

II. ΠΡΩΤΟΤΥΠΑ ΑΡΘΡΑ

1. Διαταραχές των Λιπιδίων, Λιποπρωτεϊνών και Πρωτεϊνών του Ορού κατά την Διάρκεια Οξείας Φλεγμονής στα Παιδιά. Συσχέτιση με την C- Αντιδρώσα Πρωτεΐνη (CRP).

Κ. Τζιούβας¹, Α. Πινακούλα¹, Αικ. Γαροπούλου², Γ. Τριανταφυλλίδης¹, Ε. Ξένου¹, Γ. Παπαδόπουλος¹, Ζ. Γκερλέ¹.

[1] Παιδιατρική Κλινική «Τζάνειο» ΓΝΠ

[2] Παιδιατρική Κλινική, «Βουβάλειο» Γ.Ν. Καλύμνου

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός: Να δειχθούν τυχόν αλλαγές στην συγκέντρωση των apoAI, apoE, apoB, HDL-C, TG, χοληστερόλης και αλβουμίνης κατά την διάρκεια της φλεγμονής και αν υπάρχει συσχέτιση τους με τις τιμές της CRP.

Υλικό και μέθοδοι: Αναλύσαμε τις συγκεντρώσεις apoAI, apoE, apoB, HDL-C, TG, χοληστερόλης, αλβουμίνης και CRP, κατά την οξεία φάση και ανάρρωση, είκοσι παιδιών που νοσηλεύτηκαν στην Παιδιατρική Κλινική μέσα σε διάστημα έξι μηνών με φλεγμονώδες εμπύρετο νόσημα.

Αποτελέσματα: Στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της οξείας φάσης και της φάσης ανάρρωσης βρέθηκε για την HDL-C ($t = -11.938$, $df = 19$, $p\text{-value} = < 0.001$), για την χοληστερόλη ($t = 4.351$, $df = 19$, $p\text{-value} = < 0.001$) τα TG ($t = 2.647$, $df = 19$, $p\text{-value} = 0.016$), την apoAI ($t = -18.71$, $df = 19$, $p\text{-value} = < 0.001$) και για την apoE ($t = 2.53$, $df = 19$, $p\text{-value} = 0.020$). Δεν παρατηρήθηκε αξιόλογη στατιστικά διαφορά για την αλβουμίνη ($t = 0.684$, $df = 19$, $p\text{-value} = 0.502$) και την apoB ($t = 0.732$, $df = 19$, $p\text{-value} = 0.473$). Η μελέτη συσχέτισης ανάμεσα στην CRP και τις άλλες παραμέτρους κατέδειξε συσχέτιση με την HDL-C ($r = -0.494$, $p\text{-value} = 0.027$), την apoAI ($r = -0.622$, $p\text{-value} = 0.003$) και τα TG ($r = 0.770$, $p\text{-value} = < 0.001$).

Συμπεράσματα: Σημαντική διαφοροποίηση στις τιμές παρατηρήθηκε μεταξύ της οξείας φάσης και της ανάρρωσης για την apoAI, apoE, HDL-C, TG και χοληστερόλη. Επίσης, η HDL-C, τα TG και η apoAI βρέθηκε να συσχετίζονται με την CRP, ιδιότητα που τα καθιστά υποψηφίους δείκτες οξείας φάσης.

Λέξεις ευρητηριασμού: CRP, Αποπρωτεΐνες, HDL-C, λιπίδια, φλεγμονή, δείκτες οξείας φάσης.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στην φλεγμονή έχουν παρατηρηθεί αλλαγές στην ποιοτική και ποσοτική σύσταση των λιπιδίων, λιποπρωτεϊνών και πρωτεϊνών στον ορό των ασθενών [1]. Η λοίμωξη, η σήψη, τα αυτοάνοσα νοσήματα, τα μεταλοιμώδη ανοσολογικά νοσήματα, το μεταβολικό σύνδρομο, η έντονη άσκηση και το τραύμα επηρεάζουν τόσο την σύνθεση αυτών των μορίων όσο και την λειτουργία τους [2-4]. Οι λιποπρωτεΐνες είναι σύνθετα μόρια με σκοπό την μεταφορά λιπόφιλων μορίων (λιπόφιλες βιταμίνες, τριγλυκερίδια, χοληστερόλη και φωσφολιπίδια) μεταξύ των ιστών του σώματος. Η CRP αποτελεί

ένα μόριο με μελετημένη συμπεριφορά κατά την φλεγμονώδη διαδικασία. Έχει χρησιμοποιηθεί τόσο ως δείκτης βαρύτητας όσο και ως δείκτης ανταπόκρισης στους θεραπευτικούς χειρισμούς [5]. Η CRP συντίθεται στο ήπαρ μετά από διέγερση από φλεγμονώδεις κυτοκίνες (κυρίως IL-6) και έχει ως κύριο ρόλο την δέσμευση πολυσακχαριτών της επιφάνειας των παθογόνων και ενεργοποίησης της κλασσικής οδού του συμπληρώματος [5]. Σκοπός αυτής της κλινικής μελέτης ήταν να μελετηθούν οι συγκεντρώσεις των TG, HDL-C, αλβουμίνης, apoAI, apoE, apoB και χοληστερόλης σε παιδιά που νόσησαν με εμπύρετο φλεγμονώδες νόσημα και να διερευνηθεί πώς σχετίζονται με τα επίπεδα της CRP.

Υλικό και μέθοδοι

Ασθενείς

Η μελέτη περιέλαβε 20 ασθενείς (12 κορίτσια και 8 αγόρια) με μέση ηλικία 5,5 έτη που νοσηλευθήκαν στο τμήμα μας με οξύ εμπύρετο νόσημα. Η συλλογή των ασθενών για την μελέτη έγινε σε διάστημα ενός έτους. Δώδεκα είχαν πνευμονία, επτά είχαν λοίμωξη του ουροποιητικού συστήματος και ένας νόσο Kawasaki. Η διάγνωση της πνευμονίας στηρίχτηκε σε κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα όπως αυξημένα WBC, CRP, πύκνωση στην Α/α θώρακος, και θετική Κ/α αίματος όπου ήταν εφικτό. Οι λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος διαγνώστηκαν με θετικές Κ/α ούρων. Η διάγνωση του ασθενούς με νόσο Kawasaki στηρίχτηκε στα διεθνή κλινικά κριτήρια [6]. Η θεραπευτική προσέγγιση στηρίχτηκε στην αντιμικροβιακή αγωγή για τα λοιμώδη νοσήματα και στην χορήγηση ενδοφλέβιας ανοσοσφαιρίνης και ασπιρίνης στον ασθενή με νόσο Kawasaki. Όλοι οι ασθενείς είχαν ομαλή πορεία νόσου και κανένας δεν χρειάστηκε νοσηλεία σε μονάδα εντατικής θεραπείας. Σε όλους τους ασθενείς, από το ατομικό ιστορικό, αποκλείστηκε το ενδεχόμενο χρόνιου νοσήματος.

Εργαστηριακός έλεγχος

Η συλλογή των δειγμάτων αίματος έγινε κατά το 1ο 24ωρο της νοσηλείας τους και η επανάληψη του εργαστηριακού έλεγχου πραγματοποιήθηκε ένα μήνα από το εξιτήριο τους από το νοσοκομείο. Η συλλογή αίματος για τον επαναληπτικό έλεγχο έγινε πρωί μετά από ολονύχτια νηστεία. Για την μέτρηση των HDL-C, TG, χοληστερόλης και αλβουμίνης χρησιμοποιήθηκε ενζυματική μέθοδος με εμπορικά αντιδραστήρια της Abbott Laboratories Illinois, USA σε έναν αυτόματο αναλυτή Abbott architect CI 8200 της ίδιας εταιρίας. Η μέτρηση των apoAI, apoE, apoB και CRP έγινε με νεφελομετρία σε ένα Dade Behring BNII αυτόματο αναλυτή χρησιμοποιώντας τα αντίστοιχα εμπορικά αντιδραστήρια της Dade Behring Marburg GmbH, Marburg, Germany.

Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση έγινε με το SPSS 15.0 Chicago, USA. Για να αποφασίσουμε αν θα χρησιμοποιήσουμε παραμετρικούς ή μη ελέγχους κάναμε τον μη παραμετρικό έλεγχο κανονικότητας Kolmogorov-Smirnov στα υπό μελέτη δεδομένα. Εφόσον μπορούμε να δεχτούμε ότι τα δεδομένα

μας ακολουθούν κανονική κατανομή κάναμε παραμετρικούς ελέγχους με συζευγμένο t-test. Επίσης, έγινε στατιστική ανάλυση συσχέτισης, ανάμεσα στους βιολογικούς δείκτες και τις τιμές της CRP κατά την οξεία φάση. Στην μελέτη μας p-value < 0.05 θεωρήθηκε στατιστικά σημαντικό.

Αποτελέσματα

HDL-C, TG, χοληστερόλη, αλβουμίνη, αποπρωτεΐνες

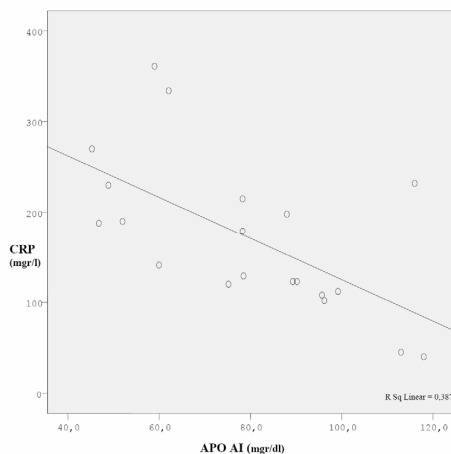
Οι μέσες τιμές των δεδομένων μας κατά την φλεγμονή ήταν: HDL-C: 24.4 mg/dl ± 13.07, TG: 159.6 mg/dl ± 73.11, χοληστερόλη: 169.25 mg/dl ± 44.79, αλβουμίνη: 4.38 gr/dl ± 0.36 ενώ κατά την φάση ανάρρωσης οι αντίστοιχες τιμές ήταν: HDL-C: 53.5 mg/dl ± 9.84, TG: 122.40 mg/dl ± 27.82, χοληστερόλη: 130,50 mg/dl ± 22,72, αλβουμίνη: 4.31 gr/dl ± 0.43. Στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της οξείας φάσης και της φάσης ανάρρωσης βρέθηκε για την HDL-C (t= -11.938, df= 19, p-value= < 0.001), για την χοληστερόλη (t= 4.351, df= 19, p-value= < 0.001) και τα TG (t=2.647, df= 19, p-value= 0.016) ενώ για την αλβουμίνη (t=0.684, df=19, p-value= 0.502) δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι μέσες τιμές των αποπρωτεϊνών κατά την φλεγμονή ήταν: apoA1: 79.50 mg/dl ± 23.17, apoE: 6.11 mg/dl ± 1.24, apoB: 87.66 mg/dl ± 19.73, ενώ κατά την φάση ανάρρωσης: apoA1: 138.21 mg/dl ± 12.53, apoE: 5.31 mg/dl ± 1.39. Στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ της οξείας φάσης και της φάσης ανάρρωσης βρέθηκε για την apoA1 (t= -18.71, df= 19, p-value= < 0.001) και για την apoE (t= 2.53, df= 19, p-value= 0.020).

Πινάκας 1. Τιμές παραμέτρων κατά την οξεία και φάση ανάρρωσης

	Οξεία φάση	Ανάρρωση	p-value
Χοληστερόλη (mg/dl)	169.25 ± 44.79	130,50 ± 22.72	< 0.001
HDL-C (mg/dl)	24.4 ± 13.07	53.5 ± 9.84	< 0.001
Αλβουμίνη (gr/dl)	4.38 ± 0.36	4.31 ± 0.43	0.502
TG (mg/dl)	159.6 ± 73.11	122.40 ± 27.82	0.016
apoA1 (mg/dl)	79.50 ± 23.17	138.21 ± 12.53	< 0.001
apoB (mg/dl)	87.66 ± 19.73	84.9 ± 24.70	0.473
apoE (mg/dl)	6.11 ± 1.24	5.31 ± 1.39	0.020

Οι παράμετροι εκφράζονται σαν ο μέσος ± SD
p-value < 0.05 θεωρείται στατιστικά σημαντικό

Σχήμα 1. Διάγραμμα συσχέτισης ApoAI και CRP κατά την οξεία φάση



Συσχέτιση της CRP με τις άλλες παραμέτρους

Στην οξεία φάση η ανάλυση συσχέτισης ανάμεσα στην CRP και τις άλλες παραμέτρους στην στον υπό μελέτη πληθυσμό κατέδειξε σημαντική αρνητική συσχέτιση τόσο με την HDL-C ($r = -0.494$, $p\text{-value} = 0.027$) όσο και με την apoAI ($r = -0.622$, $p\text{-value} = 0.003$) (σχήμα 1). Επίσης, σημαντική θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε με τα TG ($r = 0.770$, $p\text{-value} < 0.001$). Αντίθετα, κατά την οξεία φάση δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση της CRP με τα apoE ($r = 0.227$, $p\text{-value} = 0.336$), αλβουμίνη ($r = -0,368$, $p\text{-value} = 0.111$) και χοληστερόλη ($r = 0.003$, $p\text{-value} = 0.990$).

Συζήτηση

Στην μελέτη μας δεν παρατηρηθήκαν διάφορες στις τιμές τις αλβουμίνης μεταξύ της οξείας και της φάσης ανάρρωσης. Τα επίπεδα χοληστερόλης όρου ήταν αυξημένα στην οξεία φάση σε σχέση με την φάση ανάρρωσης αν και ο μέσος των δυο μετρήσεων κυμάνθηκε κάτω από τα ανώτερα φυσιολογικά όρια. Η μέση τιμή των TG παρουσίασε αυξημένες συγκεντρώσεις τόσο σε σύγκριση με την φάση ανάρρωσης όσο και με απόλυτες τιμές, δεδομένα που έχουν παρουσιαστεί ξανά [3,4]. Η αύξηση των TG οφείλεται στην παρουσία φλεγμονωδών κυτοκινών (TNF, IL-1, IL-6, IL-2) και αυξητικών παραγόντων (PAF, NGF, KGF, PTHrP) που επάγουν την περιφερική λιπόλυση και την ηπατική σύνθεση των TG [7]. Η πυροδότηση του μηχανισμού αυτού, εν μέρει, οφείλεται στην φλεγμονώδη απάντηση έναντι αντιγόνων όπως LPS και LTA (7). Ενδιαφέρον είχε η θετική συσχέτιση που παρατηρήθηκε μεταξύ της αύξησης των TG και της αύξησης της CRP, δίνοντας τους έναν ρόλο μορίων οξείας φάσης.

Ο βασικός ρόλος της HDL-C σε κατάσταση ομοιόστασης είναι η μεταφορά της χοληστερόλης από τους περιφερικούς ιστούς και τα μακροφάγα στο ήπαρ. Διαφορετικές πρωτεΐνες αποτελούν δομικά συστατικά της, αν και η apoAI είναι η βασική δομική και λειτουργική αποπρωτεΐνη [1]. Κατά την διάρκεια φλεγμονής η δομή, το σχήμα και η λειτουργία της HDL-C αλλάζει χάνοντας πολλά από τα πλεονεκτήματα της [8]. Υπάρχει μείωση της συγκέντρωσης της apoAI και αλλαγή στην σύσταση των λιποειδών [1]. Η απομάκρυνση της apoAI φαίνεται ότι οφείλεται στην παρουσία του αμυλοειδούς που εκτοπίζει την αποπρωτεΐνη από το μόριο [9]. Επίσης, η HDL-C έχει την ικανότητα να μειώνει το αντιγονικό φορτίο απομακρύνοντας τις βακτηριακές τοξίνες, έχοντας την ικανότητα δέσμευσης LPS, LTA και μεταφοράς τους στο ήπαρ για αποδόμηση [10]. Θα μπορούσε όμως η HDL-C να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης φλεγμονής με χαρακτηριστικά παρόμοια ή καλύτερα από την CRP; Σε μια πρόσφατη μελέτη σε σηπτικούς ενήλικες ασθενείς που εισήχθηκαν στην ΜΕΘ παρατηρήθηκε ότι η διαγνωστική ακρίβεια της CRP δεν ήταν ανώτερη από την HDL-C [11]. Επίσης, σε παιδιατρικούς ασθενείς με σηψαιμία από μηνιγγιδοκόκκο παρατηρήθηκε ότι τα επίπεδα της HDL-C ήταν προγνωστικός δείκτης βαρύτητας της νόσου [12]. Στην μελέτη μας η συγκέντρωση της HDL-C κατά την οξεία φάση παρουσίασε σημαντική πτώση. Η πτώση αυτή ήταν σημαντική τόσο συγκρινόμενη με την φάση ανάρρωσης όσο και με απόλυτα μεγέθη. Παράλληλα, παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση της HDL-C με την CRP επιτρέποντας να θεωρήσουμε την HDL-C ως αρνητικό δείκτη φλεγμονής.

Η apoE είναι μια αποπρωτεΐνη με γνωστό ρόλο στον μεταβολισμό των λιποειδών. Όμως σε κατάσταση φλεγμονής έχει διαπιστωμένες ανοσολογικές ιδιότητες. Έχει βρεθεί ότι μπορεί να δεσμεύσει το LPS και το LTA, να ρυθμίσει την ενεργοποίηση των T-κυττάρων και να απομακρύνει τα αποπτωτικά σώματα [13]. Σταθερό εύρημα αποτελεί η αύξηση της συγκέντρωσης της στον όρο ασθενών με σήψη [13]. Στην μελέτη μας παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης της στην οξεία φάση σε σχέση με την φάση ανάρρωσης. Ο μηχανισμός που εξηγεί αυτήν την αύξηση δεν είναι γνωστός. Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση της apoE με την CRP οπότε υποθέτουμε ότι τα δυο μόρια δεν συνδέονται με άμεσο βιοχημικό μηχανισμό. Η apoAI αποτελεί το βασικό πρωτεϊνικό μόριο της HDL-C.

Παράλληλα, διαθέτει ανοσολογικές ιδιότητες που μοιάζουν με αυτές της HDL-C [14]. Όλες αυτές οι ιδιότητες δίνουν στην apoAI έναν αντιφλεγμονώδη χαρακτήρα. Παρά την ισχυρή αντιφλεγμονώδη δράση της είναι σημαντικό να τονιστεί ότι η συγκέντρωσή της στον ορό ελαττώνεται κατά την διάρκεια της φλεγμονώδους απάντησης [7]. Μάλιστα, η πτώση της είναι καθολική και ανεξάρτητη από το αν η φλεγμονώδης διαδικασία είναι χρονιά ή οξεία [10,11]. Στην μελέτη μας παρατηρήθηκε σημαντική πτώση της συγκέντρωσης της apoAI κατά την οξεία φάση με

ομαλοποίηση των τιμών κατά την ανάρρωση. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον είχε η συσχέτιση της πτώσης της με τα επίπεδα της CRP. Παρατήρηση που μας κάνει να υποθέσουμε κοινό παθοφυσιολογικό έλεγχο των δυο παραμέτρων.

Εν κατακλείδι, σε αυτήν την μελέτη αναφέρουμε την μεταβολή της συγκέντρωσης των λιπιδίων και αποπρωτεϊνών σε παιδιά με οξύ εμπύρετο νόσημα. Έχει ενδιαφέρον να τονιστεί ότι από την μελέτη μας διαπιστώνεται η πιθανή λειτουργία της HDL-C και της apoAI ως μόρια οξείας φάσης.

SUMMARY

Changes of lipids, lipoproteins, apoproteins and albumin in serum during acute inflammation in children. A possible correlation with C-reactive protein.

Aim: To evaluate possible alterations in the concentrations of apoAI, apoE, HDL-C, TG, cholesterol and albumin during inflammation and to investigate a possible correlation between them and CRP.

Material and methods: We analyzed the concentration of apoAI, apoE, HDL-C, TG, cholesterol and albumin in 51 children during their hospitalization in the Pediatric ward. All the children were hospitalized for acute febrile inflammatory illness.

Results: Statistically significant difference was observed between the acute and convalescent phase for HDL-C ($t = -11.938$, $df = 19$, $p\text{-value} < 0.001$), cholesterol ($t = 4.351$, $df = 19$, $p\text{-value} < 0.001$), TG ($t = 2.647$, $df = 19$, $p\text{-value} = 0.016$), apoAI ($t = -18.71$, $df = 19$, $p\text{-value} < 0.001$) and for apoE ($t = 2.53$, $df = 19$, $p\text{-value} = 0.020$). There was no statistically significant difference for albumin ($t = 0.684$, $df = 19$, $p\text{-value} = 0.502$) and apoB ($t = 0.732$, $df = 19$, $p\text{-value} = 0.473$). A significant correlation was detected between CRP and HDL-C ($r = -0.494$, $p\text{-value} = 0.027$), apoAI ($r = -0.622$, $p\text{-value} = 0.003$) and TG ($r = 0.770$, $p\text{-value} < 0.001$).

Conclusions: Significant differences in the mean concentrations of apoAI, apoE, HDL-C, TG and cholesterol were detected between the acute and convalescent phase. A highly significant correlation was observed between CRP and TG, HDL-C, apoAI. The latter observation raises the possibility that the later molecules act as acute phase reactants..

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Yvon A. Carpentier, Olivier Scruel . Changes in the concentration and composition of plasma lipoproteins during the acute phase response. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2002; 5:153-158
2. Kari sammalkorpi, Ville Vatonen, Yrjo Kerttula, et al. Changes in serum lipoproteins pattern induced by acute infections. *Metabolism* 1988; 37(9) 859-865
3. Cabana VG, Siegel JN, Sabesin SM. Effects of the acute phase response on the concentration and density distribution of plasma lipids and apoproteins. *J Lipid Res* 1989; 30:39-49
4. Alvarez C, Ramos A. Lipids, lipoproteins and apoproteins in serum during infections. *Clin Chem* 1986; 32:142-145
5. Lilliana Simon, France Gauvin, Devendra K. Amre, et al. Serum procalcitonin and C-reactive protein as markers of bacterial infection: A systemic review and meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases* 2004; 39:206-217
6. Dajani AS, Taubert KA, Gerber MA, et al. Diagnosis and therapy of Kawasaki disease in children. *Circulation* 1993; 87:1776-80
7. Weerapan Khovidhunkit, Min-Sun Kim, Riaz A. Memon, et al. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host. *J. Lipid Res.* 2004; 45:1169-1196
8. Weerapan Khovidhunkit, Riaz A Memon, Kenneth R Feingold, et al. Infection and inflammation-induced proatherogenic changes of lipoproteins. *J Infectious Diseases* 2000; 181(S3):S462-472
9. Hoffman, J. S., and E. P. Benditt. Plasma clearance kinetics of the amyloid-related high density lipoprotein apoprotein, serum amyloid protein (apoSAA), in the mouse. Evidence for rapid apoSAA clearance. *J. Clin. Invest.* 1983; 71: 926-934
10. Nonogaki K, Moser AH, Pan XM, et al. Lipoteichoic acid stimulates lipolysis and hepatic triglyceride secretion in rats in vivo. *J Lipid Res* 1995; 36:1987-199
11. S. Lüthold, K. Berneis, P. Bady, et al. Effects of infectious disease on plasma lipids and their diagnostic significance in critical illness. *Eur J Clin Invest* 2007; 37 (7): 573-579
12. Clementien L. Vermont, Marieke den Brinker, Nimet Kâkeci, et al. Serum lipids and disease severity in children with severe meningococcal sepsis. *Crit Care Med* 2005; 33:1610-1615
13. Li Li, Patricia A. Thompson, Richard L. Kitchens. Infection induces a positive acute phase apolipoprotein E response from a negative acute phase gene: role of hepatic LDL receptors. *J Lipid Res* 2008; 49:1782-1793
14. Yue Li, Ji-Bin Dong, Man-Ping Wu. Human ApoA-I overexpression diminishes LPS-induced systemic inflammation and multiple organ damage in mice. *European Journal of Pharmacology.* 2008; 590:417-422.