

Χαμηλού βαθμού φλεγμονή και διαβήτης τύπου 2: αίτιο ή αιτιατό;

Ι.Φ. Στεργίου¹

Α. Αδαμίδου¹

Τ.Α. Βυζαντιάδης²

Ν. Ράικος³

Α. Παπαδόπουλος¹

Δ.Θ. Καραμήτσος¹

Περίληψη

Η ύπαρξη «υποκλινικής φλεγμονώδους διαταραχής» σε διαβητικούς ασθενείς αποτελεί πλέον επιβεβαιωμένη παρατήρηση, χωρίς όμως η έρευνα να έχει πλήρως διευκρινίσει τους μηχανισμούς με τους οποίους αυτή αλληλεπιδρά με διαταραχές στην ομοιόσταση της γλυκόζης. Επίσης ερωτηματικό αποτελεί αν η υποκλινική φλεγμονή συνιστά γενεσιουργό αίτιο του ΣΔ τύπου 2 ή απλώς εμφανίζεται δευτεροπαθώς μετά την εμφάνιση υπεργλυκαιμίας. Σκοπός: Η διερεύνηση της ύπαρξης «υποκλινικής φλεγμονής» πριν από την ανίχνευση διαταραχών στην ανοχή της γλυκόζης σε άτομα με γνωστή κληρονομική προδιάθεση για ΣΔ τύπου 2 και πιθανή χρήση κάποιων παραμέτρων φλεγμονής ως δεικτών εκτίμησης του κινδύνου ανάπτυξης ΣΔ τύπου 2. Υλικό – μέθοδοι: Συμμετείχαν συνολικά 75 μη παχύσαρκα άτομα από τρεις ομάδες των 25 ατόμων (Ομάδα Α: υγιή άτομα ως ομάδα ελέγχου, Ομάδα Β: απόγονοι 1ου βαθμού διαβητικών ασθενών, Ομάδα Γ: πρόσφατα διαγνωσθέντες μη ινσουλινοεξαρτώμενοι διαβητικοί ασθενείς) και έγινε μέτρηση συγκεκριμένων ειδικών δεικτών φλεγμονής (hsIL6, hsCRP, sTNFRII, PAI-1). Αποτελέσματα: Στατιστικά σημαντική διαφορά σε όλους τους παραπάνω δείκτες φλεγμονής ανευρέθηκε ανάμεσα στους διαβητικούς ασθενείς και τις δυο ομάδες των υγιών. Αντίθετα, ο μόνος παράγοντας που εμφάνισε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δυο ομάδες των υγιών ατόμων ήταν ο PAI-1. Συμπέρασμα: Δεν επιβεβαιώνεται από τη μελέτη η ύπαρξη υποκλινικής φλεγμονής πριν την ανίχνευση υπεργλυκαιμίας, παρά μόνο διαταραχές στο σύστημα ινωδόλυσης. Ο PAI-1 θα μπορούσε ίσως να χρησιμοποιηθεί για την πρόβλεψη του κινδύνου εμφάνισης ΣΔ τύπου 2 σε άτομα με γενετική προδιάθεση.

Εισαγωγή

Την τελευταία δεκαετία παρατηρείται τεράστια αύξηση του ενδιαφέροντος της επιστημονικής κοινότητας για το ανοσοποιητικό σύστημα και τις διαδικασίες φλεγμονής, λόγω της παρατήρησης ότι υποκλινική ενεργοποίησή του εμπλέκεται πιθανώς στην παθογένεση του ΣΔ τύπου 2. Από τα έτη 1997 και 1998 οπότε και πρωτοδιατυπώθηκε η συγκεκριμένη υπόθεση^{1,2} έχουν διενεργηθεί πολλές μελέτες που συσχετίζουν διάφορους δείκτες φλεγμονής και πρωτεΐνες οξειάς φάσης με το αποκαλούμενο «μεταβολικό σύνδρομο», τον ΣΔ τύπου 2 και τις επιπλοκές του³⁻⁷. Κύριος

¹ Α' Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική, ΠΓΝΘ ΑΧΕΠΑ, ΑΠΘ

² Α' Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Ιατρική Σχολή, ΑΠΘ

³ Εργαστήριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας, Ιατρική Σχολή, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη

στόχος της ερευνητικής δραστηριότητας είναι η αποσαφήνιση των μηχανισμών που συνδέουν τη χαμηλού βαθμού φλεγμονή με τα δύο κύρια χαρακτηριστικά του ΣΔ 2, την αντίσταση στην ινσουλίνη και την ανεπαρκή έκκρισή της.

Εκτροπή της έμφυτης ενδογενούς ανοσίας ανευρίσκεται σε πολλές χρόνιες παθήσεις. Έχει διερευνηθεί ο ρόλος της κυρίως στα νοσήματα του συνδετικού ιστού⁸⁻¹⁰, όπου χρησιμοποιούνται πλέον και θεραπευτικά ανταγωνιστές του παράγοντα νέκρωσης του όγκου τύπου-α (TNFα) και της ιντερλευκίνης 6 (IL6), ενώ ο ρόλος της έχει επιβεβαιωθεί και σε μεταβολικά νοσήματα, όπως στην αθηροσκληρωση¹¹, στη στεφανιαία νόσο¹² και στον ΣΔ τύπου 2¹³. Αυξημένα επίπεδα IL6 φαίνεται να συσχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο ΣΔ τύπου 2^{14,15}, ενώ ακόμη ισχυρότερη προγνωστική παράμετρο φαίνεται να αποτελεί η C αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP)^{5,16}. Αυτές όμως οι μελέτες αναδεικνύουν συνήθως απλή συσχέτιση και όχι πραγματική σχέση αιτίου-αιτιατού. Παραμένει μεγάλο ερώτημα αν η εκτροπή του ανοσιακού συστήματος προκαλεί διαβητογένεση ή αντίθετα η έναρξη της νόσου απλά συνοδεύεται από χρόνια υποκλινική διέγερση του ανοσιακού συστήματος.

Έναν από τους μηχανισμούς δημιουργίας ινσουλινοαντίστασης αποτελεί η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία που προάγεται από τις κυτταροκίνες και ανευρίσκεται εντονότερη σε διαβητικούς ασθενείς. Αύξηση της IL6 στο πλάσμα λόγω υποκλινικής φλεγμονής συσχετίζεται με σημαντική μεταβολή της απάντησης σε φυσικούς και φαρμακευτικούς αγγειοδιασταλτικούς παράγοντες¹⁷. Ο ρόλος του TNFα και της CRP στην αύξηση της χημειοταξίας-προσκολλητικότητας των μακροφάγων στο ενδοθήλιο και συνεπώς στη δημιουργία της αθηρωματικής πλάκας είναι πλέον αποδεδειγμένος¹⁸. Μελέτες συσχέτισης έχουν δείξει ότι η CRP συνδέεται στενά με δείκτες ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας¹⁹, ενώ ίσως πιο σημαντική είναι η παρατήρηση ότι αποκατάσταση των επιπέδων της CRP συνοδεύεται από βελτίωση της τοπικής αιματικής ροής²⁰. Στο ίδιο πλαίσιο τοπική χορήγηση προαγουσών τη φλεγμονή κυτταροκινών σε ανθρώπους in vivo δυσχεραίνει την εξαρτώμενη από το μονοξείδιο του αζώτου (NO) αγγειακή χάλαση¹⁸. Τελικό αποτέλεσμα των παραπάνω ενδοθηλιακών δυσλειτουργιών είναι η μείωση της περιφερικής αιματικής ροής με συνέπεια την απόδοση ινσουλίνης σε ενεργούς μεταβολικά ιστούς, μέσω προαγωγής της ινσουλινοαντίστασης²¹. Φυσικά, υπάρχουν και πολλοί άλλοι μοριακοί και ανοσιακοί μηχανισμοί

που εμπλέκουν τους παράγοντες της μελέτης με την παθογένεση του διαβήτη τόσο σε επίπεδο β-κυττάρου όσο και σε επίπεδο περιφερικών ιστών στόχων.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της ύπαρξης «χαμηλού βαθμού φλεγμονής» πριν από την ανίχνευση διαταραχών στην ανοχή της γλυκόζης σε άτομα με γνωστή κληρονομική προδιάθεση για ΣΔ τύπου 2, ώστε μελλοντικά κάποιιοι δείκτες φλεγμονής να χρησιμοποιηθούν πιθανώς για την εκτίμηση του κινδύνου ανάπτυξης της νόσου.

Υλικό και μέθοδος

Στην παρούσα μελέτη συμπεριλήφθησαν συνολικά 75 ασθενείς οι οποίοι ταξινομήθηκαν σε τρεις ομάδες:

1) 25 άτομα υγιή ως ομάδα ελέγχου (control group): στα άτομα αυτά δεν υπήρχε οποιοδήποτε οικογενειακό ιστορικό ΣΔ τύπου 2, δεν εμφάνιζαν αρτηριακή υπέρταση, κακοήθη, μεταβολικά ή άλλα νοσήματα και φυσικά δεν έκαναν χρήση κανενός φαρμακευτικού σκευάσματος, το οποίο να επηρεάζει τις μετρήσεις.

2) 25 άτομα απόγονοι διαβητικών τύπου 2 (1^ο βαθμού συγγένεια): στην ομάδα εντάχθηκαν υγιή άτομα, χωρίς συγγένεια με τους ασθενείς της μελέτης. Για την ενίσχυση της κληρονομικής προδιάθεσης για την εμφάνιση τύπου 2 διαβήτη προτιμήθηκαν οι απόγονοι που οι γονείς τους είχαν εμφανίσει διαβήτη σε όσο το δυνατόν μικρότερη ηλικία (<50-55 έτη).

3) 25 άτομα-ασθενείς με διαγνωσμένο σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2: με δεδομένο ότι η μακροχρόνια ύπαρξη διαβήτη συνδυάζεται με ανάπτυξη δευτερογενών επιπλοκών που επηρεάζουν τις μετρήσεις ελήφθη ειδική μέριμνα, ώστε οι ασθενείς αυτοί να είναι πρόσφατα διαγνωσθέντες. Ταυτόχρονα, αποκλείστηκαν ασθενείς που εμφάνιζαν και άλλα νοσήματα πέραν του ΣΔ τύπου 2, όσοι ελάμβαναν θειαζολιδινεδιόνες, ΜΣΑΦ, ασπιρίνη, καθώς και οι ινσουλινοθεραπευόμενοι διαβητικοί ασθενείς.

Στο σύνολο των ατόμων διενεργήθηκε κλινική εξέταση, βυθοσκοπήση, μετρήθηκε η αρτηριακή πίεση, ενώ καταγράφηκαν το φύλο, η ηλικία και ο δείκτης μάζας σώματος (BMI=σωματικό βάρος σε kg/ύψος² σε m²). Ιδιαίτερη μέριμνα δόθηκε στον αποκλεισμό ατόμων με παχυσαρκία με το σύνολο των συμμετεχόντων να έχουν BMI<30 kg/m². Από εργαστηριακής απόψεως έγινε μέτρηση των SGOT, SGPT, γGT, γλυκόζης, ουρίας, κρεατινί-

νης, ολικής χοληστερίνης, HDL, LDL, τριγλυκεριδίων, γενικής αίματος, της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης (HbA_{1c}).

Οι ειδικοί παράγοντες της μελέτης που μετρήθηκαν είναι οι:

- 1) Υψηλής ευαισθησίας CRP (hsCRP)
- 2) Υψηλής ευαισθησίας IL6 (hsIL6)
- 3) Αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου 1 (PAI-1)
- 4) Διαλυτός τύπου II υποδοχέας TNFα (sTNFR_{II}).

Ο διαλυτός υποδοχέας προτιμήθηκε από τον TNFα γιατί αποτελεί πιο σταθερό μόριο, δεν επηρεάζεται τόσο πολύ από το σωματικό βάρος και ανευρίσκεται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στον ορό, χωρίς να στερείται αξιοπιστίας στην απόδοση του βιολογικού ρόλου του παράγοντα. Η επιλογή των υψηλής ευαισθησίας CRP και IL6 έγινε ώστε να επιτευχθούν μετρήσεις ακόμη και των πολύ χαμηλών συγκεντρώσεων των μορίων τους, οι οποίες όμως παρά τις μικρές τιμές τους φαίνεται να ασκούν σημαντικό ρόλο σε καταστάσεις ήπιας «υποκλινικής φλεγμονής». Η μέτρηση της hsCRP διενεργήθηκε με μέθοδο ενισχυμένης χημιοφωταύγειας σε αυτόματο αναλυτή IMMULITE της εταιρείας Siemens. Ο υπολογισμός του PAI-1 επιτεύχθηκε με ανοσοενζυμικό ποσοτικό προσδιορισμό στο πλάσμα με την υψηλής ακρίβειας μέθοδο ELISA διπλού αντισώματος. Χρησιμοποιήθηκε το ολοκληρωμένο πακέτο μέτρησης ASSERACHROM για PAI-1 (της εταιρείας Diagnostica Stago, Asnieres, France). Η ανίχνευση και ο ποσοτικός προσδιορισμός των επιπέδων της hsIL6 και του sTNFR_{II} επιτεύχθηκε επίσης με ανοσοενζυμικό ποσοτικό προσδιορισμό στον ορό με την ELISA διπλού αντισώματος. Για τη μέτρηση χρησιμοποιήθηκαν τα πλήρη πακέτα της εταιρείας R&D Systems, Minneapolis, MN, USA. Η μέτρηση των μη ειδικών πα-

ραγόντων επιτεύχθηκε με κοινές καθιερωμένες μεθόδους του εργαστηρίου.

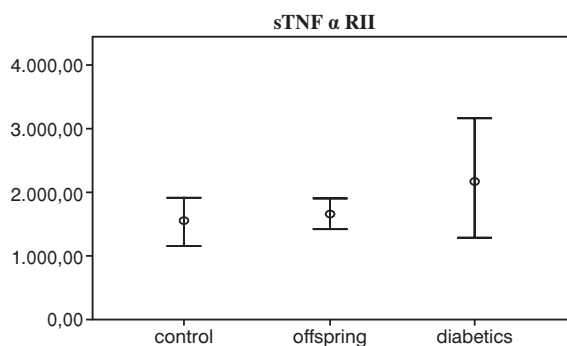
Για τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε έλεγχος για κανονική κατανομή των δεδομένων και στις περιπτώσεις όπου αυτό δεν διαπιστώθηκε, ακολούθησε επεξεργασία με τη στατιστική τεχνική της Analysis of Variance (ANOVA) για τις τρεις ομάδες. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση (standard deviation, SD). Για την ανίχνευση στατιστικά σημαντικής διαφοράς χρησιμοποιήθηκε το Mann-Whitney U test, ενώ για τις συσχετίσεις μεταξύ των μεταβλητών έγινε χρήση των συναρτήσεων του Spearman (Spearman's R). Το επίπεδο σημαντικότητας (p-value) καθορίστηκε στο 5% (0,05). Το λογισμικό που χρησιμοποιήθηκε για την επεξεργασία των αποτελεσμάτων της μελέτης είναι το SPSS version 17 for Windows software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Αποτελέσματα

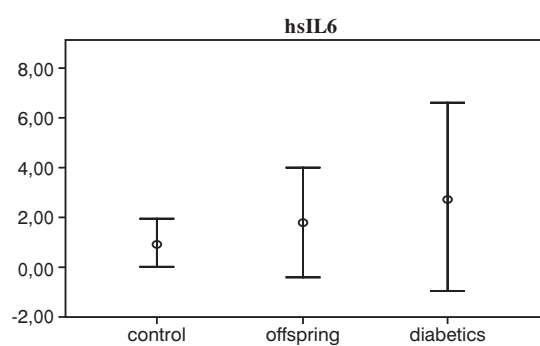
Η απεικόνιση των διαφορών στις συγκεντρώσεις των παραμέτρων ανάμεσα στις τρεις ομάδες ασθενών ακολουθεί στα σχήματα 1-4.

Η στατιστική επεξεργασία και σύγκριση των ειδικών παραμέτρων φλεγμονής ανάμεσα στην ομάδα ελέγχου και τους διαβητικούς οδηγεί στα εξής αποτελέσματα: για τον sTNFα_{RII} p=0,0059, για την hsIL6 p=0,00005, για τον PAI-1 p= 0,000117 και για την hsCRP p=0,00019. Αντίστοιχα ανάμεσα στην ομάδα των διαβητικών και των απογόνων ανευρίσκεται για τον sTNFα_{RII} p= 0,032, για την hsIL6 p=0,0074, για τον PAI-1 p= 0,073 και για την hsCRP p=0,012. Τέλος, η σύγκριση των δυο υγιών ομάδων μεταξύ τους δίνει τα εξής αποτελέσματα: για τον sTNFα_{RII} p=0,225, για την hsIL6 p=0,070, για τον PAI-1 p=0,021 και για την hsCRP p=0,059.

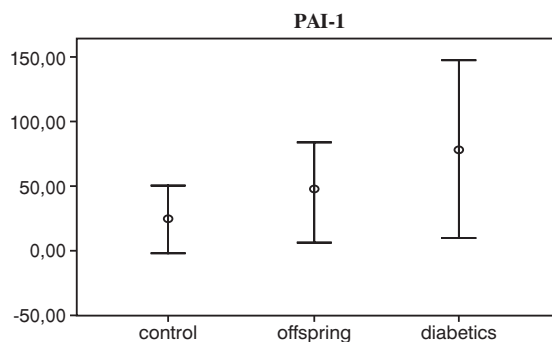
Επιπλέον, έγινε στατιστικός έλεγχος για πιθα-



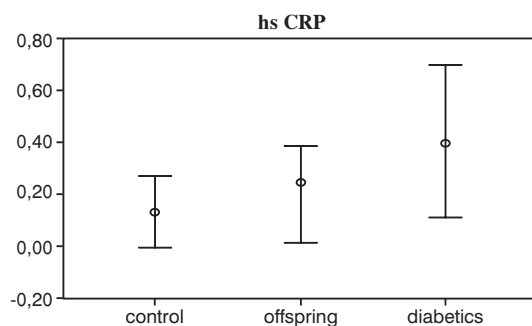
Σχ. 1. Απεικόνιση των μέσων τιμών και SD του sTNFα RII ± ISD στις τρεις ομάδες ασθενών (pg/ml).



Σχ. 2. Απεικόνιση των μέσων τιμών και SD της hsIL6 ± ISD στις τρεις ομάδες ασθενών (pg/ml).



Σχ. 3. Απεικόνιση των μέσων τιμών και SD του PAI-1 ± 1SD στις τρεις ομάδες ασθενών (ng/ml).



Σχ. 4. Απεικόνιση των μέσων τιμών και SD της hsCRP ± 1SD στις τρεις ομάδες ασθενών (mg/dl).

νή συσχέτιση των ειδικών παραγόντων μεταξύ τους στην κάθε ομάδα ασθενών, τα αποτελέσματα του οποίου παρουσιάζονται στους πίνακες 1-3.

Η στατιστική συσχέτιση των ειδικών παραμέτρων μεταξύ τους είναι ανύπαρκτη στην ομάδα ελέγχου, στην ομάδα των απογόνων παρατηρείται θετική συσχέτιση μόνο της hsCRP με την hsIL6 (R=

0,582 p=0,002) και τον PAI-1 (R=0,438 p= 0,028), ενώ στους πάσχοντες παρατηρούνται εντονότερες θετικές συσχετίσεις πολλών ειδικών παραγόντων μεταξύ τους, όπως φαίνεται στον πίνακα 4 (sTNF αRII με PAI-1 R=0,525 p=0,007, sTNFαRII με hsCRP R=0,678 p<0,001, PAI-1 με hsCRP p= 0,554 p=0,004).

Πίνακας 1. Δημογραφικά στοιχεία και μη ειδικές παράμετροι (μέσες τιμές± 1SD)

Παράμετροι	Μονάδα μέτρησης	Φυσιολογικοί	Απόγονοι	Διαβητικοί
Ασθενείς	N	25	25	25
Άνδρες	N	14	15	15
Γυναίκες	N	11	10	10
Ηλικία	Έτη	47±19	45±15	48±18
Διάρκεια νόσου	Έτη	-	-	4±3
Συστολ. πίεση	mmHg	122±19	124±22	126±20
Διαστολ. πίεση	mmHg	78±11	77±9	82±12
BMI	Kg/m ²	24,27±3,74	25,3±3,59	27,28±2,4
Λευκά	N/μl	6.296±1.055	7.269±1.735	7.528±1.760
Αιμοπετάλια	N/μl	243.464±57.092	256.460±52.742	262.396±67.389
Ολ. χοληστερίνη	mg/dl	189±26	197±41	194±50
Τριγλυκερίδια	mg/dl	84±32	95±55	164±88
LDL	mg/dl	110±30	119±39	120±41
HDL	mg/dl	63±14	60±13	48±13
γ-GT	U/L	16±11	21±13	32±20
Γλυκόζη	mg/dl	90,04±6,91	91,88±13,21	143,2±53,58
HbA1c	%	4,99±0,52	5,34±0,41	7,47±1,62
Κρεατινίνη	mg/dl	0,89±0,2	0,89±0,18	0,85±0,24

Πίνακας 2. Μέσες τιμές ειδικών παραμέτρων±1 SD

Παράμετροι	Μονάδα μέτρησης	Φυσιολογικοί (control)	Απόγονοι (offspring)	Διαβητικοί (diabetics)
sTNFα RII	pg/ml	1.535,35±379,33	1.662,44±241,35	2.224,82±939,06
hsIL6	pg/ml	0,97±0,98	1,19±2,2	2,83±3,78
PAI-1	ng/ml	24,89±26,26	45,63,±38,59	79,03±68,42
hsCRP	mg/dl	0,13±0,14	0,2±0,19	0,4±0,29

Πίνακας 3. Συσχετίσεις και επίπεδα σημαντικότητας μεταξύ ειδικών παραγόντων στην ομάδα ελέγχου

	sTNFα RII		hsIL6		PAI-1		hsCRP	
	R	p	R	p	R	p	R	p
sTNFα RII			0,159	0,449	-0,055	0,793	0,116	0,581
hsIL6	0,159	0,449			0,388	0,056	0,088	0,674
PAI-1	-0,055	0,793	0,388	0,056			0,27	0,191
hsCRP	0,116	0,581	0,116	0,581	0,27	0,191		

Πίνακας 4. Συσχετίσεις και επίπεδα σημαντικότητας μεταξύ ειδικών παραγόντων στην ομάδα των απογόνων. (Οι έντονα τονισμένες τιμές είναι αυτές που αγγίζουν το όριο της στατιστικής σημαντικότητας [$<0,05$ ή και $<0,001$] και εμφανίζουν στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των παραμέτρων)

	sTNFα RII		hsIL6		PAI-1		hsCRP	
	R	p	R	p	R	p	R	p
sTNFα RII			0,255	0,219	0,182	0,385	0,271	0,19
hsIL6	0,255	0,219			0,286	0,166	0,582	0,002
PAI-1	0,182	0,385	0,286	0,166			0,438	0,028
hsCRP	0,271	0,19	0,582	0,002	0,438	0,028		

Πίνακας 5. Συσχετίσεις και επίπεδα σημαντικότητας μεταξύ ειδικών παραγόντων στην ομάδα των διαβητικών. (Οι έντονα τονισμένες τιμές είναι αυτές που αγγίζουν το όριο της στατιστικής σημαντικότητας [$<0,05$ ή και $<0,001$] και εμφανίζουν στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των παραμέτρων)

	sTNFα RII		hsIL6		PAI-1		hsCRP	
	R	p	R	p	R	p	R	p
sTNFα RII			0,362	0,075	0,525	0,007	0,678	$<0,001$
hsIL6	0,362	0,075			0,21	0,314	0,241	0,247
PAI-1	0,525	0,007	0,21	0,314			0,554	0,004
hsCRP	0,678	$<0,001$	0,241	0,247	0,554	0,004		

Συζήτηση

Από τη συνολική εκτίμηση των αποτελεσμάτων της μελέτης παρατηρείται μια σταδιακή αύξηση των συγκεντρώσεων του συνόλου των ειδικών παραγόντων φλεγμονής από την ομάδα ελέγχου και τους απογόνους προς τους διαβητικούς ασθενείς. Η στατιστική σύγκριση των συγκεντρώσεων των παραμέτρων ανάμεσα στις τρεις ομάδες αναδεικνύει στατιστικά σημαντικές διαφορές στο σύνολο των ειδικών παραγόντων μεταξύ της ομάδας ελέγχου και των διαβητικών ασθενών, ενώ η σύγκριση των τελευταίων με τους απογόνους οδηγεί επίσης σε στατιστικά σημαντικές διαφορές για το σύνολο των παραμέτρων με εξαίρεση τον PAI-1. Το συγκεκριμένο αποτέλεσμα είναι ως έναν βαθμό αναμενόμενο, ακόμη και για νεοδιαγνωσθέντες μη παχύσαρκους διαβητικούς ασθενείς, αφού η

υπεργλυκαιμία προάγει από τα αρχικά στάδια της παθοφυσιολογικές φλεγμονώδεις διαταραχές^{13,16}. Όμως, η σύγκριση των δυο ομάδων υγιών απόμων μεταξύ τους δεν δείχνει διαφορές παρά μόνο όσον αφορά στον PAI-1.

Το βασικό βέβαια ζητούμενο της μελέτης είναι η ανεύρεση στατιστικά σημαντικών διαφορών ή συσχετίσεων στις συγκεντρώσεις των παραγόντων μεταξύ των απογόνων και των άλλων ομάδων, ώστε να διερευνηθεί ο ρόλος τους στην πρόκληση παθοφυσιολογικών αλλαγών πριν την εμφάνιση της νόσου. Με δεδομένη την απουσία παχυσαρκίας που αυξάνει πολλούς δείκτες φλεγμονής¹⁹, οι διαφορές σε κάθε παράγοντα μπορούν να αποδοθούν σχεδόν αποκλειστικά στην επίδραση του γονδιακού υποβάθρου.

Ο TNFα σχετίζεται με υπερλεπτιναιμία σε

παιδιά²², με παραγωγή ορμονών²³ και πρωτεϊνών οξειάς φάσης²⁴, οι οποίες ανταγωνίζονται τη δράση της ινσουλίνης, και με αύξηση της οξειδωσης των ελεύθερων λιπαρών οξέων. Επιπλέον, η αυξημένη οξειδωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων λόγω ενεργοποίησης του TNFα και αντίστροφα δημιουργούν έναν φαύλο κύκλο που οδηγεί τελικά σε συνθήκες «λιποτοξικότητας»²⁵. Το επακόλουθο οξειδωτικό stress προκαλεί βλάβες κυρίως στα μιτοχόνδρια των κυττάρων, μέσω δυσλειτουργίας της διαμεμβρανικής πρωτεΐνης τους UCP 3, με αποτέλεσμα την έναρξη διαδικασιών απόπτωσης των β-κυττάρων, ενώ ταυτόχρονα προάγει την αντίσταση στην ινσουλίνη στα όργανα στόχους, όπως αποδείχθηκε σε πειράματα με επίμυες (π.χ., λόγω συσσώρευσης λίπους στα ηπατικά και μυϊκά κύτταρα)²⁶. Έτσι, επιδεινώνεται η υπεργλυκαιμία, αφού η ελαττωμένη παραγωγή ινσουλίνης συνοδεύεται με μειωμένη δραστηριότητά της.

Το γεγονός ότι και η IL6 παράγεται σε μεγάλο ποσοστό από τον λιπώδη ιστό²⁷ μπορεί να εξηγήσει την έλλειψη διαφορών ανάμεσα στις δύο υγιείς ομάδες, αφού αμφότερες εμφανίζουν μέσους όρους δείκτη μάζας σώματος (BMI) και κλάσματος περιμέτρου μέσης ισχίων (WHR), αρκετά κάτω από το όριο της παχυσαρκίας. Στους διαβητικούς ασθενείς αντίθετα, η έκθεση σε διαρκώς υψηλές συγκεντρώσεις IL6 οδηγεί σε αρνητικές δράσεις στα περιφερικά όργανα. Ειδικότερα, στον λιπώδη ιστό καταστέλλει την προαγόμενη από την ινσουλίνη λιπογένεση και πρόσληψη γλυκόζης μέσω μείωσης α) της έκφρασης και ενεργοποίησης της β-υπομονάδας του υποδοχέα της ινσουλίνης του πρωτεϊνικού υποστρώματος IRS-1²⁸, β) της συγκέντρωσης των GLUT4 υποδοχέων γλυκόζης²⁹ και γ) των συγκεντρώσεων της αντιπονεκτίνης. Επιπλέον, συμβάλλει στην παραγωγή πρωτεϊνών οξειάς φάσης³⁰ και κατασταλτικών μορίων που εμπλέκονται στην αρνητική ανατροφοδότηση ενδοκυττάρων διεργασιών που ενεργοποιούνται από την ινσουλίνη, όπως φάνηκε από μετρήσεις που διενεργήθηκαν σε Ινδιάνους της φυλής Pima. Με παρόμοιους μηχανισμούς στο ήπαρ παρατηρείται ελαττωμένη αποθήκευση γλυκογόνου λόγω ελαττωμένης γλυκογονογένεσης και αυξημένης γλυκογονόλυσης (πειραματικά δεδομένα σε επίμυες)^{31,32}. Μακροπρόθεσμα, οι παραπάνω διαταραχές του μεταβολισμού οδηγούν σε υπερπαραγωγή προϊόντων τελικής γλυκοζυλίωσης, ελευθέρων ριζών οξυγόνου και μεγάλων συγκεντρώσεων ελευθέρων λιπαρών οξέων που δρουν τοξικά στο β-κύτταρο του πα-

γκρέατος προάγοντας την απόπτωσή του, διαδικασία στην οποία συμμετέχει και η ίδια η IL6³³.

Το βασικότερο ερέθισμα για την παραγωγή της CRP από τα ηπατικά κύτταρα (ελλείπει εξωγενούς ερεθίσματος) αποτελεί η παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων κυτταροκινών, με κύριους εκπροσώπους την IL6 και τον TNFα³⁴. Υψηλά επίπεδα TNFα και IL6 προάγουν την ηπατική παραγωγή CRP, η οποία εν συνεχεία οδηγεί σε ενεργοποίηση μονοκυττάρων και αυξημένη παραγωγή μορίων προσκόλλησης, τα οποία «στρατολογούν» λευκά αιμοσφαίρια στην επιφάνεια του ενδοθηλίου μεγιστοποιώντας τη φλεγμονώδη διαδικασία στα αγγεία και μειώνοντας μακροπρόθεσμα την απόδοση ινσουλίνης στους ιστούς³⁵⁻³⁷. Η συγκεκριμένη διαδικασία προκαλεί ταυτόχρονα οξειδωτικό stress, το οποίο συμβάλλει στη δημιουργία ινσουλινοαντίστασης είτε μέσω της αναμενόμενης υποκλινικής αύξησης σε τέτοιες συνθήκες ανταγωνιστικών στην ινσουλίνη ορμονών (κορτιζόλη, αδρεναλίνη, τοπικών αυξητικών παραγόντων κ.ά.), είτε μέσω απευθείας διαταραχής της ενδοκύττωσης της ινσουλίνης από ενδοθηλιακά κύτταρα στην περιφέρεια, όπως αποδείχθηκε σε in vitro μοντέλα παρατήρησης³⁸ και σε μελέτες σε Μαυριτανούς³⁹. Τελικό αποτέλεσμα είναι η παρατεταμένη υπεργλυκαιμία και η δημιουργία προϊόντων τελικής γλυκοζυλίωσης, τα οποία σε συνδυασμό με οξειδωτικό stress και CRP ενεργοποιούν τον μεταγραφικό πυρηνικό παράγοντα KB (NF-KB)^{40,41}, με επακόλουθα αρνητικά αποτελέσματα στην ομοιοστάση της γλυκόζης. Επιπρόσθετα, αυξημένα επίπεδα CRP συνεισφέρουν αρνητικά στη μείωση της ηπατικής ευαισθησίας στη δράση της ινσουλίνης, δυσχεραίνοντας την αναστολή της νεογλυκογένεσης και την παραγωγή γλυκογόνου⁴².

Στη μελέτη μας, οι συγκεντρώσεις του αναστολέα του PAI-1 παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές ανάμεσα σε όλες τις ομάδες. Οι μέσες τιμές σχεδόν διπλασιάζονται στους απογόνους (45,63 ng/dl) και τριπλασιάζονται στους διαβητικούς (79,03 ng/dl) σε σχέση με τους φυσιολογικούς (24,89 ng/dl), αποτέλεσμα ιδιαίτερα ενδιαφέρον με δεδομένη την έλλειψη παχυσαρκίας σε όλες τις ομάδες. Σε διαβητικούς ασθενείς και πιθανόν σε απογόνους τους, η «υποκλινική φλεγμονή» που προκαλείται από την υπεργλυκαιμία και την ινσουλινοαντίσταση οδηγεί σε πολυπαραγοντική αύξηση των επιπέδων του PAI-1 και αντίστροφα.

Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία που χαρακτηρίζει τον ΣΔ τύπου 2 οδηγεί σε παραγωγή ελεύθε-

ρων ριζών οξυγόνου από ενεργοποιημένα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, και μέσω αύξησης του PAI-1 μειώνεται η ινωδόλυση. Η υπερτριγλυκεριδαίμια (συχνή διαταραχή σε διαβητικούς ασθενείς) φαίνεται ότι επηρεάζει μια συγκεκριμένη προαγωγό περιοχή στο υπεύθυνο γονίδιο για τη σύνθεση του PAI-1, ενώ υπάρχουν μελέτες που εμπλέκουν την ινσουλίνη και πρόδρομα μόριά της στην παραγωγή του αναστολέα⁴³. Αν και οι αιτιολογικοί μηχανισμοί διασύνδεσης του παράγοντα με την πρόκληση διαταραχών στο μεταβολισμό της γλυκόζης σε κλινικά υγιείς ομάδες δεν έχουν πλήρως διερευνηθεί, πιθανόν να εμπλέκεται κάποιο δυσμενές γονιδιακό υπόβαθρο. Άλλωστε, οι συγκεντρώσεις του PAI-1 στον ορό είναι μερικώς γενετικά καθοριζόμενες με διάφορους πολυμορφισμούς γονιδίων να έχουν αποκωδικοποιηθεί⁴⁴. Κοινά γονίδια φαίνεται να συνεισφέρουν ταυτόχρονα στην υπερέκφραση-υπερπαραγωγή του PAI-1 και στον κίνδυνο εμφάνισης ΣΔ τύπου 2. Άλλη ένδειξη ανευρίσκεται σε μελέτες^{45,46} που συσχετίζουν τον PAI-1 με την ωρίμανση του λιπώδους ιστού. Σε πειραματικά μοντέλα φαρμακευτική εξουδετέρωση ή γονιδιακή εξάλειψη του PAI-1 έχει αποδειχθεί ότι προάγει τη διαφοροποίηση των λιποκυττάρων σε ωριμότερες μορφές, με αποτέλεσμα καλύτερο κυτταρικό μεταβολισμό υδατανθράκων και λιπών. Επιπλέον, ο PAI-1 συσχετίζεται αρνητικά με την αντιπονεκτίνη και την γκρελίνη σε μικρές ηλικίες με παχυσαρκία^{47,48}, δηλαδή με δυο μόρια που έχουν ευνοϊκή επίδραση στον μεταβολισμό της γλυκόζης. Παρόμοια δράση στο κεντρικό νευρικό σύστημα φαίνεται ότι επιτυγχάνει ο PAI-1 και μέσω καταστολής του ενεργοποιητή του ιστικού πλασμινογόνου (t-PA). Ελάττωση των επιπέδων ή της δραστηριότητας του t-PA από τοπική ή συστηματική περίσσεια του PAI-1 φαίνεται να επιδρά αρνητικά στη θερμογένεση, στην κατανάλωση ενέργειας και στον μεταβολικό ρυθμό⁴⁹.

Ασχετα πάντως με τους υποκείμενους μηχανισμούς, η μελέτη μας δείχνει ότι η συσχέτιση του PAI-1 με τον ΣΔ τύπου 2 είναι ισχυρή και ανεξάρτητη από την ύπαρξη άλλων παραγόντων κινδύνου.

Συμπερασματικά, από τη μελέτη αυτή δεν επιβεβαιώνεται η ύπαρξη «υποκλινικής φλεγμονής» πριν από την ανίχνευση υπεργλυκαιμίας, παρά μόνο διαταραχές στο σύστημα ινωδόλυσης. Ο PAI-1 θα μπορούσε ίσως να χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση του κινδύνου εμφάνισης ΣΔ τύπου 2 σε άτομα με γενετική προδιάθεση.

Abstract

Stergiou IF, Adamidou A, Byzantiadis TA, Raikos N, Papadopoulos Th, Karamitsos DT. Low grade inflammation and type 2 diabetes: cause or result? *Helena Diabetol Chron* 2010; 3: 244-252.

Introduction: The existence of subclinical inflammation in diabetic patients is a confirmed fact nowadays, but medical research has not fully revealed the mechanisms of interaction between inflammatory processes and glucose homeostasis. It is also still unclear whether subclinical inflammation is an underlying cause of type 2 diabetes or is a secondary result of hyperglycemia. **Purpose:** To investigate the existence of subclinical inflammation before the detection of impaired glucose tolerance in persons with known predisposition for type 2 diabetes, and the possible use of certain inflammation factors as indexes for danger evaluation of future development of type 2 diabetes. **Participants – methods:** 75 non obese persons were included in the study divided in three groups of 25. (Group A: healthy persons, Group B: 1st degree relatives of diabetic patients, Group C: newly diagnosed non insulin dependent type 2 diabetic patients). Measurements of hsIL6, hsCRP, sTNFR2, PAI-1 were conducted. **Results:** Statistical significant differences were found between diabetic patients and the two healthy groups. On the contrary, PAI-1 was the only parameter with statistical significance between the healthy groups. **Conclusion:** The existence of subclinical inflammation before the detection of impaired glucose tolerance is not confirmed by our study. Only alterations in fibrinolytic system were found. PAI-1 could be used for the danger evaluation of future development of type 2 diabetes in persons with known predisposition.

Βιβλιογραφία

1. Pickup JC, Mattock MB, Chusney GD, Burt D. NIDDM as a disease of the innate immune system: association of acute phase reactants and interleukin-6 with metabolic syndrome X. *Diabetologia* 1997; 40: 1286-92.
2. Pickup JC, Crook MA. Is type II diabetes mellitus a disease of the innate immune system? *Diabetologia* 1998; 41: 1241-48.
3. Nakanishi N, Yoshida H, Matsuo Y, Suzuki K, Tatara K. White blood-cell count and the risk of impaired fasting glucose or type II diabetes in middle-aged Japanese men. *Diabetologia* 2002; 45: 42-8.
4. Barzilay JI, Abraham L, Heckbert SR, Cushman M, Kuller LH, Resnick HE, Tracey RP. The relation of markers of inflammation to the development of glucose disorders in the elderly: the Cardiovascular Health Study. *Diabetes* 2001; 50: 2384-9.
5. Snijder MB, Dekker JM, Visser M, Stehouwer CDA, van Hinsberg VWM, Bouter LM, Heine RJ. C-reactive protein and diabetes mellitus type 2. *Diabetologia* 2001;

- 44 (Suppl. 1): 115A.
6. Mavridis G, Souliou E, Diza E, Symeonidis G, Pastore F, Vassiliou AM, Karamitsos D. Inflammatory cytokines in insulin-treated patients with type 2 diabetes. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2008; 18: 471-6.
 7. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, et al. C-Reactive protein, interleukin 6, and risk of developing Type 2 Diabetes Mellitus. *JAMA* 2001; 286: 327-34.
 8. Hirano T, Matsuda T, Turner T, Miyasaka N, Buchan G, Tang B, Sato K, Shimizu M, Maini R, Feldman M, Kishimoto T. Excessive production of interleukin-6/B cell stimulatory factor-2 in rheumatoid arthritis. *Eur J Immunol* 1988; 18: 1797.
 9. Yoshizaki K, Matsuda T, Nishimoto T, Kuritani T, Tacho I, Aozasa T, Nakahata T, Kawai H, Togo H, Komori T, Kishimoto S, Hirano T, Kishimoto T. Pathological significance of interleukin-6 (IL6/BSF-2) in Castleman's disease. *Blood* 1989; 74: 1360.
 10. Horii Y, Muraguchi A, Iwano T, Matsuda T, Harayama T, Yamada H, Fujii Y, Dohi K, Isikawa H, Ohmoto Y, et al. Involvement of interleukin 6 in in mesangial proliferative glomerulonephritis. *J Immunol* 1989; 143: 3949-55.
 11. Festa A, D'Agostino R Jr, Howard G, Mykkanen L, Tracy RP, Haffner SM. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Circulation* 2000; 102: 42-7.
 12. Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115-26.
 13. Duncan BB, et al. Low-grade systemic inflammation and the development of type 2 diabetes: the Atherosclerosis Risk in Communities study. *Diabetes* 2003; 52: 1799-805.
 14. Wang H, Zhang Z, Chu W, Cooper JJ, Elbein SC. Molecular screening and association analyses of the interleukin 6 receptor gene variants with type 2 diabetes, diabetic nephropathy, and insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 1123-9.
 15. Kristiansen OP, Nolsøe RL, Larsen L, Gjesing AMP, Johannesen J, Larsen ZM, Lykkesfeldt AE, Karlsen AE, Pociot F, Mandrup-Poulsen T, DIEGG, DSGD. Association of a functional 17beta-estradiol sensitive IL6-174G/C promoter polymorphism with early onset type 1 diabetes in females. *Hum Mol Genet* 2003; 12: 1101-10.
 16. Spranger J, et al. Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population-based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. *Diabetes* 2003; 52: 812-7.
 17. Hingorani AD, Cross J, Kharbanda RK, et al. Acute systemic inflammation impairs endothelium dependent dilatation in humans. *Circulation* 2000; 102: 994-9.
 18. Bhagat K, Vallance P. Inflammatory cytokines impair endothelium-dependent dilatation in human veins in vivo. *Circulation* 1997; 96: 3042-7.
 19. Yudkin JS, Stehouwer CD, Emeis JJ, Coppack SW. C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 972-8.
 20. Fichtlscherer S, Rosenberger G, Walter DH, Breuer S, Dimmeler S, Zeiher AM. Elevated C-reactive protein levels and impaired endothelial vasoreactivity in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2000; 102: 1000-6.
 21. Pinkney JH, Stehouwer CD, Coppack SW, Yudkin JS. Endothelial dysfunction: cause of the insulin resistance syndrome. *Diabetes* 1997; 46 (suppl 2): S9-S13.
 22. Ten S, Mac Laren N. Insulin resistance syndrome in children. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 2526-39.
 23. Kohler C, Temelkova-Kurtchiev T, Schaper F, Fucker K, Hanefeld M. Prevalence of newly diagnosed type 2 diabetes, impaired glucose tolerance and abnormal fasting glucose in a high risk population. Data from the RIAD study using new diagnostic criteria for diabetes. *Dtsch Med Wochenschr* 1999; 124: 1057-61.
 24. Pradhan AD, Ridker PM. Do atherosclerosis and type 2 diabetes share a common inflammatory basis? *Eur Heart J* 2002; 23: 831-4.
 25. Glenn CL, Wang WY, Benjafield AV, Morris BJ. Linkage and association of tumor necrosis factor receptor 2 locus with hypertension, hypercholesterolemia and plasma shed receptor. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 1943-9.
 26. Dahn MS, Hsu CJ, Lange MP, Jefferson LS. Effects of tumor necrosis factor-alpha on glucose and albumin production in primary cultures of rat hepatocytes. *Metabolism* 1994; 43: 476-80.
 27. Akira S, Tga T, Kishimoto T. Interleukin-6 in biology and medicine. *Adv Immunol* 1993; 54: 1-78.
 28. Rotter V, Nagaev I, Smith U. Interleukin-6 (IL6) induces insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes and is, like IL-8 and tumor necrosis factor-alpha, overexpressed in human fat cells from insulin-resistant subjects. *J Biol Chem* 2003; 278: 45777-84.
 29. Lagathu C, Bastard JP, Auclair M, Maachi M, Capeau J, Caron M. Chronic interleukin-6 (IL6) treatment increased IL6 secretion and induced insulin resistance in adipocyte: prevention by rosiglitazone. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 311: 372-9.
 30. Krakoff J, Funahashi T, Stehouwer CD, Schalkwijk CG, Tanaka S, Matsuzawa Y, Kobes S, Tataranni PA, Hanson RL, Knowler WC, Lindsay RS. Inflammatory markers, adiponectin, and risk of type 2 diabetes in the Pima Indian. *Diabetes Care* 2003; 26: 1745-51.
 31. Klover PJ, Zimmers TA, Koniaris LG, Mooney RA. Chronic exposure to interleukin-6 causes hepatic insulin resistance in mice. *Diabetes* 2003; 52: 2784-9.
 32. Kanemaki T, Kitade H, Kaibori M, Sakitani K, Hirama-tsu Y, Kamiyama Y, Ito S, Okumura T. Interleukin 1beta and interleukin 6, but not tumor necrosis factor alpha, inhibit insulin-stimulated glycogen synthesis in rat hepatocytes. *Hepatology* 1998; 27: 1296-303.
 33. Illig T, Bongardt F, Schopfer A, Muller-Scholze S, Rathmann W, Koenig W, Thorand B, Vollmert C, Holle R, Kolb H, Herder C. Significant association of the interleukin-6 gene polymorphisms C-174G and A-598G with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 5053-8.
 34. Mackiewicz A, Speroff T, Ganapathi MK, Kushner I. Ef-

- fects of cytokine combination on acute phase protein production in two human hepatoma cell lines. *J Immunol* 1991; 146: 3032-7.
35. *Torzewski M, Rist C, Mortensen RF, et al.* C-reactive protein in the arterial intima: role of C-reactive protein receptor-dependent monocyte recruitment in atherogenesis. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 2094-9.
36. *Pasceri V, Willerson JT, Yeh ETH.* Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation* 2000; 102: 2165-8.
37. *Bastard JP, Jardel C, Delattre J, et al.* Evidence for a link between adipose tissue interleukin-6 content and serum C-reactive protein concentrations in obese subjects. *Circulation* 1999; 99: 2221-2.
38. *Bertelsen M, Anggard EE, Carrier MJ.* Oxidative stress impairs insulin internalization in endothelial cells in vitro. *Diabetologia* 2001; 44: 605-13.
39. *Gopaul NK, Manraj MD, Hébé A, Lee Kwai Yan S, Johnston A, Carrier MJ, Anggard EE.* Oxidative stress could precede endothelial dysfunction and insulin resistance in Indian Mauritians with impaired glucose metabolism. *Diabetologia* 2001; 44: 706-12.
40. *Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB.* Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest* 2006; 116: 1793-801.
41. *Esposito K, Nappo F, Marfella R, Giugliano G, Giugliano F, Ciotola M, Quagliari L, Ceriello A, Giugliano D.* Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: role of oxidative stress. *Circulation* 2002; 106: 2067-72.
42. *Fernandez-Real JM, Ricart W.* Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome. *Endocr Rev* 2003; 24: 278-301.
43. *Nordt TK, Sawa H, Fujii S, Sobel BE.* Induction of plasminogen activator inhibitor type 1(PAI-1) by proinsulin and insulin in vivo. *Circulation* 1995; 71: 764-70.
44. *Cesari M, Sartori MT, Patrassi GM, Vettore S, Rossi GP.* Determinants of plasma levels of plasminogen activator inhibitor-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 316-20.
45. *Alessi MC, Peiretti F, Morange P, Henry M, Nalbone G, Juhan Vague I.* Production of plasminogen activator inhibitor 1 by human adipose tissue: possible link between visceral fat accumulation and vascular disease. *Diabetes* 1997; 46: 860-7.
46. *Asplund-Carlson A, Hamsten A, Wiman B, Carlson LA.* Relationship between plasminogen activator inhibitor 1 and activity and VLDL triglyceride concentration, insulin levels, and insulin sensitivity: studies in randomly selected normal and hypertriglyceridaemic men. *Diabetologia* 1993; 36: 817-25.
47. *Ikezaki A, Hosoda H, Ito K, Iwama S, Miura N, Matsuoka H, Kondo C, Kojima M, Kangawa K, Sugihara S.* Fasting plasma ghrelin levels are negatively correlated with insulin resistance and PAI-1 but not with leptin, in obese children and adolescents. *Diabetes* 2002; 51: 3408-11.
48. *Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, Matsukura S.* A role of ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 2001; 409: 194-8.
49. *Alessi MC, Juhan Vague I.* PAI-1 and the Metabolic Syndrome: Links, Causes, and Consequences. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 2200-7.

Λέξεις-κλειδιά:

Κυτταροκίνες
Υποκλινική φλεγμονή
Αντίσταση στην ινσουλίνη
Γενετική προδιάθεση

Key-words:

Cytokines
Subclinical inflammation
Insulin resistance
Genetic predisposition