як прояви коморбідності: традиційні та додаткові фактори ризику кардіоваскулярних подій, механізми розвитку, діагностика і лікування», ВН.Р. 03.23.03-15, № держ. реєстрації 0115U000658.

Вступ. У зв'язку з постійним зростанням захворюваності та поширеності, високим ризиком інвалідизуючих ускладнень і передчасної смерті пацієнтів, цукровий діабет (ЦД) представляє собою важливу соціально-економічну проблему для суспільства в цілому і охорони здоров'я зокрема [1]. У країнах із високим рівнем організації медичної допомоги пацієнтам із ЦД тривалість життя хворих збільшується завдяки впровадженню тактики ведення пацієнтів, що істотно знижує частоту і тяжкість гострих і хронічних ускладнень ЦД.

Більшість хворих на ЦД становлять пацієнти з ЦД типу 2, що пов'язано з різким збільшенням поширеності ожиріння як головного чинника ризику розвитку ЦД типу 2. Одним із найбільш поширених хронічних захворювань у світі є ожиріння. Багато дослідників називають ожиріння «епідемією 21-го століття». Висока поширеність цього захворювання обумовлена урбанізацією, зниженням фізичної активності та широкою доступністю калорійної їжі [2].

Ожиріння є хронічним гетерогенним захворюванням, що тісно пов'язане з низкою генетичних і неврологічних чинників, стилем життя і харчової поведінки, зміною функції ендокринної системи, порушенням енергетичного балансу. При ожирінні відбувається надлишкове накопичення жиру в організмі, як в місцях його фізіологічної локалізації, так і в інших системах органів і тканинах, що супроводжується збільшенням загальної маси жирової тканини. Ожиріння призводить не тільки до косметичних дефектів і погіршення якості життя, а

й до розвитку численних захворювань, високої інвалідизації та зниження загальної тривалості життя хворих [3].

Численні дослідження підтверджують, що при однаковому показнику індекса маси тіла абдомінальне ожиріння супроводжується більш високим ризиком розвитку серцево-судинних захворювань, ЦД типу 2, атеросклерозу, ніж периферичне ожиріння. Вісцеральна жирова тканина інервована більш інтенсивно, має широку мережу капілярів і безпосередньо сполучається з портальної системою. Вісцеральні адипоцити мають високу щільність β-адрено-, кортикостероїдних та андрогенних рецепторів і відносну низьку щільність α2-адренорецепторів та рецепторів до інсуліну. Ці особливості визначають високу чутливість вісцеральної жирової тканини до ліполітичної дії катехоламінів та низьку чутливість до антиліполітичної дії інсуліну [4]. Інтенсивний ліполіз в вісцеральних адипоцитах призводить до виділення великої кількості вільних жирних кислот. У печінці вільні жирні кислоти перешкоджають зв'язуванню інсуліну з гепатоцитами, обумовлюючи розвиток інсулінорезистентності на рівні печінки, зниження екстракції інсуліну печінкою і розвиток системної гіперінсулінемії. У свою чергу, гіперінсулінемія, через порушення ауторегуляції інсулінових рецепторів, посилює периферичну інсулінорезистентність. Вільні жирні кислоти також пригнічують гальмівну дію інсуліну на глюконеогенез, сприяючи збільшенню продукції глюкози печінкою [5], а потрапляючи до кровотоку, також сприяють порушенню поглинання глюкози та її утилізації в м'язовій тканині через цикл Randle і, таким чином, призводять до посилення периферичної інсулінорезистентності.

Апоптоз займає провідне місце в підтримці гомеостазу організму, в збереженні клітинного балансу в фізіологічних умовах. Порушення регуляції апоптозу лежить в основі багатьох захворювань, зокрема – ЦД [6]. Визначення молекулярних механізмів, шляхів генетичного контролю і модулювання апоптотичного процесу необхідно для розуміння патогенезу ЦД 2 типу, особливо у поєднанні із ожирінням та надлишковою масою тіла (НМТ), що в майбутньому, можливо, створить передумови для пошуку патогенетичного лікування. Тригери загибелі клітин можуть впливати на різних стадіях апоптотичного каскаду в залежності від початкового стимулу.

Головні етапи апоптозу пов'язані з функціонуванням каспаз – групи цистеїнових протеїназ, які здійснюють протеоліз білків, що відіграють найважливішу роль в ініціації апоптозу. Активація каспаз – ключовий етап у проміжних і термінальних стадіях програмованої клітинної смерті. Каспази реорганізують цитоскелет, порушують структуру, реплікацію і репарацію ДНК, переривають сплайсинг, розривають ядерні структури і дезінтегрують клітини на апоптотичні тіла. Найважливішою ланкою каскадних апоптотичних процесів є каспаза-3 [7]. Оцінка активності каспази-3 вважається одним із основних методів визначення рівня апоптозу.

Метою дослідження була оцінка стану процесів апоптозу у хворих на цукровий діабет 2 типу (ЦД) в поєднанні із надлишковою масою тіла (НМТ) та ожирінням в залежності від клінічних особливостей хворих.

Матеріал та методи дослідження. Було обстежено 98 осіб з ЦД, які знаходились на стаціонарному лікуванні в КУ «ОК Ендокриндиспансер» ЗОР. Діагноз ЦД був верифікований згідно первинної документації. Серед обстежених першу групу склали 64 особи (34 жінки та 30 чоловіків) з НМТ та ожирінням (індекс маси тіла >25), середнім віком 56,3±10,23 років, тривалість ЦД склала в середньому 7,47±5,07 років (з розбігом від вперше виявленого до 28 років). Другу групу склали 34 особи (19 жінки та 15 чоловіків) з нормальною масою тіла (індекс маси тіла ≤25), середній вік склав 55,6±11,92 років, тривалість ЦД склала в середньому 6,5±5,70 років (з розбігом від вперше виявленого до 22 років). В якості контролю була обстежена група з 28 практично здорових осіб, яка була зпівставною з першою та другою групою за статтю та віком.

Дослідження виконані з дотриманням основних положень «Правил етичних принципів проведення наукових медичних досліджень за участю людини», затверджених Гельсінською декларацією (1964-2013 рр.), ICH GCP (1996 р.), Директиви ЄЕС № 609 (від 24.11.1986 р.), наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р., № 944 від 14.12.2009 р., № 616 від 03.08.2012 р. Всі учасники були інформовані щодо цілей, організації, методів дослідження та підписали інформовану згоду щодо участі у ньому, і вжиті всі заходи для забезпечення анонімності пацієнтів.

Вміст CASPASE-3 в крові ІФА методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням комерційних тест-систем та набору фірми Bender MedSystems GmbH (Австрія) згідно з інструкцією в умовах in vitro. Всі ІФА-методики застосовували з використанням повнопланшетного напівавтоматичного імуноферментного аналізатора «SUNRISE TS» виробництва фірми Tecan (Австрія) в Центральної лабораторії ГУ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України». Підготовку реагентів, плазми крові та стандартів проводили відповідно до інструкції. Потім додавали по 100 мкл стандарту / плазми крові в кожну лунку планшета для ІФА, інкубували 2 години при 37° без струшування. Видаляли рідину з

усіх лунок без промивання. Додавали по 100 мкл біотинових антитіл в кожну лунку, інкубували 1 годину при 37° без струшування. Потім проводили аспірацію і промивали тричі буфером, що входить до складу набору. Потім додавали по 100 мкл HRP-авідину в кожну лунку, інкубували 1 годину при 37°. Знову проводили аспірацію і промивали буфером п'ять разів. Після цього додавали по 90 мкл ТМВ-субстрату в кожну лунку, інкубували 15-30 хв при 37° в місці, захищеному від світла. Потім додавали по 50 мкл стоп-реагенту в кожну лунку і зчитували результати через 5 хвилин при довжині хвилі 450 нм.

Дані представлені у вигляді середнього і стандартної помилки середнього. Для встановлення напрямку та характеру взаємозв'язку використовували кореляційний аналіз між групами незалежних виборок з використанням коефіцієнту кореляції Spearman. Статистичну значимість міжгрупових відмінностей оцінювали, використовуючи метод Mann-Whitney. Статистичний аналіз проводили з використанням програми «Statistica 6.1» (StatSoft Inc., США, серійний №RGXR412D674002FWC7). Для всіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності при рівні значущості менш ніж 0,05.

Результати дослідження та їх обговорення. Експресія апоптотичного маркеру каспази-3 у обстежених осіб в залежності від наявності надлишкової ваги представлена в **таблиці 1**.

Пацієнти із ЦД 2 типу та ожирінням мали найвищій рівень каспази-3 – 19,73±0,28 нг/мл, що на 16,52% більше, ніж у пацієнтів із ЦД 2 типу без надлишкової маси тіла та ожиріння (16,47±0,72 нг/мл). Даний маркер у практично здорових людей контрольної групи становив 11,07±2,51 нг/мл.

Експресія апоптотичного маркеру каспази-3 у обстежених осіб в залежності від ступеня компенсації ЦД 2 типу у хворих різних груп представлено в **таблиці 2.** Значення HbA1c, що перевищує 8%, означає, що діабет контролюється незадовільно і слід змінити терапію.

У першій групі пацієнтів із ЦД 2 типу та НМТ значеннями HbA1c, що перевищує 8%, рівень каспази-3 становив 21,9±1,04 нг/мл, що на 23,66% більше, ніж у пацієнтів цієї ж групи, але із значеннями HbA1c менше 8% (p <0,05). У практично здорових осіб групи контролю значення апоптотичного маркеру каспази-3 було суттєво нижчим: на 97,83% менше порівняно із пацієнтами із HbA1c >8%, та на 59,98% менше порівняно із пацієнтами із HbA1c <8% (p <0,05).

Друга група пацієнтів із ЦД 2 типу та без НМТ і ожиріння мала схожу тенденцію в динаміці значень апоптотичного маркера каспази-3, проте різниця була менш значущою. Пацієнти із значеннями глікованого гемоглобіну більше 8% демонстрували значення каспази-3 на рівні 17,19±0,37 нг/мл, а при значеннях глікованого гемоглобіну менше 8% рівень каспази-3 становив 15,99±1,18 нг/мл, тобто різниця між підгрупами становила 7,50%. Пацієнти контрольної групи, що складається із практично здорових осіб, мали на 55,28 та 44,44% нижчі значення каспази-3 відносно підгруп пацієнтів із декомпенсованим і компенсованим перебігом ЦД 2 типу.

Експресія апоптотичного маркеру каспази-3 у обстежених осіб в залежності від тривалості ЦД 2 типу у хворих різних груп представлена в **таблиці 3.**

Таблиця 1 – Експресія апоптотичного маркеру каспази-3 у обстежених осіб в залежності від наявності надлишкової ваги, M±m (95% довірчий інтервал)

Показник	1 група (n=40)	2 група (n=25)	Контроль (n=11)	% різниця 2 vs 1
	1	2	3	
Каспаза-3, нг/мл	19,73±0,28 (19,17-20,28)*	16,47±0,72 (15,02-17,92)*#	11,07±2,51 (6,05-16,09)	-16,52%

Примітки: * – статистично значні розбіжності при рівні p <0,05 у порівнянні із контролем; # – статистично значні розбіжності при рівні p<0,05 у порівнянні із 1 групою

Таблиця 2 – Експресія апоптотичного маркеру каспази-3 у обстежених осіб в залежності від ступеня компенсації ЦД 2 типу у хворих різних груп, M±m (95% довірчий інтервал)

Показник	HbA1c <8%	HbA1c ≥8%	Контроль	%	%	%
	1	2	3	2 vs 1	1 vs 3	2 vs 3
1 група						
Каспаза-3, нг/мл	17,71±0,29 (17,13-17,29)	21,9±1,04 (19,83-23,97)*	11,07±2,51 (6,05-16,09)	23,66%	59,98%	97,83%
2 група						
Каспаза-3, нг/мл	15,99±1,18 (13,62-18,35)	17,19±0,37 (16,46-17,93)	11,07±2,51 (6,05-16,09)	7,50%	44,44%	55,28%

Примітка: * – статистично значні розбіжності при рівні p <0,05 у порівнянні із 1 групою

Таблиця 3 – Експресія апоптотичного маркеру каспази-3 у обстежених осіб в залежності від тривалості ЦД 2 типу у хворих різних груп, M±m (95% довірчий інтервал)

Показник	До 5 років	Більше 5 років	Контроль	% 2 vs 1	% 1 vs 3	% 2 vs 3
	1	2	3			
1 група						
Каспаза-3, нг/мл	18,35±0,21 (17,94-18,77)	22,49±1,07 (20,34-24,64)*	11,07±2,51 (6,05-16,09)	22,56%	65,76%	103,16%
2 група						
Каспаза-3, нг/мл	12,68±3,07 (6,54-18,83)	18,01±0,62 (16,75-19,25)*	11,07±2,51 (6,05-16,09)	42,03%	14,54%	62,69%

Примітка: * – статистично значні розбіжності при рівні p<0,05 у порівнянні із 1 групою

Збільшення тривалості перебігу ЦД 2 типу призводило до активації процесів апоптозу, що проявлялося в елевації досліджуваного маркера апоптозу – каспази-3. Так, у пацієнтів 1 групи із ЦД 2 типу та НМТ і ожирінням при тривалості ЦД до 5 років значення каспази-3 були на 22,56% менше порівняно із пацієнтами даної групи, що хворіли більше 5 років на ЦД (p <0,05). Здорові особи контрольної групи мали суттєво нижчі значення каспази-3 – на 65,76 та 103,16% менше порівняно із пацієнтами із ЦД 2 типу тривалістю до 5 та більше 5 років.

Пацієнти другої групи із ЦД 2 типу тривалістю до 5 років та без НМТ і ожиріння мали значення каспаза-3 на рівні 12,68±3,07 нг/мл, що на 42,03% менше, ніж у пацієнтів із ЦД 2 типу тривалістю більше 5 років (p <0,05).

У контрольної групи значення даного маркеру апоптотичної загибелі клітин було на 14,54 та 62,69% менше відповідно до підгруп пацієнтів із тривалістю перебігу ЦД 2 типу до та більше 5 років при відсутності у хворих ожиріння.

Експресія апоптотичного маркеру каспази-3 у обстежених осіб в залежності від наявності діабетичних ускладнень у хворих різних груп наочно представлено в **таблиці 4.**

При відсутності клінічних ускладнень у пацієнтів із ЦД 2 типу та ожирінням значення каспази-3 були на 29,04% нижчими, ніж у пацієнтів цієї ж клінічної групи, проте із ускладненнями перебігу ЦД (p<0,05). У практично здорових осіб контрольної групи значення каспази-3 були в два рази нижчими, ніж у пацієнтів із ЦД 2 типу із ускладненим перебігом та НМТ (різниця 104,70%).

Практично відсутня різниця в рівнях апоптотичного маркера каспази-3 у пацієнтів із ЦД 2 типу без НМТ в залежності від наявності чи відсутності ускладнень перебігу ЦД, різниця складала 1,28%, що не являється клінічно і статистично значимим результатом. У здорових осіб значення каспази-3 були на 47,79 та 49,68% меншими відповідно до когорт пацієнтів без ускладнень та з ускладненнями перебігу ЦД без НМТ.

Експресія апоптотичного маркеру каспази-3 у обстежених осіб в залежності від кардіоваскулярного ризику у хворих різних груп представлено в **таблиці 5.**

Дуже високий кардіоваскулярний ризик призводив до незначної елевації значень каспази-3.

Таблиця 4 – Експресія апоптотичного маркеру каспази-3 у обстежених осіб в залежності від наявності діабетичних ускладнень у хворих різних груп, M±m (95% довірчий інтервал)

Показник	Ускладнень немає	Ускладнення присутні	Контроль	% 2 vs 1	% 1 vs 3	% 2 vs 3
	1	2	3			
1 група						
Каспаза-3, нг/мл	17,56±1,73 (14,11-21,01)	22,66±0,27 (22,11-23,21)*	11,07±2,51 (6,05-16,09)	29,04%	58,63%	104,70%
2 група						
Каспаза-3, нг/мл	16,36±1,1 (14,15-18,57)	16,57±0,99 (14,59-18,55)	11,07±2,51 (6,05-16,09)	1,28%	47,79%	49,68%

Примітка: * – статистично значні розбіжності при рівні p<0,05 у порівнянні із 1 групою

Таблиця 5 - Експресія апоптотичного маркеру каспази-3 у обстежених осіб в залежності від кардіоваскулярного ризику у хворих різних груп, M±m (95% довірчий інтервал)

Показник	Високий	Дуже високий	Контроль	% 2 vs 1	% 1 vs 3	% 2 vs 3
	1	2	3			
1 група						
Каспаза-3, нг/мл	19,64±0,27 (19,09-20,19)	20,84±1,63 (17,59-24,09)	11,07±2,51 (6,05-16,09)	6,11%	77,42%	88,26%
2 група						
Каспаза-3, нг/мл	16,36±0,86 (14,65-18,07)	17,03±0,67 (15,69-18,38)	11,07±2,51 (6,05-16,09)	4,10%	47,79%	53,84%

Так, при наявності у пацієнтів ЦД 2 типу, НМТ та ожиріння різниця в рівнях каспази-3 у пацієнтів із високим та дуже високим ризиком становила 6,11%, в той же час у контрольної групи рівні каспази-3 були нижчими на 77,42 та 88,26% відповідно до даних когорт пацієнтів. Причому у осіб із дуже високим ризиком при наявності ожиріння значення цього показника були значно достовірно вище, у порівнянні із хворими без надлишкової ваги тіла.

При наявності у пацієнтів лише ЦД 2 типу без ожиріння каспаза-3 відрізнялася на 4,10% на користь пацієнтів із дуже високим кардіоваскулярним ризиком відносно пацієнтів із високим ризиком. У здорових осіб значення апототичного маркера каспази-3 були нижчими на 47,79 та 53,84% відповідно підгрупам хворих із високим та дуже високим кардіоваскулярним ризиком.

Обговорення отриманих результатів. Численні дані підтверджують, що ЦД типу 2 модулюється через апоптоз β-клітин [8]. Глюкоза є основним стимулятором секреції інсуліну [9], а хронічна гіперглікемія викликає токсичність глюкози для β-клітин за рахунок інсулінорезистентності і в кінцевому підсумку призводить до апоптозу β-клітин [9]. У пацієнтів з поєднанням ЦД типу 2 та ожирінням часто спостерігається підвищений рівень жирних кислот в сироватці крові, що при гіперглікемії посилює дисфункцію β-клітин і також може викликати їх апоптоз [10].

Порушення регуляції апоптозу залучено в цілий ряд патологічних станів: надлишковий апоптоз є основною причиною втрати β-клітин при ЦД типу 2 [11]. Серед двох шляхів апоптозу, які включають зовнішній (опосередкований рецепторами) і внутрішній (керований мітохондріями), зовнішній шлях активується після лігування рецепторів поверхневої смерті клітини, що активує керований каспазами ефекторний механізм [12]. Каспаза-3 є точкою сходження апоптотичного шляху, а її інгібітори запобігають апоптозу острівців і покращують їх ендокринну функцію [13]. Підвищені рівні каспаз-3 і каспаз-8 активуються в β-клітинах пацієнтів з ЦД типу 2 [14].

Каспази активуються в ієрархічному порядку, в якому ініціаторні каспази (каспаза-8 і -10) діють, розщеплюючи ефекторні каспази (каспаза-3 і -7), останні, в свою чергу, руйнують ряд міжклітинних білкових субстратів і призводять до класичного морфологічному зміни апоптозу [11]. У здорових клітинах проапоптотичні білки присутні в зрілій формі, а антиапоптотичні білки конститутивно активні, і знаходяться на зовнішній мембрані мітохондрій [15]. Внутрішній сигнал активує проапоптотичні білки, вони в мітохондріях зв'язуються, інактивуючи антиапоптотичні білки, або формують пори в мітохондріальній мембрані, що сприяє вивільненню цитохрома С в цитозоль [14]. Коли цитохром С накопичується в цитоплазмі, він об'єднується з прокаспазою-9 з утворенням «апоптосоми», яка, в свою чергу, активує каспазу-3 [16]. Це є точкою неповернення.

За даними M. Ljubkovic і співавт., у пацієнтів з ЦД типу 2 без клінічних ознак серцевої недостатності було виявлено підвищення рівня каспаз-3, що супроводжувалося порушенням мітохондріальної функції кардіоміоцитів, зниженням активності окиснювальних ферментів, підвищеним накопиченням в клітинах тригліцеридів і маркерів стресової відповіді [17]. Крім того, було показано взаємозв'язок між ступенем декомпенсації діабету, інсулінорезистентності, та рівнем каспаз-3 як показника активності апоптозу. У дослідженні С. Sudo і співавт. було показано, що швидкість апоптозу нейтрофілів у пацієнтів з ЦД типу 2 достовірно корелювала з рівнем HbA1C [18].

Висновки

1. Наявність у пацієнтів із ЦД 2 типу надлишкової маси тіла та ожиріння призводить до елевації традиційного маркера апоптотичної загибелі клітин організму – каспази-3 на 16,52%.
2. Пацієнти із значеннями глікованого гемоглобіну HbA1c більше 8% демонстрували збільшення значень каспази-3 порівняно із пацієнтами із компенсованим перебігом ЦД, різниця була більш виражена у хворих із НМТ та ожирінням (19,13%, p <0,05).
3. Збільшення тривалості перебігу ЦД 2 типу призводило до активації процесів апоптозу, що проявлялося в елевації досліджуваного маркера апоптозу – каспази-3 як у пацієнтів із ожирінням, так і без нього (p <0,05).
4. Розвиток ускладненого перебігу ЦД 2 типу у пацієнтів із ожирінням призводив до підйому значень каспази-3 на 29,04% (p <0,05) при відсутності значимих змін даного маркеру у хворих на ЦД 2 типу без ожиріння.
5. Високий та дуже високий кардіоваскулярний ризик у хворих на ЦД 2 типу із ожирінням та без ожиріння не мав суттєвого статистично значимого впливу на рівень маркеру апоптозу каспази-3, причому у осіб із дуже високим ризиком при наявності ожиріння значення цього показника були значно достовірно вище, у порівнянні із хворими без надлишкової ваги тіла.

Перспективи подальших досліджень. Уявляється перспективним оцінка експресії каспази-3 та стану апоптозу у хворих на ЦД 2 типу із ожирінням на тлі лікування дапаглифлозином.

References

1. MacGregor C, Has P, Nardella D, Werner E. Comparing Glucose Challenge Test Screening Thresholds in Obese and Overweight Gravidas. *Am J Perinatol*. 2019 Sep 6. doi: 10.1055/s-0039-1696674
2. Gadelha AB, Neri SGR, Vainshelboim B, Ferreira AP, Lima RM. Dynapenic abdominal obesity and the incidence of falls in older women: a prospective study. *Aging Clin Exp Res*. 2019 Sep 5. doi: 10.1007/s40520-019-01318-z
3. Marcus MD. Obesity and eating disorders: Articles from the International Journal of Eating Disorders 2017-2018. *Int J Eat Disord*. 2018 Nov; 51(11): 1296-1299. doi: 10.1002/eat.22974
4. Dai D, Mao Y, Jin H, Zhang W. Efficacy and hypoglycemic risk of sitagliptin in obese/overweight patients with type 2 diabetes compared with GLP-1 receptor agonists: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2019 Sep; 98(36): e17081. doi: 10.1097/MD.0000000000017081
5. Germain N, Khalfallah Y, Estour B, Galusca B. Insulin tolerance test predicts non response vs. sustained efficacy of Liraglutide on glycemic control in type 2 diabetes patients: A prospective real-world setting study. *Diabetes Res Clin Pract*. 2018 Mar; 137: 20-27. doi: 10.1016/j.diabres.2017.12.006
6. Ming-Yan Y, Jing Z, Shu-Qin G, Xiao-Liang B, Zhi-Hong L, Xue Z. Liraglutide inhibits the apoptosis of human nucleus pulposus cells induced by high glucose through PI3K/Akt/caspase-3 signaling pathway. *Biosci Rep*. 2019 Aug 19; 39(8): pii: BSR20190109. doi: 10.1042/BSR20190109
7. Liang M, Li A, Lou A. Advanced oxidation protein products promote NADPH oxidase-dependent β-cell destruction and dysfunction through the Bcl-2/Bax apoptotic pathway. *Lab Invest*. 2017 Jul; 97(7): 792-805. doi: 10.1038/labinvest.2017.24
8. Tomita T. Apoptosis in pancreatic β-islet cells in Type 2 diabetes. *Bosn J Basic Med Sci*. 2016; 16(3): 162-179. doi: 10.17305/bjbms.2016.919
9. Jeffery N, Harries LW. β-cell differentiation status in type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab*. 2016; 18(12): 1167-1175. doi: 10.1111/dom.12778
10. Kaneko YK. Development and Analysis of Novel Therapeutic Targets to Improve Pancreatic β-Cell Function in Type 2 Diabetes]. *Yakugaku Zasshi*. 2016; 136(12): 1623-1629. [Japanese]. doi: 10.1248/yakushi.16-00211
11. Casella S, Bielli A, Mauriello A, Orlandi A. Molecular Pathways Regulating Macrovascular Pathology and Vascular Smooth Muscle Cells Phenotype in Type 2 Diabetes. *Int J Mol Sci*. 2015; 16(10): 24353-24368. doi: 10.3390/ijms161024353
12. Pandey VK, Mathur A, Kakkar P. Emerging role of Unfolded Protein Response (UPR) mediated proteotoxic apoptosis in diabetes. *Life Sci.* 2019; 216: 246-258. doi: 10.1016/j.lfs.2018.11.041
13. Berchtold LA, Prause M, Størling J, Mandrup-Poulsen T. Cytokines and Pancreatic β-Cell Apoptosis. *Adv Clin Chem*. 2016; 75: 99-158. doi: 10.1016/bs.acc.2016.02.001
14. Quan W, Jo EK, Lee MS. Role of pancreatic β-cell death and inflammation in diabetes. *Diabetes Obes Metab*. 2013; 15 (Suppl 3): 141-151. doi: 10.1111/dom.12153
15. Majtnerová P, Roušar T. An overview of apoptosis assays detecting DNA fragmentation. *Mol Biol Rep*. 2018; 45(5): 1469-1478. doi: 10.1007/s11033-018-4258-9
16. Kalpage HA, Bazylianska V, Recanati MA, Fite A, Liu J, Wan J, et al. Tissue-specific regulation of cytochrome c by post-translational modifications: respiration, the mitochondrial membrane potential, ROS, and apoptosis. *FASEB J.* 2019; 33(2): 1540-1553. doi: 10.1096/fj.201801417R
17. Ljubkovic M, Gressette M, Bulat C, Cavar M, Bakovic D, Fabijanic D, et al. Disturbed Fatty Acid Oxidation, Endoplasmic Reticulum Stress, and Apoptosis in Left Ventricle of Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes*. 2019; 68(10): 1924-1933. doi: 10.2337/db19-0423
18. Sudo C, Ogawara H, Saleh AW, Nishimoto N, Utsugi T, Ooyama Y, et al. Clinical significance of neutrophil apoptosis in peripheral blood of patients with type 2 diabetes mellitus. *Lab Hematol*. 2007; 13(3): 108-112. doi: 10.1532/LH96.07003

УДК 616.37-008.64 + 616-056.527] 616-092.18

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ АПОПТОТИЧЕСКОГО МАРКЕРА КАСПАЗЫ-3 У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ II ТИПА С ИЗБЫТОЧНОЙ МАССОЙ ТЕЛА И ОЖИРЕНИЕМ

Соловьюк А. А.

Резюме. Определение молекулярных механизмов, путей генетического контроля и моделирования апоптотических процессов необходимо для понимания патогенеза сахарного диабета 2 типа, особенно в сочетании с ожирением и избыточной массой тела, что в будущем, возможно, создаст предпосылки для поиска патогенетического лечения.

Целью исследования была оценка состояния процессов апоптоза у больных сахарным диабетом типа 2 в сочетании с избыточной массой тела и ожирением в зависимости от клинических особенностей болезни.

Было обследовано 98 человек с сахарным диабетом, первая группа состояла из 64 человек с избыточной массой тела и ожирением (индекс массы тела >25). Вторая группа состояла из 34 человек с сахарным диабетом тип 2 и с нормальной массой тела (индекс массы тела ≤25). В качестве контроля была обследована группа из 28 практически здоровых лиц, которая была сопоставима с первой и второй группой по полу и возрасту.

Наличие у пациентов с сахарным диабетом 2 типа избыточной массы тела и ожирения приводит к элевации уровня маркера апоптотической гибели клеток организма – каспазы-3 на 16,52%. Пациенты со значением гликированного гемоглобина HbA1c более 8% демонстрировали увеличение значений каспазы-3 по сравнению с пациентами с компенсированным течением сахарного диабета, разница была более выражена у больных с избыточной массой тела и ожирением (19,13%, p <0,05). Увеличение продолжительности течения сахарного диабета типа 2 приводило к активизации процессов апоптоза, что проявлялось в подъеме исследуемого маркера апоптоза – каспазы-3 как у пациентов с ожирением, так и без него (p <0,05). Развитие осложненного течения сахарного диабета 2 типа у пациентов с ожирением увеличивало уровни каспазы-3 на 29,04% (p <0,05) при отсутствии значимых изменений данного маркера у больных сахарным диабетом типа 2 без ожирения.

Динамика апоптотических процессов у больных сахарным диабетом типа 2 в сочетании с избыточной массой тела и ожирением в зависимости от клинических особенностей пациентов наблюдается в тесной взаимосвязи с уровнем маркера апоптоза – каспазы группы цистеиновых протеиназ – каспазы-3.

Ключевые слова: апоптоз, метаболический синдром, цистеиновые протеазы, кардиоваскулярный риск, компенсация сахарного диабета.

UDC 616.37-008.64 + 616-056.527] 616-092.18

Pathogenetic Changes in the Expression of Apoptotic Marker Caspase-3 in Patients with Type II Diabetes Mellitus and Excess Body Weight and Obesity

Solovyuk A. A.

Abstract. The determination of molecular mechanisms, genetic control pathways, and modeling of apoptotic processes are necessary for understanding the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus, especially in combination with obesity and excess body weight, which in the future may create prerequisites for the search for pathogenetic treatment.

The purpose of the study was to assess the state of apoptosis processes in patients with type 2 diabetes mellitus in combination with excess body weight and obesity, depending on the clinical characteristics of the disease.

Material and methods. 98 people with diabetes mellitus were examined. The first group consisted of 64 people with excess body weight and obesity (body mass index >25). The second group included 34 people with type 2 diabetes mellitus and normal body weight (body mass index ≤25). The control group consisted of 28 practically healthy individuals, who were comparable to the first and second groups by gender and age.

Results and discussion. The presence of type 2 diabetes mellitus, excess body weight and obesity in patients led to increasing the level of the marker of apoptotic death of body cells – caspase-3 by 16.52%. Patients with glycated hemoglobin HbA1c more than 8% showed an increase in caspase-3 compared with patients with compensated diabetes mellitus; the difference was more pronounced in patients with excess body weight and obesity (19.13%, p <0.05). An increase in the duration of type 2 diabetes mellitus led to the activation of apoptosis processes, which was manifested in the rise of the studied apoptosis marker, caspase-3, both in patients with and without obesity (p <0.05). The development of the complication of type 2 diabetes mellitus in obese patients increased caspase-3 levels by 29.04% (p <0.05) in the absence of significant changes in this marker in patients with type 2 diabetes mellitus without obesity.

Conclusion. The dynamics of apoptotic processes in patients with type 2 diabetes mellitus combined with and obesity, depending on the clinical characteristics of patients, is closely related to the level of apoptosis marker – caspase of the cysteine proteinase group – caspase-3.

Keywords: apoptosis, metabolic syndrome, cysteine proteases, cardiovascular risk, compensation of diabetes mellitus.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Стаття надійшла 27.04.2020 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування