

APELIN AS A CARDIOVASCULAR RISK MARKER IN TYPE 2 DIABETES

Thesis

*Submitted for Partial Fulfillment of M.D degree
in Internal Medicine*

By

Ahmed Mohamed Bahaa El-Din

Master Degree of Internal Medicine
Faculty of Medicine-Ain Shams University

Under Supervision of

Prof. Dr./ Mohammad Hesham EL-Gayar
*Professor of Internal Medicine and Endocrinology
Faculty of Medicine, Ain Shams University*

Dr./ Inas Mohamed Sabry
*Assistant Professor of Internal Medicine and Endocrinology
Faculty of Medicine- Ain Shams University*

Dr./ Khaled Mahmoud Makboul
*Assistant Professor of Internal Medicine and Endocrinology
Faculty of Medicine-Ain Shams University*

Dr./ Iman Zaki Ahmad
*Assistant Professor of Internal Medicine and Endocrinology
Faculty of Medicine-Ain Shams University*

**Faculty of Medicine
Ain Shams University
2012**

APELIN AS A CARDIOVASCULAR RISK MARKER IN TYPE 2 DIABETES

**Thesis Submitted for Partial Fulfillment of M.D degree
in Internal Medicine**

By

Ahmed Mohamed Bahaa El-Din

Master Degree of Internal Medicine
Faculty of Medicine-Ain Shams University

Under Supervision of

Dr. Mohammad Hesham EL Gayar

Professor of Internal Medicine and Endocrinology
Faculty of Medicine, Ain Shams University

Dr. Inas Mohamed Sabry

Assistant Professor of Internal Medicine and Endocrinology
Faculty of Medicine- Ain Shams University

Dr. Khaled Mahmoud Makboul

Assistant Professor of Internal Medicine and Endocrinology
Faculty of Medicine-Ain Shams University

Dr. Iman Zaki Ahmad

Assistant Professor of Internal Medicine and Endocrinology
Faculty of Medicine-Ain Shams University

**Faculty of Medicine
Ain Shams University
2013**

الأبلين كدليل خطوره للاصابه بأمراض القلب والأوعيه الدمويه في مرضي السكر من النوع الثاني

رسالة

تعرض بكبح شك عى خنج بلكم قمتنى

غى بلكم نطبع لاند

مقدمه من الطبيب

أحمد محمد بهاء الدين

ماجستير الباطنه العامه - كليه الطب - جامعة عين شمس

تحت اشراف

الأستاذ الدكتور / محمد هشام الجيار

آزمتد لزدعخ ألفص بلكم نطبع لاند بلكم خلك شلد؟

تكي بلكم ا-ج-لعب ب ه م س ل ز

الدكتور ه/ إيناس محمد صبري

آزمتد لزدعخ ألفص بلكم نطبع لاند بلكم خلك شلد؟

تكي بلكم ا-ج-لعب ب ه م س ل ز

الدكتور / خالد محمود مقبول

آزمتد لزدعخ ألفص بلكم نطبع لاند بلكم خلك شلد؟

تكي بلكم ا-ج-لعب ب ه م س ل ز

الدكتور ه/ إيمان زكي أحمد

آزمتد لزدعخ ألفص بلكم نطبع لاند بلكم خلك شلد؟

تكي بلكم ا-ج-لعب ب ه م س ل ز

كلية الطب

جامعة عين شمس

2012

List of Contents

	Page
Acknowledgement	I
List of Abbreviations	II
List of Tables	V
List of Figures.....	VII
 Introductions & Aim of the work	 1
 Review of Literature:	
I- Apelin	4
II- Obesity.....	27
III- Insulin resistance	52
IV- Carotid atherosclerosis	78
V – Correlation between Carotid Intimal/Medial Thickness and Atherosclerosis	104
 Patients & Methods	 116
Results	132
Discussion	173
Summary	185
Conclusions & Recommendations	189
References	190
Arabic Summary	

Acknowledgement

*First and above all thanks for **Allah** who enabled me to achieve this work.*

*I would like to express my utmost and sincere gratitude and cordial appreciation to **Prof. Dr./ Mohammad Hesham EL-Gayar**, Professor of Internal Medicine and Endocrinology, Faculty of Medicine, Ain Shams University, for his continuous encouragement, generous assistance and valuable guidance during the whole period of this work.*

*I am particularly indebted to **Dr./ Inas Mohamed Sabry**, Assistant Professor of Internal Medicine and Endocrinology, Faculty of Medicine- Ain Shams University, who spared no efforts in helping me through this thesis, thanks for her keen supervision and follow up.*

*I wish to express my deepest thanks and gratitude to **Dr./ Khaled Mahmoud Makboul**, Assistant Professor of Internal Medicine and Endocrinology, Faculty of Medicine-Ain Shams University, for his valuable help and sincere guidance.*

*I am grateful to **Dr./ Iman Zaki Ahmad**, Assistant Professor of Internal Medicine and Endocrinology, Faculty of Medicine-Ain Shams University, for her great help for me in making this work to see the light.*

List of Abbreviations

AAN	: American Academy of Neurology
ACE	: Angiotensin converting
ADH	: Antidiuretic hormone
AIT	: Adaptive intimal thickening
A-LI	: Apelin-like immunoreactivity
AMPK	: AMP-activated protein kinase
Ang II	: Angiotensin II
APJ	: Angiotensin like 1 receptor
AT1	: Angiotensin II type 1
ATGL	: Adipocyte triglyceride lipase
atRA	: All trans retinoic acid
BMI	: Body mass index
BNP	: Brain natruretic peptide
CCA	: Common carotid artery
CCL2	: C-chemokine ligand 2
CDUS	: Carotid duplex ultrasound
CEMRA	: Contrast enhanced MRA
CIMT	: Carotid intimal-medial thickness
CRP	: C-reactive protein
CRT	: Cardiac resynchronization therapy
DAG	: Diacylglycerol
DCM	: Dilated cardiomyopathy
DSA	: Digital subtraction angiography
EASIA	: Enzyme Amplified Sensitivity Immunoassay
EDV	: End -diastolic velocity
GLUT2	: Glucose transporter 2
H&E	: Hematoxylin and eosin
HDL-C	: High density lipoprotein
HMG-CoA	: 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A
HOMA	: Homeostatic Model Assessment
HRP	: Horseradish peroxidase
HSL	: Hormone-sensitive lipase
IL-1	: Interleukin 1
IL-6	: Interleukin 6
IRS-1	: Insulin receptor substrate 1
IVUS	: Intravascular ultrasound
L-Ca²⁺	: L-type calcium channels
LCN2	: Lipocalin-2

List of Abbreviations (Cont.)

LPL	: Lipoprotein lipase
MAbs	: Monoclonal antibodies
MCA	: Middle cerebral artery
MCP1	: Monocyte chemoattractant protein 1
MetS	: Metabolic syndrome
MMPs	: Matrix metalloproteinases
MRA	: Magnetic resonance angiography
mRNA	: Messenger RNA
NAD	: Nicotinamide adenine dinucleotide
NAFLD	: Non-alcoholic fatty liver disease
Nampt	: Nicotinamide phosphoribosyltransferase
NASH	: Non-alcoholic steatohepatitis
NCX	: Na ⁺ -Ca ²⁺ exchanger
NF-κB	: Nuclear factor kappa B
NGAL	: <i>Neutrophil gelatinase-associated lipocalin</i>
NHE	: Na ⁺ -H ⁺ exchanger
NMN	: Nicotinamide mononucleotide
NO	: Nitric oxide
NOS	: Nitric oxide synthase
PAI-1	: Plasminogen activator inhibitor-1
PBEF	: Pre-B-cell colony-enhancing factor
PCOS	: Polycystic ovary syndrome
peak dP/dT	: Peak rate of left ventricular pressure rise
PET	: Positron emission tomography
PI 3-kinase	: Phosphatidylinositol 3-kinase
PIT	: Pathological intimal thickening
PKA	: Protein kinase A
PKC	: Protein kinase C
PLC	: Phospholipase C
PPAR	: Peroxisome proliferator activated receptor
PSV	: Peak systolic velocity
RAS	: Renin–angiotensin system
RBP4	: Retinol binding protein-4
RELMs	: Resistin-like molecule
ERISK	: Enzyme reperfusion injury salvage kinase
ROS	: Reactive oxygen species
RyR	: Ryanodine receptor

List of Abbreviations (Cont.)

SAA	: Serum amyloid protein
SERCA2A	: Sarcoendoplasmic reticulum Ca^{2+} - adenosine triphosphatase
SMA	: Smooth muscle cell α -actin
SMCs	: Smooth muscle cells
SR	: Sarcoplasmic reticulum
SREBP	: Sterol regulatory element- binding protein
T2DM	: Type 2 diabetes Mellitus
TCD	: Transcranial Doppler
TIA	: Transient ischemic attack
TMB	: Tetramethylbenzidine
TNF-α	: Tumor necrosis factor alpha
TOF	: Time-of-flight
VEGF	: Vascular endothelial growth factor
Visfatin	: Visceral adipose tissue-derived serpin
VLDL	: Very low-density lipoprotein
WAT	: White adipose tissue

List of Tables

	Page
Table 1: Adipokines involved in energy balance/ metabolism	36
Table 2: Adipocytokines, chemokines, vascular proteins, and other proinflammatory markers produced in WAT and systemic sites and involved in the inflammatory-obesity responses	39
Table 3: Descriptive statistics.....	146
Table 4: Shows comparison between the studied groups as regard the sex	147
Table 5: Shows comparison between the studied groups as regard the age	147
Table 6: Shows comparison between the studied groups as regard the anthropometric measurements	148
Table 7: Shows comparison between the studied groups as regard the FBS, HbA1c, insulin and HOMA-IR.....	148
Table 8: Shows comparison among the studied groups as regard the lipid profile	149
Table 9: Shows comparison between the studied groups as regard the hs.CRP	149
Table 10: Shows comparison between the studied groups as regard the serum apelin	150
Table 11: Shows comparison between the studied groups as regard the CIMT	150
Table 12: Shows correlation of apelin to different clinical and biochemical parameters in diabetic obese patients.....	151
Table 13: Shows correlation of apelin to different clinical and biochemical parameters in diabetic non obese patients	152
Table 14: Shows correlation of apelin to different clinical and biochemical parameters in obese non diabetic subjects.....	153
Table 15: Shows correlation of apelin to different clinical and biochemical parameters in non obese non diabetic subjects.....	154

List of Tables (Cont.)

	Page
Table 16: Correlation of hs.CRP to other clinical and biochemical data in diabetic obese patients	155
Table 17: Correlation of hs.CRP to other clinical and biochemical data in diabetic non obese patients.....	156
Table 18: Correlation of hs.CRP to other clinical and biochemical data in obese non diabetic subjects	157
Table 19: Correlation of hs.CRP to other clinical and biochemical data in non obese non diabetic subjects	158
Table 20: Correlation of CIMT to other clinical and biochemical data in obese diabetic patients	159
Table 21: Correlation of CIMT to other clinical and biochemical data in lean diabetic patients	160
Table 22: Correlation of CIMT to other clinical and biochemical data in obese non diabetic subjects	161
Table 23: Correlation of CIMT to other clinical and biochemical data in non obese non diabetic subjects	162
Table 24: Forward Stepwise Regression Analysis for determination of the most important predictors of CIMT.....	163
Table 25: Shows correlation of apelin to different clinical and biochemical parameters in all studied individuals.....	164
Table 26: Correlation of hs.CRP to other clinical and biochemical data in all studied groups.....	165
Table 27: Correlation of CIMT to other clinical and biochemical data in all studied groups	166

List of Figures

	Page
Figure 1: Proposed actions of apelin in cardiac muscle contraction	11
Figure 2: The role of apelin in heart failure	18
Figure 3: Obesity is associated with local and systemic inflammation	31
Figure 4: Fat deposition in obesity.....	34
Figure 5: Expression of the leptin receptor in human atherosclerotic lesions	44
Figure 6: Hyperleptinemia and cardiovascular risk	45
Figure 7: Insulin resistance, impaired insulin secretion, and fasting glucose in relation to micro and macrovascular diseases.....	63
Figure 8: Independent relationship of intimal thickness and carotid atherosclerosis	105
Figure 9: Shows comparison between the mean values for age in the 4 studied groups	167
Figure 10: Shows comparison between the studied groups as regard the mean value of BMI.....	167
Figure 11: Shows comparison between the studied groups as regard the mean value of waist circumference	168
Figure 12: Shows comparison between the different groups as regard the mean value of HbA1C, insulin and HOMA-IR	168
Figure 13: Shows comparison between the 4 groups as regard the lipid profile including the mean of total cholesterol, triglycerides, LDL-C and HDL-C	169
Figure 14: Shows comparison between the studied groups as regard the mean of hs.CRP.....	169
Figure 15: Mean values of apelin in the different 4groups.....	170
Figure 16: Shows comparison between different groups as regard the mean values of CIM	170
Figure 17: Shows correlation between apelin and CIMT in the diabetic obese patients.....	171
Figure 18: Shows correlation between apelin and hs.CRP in obese non diabetic individuals.....	171
Figure 19: Shows correlation between hs.CRP and BMI in diabetic obese patients.....	172
Figure 20: Correlation between CIMT and HDL-C in diabetic obese patients.....	172

مقدمه:

لقد تم وصف الأعراض الناتجة عن مرض تصلب وانسداد الشريان السباتي للمرء الأولي عن طريق ميلر سنة 1951 وقد أرجع وجود علاقه بين تصلب الشريان السباتي عند تفرعه وأعراض قصور الدوره الدمويه في العين والمخ. وقد شهد العصر الحديث تطور غير عادي في طرق التشخيص والعلاج لمرضي انسداد الشريان السباتي.

ويحدث تصلب الشريان السباتي بشكل شائع علي بعد 2سم من تفرع الشريان الرئيسي وغالبا ما يشمل الجانب الخلفي من الشريان. وتكبر الكتل المتصلبه في الحجم وتصل الي أسفل حتي تغلق الشريان السباتي الرئيسي.

وبصرف النظر عن مكان انسداد الشريان فقد وجد أنه يؤثر في حدوث الجلطات الدماغيه في دراسه شملت كبار السن من الرجال والنساء وكذلك زيادة معدلات الوفاة. وبالإضافه الي أن الضيق في سعة الشريان بوجود الجسم المتصلب والذي يزداد حجما فان الجلطه يمكن أن تكون مترتبه علي وجود هذا الجسم المتصلب والتي يمكن أن تؤدي لمزيد من الضيق في الشريان.

ان الأهميه الاكلينيكيه لزيادة المقاومه ضد الأنسولين داخل الجسم لا يمكن اغفالها وذلك بعد معرفه وجود مخاطر تؤدي للوفاه وحدث بعض الاعاقات المزمنه والتي تبدو نتيجه منطقيه لوجود هذه المقاومه للأنسولين.

وهناك العديد من الدلائل المأخوزه في الاعتبار والتي تربط بين مقاومه الأنسولين وارتفاع نسبة السكر , ارتفاع ضغط الدم, ارتفاع الدهون بالدم وتصلب الشرايين وأيضا حدوث بعض الأورام السرطانيه.

ويبدو واضحا أن مقاومه الأنسولين لها علاقه بالجينات فهي توجد بين الأبناء لآباء من مرضي السكر من النوع الثاني وينتشر أيضا في العائلات. وهناك بعض الأسباب التي تؤدي لحدوث هذه الزيادة في نسبه الأنسولين مثل السمنه ونمط الحياه الغير رياضي والحمل وزيادة الهرمونات.

ان الابلين هو هرمون تم اكتشافه لأول مره عام 1998 وأماكن وجود مستقبلات له هي التي تحدد الوظائف المختلفه لهذا الهرمون. فمثلا المستقبلات الموجوده في الأوعيه الدمويه تساهم في التحكم في ضغط الدم وتنشيط هذه المستقبلات يعمل علي تكوين أوعيه دمويه جديده. ودور الابلين في انقاص الضغط ناتج عن تحفيز المستقبلات الموجوده في السطح الداخلي للوعاء الدموي مما يؤدي الي إفترز أوكسيد النيتريت والذي بدوره يؤدي الي ارتخاء الأوعيه الدمويه والعضلات الموجوده في جدار الشريان.

الهدف من الدراسة:

بحث وجود علاقه بين نسبة هرمون الألبين وسمك الطبقة الوسطي والداخليه من الشريان السباتي في مرضي السكر من النوع الثاني , وكذلك البروتين المتفاعل سي عالي الحساسيه ومناعة الأنسولين كدلائل لحدوث تصلب الشرايين

طريقه تنفيذ الدراسة واختيار المرضى:

سوف يتم اجراء هذه الدراسة علي ثمانين شخصا وسوف يتم اختيارهم من مستشفى جامعة عين شمس ويتم تقسيم هؤلاء المرضى الي:

*المجموعه الأولي:

خمسون مريضا يعانون من السكر سيتم تقسيمهم الي:

1. 25 مريضا يعانون من السمنه
2. 25 مريضا لا يعانون من السمنه

* المجموعه الثانيه:

ثلاثون شخصا لا يعانون من السكر سيتم تقسيمهم الي:

1. 15 شخصا يعانون من السمنه
2. 15 شخصا لا يعانون من السمنه

*المعايير التي سيتم علي أساسها اختيار المرضى:

1. مرضي السكر من النوع الثاني من الجنسين علي ألا تزيد مدة المرض عن 5 سنوات.
2. وظائف الكبد والكلي في المعدل الطبيعي.
3. ضغط الدم أقل من 130\80
4. توقيع موافقه رسميه من المريض نفسه علي اجراء تجربه أو من القائم علي رعايته وهذه الموافقه التفصيليه تجعل المريض علي علم بالقواعد والناحيه الأخلاقيه الخاصه بتطبيق هذه الدراسة.

***المعايير التي سيتم علي أساسها استبعاد المرضى:**

1. مرضي الغدد الصماء.
2. مرضي القلب والأوعية الدموية.
3. المرضى المستخدمون لعقاقير لتخفيض نسبة الدهون.
4. المرضى المستخدمون للكورتيزون.
5. المرضى المستخدمون لأي عقار يؤثر علي نسبة الدهون في الجسم.

وسوف يتم اجراء الآتي لهؤلاء المرضى:

- ❖ فحص المريض اكلينيكيًا وأخذ التاريخ المرضي بالكامل للمريض.
- ❖ قياس نسبة السكر صائم وبعد الأكل بساعتين والهيमوجلوبين السكري.
- ❖ قياس نسبة الدهون الثلاثية والكوليسترول .
- ❖ قياس نسبة هرمون الأبلين.
- ❖ قياس سمك الطبقة الوسطي والداخلية في الشريان السباتي باستخدام الموجات فوق الصوتية بدرجة نقاء عالية.
- ❖ قياس مناعة الأنسولين.
- ❖ قياس البروتين المتفاعل سي عالي الحساسيه.
- ❖ قياس كتلة الجسم ومحيط الوسط والخصر