

О.М. Драпкина

ФГБУ «Национальный медицинский
исследовательский центр
профилактической медицины»
Минздрава России, Москва, Россия

Р.Н. Шепель

ФГБУ «Национальный медицинский
исследовательский центр
профилактической медицины»
Минздрава России, Москва, Россия

Т.А. Деева

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова
Минздрава России, Москва, Россия

УДК 616-01/09

Изучение степени апоптоза у пациентов с метаболическим синдромом путем оценки уровня каспазы-8 в плазме крови

Ключевые слова: каспаза-8, метаболический синдром, ожирение, апоптоз, сердечно-сосудистый риск.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ. Драпкина О.М., Шепель Р.Н., Деева Т.А. Изучение степени апоптоза у пациентов с метаболическим синдромом путем оценки уровня каспазы-8 в плазме крови. *Неотложная кардиология и кардиооваскулярные риски*, 2017, Т. 1, №1, С. 78–82.

Цель

Исследовать уровень каспазы-8 как маркера апоптоза и провести корреляционный анализ между его концентрацией и основными клиническими характеристиками, результатами лабораторно-инструментальных методов исследования у пациентов с МС.

Материалы и методы

В исследование включено 76 пациентов, из них 43 пациента с метаболическим синдромом (МС) и 33 – без МС. Средний возраст пациентов в группе МС на момент включения в исследование составил $62,7 \pm 10,3$ лет, в группе контроля (без МС) – $60 \pm 14,7$ лет. Уровень каспазы-8 в сыворотке крови определялся иммуноферментным анализом с помощью наборов «Platinum ELISA».

Результаты

Средний уровень каспазы-8 был достоверно выше в группе пациентов с МС ($p < 0,05$). Выявлена положительная корреляционная связь между уровнем каспазы-8 и эхокардиографическими признаками атеросклероза аорты, наличием сахарного диабета 2 типа, толщиной эпикардального жира, наличием гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, повышением активности сывороточных трансаминаз, ультразвуковыми признаками стеатоза печени и поджелудочной железы.

Заключение

Уровень каспазы-8 в плазме крови у пациентов с МС может служить прогностическим маркером развития сердечно-сосудистых заболеваний. Необходимы дополнительные крупномасштабные клинические исследования в данной области.

O.M. DrapkinaFederal State Institution
«National Medical Research Center
for Preventive Medicine»
of the Ministry of Healthcare
of the Russian Federation, Moscow, Russia**R.N. Shepel**Federal State Institution
«National Medical Research Center
for Preventive Medicine»
of the Ministry of Healthcare
of the Russian Federation, Moscow, Russia**T.A. Deeva**I.M. Sechenov First Moscow State
Medical University, Moscow, Russia

The Study of the Extent of Apoptosis in Patients with Metabolic Syndrome

by Assessing the Level of Caspase-8 in Blood Plasma

■ **Key words:** *caspase-8, metabolic syndrome, obesity, apoptosis, cardiovascular risk.*

FOR REFERENCES. Drapkina O.M., Shepel R.N., Deeva T.A. The Study of The Extent of Apoptosis in Patients With Metabolic Syndrome by Assessing the Level of Caspase-8 in Blood Plasma. *Neotlozhnaya kardiologiya i kardioovaskulyarnye riski* [Emergency cardiology and cardiovascular risks], 2017, vol. 1, no. 1, pp. 79–83.

Aim

To investigate the level of caspase-8 as a marker of apoptosis and to conduct correlation analysis between its concentration and the main clinical characteristics, the results of laboratory and instrumental methods of investigation in patients with metabolic syndrome (MS).

Materials and methods

The study included 76 patients, 43 patients with MS and 33 without MS. The average age of patients in the MS group at the time of inclusion into the study was 62.7 ± 10.3 years in the control group (without MS) – 60 ± 14.7 years. The level of caspase-8 in serum was determined by enzyme immunoassay using kits "Platinum ELISA".

Results

The average level of caspase-8 was significantly higher in the group of patients with MS ($p < 0.05$). There was a positive correlation between the level of caspase-8 and ECHO features of atherosclerosis of the aorta, the presence of diabetes mellitus type 2, thick epicardial fat, the presence of gastroesophageal reflux disease, increased activity of serum transaminases, steatosis of the liver and pancreas.

Conclusion

The level of caspase-8 in plasma in patients with MS may serve as a prognostic marker of cardiovascular diseases. Additional large-scale clinical studies in this area are necessary.

Введение

Низкая физическая активность, высококалорийное несбалансированное питание, нарушение метаболизма с формированием инсулинорезистентности (ИР) изолированно или комплексно инициируют процесс апоптоза – генетически детерминированного и энергетически зависимого процесса, избавляющего организм от ненужных или повреждённых клеток [1–3]. Феномен апоптоза служит результатом действия различных факторов (цитокины,

оксиданты, свободные радикалы, бактериальные токсины), приводящих к программированной гибели клетки, и может быть патогномичным процессом, развивающимся, в частности, при заболеваниях сердечно-сосудистой системы (ССС) и ожирении [4–7].

В исследованиях с использованием лабораторных животных установлено, что при ожирении и на фоне потребления продуктов питания с высоким содержанием насыщенных жиров происходит накопление триацилглицеридов, метаболитов липидов (церамиды),

что вызывает апоптоз или увеличение очагов апоптоза кардиомиоцитов с развитием липотоксической кардиомиопатии [6]. Ряд ученых высказывает мнение о том, что апоптоз служит причиной гибели клеток при атеросклерозе [4]. Так, при проведении биопсии миокарда у пациентов с ожирением выявлены многочисленные участки апоптоза миоцитов [5]. Апоптоз мог бы объяснить прогрессирующую дисфункцию левого желудочка в развитии сердечной недостаточности. *In vitro* отмечена ассоциация между клеточным ростом, клеточным циклом и апоптозом, что, возможно, играет роль в понимании процессов взаимосвязи, наблюдаемых между гипертрофией клеток и апоптозом *in vivo* [7]. В ряде исследований отмечено усиление процессов апоптоза после повреждения миокарда вследствие ишемии, реперфузии и инфаркта [8]. При активном неконтролируемом апоптозе может развиваться фиброз. Таким образом, апоптотическая гибель клеток может наблюдаться в разных тканях, в том числе при развитии сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с метаболическим синдромом (МС).

Апоптоз в последние годы стал предметом интенсивных исследований. Ведутся поиски специфичного биомаркера и его порога, способного предсказать запуск апоптоза как патологического, неконтролируемого процесса, который может предшествовать фиброзу тканей. В роли таких молекул могут рассматриваться каспазы. Особый интерес представляет иницирующая апоптоз каспаза-8, которая играет важную роль на начальных этапах запуска данного процесса. Каспаза 8 – регуляторный белок, цитозольная протеаза, основная и наиболее изученная функция которого – участие в апоптозе. Каспаза-8 участвует в митохондриальном и мембранном пути индукции апоптоза. Таким образом, апоптоз участвует в регуляции гомеостаза клеточных популяций. При МС наблюдается патологическая активация процессов воспаления, повреждения клеток, апоптоза и фиброза в тканях. Не вызывает сомнений важная роль процессов апоптоза при МС. Вопрос – служит ли апоптоз инициатором в развитии заболевания или способствует его прогрессированию с поражением органов-мишеней – остается окончательно не решенным. Изучение апоптоза имеет существенное прикладное значение, в том числе для понимания механизмов воспаления и фиброза. Так иницирующая

каспаза-8, регулирующая запуск процесса апоптоза, может служить маркером активации патологического апоптоза.

Цель исследования

Исследовать уровень каспазы-8 как маркера апоптоза и провести корреляционный анализ между его концентрацией и основными клиническими характеристиками, результатами лабораторно-инструментальных методов исследования у пациентов с МС.

Материалы и методы

В исследовании приняли участие 76 пациентов. По результатам лабораторных, инструментальных и клинических данных были разделены в 2 группы – пациенты с МС ($n=43$) и контрольная группа ($n=33$). Из 76 человек – 38,2% пациентов мужского пола (18 – в основной и 11 – в контрольной группах), а 68,1% – женского (25 – в группе МС и 22 – в контрольной группе соответственно). Средний возраст пациентов в группе МС составил $62,7 \pm 10,3$ лет, в группе контроля – $60 \pm 14,7$ лет.

Диагноз МС устанавливался на основе критериев, разработанных Международной Федерацией по сахарному диабету (IDF – International Diabetes Federation), 2005 года [9]:

1. Ожирение центрального типа (абдоминальное): объем талии ≥ 94 см у мужчин, ≥ 80 см у женщин.
2. Наличие любых двух факторов из нижеперечисленных:

- повышенный уровень триглицеридов ($\geq 1,7$ ммоль/л);
- пониженный уровень холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП) ($< 1,03$ ммоль/л у мужчин и $< 1,29$ ммоль/л у женщин);
- артериальная гипертония (уровень систолического артериального давления (АД) > 130 мм.рт.ст. или уровень диастолического АД > 85 мм.рт.ст.);
- повышенный уровень глюкозы в плазме крови натощак $> 5,6$ ммоль/л (100 мг/дл) или ранее диагностированный сахарный диабет 2-го типа (кроме того, использовался тест с нагрузочной пробой для выявления нарушения толерантности к глюкозе).

Из исследования были исключены пациенты, которые имели в анамнезе:

- хирургическое вмешательство давностью менее 6 месяцев (в том числе аорто-коронарное шунтирование, ангиопластику);
- перенесенные инфаркт миокарда (ИМ), острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК);

- тяжелую неконтролируемую артериальную гипертензию;
- врожденные и приобретенные пороки сердца;
- постоянную или персистирующую форму фибрилляции предсердий;
- выраженную почечную недостаточность, печеночную недостаточность;
- вторичные заболевания печени, приводящие к стеатозу печени (в том числе генетические);
- аутоиммунные заболевания или наличие аутоиммунных маркеров;
- злокачественные новообразования любой локализации, в том числе гепатоцеллюлярная карцинома;
- заболевания системы крови;
- перенесенные в последние 3 месяца острые бактериальные и вирусные инфекции;
- беременность;
- декомпенсацию сахарного диабета (СД) 2-го типа, СД 1-го типа;
- любые системные заболевания;
- психиатрические заболевания;
- нестабильное эндокринное заболевание (гипотиреоз, тиреотоксикоз);
- прием глюкокортикостероидов;
- злоупотребление алкоголем – прием алкоголя более 20 г в сутки для мужчин и 10 г в сутки для женщин; стигмы употребления алкоголя, биохимические маркеры употребления алкоголя;
- прием любых лекарственных препаратов с доказанной гепатотоксичностью, в том числе растительного происхождения, за последние 6 месяцев.

Всем участникам было проведено комплексное обследование, которое включало в себя сбор жалоб, изучение анамнеза, физикальное обследование, антропометрические измерения, лабораторное и инструментальное исследования, в том числе исследование уровня каспазы-8. Кровь для гормонального исследования получали из локтевой вены натощак. Уровень каспазы-8 в сыворотке крови определялся иммуноферментным анализом (ИФА) с помощью наборов «Platinum ELISA» фирмы eBioscience (Австрия).

Обработка данных проводилась с применением стандартного пакета прикладных программ Microsoft Excel и статистической программы «SPSS17.0» для персонального компьютера, включая методы параметрического и непараметрического анализа.

Результаты

Основные характеристики комплексного обследования больных представлены в таблице 1.

Установлено, что в контрольной группе (пациенты без МС) концентрация каспазы-8 не определялась в 100% случаев ($<0,2$ нг/мл). В группе МС у 32,6% пациентов концентрация каспазы-8 превышала пороговое значение – средний уровень маркера в плазме крови составил $0,14 \pm 0,26$ нг/мл (максимальное значение – $1,38$ нг/мл), по сравнению с контрольной группой – $<0,2$ нг/мл ($p=0,002$). Таким образом, средний уровень каспазы-8 в группе МС оказался достоверно выше по сравнению с группой контроля.

Для оценки клинической информативности уровня каспазы-8 проанализированы взаимосвязи между клиническими, лабораторными и инструментальными характеристиками пациентов двух групп, с одной стороны, и уровнем каспазы-8 в плазме крови, с другой стороны.

Выявлена положительная корреляционная связь между уровнем каспазы-8 и наличием ожирения ($r=0,229$; $p=0,006$). Средний уровень каспазы-8 при избыточной массе тела составил $0,017 \pm 0,078$ нг/мл, 1 ст. ожирения – $< 1190,11 \pm 0,182$ нг/мл; 2 ст. – $0,2 \pm 0,191$ нг/мл; 3 ст. – $0,3 \pm 0,47$ нг/мл. Коэффициент

Таблица 1.
Сравнительная
клиническая
характеристика
больных

Примечание:
ЛПОНП – липопротеины
очень низкой плотности,
ЛПНП – липопротеины
низкой плотности,
ЛПВП – липопротеины
высокой плотности.

Параметры	Группа с МС (n=43)	Группа без МС (n=33)	p
Средний возраст, годы	$62,7 \pm 10,3$	$60 \pm 14,7$	$p=0,36$
Пол	М: Ж=41,9%:58,1%	М: Ж=33,3%:66,7%	$p=0,49$
Индекс массы тела, кг/м ²	$33,71 \pm 6,5$	$23,88 \pm 2,44$	$p<0,001$
Объем талии, кг/м ²	$107,9 \pm 14,4$	$81,7 \pm 10,8$	$p<0,001$
Ожирение, степень (критерии ВОЗ, 1997)	Избыточная масса тела – 27,9% 1 ст. – 32,6% 2 ст. – 20,9% 3 ст. – 18,6%	Избыточная масса тела – 24,2%	$p<0,001$
АД систолическое, мм.рт.ст.	$182 \pm 11,1$	$152 \pm 29,7$	$p<0,001$
АД диастолическое, мм.рт.ст.	$102,3 \pm 6,6$	$90 \pm 14,8$	$p<0,001$
Курение	16,3%	3%	$p=0,064$
Длительность анамнеза по АГ, годы	$17,4 \pm 9,8$	$12,03 \pm 11,42$	$p=0,030$
Ишемическая болезнь сердца, стенокардия напряжения, функциональный класс	1 ФК – 4,7% 2 ФК – 69,8% 3 ФК – 9,3%	1 ФК – 3% 2 ФК – 51,5% 3 ФК – 0%	$p=0,021$
Хроническая сердечная недостаточность, класс по NYHA	1 ФК – 0% 2 ФК – 55,8% 3 ФК – 25,6%	1 ФК – 3% 2 ФК – 48,5% 3 ФК – 0%	$p=0,002$
Степень артериальной гипертензии	1 ст. – 2,3% 2 ст. – 21% 3 ст. – 76,7%	1 ст. – 0% 2 ст. – 24,2% 3 ст. – 42,4%	$p<0,001$
ОНМК в анамнезе	7,0%	6,1%	$p=0,625$
ИМ в анамнезе	32,6%	6,1%	$p=0,004$
Общий холестерин, ммоль/л	$6,42 \pm 1,27$	$6,05 \pm 1,16$	$p=0,194$
Триглицериды, ммоль/л	$1,57 \pm 0,95$	$1,12 \pm 0,52$	$p=0,017$
ЛПОНП, ммоль/л	$0,35 \pm 0,25$	$0,25 \pm 0,1$	$p=0,042$
ЛПНП, ммоль/л	$4,6 \pm 1,16$	$3,6 \pm 1,02$	$p<0,001$
ЛПВП, ммоль/л	$1,09 \pm 0,24$	$1,47 \pm 0,28$	$p<0,001$
Глюкоза, ммоль/л	$6,59 \pm 1,64$	$5,05 \pm 0,6$	$p<0,001$

ранговой корреляции Спирмена между уровнем каспазы-8 и индексом массы тела (ИМТ) составил 0,468 ($p < 0,001$), т.е. имеется положительная связь средней силы между ИМТ и уровнем каспазы-8. А также установлена связь между концентрацией каспазы-8 и соотношением окружности талии к окружности бедер (ОТ/ОБ) ($r = 0,415$, $p < 0,05$). Кроме того, установлена положительная связь между уровнем каспазы-8 и:

- **эхокардиографическими (ЭХО) признаками атеросклероза аорты** ($r = 0,310$; $p = 0,011$). Средний уровень каспазы-8 при наличии признаков атеросклероза аорты составил $0,31 \pm 0,25$ нг/мл; при отсутствии признаков – $0,21 \pm 0,048$ нг/мл. Различия средних рангов достоверны ($p = 0,007$);
- **наличием СД 2 типа** ($r = 0,364$; $p = 0,001$). Средний уровень каспазы-8 у пациентов с СД 2 типа составил $0,28 \pm 0,4$ нг/мл, у пациентов без СД – $0,046 \pm 0,125$ нг/мл. Различия средних рангов достоверны ($p = 0,001$);
- **толщиной эпикардального жира (ТЭЖ)** ($r = 0,413$, $p = 0,001$). Повышение уровня каспазы-8 наблюдалась преимущественно у пациентов с ТЭЖ выше 4–5 мм;
- **наличием гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ)** ($r = 0,264$; $p = 0,007$), средний уровень каспазы-8 у пациентов с ГЭРБ составил $0,163 \pm 0,308$ нг/мл, без ГЭРБ – $0,042 \pm 0,12$ нг/мл. Различия средних рангов достоверны ($p = 0,022$);
- **повышением активности сывороточных трансаминаз** ($r = 0,309$; $p = 0,007$), средний уровень каспазы-8 у пациентов с признаками биохимической активности составил $0,278 \pm 0,45$ нг/мл, без признаков – $0,054 \pm 0,139$ нг/мл. Различия средних рангов достоверны ($p = 0,02$);
- **ультразвуковыми (УЗ) признаками стеатоза печени** ($r = 0,462$; $p = 0,007$); средний уровень каспазы-8 у пациентов с признаками стеатоза печени по данным УЗИ составил $0,186 \pm 0,286$ нг/мл, без стеатоза – $0,007 \pm 0,005$ нг/мл. Различия средних рангов достоверны ($p < 0,001$);
- **УЗ-признаками стеатоза поджелудочной железы** ($r = 0,354$; $p = 0,003$); средний уровень каспазы-8 у пациентов с признаками стеатоза поджелудочной железы по данным УЗИ составил $0,24 \pm 0,365$ нг/мл, без признаков – $0,041 \pm 0,116$ нг/мл. Различия средних рангов достоверны ($p = 0,002$).

Обсуждение

В нашем исследовании средний уровень каспазы-8 в группе пациентов с МС оказался достоверно выше по сравнению с группой без МС, за счет того, что у 32,6% пациентов концентрация каспазы-8 оказалась выше порога

ее определения (чувствительность 0,2 нг/мл) (максимальные значения составили – 1,38 нг/мл). Однако у большинства пациентов (67,4% группы МС и 100% группы контроля) пороговые значения концентрации каспазы-8 не определялись. Таким образом, только у 32,6% пациентов группы МС уровень каспазы-8 имел диагностическую ценность. Использование каспазы-8 в качестве индикатора апоптоза в нашем исследовании имело малую информативность и диагностическую способность.

В то же время выявлены слабые положительные корреляционные связи между уровнем каспазы-8 и степенью ожирения ($r = 0,3$), абдоминальным ожирением ($r = 0,23$), наличием СД 2 типа ($r = 0,36$), ЭХО-признаками атеросклероза аорты ($r = 0,31$), ГЭРБ ($r = 0,25$), ТЭЖ ($r = 0,41$), а также УЗ-признаками стеатоза печени ($r = 0,46$) и поджелудочной железы ($r = 0,31$), $p < 0,05$.

Заключение

Уровень каспазы-8 в плазме крови у пациентов с МС может служить прогностическим маркером развития ССЗ. Необходимы дополнительные крупномасштабные клинические исследования в данной области. ■

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, способного повлиять на результаты следования или их трактовку.

REFERENCES

- Chernysheva E. N., Panova T. N. Biologicheskij vozrast i koefitsient skorosti stareniya u bol'nyh s metabolicheskim sindromom v zavisimosti ot antropometricheskikh pokazatelej [Biological age and rate of aging in patients with metabolic syndrome depending on the anthropometric indicators]. *Kubanskiy nauchnyy medicinskiy vestnik*, 2011, no 6, pp. 178–181. (in Russian).
- Drapkina O. M., Shepel' R. N. Gipodinamiya – bolezn' veka: nizkaya fizicheskaya aktivnost kak faktor riska zabolevanij serdechno-sosudistoj sistemy i prezhddevremennogo stareniya [Physical inactivity is a disease of the century: physical inactivity as risk factor for diseases of the cardiovascular system and premature aging]. *Kardiologiya: novosti, mneniya, obuchenie*, 2015, no 3, pp. 53–58. (in Russian).
- Drapkina O. M., Shepel' R. N. Omega-3 polinenasyshchennye zhirnye kisloty i vozrast-assotsirovannye bolezni: realii i perspektivy. [Omega-3 polyunsaturated fatty acids and age-associated diseases: realities and prospects]. *Racional'naya farmakoterapiya v kardiologii*, 2015, vol. 11, no 3, pp. 309–316. (in Russian).
- Storozhakov G. I., Uteshev D. B. Rol' apoptoza v razvitii ateroskleroza, ishemii miokarda i serdechnoj nedostatochnosti. [The role of apoptosis in the development of atherosclerosis, myocardial ischemia and heart failure]. *Serdechno-sosudistaya hirurgiya*, 2000, no 7, pp. 7–11. (in Russian).
- Garg S., Narula J., Chandrasekhar Y. Apoptosis and heart failure: clinical relevance and therapeutic target. *J Mol Cell Cardiol*, 2005, vol. 38, no 1, pp. 73–79.
- Okere I. C., Chandler M. P., McElfresh T. A., Rennison J. H., Sharov V., Sabbah H. N., Tserng K. Y., Hoit B. D., Ernberger P., Young M. E., Stanley W. C. Differential effects of saturated and unsaturated fatty acid diets on cardiomyocyte apoptosis, adipose distribution, serum leptin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2006, vol. 291, no 1, pp. H38–H44.
- Yousef Z. R., Redwood S. R., Marber M. S. Post-infarction left ventricular remodelling: a pathophysiological and therapeutic review. *Cardiovascular Drugs Ther*, 2000, vol. 14, no 3, pp. 243–252.
- Olivetti G., Abbi R., Quaini F., Kajstura J., Cheng W., Nitahara J. A., Quaini E., Di Loreto C., Beltrami C. A., Krajewski S., Reed J. C., Anversa P. Apoptosis in the failing human heart. *New Engl. J. Med*, 1997, vol. 336, no. 16, pp. 1131–1141.
- Alberti K. G. M. M., Zimmet P. Z., Shaw J. E. The metabolic syndrome – a new worldwide definition from the International Diabetes Federation Consensus. *Lancet*, 2005, vol. 366, pp. 1059–1062.

Поступила 22.08.2017