

Ocena wybranych białek ostrej fazy u chorych z cukrzycą typu 2

Evaluation of selected acute phase proteins in patients type 2 diabetes

Robert Chyrek¹, Paweł Bogdański¹, Danuta Pupek–Musialik¹, Anna Jabłecka²

¹ Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Zaburzeń Metabolicznych i Nadciśnienia Tętniczego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

² Zakład Farmakologii Klinicznej Instytutu Kardiologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

Streszczenie

Wstęp: Rozpowszechnienie cukrzycy typu 2 przyjęło rozmiar globalnej epidemii. Najczęstszą przyczyną śmiertelności u chorych z cukrzycą typu 2 są powikłania sercowo-naczyniowe. Wiele dowodów wskazuje na to, że zwiększona progresja miażdżycy w tej grupie chorych w dużej mierze zależy od nasilanego procesu zapalnego. Celem pracy była ocena stężenia wybranych parametrów stanu zapalnego w grupie osób z cukrzycą typu 2. **Material i metody:** grupę badaną stanowiło 30 chorych z cukrzycą typu 2 (14 kobiet i 16 mężczyzn) w wieku $43,3 \pm 8,1$ lat. Grupę kontrolną - 20 zdrowych ochotników. W obu grupach przeprowadzono pełne badanie lekarskie z wyznaczeniem BMI, pomiar ciśnienia tętniczego. U wszystkich oceniono podstawowe parametry biochemiczne. Stężenie wybranych białek ostrej fazy w surowicy krwi oznaczono metodą immunoelektroforezy rakietkowej wg Laurella. **Wyniki:** Chorych z cukrzycą typu 2 charakteryzowały znamienne wyższe wartości ciśnienia tętniczego, masy ciała, obwodu talii, stężenia kreatyniny, kwasu moczowego, glukozy na czczo, cholesterolu całkowitego, frakcji LDL, triglicerydów oraz niższe stężenia cholesterolu frakcji HDL. Stężenia pozytywnych białek ostrej fazy były znamienne wyższe, a białek negatywnych znamienne niższe w grupie badanej w porównaniu do grupy kontrolnej. W badanej grupie stwierdzono istotne dodatnie korelacje pomiędzy CRP, ACT i AGP a masą ciała, BMI oraz obwodem talii, a także istotne ujemne korelacje pomiędzy Tf a masą ciała, BMI oraz obwodem tali. **Wnioski:** 1. Pacjentów z cukrzycą typu 2 charakteryzuje niekorzystny profil metaboliczny. 2. Cukrzyca w istotny sposób wiąże się z nasileniem procesu zapalnego. 3. Otyłość brzuszna powinna być rozpatrywana jako istotny element współistniejący ze zwiększoną aktywacją procesu zapalnego. (*Farm Współ 2008; 1: 5-10*)

Słowa kluczowe: cukrzyca, proces zapalny, białka ostrej fazy

Summary

Introduction: Type 2 diabetes is a global medical problem. The most frequent reason of premature death in this group of patients is related to cardiovascular events. According to the recent data chronic low-grade inflammation influence on atherosclerosis progress. The aim of this study was to assess the concentration of selected acute phase proteins in patients with type 2 diabetes. **Material and methods:** The study group comprised 30 patients with type 2 diabetes (14 women and 16 men), mean age 43.3 ± 8.1 lat. The control group was formed out of 20 healthy volunteers. In both groups physical examination including BMI calculation, blood pressure measurement were taken. Routine serum biochemical parameters evaluated. Selected serum acute phase concentration was evaluated using rocket immunoelectrophoresis method according to Laurel. **Results:** Type 2 diabetes patients were shown to have increased serum glucose concentration as well as total cholesterol, LDL -cholesterol, triglycerides, uric acid and decreased HDL concentration. Higher body mass, waist circumference and systolic and diastolic blood pressure were observed. Concentrations of positive acute phase proteins significantly exceeded those observed in

the control, opposite for negative acute phase proteins. Significant positive correlation was shown in this group between CRP, ACT i AGP a body mass, BMI and waist circumference, and negative between Tf and body mass, BMI and waist circumference. **Conclusions:** 1. Diabetic patients are characterised by unfavourable metabolic profile. 2. Type 2 diabetes is related to augmented inflammatory process. 3. Abdominal obesity should be considered as a potential element increasing inflammation. (*Farm Współ 2008; 1: 5-10*)

Keywords: obesity, inflammation, atherosclerosis

Wstęp

Dane dotyczące rozpowszechnienia cukrzycy typu 2 nie napawają optymizmem. Liczba chorych z cukrzycą typu 2 w Polsce wynosi około 2 milionów, liczba osób z nieprawidłową glikemią na czczo lub upośledzoną tolerancją glukozy jest około 2-krotnie większa. Ze względu na szczególnie niekorzystny profil metaboliczny, większe nasilenie typowych czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca, a także obecność swoistych dla cukrzycy czynników ryzyka (hiperglikemia, znaczna insulinooporność, trombofilia cukrzycowa) choroba niedokrwienna serca rozwija się wcześniej i przebiega bardziej dynamicznie, występując 2-4-krotnie częściej u chorych z cukrzycą, niż u osób bez cukrzycy. Cukrzyca znosi „ochronny” wpływ płci żeńskiej w stosunku do aterogenezy. Powikłania miażdżycy występują w tej grupie odpowiednio częściej i charakteryzują się gorszym rokowaniem.

W świetle współczesnych badań miażdżycy jest chorobą o charakterze zapalnym i tylko u 50% chorych można przyjąć, że jej przyczyną jest hipercholesterolemia [1]. W badaniach prospektywnych wykazano związek pomiędzy zagrożeniem chorób układu sercowo-naczyniowego, a markerami zapalnymi i zaburzoną funkcją śródbłonna [2,3]. Wyniki wielu prac dostarczają dowodów na powiązanie między aktywnością komórek śródbłonna i zapaleniem a wczesnymi etapami miażdżycy. Coraz więcej dowodów wskazuje na to, że cukrzyca w istotny sposób wiązać się może z nadmierną aktywnością procesu zapalnego.

Cel pracy

Celem pracy była ocena stężenia wybranych białek ostrej fazy w grupie osób z cukrzycą typu 2. Poszukiwano również zależności pomiędzy stężeniami białek ostrej fazy a parametrami antropometrycznymi, wartościami ciśnienia tętniczego oraz wybranymi parametrami biochemicznymi.

Materiał i metody

Protokół badania uzyskał zgodę Terenowej Komisji Bioetycznej przy Akademii Medycznej w Poznaniu. Badaniem objęto chorych z Kliniki Chorób Wewnętrznych, Zaburzeń Metabolicznych i Nadciśnienia Tętniczego oraz Przyklinicznej Poradni Zaburzeń Metabolicznych.

Badaniu poddano 30 pacjentów z cukrzycą typu 2 (14 kobiet i 16 mężczyzn) w wieku $43,3 \pm 8,1$ lat. Grupę kontrolną stanowiło 20 zdrowych ochotników porównywalnych z grupą badaną pod względem wieku i płci.

Kryteria wykluczenia stanowiły: źle wyrównana cukrzyca typu 2 w zakresie parametrów gospodarki węglowodanowej zgodnie z wytycznymi Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego, wartości ciśnienia tętniczego $\geq 140/90$ mm Hg, cechy niewydolności serca w badaniu przedmiotowym i badaniach dodatkowych, zaburzenia rytmu serca, stan po implantacji stymulatora serca, choroba niedokrwienna serca, choroby naczyń obwodowych (tętnic szyjnych, kręgowych lub tętnic kończyn dolnych), zaburzona funkcja nerek (stężenie kreatyniny w osoczu $> 115 \mu\text{mol/L}$), zaburzenia funkcji wątroby (wartości transaminaz 2,5-krotnie przekraczające zakresy norm), ostry lub przewlekły, klinicznie jawny proces zapalny (choroby tkanki łącznej i stawów, procesy zapalne dróg oddechowych, procesy zapalne układu moczowo-płciowego, proces zapalny w obrębie głowy i szyi), infekcja w ostatnim miesiącu, proces nowotworowy.

W obu grupach przeprowadzono pełne badanie podmiotowe i przedmiotowe z pomiarem ciśnienia tętniczego wg ogólnie przyjętych zasad [4]. Wykonano pomiary parametrów antropometrycznych: masy ciała i wzrostu (w białej koszulce, bez obuwia, rano, na czczo) oraz zmierzono obwód talii (mierzone w połowie odległości między dolnym brzegiem łuku żebrowego i górnym grzebieniem kości biodrowej). Obliczono wskaźnik

masy ciała (BMI) zgodnie ze wzorem: $BMI = \text{masa ciała [kg]} / \text{wzrost}^2 [\text{m}^2]$.

W obu grupach dokonano pomiarów stężenia na czczo: glukozy, cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji LDL i HDL, triglicerydów, kreatyniny, kwasu moczowego przy użyciu testów komercyjnych. U wszystkich badanych oznaczono stężenia białka C-reaktywnego (CRP), α_1 -kwaśnej glikoproteiny (AGP), α_1 -antycholesterolu (ACT), α_2 -makroglobuliny (α_2 -M), transferyny (Tf), ceruloplazminy (Cp) oraz haptoglobiny (Hp) w surowicy krwi metodą immunoelektroforezy rakietkowej wg Laurella [5].

Obliczenia statystyczne wykonywano stosując program Statistica 5.1 PL for Windows firmy StatSoft Inc. [6]. Wartości zmiennych pomiędzy grupami porównano stosując test Manna-Withneya. Do określenia zależności pomiędzy poszczególnymi zmiennymi zastosowano współczynnik korelacji liniowej Spearmana. Wszystkie wykazane różnice i wyznaczone współczynniki korelacji przyjęto za statystycznie istotne przy poziomie istotności $p < 0,05$.

Wyniki

1. Chorych z cukrzycą typu 2 w porównaniu do grupy kontrolnej charakteryzowały znamienne wyż-

sze wartości ciśnienia tętniczego, masy ciała, obwodu talii, stężenia kreatyniny, kwasu moczowego, glukozy na czczo, cholesterolu całkowitego, frakcji LDL, triglicerydów oraz niższe stężenia cholesterolu frakcji HDL – Tabela 1.

2. Stężenia białka C-reaktywnego (CRP), α_1 -kwaśnej glikoproteiny (AGP), α_1 -antycholesterolu (ACT), α_2 -makroglobuliny (α_2 -M), ceruloplazminy (Cp) oraz haptoglobiny (Hp) były znamienne wyższe w badanej grupie w porównaniu do grupy kontrolnej. Stężenia transferyny (Tf) były statystycznie niższe w grupie osób z cukrzycą w porównaniu do grupy kontrolnej – Tabela 2.

3. W grupie chorych stwierdzono istotne dodatnie korelacje pomiędzy CRP, ACT i AGP a masą ciała, BMI oraz obwodem talii, a także istotne ujemne korelacje pomiędzy Tf a masą ciała, BMI oraz obwodem tali ($p < 0,05$) – Tabela 3.

Omówienie

Choroba niedokrwienna serca jest najczęstszym zespołem klinicznym makroangiopatii u chorych z cukrzycą typu 2. Zawał serca u mężczyzn chorych na cukrzycę występuje 3 razy częściej, a u kobiet 5 razy częściej, niż w porównywalnych grupach osób

Tabela 1. Charakterystyka porównawcza grupy badanej z grupą kontrolną

Cecha	Grupa kontrolna (n=20)	Grupa III (n=30)
Wiek (lata)	43,30±8,10	41,40±12,82
SBP (mm Hg)	118,50±6,71	127,50±9,89**
DBP (mm Hg)	76,00±5,76	81,67±7,81*
Masa ciała (kg)	62,85±5,98	98,03±11,47**
BMI (kg/m ²)	22,39±1,42	34,40±5,42**
Talia (cm)	73,50±5,68	105,27±13,24**
Leukocyty (x10 ³ /mm ³)	5,19±0,78	5,63±1,46
OB (mm/h)	3,85±0,75	4,37±1,88
Kreatynina (μmol/l)	67,54±8,55	82,01±10,11**
Kwas moczowy (μmol/l)	240,15±46,14	272,63±48,32*
Glukoza na czczo (mmol/l)	4,72±0,49	6,26±0,87**
TCh (mmol/l)	4,91±0,40	5,47±0,70**
HDL (mmol/l)	1,31±0,47	1,05±0,46*
LDL (mmol/l)	2,54±0,43	3,47±0,62**
TG (mmol/l)	0,75±0,23	2,03±0,81**

* $p < 0,05$; ** $p < 0,001$

Tabela 2. Porównanie badanych wykładników stanu zapalnego pomiędzy grupą kontrolną a badaną grupą

	Grupa kontrolna (n=20)		Grupa III (n=30)	
	Średnia	Mediana	Średnia	Mediana
CRP [mg/l]	0,30±0,57	0,00±0,50	2,27±1,55**	3,00±2,00
AGP [mg/l]	747,50±72,17	725,00±100,00	975,33±123,73**	960,00±200,00
ACT [mg/l]	369,00±36,84	365,00±50,00	455,67±40,83**	465,00±70,00
Tf [g/l]	2,53±0,41	2,55±0,71	2,14±0,52*	2,11±0,71
Cp [mg/l]	363,00±30,28	350,00±40,00	427,67±65,53**	420,00±90,00
Hp [g/l]	1,48±0,51	1,50±0,64	1,85±0,95	1,50±1,59
α ₂ -M [g/l]	2,50±0,54	2,38±0,91	2,70±0,67	2,71±0,84

*p<0,05; **p<0,001

Tabela 3. Korelacje pomiędzy wybranymi parametrami a wykładnikami procesu zapalnego w badanej grupie

	masa ciała	BMI	talía	SBP	DBP
CRP	R=0,5300 p<0,05	R=0,4779 p<0,05	R=0,5976 p<0,001	n.s.	n.s.
ACT	R=0,3929 p<0,05	R=0,5523 p<0,05	R=0,4261 p<0,05	n.s.	n.s.
AGP	R=0,4365 p<0,05	R=0,4883 p<0,05	R=0,4513 p<0,05	n.s.	n.s.
α ₂ -M	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Tf	R=-0,4815 p<0,05	R=-0,5446 p<0,05	R=-0,8140 p<0,001	n.s.	n.s.

n.s. nieistotny statystycznie; R – współczynnik Spearmana

bez cukrzycy, a rokowanie w ostrym zawału serca jest gorsze [7]. Na uwagę zasługują wyniki badania fińskiego, w którym w okresie 7 lat obserwowano częstość występowania zawału serca u chorych z cukrzycą typu 2 oraz u osób bez cukrzycy, z lub bez przebytego zawału mięśnia sercowego. Ryzyko występowania zawału u chorych z cukrzycą bez zawału w wywiadzie, było podobne do ryzyka osób, które nie miały cukrzycy natomiast przeżyły uprzednio zawał (22,2% vs 18,8%) [8].

U chorych z cukrzycą typu 2 bardzo często współwystępują niekorzystne zmiany w profilu metabolicznym, co bez wątpienia sprzyja nasilonej aterogenezie. Wyniki naszej pracy potwierdzają w tym zakresie większość obserwacji. W badanej grupie pacjentów stwierdziliśmy wyższe stężenia glukozy na czczo, cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji LDL i triglicerydów, wyższe stężenia kwasu moczowego w porównaniu do grupy kontrolnej. Stężenia zaś cholesterolu frakcji HDL były istotnie niższe niż w grupie

kontrolnej. Wyższe w porównaniu do grupy kontrolnej skurczowe i rozkurczowe wartości ciśnienia tętniczego oraz współistniejąca z cukrzycą otyłość bez wątpienia stanowią, zgodnie z badaniami innych autorów dodatkowe istotne czynniki obciążające tych chorych w kierunku ryzyka wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych.

Wzrastająca ilość dowodów wskazuje na istotne znaczenie nasilonego procesu zapalnego u chorych z cukrzycą typu 2 w rozwoju zmian miażdżycowych. W naszej pracy analizowaliśmy stężenia wybranych białek ostrej fazy. Grupa białek ostrej fazy (b.o.f.) składa się z około 40 białek. Zalicza się do nich między innymi: białko C-reaktywne (CRP), α₁-antycholesterolową lipoproteinę (ACT), α₁-kwaśną glikoproteinę (AGP), α₂-makroglobulinę (α₂-M), transferynę (Tf), ceruloplazminę (Cp), haptoglobinę (Hp), surowiczy składnik amyloidu (SAA), albuminy, prealbuminę i fibrynogen. Wśród b.o.f. wyróżnia się białka pozytywne, których stężenie wzrasta w przebiegu procesu zapalnego (CRP, ACT,

AGP, Cp, fibrynogen, SAA) i białka negatywne (Tf, albumina, prealbumina, α_2 -HS glikoproteina, czynnik XII, IGF-1 - insulin-like growth factor-1), których stężenie maleje. Wyniki naszej pracy wskazują, iż stężenia pozytywnych białek ostrej fazy – CRP, AGP, ACT, α_2 -M, Cp oraz Hp były znamienne wyższe wśród osób z cukrzycą typu 2 w porównaniu do grupy kontrolnej. Natomiast stężenia białka ujemnego – transferyny znamienne niższe, co wskazuje na istnienie aktywnego procesu zapalnego w tej grupie..

Do licznych mechanizmów molekularnych, których potencjalne znaczenie w aktywacji stanu zapalnego rozpatrywane jest przez licznych autorów należą m.in. [9,10,11]: aktywacja izoform białkowej kinazy C, wywołana nadmiernym uwalnianiem wolnych kwasów tłuszczowych z adipocytów, aktywacja prozapalnego jądrowego czynnika transkrypcji kappa-B, który reguluje ekspresję genów kodujących cząsteczki adhezyjne, chemokiny, mediatory prozapalne prowadząc do wzrostu ich stężenia w surowicy oraz wzmożona produkcja końcowych produktów końcowej glikacji.

W grupie chorych z cukrzycą stwierdziliśmy istnienie dodatnich korelacji pomiędzy CRP, ACT i AGP a masą ciała, BMI oraz obwodem talii, a także występowanie istotnie ujemnych korelacji pomiędzy Tf a parametrami antropometrycznymi.

Obecnie istnieją niepodważalne dowody świadczące, iż adipocyty stanowią czynny endokrynnie organ [12,13,14]. Komórki tłuszczowe są miejscem produkcji kilku hormonów, czynników wzrostu i cytokin. Wzrastająca ilość dowodów wskazuje, iż wiele z produktów komórek tłuszczowych w przewlekłe podwyższonych stężeniach może odgrywać istotną rolę w patogenezie szeregu niekorzystnych procesów, których późne następstwa w postaci cukrzycy, nadciśnienia tętniczego, zaburzeń krzepliwości, nasilonej miażdżycy i innych są obserwowane u osób z otyłością. Udowodniono, iż adipocyty stanowią istotne źródło produkcji czynnika martwicy nowotworów i interleukiny 6 – kluczowych prozapalnych cytokin [15]. Istnieje szereg dowodów potwierdzających fakt, iż czynnik

martwicy nowotworów (TNF- α) jest produktem adipocytów. 1/3 całkowitej krążącej IL-6 pochodzi z tkanki tłuszczowej. Produkcja IL-6 pozostaje w ścisłej zależności od TNF- α . W hodowli adipocytów wykazano 60-krotny wzrost IL-6 pod wpływem TNF- α . Wpływy metaboliczne IL-6 są słabiej poznane niż w przypadku TNF- α . Zarówno TNF- α , jak i IL-6 w złożonej sieci cytokin zajmują centralne miejsce, a ich wzrost wiąże się z dalszą aktywacją procesu zapalnego. Istnieją dowody wskazujące, iż otyłość wpływa również na stężenie białek ostrej fazy [16]. Szczególnie interesujący jest obserwowany u osób z nadmierną masą ciała wzrost stężenia białka C-reaktywnego (CRP) [17]. Otyłość związana jest również ze zwiększoną ekspresją adhezyn – P-selektyny, ICAM, VCAM. Ich stężenia ulegają obniżeniu w trakcie redukcji masy ciała [18].

Wyniki badania wskazują na wzajemne powiązania pomiędzy cukrzycą, otyłością i procesem zapalnym.

Wnioski

1. Pacjentów z cukrzycą typu 2 charakteryzuje niekorzystny profil metaboliczny sprzyjający rozwojowi miażdżycy.
2. Cukrzyca w istotny sposób wiąże się z nasileniem procesu zapalnego.
3. Otyłość brzuszna powinna być rozpatrywana jako istotny element współistniejący ze zwiększoną aktywnością procesu zapalnego.

Adres do korespondencji:

Robert Chyrek

Klinika Chorób Wewnętrznych,

Zaburzeń Metabolicznych i Nadciśnienia Tętniczego

Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu;

ul. Szamarzewskiego 84, 60-569 Poznań;

Tel.: (061) 843-64-67,

Fax: (061) 847-85-29;

E-mail: robert.chyrek@intern-one.am.poznan.pl

Piśmiennictwo

1. Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340(2): 115-26.
2. Ridker P. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* 2000; 107(3): 363-9.
3. AHA/CDC Scientific Statement. Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease. *Circulation* 2003 Jan; 107: 499-511.
4. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: The JNC 7 report. *JAMA* 2003; 289(19): 2560-72.
5. Laurell C.B. Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies. *Scand J Clin Invest* 1973; 124 (Suppl): 21-8.
6. Stanisław A. *Przystępny kurs statystyki w oparciu o program STATISTICA PL na przykładach z medycyny*. Kraków: StatSoft Polska; 1999.
7. Tatoń J., Czech A. (red.). *Cukrzyca a choroby serca*. Bielsko_Biała: Alfa-medica Press; 2000.
8. Haffner S, Lehto S, Ronnema T i wsp. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med* 1998; 339: 229-34.
9. Beckman JA, Creager MA, Libby P. Diabetes and atherosclerosis. Epidemiology, pathophysiology and management. *JAMA* 2002; 287: 2570-81.
10. Moreno PR, Fuster V. New aspects in the pathogenesis of diabetic atherothrombosis. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 2293-300.
11. Creager MA, Luscher TF, Cosentino F, Beckman JA. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: Part I. *Circulation* 2003; 108: 1527-32.
12. Fain JN, Madan AK, Hiler ML. Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. *Endocrinology* 2004 May; 145(5): 2273-82.
13. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab* 2004 Jun; 89(6): 2548-56.
14. Coppack SW. Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue. *Proc Nutr Soc* 2001; 60: 349-56.
15. Bastard JP, Jardel C, Delattre J. Evidence for a link between adipose tissue interleukin-6 content and serum C-reactive protein concentrations in obese subjects. *Circulation* 1999; 2221-2.
16. Festa A, D'Agostino R Jr, Williams K. The relation of body fat mass and distribution to markers of chronic inflammation. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001; 25: 1407-15.
17. Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, et al. Elevated C-Reactive Protein Levels in Overweight and Obese Adults. *JAMA* 1999 Dec 8; 282(22): 2131-5.
18. Ziccardi P, Nappo F, Giugliano G, et al. Reduction of inflammatory cytokine concentrations and improvement of endothelial functions in obese women after weight loss over one year. *Circulation* 2002; 105: 804.