

## Εκτίμηση ενδοθηλιο-εξαρτώμενης από τη ροή αγγειοδιαστολής και ασύμμετρης διμεθυλαργινίνης σε ασθενείς με πρόσφατη διάγνωση σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2

**Β. Νικολαΐδου<sup>1</sup>**  
**Π. Ανυφαντή<sup>1</sup>**  
**Α. Λαζαρίδης<sup>1</sup>**  
**Ι. Ζωγράφου<sup>2</sup>**  
**Α. Τριανταφύλλου<sup>1</sup>**  
**Μ. Δούμας<sup>2</sup>**  
**Σ. Δούμα<sup>1</sup>**  
**Ε. Γκαλιαγκούση<sup>1</sup>**

### Περίληψη

**Εισαγωγή:** Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία προηγείται της εμφάνισης κλινικά ανιχνεύσιμης αθηροσκλήρωσης στον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (ΣΔτ2) και συνεισφέρει σημαντικά στην ανάπτυξη των αγγειακών επιπλοκών και στη θνητότητα της νόσου. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της λειτουργίας του ενδοθηλίου σε ασθενείς με πρόσφατη διάγνωση ΣΔτ2.

**Υλικό – Μέθοδοι:** Μελετήθηκαν ασθενείς με πρόσφατη διάγνωση ΣΔτ2 (<6 μήνες) οι οποίοι δεν λάμβαναν αντιδιαβητική αγωγή (με εξαίρεση τη μετφορμίνη) και εθελοντές συνταριασμένοι ως προς την ηλικία και την αρτηριακή πίεση (ΑΠ). Έγινε καταγραφή σωματομετρικών στοιχείων, ΑΠ (24ωρης και ιατρείου) και αιματολογικών παραμέτρων (λιπιδίων, νεφρικής λειτουργίας, γλυκόζης νηστείας, HbA1c) και εκτιμήθηκε ο 10ετής αθηροσκληρωτικός καρδιαγγειακός κίνδυνος (Atherosclerotic Cardiovascular Disease risk score, ASCVD risk score). Η ενδοθηλιακή λειτουργία εκτιμήθηκε με δύο μεθόδους: την ασύμμετρη διμεθυλαργινίνη (Asymmetric Dimethylarginine, ADMA) με ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) και την gold standard αναίμακτη αγγειακή μέθοδο, την ενδοθηλιο-εξαρτώμενη από τη ροή αγγειοδιαστολή (Flow Mediated Dilation, FMD).

**Αποτελέσματα:** Μελετήθηκαν 90 άτομα, 33 ασθενείς με ΣΔτ2 και 57 μάρτυρες. Οι ασθενείς με ΣΔτ2 παρουσίαζαν στατιστικά σημαντική χαμηλότερη τιμή FMD [4,68 (4,58)% έναντι 7,85 (7)%, ( $p=0,012$ )] και υψηλότερη τιμή ADMA [ $0,926\pm 0,569$  έναντι  $0,468$  ( $0,27$ )  $\mu\text{mol/l}$ , ( $p=0,032$ )] σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Μάλιστα, διαπιστώθηκε ανεξάρτητη συσχέτιση του ΣΔτ2 και της FMD (Beta:  $-0,278$ ,  $p=0,012$ ).

**Συμπεράσματα:** Οι ασθενείς με πολύ πρόσφατη διάγνωση ΣΔτ2 παρουσιάζουν επηρεασμένη ενδοθηλιακή λειτουργία, όπως αποδείχτηκε από τα ευρήματα της FMD και της ADMA. Η εκτίμηση αυτή αναδεικνύει την πρώιμη σοβαρή, βλαπτική επίδραση που προκαλεί η υπεργλυκαιμία στο ενδοθήλιο, τονίζοντας την ανάγκη έγκαιρης και αποτελεσματικής ρύθμισής της.

<sup>1</sup> Γ' Παθολογική Κλινική, ΓΝΘ «Παπαγεωργίου»

<sup>2</sup> Β' Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική, ΓΝΘ «Ιπποκράτειο»

## Εισαγωγή

Το ενδοθήλιο, ένα στρώμα από πλακώδη επιθηλιακά κύτταρα που επαλείφουν την εσωτερική επιφάνεια των αγγείων,<sup>1</sup> αποτελεί τον κύριο ρυθμιστή της ομοιόστασης του αγγειακού τοιχώματος και ασκεί μια σειρά από αγγειοπροστατευτικές επιδράσεις, όπως η αγγειοδιαστολή, η αντιφλεγμονώδης, αντιθρομβωτική και αντιαθηροσκληρωτική δράση και η καταστολή του πολλαπλασιασμού των λείων μυϊκών κυττάρων μέσω των αγγειοδραστικών ουσιών που παράγει ανάλογα με τα ερεθίσματα που δέχεται. Οι αγγειοδραστικοί παράγοντες που παράγει το ενδοθήλιο προκαλούν αγγειοδιαστολή με κύριο εκπρόσωπο το μονοξείδιο του αζώτου (NO) ή αγγειοσύσπαση.<sup>2</sup>

Η απώλεια των προστατευτικών δράσεων του ενδοθηλίου και η έκφραση ενός φαινοτύπου που προάγει τη θρόμβωση, τη φλεγμονή, την αγγειοσύσπαση και την ανάπτυξη αθηροσκληρωτικών βλαβών ονομάζεται ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, η οποία στην ουσία αντικατοπτρίζει κυρίως την ελαττωμένη βιοδιαθεσιμότητα του NO. Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία αποτελεί μία παθοφυσιολογική διαταραχή, δυνητικά αναστρέψιμη και προηγείται της εμφάνισης κλινικών εκδηλώσεων αγγειακών βλαβών σε όργανα-στόχους.<sup>3</sup> Θεωρείται πρόωμη παθοφυσιολογική διεργασία στην παθογένεση της αρτηριακής υπέρτασης (ΑΥ) και των καρδιαγγειακών νοσημάτων, ενώ συντηρεί και επιταχύνει την εξέλιξη αυτών των νοσημάτων μεταξύ των οποίων συμπεριλαμβάνεται και ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 (ΣΔτ2).<sup>3</sup>

Μέχρι σήμερα έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι αξιολόγησης της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, ωστόσο η εφαρμογή τους παραμένει σε ερευνητικό επίπεδο. Οι μέθοδοι εκτίμησης της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας διακρίνονται σε βιοχημικές και αγγειακές.<sup>4</sup> Από τους αγγειακούς δείκτες, η πιο αξιόπιστη και αναίμακτη μέθοδος εκτίμησης της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας θεωρείται η μέθοδος της ενδοθλιο-εξαρτώμενης από τη ροή αγγειοδιαστολής (flow mediated dilation, FMD). Διαταραγμένη FMD ενδεικτική ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας έχει βρεθεί σε ασθενείς με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο, συμπεριλαμβανομένων και ασθενών με ΣΔτ2.<sup>5-7</sup> Ένας από τους πλέον χρησιμοποιούμενους βιοδείκτες εκτίμησης ενδοθηλια-

κής λειτουργίας είναι η ασύμμετρη διμεθυλαργινίνη (asymmetric dimethylarginine, ADMA), η συγγέντρωση της οποίας βρέθηκε αυξημένη σε διάφορες κατηγορίες ασθενών μεταξύ των οποίων είναι και οι ασθενείς με ΣΔτ2, στους οποίους μάλιστα προβλέπει και τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων.<sup>4,8</sup> Τα δεδομένα σε ασθενείς με πρόσφατη διάγνωση ΣΔτ2 σε αυτό το πεδίο είναι περιορισμένα.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της λειτουργίας του ενδοθηλίου σε νεοδιαγνωσθέντες ασθενείς με ΣΔτ2 μέσω της εκτίμησης της ενδοθλιο-εξαρτώμενης από τη ροή αγγειοδιαστολής (FMD) η οποία αποτελεί την gold standard αναίμακτη μέθοδο, καθώς και των επιπέδων της ασύμμετρης διμεθυλαργινίνης (ADMA).

## Υλικό – Μέθοδοι

Μελετήθηκαν ασθενείς με πρόσφατη διάγνωση ΣΔτ2 (<6 μήνες) οι οποίοι δεν λάμβαναν αντιδιαβητική αγωγή (με εξαίρεση τη μετφορμίνη) και εθελοντές συνταιριασμένοι ως προς την ηλικία και την αρτηριακή πίεση (ΑΠ). Η διάγνωση του ΣΔτ2 βασίστηκε σε δύο παθολογικές τιμές γλυκόζης σε δύο διαφορετικές ημέρες (γλυκόζη νηστείας  $\geq 126$  mg/dl και/ή γλυκόζη >200 mg/dl δύο ώρες μετά από δοκιμασία ανοχής με 75 gr άνυδρης γλυκόζης).<sup>9,10</sup> Κριτήριο εισόδου για τους ασθενείς με ΣΔτ2 ήταν η φυσιολογική γλυκόζη νηστείας ή μη παθολογική δοκιμασία ανοχής έως και έναν χρόνο πριν την επίσημη διάγνωση της νόσου. Αποκλείστηκαν ασθενείς με καρδιαγγειακά, φλεγμονώδη νοσήματα, χρόνια νεφρική νόσο σταδίου 3b [glomerular filtration rate (GFR)  $\leq 45$  ml/min/m<sup>2</sup>], κακοήθειες, εγκυμοσύνη, λήψη αντιαιμοπεταλιακών ή αντιπηκτικών σκευασμάτων. Οι μετρήσεις διενεργήθηκαν το πρωί μεταξύ 9-11 π.μ. μετά από νηστεία 10 ωρών και αποχή από κάπνισμα και καφέ τις τελευταίες 6 ώρες. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τις αρχές της Διακήρυξης του Ελσίνκι και εγκρίθηκε από την Επιστημονική και Ηθική Επιτροπή του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης. Όλοι οι συμμετέχοντες υπέγραψαν έγγραφη συγκατάθεση πριν τη συμμετοχή τους στη μελέτη.

Έγινε καταγραφή σωματομετρικών στοιχείων, αιματολογικών παραμέτρων (λιπιδίων, νεφρικής

λειτουργίας, γλυκόζης νηστείας, HbA1c) και εκτιμήθηκε ο 10ετής αθηροσκληρωτικός καρδιαγγειακός κίνδυνος (ten year Atherosclerotic Cardiovascular Disease risk score, ASCVD risk score).<sup>11</sup> Η ΑΠ ιατρείου εκτιμήθηκε σε καθιστή θέση με τη χρήση Microlife Exact BP, Microlife AG, Widnau, Switzerland. Η 24ωρη καταγραφή της ΑΠ διενεργήθηκε με την τοποθέτηση Holter πίεσης (Space-labs 90207 ή Mobil-O-Graph I.E.M. GmbH, Stolberg, Germany).<sup>12</sup>

### Εκτίμηση ενδοθηλιακής λειτουργίας

**α) Ενδοθηλιο-εξαρτώμενη από τη ροή αγγειοδιαστολή (FMD):** Η εκτίμηση της FMD διενεργήθηκε στη δεξιά βραχιόνιο αρτηρία, έπειτα από κατάκλιση σε ύπτια θέση για 15 λεπτά. Περιχειρίδα με σφυγμομανόμετρο εφαρμόστηκε στο δεξί αντιβράχιο για άσκηση ίσχαιμης περιόδου (Εικόνα 1). Επιπλέον, ηλεκτροδία τοποθετήθηκαν στις κατάλληλες θέσεις, καθώς και πιεσόμετρο στον αριστερό βραχίονα για καταγραφή ηλεκτροκαρδιογραφήματος και αρτηριακής πίεσης αντίστοιχα. Χρησιμοποιήθηκε υπέρηχος δύο διαστάσεων (Aloka ProSound A7 Ultrasound), με κεφαλή υψηλής συχνότητας 7,5 MHz με στόχο την απεικόνιση της βραχιόνιας αρτηρίας σε ευθεία πορεία και με σαφή τοιχώματα. Η ανίχνευση της ροής της αρτηρίας εκτιμήθηκε με τη χρήση Doppler. Η κεφαλή του υπέρηχου ακινητοποιήθηκε με τη βοήθεια ειδικού βραχίονα στην ευκρινέστερη απεικόνιση της αρτηρίας, σημάνθηκαν με κέρσορες τα όρια του αγγείου και υπολογίστηκε η διάμετός του σε ηρεμία. Η μελέτη διενεργήθηκε στα ακόλουθα τρία στάδια: α) καταγραφή για 1 λεπτό σε ηρεμία της βραχιονίου αρτηρίας, β) περίσφιξη στο αντιβράχιο για 5 λεπτά με την περιχειρίδα σε σταθερή πίεση στα 210 mmHg, γ) άρση της πίεσης και καταγραφή της μεταβολής της διαμέτρου του αγγείου για 90 δευτερόλεπτα.<sup>13</sup> Η άρση της απόφραξης προκαλεί αύξηση της ροής αίματος και της διατημητικής τάσης στο τοίχωμα της βραχιόνιας αρτηρίας ώστε να αποκατασταθεί τάχιστα η κυκλοφορία στα διεσταλμένα αγγεία.<sup>4</sup> Στο υγιές ενδοθήλιο, η παραγωγή NO διεγείρεται από τη διατημητική τάση που ασκείται στο τοίχωμα της βραχιόνιας αρτηρίας και οδηγεί σε διαστολή της. Έτσι, με τη μέθοδο αυτή η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία εκφράζεται ποσοτικά με τη



*Εικόνα 1. Ακινητοποίηση κεφαλής υπέρηχου σε θέση με διανγή απεικόνιση βραχιονίου αρτηρίας και ταυτόχρονη τοποθέτηση σφυγμομανόμετρον στο αντιβράχιο.*

μέτρηση της ποσοστιαίας μεταβολής της διαμέτρου της βραχιόνιας αρτηρίας πριν και μετά την εφαρμογή ίσχαιμης περιόδου.<sup>4</sup>

### β) Επίπεδα ασύμμετρης διμεθυλαργινίνης:

Η μέτρηση των επιπέδων της ασύμμετρης διμεθυλαργινίνης διενεργήθηκε σε ορό αίματος που είχε αποθηκευτεί στους  $-80^{\circ}\text{C}$  με την ανοσοενζυμική μέθοδο ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)<sup>14</sup> με τη χρήση εμπορικά διαθέσιμων αντιδραστηρίων (DLD Diagnostika GmbH, Hamburg, Germany) με ευαισθησία 0,05  $\mu\text{mol/L}$ .

### Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με χρήση του λογισμικού πακέτου IBM SPSS 22. Οι ποιοτικές μεταβλητές εκφράστηκαν ως ποσοστά ενώ οι συνεχείς ως μέσος όρος  $\pm$  τυπική απόκλιση (mean  $\pm$  standard deviation, Mean  $\pm$  SD) ή με τη διάμεση τιμή και το ενδοτεταρτημοριακό εύρος (median, IR/interquartile range) ανάλογα με την κανονικότητα. Οι διαφορές μεταξύ μέσων όρων υπολογίστηκαν με t test ή τη μη παραμετρική δοκιμασία Mann-Whitney. Η σύγκριση μεταξύ των ποιοτικών μεταβλητών διενεργήθηκε με τη δοκιμασία Pearson chi square. Η συσχέτιση μεταξύ ποσοτικών μεταβλητών εκτιμήθηκε με τον συντελεστή κατά Pearson και τον συντελεστή Spearman σε περίπτωση μη κανονικής κατανομής. Μοντέλο πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης χρησιμοποιήθηκε για να αναδείξει την ανεξαρτησία της συσχέτισης της FMD με τον  $\Sigma\Delta\tau 2$ . Επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας θεωρήθηκε  $p < 0,05$ .

**Πίνακας 1.** Βασικά χαρακτηριστικά πληθυσμού μελέτης FMD (n=90).

Μεταβλητή	Ασθενείς με ΣΔτ2 (n =33)	Μάρτυρες (n =57)	p
Ηλικία (έτη)	58±10	56±9	0,405
Ανδρες n, (%)	15 (45%)	60 (40%)	0,193
FMD %	4,68 (4,58)	7,85 (7,00)	0,012**
ADMA (μmol/l)	0,926±0,569	0,468 (0,270)	0,032**
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	30,0±3,3	27,8±4,1	0,006**
Αρτηριακή υπέρταση n, (%)	23 (70%)	33 (58%)	0,266
Δυσλιπιδαιμία n, (%)	20 (61%)	15 (28%)	0,002**
ΣΑΠ <sub>ιατρείου</sub> (mmHg)	137,3±18,1	129,0±16,6	0,009**
ΔΑΠ <sub>ιατρείου</sub> (mmHg)	83,8±11,0	79,5±15,3	0,085
ΣΑΠ <sub>ημέρας</sub> ABPM* (mmHg)	127,3±15,3	124,3±12,6	0,276
ΔΑΠ <sub>ημέρας</sub> ABPM* (mmHg)	79,1±11,9	80,5±9,7	0,765
ΣΑΠ <sub>νύχτας</sub> ABPM* (mmHg)	116,6±16,0	100,0±15,1	0,052
ΔΑΠ <sub>νύχτας</sub> ABPM* (mmHg)	70,3±11,1	67,8±11,6	0,226
ΣΑΠ <sub>24ώρου</sub> ABPM* (mmHg)	124,4±14,8	120,4±12,9	0,156
ΔΑΠ <sub>24ώρου</sub> ABPM* (mmHg)	76,7±11,7	76,8±10,0	0,924
Γλυκόζη νηστείας (mg/dl)	116,5 (31,0)	88,14±9,63	<0,001**
HbA1c (%)	6,85 (1,47)	5,45±0,44	<0,001**
eGFR (ml/min/1,73m <sup>2</sup> )	106 (50,5)	102,5 (30,0)	0,654
Ολική χοληστερόλη (mg/dl)	203,1±41,7	201,9±29,7	0,887
Τριγλυκερίδια (mg/dl)	133,0 (83,0)	105,0±46,6	<0,001**
HDL-C (mg/dl)	42,4±9,8	50,6±11,4	<0,001**
LDL-C (mg/dl)	130,0± 36,3	131,2±25,2	0,872
Κάπνισμα n, (%)	13 (39%)	20 (35%)	0,826
ASCVD risk score	21,9±14,0	7,9±7,1	<0,001**

ΣΔτ2: Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 2, FMD: Ενδοθηλιο-εξαρτώμενη από τη ροή αγγειοδιαστολή, ADMA: Ασύμμετρον Διμεθυλαργινίνη, BMI: Δείκτης Μάζας Σώματος, ΣΑΠ: Συστολική Αρτηριακή Πίεση, ΔΑΠ: Διαστολική Αρτηριακή Πίεση, HbA1c: Γλυκοζυλιωμένη Αιμοσφαιρίνη, eGFR: Ρυθμός Σπειραματικής Διήθησης, HDL-C: Υψηλής Πυκνότητας Λιποπρωτεϊνική Χοληστερόλη, LDL-C: Χαμηλής Πυκνότητας Λιποπρωτεϊνική Χοληστερόλη, ASCVD risk score: Δεκαετής αθηροσκληρωτικός καρδιαγγειακός κίνδυνος

\*ABPM: Περιπατητική καταγραφή αρτηριακής πίεσης, \*\*p<0,05

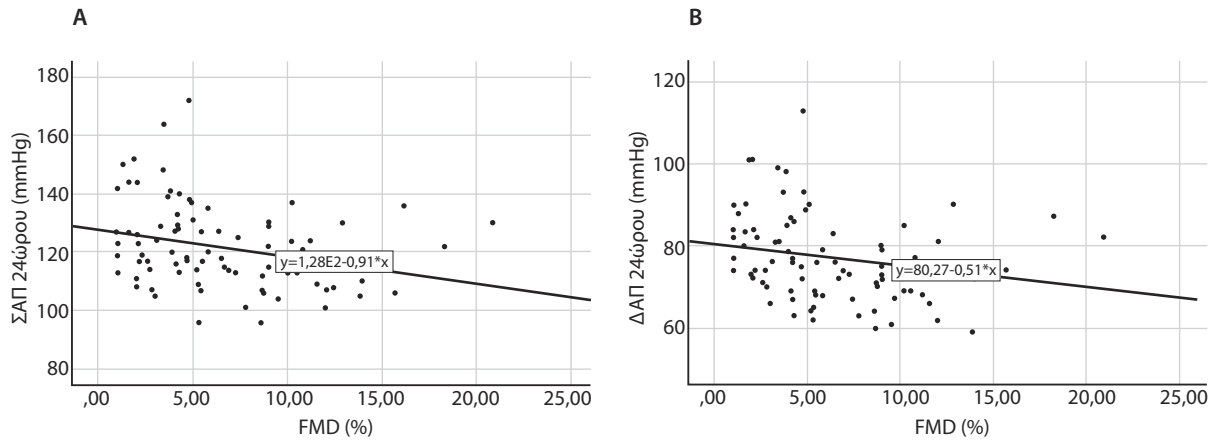
Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως: Mean ± SD/ Median (IR/ interquartile range).

## Αποτελέσματα

Μελετήθηκαν 90 άτομα, 33 ασθενείς με ΣΔτ2 και 57 μάρτυρες (Πίνακας 1). Από τους 33 ασθενείς με ΣΔτ2, οι 20 εκτιμήθηκαν σε λιγότερο από 1 μήνα από τη διάγνωση της νόσου ενώ οι υπόλοιποι 13 σε 3,69±2,14 μήνες. Οι 16 ασθενείς με ΣΔτ2 λάμβαναν μετροφομίνη (48,5%) μόλις για 3 εβδομάδες.

Η ομάδα των ασθενών με ΣΔτ2 παρουσίαζε χαμηλότερη FMD σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου [4,68(4,58)% έναντι 7,85(7)%, p=0,012] και υψηλότερη τιμή ADMA [0,926±0,569 μmol/l έναντι 0,468(0,27) μmol/l, p=0,032].

Η μονοπαραγοντική ανάλυση ανέδειξε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της FMD με τον ΣΔτ2 (r=-0,266, p=0,011), τη γλυκόζη νηστείας (r=-0,232,



Εικόνα 1. Συσχέτιση της FMD με την 24ωρη ΣΑΠ (Α) και 24ωρη ΔΑΠ (Β) στον πληθυσμό της μελέτης.

$p=0,029$ ), τη HbA1c ( $r=-0,209$ ,  $p=0,048$ ), την HDL χοληστερόλη ( $r=0,243$ ,  $p=0,024$ ), τον 10ετή καρδιαγγειακό κίνδυνο ( $r=-0,249$ ,  $p=0,020$ ), τη Συστολική Αρτηριακή Πίεση (ΣΑΠ) ιατρείου ( $r=-0,228$ ,  $p=0,031$ ), ημέρας ( $r=-0,335$ ,  $p=0,002$ ), νύχτας ( $r=-0,236$ ,  $p=0,031$ ) και 24ώρου ( $r=-0,323$ ,  $p=0,003$ ), τη Διαστολική Αρτηριακή Πίεση (ΔΑΠ) ημέρας ( $r=-0,34$ ,  $p=0,001$ ), νύχτας ( $r=-0,281$ ,  $p=0,010$ ) και 24ώρου ( $r=-0,314$ ,  $p=0,003$ ). Με όλους τους παραπάνω παράγοντες η συσχέτιση της FMD ήταν αρνητική με την εξαίρεση της HDL χοληστερόλης με την οποία συσχετίστηκε θετικά, όπως αναμενόταν. Η συσχέτιση της FMD με τη ΣΑΠ και ΔΑΠ 24ώρου απεικονίζεται στην Εικόνα 1.

Στην πολυπαραγοντική ανάλυση συμπεριλήφθησαν το φύλο, η ηλικία, ο δείκτης μάζας σώματος, ο ΣΔτ2 και η ΣΑΠ 24ώρου (Πίνακας 2). Το μοντέλο ανέδειξε ότι ο ΣΔτ2 ( $Beta=-0,278$ ,  $p=0,012$ ) και η ΣΑΠ 24ώρου ( $Beta=-0,243$ ,  $p=0,029$ ) συσχετίζονται ανεξάρτητα από τους άλλους παράγοντες με την FMD.

Πίνακας 2. Πολυπαραγοντική ανάλυση για την FMD\* στο σύνολο του δείγματος ( $n=90$ ).

Μεταβλητή	Beta	p
Γυναικείο φύλο	0,024	0,826
Ηλικία	-0,067	0,529
Δείκτης Μάζας Σώματος	0,048	0,665
Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου 2	-0,278	0,012**
Συστολική Αρτηριακή Πίεση 24ώρου	-0,243	0,029**

\* FMD Flow Mediated Dilation (Ενδοθηλιο-εξααρτώμενη από τη ροή αγγειοδιαστολή)

\*\*  $p < 0,05$

## Συζήτηση

Στην παρούσα μελέτη οι ασθενείς με πρόσφατη διάγνωση ΣΔτ2 εμφάνιζαν μειωμένη FMD, δηλαδή παθολογική απελευθέρωση NO μετά από ίσχαιμη περιδείση καθώς και αυξημένες τιμές ADMA σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Διαπιστώθηκε επηρεασμένη ενδοθηλιακή λειτουργία σε τόσο πρώιμο στάδιο του ΣΔτ2 (διάρκειας <6 μήνες) με δύο δείκτες, έναν αγγειακό (FMD) και έναν βιοχημικό (ADMA). Μάλιστα η FMD συσχετίστηκε ανεξάρτητα με τον ΣΔτ2. Η κύρια πρωτοτυπία της μελέτης έγκειται στην ανάδειξη της συσχέτισης μεταξύ ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και ΣΔτ2, ανεξάρτητα από άλλους παράγοντες, σε έναν προσεκτικά επιλεγμένο πληθυσμό ασθενών με τόσο πρόσφατη διάγνωση ΣΔτ2, και οι οποίοι μέχρι και ένα έτος πριν παρουσίαζαν φυσιολογική γλυκόζη νηστείας ή μη παθολογική δοκιμασία ανοχής.

Οι Sciacqua και συν. διαπίστωσαν επίσης αυξημένα επίπεδα ADMA σε άτομα με πρόσφατη διάγνωση ΣΔτ2, ωστόσο σε αυτήν τη μελέτη χρησιμοποιήθηκε η Forearm Blood Flow (FBF) και όχι η FMD ως αγγειακός δείκτης ενδοθηλιακής λειτουργίας.<sup>15</sup> Σύμφωνα με ανασκόπηση προοπτικών κλινικών μελετών, η ADMA συσχετίζεται σημαντικά με την καρδιαγγειακή νοσηρότητα και θνητότητα σε ασθενείς χαμηλού, ενδιάμεσου ή υψηλού καρδιαγγειακού κινδύνου.<sup>16</sup> Επιπρόσθετα, τα επίπεδα της ADMA συσχετίζονται ανεξάρτητα με τη βαρύτητα των νοσημάτων και με μείζονα καρδιαγγειακά συμβάματα.<sup>17</sup> Επιπλέον, έχει φανεί ότι η παρέμβαση σε παράγοντες που επιδρούν αρνητικά στην ενδοθηλιακή λειτουργία και ιδίως στην

υπεργλυκαιμία οδηγεί σε βελτίωση στις μετρήσεις FMD και ADMA και συνεπώς στη λειτουργία του ενδοθηλίου.<sup>18</sup> Συνεπώς, αναδεικνύεται η σημασία της έγκαιρης ανίχνευσης της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας με τη βοήθεια των δεικτών αυτών.

Σημαντικός αναδείχθηκε από τις αναλύσεις και ο ρόλος της αρτηριακής πίεσης στο ενδοθήλιο καθώς η FMD συσχετίστηκε με τις παραμέτρους της. Μάλιστα η πολυπαραγοντική ανάλυση ανέδειξε τον ΣΔτ2 και τη ΣΑΠ 24ώρου ως ανεξάρτητους προβλεπτικούς δείκτες της FMD λαμβάνοντας υπόψη την ηλικία, το φύλο και τον δείκτη μάζας σώματος. Η συσχέτιση της FMD με την ΑΥ έχει εδραιωθεί.<sup>19</sup> Καθώς έως τα 2/3 των ασθενών με ΣΔ μπορεί να έχουν ΑΥ, ενδεχομένως λόγω κοινού παθοφυσιολογικού υποβάθρου,<sup>20</sup> η παρουσία της αποτελεί επιπρόσθετο επιβαρυντικό παράγοντα για την εμφάνιση καρδιαγγειακών επιπλοκών.<sup>21</sup> Σε μελέτη με 960 υγιείς νορμοτασικές μετεμνηνοπαυσιακές γυναίκες διαπιστώθηκε ότι μείωση κατά 1% της τιμής της FMD οδήγησε σε αύξηση κατά 16% της επίπτωσης ΑΥ.<sup>22</sup> Οι Srivastava και συν. διαπίστωσαν ότι η ανισορροπία μεταξύ του συστήματος Αγγειοτενσίνης II – Ρενίνης (1-7) σχετίζεται με αγγειακή ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και φλεγμονή σε ΣΔτ2 με νεοδιαγνωσθείσα ΑΥ.<sup>23</sup> Χωρίς βέβαια να μπορεί να αποδειχτεί ποιο έχει προηγηθεί σε ασθενείς που παρουσιάζουν και τα δύο νοσήματα, ωστόσο η συσχέτισή τους με μικρότερη FMD καθιστά επιτακτική την ανάγκη ρύθμισής τους προκειμένου να μειωθεί ο καρδιαγγειακός κίνδυνος.

Από τις αναλύσεις διαπιστώθηκε ότι η μειωμένη FMD συσχετίστηκε με αυξημένο 10ετή καρδιαγγειακό κίνδυνο, γεγονός που υποδεικνύει ότι η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία αποτελεί κοινό παρονομαστή των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Η συσχέτιση της FMD με καρδιαγγειακά συμβάματα έχει τεκμηριωθεί.<sup>24,25</sup> Αποτελέσματα μετα-αναλύσεων έχουν δείξει ότι η εκτίμηση της FMD όχι μόνο συσχετίζεται με τα καρδιαγγειακά συμβάματα αλλά μπορεί και να προβλέψει τον καρδιαγγειακό κίνδυνο. Έχει βρεθεί ότι για κάθε 1% αύξηση της FMD μειώνεται ο κίνδυνος για καρδιαγγειακά νοσήματα κατά 12%.<sup>24</sup> Ανάλογα είναι τα ευρήματα και σε μελέτες στις οποίες συμμετείχαν ασθενείς με ΣΔ οι οποίοι θεωρούνται υψηλού καρδιαγγειακού κινδύνου ακόμη κι όταν είναι ασυμπτωματι-

κοί.<sup>26</sup> Πιο συγκεκριμένα, η μελέτη Hoorn έδειξε ότι η χαμηλότερη τιμή FMD συσχετίζεται με τα καρδιαγγειακά συμβάματα σε ασθενείς με ΣΔτ2 καθώς και σε άτομα με επηρεασμένη ανοχή γλυκόζης, όχι όμως και σε άτομα με φυσιολογικό γλυκαιμικό προφίλ. Επιπλέον, ο συνδυασμός της υπεργλυκαιμίας του ΣΔτ2 με την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία πολλαπλασιάζει τα καρδιαγγειακά επεισόδια σε αυτούς τους ασθενείς.<sup>27</sup>

Εκτός από την τεκμηριωμένη προγνωστική αξία της FMD, όπως διαπιστώνεται από τα παραπάνω, στα πλεονεκτήματά της συγκαταλέγεται η καλή αναπαραγωγικότητα, όταν πραγματοποιείται κάτω από αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες, και ο μη επεμβατικός της χαρακτήρας, που επιτρέπουν την εφαρμογή της μεθόδου με επανειλημμένες μετρήσεις στο ίδιο άτομο.<sup>28</sup> Ωστόσο, η εμπειρία που απαιτείται για την εξάσκηση της μεθόδου, οι μεθοδολογικές διαφορές στα διάφορα κέντρα και το κόστος του εξοπλισμού που απαιτείται, αποτελούν μειονεκτήματα που περιορίζουν την ευρεία εφαρμογή της μεθόδου και έτσι συνήθως οι ασθενείς που μελετώνται είναι περιορισμένοι σε αριθμό. Οι τελευταίες δυσκολίες φαίνεται να αντιμετωπίζονται με τη χρήση ειδικών λογισμικών που αναλύουν αυτόματα τα δεδομένα και παρέχουν συνεχή καταγραφή της μελέτης και του αγγείου ανά δευτερόλεπτο. Παρ' όλα αυτά, η στενή παρακολούθηση και εφαρμογή της μελέτης από έμπειρο χειριστή είναι αναντικατάστατη.

Μελέτες έχουν επιβεβαιώσει ότι η FMD είναι μειωμένη σε ασθενείς με διάφορους αθηροσκληρωτικούς παράγοντες κινδύνου, όπως η προχωρημένη ηλικία, η δυσλιπιδαιμία, η ΑΥ, ο ΣΔ, το κάπνισμα και η εμμηνόπαυση<sup>22</sup> και σε ασθενείς με εγκατεστημένη στεφανιαία νόσο.<sup>19</sup> Νεότερες μελέτες σε μια προσπάθεια να εκτιμήσουν την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία στον ΣΔτ2 έχουν αξιοποιήσει τη μέθοδο. Η FMD ανευρίσκεται μειωμένη σε νεοδιαγνωσθέντες ασθενείς με ΣΔ,<sup>29,30</sup> ενώ παράλληλα έχει συσχετισθεί στον ίδιο πληθυσμό με αυξημένο δεκαετή καρδιαγγειακό κίνδυνο και με μακροαγγειοπάθεια, όπως το πάχος του έσω-μέσου χιτώνα και η αορτική σκληρία.<sup>29</sup> Σε μελέτη με 32 νεοδιαγνωσθέντες ασθενείς με ΣΔ χωρίς θεραπεία, βρέθηκε μειωμένη FMD σε σύγκριση με υγιείς εθελοντές, ενώ η αορτική σκληρία και το οξειδωτικό στρες ήταν αυξημένα.<sup>31</sup>

Βασικό πλεονέκτημα της παρούσας μελέτης είναι ότι η εκτίμηση της ενδοθηλιακής λειτουργίας διενεργήθηκε με δύο μεθόδους, μία βιοχημική (ADMA) και μία αγγειακή, την gold standard αναίμακτη μέθοδο (FMD) και τα αποτελέσματα συμφωνούν μεταξύ τους. Το δείγμα που μελετήθηκε ήταν αρκετά μεγάλο λαμβάνοντας υπόψη τη δυσκολία της μελέτης καθώς και τον πληθυσμό-στόχο (ασθενείς με πρόσφατη διάγνωση ΣΔτ2 χωρίς αντιδιαβητική αγωγή με την εξαίρεση της μεφορμίνης) σε σύγκριση με άλλες αντίστοιχες μελέτες. Η ομάδα μαρτύρων ήταν καλά συνταξιοδοτημένη ως προς πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες της FMD και της ADMA. Ως μειονέκτημα της μελέτης μπορεί να θεωρηθεί η λήψη μεφορμίνης από κάποιους ασθενείς για μικρό ωστόσο χρονικό διάστημα, που δεν θεωρείται σύμφωνα με τις έως τώρα μελέτες ότι μπορεί να επηρεάσει δραστικά τις εκβάσεις.

Συμπερασματικά, οι ασθενείς με πολύ πρόσφατη διάγνωση ΣΔτ2 παρουσιάζουν επηρεασμένη ενδοθηλιακή λειτουργία, όπως αποδείχτηκε από τις μετρήσεις της FMD και της ADMA. Η χαμηλή τιμή FMD συσχετίστηκε ανεξάρτητα με τον ΣΔτ2 και τη ΣΑΠ 24ώρου λαμβάνοντας υπόψη την ηλικία, το φύλο και τον δείκτη μάζας σώματος.

## Abstract

*Nikolaidou B, Anyfanti P, Lazaridis A, Zografou I, Triantafyllou A, Doumas M, Douma S, Gkaliagkousi E. Assessment of flow mediated dilation and asymmetric dimethylarginine in patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. Hellenic Diabetol Chron 2021; 3: 147-154.*

**Introduction:** Endothelial dysfunction precedes the onset of clinically detectable atherosclerosis in type 2 diabetes mellitus (T2DM) and contributes significantly to the development of vascular complications and mortality. The aim of the present study is to investigate the endothelial function in patients with a recent diagnosis of T2DM.

**Material – Methods:** We studied patients with newly diagnosed T2DM (<6 months from diagnosis) that did not receive antidiabetic treatment (except for metformin) and otherwise healthy individuals matched for age and blood pressure (BP). We recorded BP (office and 24-hour), somatometric and hematological data (lipids, renal function, fasting glucose, HbA1c). We also

calculate the 10-year atherosclerotic cardiovascular risk (ASCVD risk score). We determined endothelial dysfunction with two methods: Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) by ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) and the gold standard non-invasive method Flow Mediated Dilation (FMD).

**Results:** Ninety subjects were studied, 33 patients with T2DM and 57 controls. T2DM showed significantly impaired FMD [4.68 (4.58)% versus 7.85 (7)%], ( $p=0.012$ ) and higher ADMA [ $0.926\pm 0.569$  versus  $0.468$  (0.27) mmol/l ( $p=0.032$ )], compared to controls. There was also an independent association of T2DM and FMD (Beta=-0.278,  $p=0.012$ ).

**Conclusions:** Patients with a very recent diagnosis of T2DM show impaired endothelial function as demonstrated by FMD and ADMA findings. This assessment highlights the early severe, damaging effect of hyperglycemia on the endothelium, emphasizing the need for early detection and management.

## Βιβλιογραφία

1. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373-6.
2. Sandoo A, van Zanten JJ, Metsios GS, Carroll D, Kitas GD. The endothelium and its role in regulating vascular tone. *Open Cardiovasc Med J* 2010; 4: 302-12.
3. Gkaliagkousi E, Douma S, Zamboulis C, Ferro A. Nitric oxide dysfunction in vascular endothelium and platelets: Role in essential hypertension. *J Hypertens* 2009; 27: 2310-20.
4. Gkaliagkousi E, Gavriilaki E, Triantafyllou A, Douma S. Clinical significance of endothelial dysfunction in essential hypertension. *Curr Hypertens Rep* 2015; 17: 85.
5. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992; 340: 1111-5.
6. Muiesan ML, Salvetti M, Monteduro C, et al. Flow-mediated dilatation of the brachial artery and left ventricular geometry in hypertensive patients. *J Hypertens* 2001; 19: 641-7.
7. Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C, Robinson J, Deanfield JE. Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. *J Am Coll Cardiol* 1994; 24: 1468-74.
8. Krzyzanowska K, Mittermayer F, Wolz M, Scherthaner G. Asymmetric dimethylarginine predicts cardiovascular events in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2007; 30: 1834-9.
9. Use of glycated haemoglobin (HbA1c) in the diagnosis of diabetes mellitus: Abbreviated report of a WHO consultation. Geneva: World Health Organization 2011.

10. *World Health Organization & International Diabetes Federation*. Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycaemia: Report of a WHO/IDF consultation. World Health Organization 2006.
11. *Goff DC Jr., Lloyd-Jones DM, Bennett G, et al. American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines*. 2013 ACC/AHA guideline on the assessment of cardiovascular risk: A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* 2014; 129: (25 Suppl 2): S49-73.
12. *Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, et al*. 2013 ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *J Hypertens* 2013; 31: 1281-357.
13. *Thijssen DHJ, Bruno RM, van Mil A, et al*. Expert consensus and evidence-based recommendations for the assessment of flow-mediated dilation in humans. *Eur Heart J* 2019; 40: 2534-47.
14. *Minic R, Zivcovic I*. Optimization, validation and standardization of ELIZA. In: Mózsik G, ed. *Norovirus*. London, UK: IntechOpen, 2020; 9-28.
15. *Sciacqua A, Grillo N, Quero M, Sesti G, Perticone F*. Asymmetric dimethylarginine plasma levels and endothelial function in newly diagnosed type 2 diabetic patients. *Int J Mol Sci* 2012; 13: 13804-15.
16. *Böger RH, Maas R, Schulze F, Schwedhelm E*. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a prospective marker of cardiovascular disease and mortality – an update on patient populations with a wide range of cardiovascular risk. *Pharmacol Res* 2009; 60: 481-7.
17. *Wilson AM, Shin DS, Weatherby C, et al*. Asymmetric dimethylarginine correlates with measures of disease severity, major adverse cardiovascular events and all-cause mortality in patients with peripheral arterial disease. *Vasc Med* 2010; 15: 267-74.
18. *Yasuda S, Miyazaki S, Kanda M, et al*. Intensive treatment of risk factors in patients with type-2 diabetes mellitus is associated with improvement of endothelial function coupled with a reduction in the levels of plasma asymmetric dimethylarginine and endogenous inhibitor of nitric oxide synthase. *Eur Heart J* 2006; 27: 1159-65.
19. *Gkaliagkousi E, Gavrilaki E, Doulas M, Petidis K, Aslanidis S, Stella D*. Cardiovascular risk in rheumatoid arthritis: Pathogenesis, diagnosis, and management. *J Clin Rheumatol* 2012; 18: 422-30.
20. *Sowers JR, Standley PR, Ram JL, Jacober S, Simpson L, Rose K*. Hyperinsulinemia, insulin resistance, and hyperglycemia: Contributing factors in the pathogenesis of hypertension and atherosclerosis. *Am J Hypertens* 1993; 6: 260S-70S.
21. *Ferrannini E, Cushman WC*. Diabetes and hypertension: The bad companions. *Lancet* 2012; 380: 601-10.
22. *Nuzzo A, Rossi R, Modena MG*. Endothelial dysfunction in postmenopausal women and hypertension. *Women's Health* 2007; 3: 515-8.
23. *Srivastava P, Badhwar S, Chandran DS, Jaryal AK, Jyotsna VP, Deepak KK*. Imbalance between Angiotensin II – Angiotensin (1-7) system is associated with vascular endothelial dysfunction and inflammation in type 2 diabetes with newly diagnosed hypertension. *Diabetes Metab Syndr* 2019; 13: 2061-8.
24. *Matsuzawa Y, Kwon TG, Lennon RJ, Lerman LO, Lerman A*. Prognostic value of flow-mediated vasodilation in brachial artery and fingertip artery for cardiovascular events: Systematic review and meta-analysis. *J Am Heart Assoc* 2015; 4: e002270.
25. *Ras RT, Streppel MT, Draijer R, Zock PL*. Flow-mediated dilation and cardiovascular risk prediction: A systematic review with meta-analysis. *Int J Cardiol* 2013; 168: 344-51.
26. *Villano A, Mencarelli E, Melita V, et al*. Endothelial dysfunction and cardiovascular outcome in asymptomatic patients with type 2 diabetes: A pilot study. *Diabetes Metab Res Rev* 2020; 36: e3215.
27. *van Sloten TT, Henry RM, Dekker JM, et al*. Endothelial dysfunction plays a key role in increasing cardiovascular risk in type 2 diabetes: The Hoorn study. *Hypertension* 2014; 64: 1299-305.
28. *Lekakis J, Abraham P, Balbarini A, et al*. Methods for evaluating endothelial function: A position statement from the European Society of Cardiology Working Group on Peripheral Circulation. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2011; 18: 775-89.
29. *Seon CS, Min KW, Lee SY, et al*. Cardiovascular risk assessment with vascular function, carotid atherosclerosis and the UKPDS risk engine in Korean patients with newly diagnosed type 2 diabetes. *Diabetes Metab J* 2011; 35: 619-27.
30. *Xiang G, Zhang J, Ling Y, Zhao L*. Circulating level of TRAIL concentration is positively associated with endothelial function and increased by diabetic therapy in the newly diagnosed type 2 diabetic patients. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2014; 80: 228-34.
31. *Bruno RM, Daghini E, Landini L, et al*. Dynamic evaluation of renal resistive index in normoalbuminuric patients with newly diagnosed hypertension or type 2 diabetes. *Diabetologia* 2011; 54: 2430-9.

#### Λέξεις-κλειδιά:

Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2  
 Ενδοθηλιακή δυσλειτουργία  
 Ενδοθηλιο-εξαρτώμενη από τη ροή αγγειοδιαστολή  
 Ασύμμετρο διμεθυλαργινίνη

#### Key words:

Diabetes mellitus type 2  
 Endothelial dysfunction  
 Flow mediated dilation  
 Asymmetric dimethylarginine