

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Wydział Lekarski I

Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych,
Zaburzeń Metabolicznych i Nadciśnienia Tętniczego

Agata Strażyńska

**Ocena stężenia osoczowej apeliny u młodych osób
z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym.**

Rozprawa doktorska

Promotor: dr hab. n. med. Wiesław Bryl

Poznań 2011

*Składam serdeczne podziękowania
Pani Profesor Danucie Pupek-Musialik i Panu dr hab. Wiesławowi Bryłowi
za pomoc w przygotowaniu niniejszej pracy*

Wykaz skrótów używanych w pracy:

AC - cyklaza adenylanowa

ACE1 - karboksypeptydaza 1, enzym konwertujący angiotensynę I do angiotensyny II

ACE2 - karboksypeptydaza 2, enzym rozkładający angiotensynę II i angiotensynę I do angiotensyny1-7 i angiotensyny1-9

ADH - wazopresyna

AGRP (aguti-related peptide) - białko agouti

AMPK - kinaza białkowa aktywowana przez AMP

Ang I - angiotensyna I (angiotensyna1-10)

Ang II- angiotensyna II (angiotensyna1-8)

Ang 1-7 - angiotensyna 1-7

APJ (AGTRL-1 - angiotensin-like receptor-1) - receptor apelinu

ApoE - apolipoproteina E

APUD (amine precursor uptake and decarboxylation) - system rozsiańszych komórek endokrynych

ARO - aktywność reninowa osocza

ATP - adenosynotryfosforan

AT1 - receptor 1 angiotensyny II

Bax (Bcl-2-associated X protein) - rodzina białek proapoptotycznych

Bcl-2 (B cell lymphoma 2) - rodzina białek antyapoptotycznych

BH₄- tetrahydrobiopteryna

BNP - mózgowy peptyd natriuretyczny

BMI (body mass index) - wskaźnik masy ciała

cAMP - cykliczny adenozynomonofosforan

CART (cocaine-and amphetamin-regulated transcript peptide) - białko transkrypcyjne regulowane przez kokainę i amfetaminę

cGMP - cykliczny guanozynomonofosforan

JNK1-3 - (c-Jun N-terminal kinases) - rodzaj kinaz MAPK

COX - cyklooksygenaza

c-Raf (RAF proto-oncogene serine/threonine-protein kinase) - podrodzina kinaz MAPK

DAG - diacyloglicerol, wtórny przekaźnik wewnątrzkomórkowy

DBP - rozkurczowe ciśnienie tętnicze

eNOS - śródbłonkowa izoforma syntazy NO

ER/SR - siateczka wewnątrzplazmatyczna

ERKs (extracellular-signal-regulated kinases) - kinazy regulowane zewnątrzkomórkowo (podrodzina kinaz MAPK)

ETA - jeden z receptorów dla endoteliny-1

ETB - jeden z receptorów dla endoteliny-1

ET-1 - endotelina-1

EURODIAB (The Epidemiology and prevention of Diabetes) - badanie epidemiologiczne w cukrzycy

FAD - dinukleotyd flawinoadeninowy

GAP (GTPase-Activating Protein) - białko aktywujące GTP-azę

GDP - guanozynodifosforan

Gi - hamujące białko G (podrodzina białek G)

GPCRs (G- proteined- coupled receptors) - rodzina receptorów związanych z białkiem G

GRB2 - białko adaptorowe

GRKs (G protein coupled receptor kinases) - cytoplazmatyczne kinazy serynowo-treoninowe receptorów związanych z białkiem G

GTP - guanozynotrifosforan

HIF-1 (hypoxia-inducible factor -1) - czynnik transkrypcyjny indukowany przez hipoksję

HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment - Insulin Resistance) - wskaźnik insulinooporności

HR - częstotliwość pracy serca

HRE (hypoxia-responsive element) - fragment genu odpowiadający na niedotlenienie

HIV - ludzki wirus nabytego niedoboru odporności

IL-1b - interleukina - 1b

IL-6 - interleukina - 6

iNOS - izoforma indukowana syntazy tlenu azotu

IP3 - 1,4,5-trójfosforan inozytolu, wtórny przekaźnik wewnątrzkomórkowy

IRMA - metoda radioimmunometryczna

JNKs (c-Jun N-terminal kinases) - podrodzina kinaz MAPK

KIM - kompleks intima-media tętnic szyjnych

kNOS - izoforma konstytutywna syntazy tlenu azotu

LCCA - lewa tętnica szyjna wspólna

L-Arg (L-Arginine) - L- arginina

L-NMMA - analogi L-argininy, inhibitory syntazy NOS

L-NAME - metylowy ester L-N^G - nitro argininy - inhibitor syntazy NOS

LOX-1- lektynopodobny receptor dla oksydowanych cząsteczek LDL

MAP - średnie ciśnienie tętnicze

MAPK (mitogen activated protein kinase) - kinaza białkowa aktywowana mitogenem

NATPOL I-III - program badań epidemiologicznych na reprezentatywnej grupie dorosłych Polaków realizowany w latach 1994-2002

NADPH - zredukowana forma fosforanu dinukleotydu nikotynamidoadeninowego

NCX - kanał jonowy $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$

NF- κ B - jądrowy czynnik transkrypcyjny

NHE - kanał jonowy Na^+/H^+

NO/ EDRF (endothelial derived relaxing factor) - tlenek azotu

NOS - syntaza tlenku azotu

NPY - neuropeptyd Y

NYHA - New York Heart Association (klasyfikacja Nowojorskiego Towarzystwa Kardiologicznego w niewydolności serca)

OBRa - receptor leptynowy

OGTT (oral glucose tolerance test) - doustny test obciążenia glukozą

ox-LDL - utleniona forma frakcji LDL-cholesterolu

PAI-1 - inhibitor aktywatora plazminogenu 1

peptyd CART (cocaine and amphetamine regulated transcript peptide) - neuropeptyd o działaniu anoreksygenicznym

PGC-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha)
- koaktywator receptora PPAR γ

PGI $_2$ - prostacyklina

PIP2 - fosfatydyloinozytolo-bisfosforan

PI3K (Phosphoinositide 3-kinase) - kinaza fosfatydyloinozytolu; efektor białek G

PKA (protein kinase A) - kinaza białkowa A, cytoplazmatyczna kinaza serynowo-treoninowa

PKB (protein kinase B)/Akt - kinaza białkowa B; aktywowana przez PI3K

PKC (protein kinase C) - kinaza białkowa C, cytoplazmatyczna kinaza serynowo-treoninowa

PLC - fosfolipaza C

Pol-MONICA/ Pol-MONICA Bis - polskie badania epidemiologiczne; składowa międzynarodowego programu WHO- MONICA Project (MONItoring of trends and determinants of Cardiovascular Disease)

PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor) - receptor aktywowany przez proliferatory peroksysomów

PTNT - Polskie Towarzystwo Nadciśnienia Tętniczego

PVN - jądro przykomorowe podwzgórza wydzielające ADH

p.38MAPK/ p38/RK (p.38 mitogen-activated protein kinases) - podrodzina kinaz MAPK

RAA - układ renina - angiotensyna - aldosteron

RISK (reperfusion injury salvage kinase) - grupa kinaz antyapoptotycznych

RCCA - prawa tętnica szyjna wspólna

ROS - wolne rodniki tlenowe

STEMI - zawał mięśnia sercowego z uniesieniem odcinka ST

sGC - rozpuszczalna cyklaza guanylowa

TGF - transformujący czynnik wzrostu

Tie2 - receptor kinazy tyrozynowej aktywowany przez VEGF przy pośrednictwie PI3K/Akt i p.38 MAPK

TNF- α - czynnik martwicy nowotworów α

UCPs (uncoupling proteins) - białka biorące udział w termogenezie

UKPDS (United Kingdom Prospective Diabetes Trial) - badanie epidemiologiczne w cukrzycy

VEGF (vascular endothelium growth factor) - naczyniowy czynnik wzrostu śródbłónka

VSCM - komórki mięśni gładkich naczyń

WOBASZ - Wieloośrodkowe Ogólnopolskie Badanie Stanu Zdrowia Ludności przeprowadzone w 2005 r.,

α -MSH - melanokortyna

Spis treści:

1. Wstęp.....	12
2. Nadciśnienie tętnicze.....	13
2.1. Epidemiologia.....	13
2.2. Epidemiologia nadciśnienia tętniczego u osób młodych.....	14
2.3. Nadciśnienie tętnicze w patogenezie miażdżycy.....	14
3. Apelina.....	16
3.1. Odkrycie.....	16
3.2. Budowa.....	16
3.3. Izoformy.....	17
3.4. Znaczenie poszczególnych fragmentów łańcucha polipeptydowego apeliny...18	
3.5. Aktywność poszczególnych izoform.....	19
3.6. Receptor apeliny (APJ).....	19
3.6.1. Odkrycie.....	19
3.6.2. Receptor APJ jako receptor sprzężony z białkiem G.....	20
3.6.3. Lokalizacja jądrowa.....	20
3.7. Metabolizm apeliny.....	21
3.8. Ekspresja w tkankach.....	21
3.9. Interakcja apelina/receptor APJ.....	22
3.10. Regulacja wydzielania i ekspresji apeliny.....	23
3.11. Apelina a układ sercowo - naczyniowy.....	24
3.12. Apelina a gospodarka węglowodanowa i insulinooporność.....	35
3.13. Apelina a proces miażdżycowy.....	39
3.14. Inne postulowane działania apeliny.....	40
4. Nadciśnienie tętnicze a wskaźniki antropometryczne, wybrane czynniki i markery rozwoju chorób układu sercowo - naczyniowego oraz parametry biochemiczne.....	42
5. Adipocytokiny.....	42
5.1.1. Adiponektyna.....	42
5.1.2. Leptyna.....	43
5.2. Insulinooporność i zaburzenia gospodarki węglowodanowej - czynnik ryzyka miażdżycy często towarzyszący nadciśnieniu tętniczemu.....	45

4.3.	Zaburzenia gospodarki lipidowej jako czynnik ryzyka miażdżycy towarzyszący nadciśnieniu tętniczemu.....	46
4.4	Nadmierna masa ciała a nadciśnienie tętnicze.....	47
4.5.	Kompleks intima-media tętnic szyjnych - ocena wczesnych zmian miażdżycowych.....	48
5.	Uzasadnienie podjęcia tematu badawczego	49
5.1.	Założenia i cel pracy.....	50
6.	Metodyka badań.....	51
6. 1.	Badana populacja.....	51
6.2.	Sposób prowadzenia badań.....	52
6.3.	Pomiary antropometryczne.....	52
6.4.	Pomiar ciśnienia tętniczego.....	53
6.5.	Metodyka badań laboratoryjnych.....	53
6.6.	Metodyka pomiaru grubości kompleksu intima-media tętnic szyjnych.....	54
6.7.	Metody statystyczne.....	55
7.	Wyniki.....	56
7.1.	Parametry antropometryczne, skurczowe i rozkurczowe ciśnienie tętnicze, czynność serca, grubość kompleksu intima-media tętnic szyjnych w grupie badanej i kontrolnej.....	56
7.2.	Stężenie apelinu, adiponektyny, leptyny, insuliny, profil lipidowy, stężenie kreatyniny i glukozy oraz wskaźniki insulinooporności w grupie badanej i kontrolnej....	57
7.3.	Istotnie statystycznie różnice w wartościach poszczególnych parametrów pomiędzy grupą badaną i kontrolną.....	63
7.4.	Analiza zależności pomiędzy stężeniem apelinu a wybranymi parametrami w grupie badanej	64
8.	Dyskusja.....	70
9.	Krytyka metody.....	76
10.	Wnioski.....	78
11.	Streszczenie.....	79
12.	Summary.....	81
13.	Piśmiennictwo.....	83
14.	Załączniki.....	
14.1.	Zgoda komisji bioetycznej.....	

14.2.	Informacja dla pacjenta.....
14.3.	Formularz zgody pacjenta.....

1. Wstęp

Nadciśnienie tętnicze jest jednym z czynników wystąpienia incydentów sercowo - naczyniowych takich jak, zawał mięśnia sercowego, czy udar mózgu. Ze względu na swoje rozpowszechnienie należy do chorób o wymiarze społecznym [1]. Stosunkowo rzadko występuje jako izolowana jednostka chorobowa; często współwystępuje z zaburzeniami metabolicznymi czy nadmierną masą ciała. Wyniki badań przeprowadzonych w ostatnich dwóch dekadach zwracają uwagę na rolę tkanki tłuszczowej i wydzielanych przez nią bioaktywnych związków w patogenezie chorób układu krążenia, w tym nadciśnienia tętniczego, choroby niedokrwiennej serca, a także cukrzycy. Hormony te, nazwane adipocytokinami, mogą pośredniczyć u osób z nadmierną masą ciała w rozwoju zaburzeń gospodarki węglowodanowej i lipidowej, jak i w progresji stanu zapalnego czy też procesu miażdżycowego [2]. Do tej pory wykazano zależność pomiędzy niskim stężeniem adiponektyny a ryzykiem rozwoju choroby niedokrwiennej serca i cukrzycy, wskazując na jej ochronną rolę w układzie krążenia [3-6]. Odwrotna zależność występuje w przypadku leptyny, której wysokie stężenia, często współistniejące z otyłością i insulinoopornością wiąże się z rozwojem nadciśnienia tętniczego [7]. Apelina jest nowo odkrytą adipocytokiną, aktywną w wielu układach biologicznych, a szczególnie w układzie sercowo - naczyniowym. Wraz ze swoim receptorem APJ wykazuje strukturalne podobieństwo do niektórych elementów układu renina - angiotensyna - aldosteron (układ RAA). Największe stężenia apeliny i jej receptora poza tkanką tłuszczową zaobserwowano w mięśniu sercowym oraz w śródbłonku i komórkach mięśni gładkich naczyń krwionośnych, co wiąże się z jej wpływem na napięcie ściany naczyń krwionośnych i kurczliwość kardiomiocytów [8-10]. W badaniach eksperymentalnych stwierdzono, że dożylna infuzja apeliny wywiera efekt hipotensyjny [11]. W nielicznych dotąd badaniach u osób z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym, zaobserwowano ujemną korelację pomiędzy jej stężeniem a wartościami skurczowego ciśnienia tętniczego [12]. W dostępnym piśmiennictwie krajowym nie ma jak dotychczas doniesień o roli apeliny u młodych, dotychczas nieleczonych osób, z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym, jak również o obecności zależności pomiędzy jej stężeniem, a stężeniami innych adipocytokin, insulinoopornością, czy wskaźnikami antropometrycznymi i parametrami biochemicznymi, które odgrywają rolę w patogenezie chorób układu sercowo - naczyniowego.

2. Nadciśnienie tętnicze

2.1. Epidemiologia

Nadciśnienie tętnicze jest zaliczane do chorób o charakterze społecznym. Ten wymiar jest związany z jego dużym rozpowszechnieniem, niedostatecznym wykrywaniem, małą efektywnością leczenia oraz ścisłą zależnością pomiędzy jego obecnością a ryzykiem wystąpienia incydentów i zgonów sercowo - naczyniowych.

Światowa Organizacja Zdrowia uważa nadciśnienie tętnicze za główną przyczynę zgonów na świecie ze względu na to, że przyczynia się ono do rozwoju stanowiących zagrożenie dla życia powikłań sercowo - naczyniowych, takich jak: zawał mięśnia sercowego, niewydolność serca, czy udar mózgu. W opracowaniu Kearney i wsp. oszacowano liczbę dorosłych osób chorujących na nadciśnienie tętnicze na świecie w 2000 roku na 972 mln. Wśród tej liczby 333 mln chorych pochodziło z krajów rozwiniętych, a 639 mln z krajów rozwijających się. Prognozuje się, że do 2025 roku liczba chorych na nadciśnienie tętnicze wzrośnie o 60% do 1,56 mld. Wśród populacji mężczyzn będzie to wzrost z 26,6% do 29,0%, a wśród populacji kobiet z 26,1% do 29,5% [1].

Według badania NATPOL III PLUS, w populacji dorosłych Polaków rozpowszechnienie nadciśnienia tętniczego w 2002 roku sięgało 29%. Prawidłowe wartości ciśnienia tętniczego stwierdzono tylko u 21% badanych, u 20% wartości te były optymalne, a u 30% wysokie prawidłowe. Częstość występowania nadciśnienia tętniczego jest różna w zależności od wieku badanych, stanowi kilka procent w populacji osób młodych i 50% wśród osób w wieku podeszłym, u których dominującą formą jest izolowane skurczowe nadciśnienie tętnicze. Liczbę dorosłych osób chorych na nadciśnienie tętnicze w Polsce szacuje się obecnie na 11 milionów. U osób chorujących na nadciśnienie tętnicze ryzyko zachorowania lub zgonu z przyczyn sercowo - naczyniowych jest około dwukrotnie większe. Nadciśnienie tętnicze, według dostępnych danych, przyczynia się do około połowy zgonów z tych powodów [13].

Również w badaniach Pol-MONICA BIS i WOBASZ zwraca się uwagę na znaczne rozpowszechnienie nadciśnienia tętniczego i znaczny procent osób w populacji polskiej zagrożonych jego rozwojem. W badaniu WOBASZ szacuje się występowanie nadciśnienia tętniczego w Polsce, w populacji powyżej 20 roku życia na 36%, co stanowi wartość pośrednią pomiędzy krajami Europy (Niemcy 55%, Finlandia 49%, Hiszpania 47%, Anglia

42%, Szwecja 38%, Włochy 38%) a krajami Ameryki Północnej (USA 28%, Kanada 27%). W badaniu tym, nadciśnienie tętnicze występowało u 42,1% mężczyzn i 32,9% kobiet, optymalne wartości ciśnienia tętniczego stwierdzono u 12% mężczyzn i 30% kobiet, a wysokie prawidłowe zanotowano u 27% mężczyzn i 16% kobiet. W obu wspomnianych badaniach podkreśla się także częste współwystępowanie nadciśnienia tętniczego z innymi czynnikami ryzyka, które działając addytywnie przyspieszają rozwój miażdżycy i jej powikłań narządowych [14,15,16].

Wykrywalność nadciśnienia tętniczego w Polsce, według badania NATPOL III PLUS, wynosiła w 2002 roku 67%, a skuteczność leczenia tylko 12,5%. We wcześniejszym badaniu Pol-MONICA skuteczność tą oszacowano na 8%, a w badaniu WOBASZ na 14,1%. Obecnie około 23% mężczyzn i 17% kobiet z rozpoznaniem nadciśnieniem tętniczym nie stosuje terapii hipotensyjnej, a 60% osób przyjmujących leki nie osiąga docelowych wartości terapeutycznych. Pomimo, że wykrywalność nadciśnienia tętniczego u osób w średnim wieku w ciągu ostatnich dwóch dekad znacznie się poprawiła, nadal aż 40% mężczyzn i 30% kobiet ma nie rozpoznane nadciśnienie tętnicze [13,14].

2.2. Epidemiologia nadciśnienia tętniczego u osób młodych

Częstość występowania nadciśnienia tętniczego w ogólnej populacji poniżej 18 roku życia szacuje się na 1 - 3%, a u osób między 18 - 30 rokiem życia na 5%. U dzieci do 10 roku życia dominuje postać wtórna nadciśnienia tętniczego, natomiast po 10 roku życia zaczyna przeważać, podobnie jak u osób dorosłych, forma pierwotna. U młodzieży, podobnie jak u osób dorosłych, nadciśnienie tętnicze często współistnieje z innymi czynnikami ryzyka sercowo - naczyniowego, takimi jak otyłość i zaburzenia gospodarki lipidowej [17,18].

2.3. Nadciśnienie tętnicze w patogenezie miażdżycy

Nadciśnienie tętnicze jest jednym z najczęściej występujących czynników ryzyka w patogenezie procesu miażdżycowego. Towarzysząca miażdżycy zakrzepica odpowiada za występowanie ostrych incydentów naczyniowych i powikłań narządowych w nadciśnieniu tętniczym. Zasadnicza rola nadciśnienia tętniczego w rozwoju tych incydentów, jak również zgonów z przyczyn sercowo - naczyniowych jest stała i nie zależy od innych czynników

ryzyka. Uszkadzający wpływ nadciśnienia tętniczego na układ sercowo - naczyniowy, oprócz zmian hemodynamicznych (zwiększone siły ścinania), wynika między innymi z patogennej roli angiotensyny II, która działając w różnych mechanizmach wywiera niekorzystny efekt na naczynia tętnicze, prowadzi do dysfunkcji śródbłonna i dalszych etapów aterosklerozy.

Angiotensyna II wpływa na szlaki sygnalizacyjne w komórkach śródbłonna i monocytach - makrofagach. Aktywując krążące we krwi monocyty sprzyja ich łączeniu się z komórkami śródbłonna i stymuluje wzrost produkcji wolnych rodników tlenowych (ROS), które biorą udział w powstawaniu cytotoksycznych utlenionych form frakcji LDL (ox - LDL), które z kolei zmniejszają aktywność syntazy tlenku azotu (NOS) i wpływają na obniżenie sprawności rozkurczowej śródbłonna. Angiotensyna II wpływa także na zmiany strukturalne w warstwie podstawnej ściany naczynia, gdzie obniża zawartość siarczanu heparanu, przez co zmniejsza aktywację antytrombiny III i powoduje wzrost podatności śródbłonna na adhezję leukocytów, które działając prozakrzepowo i prozapalnie przyspieszają dysfunkcję śródbłonna. Wzrost stężenia angiotensyny II jest też związany ze wzrostem produkcji endoteliny-1 (ET-1) i inhibitora aktywatora plazminogenu (PAI-1). Angiotensyna II odpowiada również za powstawanie zaawansowanych form miażdżycy, tak zwanych komórek piankowatych, w ścianie naczynia, co jest wynikiem aktywacji receptorów wymiatających (ang. scavenger) w monocytach - makrofagach, a u osób z nadciśnieniem tętniczym w szczególności receptora LOX-1, który ulega ekspresji przy udziale jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF- κ B. Jego aktywacji sprzyjają ponadto: białko CRP, ET-1 i homocysteina, których zwiększone stężenia obserwuje się w nadciśnieniu tętniczym. Czynniki te, współdziałając, przyczyniają się do przyspieszenia rozwoju procesu miażdżycowego. Sugeruje się również, że angiotensyna II występując w dużych stężeniach w ścianie naczynia i stymulując aktywność metaloproteinaz, odgrywa rolę w destabilizacji blaszki miażdżycowej, nasilając zagrożenie wystąpienia ostrych incydentów wieńcowych [19,20,21].

3. Apelina

3.1. Odkrycie

Apelinę, jako ligand wcześniej zidentyfikowanego receptora sierocego APJ po raz pierwszy wyizolował Tatemoto i wsp. w 1998 roku z komórek nabłonka gruczołowego żołądka wołu. Nowo odkryty peptyd składał się z 36 aminokwasów. Pod względem struktury i ekspresji tkankowej przypominał angiotensynogen, dlatego też największe zainteresowanie wzbudziło jego potencjalne działanie w układzie sercowo - naczyniowym [22-33].

3.2. Budowa

Apelina powstaje z 77-aminokwasowego białka prekursorowego, będącego produktem pojedynczego genu, znajdującego się na chromosomie 10 (Xq25-26.1). Gen ten składa się z 1726 par zasad i zawiera 3 egzony. Wykazano istotną homologię w sekwencji preproapeliny pomiędzy gatunkami (szczur, wół, człowiek). Homologia ta dotyczy 23-aminokwasowego C-końcowego fragmentu peptydu. Dla aktywności biologicznej apeliny i jej wiązania z receptorem kluczowy jest natomiast fragment trzynastu C-końcowych reszt aminokwasowych 65-77 preproapeliny [22-24]. Schemat sekwencji reszt aminokwasowych w łańcuchu polipeptydowym apeliny-36 przedstawia rycina 1.

(N-końiec) Leu - Val - Gln - Pro - Arg - Gly - Ser - Arg - Asn - Gly - Pro - Gly - Pro - Trp - Gln - Gly - Gly - Arg - Arg - Lys - Phe - Arg - Arg - **Gln(Pyr1)** - **Arg** - **Pro** - **Arg** - **Leu** - **Ser** - **His** - **Lys** - **Gly** - **Pro** - **Met** - **Pro** - **Phe** **(C-końiec)**

Ryc. 1. Schemat sekwencji reszt aminokwasowych apeliny-36. Modyfikacja własna za: Matthias J. et al. *Emerging roles of apelin in biology and medicine. Pharmacology & Therapeutics* 107 (2005); 198 – 211 [34].

3.3. Izoformy

W dotychczasowych badaniach nad apeliną zidentyfikowano kilka jej izoform. Wśród nich główne to: apelina-36, apelina-17, apelina-13 oraz apelina-13 w jej formie pyroglutaminowanej, czyli z resztą kwasu glutaminowego przy N-końcu, (Pyr1)apelina-13. Do tej pory zsyntetyzowano również egzogennie apelinę-12 oraz wykazano, że krótsze niż 12-aminokwasowe izoformy tego peptydu nie posiadają aktywności biologicznej. Postuluje się, że poszczególne izoformy apeliny różnią się czasem działania, który zależy od czasu trwania internalizacji receptora APJ. Do internalizacji receptora dochodzi po połączeniu się jego 7-częściowego fragmentu przezbłonowego z C-końcem peptydu. Z kolei N-koniec peptydu, odgrywa rolę w modulacji interakcji pomiędzy apeliną a jej receptorem. Spośród izoform apeliny, apelina-36, uważana jest za formę prekursorową z ograniczoną aktywnością biologiczną. Ulega ona proteolizie i modyfikacji potranslacyjnej do bardziej aktywnych peptydów (apelina-17, apelina-13), zwłaszcza do (Pyr1)apeliny-13, która to pyroglutaminowana forma apeliny zachowując jej aktywność biologiczną jest bardziej niż pozostałe izoformy odporna na proces rozkładu enzymatycznego [25-33,35-36]. Schemat sekwencji aminokwasowych poszczególnych izoform apeliny ilustruje rycina 2.

- a) (*N-koniec*) **Gln** - **Arg** - **Pro** - **Arg** - **Leu** - **Ser** - **His** - **Lys** - **Gly** - **Pro** - **Met** - **Pro** - **Phe** (*C-koniec*)
- b) (*N-koniec*) **Gln(Pyr1)** - **Arg** - **Pro** - **Arg** - **Leu** - **Ser** - **His** - **Lys** - **Gly** - **Pro** - **Met** - **Pro** - **Phe** (*C-koniec*)
- c) (*N-koniec*) **Lys** - **Phe** - **Arg** - **Arg** - **Gln** - **Arg** - **Pro** - **Arg** - **Leu** - **Ser** - **His** - **Lys** - **Gly** - **Pro** - **Met** - **Pro** - **Phe** (*C-koniec*)

Ryc. 2. Sekwencje aminokwasów poszczególnych izoform apeliny: (a) apelina-13, (b) Pyr(1)apelina-13, (c) apelina-17. Modyfikacja własna za: Matthias J. et al. *Emerging roles of apelin in biology and medicine. Pharmacology & Therapeutics* 107 (2005); 198 – 211 [34].

3.4. Znaczenie poszczególnych fragmentów łańcucha polipeptydowego apeliny

Lee i wsp. syntetyzując potencjalnego agonistę receptora APJ przez substytucję C-końcowej fenyloalaniny apeliny resztą alaninową, wykazali, że tak zsyntetyzowane białko pozbawione jest hipotensyjnego działania apeliny-13 [22]. Messari i wsp., badając apelinę-17 stwierdzili, że pierwszych pięć N-końcowych i ostatnie dwie C-końcowe reszty aminokwasowe tego peptydu nie są niezbędne do jego wiązania z receptorem i hamowania syntezy cyklicznego adenozynomonofosforanu (cAMP). Zwrócili również uwagę na rolę argininy w pozycji 6 apeliny-17, której usunięcie - przeciwnie - znacząco zmniejszało wiązanie apeliny z receptorem i jej zdolność do hamowania syntezy cAMP [27]. Reaux i wsp. dowiedli, że delecja N-końcowych aminokwasów apeliny przyspiesza dysocjację substratu od receptora, redukuje czas trwania internalizacji i związany z nią jej czas działania [26]. Podobnie Messari i wsp. w przytoczonym powyżej badaniu zwrócili uwagę, że apelin-17 jest najsilniejszą, spośród badanych przez nich, izoformą, wywołującą internalizację receptora, a sukcesywna delecja N-końcowych reszt aminokwasowych tego peptydu stopniowo redukuje ten proces. Wykazali oni również, że internalizacja zależy od obecności reszty fenyloalaninowej przy C-końcu peptydu, której brak, całkowicie znosi ten proces. Autorzy nie łączą jednak aktywności biologicznej apeliny z endocytozą receptora, wiążą z nią natomiast działanie hipotensyjne apeliny i jej wpływ na przyspieszenie czynności serca. Badając w powyższym badaniu apelinę-16, pozbawioną reszty fenyloalaninowej przy N-końcu apeliny-17, wykazali, że ta izoforma apeliny hamując syntezę cAMP nie powodowała internalizacji receptora i przez to nie wpływała na wartość ciśnienia tętniczego ani czynność serca. Badacze sugerują istnienie kilku form konformacyjnych receptora APJ, stabilizowanych przez różne fragmenty peptydu, co miałoby odzwierciedlać oddzielenie endocytozy receptora od szlaku sygnalizacyjnego, w którym receptor APJ wiąże się z białkiem G. Konsekwencją rozdziału tych dwóch procesów, jest fakt, że fragmenty apeliny, które nie powodują internalizacji receptora, ale są zdolne do aktywacji szlaku sygnalizacyjnego z udziałem białka G, nie powodują obniżenia ciśnienia tętniczego. Według powyższych autorów efekt hipotensyjny apeliny jest zależny od internalizacji receptora, a izoformami apeliny o udowodnionym działaniu w tym mechanizmie są apelin-36, apelin-17, apelin-13 oraz pyroglutaminowana forma apeliny-13 [22,26,27].

3.5. Aktywność poszczególnych izoform

W niektórych badaniach sugerowano, że krótsze formy apeliny (apelina-13, apelina-17) wywierają silniejsze działanie w układzie sercowo - naczyniowym (efekt hipotensyjny, wpływ na kurczliwość kardiomiocytów), podczas gdy apelina-36, ze względu na dłuższy czas endocytozy receptora (dłuższy fragment N-końcowy peptydu) jest bardziej skuteczna w blokowaniu infekcji HIV komórek wykazujących ekspresję receptora APJ w ośrodkowym układzie nerwowym [23-25,30,37-40]. Maguire i wsp. w swoim badaniu wskazują jednak na porównywalny potencjał i efekt działania w układzie sercowo - naczyniowym: (Pyr1)apeliny-13, apeliny-13 i apeliny-36, co tłumaczą obecnością w każdej z tych lizoform, kluczowego dla aktywności biologicznej w tym układzie, identycznego 12-aminokwasowego C-fragmentu peptydu [41].

3.6. Receptor apeliny (APJ)

3.6.1. Odkrycie

W 1993 roku O'Dowe i wsp., dzięki rozwojowi technik biologii molekularnej zidentyfikowali metodą PCR na krótkim ramieniu chromosomu 11 (Chr. 11 *q12*) fragment genu o 700 parach zasad. Szczegółowa analiza ujawniła liczne podobieństwa z sekwencją genu przezbłonowej domeny receptorów związanych z białkiem G (GPCRs), stąd wysunięto hipotezę o przynależności produktu owego genu do wspomnianej rodziny receptorów. Kodowane białko posiadało 380 aminokwasów i zostało nazwane APJ. Do czasu kiedy w 1998 roku Tatemoto i wsp. nie zidentyfikowali selektywnego endogennego ligandu, apeliny, białko to zaliczano do grupy tak zwanych receptorów sierocych (orphan receptor) [22,29,30,32].

W toku badań wykazano znaczne strukturalne podobieństwo pomiędzy receptorem APJ, a receptorem AT-1 dla angiotensyny II. Zarówno receptory AT-1, jak i AT-2 należą również do rodziny receptorów błonowych sprzężonych z białkiem G, a homologia pomiędzy budową łańcucha polipeptydowego APJ i AT-1 dotyczy 115 (30%) reszt aminokwasowych, w tym 86 (54%) w rejonie przezbłonowym. Pomimo strukturalnego podobieństwa apeliny do angiotensyny II, a receptora APJ do receptora AT-1, apelina nie wiąże się z receptorem AT-1, a angiotensyna II z receptorem APJ [29,30,35,42,43].

3.6.2. Receptor APJ jako receptor sprzężony z białkiem G

Rodzina receptorów metabotropowych GPCR jest rodziną receptorów, których aktywacja powoduje generację w komórce wtórnych przekazyńników, a odpowiedź biologiczna, jest „odповідzią komórki na bodźce wpływające na jej pobudliwość, przekazyńnictwo, metabolizm i różnicowanie” [7]. Wśród tej rodziny receptorów, receptor APJ, podobnie jak receptor AT-1, zaliczany jest do klasy A/1 receptorów podobnych do rodopsyny [44,45].

Jest to białko zbudowane z pojedynczego łańcucha polipeptydowego, który posiada siedem domen przez błonowych połączonych pętlami o lokalizacji wewnątrz- i zewnątrzcytoplazmatycznej. Na zewnątrz komórki znajduje się N-koniec peptydu z resztą aminową, a wewnątrz komórki, jego C-koniec z grupą karboksylową. Fosforylacja C-końcowego fragmentu białka wiąże się ze zmniejszeniem aktywności receptora (odłączenie receptora od układu białek G). Układ białek G, aktywowany przez kompleks agonista/receptor, przylacza się do trzeciej wewnątrzcytoplazmatycznej pętli (i_3) łańcucha. Białka G w postaci nieaktywnej stanowią kompleks 3 podjednostek: α , β , γ połączonych z cząsteczką guanozynodifosforanu (GDP), od której pochodzi ich nazwa [7].

Dla receptorów sprzężonych z białkiem G specyficzną cechą jest brak konieczności wniknięcia substratu do wnętrza komórki do wywołania odpowiedzi biologicznej [7]. W przypadku receptora APJ i jego liganda - apeliny, wykazali tą cechę w cytowanym wcześniej badaniu Messari i wsp. [27].

3.6.3. Lokalizacja jądrowa

Poza lokalizacją cytoplazmatyczną oraz na powierzchni komórki, receptor APJ, podobnie jak receptor AT-1 dla angiotensyny II, a także B_2 dla bradykininy, zidentyfikowano w jądrze komórkowym, choć w znacznie mniejszym odsetku (poniżej 10% komórek wykazujących ekspresję receptora APJ), niż oba wyżej wymienione receptory. Ekspresję jądrową receptora APJ wykazują komórki ośrodkowego układu nerwowego, głównie mózdzku, którego 75% komórek charakteryzuje się obecnością receptora APJ, a także, neurony podwzgórza. W badaniu Lee i wsp. dowodzą zależności pomiędzy jądrową lokalizacją receptora, a rodzajem komórki. W translokacji receptora GPCR z błony komórkowej do jądra komórkowego postuluje się udział jego fragmentu NLS, który wiąże się do heterodimeru $\alpha\beta$

białka - importyny. Potencjalna lokalizacja fragmentu NLS w łańcuchu polipeptydowym receptora APJ to C-końcowy odcinek trzeciej wewnątrzcytoplazmatycznej pętli. Autorzy sugerują, że może brać on udział w transporcie jądrowym receptora, jak i odpowiadać za jego komórkowo specyficzną, jądrową lokalizację. Endocytoza receptora APJ wiąże się również ze zjawiskiem jego recyclingu. Procesy te zachodzą w komórce przy udziale białek - arrestyn i jednej z cytoplazmatycznych kinaz serynowo-treoninowych - GRK2 [46].

3.7. Metabolizm apeliny

Apelina jest metabolizowana przez karboksydazę ACE2, najbliższy homolog ACE1, która, odcinając jej C-końcową resztę fenyloalaninową, przekształca ją do formy nieaktywnej [44-47]. Gen kodujący ACE2, podobnie jak gen dla apeliny, jest umiejscowiony na krótkim ramieniu chromosomu 10 [48].

W układzie sercowo-naczyniowym głównymi substratami dla ACE2 jest angiotensyna I i II. Enzym ten przekształca angiotensynę I do angiotensyny1-9 oraz angiotensynę II do angiotensyny1-7, które to peptydy odgrywają znaczącą kardio- i nefroprotekcyjną rolę, działając w opozycji do angiotensyny II [44,48]. Powyższy związek apeliny z elementami układu RAA może również sugerować jej potencjalne zaangażowanie w funkcje układu sercowo - naczyniowego [49].

3.8. Ekspresja w tkankach

Apelina jako jedna z adipocytokin jest produkowana przez białą tkankę tłuszczową [2]. Znajdujemy ją również w innych tkankach ustroju, głównie jednak w układzie sercowo - naczyniowym, gdzie, wraz ze swoim receptorem, wykazuje podobną ekspresję do elementów układu RAA. Największe jej stężenia występują w śródbłonku oraz komórkach mięśni gładkich naczyń i kardiomiocytach. Lokalizujemy ją także w nerkach, płucach, ośrodkowym układzie nerwowym, zwłaszcza w podwzgórzu (jądra nadwzrokowe i przykomorowe), gruczole piersiowym, nadnerczach, jajnikach, łożysku, także w błonie śluzowej, komórkach okładzinowych i nabłonku gruczołowym dna żołądka oraz komórkach Kupffera wątroby. Ekspresja tkankowa apeliny odzwierciedla jej prawdopodobne funkcje w fizjologii człowieka, jej rolę regulacyjną w układzie sercowo - naczyniowym (wpływ na

napięcie ściany naczyń krwionośnych i kurczliwość kardiomiocytów), osi podwzgórze - przysadka (regulacja wydzielania hormonów tropowych oraz wazopresyny - ADH) i układzie odpornościowym (udział w blokowaniu infekcji HIV komórek CD4+ w ośrodkowym układzie nerwowym) [2,25-33,49-54]. Badania nad wewnątrzkomórkową lokalizacją apeliny w komórkach śródbłonna wskazują na jej konstytutywne uwalnianie, gdyż nie jest ona znajdowana w ciałkach Weibel-Palade'a ani w pęcherzykach wydzielniczych [27,50].

3.9. Interakcja apelina/receptor APJ

Po połączeniu się apeliny z receptorem APJ należącym do grupy receptorów metabotropowych związanych z białkiem G, dochodzi do substytucji cząsteczki guanozynodifosforanu (GDP) związanej z podjednostką α białka G, cząsteczką guanozynotrifosforanu (GTP), co skutkuje rozpadem kompleksu białka G na podjednostki α GTP i $\beta\gamma$ [7]. Podjednostki α , jak i $\beta\gamma$ wpływają na generowanie wtórnych przekźników oddziałując między innymi na cyklazę adenylanową (AC) i regulując powstawanie cAMP oraz na szlak fosfatydyloinozytolu, w którym fosfolipaza C (PLC) katalizuje hydrolizę tego związku do diacyloglicerolu (DAG) i trifosforanu inozytolu (IP_3). Podjednostki te, poprzez wpływ na syntezę wspomnianych wtórnych przekźników i aktywację przez nie kanałów jonowych (K^+ , Na^+ , Ca^{2+}) odpowiadają za efekt biologiczny komórki, który wyraża się między innymi jej skurczem, rozkurczem, zmianami przekźnictwa i metabolizmu. Jony Ca^{2+} , zgromadzone wewnątrz komórki na skutek aktywacji tego szlaku sygnalizacyjnego mogą brać udział w dalszej odpowiedzi biologicznej komórki np. związanej ze zmianą jej kurczliwości lub współuczestniczyć w ekspresji genów i syntezie białek, wówczas, gdy informacja zostanie przekazana do jądra komórkowego. Powrót do stanu spoczynkowego receptora następuje po odłączeniu grupy fosforanowej od GTP przy pomocy podjednostki α , posiadającej aktywność GTP-azy. Jedną z postulowanych dróg transdukcji sygnału dla apeliny miałyby zależeć od reakcji receptora APJ z białkiem G_i (podrodzina białek G hamująca AC) i szlaku fosfatydyloinozytolu, kinazy białkowej C (PKC) oraz kaskady kinaz regulowanych zewnątrzkomórkowo (ERK). Na tej drodze apelina wpływałaby na aktywność czynników transkrypcyjnych i syntezę białek. Z tym mechanizmem wiązało by się jej pozytywne inotropowe działanie wynikające ze wzrostu stężenia jonów Ca^{2+} wewnątrz komórki

i zwiększeniem wrażliwości na nie miofilamentów. Rola PKC w tym mechanizmie sprowadza się do aktywacji kanałów jonowych: Na^+/H^+ (NHE) i $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX) [55]. Hosoya i wsp. zwracają uwagę na ograniczenie pozytywnego inotropowego działania apeliny w kardiomiocytach w sytuacji zahamowania aktywności PLC, PKC lub wspomnianych wyżej kanałów jonowych [21]. Podobnie Hashimoto i wsp. dowiedli, że apelina wywołuje fosforylację łańcuchów lekkich miozyny, w komórkach mięśni gładkich naczyń, co ma główne znaczenie w zapoczątkowaniu skurczu mięśni. Według tych autorów również zahamowanie aktywności PKC, NHE, NCX, przekłada się na znaczącą redukcję tego efektu [56]. Kaskada kinaz ERK, jak i szlak fosfatydyloinozytolu biorą również udział w kontrolowaniu przez apelinę proliferacji komórek śródbłónka, jak w swojej pracy przytaczają Ladeiras-Lopes i wsp. [49]. Tatemoto i wsp. podkreślają, że większość naczyniowych efektów apeliny wynika z jej wpływu na aktywację śródbłonkowej izoformy syntazy tlenku azotu (eNOS), za którą prawdopodobnie odpowiada zaangażowana w szlak fosfatydyloinozytolu kinaza fosfatydyloinozytolu (PI3K) [33].

3.10. Regulacja wydzielania i ekspresji apeliny

Fizjologicznym bodźcem do wydzielania apeliny jest przyjmowanie pokarmu. W badaniu Hu i wsp. wykazano wzrost stężenia apeliny równoległe ze wzrostem stężenia insuliny w doustnym teście obciążenia glukozą (OGTT). Również insulina wpływając bezpośrednio na ekspresję genu dla apeliny stymuluje jej syntezę i wydzielanie do krwiobiegu (aktywacja PI3K, PKC i jednej z kinaz białkowych aktywowanych mioginem - p.38MAPK). Głód z kolei, hamuje sekrecję tego peptydu [57-60].

Podkreśla się także rolę hipoksji w sekrecji apeliny. W badaniu Han i wsp. dowiedziono, że niedotlenienie związane z obecnością stanu zapalnego w przewodzie pokarmowym, jest czynnikiem wpływającym na wzrost stężenia zarówno apeliny, jak i jej receptora APJ. Również w adipocytach, hipoksja stymulowała ekspresję apeliny i związany z jej aktywnością proces angiogenezy. Podobną reakcję zaobserwowano w hodowli komórek śródbłónka i komórkach mięśni gładkich naczyń, a także w płucach u gryzoni i w guzach nowotworowych [61-65].

Mechanizm molekularny regulujący ekspresję apeliny pozostaje nieznany. Badania przeprowadzone na niedotlenionych kardiomiocytach i adipocytach wskazują na udział

czynnika indukowanego przez hipoksję (HIF)-1, w tym procesie. Jest to czynnik transkrypcyjny, który promuje ekspresję genów zawierających fragment odpowiadający na niedotlenienie (HRE). Prawdopodobną obecność tego fragmentu wykryto w regionie promotorowym genu apeliny (pierwszy intron). Zaangażowanie wiązania HIF-1 α do HRE genu apeliny w indukowaną hipoksją ekspresję tego białka w badaniu na zwierzętach zaobserwowali Eyeris i wsp. Wykazali oni, że wpływ apeliny na wywoływaną niedotlenieniem proliferację komórek śródbłónka *in vivo*, jak i jej udział, w tym mechanizmie, w regeneracji naczyń u zwierząt, znoszony był w przypadku mutacji genu HIF-1, jak i mutacji genu apeliny [63,66,67].

Czynnikiem silnie stymulującym syntezę i sekrecję apeliny w adipocytach jest również hormon wzrostu, co wykazali w swoim badaniu Kralisch i wsp. [68].

3.11. Apelina a układ sercowo-naczyniowy

Apelina uczestniczy w fizjologii i patologii układu sercowo-naczyniowego poprzez zależne od śródbłónka działanie wazodylatacyjne, regulację przepływu naczyniowego i ciśnienia tętniczego [22,27,28]. Ponadto, podkreśla się jej wpływ na kurczliwość kardiomiocytów i rolę w rozwoju niewydolności serca [10,32,52,69]. Hamuje też proces zapalny w ścianie naczyniowej zmniejszając stężenie cytokin zapalnych i aktywację chemokin [2,70]. Wpływa na postęp procesu miażdżycowego [42,71]. Aktywności te, obserwowano zwłaszcza w badaniach eksperymentalnych.

Małyszko i wsp. w swoim badaniu zaobserwowała powyższy związek apeliny z rozwojem procesu zapalnego i funkcją śródbłónka u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek. Wykazała w nim istotne zależności pomiędzy stężeniem apeliny a stężeniem cytokin zapalnych [9]. Relacje te wykazała także w innym swoim badaniu u pacjentów po przeszczepie nerki z chorobą niedokrwinną serca i cukrzycą [72]. Udział apeliny w patogenezie choroby niedokrwiennej serca podkreśla się również w badaniu Li i wsp., jak i w *Kozani Study* [2,73]. Zwraca się też uwagę na związek apeliny z wartościami skurczowego ciśnienia tętniczego u pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym [12]. Funkcje apeliny i jej receptora APJ w układzie krążenia wydają się być przeciwstawne do działania układu RAA [42,74].

Na wspomniane wcześniej hipotensyjne działanie apelinu zwraca się uwagę w kilku badaniach przeprowadzonych na modelach zwierzęcych [22,26-28]. W badaniach na szczurach wykazano, że infuzja apelinu wywołuje spadek ciśnienia tętniczego wynikający ze wzrostu stężenia tlenku azotu (NO), co dowodzi, że apelina wpływa na wzrost syntezy i uwalniania NO z komórek śródbłoka [33].

NO powstaje z L-argininy, przez utlenianie jej N-końcowej grupy guanidynowej przy udziale NOS, w obecności tlenu oraz kofaktorów (NADPH, FAD) i tetrahydrobiopteryny (BH_4). Istnieją 3 formy tego enzymu: dwie konstytutywne i jedna indukowana. Apelina, podobnie jak inne cytokiny (IL-1b, TNF- α), a także acetylocholina, bradykinina, ADP, insulina, substancja P, czy estrogeny, pośredniczy w fosforylacji reszty serynowej w pozycji 1177 i aktywacji formy indukowanej syntazy tlenku azotu (iNOS) [74]. W ścianie naczyń krwionośnych, NO jako związek silnie lipofilny, dyfunduje od śródbłoka do komórek mięśni gładkich naczyń, gdzie bezpośrednio aktywuje cytoplazmatyczną, niezwiązaną z błonami komórkowymi, rozpuszczalną cyklazę guanylową, która katalizuje powstawanie cyklicznego guanozynomonofosforanu (cGMP). Z kolei cGMP, wpływa na fosforylację transmembranowych białek transportowych, zależną od kinaz białkowych, oraz powoduje zmniejszenie wewnątrzkomórkowego stężenia Ca^{2+} i zahamowanie czynności białek kurczliwych [30,75-78]. Na tej drodze NO wywołuje relaksację mięśni gładkich naczyń, działając najsilniej ze wszystkich związków endogennych. Mechanizm ten jest również uznawany za jeden z najbardziej znaczących w regulacji ciśnienia tętniczego. Postuluje się także inny mechanizm działania wazodylatacyjnego NO przez wywoływanie zależnej od otwarcia kanałów potasowych hiperpolaryzacji błony komórkowej, a także aktywacji cytozolowej ADP-rybozylotransferazy, odpowiedzialnej za uwalnianie neuroprzekaźników z pęcherzyków synaptycznych.

Aktywność NOS może być kompetycyjnie ograniczana przez miejscowo duże stężenia endoteliny-1 (ET-1) lub analogi L-argininy (L-NMMA). W badaniach wykazano, że dożylne podanie L-NMMA powoduje zwężenie naczyń i wzrost ciśnienia tętniczego, zwiększenie oporu naczyniowego, odruchową bradykardię, zmniejszenie pojemności minutowej serca, zmniejszenie przepływu krwi przez narządy i zwiększenie wydalania przez nerki Na^+ i wody [79]. Utrzymywane wówczas stałe napięcie naczyń krwionośnych, także potwierdza fakt ciągłego, podstawowego, wytwarzania NO, w niewielkich (pikomolowych), lecz stałych stężeniach, przy udziale konstytutywnej NOS (kNOS) [75,79]. Do wzrostu wytwarzania NO

powyżej podstawowego stężenia dochodzi przy zmianie napięcia ściany naczynia, zwiększeniu przepływu lub po pobudzeniu komórek śródbłonna przez wyżej wymienione substancje pośredniczące w aktywacji iNOS [75,79].

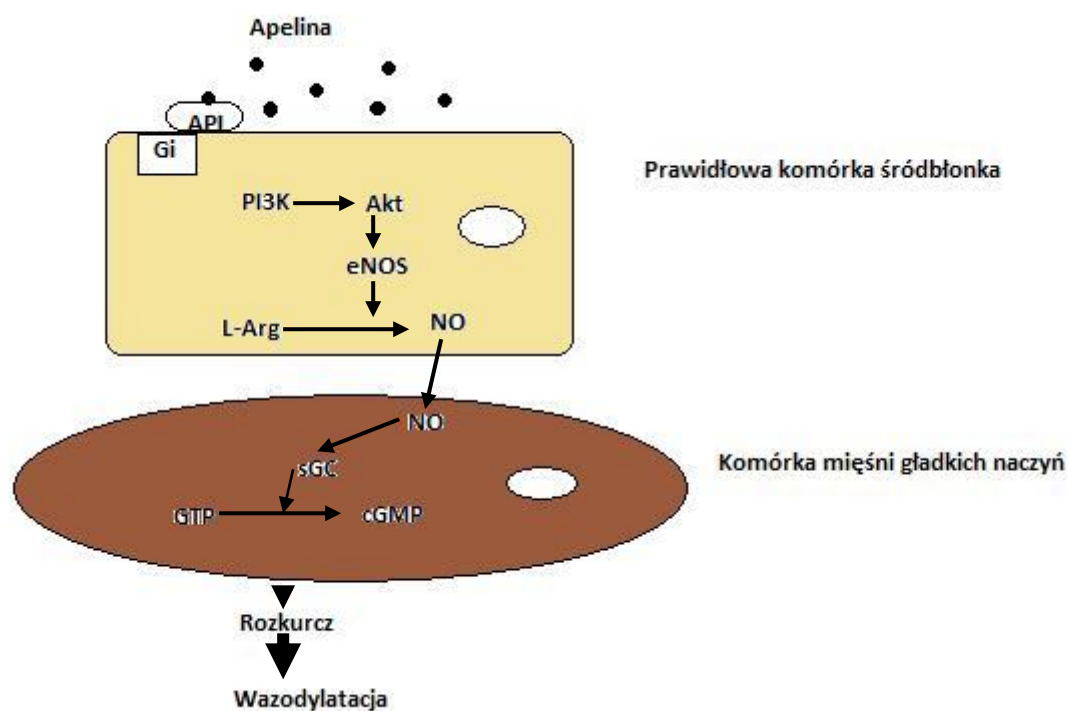
Na mechanizm działania wazodylatacyjnego apelinę związany ze wzrostem syntezy NO, wskazuje się w kilku badaniach, w których wykazano, że usunięcie śródbłonna lub ograniczenie aktywności iNOS związane jest z przewagą działania wazokonstrykcyjnego apelinę, wynikającego z jej bezpośredniego wpływu na komórki mięśni gładkich naczyń (aktywacja PLC i PKC) lub przewagi aktywności angiotensyny II [41,50,75,77,80]. Na wywieranie przez apelinę efektu wazodylatacyjnego w naczyniach tętniczych wskazuje się również w badaniu Japp i wsp. W badaniu tym również postulowanym pośrednikiem w wywoływaniu efektu wazodylatacyjnego jest NO, jako że efekt ten był znoszony po zastosowaniu inhibitorów NOS, a nie aspiryny [11].

Na możliwość wywoływania przez apelinę efektu wazodylatacyjnego przy udziale szlaku prostanoidów, a nie NO, wskazuje w swoim badaniu Maguire i wsp. Zaobserwował on, że efekt ten był, przeciwnie do wyników wcześniejszych badań, znoszony po zastosowaniu indometacyny, a nie obserwowano go po inkubacji z L-NAME. Jako, że swoje badanie przeprowadził on u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca, sugeruje, że wspomniany mechanizm działania apelinę w układzie krążenia może być związany z dysfunkcją śródbłonna w tej grupie badanej. U osób zdrowych nie obserwuje się bowiem wpływu zmiany aktywności cyklooksygenazy (COX), po zastosowaniu jej inhibitorów, na stopień napięcia i średnicę naczyń. Nawet jeśli zahamowanie aktywności COX bezpośrednio nie wpływa na zmiany ciśnienia tętniczego, to w przytoczonym badaniu sugeruje się, że uwrażliwia ono naczynia krwionośne na działanie czynników naczynioskurczowych, takich jak angiotensyna II. Autor sugeruje, że wazokonstrykcyjne działanie apelinę w tętnicach i żyłach pozbawionych śródbłonna jest porównywalne do tego, wywoływanego przez angiotensynę II, a wywoływany przez apelinę efekt wazodylatacyjny pośredniczony jest przez szlak prostanoidów [41].

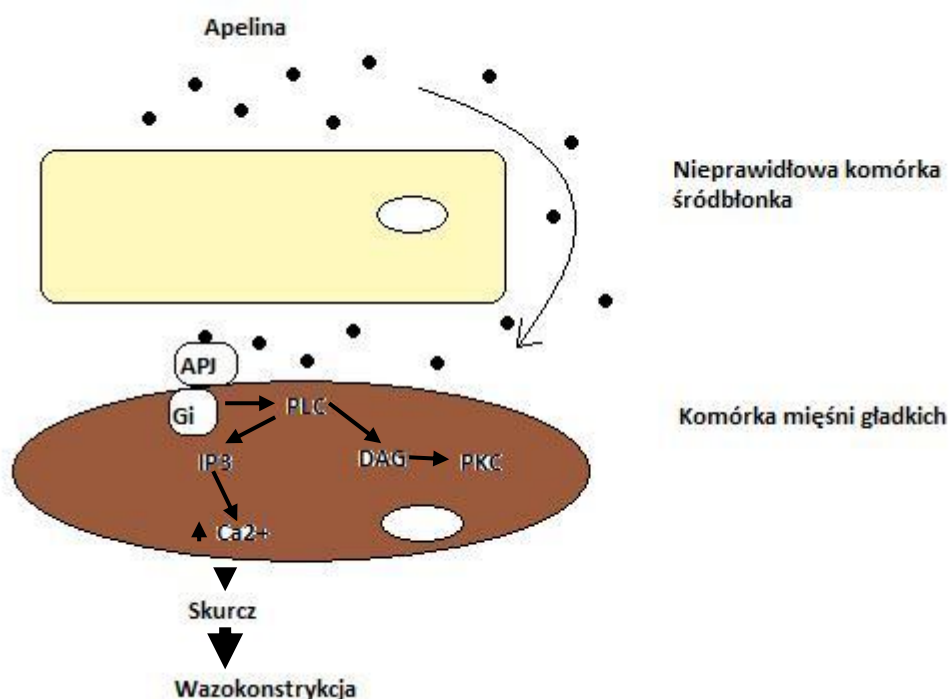
Na brak efektu wazodylatacyjnego pośredniczonego przez NO w naczyniach z upośledzoną funkcją śródbłonna wskazują w swoim badaniu również Salcedo i wsp. Zaobserwowali oni udział NO w wazodylatacji fragmentu tętnicy krezkowej pobranej od zdrowych osób, natomiast brak tego efektu w tętnicy wątrobowej pobranej od osób z marskością wątroby [81].

Zhong i wsp. podkreślają rolę apeliny w utrzymaniu równowagi pomiędzy aktywnością angiotensyny II i NO w patologii naczyń występującej w przebiegu cukrzycy. W swoim badaniu u gryzoni z cukrzycą wykazali, zależność pomiędzy niższym stężeniem apeliny a zwiększoną odpowiedzią wazokonstrykcyjną naczyń na angiotensynę II. Zauważyli oni także, że infuzja apeliny i wzrost jej osoczowego stężenia w tej grupie badanej wiązał się ze zmniejszeniem patologicznej odpowiedzi naczyń na angiotensynę II i acetylocholinę. Dowiedzionym przez autorów badania szlakiem, pośredniczącym w tym działaniu apeliny, było zwiększenie fosforylacji NOS i produkcji NO [74].

Być może wyjaśnienie mechanizmu działania wazodylatacyjnego i wazokonstrykcyjnego apeliny leży w analogii do działania ET-1. Może, podobnie jak w przypadku ET-1 i jej receptorów ETA, znajdujących się na komórkach mięśni gładkich naczyń i ETB, znajdujących się na komórkach śródbłónka, również odpowiedź po aktywacji przez apelinę receptora APJ w komórkach mięśniowych i komórkach śródbłónka, jest różna. Być może, podobnie jak aktywacja ETA przez ET-1, aktywacja APJ w komórkach mięśni gładkich wywołuje wazokonstrykcję przy udziale szlaku PLC, a aktywacja APJ w śródbłónku, analogicznie do aktywacji ETB, prowadzi do wazodylatacji, sprzyjając uwalnianiu NO i prostacykliny (PGI_2) [41,51,75,82,83]. Apelina, inaczej jednak niż ET-1, w obu rodzajach komórek oddziałuje tylko z jednym typem receptora APJ. W komórkach mięśni gładkich naczyń apelina przy udziale receptora APJ pośredniczy w fosforylacji kinazy łańcuchów lekkich miozyny, czego efektem jest wazokonstrykcja [41,56]. W prawidłowych komórkach śródbłónka, pośredniczy przez reakcję z tym samym receptorem w aktywacji mechanizmu ograniczającego ten efekt, w wazodylatacji [41,84]. Mechanizm działania apeliny na prawidłową i uszkodzoną komórkę śródbłónka ilustruje rycina 3 i 4.



Ryc. 3. Wewnątrzkomórkowe szlaki odpowiedzialne za efekty naczyniowe apeliny w przypadku prawidłowej funkcji śródbłónka (wazodylatacja). Modyfikacja własna za: Ladeiras-Lopes R, Ferreira-Martins J, Leite-Moreira AF. The apelinergic system: the role played in human physiology and pathology and potential therapeutic applications. *Arq Bras Cardiol.* 2008;90(5):343-9[49].



Ryc. 4. Wewnątrzkomórkowe szlaki odpowiedzialne za efekty naczyniowe apeliny w przypadku upośledzonej funkcji śródbłónka (wazokonstrykcja). Modyfikacja własna za: Ladeiras-Lopes R, Ferreira-Martins J, Leite-Moreira AF. *The apelinergic system: the role played in human physiology and pathology and potential therapeutic applications. Arq Bras Cardiol.* 2008;90(5):343-9[49].

Apelina ze względu na swoje przeciwstawne działanie do angiotensyny II, jak i z uwagi na mechanizm działania za pośrednictwem receptora metabotropowego, należącego do GPCR, porównywana jest również do angiotensyny 1-7 (Ang1-7), która powstaje z angiotensyny II przy udziale ACE2. Sampiro i wsp. sugerują, że oba związki wywierają efekt wazodylatacyjny w sposób analogiczny, wpływając na fosforylację NOS i produkcję NO [48,85]. Tallant i wsp. wskazują z kolei, na również podobny mechanizm działania obu związków przez hamowanie fosforylacji kinaz MAPK [48,86]. Gurzu i wsp. zwrócili uwagę na analogiczny udział szlaku prostanoidów w aktywności wazodylatacyjnej Ang1-7 i apeliny [87].

Efekt hipotensyjny apeliny, poza tą formą oddziaływania w układzie krążenia, wywołowany jest także ośrodkowo na drodze autokrynnej w neuronach podwzgórza, gdzie

peptyd ten hamuje uwalnianie ADH z jąder nadwzrokowych i przykomorowych, zmniejszając tym samym resorpcję zwrotną sodu i wody w części dalszej kanalików nerkowych i powodując nasilenie natriurezy [26,88].

Siła hipotensyjnego działania poszczególnych izoform apelinu budziła kontrowersje w wielu początkowych badaniach [23-25,30,40,41]. Sugerowano, że krótsze formy apelinu, w porównaniu z dłuższymi, wywierają silniejszy efekt wazodylatacyjny. W najnowszych badaniach Maguire i wsp. wykazali, że trzy główne formy apelinu (Pyr1)apelina-13, apelina-13 i apelina-36 w porównywalny sposób odwracały efekt wazokonstrykcyjny ET-1, w zakresie 40-50% [41].

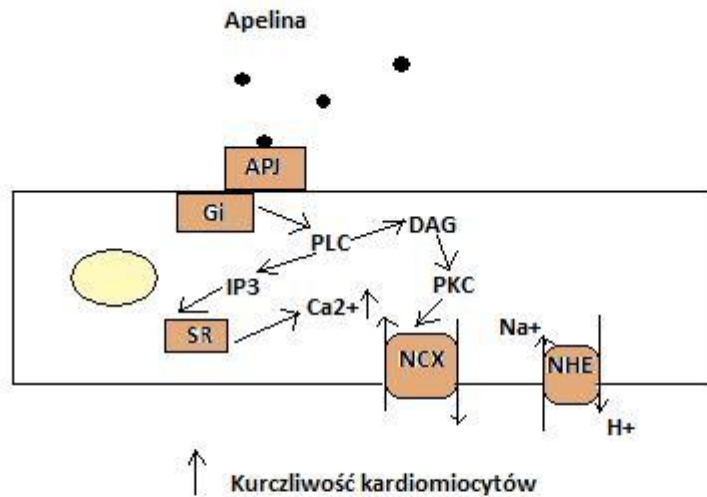
W jednym z pierwszych badań eksperymentalnych Tatemoto i wsp. donoszą o hipotensyjnym działaniu apelinu. Zaobserwowali oni u szczurów spadek średniego ciśnienia tętniczego po jej dożylnym podaniu. W wypadku apelinu-12 był to spadek o 26 ± 5 mmHg, przy podaniu apelinu-13 o 11 ± 4 mmHg, a w wypadku apelinu-36 o 5 ± 4 mmHg [33]. Podobnie w swoim badaniu Lee i wsp. zaobserwowali natychmiastowy, niezależny od podanej dawki (1 i 2 $\mu\text{g/kg}$ m.c.), spadek zarówno skurczowego, jak i rozkurczowego ciśnienia tętniczego po dożylnym podaniu apelinu. Podczas iniekcji mniejszej dawki w zakresie ciśnienia skurczowego była to redukcja o $10 \pm 1,9$ mmHg, w zakresie ciśnienia rozkurczowego o $13 \pm 2,8$ mmHg; podczas podania większej dawki wartości te były porównywalne i wynosiły odpowiednio: $9,8 \pm 1,2$ i $13,2 \pm 1,7$ mmHg. Czas trwania efektu hipotensyjnego był również porównywalny i wynosił 3-4 min [22].

Z kolei efekt hipertensyjny apelinu zaobserwowali w swoim badaniu Kagiya i wsp. Zarówno po dożylnej, jak i dokomorowej (w ośrodkowym układzie nerwowym) infuzji (Pyr)apelinu-13 zanotowali oni zależny od dawki wzrost średniego ciśnienia tętniczego (MAP) i czynności serca (HR). Przy infuzji dokomorowej 20 nmol był to wzrost MAP o 19 ± 3 mmHg, a przy infuzji dożylnej 50 nmol o 13 ± 2 mmHg. W badaniu tym zwrócono uwagę na ośrodkowe i obwodowe działanie apelinu w regulacji ciśnienia tętniczego, przy przewadze jej działania ośrodkowego [43].

W pierwotnym nadciśnieniu tętniczym zaobserwowano niższe stężenie apelinu, gdzie niezależnie od zaawansowania choroby, korelowało ono dodatnio z funkcją lewej komory serca, ocenianą w badaniu echokardiograficznym i ujemnie z wartością skurczowego ciśnienia tętniczego [8,12,35].

Niższe stężenie apeliny obserwowano także w łożysku u kobiet w ciąży powikłanej nadciśnieniem tętniczym. Korelowało ono ujemnie z wartościami ciśnienia tętniczego i ciężkością stanu przedrzucawkowego, co sugeruje udział apeliny również w patogenezie nadciśnienia tętniczego u kobiet ciężarnych [89].

W licznych badaniach eksperymentalnych podkreśla się rolę apeliny w zwiększaniu kurczliwości mięśnia sercowego [25-33,50]. Szokodi i wsp. w badaniach na szczurach wykazali, że apelina, podobnie jak ET-1, wywołuje efekt inotropowy dodatni w mięśniu sercowym [32,41,90-92]. Jej pozytywny wpływ na siłę skurczu mięśnia sercowego wynika ze zwiększania wrażliwości wewnątrzkomórkowego aparatu kurczącego na jony Ca^{2+} i następczego skracania sarkomerów. W mechanizmie zwiększania przez apelinę wewnątrzkomórkowego stężenia jonów Ca^{2+} podkreśla się udział PLC i PKC, których aktywacja prowadzi do wzrostu wymiany Na^+/H^+ w sarkolemmie, a tym samym do wewnątrzkomórkowej alkalizacji, wzrostu stężenia Na^+ w komórce i aktywacji NCX. Powyższe działanie apeliny zaobserwowano w kilku badaniach, również w takich, w których apelinę uważa się za jedną z najsilniejszych, a nawet najsilniejszą, dotychczas opisaną endogenną substancję o działaniu inotropowym dodatnim, określając siłę jej działania jako zbliżoną do działania izoprenaliny [22,26,30-32,35,51]. W oparciu o przeprowadzone badania u gryzoni, inotropowe działanie apeliny na mięsień sercowy tłumaczy się jej wpływem na aktywność współczulną, jakkolwiek obecność tego efektu, także w badaniach na izolowanym szczurzym mięśniu sercowym oraz lokalizacja APJ w szczurzych i ludzkich kardiomiocytach, sugeruje bezpośredni wpływ apeliny na mięsień sercowy [32,41,51,82,93-96]. Tezę tą popiera badanie na myszach, u których delecja genu apeliny skutkowałą, związaną z wiekiem, redukcją kurczliwości mięśnia sercowego [41,97]. Wpływ apeliny na kurczliwość kardiomiocytów przedstawia rycina 5.



Ryc. 5. Wewnątrzkomórkowe szlaki odpowiedzialne za pozytywny inotropowy efekt apeliny i jej receptora APJ w kardiomiocycie. Modyfikacja własna za: Ladeiras-Lopes R, Ferreira-Martins J, Leite-Moreira AF. *The apelinergic system: the role played in human physiology and pathology and potential therapeutic applications.* *Arq Bras Cardiol.* 2008;90(5):343-9[49].

Ashley i wsp. w badaniu eksperymentalnym u myszy, zwrócili uwagę na brak wpływu apeliny na masę mięśnia sercowego i jego przerost, do którego często dochodzi w wyniku aktywności substancji wpływających na jego kurczliwość. Ochronne działanie apeliny na układ sercowo - naczyniowy tłumaczyli jednoczesnym wpływem apeliny na zmniejszenie obciążenia wstępnego i następczego mięśnia sercowego na drodze działania wazodylatacyjnego [93]. Natomiast Foussal i wsp. w swoim badaniu dowiedli, że apelina nie tylko nie wpływa destrukcyjnie na masę mięśnia sercowego, ale - co więcej - zapobiega jego hipertroficznej, zależnej od stresu oksydacyjnego, przebudowie, przez wpływ na wzrost aktywności katalazy mięśnia sercowego i zmniejszenie stężenia ROS (nadtlenku wodoru) [98]. Podobnie w licznych innych badaniach obserwowano ochronny wpływ apeliny na mięsień sercowy [22,28-32,46,52,88].

W niektórych pracach oceniano wpływ apeliny na siłę skurczu mięśnia sercowego w niewydolności tego narządu. W badaniach na modelach zwierzęcych, jak i u ludzi, zwraca się uwagę na udział apeliny w patogenezie niewydolności serca przez jej neutralizujący wpływ na szkodliwe efekty działania angiotensyny II [88]. Chen i wsp. wykazali wzrost stężenia apeliny w surowicy krwi w początkowych stadiach choroby (NYHA I i II) [31]. W zaawansowanej niewydolności serca obserwowano natomiast spadek stężenia apeliny [77].

Postuluje się istnienie związku między progresją niewydolności serca a niskim stężeniem apeliny, które może wynikać ze zmniejszenia jej syntezy wraz ze stopniem uszkodzenia śródbłonna. Brak dodatniego efektu inotropowego apeliny w zaawansowanej niewydolności serca próbuje się również tłumaczyć zjawiskiem down-regulation receptora APJ [78]. Bezsprzecznie, utrata dodatniego inotropowego działania w niewydolnym mięśniu sercowym wiąże się z dalszym postępowaniem choroby i pogorszeniem sprawności układu sercowo-naczyniowego [41].

W badaniach eksperymentalnych zaobserwowano przedwczesne zaburzenia funkcji mięśnia sercowego u gryzoni pozbawionych genu apeliny [97,99]. W niewydolności serca rozwijającej się na tle kardiomiopatii rozstrzeniowej zanotowano 3-krotny wzrost stężenia apeliny, w rozwijającej się na podłożu choroby niedokrwiennej - aż 5-krotny wzrost stężenia tego białka [31,100].

Wyniki przeprowadzonych doświadczeń na modelach zwierzęcych sugerują ochronny wpływ apeliny na kardiomiocyty w trakcie ostrego zawału mięśnia sercowego [101]. W kilku pracach dowiedziono, że podawana egzogennie apelina zmniejsza, związane z niedokrwieniem, uszkodzenie mięśnia sercowego [97,102,103]. Zwrócono uwagę, że infuzja apeliny podczas tego procesu może przyczynić się do utrzymania jego funkcji [88]. Niektórzy badacze sugerują, że apelina zmniejsza obszar zawału i chroni kardiomiocyty przed uszkodzeniem niedokrwienno-reperfuzyjnym przez aktywację szlaku kinaz antyapoptotycznych (RISK), w którym uczestniczą: PI3K/Akt, p44/42 MAPK i ERK1/2 [102,104]. Inni sugerują, że mechanizm protekcyjnego działania apeliny na niedokrwiony mięsień sercowy jest niezależny od tego szlaku [103]. Zhang i wsp. wykazali, że układ apelina/receptor APJ ulega zwiększonej ekspresji w ciągu 24 godzin od, wywołanego brakiem glukozy, uszkodzenia mięśnia sercowego, natomiast przedłużona ekspozycja na brak glukozy wiązała się z zahamowaniem ekspresji apeliny w kardiomiocytach. Próbuje się tłumaczyć to

zjawisko zmianami w ciężkości uszkodzenia mięśnia sercowego związanymi z różnym stopniem aktywacji układu RAA, który może działać supresyjnie na ekspresję apeliny, jak również mechanizmem hamowania zwrotnego. W badaniu tym dowiedziono również, że apelina wpływa ujemnie na apoptozę szczurzych kardiomiocytów przez regulację ekspresji Bax, Bcl-2 i kaspazy-3 [104].

W niektórych badaniach jednak, przeprowadzonych w populacji pacjentów z ostrym STEMI, zaobserwowano znaczny spadek stężenia apeliny w surowicy krwi we wczesnej fazie zawału (pierwsze 5 dni), zwłaszcza u pacjentów z pierwszym epizodem wieńcowym. Co więcej, istotny spadek stężenia apeliny w tym okresie wiązał się z większym ryzykiem wystąpienia ponownego epizodu sercowo - naczyniowego w ciągu najbliższego roku [105-107]. W *Kozani Study* wykazano, że obecność choroby niedokrwiennej serca znacząco korelowała z niższymi stężeniami apeliny. Pacjenci z niestabilną dusznicą bolesną i zawałem mięśnia sercowego w chwili przyjęcia do szpitala mieli niższe stężenia apeliny w porównaniu z grupą pacjentów z bezobjawową postacią choroby [2]. Również Weir i wsp. oraz Maguire i wsp. udokumentowali niższe stężenia apeliny u pacjentów z ostrym zawałem mięśnia sercowego [8,41]. W przytaczanym wcześniej badaniu *Kozani Study* zaobserwowano odwrotną zależność pomiędzy stężeniem apeliny a ciężkością przebiegu i ostrą fazą choroby, co sugeruje zaangażowanie apeliny w progresję zmian miażdżycowych i jej udział w destabilizacji blaszek miażdżycowych w tętnicach wieńcowych. Autorzy badania sugerują również, że wyższe stężenie apeliny stanowi niezależny czynnik determinujący oceniane angiograficzne zaawansowanie choroby niedokrwiennej serca u bezobjawowych pacjentów [2].

Korzystne, przeciwstawne do elementów układu RAA, działanie apeliny w układzie sercowo-naczyniowym wyraża się między innymi przez odwracanie aktywności aterogennej angiotensyny II. W badaniu Chun i wsp. infuzja apeliny u myszy znosiła niekorzystny wpływ angiotensyny II na rozwój procesu miażdżycowego i przebudowę ściany naczyniowej. Dowiedziono, że ingerencja apeliny w te procesy odbywała się na drodze zależnej od tlenu azotu, jak i przez jej wpływ hamujący na aktywację wewnątrzkomórkowych szlaków sygnalizacyjnych zależnych od angiotensyny II [42].

Związek apeliny z układem naczyniowym wyraża się także przez jej zaangażowanie w proces angiogenezy, gdzie podkreśla się rolę zjawiska up-regulation receptora APJ

i zwiększenia ekspresji tego hormonu. W badaniach eksperymentalnych zwrócono uwagę na wzrost stężenia receptora APJ i apeliny w śródbłonku i komórkach mięśni gładkich naczyń podczas wczesnej embriogenezy u gryzoni [63,66,108,109]. Zauważono, że układ apelina/receptor APJ jest odpowiedzialny za prawidłowy rozwój naczyń siatkówki w zwierzęcych embrionach [108]. Zaobserwowano także silną stymulację proliferacji komórek śródbłonka w hodowlanych ludzkich żyłach pępowinowych przez apelinę-13, przy udziale PI3K/Akt, PKC i ERK [52]. Zaobserwowano znaczącą rolę apeliny i jej receptora APJ w procesie angiogenezy w tkance tłuszczowej [62]. Obserwowano wpływ apeliny na ostateczną wielkość (średnicę) naczyń krwionośnych podczas tego procesu [109]. Wykazano, że apelina w obecności czynnika wzrostu śródbłonka (VEGF) stymuluje proliferację komórek śródbłonka i ich agregację. Autorzy postulują, że wydzielanie apeliny przez komórki śródbłonka odbywa się z udziałem indukowanej formy receptora Tie2 kinazy tyrozynowej zaangażowanego w proces stabilizacji i przebudowy ściany naczyniowej. Pośredniczy w tym procesie VEGF oraz szlak PI3K/Akt i p.38 MAPK [109-111]. U gryzoni pozbawionych genu apeliny obserwowano wąskie naczynia krwionośne podczas procesu ich tworzenia [109,112]. Negatywny efekt wpływu apeliny na angiogenezę obserwujemy w procesie rozwoju guzów nowotworowych [64,108]. Sorli podaje, że hormon ten ulega zwiększonej ekspresji i na drodze parakrynniej reguluje proces neoangiogenezy w jednej trzeciej guzów występujących u ludzi [64]. Podkreśla się także negatywny wpływ apeliny na rozwój retinopatii cukrzycowej [113].

3.12. Apelina a gospodarka węglowodanowa i insulinooporność

Poza rolą, jaką apelina odgrywa w układzie krążenia, podkreśla się także jej wpływ na gospodarkę węglowodanową. Zwraca się uwagę na podobny efekt działania apeliny i insuliny, choć działanie to odbywa się w różnych mechanizmach [57]. Apelina, podobnie jak insulina, obniża stężenie glukozy w surowicy, zwiększając jej wchłanianie i zużycie przez komórki mięśni szkieletowych i tkanki tłuszczowej. Efekt ten odbywa się przy udziale fosforylacji PI3K/Akt i jest częściowo pośredniczony przez szlak AMP-kinazy, która odgrywa kluczową rolę w metabolizmie tych tkanek [57,114]. W badaniach u ludzi i zwierząt wykazano, że stężenie apeliny wzrasta wraz ze wzrostem stężenia insuliny po spożyciu pokarmu (wykazano wzrost jej stężenia w surowicy po 2 godzinach w OGTT), natomiast głód

hamuje sekrecję tego peptydu [57]. Insulina, wpływając bezpośrednio na ekspresję genu dla apeliny, stymuluje jej syntezę i wydzielanie do krwiobiegu i odwrotnie - apelina hamuje zwrotnie sekrecję insuliny [58,59,115,116].

Boucher i wsp. wykazując ekspresję i sekrecję apeliny w tkance tłuszczowej, zanotowali znacznie podwyższone stężenia tego peptydu w badaniach eksperymentalnych u otyłych myszy. Zwrócili oni uwagę na fakt, że wzrost stężenia apeliny w adipocytach wiąże się bezpośrednio ze wzrostem stężenia insuliny. Wykazali, że brak insuliny jest związany z obniżoną ekspresją apeliny w tkance tłuszczowej oraz że ekspresja ta jest hamowana w okresie głodu, podobnie jak ekspresja insuliny, i przywracana po podaniu pokarmu. W pracy tej postuluje się także, że to wpływ insuliny na ekspresję apeliny odpowiada za jej osoczowe stężenie. Podobne wyniki wspomniani badacze uzyskali także w badaniu u ludzi, obserwując wyższe stężenia apeliny u otyłych mężczyzn w porównaniu ze szczupłą grupą kontrolną [59].

O syntezie apeliny w adipocytach mówi też w swojej pracy Dray i wsp. W badaniu eksperymentalnym zwrócił uwagę na zwiększone stężenie apeliny u otyłych myszy z hiperinsulinemią. Wykazał też, że apelina zwiększa tolerancję glukozy i jej utylizację w otyłości i związanej z nią insulinooporności. Podobne wyniki uzyskał też u otyłych mężczyzn [60].

Wyższe stężenia apeliny u osób otyłych zaobserwowano także w badaniu Ziory i wsp. W badaniu tym podkreśla się również wpływ insuliny i przyjmowania pokarmu na osoczowe stężenie apeliny. Zanotowano w nim niższe stężenia apeliny u pacjentów z anoreksją w porównaniu do osób z prawidłową masą ciała i otyłych, jak również dodatnią korelację pomiędzy wskaźnikiem masy ciała (BMI) a stężeniem apeliny w grupie z prawidłową masą ciała. Nie wykazano powyższej zależności u pacjentów z anoreksją, ani u osób otyłych [117].

Również Heinonen i wsp. zanotowali znacząco wyższe stężenia apeliny-12 w osoczu osób dorosłych z otyłością olbrzymią. Były one trzykrotnie wyższe niż u otyłych osób w badaniu Ziory i wsp., co autorzy wiążą ze stopniem zaawansowania otyłości ($BMI > 40 \text{ kg/m}^2$) w powyższym badaniu. Autorzy tego badania zanotowali także inaczej niż Ziory i wsp. dodatnią korelację pomiędzy stężeniem apeliny i BMI, podobnie jak pomiędzy stężeniem leptyny a tym wskaźnikiem w tej grupie osób [118].

W cytowanym wcześniej badaniu, u myszy pozbawionych ekspresji genu apeliny, Yue i wsp. dowiedli, że niedobór apeliny w tej populacji wiązał się ze zmniejszoną wrażliwością na insulinę, zwiększonym jej stężeniem i obniżonym stężeniem adiponektyny, a 4-tygodniowa dożylna infuzja (Pyr1)apeliny-13 zarówno w tej grupie badanej, a także u otyłych myszy z wyindukowaną cukrzycą, zwiększała insulinowrażliwość. Autorzy tego badania sugerują również, że wywoływana przez apelinę redukcja tkanki tłuszczowej jest związana z jej bezpośrednim (bez udziału receptora APJ, którego ekspresji nie wykazano w brunatnej tkance tłuszczowej) wpływem na metabolizm energetyczny brunatnej tkanki tłuszczowej (regulacja wydatku energetycznego i termogenezy) poprzez zwiększenie ekspresji termogeniny (UCP-1) [114].

W badaniu Mazzucotelli i wsp. zauważono, że podobnie jak na stężenie adiponektyny, również na stężenie apeliny w adipocytach, z kolei białej tkanki tłuszczowej, pozytywnie wpływają agoniści receptorów aktywowanych przez proliferatory peroksysomów (PPAR γ). Stwierdzono, że nadekspresja jednego z nich, kluczowego dla termogenezy koaktywatora receptora PPAR γ - PGC-1 α , w ludzkich i mysich komórkach tłuszczowych stymulowała ekspresję i sekrecję apeliny. Autorzy sugerują, że apelina może pośredniczyć w działaniu PGC-1 α w tkance tłuszczowej i w tym mechanizmie wpływać na metabolizm energetyczny tej tkanki (wzrost ekspresji UCP-1) [119].

W pracy Castan-Laurell i wsp. zauważono, że osoczowe stężenia apeliny są podwyższone również u osób otyłych z towarzyszącą insulinopornością. W badaniu tym oceniano wpływ diety redukującej na osoczowe stężenie apeliny i czynnika martwicy nowotworów α (TNF- α) u otyłych kobiet i wykazano, że wyższe w grupie otyłych stężenia apeliny, TNF- α , insuliny, ulegają obniżeniu wraz ze spadkiem BMI. W badaniu tym sugeruje się, że u osób otyłych po redukcji masy ciała, spadek osoczowego stężenia apeliny jest wynikiem zmniejszenia jej ekspresji w tkance tłuszczowej [120].

W badaniu eksperymentalnym u myszy Higuchi i wsp. wykazali, że dożylna infuzja apeliny przez 14 dni, obniżała masę białej tkanki tłuszczowej oraz osoczowe stężenia glukozy, insuliny i triglicerydów. W badaniu tym dowiedziono również, że apelina reguluje wrażliwość tkanek obwodowych na insulinę przez zwiększenie osoczowego stężenia adiponektyny oraz, że wpływa ujemnie na osoczowe stężenie leptyny. Zanotowano także jej wpływ na ekspresję białek UCP: UCP-1 w brunatnej tkance tłuszczowej i UCP-3 w mięśniach

szkieletowych, związaną ze wzrostem termogenezy i wydatku energetycznego w tych tkankach [121].

Odmienne wyniki uzyskali Lasa i wsp., którzy w badaniu u gryzoni nie wykazali, że dieta wysokotłuszczowa i wysokowęglowodanowa, związana z przyrostem tkanki tłuszczowej i rozwojem insulinooporności wpływa na stężenie apelininy. Podobnie redukcja masy ciała i przywrócenie wrażliwości tkanek obwodowych na insulinę nie powodowało zmian w jej stężeniu [122].

W badaniu Castan-Laurell i wsp., w którym zanotowano wyższe stężenia apelininy u osób otyłych, zaobserwowano, że apelina zmniejsza insulinooporność w początkowych stadiach rozwoju cukrzycy typu 2. Na podstawie przeprowadzonych badań nad związkiem apelinemii i insulinemii u osób z cukrzycą typu 2 i otyłością postawiono hipotezę o jednoczesnym narastaniu zjawiska apelinoooporności i insulinooporności w przebiegu tego schorzenia. Wskazuje na to brak wspomnianego wyżej pozytywnego efektu poprawiającego tolerancję glukozy i działanie insuliny u osób w bardziej zaawansowanych stadiach choroby. Sugeruje się, że być może w tych sytuacjach wyczerpują się dalsze możliwości wzrostu stężenia apelininy i nie jest ona już w stanie wpływać na postępującą w miarę trwania choroby hiperglikemię. Z drugiej strony, być może, bez udziału apelininy, wzrost insulinooporności byłby większy, a rozwój cukrzycy nastąpiłby wcześniej. Sugeruje się przy tym, że nadprodukcja apelininy w otyłości może stanowić mechanizm ochronny przed rozwojem związanych patogenetycznie z otyłością: wspomnianej cukrzycy typu 2 czy też schorzeń układu sercowo - naczyniowego. W pracy tej ze względu na wpływ na wydzielanie insuliny i poprawę innsulinowrażliwości, apelinę przyrównuje się do innych hormonów tkanki tłuszczowej, takich jak wisfatyna, adiponektyna, leptyna czy rezystyna. Podkreśla się także synergizm w działaniu TNF- α i apelininy w rozwoju przewlekłego procesu zapalnego u osób z otyłością i insulinoopornością [57].

Porównując apelinę i leptynę wskazuje się na kilka podobieństw między tymi adipocytokinami takich jak, negatywny wpływ na wydzielanie insuliny w tkance tłuszczowej, a także ujemny wpływ na bilans energetyczny. Analogicznie do wielkości stężeń leptyny, w stanach zmniejszonej zawartości tkanki tłuszczowej, takich jak anoreksja czy lipodystrofia, także stężenia apelininy u osób z obniżonym BMI są niższe, w porównaniu do osób otyłych czy osób z prawidłowym BMI. Być może istnieje również analogia pomiędzy zjawiskiem

apelino- i leptynooporności u osób z nadmierną masą ciała i tkankową opornością na insulinę [117,118,123,124,125].

3.13. Apelina a proces miażdżycowy

Bardzo ciekawym zagadnieniem jest rola apeliny w rozwoju miażdżycy. Hashimoto i wsp. w swoim badaniu analizowali związek układu apelina/receptor APJ z procesem miażdżycowym. Wykazali, że wspomniany układ jest pośrednikiem stresu oksydacyjnego w ścianie naczyń i w tym mechanizmie stanowi istotny czynnik rozwoju miażdżycy, zwłaszcza w warunkach diety o dużej zawartości cholesterolu. W cytowanej pracy, badając funkcję receptora APJ na zwierzętach transgenicznym, wykazano że brak ekspresji jego genu jest czynnikiem przeciwdziałającym miażdżycy związanej ze stresem oksydacyjnym. Naczyniowa produkcja ROS i ekspresja oksydazy NADPH była niższa, a redukcja obecnych już zmian miażdżycowych większa, w populacji pozbawionej ekspresji genu APJ i apolipoproteiny E (ApoE) karmionej dietą o dużej zawartości cholesterolu, w porównaniu do populacji pozbawionej wyłącznie ekspresji genu ApoE i karmionej tą samą dietą. Te właściwości układu apelina/receptor APJ wykazują podobieństwo do aterogennego działania układu angiotensyna II/receptor AT-1. Autorzy sugerują, że identyfikacja antagonisty receptora APJ może stanowić ewentualny cel działań terapeutycznych, mających na celu zapobieganie rozwojowi miażdżycy. Z drugiej strony, w pracy tej zwraca się również uwagę na protekcyjną rolę układu apelina/receptor APJ w aterogenezie, ze względu na jego działanie śródbłonkowe (fosforylacja NOS, wzrost uwalniania NO i jego działanie wazodylatacyjne). Podkreśla się dwufazowe działanie układu apelina/receptor APJ w naczyniach krwionośnych: związane z wazodylatacją zależną od śródbłonka oraz związane z wazokonstrykcją zależną od komórek mięśni gładkich naczyń. Zdaniem badaczy rola apeliny i jej receptora w zdrowych naczyniach może nie być oczywista (badana populacja pozbawiona ekspresji genu APJ nie wykazywała znaczących odchyleń w parametrach metabolicznych, w tym w profilu lipidowym) i różnić się od jej funkcji w stanach chorobowych, kiedy mamy do czynienia ze zmniejszoną rolą NO, ze względu na dysfunkcję śródbłonka (knockout genu ApoE).

W tych stanach, według badaczy, może ujawniać się szkodliwy wpływ apeliny na rozwój procesu miażdżycowego. Pomimo zachowania pozytywnego wpływu apeliny na

aktywność NOS, przeważa wówczas jej rola w rozwoju miażdżycy związana z wpływem na proliferację komórek mięśni gładkich naczyń zależną od stresu oksydacyjnego [71].

3.14. Inne postulowane działania apeliny

Rola apeliny w układzie wewnątrzwydzielniczym, poza wpływem na wydzielanie insuliny oraz ADH, wyraża się także przez jej wpływ na wzrost uwalniania kortykoliberyny z podwzgórza, hormonu adrenokortykotropowego z przedniego płata przysadki i kortykosteronu z nadnerczy, oraz przez jej udział w hamowaniu sekrecji prolaktyny, tyreotropiny i gonadotropin [126]. Poza tym, wykazano również jej wpływ na wzrost uwalniania oksytocyny z jąder przykomorowych (PVN) i nadwzrostowych podwzgórza oraz zaobserwowano wzrost jej stężenia w gruczole piersiowym wraz z czasem trwania ciąży, ze szczytem przy porodzie i spadkiem wraz z laktacją [23,24]. Ponadto apelinę uważa się za marker komórek endokrynnych w przewodzie pokarmowym, gdyż jest ona wydzielana przez komórki APUD produkujące chromograninę A [37].

Apelina bierze udział w regulacji gospodarki wodnej, wpływając na uwalnianie hormonów przysadki oraz na podwzgórzową regulację przyjmowania pokarmu i wody [25-33]. Bierze tym samym udział w regulacji pragnienia i apetytu [127]. Sugeruje się, że jej rola polega na hamowaniu pragnienia i produkcji ADH [128]. Reux i wsp. zauważyli, że dokomorowa infuzja apeliny-13 redukuje przyjmowanie wody o 30% u szczurów pozbawionych do niej dostępu przez dobę [126]. Zwraca się uwagę na odmienną rolę apeliny w stanie niedostatecznej podaży wody, gdy mamy do czynienia z wysokimi stężeniami angiotensyny. Sunter i wsp. zwracają uwagę na wpływ apeliny na przyjmowanie pokarmu [129]. W badaniu tym wykazano, że dożylna infuzja apeliny-13 nie wpływa na apetyt, zarówno u szczurów pozbawionych jedzenia przez 24h, jak i u tych ze swobodnym dostępem do pokarmu. Odmienny efekt obserwowano w trakcie infuzji dokomorowej, która wiązała się z ograniczeniem przyjmowania pokarmu, zarówno u szczurów pozbawionych pokarmu przez 24h, jak i w populacji ze swobodnym do niego dostępem [129].

Poza wpływem na proliferację komórek śródbłonna i formowanie nowych naczyń, obserwuje się także *in vitro* wpływ apeliny na proliferację komórek żołądka [54]. Podwyższone stężenie apeliny notuje się także w chorobach wątroby - w marskości oraz w niealkoholowej stłuszczeniowej chorobie wątroby [130].

Niektórzy autorzy sugerują, że stężenie apeliny koreluje dodatnio ze stężeniami triglicerydów, co - podobnie jak zaangażowanie tego hormonu w gospodarkę węglowodanową i zjawisko insulinooporności - może być dowodem na udział apeliny w rozwoju procesu miażdżycowego i jego powikłań [131].

Inni autorzy zwracają uwagę na rolę receptora APJ apeliny jako alternatywnego koreceptora w infekcji komórek CD4⁺ w ośrodkowym układzie nerwowym wirusem HIV. Apelina, łącząc się z tym receptorem na komórkach CD4⁺, blokuje jego dostępność dla wirusa HIV i przez to uniemożliwia wniknięcie wirusa HIV do komórki. Te właściwości receptora APJ zaobserwowano *in vitro* w kilku badaniach [26,29,30,36,38,132].

Stężenie apeliny badano także w diagnostyce duszności u pacjentów z przewlekłą śródmiażdżową chorobą płuc i niewydolnością serca. Wykazano niższe stężenia apeliny u osób z chorobą płuc i zachowaną funkcją mięśnia sercowego. Autorzy zasugerowali, że zależność ta czyni z apeliny kandydata na markera w diagnostyce różnicowej duszności, wiarygodniejszego od BNP, którego wzrost stężenia obserwuje się zarówno w niewydolności serca, jak i chorobie śródmiażdżowej płuc [133,134].

W badaniu Higuchi i wsp. wykazano, że przez wpływ na ekspresję białek UCP w tkankach obwodowych apelina podnosi temperaturę ciała i zwiększa zużycie tlenu, jak również zmniejsza współczynnik oddechowy [121].

Ekspresję apeliny i receptora APJ wykazują także osteoblasty. W badaniu Xie i wsp. udokumentowano hamowanie przez apelinę apoptozy ludzkich osteoblastów wywołanej niedokrwieniem. W innym badaniu tego samego autora wykazano z kolei, że pobudza ona również ich proliferację. Autor podkreśla, że jej działanie antyapoptotyczne w osteoblastach jest pośredniczone przez szlak sygnalizacyjny APJ/PI3K/Akt [115,135].

Z kolei wpływ apeliny na apoptozę komórek mięśni gładkich naczyń analizowano w pracach Xie i wsp. oraz Rong-Rong i wsp. Wykazano w nich, podobnie jak w przypadku osteoblastów, stymulowane apeliną hamowanie apoptozy komórek mięśni gładkich naczyń wywołanej niedokrwieniem. Także to, antyapoptyczne działanie apeliny, odbywało się - w opinii badaczy - szlakiem APJ/PI3K/Akt [135,136].

4. Nadciśnienie tętnicze a wskaźniki antropometryczne, wybrane czynniki ryzyka i markery rozwoju chorób układu sercowo - naczyniowego oraz parametry biochemiczne

4.1. Adipocytokiny

4.1.1. Adiponektyna

Adipocytokiny wydają się łączyć patogenetycznie otyłość, zapalenie i proces miażdżycowy, odgrywając rolę w rozwoju chorób układu sercowo - naczyniowego, w tym nadciśnienia tętniczego [2]. Spośród nich, adiponektyna ma udowodniony związek z czynnikami ryzyka sercowo - naczyniowego, takimi jak zaburzenia gospodarki węglowodanowej, insulinooporność, nadmierna masa ciała, podwyższone wartości ciśnienia tętniczego, czy dodatni wywiad rodzinny w kierunku wyżej wspomnianych chorób. Wykazano również, że niskie stężenie adiponektyny koreluje dodatnio z rozwojem procesu zapalnego i miażdżycowego, zaburzeniami gospodarki węglowodanowej i wiąże się z wyższym ryzykiem rozwoju chorób układu sercowo - naczyniowego i cukrzycy [137-140]. Obniżone stężenie adiponektyny w osoczu jest obecnie uważane za nowy czynnik ryzyka rozwoju nadciśnienia tętniczego, cukrzycy i miażdżycy naczyń. Podkreśla się też dodatnią korelację apelininy ze stężeniem frakcji HDL-cholesterolu [7].

Wykazano, że adiponektyna zwiększa insulinowrażliwość, co wiąże się również z jej działaniem przeciwmiażdżycowym [141,142]. U osób z nadciśnieniem tętniczym niższe stężenia adiponektyny stwierdza się u osób z towarzyszącą insulinoopornością, niż u osób bez insulinooporności [140].

Adiponektyna zwiększa aktywność eNOS. Zmniejszone stężenie adiponektyny wiąże się z zależnym od śródbłonna upośledzeniem rozkurczu naczyń krwionośnych, co może być jednym z mechanizmów rozwoju nadciśnienia tętniczego i miażdżycy w otyłości [142]. U osób z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym i prawidłową masą ciała obserwujemy również obniżone stężenia adiponektyny [139]. W badaniu pacjentów określonych jako dippers i nondippers dowiedziono, że niskie stężenie adiponektyny koreluje ujemnie zarówno ze średnią wartością skurczowego i rozkurczowego ciśnienia tętniczego, jak i z obecnością nocnego spadku ciśnienia tętniczego w całodobowym pomiarze, co może wskazywać na istotny wpływ adiponektyny na ciężkość przebiegu nadciśnienia tętniczego [139]. Adiponektyna uważana jest także za czynnik predylekcyjny powikłań narządowych

w nadciśnieniu tętniczym i zespole metabolicznym, takich jak pogrubienie kompleksu intima - media tętnic szyjnych i przerost lewej komory serca [143].

Przeciwniażdżycowe działanie adiponektyny, antagonistyczne w stosunku do działania angiotensyny II, związane jest nie tylko z wpływem na produkcję tlenku azotu, także z pozytywnym wpływem na regenerację uszkodzonego śródbłónka, na hamowanie adhezji komórek zapalnych do komórek śródbłónka, hamowanie powstawania komórek piankowatych i ujemnym wpływem na proliferację komórek mięśni gładkich naczyń [144].

Zauważono, że leczenie hipotensyjne wpływa korzystnie na stężenie adiponektyny i insulinowrażliwość [145]. Postuluje się, że inhibitory ACE1, ale także leki przeciwcukrzycowe (pochodne tiazolidynodionu/ agoniści receptorów PPAR γ) charakteryzujące się pozytywnym wpływem na stężenie adiponektyny, mogą zostać wykorzystane w prewencji chorób układu sercowo - naczyniowego w grupie osób podwyższonego ryzyka.

4.1.2. Leptyna

Leptyna jest adipocytokiną produkowaną w tkance tłuszczowej w wyniku transkrypcji genu *ob*. Jej wydzielanie zwiększa się pod wpływem takich czynników jak: insulina, glikokortykosteroidy, estrogeny i katecholaminy, stymulacja receptorów α -adrenergicznych, angiotensyna II, cytokiny, dieta z dużą zawartością tłuszczu; zmniejsza się natomiast podczas głodzenia, stymulacji β 3-adrenergicznej, stymulacji receptorów PPAR γ (tiazolidynodionu) tkanki tłuszczowej, a także przy udziale wolnych kwasów tłuszczowych, androgenów i hormonu wzrostu. Jej rolą jest przekazywanie informacji do ośrodkowego układu nerwowego (neurony podwzgórza) o zasobach energetycznych organizmu. Proces ten zachodzi przy udziale receptorów leptynowych (OBRA), znajdujących się w ośrodkowym układzie nerwowym i w tkankach obwodowych, których stężenie maleje przy dużych stężeniach leptyny i związane jest ze zjawiskiem leptynooporności, która rozwija się w przebiegu otyłości prostej [141,146-148].

Działanie leptyny w ośrodkowym układzie nerwowym związane jest zmniejszeniem przyjmowania pokarmu i zwiększeniem aktywności układu współczulnego, co wpływa na przyspieszenie przemiany materii i ma na celu szybką redukcję masy ciała [149,150]. Odbywa się to po przez hamowanie syntezy i sekrecji neuropeptydu Y (NPY), białka agouti

(AGRP) i innych peptydów oreksygenicznym oraz przez zwiększanie wydzielania czynników anoreksygenicznym takich jak: melanokortyna (α -MSH), białko transkrypcyjne regulowane przez kokainę i amfetaminę (peptyd CART), TNF- α , IL-6 [151]. Dowiedziono, że u osób otyłych przewlekła ekspozycja neuronów podwzgórza na wysokie stężenia leptyny staje się przyczyną leptynooporności i niedostatecznego hamowania głodu [146,149,150,152].

Wpływ leptyny na ciśnienie tętnicze wiąże się z jej ośrodkowym działaniem hipertensyjnym i obwodowym hipotensyjnym. Wykazano, że przewlekłe podawanie leptyny do mózgu (układ komorowy, jądro brzuszno - przyśrodkowe i grzbietowo - przyśrodkowe) związane jest z wzrostem ciśnienia tętniczego i tachykardią, a także ze spadkiem wydalania sodu, co wynika ze wzrostu aktywności układu współczulnego. Leptyna aktywuje autonomiczne neurony krążeniowe, przedwspółczulne, jądra przykomorowego, unerwiające współczulne neurony przedwojowe rdzenia kręgowego. Jest to związane ze zwiększeniem aktywności neuronów współczulnych unerwiających naczynia krwionośne, serce i nerki (regulacja przez odruch z baroreceptorów). Leptyna aktywuje także neurony zawierające α -MSH i peptyd CART, zwiększające aktywność układu współczulnego i, poza hamowaniem głodu, wywołujące wzrost ciśnienia tętniczego. Zwiększa także syntezę i wydzielanie ADH aktywując neurony PVN [141].

Hipotensyjne działanie obwodowe leptyny jest natomiast związane z jej bezpośrednim wpływem na zwiększenie aktywności syntazy tlenku azotu w nerkach i komórkach śródbłonna, zwiększenie wydalania sodu, a także na wzrost angiogenezy i poprawę insulinowrażliwości. Efekt wazodylatacyjny i diuretyczny leptyny zapobiega u osób z prawidłowym ciśnieniem tętniczym wzrostowi ciśnienia, wynikającemu z jednoczesnego zwiększenia aktywności układu współczulnego. Dzieje się to również dzięki zróżnicowaniu regionalnemu regulacji włókien współczulnych. W tkance tłuszczowej włókna te nie są zaangażowane w regulację odruchową z baroreceptorów jak ma to miejsce w nerce. U osób normotensyjnych wzrost aktywności układu współczulnego wywoływany przez leptynę jest bardziej ukierunkowany na zwiększenie metabolizmu tkanki tłuszczowej niż na podwyższenie ciśnienia tętniczego [153-156].

W otyłości i nadciśnieniu tętniczym działanie diuretyczne leptyny jest słabsze. Próbuje się to wiązać z przewagą ośrodkowego działania leptyny w otyłości i zwiększeniem współczulnego unerwienia nerek w nadciśnieniu tętniczym. Przewlekła osoczoza hiperleptynemia, związana często z leptynoopornością i otyłością, wiąże się

z przyspieszeniem rozwoju nadciśnienia tętniczego, za co głównie odpowiedzialne jest jej działanie niekorzystne w nerkach, związane z retencją sodu, proliferacją komórek śródbłona (działanie addytywne do angiotensyny II), zwiększeniem syntezy transformującego czynnika wzrostu (TGF) i kolagenu IV w kłębuszkach oraz proteinurią [141,153].

Poza obwodowym działaniem hipotensyjnym, leptyna na obwodzie zwiększa również insulinowrażliwość i utylizację glukozy (aktywuje AMPK w mięśniach szkieletowych), a także hamuje lipogenezę i zwiększa lipolizę i utlenianie wolnych kwasów tłuszczowych. Jej osoczowe stężenie związane jest pozytywnie z zawartością tkanki tłuszczowej [157,124,125].

4.2. Insulinooporność i zaburzenia gospodarki węglowodanowej - czynnik ryzyka miażdżycy często towarzyszący nadciśnieniu tętniczemu

U chorych z cukrzycą, nadciśnienie tętnicze występuje dwa razy częściej niż w populacji ogólnej i stanowi u tych pacjentów ważny czynnik ryzyka powikłań sercowo - naczyniowych. W badaniu United Kingdom Prospective Diabetes Trial (UKPDS) wykazano ponadto, że nadciśnienie tętnicze stanowi kluczowy czynnik progresji mikroangiopatii cukrzycowej. U osób chorujących na cukrzycę typu 1, nadciśnienie tętnicze jest najczęściej związane z mikroalbuminurią i nefropatią cukrzycową, jego rozwojowi sprzyja sztywność naczyń spowodowana nadmierną glikacją białek, nadmiar egzogennej insuliny, neuropatia autonomiczna. Cukrzycę typu 2 i nadciśnienie tętnicze łączy wspólna etiopatogeneza. Obie jednostki chorobowe związane są z otyłością brzuszną i insulinoopornością, a występowanie nadciśnienia tętniczego w grupie chorych z cukrzycą typu 2 szacuje się na 80%. Podobne wyniki przynosi badanie The Epidemiology and prevention of Diabetes (EURODIAB). Zarówno nadciśnienie tętnicze, jak i hiperglikemia, wiążą się również z procesem zapalnym i aktywacją cząsteczek stanowiących kluczowe ogniwa w kaskadzie reakcji zapalnej i indukcji stresu oksydacyjnego (oksydaza NADPH, NF- κ B). Ponadto, hiperglikemia i nadciśnienie tętnicze wiążą się z aktywacją układu RAA i patologiczną rolą angiotensyny II w układzie krążenia [158,159].

4.3. Zaburzenia gospodarki lipidowej jako czynnik ryzyka miażdżycy towarzyszący nadciśnieniu tętniczemu

W badaniu WOBASZ oszacowano występowanie zaburzeń gospodarki lipidowej na 74% u mężczyzn i 69% u kobiet w przedziale wiekowym 20 – 74 lata. Hipercholesterolemię w badanej populacji stwierdzono u 67% mężczyzn i 64% kobiet, w tym ciężką hipercholesterolemię zanotowano odpowiednio u 2 i 3% osób. Izolowaną hipertriglicerydemię zaobserwowano u 5% mężczyzn i 2% kobiet, a izolowane obniżone stężenie HDL-cholesterolu u 2% mężczyzn i 3% kobiet [160].

U osób chorujących na nadciśnienie tętnicze bardzo często współistnieją zaburzenia gospodarki lipidowej takie jak: podwyższone stężenie cholesterolu całkowitego i LDL-cholesterolu, obniżone stężenie HDL-cholesterolu, podwyższone stężenie triglicerydów.

Aterogenna dyslipidemia charakteryzująca się między innymi podwyższonym stężeniem triglicerydów i obniżonym stężeniem HDL-cholesterolu jest związana z nadciśnieniem tętniczym. Postuluje się również związek hipercholesterolemii z nadciśnieniem tętniczym. W swojej pracy Yang i wsp. zwracają uwagę na negatywną rolę LDL-cholesterolu, który wpływa na ekspresję receptorów AT-1 dla angiotensyny II, co wiąże się ze zwiększoną odpowiedzią hemodynamiczną na angiotensynę II. Hipercholesterolemia i nadciśnienie tętnicze działają również synergistycznie w rozwoju choroby niedokrwiennej serca poprzez zaburzenie funkcji śródbłonna i promowanie rozwoju miażdżycy [161-164].

W badaniu Rubies-Prat i wsp. stężenia triglicerydów, LDL-cholesterolu i VLDL-cholesterolu były istotnie statystycznie wyższe w grupie pacjentów z nadciśnieniem tętniczym niż w grupie kontrolnej. Odwrotnie w przypadku frakcji HDL-cholesterolu, którego stężenie było niższe w grupie pacjentów z nadciśnieniem tętniczym [165].

4.4. Nadmierna masa ciała a nadciśnienie tętnicze

W badaniu WOBASZ nadmierną masę ciała wykazano u 61,6% mężczyzn i 50,3% kobiet, w tym nadwagę zaobserwowano u 40,4% mężczyzn i 27,9% kobiet, natomiast otyłość u 20,2% mężczyzn i 20,6% kobiet. Znacznego stopnia otyłość ($BMI > 40 \text{ kg/m}^2$) wystąpiła u 0,6% mężczyzn i 2,2% kobiet. Prawidłową masę ciała zanotowano u 49,7% kobiet i 38,4%.

mężczyzn. Otyłość brzuszna w powyższym badaniu występowała u 40,4% kobiet i 28,3% mężczyzn [166].

W jednej z odsłon badania Framingham w grupie 70% mężczyzn i 61% kobiet chorych na nadciśnienie tętnicze wartości ciśnienia korelowały ze stopniem nadwagi: wraz ze wzrostem masy ciała o 1 kg, średnie ciśnienie tętnicze wzrastało o 1 mmHg [167].

Nadciśnienie tętnicze często współistnieje z nadmierną masą ciała, a w szczególności z postacią brzuszną otyłości. Ilość brzusznej tkanki tłuszczowej koreluje z kolei z obwodem talii i wskaźnikiem WHR. W licznych badaniach wykazano dodatnią korelację pomiędzy wskaźnikami antropometrycznymi takimi jak: BMI i WHR a wartościami zarówno skurczowego jak i rozkurczowego ciśnienia tętniczego [168-170]. Podobnie Feldstein i wsp. w swoim badaniu zwrócili uwagę na znaczne rozpowszechnienie nadmiernej masy ciała wśród pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym. Problem nadwagi i otyłości dotyczył 56% kobiet i 75% mężczyzn w badanej grupie chorych [171]. W jednym z badań, Czyżewski szacuje występowanie nadmiernej masy ciała u osób z nadciśnieniem tętniczym na 87,9% [172]. Dodatnią korelację między obecnością nadciśnienia tętniczego a wskaźnikiem BMI i obwodem talii wykazali również w swoim badaniu Jardim i wsp. [173].

W jednej z publikacji dotyczącej występowania nadmiernej masy ciała u osób z nadciśnieniem tętniczym Czech podkreśla, że w populacji z BMI > 30 kg/m² i otyłością typu brzusznego częstość występowania nadciśnienia tętniczego wynosi 42%, a u osób z otyłością udowo-pośladkową - 32% [174]. Z kolei w innym badaniu, Nascente zauważa dodatnią korelację pomiędzy wartością BMI oraz obwodu talii a obecnością nadciśnienia tętniczego [175].

W licznych pracach zwraca się uwagę na otyłość i nadwagę jako czynniki pogarszające kontrolę ciśnienia tętniczego i zwiększające ryzyko sercowo – naczyniowe u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym [176-178]. W badaniu LIPIDOGram 2004 obejmującym 17 065 osób w wieku 30-98 lat z szesnastu województw Polski zwrócono uwagę na przewagę osób z nadwagą i otyłością wśród badanych z łagodnym nadciśnieniem tętniczym oraz przewagę osób otyłych wśród badanych z umiarkowaną i ciężką postacią choroby, podczas gdy osoby z prawidłowymi wartościami ciśnienia tętniczego charakteryzowały się w większości prawidłową masą ciała lub tylko nadwagą [179].

4.5. Kompleks intima-media tętnic szyjnych - ocena wczesnych zmian miażdżycowych

Liczne prace podkreślają, że pomiar grubości kompleksu błony wewnętrznej i środkowej tętnic szyjnych jest uznaną nieinwazyjną metodą pozwalającą zobrazować wczesne zmiany miażdżycowe [180-182]. W badaniu kompleksu intima-media tętnic szyjnych, grubość błony wewnętrznej i środkowej opisuje się jako odległość między dwiema strukturami wyznaczającymi granicę między światłem a błoną zewnętrzną naczynia. Wartości kompleksu między 0,9 a 1,5 mm określone są jako pogrubienie kompleksu, wartości powyżej 1,5 mm klasyfikowane są jako blaszka miażdżycowa [183]. Szczególną rolę pomiar grubości KIM odgrywa u osób z nadciśnieniem tętniczym, pozwalając na zobrazowanie wczesnych powikłań narządowych w tej jednostce chorobowej. Polskie Towarzystwo Nadciśnienia Tętniczego (PTNT) zaleca wykonywanie tego badania przy ocenie ryzyka sercowo-naczyniowego u hipertoniców [184]. Według przeprowadzonych badań epidemiologicznych wartość KIM powyżej 0,8 mm, a szczególnie powyżej 1 mm wskazuje na zwiększone ryzyko wystąpienia incydentów naczyniowych [183-185].

5. Uzasadnienie podjęcia tematu badawczego

W dostępnym krajowym piśmiennictwie nie znaleziono prac oceniających stężenie apeliny i jej rolę w układzie sercowo - naczyniowym u młodych, dotychczas nieleczonych osób z nadciśnieniem tętniczym. Wśród badań międzynarodowych występują pojedyncze doniesienia, w których stwierdzono obniżone stężenie apeliny w, analogicznej jak nasza, populacji osób z tym schorzeniem. Dostępne polskie, jak i pozostałe zagraniczne publikacje naukowe, dotyczące próby oceny zmian jej stężenia w nadciśnieniu tętniczym, zostały przeprowadzone u osób starszych niż biorące udział w naszym badaniu, nierzadko z chorobami towarzyszącymi, z wywiadem chorobowym dotyczącym nadciśnienia tętniczego zazwyczaj trwającym kilka lat, jak również pozostających w trakcie terapii hipotensyjnej. Z tej perspektywy interesująca wydaje się próba oceny stężenia apeliny i jej korelacji z parametrami antropometrycznymi i metabolicznymi u młodych osób z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym.

5.1. Założenia i cel pracy

Wyjątkowo duża ekspresja apeliny w sercu, śródbłonku naczyń krwionośnych dużego i małego kalibru sugeruje, że peptyd ten pełni szczególnie znaczącą rolę w układzie sercowo - naczyniowym. Dotychczasowe badania sugerują, że apelina może być ważnym elementem uczestniczącym w patogenezie zarówno nadciśnienia tętniczego, jak i niewydolności serca, choroby niedokrwiennej i migotania przedsionków, a dokładne jej poznanie może przyczynić się do lepszego zrozumienia podłoża wyżej wymienionych chorób, jak również do rozwoju nowego kierunku działań terapeutycznych.

Celem pracy była:

1. Ocena osoczowego stężenia apeliny w grupie młodych, dotychczas nieleczonych osób z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym i w grupie kontrolnej.
2. Ocena zależności pomiędzy stężeniem apeliny a wybranymi parametrami antropometrycznymi takimi jak: masa ciała, wskaźnik masy ciała (BMI), wskaźnik talia/biodro (WHR), oraz stężeniami: adiponektyny, leptyny, insuliny, wykładnikami insulinooporności (wskaźnik HOMA, wskaźnik IRI/G), stężeniami wybranych frakcji lipidowych i grubością kompleksu intima-media tętnic szyjnych.

6. Metodyka badania

Projekt badania uzyskał zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (Uchwała nr 1117/08 z dnia 13.11.2008).

Badanie zostało sfinansowane z programu promotorskiego o numerze:

501-02-01119172-06113-50496.

Każdy z uczestników badania został poinformowany o jego charakterze i wyraził pisemną zgodę na jego przeprowadzenie.

6.1. Badana populacja

Badaną populację stanowili pacjenci Katedry i Kliniki Chorób Wewnętrznych, Zaburzeń Metabolicznych i Nadciśnienia Tętniczego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu oraz przyklinicznej Poradni Nadciśnienia Tętniczego. Rekrutacja odbywała się w latach 2008 - 2010 r. Do badania zakwalifikowano 70 osób w wieku 18 – 33 lat, obojga płci, w tym 48 mężczyzn (68,6%) i 22 kobiety (31,4%) z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym, dotychczas nie poddanych leczeniu. Na podstawie wartości BMI w badanej grupie wyodrębniono 3 podgrupy chorych: z otyłością -20 osób, z nadwagą -19 osób, i z prawidłową masą ciała -31 osób.

Kryteriami wykluczenia z badania były:

- wtórne postaci nadciśnienia tętniczego rozpoznane na podstawie badania podmiotowego i przedmiotowego oraz badań dodatkowych wykonywanych standardowo celem wykluczenia wtórnych postaci nadciśnienia tętniczego
- współistniejąca cukrzyca
- endokrynopatie
- choroby nerek
- ostre i przewlekłe stany zapalne
- choroby wątroby i trzustki

- choroby alergiczne i pulmonologiczne w trakcie farmakoterapii (wywiad w kierunku sterydoterapii)
- choroby układowe tkanki łącznej
- choroby nowotworowe
- choroby psychiczne

Grupę kontrolną stanowiło 15 młodych, zdrowych osób o prawidłowej masie ciała dobranych odpowiednio pod względem płci i wieku.

6.2. Sposób prowadzenia badań

U każdego z badanych przeprowadzono pełne badanie podmiotowe zwracając uwagę na występowanie nadciśnienia tętniczego oraz czynników ryzyka sercowo - naczyniowego, jak również przedmiotowe badanie lekarskie z pomiarami antropometrycznymi oraz z pomiarem ciśnienia tętniczego i czynności serca.

6.3. Pomiary antropometryczne

U wszystkich badanych osób wykonano rano, na czczo pomiar masy ciała i wzrostu, na wadze lekarskiej, ze wzrostomierzem oraz pomiar obwodu talii i bioder miarą lekarską. Obwód talii mierzono w połowie odległości między talerzem kości biodrowej i łukiem żebrowym. Obwód bioder mierzono w miejscu największego ich obwodu. Wzrost, obwód talii i bioder określono z dokładnością do 0,5 cm. Masę ciała określano z dokładnością do 0,5 kg. Na podstawie uzyskanych pomiarów obliczono wskaźniki:

- masy ciała (BMI) według wzoru: $BMI = \text{masa ciała [kg]} / (\text{wzrost [m]})^2$

- wskaźnik talia/biodro (WHR) według wzoru: $WHR = \text{obwód talii [cm]} / \text{obwód bioder [cm]}$

6.4. Pomiar ciśnienia tętniczego

Pomiar ciśnienia tętniczego wykonano według obowiązujących zaleceń PTNT sfigmomanometrem rtęciowym, w pozycji siedzącej, na ramieniu podpartym na poziomie serca, przy rozluźnieniu mięśni ręki. Przed badaniem pacjent odpoczywał w cichym pomieszczeniu w tej samej pozycji przez 5 minut. Wielkość mankietu była dostosowana do obwodu ramienia badanego. Najczęściej stosowano standardowy mankiety z poduszką gumową szerokości 12 cm i długości 35 cm. Mankiety znajdowały się na wysokości serca. Pomiaru dokonano na obu kończynach górnych, a następnie na ramieniu, na którym ciśnienie tętnicze było wyższe. Z 3 kolejno wykonanych co 2 minuty pomiarów obliczono średnią wartość ciśnienia tętniczego.

6.5. Metodyka badań laboratoryjnych

Krew do badań laboratoryjnych była pobierana na czczo do probówek na skrzep a następnie wirowana w Laboratorium Szpitala Klinicznego *Przemienienia Pańskiego* przy ulicy Szamarzewskiego 84 w Poznaniu.

Badania biochemiczne, takie jak: oznaczenie stężenia poszczególnych frakcji lipidowych, glukozy, kreatyniny, elektrolitów zostało wykonane w wyżej wymienionym laboratorium przy pomocy zestawów komercyjnych.

Oznaczenia stężeń apelinu, adiponektyny, leptyny, insuliny wykonano w Pracowni Izotopowej Katedry i Kliniki Endokrynologii, Przemiany Materii i Chorób Wewnętrznych Państwowego Szpitala Klinicznego Nr 2 Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Stężenie apelinu zostało oznaczone na czczo, w osoczu krwi żyłnej, metodą radioimmunologiczną (RIA) przy użyciu zestawu RK-057-15 Apelin-36 (Human) wyprodukowanego przez Phoenix Pharmaceuticals, zgodnie z warunkami producenta.

Stężenie leptyny, podobnie jak stężenie apelinu oznaczono w osoczu krwi żyłnej, metodą radioimmunologiczną (RIA) przy użyciu zestawu RIA 1624 Leptin (Human) wyprodukowanego przez DRG International, Inc., zgodnie z warunkami producenta.

Stężenie adiponektyny zostało oznaczone na czczo, w osoczu krwi żyłnej, również metodą radioimmunologiczną przy użyciu zestawu RIA 3765 Adiponectin (Human) wyprodukowanego przez DiaSource, zgodnie z warunkami testu.

Stężenie insuliny zostało oznaczone na czczo, w osoczu krwi żyłnej, metodą radioimmunometryczną (IRMA) zestawem KIP 1251 Insulin (Human), wyprodukowanym przez DiaSource, według warunków producenta.

Insulinooporność oceniano w oparciu o wskaźniki insulinooporności wg Homeostasis Model Assessment - Insulin Resistance (HOMA-IR) na podstawie wzoru:

$$\text{HOMA-IR} = \text{stężenie insuliny na czczo } [\mu\text{IU/ml}] \times \text{stężenie glukozy na czczo } [\text{mmol/l}] / 22,5$$

oraz na podstawie wzoru IRI/G:

$$\text{IRI/G} = \text{insulina na czczo } [\mu\text{IU/ml}] / \text{glukoza na czczo } [\text{mg/dl}]$$

6.6. Metodyka pomiaru grubości kompleksu intima-media tętnic szyjnych

Przy ocenie grubości kompleksu intima-media tętnic szyjnych skorzystano z pomocy Pracowni Radiologii Szpitala Klinicznego Przemienienia Pańskiego przy ulicy Szamarzewskiego 84, w Poznaniu.

Pomiar grubości kompleksu błony wewnętrznej i środkowej tętnic szyjnych został wykonany w dystalnym odcinku tętnicy szyjnej wspólnej przy użyciu nieinwazyjnej metody ultrasonograficznej w trybie duplex i B-mode przy użyciu aparatu USG GE Voluson 730 Pro z głowicą liniową 6-12 MHz. Ocena grubości kompleksu, ze względu na własności fizyczne wiązki ultradźwiękowej, dokonana została na ścianie dystalnej do głowicy aparatu. Podczas badania pacjent leżał z głową odwiedzioną, zwróconą nieco w kierunku przeciwnym do strony badanej. Głowicę ustawiano prostopadle do naczynia na przednio-bocznej powierzchni szyi. Aktywacja obrazów następowała w przekroju podłużnym i poprzecznym naczynia. Pomiary wykonano w kilku punktach, około 1 cm proksymalnie w stosunku do zatoki tętnicy szyjnej wspólnej. Wynik stanowiący grubość kompleksu intima-media przedstawiony został jako średnia wykonanych pomiarów.

6.7. Metody statystyczne

Obliczenia statystyczne wykonano przy pomocy programu Statistica 8.0. Otrzymane wyniki w grupie badanej opisano wartością maksymalną i minimalną, średnią arytmetyczną i odchyleniem standardowym, po sprawdzeniu zgodności z rozkładem normalnym testem Kołmogorowa-Smirnowa (założenie: liczebność grupy większa od 30). Przy braku zgodności z rozkładem normalnym otrzymane wyniki opisano medianą oraz wartością maksymalną i minimalną. W grupie kontrolnej podobnie, otrzymane wyniki opisano średnią arytmetyczną i odchyleniem standardowym, wartością maksymalną i minimalną, po sprawdzeniu zgodności z rozkładem normalnym testem Shapiro-Wilka (założenie: liczebność grupy mniejsza od 30). Przy braku zgodności z rozkładem normalnym posłużono się medianą oraz wartością maksymalną i minimalną. Do porównania wyników pomiędzy poszczególnymi grupami posłużono się metodą prosta ANOVA do obliczeń w grupach. Hipotezy statystyczne weryfikowano na poziomie istotności $p < 0,05$. Do analizy zależności pomiędzy poszczególnymi wynikami użyto metod: jednoczynnikowa ANOVA lub ANOVA dla układów czynnikowych z użyciem testu post-hoc NIR Fishera. Za istotne statystycznie korelacje przyjęto te z $p < 0,05$.

7. Wyniki

Grupa badana liczyła 70 osób, wśród nich 48 mężczyzn (68,6%) i 22 kobiety (31,4%). Średni wiek w grupie badanej wynosił $23,8 \pm 9,2$ lat, minimalny 18, maksymalny 33 lata. Grupa badana pod względem wieku charakteryzowała się rozkładem normalnym.

W grupie kontrolnej znajdowało się 15 osób, wśród nich 6 mężczyzn (40%) i 9 kobiet (60%). Średni wiek w grupie badanej wynosił $22,1 \pm 1,9$ lat, minimalny 21, maksymalny 24 lata. Grupa kontrolna pod względem wieku charakteryzowała się rozkładem normalnym.

7.1. Parametry antropometryczne, skurczowe i rozkurczowe ciśnienie tętnicze, czynność serca, grubość kompleksu intima-media tętnic szyjnych w grupie badanej i grupie kontrolnej.

Średnia masa ciała w grupie badanej wynosiła $87,5 \pm 28$ kg. Średnia wartość BMI wynosiła $27,6 \pm 8,1$ kg/m². Średni obwód talii wynosił $93 \pm 20,5$ cm, natomiast średni obwód bioder $107,5 \pm 15$ cm. Mediana wartości WHR wynosiła 0,85. Średnia wartość skurczowego ciśnienia tętniczego w grupie badanej wynosiła 147 ± 17 mmHg. Średnia wartość rozkurczowego ciśnienia tętniczego wynosiła 84 ± 10 mmHg. Średnia czynność serca wynosiła 78 ± 11 uderzeń na minutę. Mediana grubości kompleksu intima-media zarówno prawej jak i lewej tętnicy szyjnej wspólnej wynosiła 0,05 cm.

Średnia masa ciała w grupie kontrolnej wynosiła $71 \pm 25,5$ kg. Średnia wartość BMI wynosiła $22,7 \pm 6,4$ kg/m². Średni obwód talii wynosił 79 ± 21 cm, natomiast średni obwód bioder $95,5 \pm 13$ cm. Średnia wartość WHR wynosiła $0,82 \pm 0,1$. Średnia wartość skurczowego ciśnienia tętniczego wynosiła w grupie kontrolnej 116 ± 8 mmHg. Średnia wartość rozkurczowego ciśnienia tętniczego wynosiła 71 ± 7 mmHg. Średnia czynność serca wynosiła 68 ± 5 uderzeń na minutę. Średnia grubość kompleksu intima-media prawej tętnicy szyjnej wynosiła $0,05 \pm 0,02$ cm, średnia grubość lewej tętnicy szyjnej wynosiła $0,05 \pm 0,01$ cm. Powyższe wyniki przedstawia **tabela I**.

	Grupa badana n = 70			Grupa kontrolna n = 15			Istotność statystyczna
	Średnia +/- SD/	Wartość maksymalna	Wartość minimalna	Średnia +/- SD/	Wartość maksymalna	Wartość minimalna	Wartość p
Masa ciała [kg]	87,5 +/- 28	172	46,5	71 +/- 25,5	90	47,5	0,0418
BMI [kg/m ²]	27,6 +/- 8,1	53	17	22,7 +/- 6,4	25	18,9	0,0324
Obwód talii [cm]	93 +/- 20,5	149	65	79 +/- 21	112	62	0,0238
Obwód bioder [cm]	107,5 +/- 15	150	86	95,5 +/- 13	138	86	0,0050
WHR	0,85*	1,0	0,7	0,82 +/- 0,1	1,1	0,7	0,3095
SBP [mmHg]	147 +/- 17	163	140	116 +/- 8	136	104	0,0001
DBP [mmHg]	84 +/- 10	120	60	71 +/- 7	120	60	0,0001
HR	78 +/- 11	115	60	68 +/- 5	80	60	0,0008
KIM RCCA [cm]	0,05*	0,11	0,03	0,05 +/- 0,02	0,11	0,03	0,2818
KIM LCCA [cm]	0,05*	0,1	0,03	0,05 +/- 0,01	0,1	0,04	0,4907

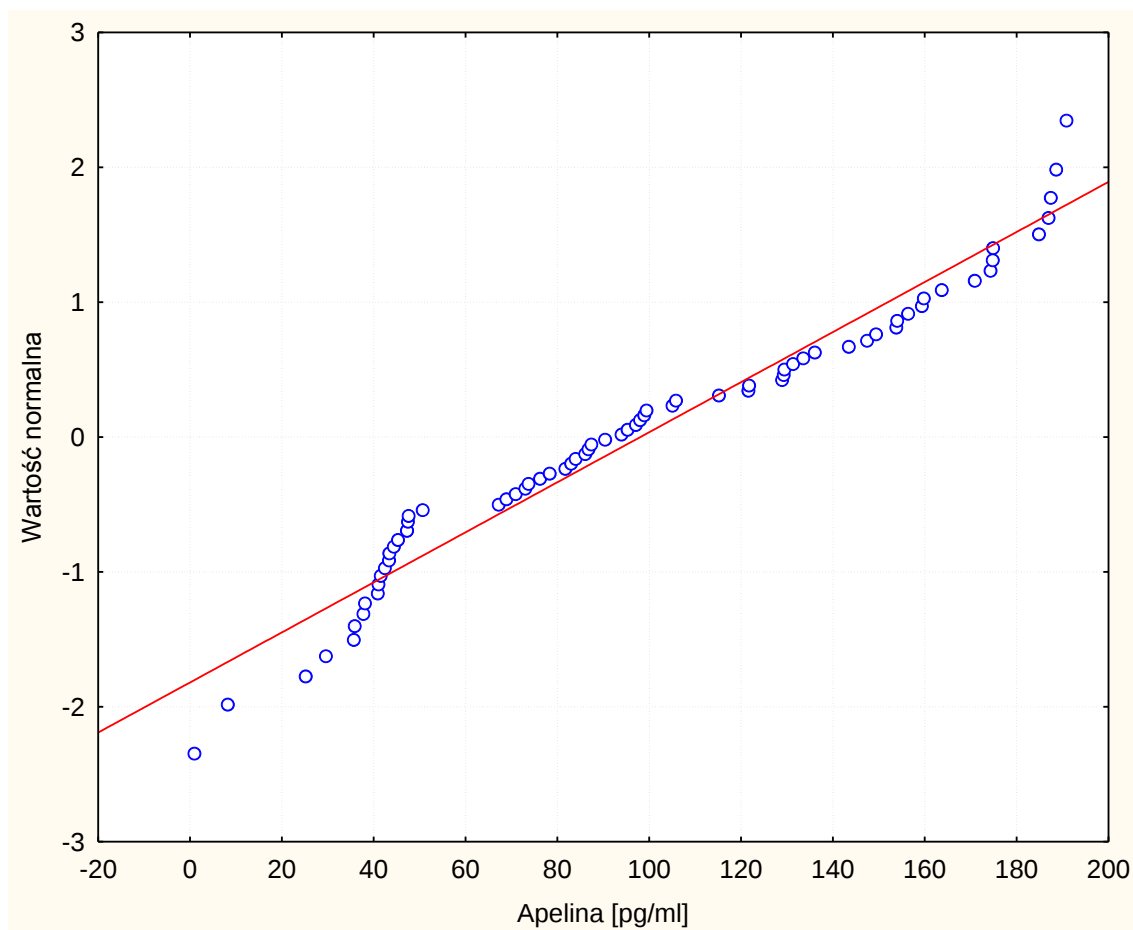
* mediana

Tab. I. Parametry antropometryczne, skurczowe i rozkurczowe ciśnienie tętnicze, czynność serca, grubość kompleksu intima-media tętnic szyjnych w grupie badanej i kontrolnej.

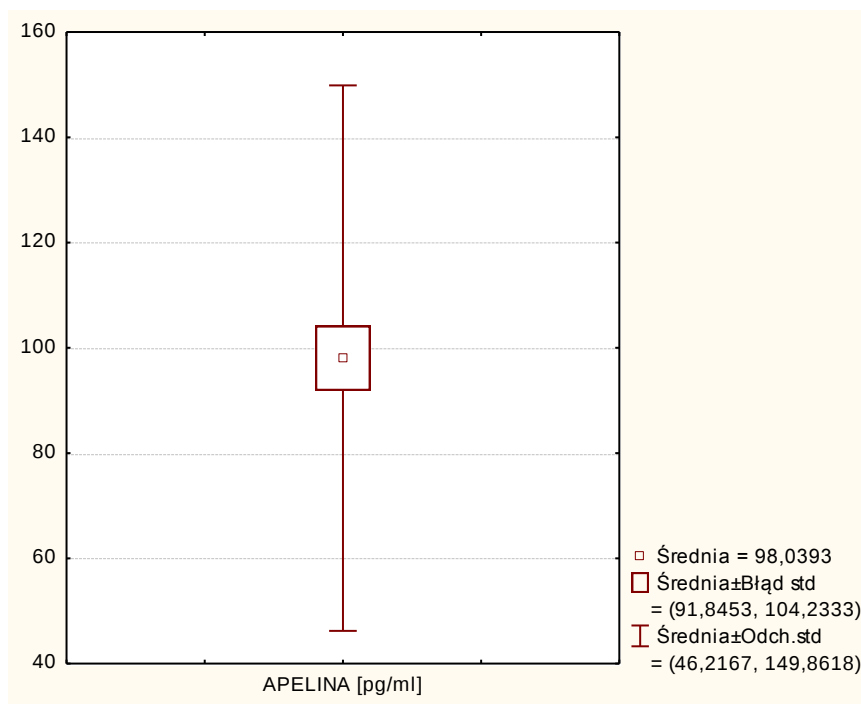
7.2. Stężenie apelinu, adiponektyny, leptyny, insuliny, profil lipidowy, stężenie kreatyniny i glukozy oraz wskaźniki insulinooporności w grupach: badanej i kontrolnej.

Średnie stężenie apelinu w grupie badanej wynosiło 98,04 +/- 51,82 pg/ml. Stężenie apelinu w grupie badanej wykazywało zgodność z rozkładem normalnym. Wykresy stężenia apelinu w grupie badanej przedstawiają rycina 4 i 5. Analizowano także stężenie apelinu w grupie badanej w zależności od wartości BMI. W grupie osób z prawidłową masą ciała wynosiło ono średnio 102,42 +/- 42,34 pg/ml, w grupie osób z nadwagą 81,78 +/- 49,25 pg/ml, a w grupie osób otyłych 115,80 +/- 57,12 pg/ml. Zanotowano istotną statystycznie różnicę pomiędzy stężeniem apelinu w grupie osób z nadwagą i otyłością ($p < 0,05$).

Oceniano również stężenie apeliny w podgrupach wyodrębnionych ze względu na płeć. W podgrupie mężczyzn wynosiło ono średnio $105,88 \pm 53,21$ pg/ml, a w podgrupie kobiet $80,98 \pm 45,20$ pg/ml. Stężenie apeliny między grupami: kobiet i mężczyzn nie różniło się istotnie statystycznie.



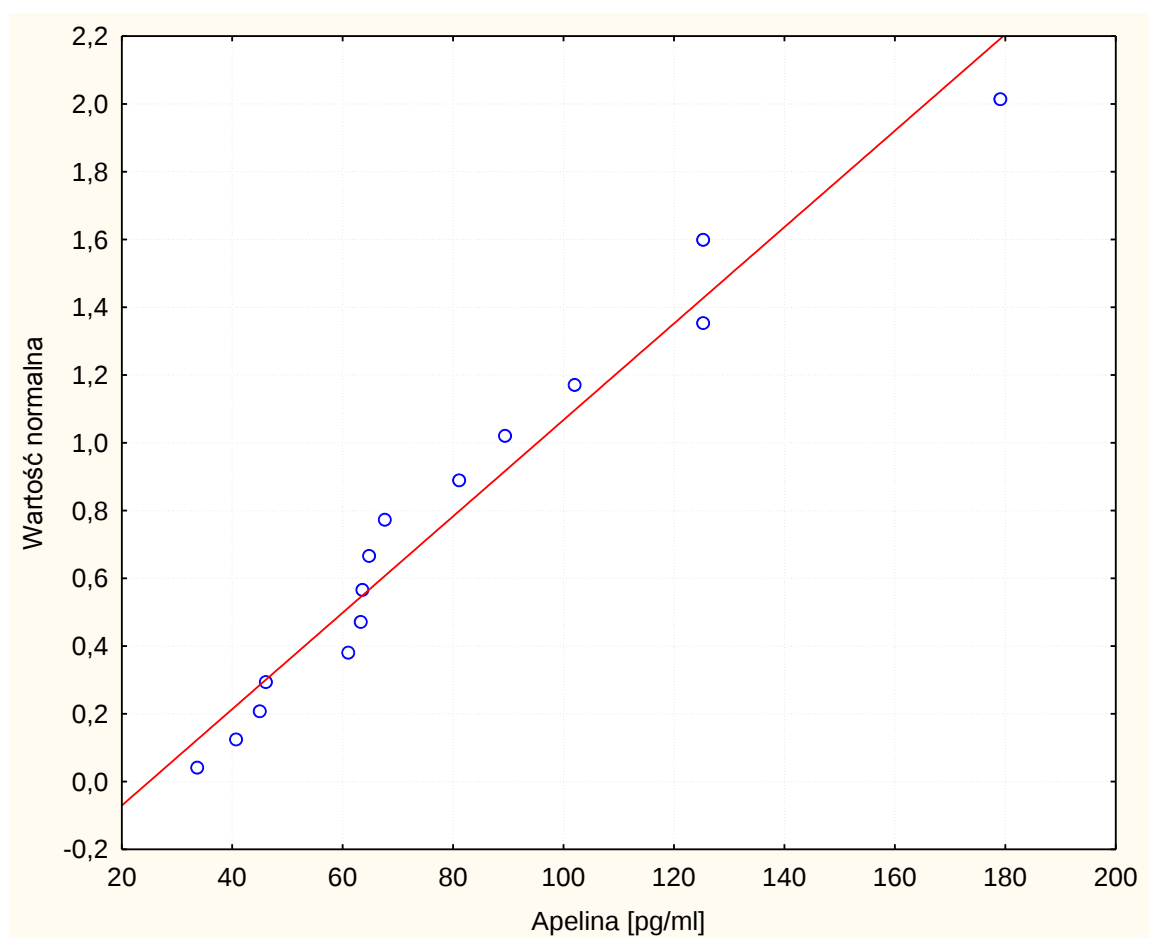
Ryc. 4. Stężenie apeliny w grupie badanej – wykres normalności rozkładu.



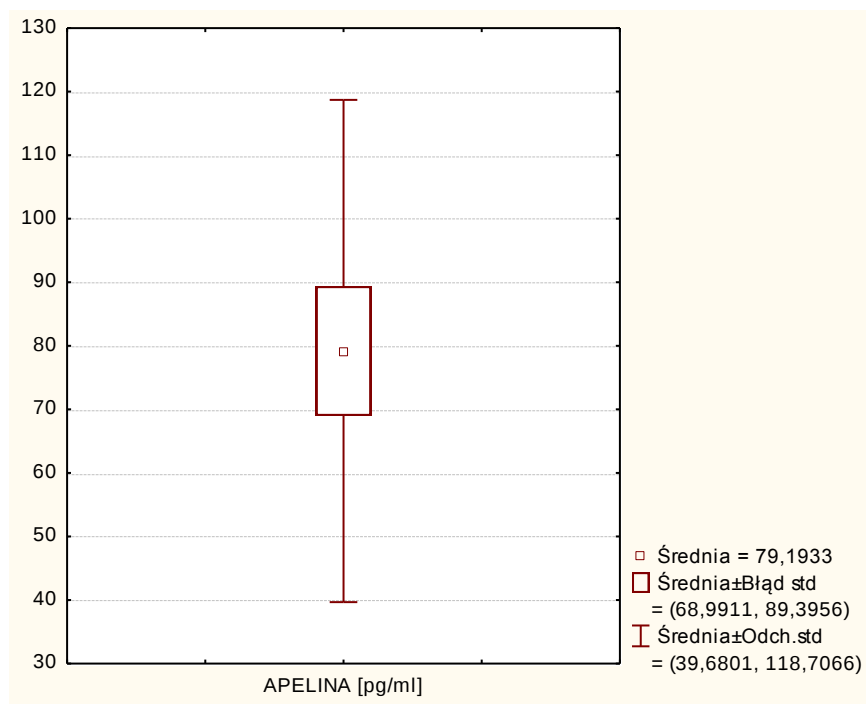
Ryc. 5. Stężenie apeliny w grupie badanej.

Średnie stężenie apeliny w grupie kontrolnej wynosiło 79,19 +/- 39,51 pg/ml i wykazywało zgodność z rozkładem normalnym. Wykresy stężenia apeliny w grupie kontrolnej przedstawiają ryciny 6 i 7.

Oceniano także stężenie apeliny w grupie kontrolnej w podgrupach wydzielonych ze względu na płeć. W podgrupie mężczyzn średnie stężenie apeliny wynosiło 61,42 +/- 24,04 pg/ml, a w podgrupie kobiet 91,04 +/- 44,45 pg/ml. Stężenie apeliny między podgrupą kobiet, a podgrupą mężczyzn nie różniło się istotnie statystycznie.



Ryc. 6. Stężenie apeliny w grupie kontrolnej - wykres normalności połówkowej rozkładu.



Ryc. 7. Stężenie apelininy w grupie kontrolnej.

Średnie stężenie adiponektyny w grupie badanej wynosiło 12,25 +/- 5,76 µg/ml. Mediana dla stężenia leptyny wynosiła 10,16 ng/ml. Mediana dla stężenia insuliny wynosiła 13,18 µIU/ml. Średnie stężenie cholesterolu całkowitego wynosiło 4,68 +/- 0,92 mmol/l, średnie stężenie LDL - cholesterolu 2,91 +/- 0,90 mmol/l, HDL - cholesterolu 1,37 +/- 0,41 mmol/l. Mediana dla stężenia triglicerydów 0,93 mmol/l. Średnie stężenie kreatyniny wynosiło 76,47 +/- 13,10 µmol/l. Średnie stężenie glukozy wynosiło 5,08 +/- 0,47 mmol/l. Mediana dla wartości HOMA-IR wynosiła 2,99, a dla wartości IRI/G 0,14. Powyższe wyniki zawiera tabela II.

Średnie stężenie adiponektyny w grupie kontrolnej wynosiło 15,22 +/- 4,95 µg/ml. Średnie stężenie leptyny wynosiło 11,73 +/- 13,72 ng/ml. Średnie stężenie insuliny wynosiło 12,43 +/- 2,63 µIU/ml. Średnie stężenie cholesterolu całkowitego wynosiło 4,45 +/- 0,62 mmol/l, średnie stężenie LDL - cholesterolu 2,62 +/- 0,66 mmol/l, HDL - cholesterolu 1,53 +/- 0,31 mmol/l, a triglicerydów 0,85 +/- 0,37 mmol/l. Średnie stężenie kreatyniny wynosiło 71,93 +/- 10,13 µmol/l. Średnie stężenie glukozy wynosiło 4,68 +/- 0,35 mmol/l. Średnia wartość HOMA-IR wynosiła 2,59 +/- 0,63, a średnia wartość IRI/G 0,15 +/- 0,03. Zanotowane wyniki przedstawia **tabela II**.

	Grupa badana n = 70			Grupa kontrolna n = 15			Istotność statystyczna
	Średnia +/- SD/	Wartość maksymalna	Wartość minimalna	Średnia +/- SD/	Wartość maksymalna	Wartość minimalna	Wartość p
Stężenie apeliny [pg/ml]	98,04 +/- 51,82	190,86	1,0	79,19 +/- 39,51	179,12	33,69	0,1885
Stężenie adiponektyny [µg/ml]	12,25 +/- 5,76	31,5	2,89	15,22 +/- 4,95	23,71	6,41	0,6779
Stężenie leptyny [ng/ml]	10,16*	92,14	0,83	11,73 +/- 13,72	47,58	2,07	0,1210
Stężenie insuliny [µIU/ml]	13,18*	72,10	6,50	12,43 +/- 2,63	17,45	8,88	0,1793
Stężenie cholesterolu całkowitego [mmol/l]	4,68 +/- 0,92	7,02	2,46	4,45 +/- 0,62	6,23	3,68	0,3648
Stężenie LDL - cholesterolu [mmol/l]	2,91 +/- 0,90	5,23	0,80	2,62 +/- 0,66	4,37	1,66	0,1787
Stężenie HDL - cholesterolu [mmol/l]	1,37 +/- 0,41	3,67	0,81	1,53 +/- 0,31	2,06	1,03	0,2393
Stężenie triglicerydów [mmol/l]	0,93*	4,63	0,24	0,85 +/- 0,37	1,63	0,31	0,2283
Stężenie kreatyniny [µmol/l]	76,47 +/- 13,10	106	44	71,93 +/- 10,13	92	53	0,2109
Stężenie glukozy [mmol/l]	5,08 +/- 0,47	6,02	3,94	4,68 +/- 0,35	5,47	3,94	0,0026
HOMA-IR	2,99*	17,56	1,5	2,59 +/- 0,63	3,76	1,81	0,0467
IRI/G	0,14*	0,73	0,06	0,15 +/- 0,03	0,2	0,1	0,5520

*mediana

Tab. II. Stężenie apeliny, adiponektyny, leptyny, insuliny, profil lipidowy, stężenie kreatyniny i glukozy oraz wskaźniki insulinooporności w grupie badanej i kontrolnej.

7.3. Istotne statystycznie różnice w wartościach poszczególnych parametrów pomiędzy grupą badaną i kontrolną.

Średnie stężenie apeliny w grupie badanej było wyższe niż w grupie kontrolnej, nie była to jednak różnica istotna statystycznie. Istotną statystycznie ($p = 0,0395$) różnicę w stężeniu apeliny zanotowano natomiast pomiędzy grupą mężczyzn w grupie badanej ($105,86 \pm 53,21$ pg/ml), a grupą mężczyzn w grupie kontrolnej ($61,42 \pm 24,04$ pg/ml).

Zanotowano istotne statystycznie różnice w średniej wartości skurczowego i rozkurczowego ciśnienia tętniczego, czynności serca, obwodu talii, obwodu bioder, masy ciała oraz BMI, stężeniu glukozy, HOMA-IR pomiędzy grupą badaną i kontrolną. Porównanie powyższych wyników w dwóch grupach przedstawia Tabela III.

	Grupa badana n = 70	Grupa kontrolna n = 15	Istotność statystyczna
	Średnia +/- SD	Średnia +/- SD	Wartość p
SBP [mmHg]	147 +/- 17	116 +/- 8	0,0001
DBP [mmHg]	84 +/- 11	71 +/- 7	0,0001
Czynność serca [uderzenia/min]	79 +/- 11	68 +/- 6	0,0008
Masa ciała [kg]	87,30 +/- 28,05	71,04 +/- 25,42	0,0418
BMI [kg/m ²]	27,58 +/- 8,10	22,72 +/- 6,42	0,0324
Obwód talii [cm]	92,70 +/- 20,52	79,20 +/- 21,03	0,0238
Obwód bioder [cm]	107,44 +/- 15,05	95,33 +/- 13,10	0,0050
Stężenie glukozy [mmol/l]	5,07 +/- 0,46	4,68 +/- 0,35	0,0026
HOMA-IR	2,99*	2,59 +/- 0,63	0,0467

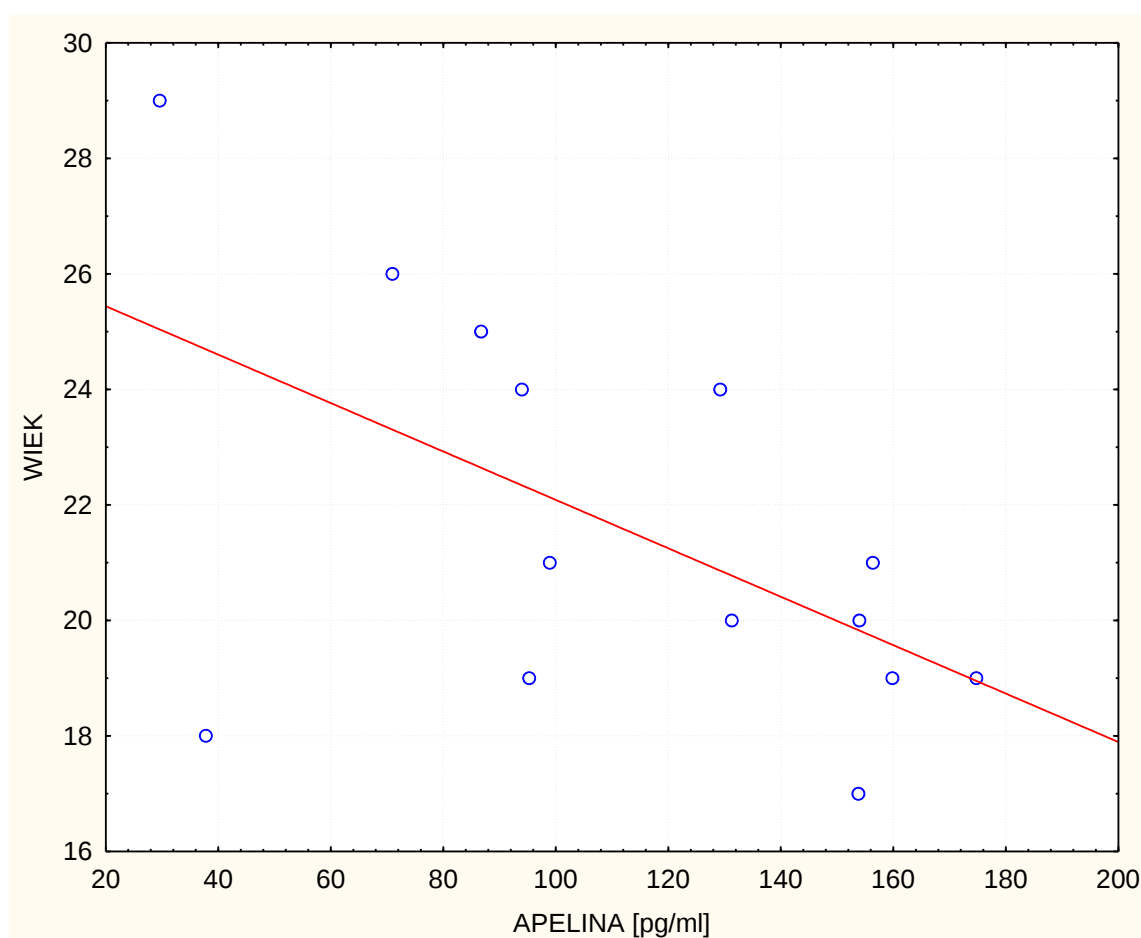
*mediana

Tab. III. Istotne statystycznie różnice w wartościach poszczególnych parametrów pomiędzy grupą badaną i kontrolną.

7.4. Analiza zależności pomiędzy stężeniem apeliny a wybranymi parametrami w grupie badanej

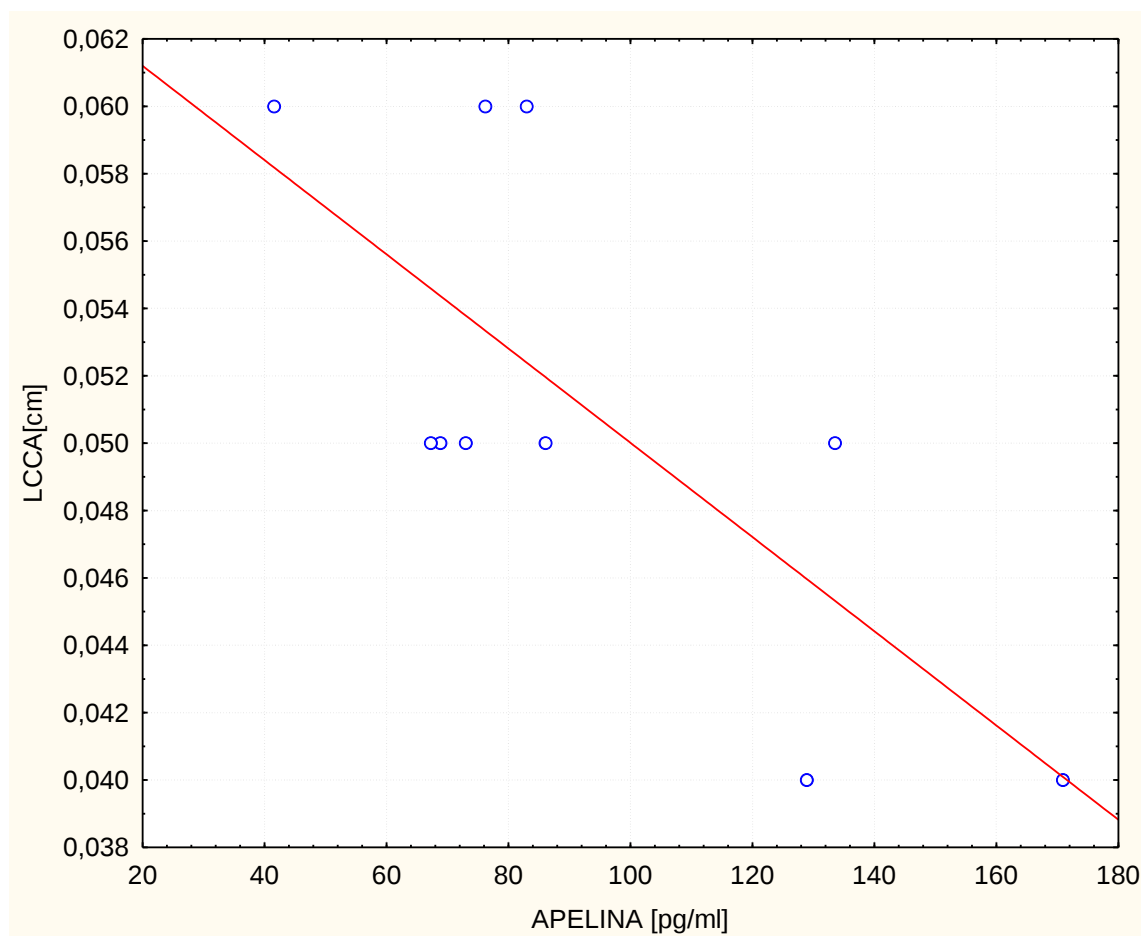
Grupę badaną podzielono ze względu na płeć i wartość BMI. W wyodrębnionych podgrupach uzyskano następujące istotne statystycznie zależności pomiędzy stężeniem apeliny a pozostałymi parametrami:

7.4.1. W grupie mężczyzn o prawidłowej masie ciała uzyskano ujemną korelację między stężeniem apeliny a wiekiem ($R = -0,556792$). Zależność tą przedstawia rycina 8.



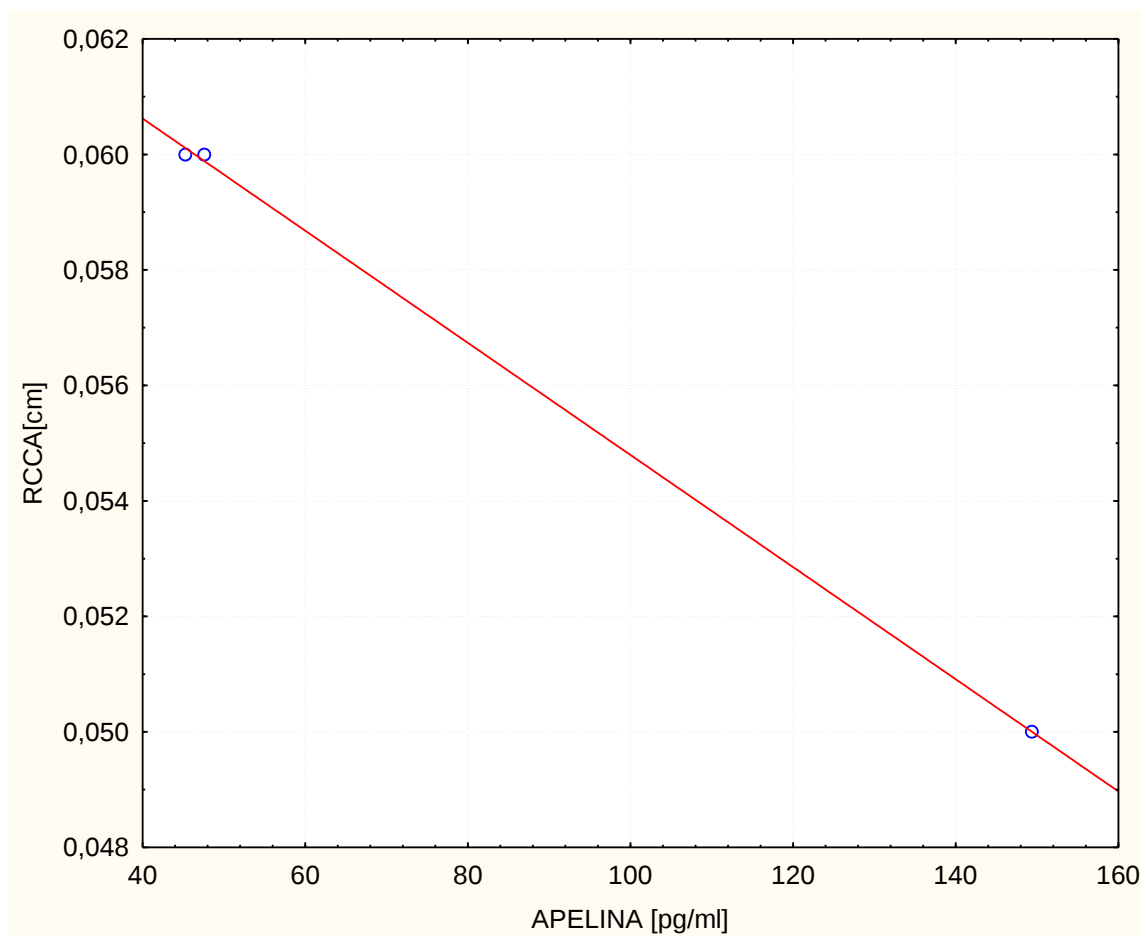
Ryc. 8. Zależność pomiędzy stężeniem apeliny a wiekiem w grupie mężczyzn o prawidłowej masie ciała.

7.4.2. W grupie kobiet o prawidłowej masie ciała uzyskano ujemną korelację między stężeniem apeliny a grubością kompleksu intima - media lewej tętnicy szyjnej wspólnej (KIM LCCA) ($R = -0,740373$). Zależność tą przedstawia rycina 9.



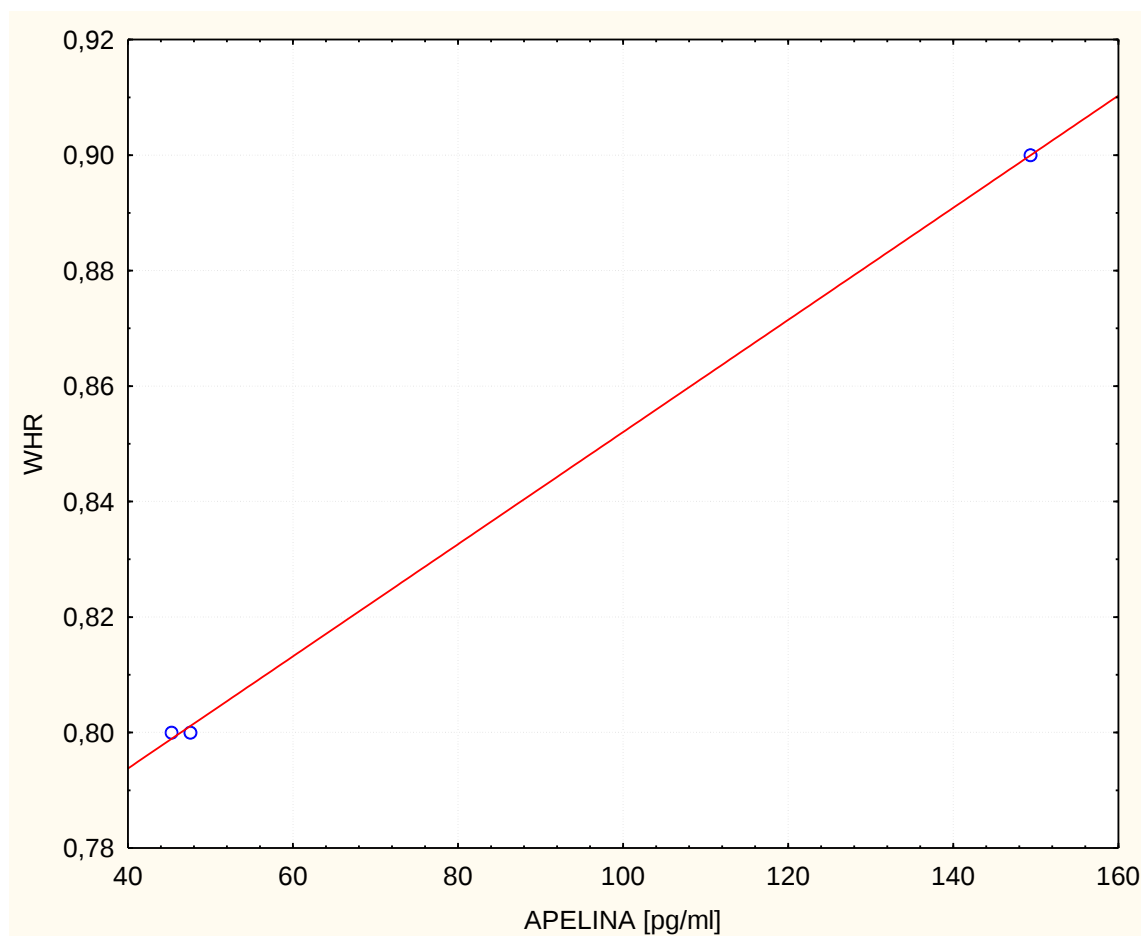
Ryc. 9. Zależność pomiędzy stężeniem apeliny a grubością kompleksu intima – media lewej tętnicy szyjnej wspólnej u kobiet o prawidłowej masie ciała.

7.4.3. W grupie kobiet otyłych uzyskano ujemną korelację między stężeniem apeliny a grubością kompleksu intima-media prawej tętnicy szyjnej wspólnej (KIM RCCA) ($R = -0,998813$). Zależność tą przedstawia rycina 10.



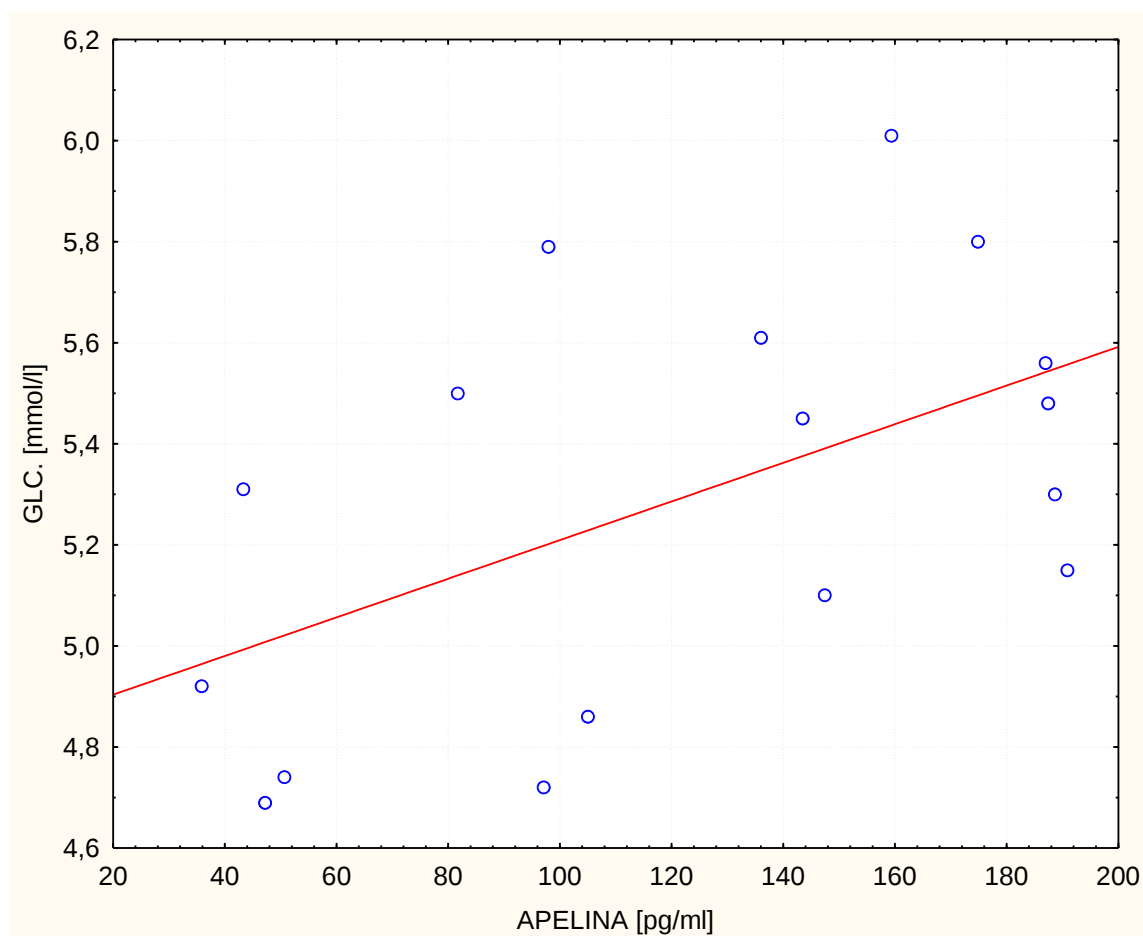
Ryc. 10. Zależność pomiędzy stężeniem apeliny a grubością kompleksu intima-media prawej tętnicy szyjnej wspólnej u otyłych kobiet.

7.4.4. W grupie kobiet otyłych uzyskano dodatnią korelację między stężeniem apeliny a WHR ($R = 0,998813$). Zależność tą przedstawia rycina 11.



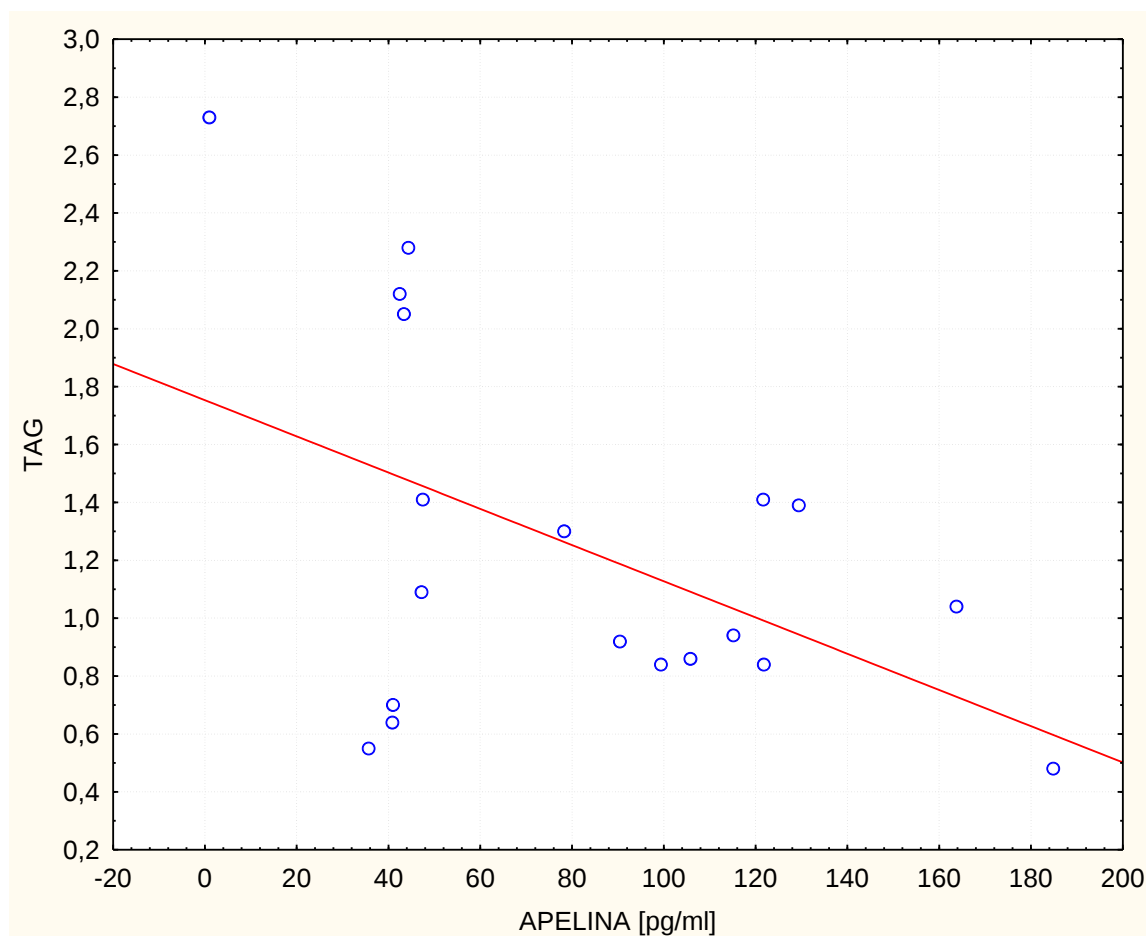
Ryc. 11. Zależność pomiędzy stężeniem apeliny a WHR w grupie otyłych kobiet.

7.4.5. W grupie otyłych mężczyzn zaobserwowano dodatnią korelację między stężeniem apeliny a stężeniem glukozy ($R = 0,525803$). Zależność tą przedstawia rycina 12.



Ryc. 12. Zależność pomiędzy stężeniem apeliny a stężeniem glukozy w grupie otyłych mężczyzn.

7.4.6. W grupie osób z nadwagą zaobserwowano istotną statystycznie ujemną korelację między stężeniem apeliny a stężeniem triglicerydów ($R = -0,485909$).



Ryc. 13. Zależność pomiędzy stężeniem apeliny a stężeniem triglicerydów w grupie osób z nadwagą.

Zależności między osoczym stężeniem apeliny, a stężeniami adiponektyny, leptyny, insuliny, wskaźnikami insulinooporności oraz wskaźnikami antropometrycznymi i parametrami biochemicznymi analizowano także w całej badanej populacji. Ze względu na brak istotnych statystycznie zależności wyników nie zamieszczano.

9. Dyskusja

W chorobach sercowo-naczyniowych stężenie apeliny było dotychczas oceniane głównie w chorobie niedokrwiennej oraz w niewydolności serca. Udokumentowany związek z ryzykiem rozwoju incydentów sercowo-naczyniowych posiadają inne adipocytokiny, wśród których leptynę i rezystynę uważa się za czynniki prognostyczne rozwoju choroby niedokrwiennej serca, a adiponektynę - za cytokinę działającą ochronnie w patogenezie tej choroby [186]. Oceniając rolę apeliny w chorobie niedokrwiennej serca oznaczono jej stężenie u pacjentów z zawałem mięśnia sercowego, gdzie zaobserwowano obniżenie jej stężenia, jak również zmniejszenie strefy zawałowej po jej egzogennym podaniu [8,105,106]. Weir i wsp. analizowali także stężenie apeliny u 100 pacjentów, w średnim wieku 58,9 lat, przyjętych do szpitala z zawałem mięśnia sercowego, stwierdzając, że jest ono obniżone, jak również koreluje ujemnie z funkcją skurczową mięśnia sercowego ocenianą na podstawie frakcji wyrzutowej lewej komory [8]. Znaczące korelacje pomiędzy parametrami echokardiograficznymi a stężeniem apeliny u hemodializowanych pacjentów z chorobą niedokrwinną serca zaobserwowali w swoim badaniu Małyszko i wsp. W badaniu tym u pacjentów z chorobą niedokrwinną serca zanotowano niższe stężenia apeliny w porównaniu z grupą kontrolną [187]. Li i wsp. badali stężenie apeliny u 96 pacjentów z dusznicą bolesną stabilną i u 78 zdrowych osób. Wykazali, że stężenie apeliny było istotnie niższe u pacjentów z dusznicą w porównaniu do grupy kontrolnej, a ponadto było ono ujemnie skorelowane ze stopniem zwężenia tętnic wieńcowych [93]. Pitkin i wsp. wykazali obniżoną ekspresję receptora APJ w mięśniu lewej komory serca u pacjentów z kardiomiopatią rozstrzeniową, jak również u chorych z chorobą niedokrwinną serca, co, jak sugerują badacze, może ograniczać pozytywne inotropowe działanie apeliny w tych jednostkach chorobowych. Badacze, postulując związek apeliny z rozwojem procesu miażdżycowego, oceniali także jej stężenie w miażdżycowo zmienionej tętnicy wieńcowej gdzie wykazali jego wzrost. Na podstawie wyników swojego badania autorzy sugerują udział apeliny w skurczu zmienionej miażdżycowo tętnicy wieńcowej [188]. W kilku pracach eksperymentalnych postuluje się dodatni efekt inotropowy apeliny w niewydolnym mięśniu sercowym [28,101,189]. Foldes i wsp. w badaniu u ludzi wykazali 4,7- krotny wzrost stężenia mRNA apeliny w mięśniu lewej komory serca u osób z niewydolnością mięśnia sercowego na tle choroby niedokrwiennej i 3,3 - krotny u osób z niewydolnością tego narządu na tle kardiomiopatii rozstrzeniowej [100]. Miettinen i wsp. oceniali stężenie apeliny u 65

pacjentów z zastoinową niewydolnością serca i u 14 zdrowych osób. Nie wykazali oni różnicy w stężeniu apeliny pomiędzy grupami, postulując, że stężenie apeliny, w przeciwieństwie do stężeń: proBNP, IL-6, TNF- α i noradrenaliny nie odzwierciedla zaawansowania niewydolności serca [190]. Podobnie Chong i wsp. oceniali stężenie apeliny u 202 pacjentów z niewydolnością mięśnia sercowego i u 22 zdrowych osób. Wykazali oni, że stężenie apeliny było istotnie niższe u pacjentów z niewydolnością serca, niezależnie od stopnia zaawansowania tej choroby [191]. Japp i wsp. badali efekt wazodylatacyjny apeliny u zdrowych osób. Wykazali, że peptyd ten po podaniu dożylnym rozszerza naczynia tętnicze na drodze zależnej od NO [11].

Niewiele jest doniesień oceniających stężenie apeliny u osób z nadciśnieniem tętniczym, szczególnie w młodych wiekowo populacjach. Sonmez i wsp. badając stężenie apeliny u 30 młodych, dotychczas nie leczonych osób z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym, stwierdził niższe jej stężenie w tej grupie osób w porównaniu do grupy kontrolnej oraz ujemną korelację w badanej populacji pomiędzy stężeniem apeliny a wartością skurczowego ciśnienia tętniczego [192]. W mojej pracy odnotowano nieistotnie wyższe stężenie apeliny w populacji osób z nadciśnieniem tętniczym. W populacji tej na stężenie apeliny mogą wpływać wykazane w badaniu wyższe wartości parametrów antropometrycznych, a także stężenia glukozy i stopnia zaawansowania insulinooporności. Zależność pomiędzy stężeniem apeliny a powyższymi parametrami obrazują wykazane w badaniu korelacje. Kotwica i Kosmala, w jednym z nielicznych polskich badań, podobnie jak Sonmez i wsp. stwierdzili niższe stężenie apeliny w populacji pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym. Była to grupa pacjentów w wieku 56 $\pm$ 9 lat, która ze względu na wiek, czas trwania choroby i dotychczasową terapię hipotensyjną nie była porównywalna z populacją badaną w niniejszej pracy [12]. Wpływ leków hipotensyjnych takich jak inhibitory konwertazy angiotensyny I i antagoniści receptora angiotensyny II na stężenie apeliny może być istotny, czego dowodzi praca Hunga i wsp. [193].

Uznany markerem zaawansowania procesu miażdżycowego jest kompleks intima-media tętnic szyjnych [180-182]. W niniejszym badaniu obserwowałam ujemną korelację pomiędzy stężeniem apeliny a grubością kompleksu intima-media tętnic szyjnych. Powyższa zależność była obserwowana w grupie kobiet z nadciśnieniem tętniczym, zarówno o prawidłowej, jak i nadmiernej masie ciała. Grubość kompleksu intima-media, pozostając w ujemnej korelacji ze stężeniem apeliny w badanej populacji, może wskazywać na rolę

apeliny w patofizjologii miażdżycy. Na grubość kompleksu, poza nadciśnieniem tętniczym, wpływają jednak także inne aterogenne czynniki, takie jak zaburzenia gospodarki węglowodanowej i lipidowej oraz nadmierna masa ciała. Tym samym więc, związek między jego wartością a stężeniem apeliny wymaga dalszych badań [7,194,195]. Konfrontacja uzyskanych przeze mnie wyników z danymi z piśmiennictwa jest trudna, ze względu na skąpe dane literaturowe, które analizowałyby zamierzony cel pracy w identycznym lub przynajmniej podobnym zakresie. Dostępne publikacje omawiają niektóre z powyższych zależności, ale w innych populacjach, na przykład w grupie osób z cukrzycą typu 2 lub w stanach przedcukrzycowych [117,118,59,131].

Wśród tych badań Soriguer i wsp. oceniali stężenie apeliny u 54 osób z otyłością olbrzymią, poddanych operacji bariatrycznej, z których 16, chorowało na cukrzycę typu 2. Grupę kontrolną stanowiło 12 zdrowych, nieotyłych osób. Stężenie apeliny mierzono przed i 7 miesięcy po zabiegu. Stężenie apeliny przed zabiegiem było istotnie wyższe w grupie osób z otyłością olbrzymią i z cukrzycą typu 2 w porównaniu do grupy kontrolnej. Ponadto stężenie apeliny w grupie osób z otyłością olbrzymią korelowało dodatnio ze stężeniem triglicerydów i stężeniem glukozy. Przeprowadzony zabieg bariatryczny wiązał się ze spadkiem stężenia apeliny w grupie osób z otyłością i cukrzycą typu 2, a zmiany w stężeniu apeliny u osób z otyłością olbrzymią korelowały dodatnio ze stężeniem glukozy i ujemnie ze stopniem insulinowrażliwości mierzonej w OGTT. Dowiedziony w tym badaniu związek pomiędzy stężeniem apeliny i stężeniem glukozy, jak i insulinowrażliwością przemawia za udziałem tego peptydu w patogenezie cukrzycy typu 2, jak i tego, że zaburzenia gospodarki węglowodanowej odgrywają większą rolę w regulacji osoczkowego stężenia apeliny niż otyłość [196]. Zhang i wsp. badali stężenie apeliny u 75 pacjentów ze świeżo rozpoznaną i dotychczas nieleczoną cukrzycą typu 2 i u 36 osób zdrowych. Wykazali oni niższe stężenie apeliny w grupie badanej w porównaniu do grupy kontrolnej, a ponadto ujemną korelację pomiędzy stężeniem apeliny i wskaźnikiem HOMA [197]. Podobnie Erdem i wsp. oceniali stężenie apeliny u 40 pacjentów ze świeżo rozpoznaną, dotychczas nieleczoną cukrzycą typu 2 i u 40 zdrowych osób z grupy kontrolnej. W badaniu tym, stężenie apeliny i stężenie adiponektyny były istotnie niższe w grupie osób z cukrzycą. Stężenie apeliny ponadto korelowało ujemnie z wiekiem, stężeniem glukozy na czczo i wskaźnikiem HOMA oraz dodatnio ze stężeniem adiponektyny, a stężenie adiponektyny było ujemnie skorelowane ze stężeniem insuliny, stężeniem glukozy na czczo, wskaźnikiem HOMA i BMI [198].

Odwrotną zależność pomiędzy stężeniem apeliny a obecnością cukrzycy zaobserwował Meral i wsp. oceniając osoczowe stężenie apeliny u trzydziściorga dzieci z cukrzycą typu 1 i u 45 osób z grupy kontrolnej. Stężenie apeliny u dzieci z cukrzycą typu 1 w ich badaniu było istotnie wyższe w porównaniu do grupy kontrolnej. W grupie tej nie wykazano znaczących korelacji pomiędzy stężeniem apeliny a BMI, stężeniem glukozy, lipidów czy adiponektyny, jak również pomiędzy stężeniem apeliny i insulinowrażliwością [199]. W badaniu Heinonena i wsp. podkreśla się natomiast dodatnią korelację między osoczym stężeniem apeliny a BMI. Znacząco wyższe stężenie apeliny zanotowano w grupie pacjentów otyłych w porównaniu do grupy kontrolnej [118]. Dodatnią korelację między stężeniem apeliny a BMI zaobserwował również Li i wsp. w grupie otyłych pacjentów z upośledzoną tolerancją glukozy i cukrzycą typu 2 [131]. Podobnie Boucher i wsp. notując w swoim badaniu wyższe stężenia apeliny u osób otyłych sugerują, że osoczowe stężenie apeliny w otyłości jest związane z hiperinsulinemią [59]. W przeciwieństwie do powyższych badań, Ziora i wsp. nie dowiedli zależności pomiędzy stężeniem apeliny a BMI w grupie otyłych osób, choć zanotowali wyższe stężenia apeliny w tej grupie w porównaniu do grupy o prawidłowym lub obniżonym BMI [117]. W naszym badaniu również nie wykazano istotnych statystycznie zależności pomiędzy stężeniem apeliny a wskaźnikiem masy ciała, zaobserwowano natomiast w podgrupie otyłych kobiet z nadciśnieniem tętniczym dodatnią zależność pomiędzy stężeniem apeliny a WHR.

Castan-Laurell i wsp. oceniali stężenie apeliny, TNF- α , mRNA apeliny i receptora APJ w tkance tłuszczowej u 20 otyłych kobiet poddanych diecie redukcyjnej i u 12 zdrowych kobiet z prawidłowym BMI. Zauwazyli, że osoczowe stężenie apeliny i TNF- α było wyższe w grupie otyłych pacjentek w porównaniu ze szczupłą grupą kontrolną, a dieta niskokaloryczna skutkowała obniżeniem BMI, stężenia TNF- α , apeliny, insuliny oraz mRNA apeliny i receptora APJ w tkance tłuszczowej. Autorzy zwracają również uwagę na związek pomiędzy zmianami w stężeniu mRNA apeliny a zmianami w stężeniu mRNA receptora APJ w tkance tłuszczowej. Na podstawie uzyskanych wyników sugerują, że zmniejszona ekspresja apeliny w tkance tłuszczowej przyczynia się do obniżenia stężenia krążącej w osoczu apeliny [120].

W kilku pracach dotyczących osób z zaburzeniami gospodarki węglowodanowej podkreśla się związek stężenia apeliny ze stężeniem insuliny, jako że jest to jeden z najważniejszych czynników wpływających na syntezę i sekrecję tego peptydu [57,60].

W mojej pracy nie wykazałam zależności pomiędzy stężeniem apeliny a stężeniem insuliny u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym, zarówno z prawidłową, jak i nadmierną masą ciała. Sugeruje to, że na wartość osocznego stężenia apeliny u osób z nadciśnieniem tętniczym mają wpływ również inne, poza insuliną, czynniki, których identyfikacja i rola wymaga dalszych badań.

W niniejszej pracy wykazano natomiast dodatnią korelację pomiędzy stężeniem apeliny a stężeniem glukozy w grupie otyłych mężczyzn z nadciśnieniem tętniczym. Być może zależność ta wynika ze wzrostu stężenia apeliny wraz ze wzrostem glikemii towarzyszącej otyłości w tej grupie chorych. Wspomnianą korelację w innej populacji - u pacjentów z zaburzeniami gospodarki węglowodanowej, bez nadciśnienia tętniczego obserwowano w badaniu Li i wsp. [131].

Oceniając zależność między stężeniem apeliny, a stężeniem triglicerydów, w prezentowanym przeze mnie badaniu stwierdzono ujemną korelację pomiędzy tymi parametrami w grupie pacjentów z nadwagą, zarówno u kobiet, jak i u mężczyzn. Badając zależności pomiędzy stężeniem apeliny a zaburzeniami gospodarki lipidowej Tasci i wsp. wykazali w swoim badaniu w grupie 33 normotensyjnych pacjentów, bez cukrzycy, z prawidłową masą ciała i podwyższonym stężeniem LDL-cholesterolu, niższe stężenia apeliny, co autorzy próbują wiązać ze zjawiskiem insulinooporności [200]. Dodatnią zależność pomiędzy stężeniem apeliny na czczo, a stężeniem triglicerydów zaobserwowali natomiast w badaniu Li i wsp., ale w innej populacji, u osób z cukrzycą typu 2 i upośledzoną tolerancją glukozy [131]. Podwyższone stężenie triglicerydów w grupie pacjentów z nadciśnieniem tętniczym jest czynnikiem uszkadzającym śródbłonek, którego upośledzona funkcja wiąże się natomiast z wazokonstrykcyjnym wpływem apeliny na naczynia krwionośne, dowiedzionym w przytaczanych wcześniej badaniach. Proces ten może prowadzić do progresji nadciśnienia tętniczego niezależnie od wartości glikemii i zaburzeń gospodarki węglowodanowej [16,18,41,84]. Tasci i wsp. oceniali też wpływ działania hipolipemizującego (dieta lub zastosowanie statyny) na stężenie apeliny i wykazali, że redukcja LDL-cholesterolu była związana ze wzrostem osocznego stężenia apeliny i adiponektyny [201].

Podsumowując niniejsze rozważania dotyczące zależności między stężeniem apeliny a obecnością nadciśnienia tętniczego oraz dotyczące wzajemnych powiązań między apeliną i wybranymi parametrami antropometrycznymi i metabolicznymi u osób z nadciśnieniem

tętnicznym, można stwierdzić, że ich obecność wymaga dalszych badań. Na podstawie mojego badania u osób z nadciśnieniem tętniczym można jedynie postulować o związku pomiędzy apeliną, a wykładnikami zaburzeń metabolicznych w tej grupie chorych.

10. Krytyka metody

Niniejsza praca jest próbą przedstawienia roli apeliny u młodych osób z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym. Autorka pomimo dołożenia wszelkich starań w przeprowadzeniu badań zdaje sobie sprawę z pewnych niedostatków. Pierwszym elementem, który może zostać poddany krytyce jest liczebność badanej populacji. Siedemdziesięcioosobowa populacja to istotnie, ze statystycznego punktu widzenia, niewielka grupa. Należy jednakże wziąć pod uwagę pewne aspekty takiego wyboru. Po pierwsze była to populacja młoda, z bardzo krótkim wywiadem w kierunku nadciśnienia tętniczego. Element powyższy wiązał się, przynajmniej z teoretycznego punktu widzenia, z brakiem ewidentnych powikłań wynikających z obecności choroby. Po drugie, nie zmuszał do natychmiastowej farmakoterapii, co eliminowało potencjalny wpływ leku/leków, nie tylko na wartości ciśnienia tętniczego, ale także na stężenie apeliny i funkcje śródbłonna. Tak wybrana populacja powinna w opinii autorki spełniać kryteria właściwego doboru do badań klinicznych. Kolejnym, ewentualnym zarzutem dotyczącym niniejszej rozprawy jest konstrukcja pracy. Znaczną jej część stanowią rozważania teoretyczne dotyczące fizjologii i patofizjologicznej roli apeliny, mechanizmu jej oddziaływania w komórce, jej metabolizmu, ekspresji tkankowej i wzajemnego powiązania z szeregiem układów hormonalnych organizmu. Ta różnica między częścią teoretyczną a kliniczną, być może uznana przez czytającego za wyraźną dysproporcję, ma jednak pewne uzasadnienie. Apelina to stosunkowo niedawno odkryta adipocytokina, obecnie intensywnie badana, zarówno na modelach zwierzęcych jak i w próbach klinicznych. Pomimo wzrastającego zainteresowania liczba opublikowanych prac, wliczając w to komunikaty zjazdowe, nie przekracza 370 pozycji (baza Pubmed, stan na 15.02.2011 r.). Co więcej, zdecydowana większość prac - to prace eksperymentalne, których wyniki często są niejednoznaczne lub sprzeczne ze sobą. Taki stan rzeczy w opinii autorki obligował do możliwie szerszego potraktowania zagadnienia. Nie więcej jak 20% dotychczas opublikowanych prac - to próby kliniczne oceniające stężenia apeliny w różnych jednostkach chorobowych. W dostępnych bazach danych, liczba pełnotekstowych publikacji traktujących o potencjalnym udziale apeliny u młodych osób z **pierwotnym nadciśnieniem tętniczym** (podkreślenie własne A.S.) nie przekracza kilku pozycji. Wynika z tego problem omówienia wyników mojej pracy, który opiera się na konfrontacji z pojedynczymi danymi z piśmiennictwa. Tym samym końcowe wnioski są

bardzo ostrożne, a powyższa dysertacja ma stanowić przyczynek do dalszych badań nad rolą apeliny u młodych osób z nadciśnieniem tętniczym.

10. Wnioski

1. Osoczowe stężenie apeliny u młodych osób z nadciśnieniem tętniczym nie różni się istotnie statystycznie od jej stężenia w grupie kontrolnej; różnicę istotną statystycznie stwierdzono natomiast w podgrupie mężczyzn z nadciśnieniem tętniczym w stosunku do mężczyzn z prawidłowymi wartościami ciśnienia tętniczego.
2. Ujemna korelacja między stężeniem apeliny a grubością kompleksu intima-media tętnic szyjnych może wskazywać na udział apeliny w patogenezie wczesnych zmian miażdżycowych.
3. Między grupą osób z nadciśnieniem tętniczym a grupą kontrolną stwierdza się istotne statystycznie różnice w wartościach parametrów antropometrycznych, stężeniu glukozy i wskaźniku HOMA.
4. U osób z nadciśnieniem tętniczym stwierdza się istotne statystycznie korelacje pomiędzy stężeniem apeliny a wybranymi parametrami antropometrycznymi i metabolicznymi w zależności od wartości wskaźnika masy ciała.
5. Rola apeliny w patogenezie nadciśnienia tętniczego u młodych chorych wymaga dalszych badań.

Streszczenie

Wstęp. Apelina jest nowo odkrytą adipocytokiną o potencjalnej roli w układzie sercowo – naczyniowym. Jej ekspresja w organizmie człowieka jest najsilniej wyrażona w śródbłonku naczyń krwionośnych, dużego i małego kalibru, jak również w kardiomiocytach. Na komórki docelowe oddziałuje przez swoisty receptor APJ. Zarówno apelina, jak i APJ ze względu na swoją budowę i lokalizację w tkankach, wykazują znaczne podobieństwo do elementów układu RAA. **Celem** niniejszej pracy była ocena stężenia apeliny u młodych, dotychczas nieleczonych osób z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym oraz ocena zależności pomiędzy stężeniem apeliny a wybranymi parametrami antropometrycznymi, wykładnikami insulinooporności, stężeniem innych adipocytokin, poszczególnych frakcji lipidowych, grubością kompleksu intima-media tętnic szyjnych. **Materiał i metody.** W badaniu wzięło udział 70 osób w wieku 18 – 33 lat, w tym 48 mężczyzn i 22 kobiety z pierwotnym, dotychczas nieleczonym nadciśnieniem tętniczym, bez towarzyszących schorzeń. Grupę kontrolną stanowiło 15 zdrowych osób, dobranych odpowiednio pod względem płci i wieku. U każdej osoby przeprowadzono podmiotowe i przedmiotowe badanie lekarskie z wykonaniem pomiarów antropometrycznych i ciśnienia tętniczego. W surowicy oznaczono na czczo stężenie apeliny, insuliny, adiponektyny, leptyny, poszczególnych frakcji lipidowych i glukozy. Na podstawie uzyskanych wyników obliczono: WHR, BMI, HOMA-IR, IRI/G. Pomiaru grubości kompleksu intima-media tętnic szyjnych dokonano przy użyciu metody ultrasonograficznej. Obliczenia statystyczne wykonano przy użyciu programu Statistica 8.0. **Wyniki:** Średnie stężenie apeliny w grupie badanej wynosiło 98,04 +/- 51,82 pg/ml i nie różniło się istotnie statystycznie w porównaniu do stężenia apeliny w grupie kontrolnej, które wynosiło 79,19 +/- 39,51 pg/ml. W grupie badanej zaobserwowano istotne statystycznie korelacje: w grupie mężczyzn o prawidłowej masie ciała uzyskano ujemną korelację między stężeniem apeliny i wiekiem, w grupie kobiet o prawidłowej masie ciała uzyskano ujemną korelację między stężeniem apeliny i grubością kompleksu intima-media lewej tętnicy szyjnej wspólnej (KIM LCCA), w grupie kobiet otyłych uzyskano ujemną korelację między stężeniem apeliny a grubością kompleksu intima-media prawej tętnicy szyjnej wspólnej (KIM RCCA), w grupie kobiet otyłych uzyskano dodatnią korelację między stężeniem apeliny a WHR, w grupie otyłych mężczyzn zaobserwowano dodatnią korelację między stężeniem apeliny a stężeniem glukozy, w grupie osób z nadwagą zaobserwowano istotną statystycznie ujemną korelację między stężeniem apeliny a stężeniem

triglicerydów. Wnioski: 1. Osoczowe stężenie apeliny u młodych osób z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym nie różni się istotnie od jej stężenia w grupie kontrolnej, różnicę istotną statystycznie stwierdza się jednak w podgrupie mężczyzn z nadciśnieniem tętniczym w stosunku do mężczyzn zdrowych. 2. Ujemna korelacja pomiędzy stężeniem apeliny a grubością kompleksu intima-media tętnic szyjnych może wskazywać na udział apeliny w patogenezie wczesnych zmian miażdżycowych. 3. Rola apeliny w patogenezie nadciśnienia tętniczego pierwotnego wymaga dalszych badań.

12. Summary

Introduction. Apelin is a newly discovered adipocytokine with a potential role in the cardiovascular system. It is highly expressed in the endothelium of large and small blood vessels as well as in cardiomyocytes. It acts on target cells by specific receptor APJ. Both apelin and APJ receptor, due to their peptide structure and tissue distribution, resemble elements of the RAA system. **The purpose** of this study were to assess the plasma apelin concentration in young patients with primary arterial hypertension who have not been already treated and to assess the relationship between the concentration of apelin and selected anthropometric parameters, indicators of insulin resistance, concentration of other serum adipocytokines and lipid fractions and the intima-media thickness of carotid arteries. **Methods:** 70 patients aged 18 - 33 years with newly diagnosed, untreated essential arterial hypertension took part in this study. The control group comprised of 15 age- and gender-matched healthy people. Each person underwent medical examination with anthropometric and blood pressure measurements. The concentration of apelin and other metabolic parameters such as adiponectin, leptin, insulin, cholesterol fractions, glucose and insulin concentrations were assessed in blood serum in fasting state. We calculated BMI, WHR and HOMA-IR. The carotid intima-media thickness was estimated using ultrasonography. The statistical analysis was performed with Statistica 8.0 for Windows software with level of statistical significance value less than 0,05. **Results:** The average concentration of apelin in the study group was 98.04 ± 51.82 pg / ml and did not differ significantly compared to the concentration of apelin in the control group, which was 79.19 ± 39.51 pg / ml. In the study group statistically significant correlations were observed: in a group of men of normal weight a negative correlation between the concentration of apelin and age was obtained, in women of normal weight a negative correlation between the concentration of apelin and intima-media thickness of left common carotid artery (KIM LCCA) was obtained, in a group of obese women a negative correlation between the concentration of apelin and the intima-media thickness of right common carotid artery (KIM RCCA) was received, in obese men a positive correlation between the apelin concentration and WHR was obtained, in obese women a positive correlation between the plasma apelin concentration and the concentration of glucose was received, in a group of overweight people a statistically significant negative correlation between triglyceride levels and the apelin concentration was observed. **Conclusions:** 1. The plasma apelin

concentration in young hypertensive subjects does not differ significantly in comparison with control group, however it does differ significantly in subgroup of hypertensive man in comparison with healthy ones. 2. The negative correlation between the apelin concentration and the common carotid artery intima-media thickness might indicate the participation of apelin in the pathogenesis of early atherosclerosis lesions. 3. The role of apelin in the pathogenesis of essential arterial hypertension requires further studies.

13. Piśmiennictwo

1. Kearney P.M., Whelton M., Reynolds K. i wsp. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet* 2005; 365:217-223.
2. Kadoglou N., Lampropoulos S., Kapelouzou A. i wsp. *Kozani Study* - Serum levels of apelin and ghrelin in patients with acute coronary syndromes and established coronary artery disease. *Translational Research*. 2010; 155, (5):238-246.
3. Nishida M., Funahashi T., Shimomura I. Pathophysiological significance of adiponectin. *Med. Mol. Morphol.* 2007; 40:55-67.
4. Mahmud A., Feely J. Adiponectin and arterial stiffness. *Am. J. Hypertens.* 2005; 18:1543-1548.
5. Schöndorf T., Maiworm A., Emmison N. i wsp. Biological background and role of adiponectin as marker for insulin resistance and cardiovascular risk. *Clin. Lab.* 2005; 51:489-494.
6. Dzielińska Z., Januszewicz A., Więcek A. i wsp. Decreased plasma concentration of a novel anti-inflammatory protein adiponectin in hypertensive men with coronary artery disease. *Thromb. Res.* 2003; 110:365-369.
7. Januszewicz A. Nadciśnienie tętnicze. *Medycyna Praktyczna* 2007; W: Dembińska-Kieć A., Kieć-Wilk B. Molekularne podstawy przekazywania komórkowego w sercu i naczyniach krwionośnych. 6-9.
8. Weir R.A., Chong K.S., Dalzell J.R. i wsp. Plasma apelin concentration is depressed following acute myocardial infarction in man. *Eur. J. Heart Fail.* 2009; 11(6): 51-558.
9. Małyszko J., Małyszko J.S., Pawlak K. i wsp. Visfatin and apelin, new adipokines, and their relation to endothelial function in patients with chronic renal failure. *Adv. Med. Sci.* 2008; 53:32-6.

10. Farkasfalvi K., Stagg M.A., Coppen S.R. i wsp. Direct effects of apelin on cardiomyocyte contractility and electrophysiology. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007; 357:889-95.
11. Japp A.G., Cruden N.L., Amer D.A. i wsp. Vascular effects of apelin in vivo in man. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2008; 52(11):908-13.
12. Kosmala W. i wsp. Reduced circulating apelin in essential hypertension and its association with cardiac function. *Kardiologia Polska.* 2008; 66: 9 (supl. 2). s.S138 poz.R145.
13. Rozpowszechnienie głównych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego w Polsce. Grupa Robocza Programu NATPOL PLUS. *Kardiologia Polska* 2004, supl. IV: 1-26.
14. Pająk A, Kawalec E. Rozpowszechnienie i skuteczność postępowania w nadciśnieniu tętniczym. Wyniki badania długofalowego Pol-MONICA Kraków. *Medipress Kardiologia* 1994; 1:3-6.
15. Wolf-Maier K., Cooper R.S., Banegas J.R., i wsp. Hypertension prevalence and blood pressure levels in 6 European countries, Canada and The United States. *JAMA* 2003; 289:2363-9.
16. Tykarski A., Posadzy-Mańczyńska A., Wyrzykowski B. i wsp. Rozpowszechnienie nadciśnienia tętniczego oraz skuteczność jego leczenia u dorosłych mieszkańców naszego kraju. Wyniki programu WOBASZ. *Kardiologia Polska* 2005; 63: 6 (supl. 4):S1-S6.
17. Bryl W., Miczke A., Cymerys M. i wsp. Występowanie czynników ryzyka u dzieci i młodzieży z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym. *Nadciśnienie Tętnicze.* 2005; 9(6): 433-442.
18. Berenson G.S., Wattigney W.A., Bao W. Epidemiology of early primary hypertension and implications for prevention. The Bogalusa Heart Study. *J. Hum. Hypertens.* 1994; 5:303-311.

19. Kinalska I. i wsp. Patofizjologia i następstwa kliniczne insulinooporności. W: Telejko B., Myśliwiec J., Kinalska I. Insulinooporność a funkcja śródbłónka naczyniowego i płytek krwi. 91-134.
20. Browatzki M., Larsen D., Pfeiffer C.A. i wsp. Angiotensin II stimulates matrix metalloproteinase secretion in human vascular smooth muscle cells via nuclear factor-kappaB and activator protein 1 in a redox-sensitive manner. *J. Vasc. Res.* 2005; 42:415-423.
21. Metha J.L., Chen J., Hermonat P.L. i wsp. Lectin-like, oxidized low-density lipoprotein receptor-1 (LOX-1): A critical player in development of atherosclerosis and related disorders. *Cardiovasc. Res.* 2006; 69:36-45.
22. Lee D.K., Cheng R., Nguyen T. i wsp. Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor. *J. Neurochemistry* 2000; 74(1):34-41.
23. Kawamata Y., Habata Y., Fukusumi S. i wsp. Molecular properties of apelin: tissue distribution and receptor binding. *Biochim. Biophys. Acta* 2001; 1538:162-171.
24. Habata Y., Fujii R., Hosoya M. i wsp. Apelin, the natural ligand of the orphan receptor APJ, is abundantly secreted in the colostrum. *Biochim. Biophys. Acta* 1999; 1452:25-35.
25. Hosoya M., Kawamata Y., Fukusumi S. i wsp. Molecular and functional characteristics of APJ. Tissue distribution of mRNA and interaction with the endogenous ligand apelin. *J. Biol. Chem.* 2000; 275(28):21061-21067.
26. Reaux A., De Mota N., Skultetyova I. i wsp. Physiological role of a novel neuropeptide, apelin, and its receptor in the rat brain. *J. Neurochem.* 2001; 77 (4):1085-1096.
27. Messari S.E., Iturrioz X., Fassot C. i wsp. Functional dissociation of apelin receptor signaling and endogenous peptide ligand for the effects of apelin on arterial blood pressure. *J. Neurochem.* 2004; 90:1290-1301.

28. Lee D.K., Saldivia V.R., Nguyen T. i wsp. Modification of the terminal residue of apelin-13 antagonizes its hypotensive action. *Endocrinology* 2005; 146 (1):231-236.
29. O'Dowd B.F., Heiber M., Chan A. i wsp. A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. *Gene* 1993; 136:355-360.
30. Tatemoto K., Hosoya M., Habata Y. i wsp. Isolation and characterization of novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1998; 251 (2):471-476.
31. Chen M.M., Ashley E.A., Deng D.X.F. i wsp. Novel role for the potent endogenous inotrope apelin in human cardiac dysfunction. *J. Am. Heart Association (Circulation)* 2003; 108:1432-1439.
32. Szokodi I., Tavi P., Földes G. Apelin, the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ, regulates cardiac contractility. *Circ. Res.* 2002; 91:434-440.
33. Tatemoto K., Takayama K., Zou M.X. i wsp. The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism. *Regul Pept.* 2001;99:87-92.
34. www.phoenixpeptide.com/catalog/product_info.php?cPath=25_43&products_id=4531
35. Kotwica T., Kosmala W. Rola apeliny w fizjologii i chorobach układu sercowo - naczyniowego. *Pol. Przegl. Kardiol.* 2008; 10 (1):55-58.
36. Garden R.W., Moroz T.P., Gleeson J.M. i wsp. Formation of N-pyroglutamyl peptides from N-Glu and N-Gln precursors in aplysia neurons. *J. Neurochem.* 1999; 72 (2):676-681.
37. Zhou N., Fan X., Mukhtar M. i wsp. Cell-cell fusion and internalization of the CNS-based, HIV-1 co-receptor, APJ. *Virology.* 2003; 307:22-36.

38. Cayabyab M., Hinuma S., Farzan M. i wsp. Apelin, the natural ligand of the orphan seven transmembrane receptor APJ, inhibits human immunodeficiency virus type 1 entry. *J. Virol.* 2000; 74:11972-11976.
39. Zou M.X., Liu H.Y., Haraguchi Y. i wsp. Apelin peptides block the entry of human immunodeficiency virus (HIV). *FEBS Lett.* 2000; 473:15-18.
40. Medhurst A.D., Jennings C.A., Robbins M.J. i wsp. Pharmacological and immunohistochemical characterization of the APJ receptor and its endogenous ligand apelin. *J. Neurochem.* 2003; 84:1162-1172.
41. Maguire J.J., Klein M.J., Pitkin S.L. i wsp. [Pyr1] Apelin-13 identified as the predominant apelin isoform in the human heart. *Hypertension* 2009; 54(3):598-604.
42. Chun H.J., Ali Z.A., Kojima Y. i wsp. Apelin signaling antagonizes Ang II effects in mouse models of atherosclerosis. *J. Clin. Invest.* 2008; 118:3343-3354.
43. Kagiya S., Fukuhara M., Matsumura K. i wsp. Central and peripheral cardiovascular actions of apelin in conscious rats. *Regul. Pept.* 2005; 125(1-3):55-59.
44. Paz Ocaranza M. i wsp. Angiotensin(1-9) regulates cardiac hypertrophy in vivo and in vitro. *J. Hypertens.* 2010, 28:1054-1064.
45. IUPHAR Database of Receptors and Ion Channels. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. www.iuphar-db.org/index.jsp.
46. Lee D.K., Lança A.J., Cheng R. i wsp. Agonist-independent nuclear localization of the apelin, angiotensin AT1, and bradykinin B2 receptors. *J. Biol. Chem.* 2004; 279(9): 7901–7908.
47. Vickers C., Hales P., Kaushik V. i wsp. Hydrolysis of biological peptides by human angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 14838-14843.

48. Andrzejczak D. Angiotensyna1-7 - nowe ogniwo układu renina - angiotensyna - aldosteron (RAA). *Postępy Hig. Med. Dośw. (online)*, 2009; 63:23-29.
49. Ladeiras-Lopes R., Ferreira-Martins J., Leite-Moreira A.F. The apelinergic system: the role played in human physiology and pathology and potential therapeutic applications. *Arq Bras Cardiol.* 2008; 90(5):343-9.
50. Klein M.J., Skepper J.N., Davenport A.P. i wsp. Immunocytochemical localisation of apelin receptor, APJ, to human cardiomyocytes, vascular smooth muscle and endothelial cells. *Regul. Pept.* 2005; 126 (3):233-240.
51. Katugampola S.D., Maguire J.J., Matthewson S.R., Davenport A.P. [125I]-(Pyr1)Apelin-13 is a novel radioligand for localizing the APJ orphan receptor in human and rat tissues with evidence for a vasoconstrictor role in man. *Br. J. Pharmacol.* 2001; 132:1255-1260.
52. Klein M.J., Davenport A.P. Emerging roles of apelin in biology and medicine. *Pharmacol. Ther.* 2005; 107:198-211.
53. Ronkainen V.P., Ronkainen J.J., Hanninen S.L. i wsp. Hypoxia inducible factor regulates the cardiac expression and secretion of apelin. *FASEB J* 2007; 21:1821-30.
54. Wang G. i wsp. Apelin: a new enteric peptide, localization in the gastrointestinal tract, ontogeny, stimulation of gastric cell proliferation and of cholecystokinin secretion. *Endocrinology*; 2004; 145(3):1342-8.
55. Kalea A.Z., Batlle D. Apelin and ACE2 in cardiovascular disease. *Curr. Opin. Investig. Drugs.* 2010; 11(3):273-82.
56. Hashimoto T., Kihara M., Ishida J. i wsp. Apelin stimulates myosin light chain phosphorylation in vascular smooth muscle cells. *Arterioscler. Thromb. VascBiol.* 2006; 26:1267-1272.

57. Castan-Laurell I., Boucher J., Dray C. i wsp. Apelin, a novel adipokine over-produced in obesity: friend or foe? *Mol. Cell. Endocrinol.* 2005; 245:7-9.
58. Hu L., Deeney J.T., Nolan C.J. i wsp. Regulation of lipolytic activity by long-chain acyl-coenzyme A in islets and adipocytes. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2005; 289:1085-1092.
59. Boucher J., Masri B., Daviaud D. i wsp. Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insulin and obesity. *Endocrinology* 2005; 146:1764-1771.
60. Dray C., Knauf C., Daviaud D. i wsp. Apelin stimulates glucose utilization in normal and obese insulin-resistant mice. *Cell Metabolism* 2008; 8:437-445.
61. Han S., Wang G., Oi X. i wsp. A possible role for hypoxia-induced apelin expression in enteric cell proliferation. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2008; 294(6): R1832-1839.
62. Kunduzova O., Alet N., Delesque-Touchard N. i wsp. Apelin/APJ signaling system: a potential link between adipose tissue and endothelial angiogenic processes. *FASEB J.* 2008; 22:4146-4153.
63. Eyries M., Siegfried G., Ciumas M. i wsp. Hypoxia-Induced Apelin Expression Regulates Endothelial Cell Proliferation and Regenerative Angiogenesis. *Circulation Research.* 2008; 103:432-440.
64. Sorli S.C., Le Gonidec S., Knibiehler B. i wsp. Apelin is a potent activator of tumour neoangiogenesis. *Oncogene.* 2007; 26:7692-7699.
65. Glassford A.J., Yue P., Sheikh A.Y. i wsp. HIF-1 regulates hypoxia- and insulin-induced expression of apelin in adipocytes. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2007; 293: E1590-E1596.

66. Cox C.M., D'Agostino S.L., Miller M.K. i wsp. Apelin, the ligand for the endothelial G-protein-coupled receptor, APJ, is a potent angiogenic factor required for normal vascular development of the frog embryo. *Dev. Biol.* 2006; 296:177-189.
67. Maxwell P.H., Wiesener M.S., Chang G.W. i wsp. The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis. *Nature.* 1999; 399(6733):203-204.
68. Kralisch S., Lossner U., Bluher M., Paschke R. i wsp. Growth hormone induces apelin mRNA expression and secretion in mouse 3T3-L1 adipocytes. *Regul Pept.* 2007; 139 (1-3):84-89.
69. Lee D.K., George S.R., O'Dowd B.F. Unravelling the roles of the apelin system: prospective therapeutic applications in heart failure and obesity. *Trends Pharmacol. Sci.* 2006. 27 (4):190-194.
70. Leeper N.J., Tedesco M.M., Kojima Y. i wsp. Apelin prevents aortic aneurysm formation by inhibiting macrophage inflammation. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2009; 296: H1329-1335.
71. Hashimoto T., Kihara M., Imai N. i wsp. Requirement of apelin receptor system for oxidative stress-linked atherosclerosis. *Am. J. Pathol.* 2007; 171:1705-1702.
72. Małyszko J., Małyszko J.S., Pawlak K. i wsp. Apelin, a novel adipocytokine, in relation to endothelial function and inflammation in kidney allograft recipients. *Transplant Proc.* 2008; 40(10):3466-3469
73. Li Z., Bai Y., Hu J. Reduced apelin levels in stable angina. *Intern. Med.* 2008; 47: 1951-1955.
74. Zhong J.C., Huang Y., Yung L.M. i wsp. The novel peptide apelin regulates intrarenal artery tone in diabetic mice. *Regul. Pept.* 2007; 144(1-3):109-114.

75. Wnuczko K., Szczepański M. Śródbłonek - charakterystyka i funkcje. *Pol. Merk. Lek.*, 2007; 133:60-65.
76. Tsukada M., Chiba S. Bradykinin-induced vascular responses in dog isolated lingual artery. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 1999; 26 (5-60):456-460.
77. Ishida J., Hashimoto T., Hashimoto Y. i wsp. Regulatory roles for APJ, a seven-transmembrane receptor related to angiotensin- type 1 receptor in blood pressure in vivo. *J. Biol. Chem.* 2004; 279: 26274-26279.
78. Cohen R.A., Vanhoutte P.M. Endothelium-dependent hyperpolarization. Beyond nitric oxide and cyclic GMP. *Circulation* 1995; 92 (11):3337-3349.
79. Masuda H., Azuma H. Biological and pathophysiological roles of endogenous methylarginines as inhibitors of nitric oxide synthase. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 2002; 119: 29-35.
80. Sunano S., Sekiguchi F. Endothelium-derived factors in hypertensive blood vessels, especially nitric oxide and hypertension. *Yakugaku Zasshi*, 2003; 123:495-515.
81. Salcedo A., Garijo J., Monge L. i wsp. Apelin effects in human splanchnic arteries: role of nitric oxide and prostanoids. *Regul. Pept.* 2007; 44:50-55.
82. Kleinz M.J., Davenport A.P. i wsp. Immunocytochemical localization of endogenous vasoactive peptide apelin to human vascular and endocardial cells. *Regul. Pept.* 2004; 118 (3): 119-125.
83. Haynes W.G., Webb D.J. Contribution of endogenous generation of endothelin-1 to basal vascular tone. *Lancet.* 1994; 344:852-854.
84. Maguire J.J., Davenport A.P. Regulation of vascular reactivity by established and emerging GPCRs. *Trends Pharmacol. Sci.* 2005; 26:448-454.

85. Sampaio W.O., Souza dos Santos R.A., Faria-Silva R. i wsp. Angiotensin1-7 through receptor Mas mediates endothelial nitric oxide synthase activation via Akt-dependent pathways. *Hypertension*. 2007; 49:185-192.
86. Tallant E.A., Ferrario C.M., Gallagher P.E. Angiotensin(1-7) inhibits growth of cardiac myocytes through activation of the mas receptor. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2005; 289: H1560–H1566.
87. Iyer S.N., Averill D.B., Chappell M.C. i wsp. Contribution of angiotensin1-7 to blood pressure regulation in salt-depleted hypertensive rats. *Hypertension*, 2000; 36:417-422.
88. Chandrasekaran B., Dar O., McDonagh T. The role of apelin in cardiovascular function and heart failure. *Eur. J. Heart. Fail.* 2008; 10(8):725-732.
89. Liao Y.M., Qiao F.Y. Expression of apelin in placentas of patients with hypertensive disorders complicating pregnancy. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 2007; 42(6):382-385.
90. Kelly R.A., Eid H., Kramer B.K. i wsp. Endothelin enhances the contractile responsiveness of adult rat ventricular myocytes to calcium by a pertussis toxin-sensitive pathway. *J. Clin. Invest.* 1990; 86:1164 -1171.
91. Davenport A.P., Nunez D.J., Hall J.A. i wsp. Autoradiographical localization of binding sites for [125I]endothelin-1 in humans, pig, and rats; functional relevance in humans. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1989; 13(suppl 5):S166-S170.
92. Russell F.D., Molenaar P., O'Brien D.M. Cardiostimulant effects of urotensin-II in human heart in vitro. *Br. J. Pharmacol.* 2001; 132:5-9.
93. Ashley E.A., Powers J., Chen M., i wsp. The endogenous peptide apelin potently improves cardiac contractility and reduces cardiac loading in vivo. *Cardiovasc. Res.* 2005; 65:73-82.

94. Berry M.F., Pirolli T.J., Jayasankar V. i wsp. Apelin has in vivo inotropic effects on normal and failing hearts. *Circulation*. 2004; 110:II187-II193.
95. Jia Y.X., Pan C.S., Zhang J. i wsp. Apelin protects myocardial injury induced by isoproterenol in rats. *Regul. Pept.* 2006; 133:147-154.
96. Cheng X., Cheng X.S., Pang C.C. Venous dilator effect of apelin, an endogenous peptide ligand for the orphan APJ receptor, in conscious rats. *Eur. J. Pharmacol.* 2003; 470:171-175.
97. Kuba K., Zhang L., Imai Y. i wsp. Impaired heart contractility in apelin gene deficient mice associated with aging and pressure overload. *Circ. Res.* 2007; 101:32-42.
98. Foussal C., Lairez O., Calise D. i wsp. Activation of catalase by apelin prevents oxidative stress-linked cardiac hypertrophy. *FEBS Lett.* 2010; 584(11):2363-2370.
99. Japp A.G., Cruden N.L., Barnes G. i wsp. Acute Cardiovascular Effects of Apelin in Humans Potential Role in Patients With Chronic Heart Failure. *Circulation*. 2010; 121:1818-1827.
100. Földes G., Horkay F., Szokodi I. i wsp. Circulating and cardiac levels of apelin, the novel ligand of the orphan receptor APJ, in patients with heart failure. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003; 308:480-485.
101. Berry M.F., Pirolli T.J., Jayasankar V. i wsp. Apelin has in vivo inotropic effects on normal and failing hearts. *Circulation* 2004; 110 (supl. II):II187-II193.
102. Simpkin J.C., Yellon D.M., Davidson S.M. i wsp. Apelin-13 and apelin-36 exhibit direct cardioprotective activity against ischemia-reperfusion injury. *Basic Res. Cardiol.* 2007; 102:518-528.
103. Kleinz M.J., Baxter G.F. Apelin reduces myocardial reperfusion injury independently of PI3K/Akt and P70S6 kinase. *Regul. Pept.* 2008; 146:271-277.

104. Zhang Z., Yu., Tao G. Apelin protects against cardiomyocyte apoptosis induced by glucose deprivation. *Chin. Med. J.* 2009; 122(19): 2360-2365.
105. Kuklińska A.M., Sobkowicz B., Sawicki R. i wsp. Apelin-36 and brain natriuretic peptide measurements in acute phase of first ST-elevation myocardial infarction. *Kardiol. Pol.* 2009; 67: (supl. 5); S357.
106. Kuklińska A.M., Sobkowicz B., Sawicki R. i wsp. Apelin - the novel peptide of left ventricular dysfunction and poor prognosis in patients with first ST-elevation myocardial infarction. *Kardiol. Pol.* 2009; 67: (supl. 5), S402.
107. Sheikh A.Y., Chun H.J., Glassford A.J. i wsp. In vivo Genetic Profiling and Cellular Localization of Apelin Reveals a Hypoxia-Sensitive, Endothelial-Centered Pathway Activated In Ischemic Heart Failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2008; 294(1): H88–H98.
108. Kalin R.E., Kretz M.P., Meyer A.M. i wsp. Paracrine and autocrine mechanisms of apelin signaling govern embryonic and tumor angiogenesis. *Dev. Biol.* 2007; 305:599-614.
109. Kidoya H., Ueno M., Yamada Y., Mochizuki N. i wsp. Spatial and temporal role of the apelin/APJ system in the caliber size regulation of blood vessels during angiogenesis. *EMBO. J.* 2008; 27(3):522-534.
110. Findley C.M., Cudmore M.J., Ahmed A. i wsp. VEGF Induces Tie2 Shedding via a Phosphoinositide 3-Kinase/Akt-Dependent Pathway to Modulate Tie2 Signaling. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007; 27(12):2619-2626.
111. Sato T.N., Tozawa Y., Deutsch U. i wsp. Distinct roles of the receptor tyrosine kinases Tie-1 and Tie-2 in blood vessel formation. *Nature.* 1995; 376(6535):70-74.
112. Kojima Y., Kundu R.K., Cox C.M. i wsp. Upregulation of the apelin-APJ pathway promotes neointima formation in the carotid ligation model in mouse. *Cardiovasc. Res.* 2010; 1;87(1):156-165.

113. Kasai A., Ishimaru Y., Kinjo T. i wsp. Apelin is a crucial factor for hypoxia-induced retinal angiogenesis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2010; 30(11):2182-2187.
114. Yue P., Jin H., Aillaud M. i wsp. Apelin is necessary for the maintenance of insulin sensitivity. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2010; 298(1): E59-67.
115. Xie H., Tang S.Y., Cui R.R. i wsp. Apelin and its receptor are expressed in human osteoblasts. *Regul. Pept.* 2006; 134:118-125.
116. Sorhede W.M., Magnusson C., Ahren B. The APJ receptor is expressed in pancreatic islets and its ligand, apelin, inhibits insulin secretion in mice. *Regul. Pept.* 2005; 131:12-17.
117. Ziora K., Oświęcimska J., Świętochowska E. i wsp. Assessment of serum apelin levels in girls with anorexia nervosa. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2010; 95:2935-2941.
118. Heinonen M.V., Purhonen A.K., Miettinen P. i wsp. Apelin, orexin-A and leptin plasma levels in morbid obesity and effect of gastric banding. *Regul. Pept.* 2005; 130(1-2):7-13.
119. Mazzucotelli A. i wsp. The transcriptional co-activator PGC-1 α up regulates apelin in human and mouse adipocytes. *Regul. Pept.* 2008; 150:33-37.
120. Castan-Laurell I., Vitkova M., Daviaud D. i wsp. Effects of hypocaloric diet-induced weight loss in obese women on plasma apelin and adipose tissue expression of apelin and APJ. *European Journal of Endocrinology.* 2008; 158:905-910.
121. Higuchi K. i wsp. Apelin, an APJ receptor ligand, regulates body adiposity and favors the messenger ribonucleic acid expression of uncoupling proteins in mice. *Endocrinology.* 2007; 148 (6):2690-2697.
122. Lasa A., Churrua I., Simon E. i wsp. Effects of high-fat, high-sucrose feeding, energy restriction, and trans-10,cis-12 conjugated linoleic acid on visfatin and apelin in hamsters. *Journal of the American College of Nutrition.* 2009; 28 (6):627-635.

123. Valle A., Hoggard N., Adams A.C. i wsp. Chronic central administration of apelin-13 over 10 days increases food intake, body weight, locomotor activity and body temperature in C57BL/6 mice. *J. Neuroendocrinol.* 2008; 20:79-84.
124. Estrada V., Serrano-Ríos M., Martínez Larrad M.T. i wsp. Leptin and adipose tissue maldistribution in HIV-infected male patients with predominant fat loss treated with antiretroviral therapy. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.* 2002; 29:32-40.
125. Nakai Y., Hamagaki S., Kato S. i wsp. Leptin in women with eating disorders. *Metabolism* 1999; 48:217-220.
126. Reaux-Le Goazigo A., Alvear-Perez R., Zizzari P. i wsp. Cellular localization of apelin of apelin and its receptor in the anterior pituitary: evidence for a direct stimulatory action of apelin on ACTH release. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2007; 292 (1):7-15.
127. Taheri S., Murphy K., Cohen M. i wsp. The effects of centrally administered apelin-13 on food intake, water intake and pituitary hormone release in rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 2002; 291:1208-1212.
128. Bełtowski J. Apelin and visfatin: unique “beneficial” adipokines upregulated in obesity? *Med. Sci. Monit.* 2006; 12(6):RA112-119.
129. Sunter D., Hewson A.K., Dickson S.L. Intracerebroventricular injection of apelin-13 reduces food intake in the rat. *Neurosci. Lett.* 2003; 15;353(1):1-4.
130. Aktas B., Yilmaz Y., Eren F. i wsp. Serum levels of vaspin, obestatin, and apelin-36 in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism.* 2011; 60(4):544-549.
131. Li L., Yang G., Li Q. i wsp. Changes and relations of circulating visfatin, apelin, and resistin levels in normal, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetic subjects. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* 2006; 114:544-548.

132. Puffer B.A., Sharron M., Coughlan C.M. i wsp. Expression and coreceptor function of APJ for primate immunodeficiency viruses. *Virology*. 2000; 276(2):435-444.
133. Goetze J.P., Rehfeld J.F., Carlsen J. i wsp. Apelin: a new plasma marker of cardiopulmonary disease. *Regul. Pept.* 2006; 133(1-3):134-138.
134. Lewczuk J. Nadciśnienie płucne w śródmiąższowych chorobach płuc. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2007; 75:153-157.
135. Xie H., Yuan L.Q., Luo X.H. i wsp. Apelin suppresses apoptosis of human osteoblasts. *Apoptosis*. 2007; 12(1):247-254.
136. Cui R.R., Mao D.A., Yi L i wsp. Apelin suppresses apoptosis of human vascular smooth muscle cells via APJ/PI3-K/Akt signaling pathways. *Amino Acids* 2010; 39(5):1193-1200.
137. Nishida M., Funahashi T., Shimomura I. Pathophysiological significance of adiponectin. *Med. Mol. Morphol.* 2007; 40:55-67.
138. Furuhashi M., Ura N., Higashiura K. i wsp. Low adiponectin level in young normotensive men with a family history of essential hypertension. *Hypertens. Res.* 2005; 28:141-146.
139. Adamczak M., Więcek A., Funahashi T. i wsp. Decreased plasma adiponectin concentration in patients with essential hypertension. *Am. J. Hypertens.* 2003; 16:72-75.
140. Murakami H., Ura N., Furuhashi M. i wsp. Role of adiponectin in insulin-resistant hypertension and atherosclerosis. *Hypertens. Res.* 2003; 26:705-10.
141. Della Mea P., Lupia M., Bandolin V. i wsp. Adiponectin, insulin resistance, and left ventricular structure in dipper and nondipper essential hypertensive patients. *Am. J. Hypertens.* 2005; 18:30-25.

142. Litwin M., Sladowska J., Syczewska M. i wsp. Different BMI cardiovascular risk thresholds as markers of organ damage and metabolic syndrome in primary hypertension. *Pediatr. Nephrol.* 2008; 23 (5):787-796.
143. Litwin M., Sladowska J., Antoniewicz J. i wsp. Metabolic abnormalities, insulin resistance, and metabolic syndrome in children with primary hypertension. *Am. J. Hypertens.* 2007; 20 (8):875-882.
144. Ouchi N., Kihara S., Arita Y. i wsp. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte - derived plasma protein adiponectin. *Circulation* 1999; 100:2473-2476.
145. Yilmaz M.I., Sonmez A., Caglar K. i wsp. Effect of antihypertensive agents on plasma adiponectin levels in hypertensive patients with metabolic syndrome. *Nephrology (Carlton)* 2007; 12 (2):147-153.
146. Kershaw E.E., Flier J.S. Adipose tissue as endocrine organ. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004; 89(6):2548-2556.
147. Romer T. Leptyna, hormon komórek tłuszczowych. W: Romer T. *Endokrynologia kliniczna dla ginekologa, internisty i pediatrii*. Springer, PWN, Warszawa 1998; 1182-1186.
148. Skowrońska B., Fichna M., Fichna P. Rola tkanki tłuszczowej w układzie dokrewnym. *Endokrynologia, Otyłość i Zaburzenia Przemiany Materii* 2005; 1 (3):21-29.
149. Hukshorn C.J., Saris W.H. i wsp. Leptin and energy expenditure. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 2004; 7(6):629-633.
150. Meier U., Gressner A.M. Endocrine regulation of energy metabolism: review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin, and resistin. *Clin. Chem.* 2004; 50(9):1511-1525.
151. Kralisch S., Klein J., Lossner U. i wsp. Hormonal regulation of the novel adipocytokine visfatin in 3T3-L1 adipocytes. *J. Endocrinol.* 2005; 185(3):R1-R8.

152. Sinha M.K., Ohannesian J.P., Heiman M.L. i wsp. Nocturnal rise of leptin in lean, obese, and non-insulin-dependent diabetes mellitus subjects. *J. Clin. Invest.* 1996; 97(5): 1344-1347.
153. Shirasaka T., Takasaki M., Kannan H. Cardiovascular effects of leptin and orexins. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2003; 284(3):R639-651.
154. Villarreal D., Reams G., Freeman R.H. i wsp. Renal effects of leptin in normotensive, hypertensive, and obese rats. *Am. J. Physiol.* 1998; 275(6):R2056-2060.
155. Haynes W.G., Morgan D.A., Walsh S.A. i wsp. Receptor-mediated regional sympathetic nerve activation by leptin. *J. Clin. Invest.* 1997; 100(2):270-278.
156. Haynes W.G., Sivitz W.I., Morgan D.A. i wsp. Sympathetic and cardiorenal actions of leptin. *Hypertension.* 1997(3):619-623.
157. Minokoshi Y., Kim Y.B., Peroni O.D. i wsp. Leptin stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature* 2002; 415:339-343.
158. Genuth S., Eastman R., Kahn R. i wsp. Implications of the United Kingdom Prospective Diabetes Study. *Diabetes Care* 2003; 26 (suppl 1):S28-32.
159. Koivisto V.A., Stevens L.K., Mattock M. i wsp. Cardiovascular disease and its risk factors in IDDM in Europe. EURODIAB IDDM Complications Study Group. *Diabetes Care* 1996; 19(7):689-697.
160. Pająk A., Wiercińska E., Polakowska M. i wsp. Rozpowszechnienie dyslipidemii u mężczyzn i kobiet w wieku 20–74 lat w Polsce. Wyniki programu WOBASZ. *Kardiologia Polska* 2005; 63: 4 (supl. 2):450-456.
161. Masuo K., Mikami H., Ogiwara T. i wsp. Prevalence of hyperinsulinemia in young, nonobese Japanese men. *J. Hypertens.* 1997; 15(2):157-165.

162. Yang B.C., Phillips M.I., Mohuczy D. i wsp. Increased angiotensin II type 1 receptor expression in hypercholesterolemic atherosclerosis in rabbits. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1998; 18:1433-1439.
163. Dzau V.J., Mukoyama M., Pratt R.E. Molecular biology of angiotensin receptors: target for drug research? *J Hypertens. Suppl.* 1994; 12:S1-5.
164. Cybulska B. Związek pomiędzy hipercholesterolemią i nadciśnieniem tętniczym. Komentarz redakcyjny. *Kardiologia Polska* 2006. 64(12):1369-1371.
165. Rubies-Prat J., Ordonez-Llanos J., Martin S. i wsp. Low-density lipoprotein particle size, triglycedide-rich lipoproteins, and glucose tolerance in non-diabetic men with essential hypertension. *Clin. Exp. Hypertens.* 2001; 23(8):667.
166. Biela U., Pająk A., Kaczmarczyk-Chałas K. i wsp. Częstość występowania nadwagi i otyłości u kobiet i mężczyzn w wieku 20–74 lat. Wyniki programu WOBASZ. *Kardiologia Polska* 2005; 63(6) (supl. 4):S1-S4.
167. Kannel W.B., Garrison R.J., Dannenberg A.L. Secular blood pressure trends in normotensive persons: the Framingham Study. *Am. Heart. J.* 1993; 125(4):1154-1158.
168. Clasey J.L., Bouchard C., Teates C.D. i wsp. The use of anthropometric and dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) measures to estimate total abdominal and abdominal visceral fat in men and women. *Obes. Res.* 1999; 7:256-264.
169. Lemieux S., Prudhomme D., Bouchard C. i wsp. A single threshold value of waist girth identifies normal-weight and overweight subjects with excess visceral adipose tissue. *Am. J. Clin. Nutr.* 1996; 64:685-693.
170. Pouliot M.C., Després J.P., Lemieux S. i wsp. Waist circumference and abdominal sagittal diameter: best simple anthropometric indexes of abdominal visceral adipose tissue accumulation and related cardiovascular risk in men and women. *Am. J. Cardiol.* 1994;73: 460-468.

171. Feldstein C.A., Akopian M., Olivieri A.O. A comparison of body mass index and waist-to-hip ratio as indicators of hypertension risk in an urban Argentine population: a hospital-based study. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2005; 15(4):310-5.
172. Czyżewski Ł. Nadwaga i otyłość jako czynniki ryzyka wystąpienia nadciśnienia tętniczego. *Problemy Pielęgniarstwa. Nadciśnienie tętnicze.* 2008; 16(1-2):128-135.
173. Jardim P.C., Gondim Mdo R., Monego E.T. i wsp. High blood pressure and some risk factors in a Brazilian capital. *Arq. Bras. Cardiol.* 2007; 88(4):452-457.
174. Czech A. Leczenie nadciśnienia tętniczego skojarzonego z otyłością. *Terapia* 2005; 5(166):45-47.
175. Nascente F.M., Jardim P.C., Peixoto Mdo R. i wsp. Hypertension and its association to anthropometric indexes in adults from a small city in Brazil. *Rev. Assoc. Med. Bras.* 2009; 55(6):716-722.
176. Tuomilehto J., Salonen J.T., Mariti B. i wsp. Body weight and risk of myocardial infarction and death in the adult population of Eastern Finland. *Br. Med. J.* 1987; 295: 623–627.
177. Hubert H.B., Feinleib M., McNamara P. i wsp. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation* 1983; 67:968-977.
178. Rabkin S.W., Mathewson F.A., Hsu P.H. Relation of body weight to development of ischaemic heart disease in a cohort of young North American men after a 26 year observation period: the Manitoba Study. *Am. J. Cardiol.* 1977; 39(3):452-458.
179. Szczepaniak-Chicheł L., Masej M., Jóźwiak J. i wsp. Występowanie nadciśnienia tętniczego w zależności od masy ciała w populacji polskiej - badanie LIPIDOGRAM 2004. *Nadciśnienie Tętnicze.* 2007; 11(3):195-204.

180. Kwater A., Sałakowski A., Grodzicki T. Ocena powtarzalności pomiarów kompleksu intima-media tętnic szyjnych za pomocą dwuwymiarowego badania ultrasonograficznego. *Nadciśnienie tętnicze*. 2004; 8 (5):339-346.
181. Aguilar-Shea A.L., Gallardo-Mayo C., Garrido-Elustondo S. i wsp. Carotid intima-media thickness as a screening tool in cardiovascular primary prevention. *Eur. J. Clin. Invest.* 2011; 41(5):521-526.
182. Timoteo A.T., Toste A., Araujo A. i wsp. Expression of clinical atherosclerosis for different cardiovascular risk factors in young population. *Rev Port Cardiol* 2010; 29 (07-08): 1181-1190.
183. Polskie Forum Profilaktyki Chorób Układu Krążenia (PFP). www.pfp.edu.pl 2007/www.pfp.edu.pl/index.php?id=wytczynniki
184. Zasady postępowania w nadciśnieniu tętniczym. Stanowisko Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego 2003. *Nadciśnienie Tętnicze* 2003; supl. B: 6–9.
185. Dijk J.M., Van der Graaf Y., Bots M.L. i wsp. Carotid intima-media thickness and the risk of new vascular events in patients with manifest atherosclerotic disease: The SMART Study. *Eur. Heart J.* 2006; 27:1971–1978.
186. Amasyali B., Kilic A. i wsp. A new frame in thromboembolic cardiovascular disease: Adipocytokine. *Int. J. Cardiol.* 2010; 139(1):100-102.
187. Małyszko J., Małyszko J.S., Koźmiński P. i wsp. Apelin and cardiac function in hemodialyzed patients: possible relations? *Am. J. Nephrol.* 2006; 26:121-126.
188. Pitkin S.L., Maguire J.J., Kuc R.E. i wsp. *Br J Pharmacol.* Modulation of the apelin/APJ system in heart failure and atherosclerosis in man. 2010; 160(7):1785-1795.
189. Japp A.G., Newby D.E., The apelin-APJ system in heart failure. *Pathophysiologic relevance and therapeutic potential. Biochemical Pharmacology.* 2008; 75:1882-1892.

190. Miettinen K.H., Magga J. i wsp. Utility of plasma apelin and other indices of cardiac dysfunction in the clinical assessment of patients with dilated cardiomyopathy. *Regul. Pept.* 2007; 140(3):178-184.
191. Chong K.S., Gardner R.S., Morton J.J. i wsp. Plasma concentrations of the novel peptide apelin are decreased in patients with chronic heart failure. *Eur. J. Heart. Fail.* 2006. 8: 355–360.
192. Sonmez A., Celebi G., Erdem G. i wsp. Plasma apelin and ADMA levels in patients with essential hypertension. *Clin. Exp. Hypertens.* 2010; 32(3):179-183.
193. Hung W.W., Hsieh T.J., Lin T. i wsp. Blockade of the Renin-Angiotensin System Ameliorates Apelin Production in 3T3-L1 Adipocytes. *Cardiovasc. Drugs. Ther.* 2011;25(1): 3-12.
194. Lakka T.A., Lakka H.M., Salonen R. i wsp. Abdominal obesity is associated with accelerated progression of carotid atherosclerosis in men. *Atherosclerosis* 2001; 154(2): 497-504.
195. Fan A.Z., Paul-Labrador M., Bairey C.N. i wsp. Smoking status and common carotid artery intima-media thickness among middle-aged men and women based on ultrasound measurement: a cohort study. *BMC Cardiovascular Disorders* 2006; 6:42.
196. Soriguer F., Garrido-Sanchez L., Garcia-Serrano S. i wsp. Apelin levels are increased in morbidly obese subjects with type 2 diabetes mellitus. *Obes. Surg.* 2009; 19(11): 1574-1580.
197. Zhang Y., Shen C., Li X. i wsp. Low plasma apelin in newly diagnosed type 2 diabetes in Chinese people. *Diabetes Care.* 2009; 32(12):150.
198. Erdem G., Dogru T., Tasci I. i wsp. Low plasma apelin levels in newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* 2008; 116(5):289-292.

199. Meral C., Tascilar E. i wsp. Elevated plasma levels of apelin in children with type 1 diabetes mellitus. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 2010; 23(5):497-502.
200. Tasci I., Dogru T., Naharci I. i wsp. Plasma apelin is lower in patients with elevated LDL-cholesterol. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* 2007; 115(7):428-432.
201. Tasci I., Erdem G., Ozgur G. i wsp. LDL-cholesterol lowering increases plasma apelin in isolated hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 2009; 204(1):222-228.