

## 4. Οι ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 εμφανίζουν υψηλότερα επίπεδα αναφοράς του διαλυτού ST2, ειδικά όταν εμφανίζουν διαστολική δυσλειτουργία αριστερής κοιλίας.

Ε. Φουστέρης<sup>1</sup>, Αν. Μελιδώνης<sup>1</sup>, Γ. Πανουτσόπουλος<sup>2</sup>, Α. Θεοδόσης Γεωργιάδης<sup>3</sup>, Στ. Τζερεφός<sup>3</sup>, Σ. Χαντανής<sup>3</sup>, Σ. Ματσάγγος<sup>4</sup>, Π. Σπυροπούλου<sup>4</sup>, Ε. Μπουτάτη<sup>5</sup>, Γ. Δημητριάδης<sup>5</sup>, Σ. Ράπτης<sup>5</sup>

1: Α' Παθολογική Κλινική & Διαβητολογικό Κέντρο Γ.Ν.Π. «ΤΖΑΝΕΙΟ»

2: Τμήμα Νοσηλευτικής, Σχολή Επιστημών Ανθρώπινης Κίνησης & Ποιότητας Ζωής, Πανεπιστήμιο Πελοποννήσου

3: Καρδιολογική Κλινική Γ.Ν.Π. «ΤΖΑΝΕΙΟ»

4: Σταθμός Αιμοδοσίας Γ.Ν.Π. «ΤΖΑΝΕΙΟ»

5: Β' Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική & Μονάδα Έρευνας, «ΑΤΤΙΚΟΝ» Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η μελέτη μας αποσκοπεί στην εκτίμηση των επιπέδων του sST2 και BNP μεταξύ υγιών μαρτύρων και διαβητικών ασθενών τύπου 2 με & χωρίς διαστολική δυσλειτουργία αριστερής κοιλίας (ΔΔΑΚ). Επιπλέον, γίνεται προσπάθεια ανάδειξης των παραμέτρων που επηρεάζουν την τιμή του sST2. Συμπεριελήφθησαν συνολικά 158 εθελοντές. Υπερηχοτομογραφικός έλεγχος της καρδίας επέτρεψε την κατηγοριοποίηση των συμμετεχόντων σε 4 ομάδες: Α: 42 υγιείς μάρτυρες, Β: 18 μη διαβητικοί με ΔΔΑΚ, Γ: 48 διαβητικοί χωρίς ΔΔΑΚ & Δ: 50 διαβητικοί με ΔΔΑΚ. Ο διαλυτός sST2 μετρήθηκε με ELISA. Για τη στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήσαμε: δοκιμασία Mann-Whitney (συνεχείς μεταβλητές), χ<sup>2</sup> τεστ ή Fischer exact test (διακριτές μεταβλητές), συντελεστής Spearman (μονοπαραγοντική ανάλυση) και μέθοδος step-wise backward (πολυπαραγοντική ανάλυση). Οι διαβητικοί ασθενείς με (p<0.001) ή χωρίς (p=0.007) ΔΔΑΚ είχαν υψηλότερες τιμές sST2 σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες, κατάσταση που δεν επιβεβαιώθηκε για τις αντίστοιχες τιμές του BNP (p=0.213 & p=0.207 αντίστοιχα). Οι διαβητικοί ασθενείς με ΔΔΑΚ είχαν υψηλότερες τιμές sST2 σε σχέση με τους διαβητικούς ασθενείς χωρίς ΔΔΑΚ (p=0.001). Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη συσχετιζόταν θετικά, ισχυρά και ανεξάρτητα με τα επίπεδα του sST2 και στις 2 ομάδες των διαβητικών ασθενών. Συμπερασματικά, οι ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 εμφανίζουν υψηλότερα επίπεδα αναφοράς του διαλυτού ST2, ειδικά όταν εμφανίζουν ΔΔΑΚ. Από την στατιστική ανάλυση προέκυψε ότι η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη συσχετίζεται ισχυρά με τον sST2.

**Λέξεις ευρητηρίου:** Διαλυτός ST2, BNP, διαστολική δυσλειτουργία αριστερής κοιλίας, διαβήτης

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η καρδιακή ανεπάρκεια είναι μια συχνή νόσος του καρδιαγγειακού συστήματος με αυξημένη επίπτωση ειδικά σε διαβητικούς ασθενείς. Μέσα σε αυτό το πεδίο έρευνας, τα τελευταία χρόνια έχουν εμφανιστεί νέοι βιοχημικοί δείκτες με άλλοτε άλλη σημασία και βαρύτητα στη διάγνωση και πρόγνωση της καρδιακής ανεπάρκειας. Ένας σχετικά νέος δείκτης καρδιακής ανεπάρκειας είναι και ο διαλυτός ST2 (Soluble ST2 ή sST2).

Ο ST2, μέλος των υποδοχέων της ιντερλευκίνης 1 (IL-1R), είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη που αποτελείται από έναν διαμεμβρανικό επίτοπο, έναν ενδοκυττάριο επίτοπο και 3 εξωκυτταρικούς επιτόπους (ανοσοσφαιρίνες IgG)[1]. Οι εξωκυτταρικοί επίτοποι αποσπώνται από την επιφάνεια του κυττάρου και κυκλοφορούν στο πλάσμα και αποτελούν στην ουσία τον διαλυτό sST2. Μετά από μια δεκαετία, σχεδόν, επιστημονικής έρευνας, είναι πια δεδομένη η μεγάλη προγνωστική αξία του sST2 στην

συστολική καρδιακή ανεπάρκεια[1, 2, 3, 4], στο οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου[5,6,7] και στη διαστρωμάτωση κινδύνου ασθενών με δύσπνοια στα τμήματα επειγόντων περιστατικών[8,9,10,11]. Παρά το μεγάλο ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας για τη σημασία του sST2, καμία μελέτη έως τώρα δεν έχει εστιάσει στο ρόλο του σε διαβητικούς πληθυσμούς. Η μελέτη μας, λοιπόν, διερευνά το ρόλο του sST2 και τις συσχετίσεις του με κλασικούς βιοχημικούς δείκτες σε διαβητικούς ασθενείς τύπου 2 χωρίς & με διαστολική δυσλειτουργία της αριστεράς κοιλίας και συγκρίνει τα αποτελέσματα με τα αντίστοιχα υγιών μαρτύρων.

### **Υλικό και μέθοδοι**

Συνολικά συμπεριελήφθησαν στην μελέτη 158 εθελοντές (60 μη διαβητικοί & 98 διαβητικοί τύπου 2) μέσης ηλικίας  $56.24 \pm 9.78$  ετών του Διαβητολογικού Κέντρου του Γενικού Νοσοκομείου Πειραιά «Τζάνειο». Απεκλείστηκαν όλοι όσοι είχαν επηρεασμένη συστολική καρδιακή λειτουργία (κλάσμα εξώθησης μικρότερο του 50%) ή ατομικό αναμνηστικό στεφανιαίας νόσου. Κριτήρια αποκλεισμού ήταν, επίσης, η ύπαρξη από το ατομικό αναμνηστικό αρρυθμιών, βαλβιδικών παθήσεων της καρδιάς, κακοήθων ή αυτοανόσων νόσων, συνδρόμου Cushing ή η χρήση γλυκοκορτικοειδών ή θειαζολιδινεδιογόνων.

Όλοι οι συμμετέχοντες υπεβλήθησαν σε εκτενή υπερηχομογραφικό έλεγχο της καρδιακής τους λειτουργίας (αναθεωρημένες κατευθυντήριες οδηγίες A.C.C. / A.H.A. 2009), οπότε κατανεμήθηκαν σε 4 ομάδες:

Ομάδα Α: 42 υγιείς μάρτυρες

Ομάδα Β: 18 μη διαβητικά άτομα με διαστολική δυσλειτουργία αριστεράς κοιλίας

Ομάδα Γ: 48 διαβητικοί ασθενείς τύπου 2 χωρίς διαστολική δυσλειτουργία αριστεράς κοιλίας

Ομάδα Δ: 50 διαβητικοί ασθενείς τύπου 2 με διαστολική δυσλειτουργία αριστεράς κοιλίας

Παράλληλα μετρήθηκαν στον ορό νηστείας: σάκχαρο, ουρία & κρεατινίνη (για τον εκτίμηση του ρυθμού σπειραματικής διήθησης- eGFR- μέσω της εξίσωσης Cockcroft-Gault), ολική χοληστερόλη, HDL-χοληστερόλη, LDL-χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, BNP (Β νατριουρητικό πεπτιδίο), υψηλής ευαισθησίας C αντιδρώσα πρωτεΐνη (hs-CRP), γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη και ινωδογόνο. Ο sST2 μετρήθηκε με ειδικό kit μέσω της τεχνικής double sandwich ELISA.

Για τη στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήσαμε τη

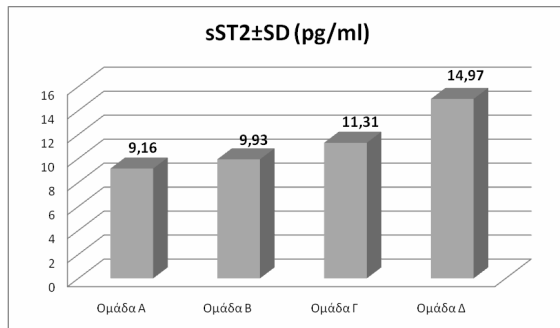
δοκιμασία Mann-Whitney (για τις συνεχείς μεταβλητές), το  $\chi^2$  τεστ ή το Fischer exact test (για τις διακριτές μεταβλητές), τον συντελεστή Spearman στην μονοπαραγοντική ανάλυση και τη μέθοδο step-wise backward για την πολυπαραγοντική ανάλυση

### **Αποτελέσματα**

Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς την κατανομή κατά ηλικία, φύλο και διάρκεια διαβήτη μεταξύ των 4 ομάδων. Όλα τα άτομα που συμπεριελήφθησαν στις ομάδες Β & Δ εμφάνιζαν ήπια διαστολική δυσλειτουργία της αριστεράς κοιλίας (διαταραγμένη χάλαση). Το 66,7% των ατόμων στην ομάδα Β και το 76% αυτών στην ομάδα Δ είχαν ατομικό αναμνηστικό υπέρτασης.

Σημαντική μεταβλητότητα μεταξύ των 4 υπό έλεγχο ομάδων παρατηρήθηκε για τις μέσες τιμές των sST2 ( $p < 0.001$ ), hs-CRP ( $p = 0.039$ ), σάκχαρο νηστείας ( $p < 0.001$ ), ολική χοληστερόλη ( $p < 0.001$ ), HDL-χοληστερόλη ( $p < 0.001$ ), LDL-χοληστερόλη ( $p < 0.001$ ), τριγλυκερίδια ( $p = 0.002$ ) και γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη ( $p < 0.001$ ). Αντιστοίχως μη σημαντική μεταβλητότητα σημειώθηκε για τις μέσες τιμές των BNP ( $p = 0.301$ ), ινωδογόνου ( $p = 0.302$ ) και eGFR ( $p = 0.393$ ).

Η μέση τιμή του sST2  $\pm$  SD βρέθηκε για την ομάδα Α των υγιών μαρτύρων στο  $9.16 \pm 4.56$  pg/ml, για τους μη διαβητικούς με διαστολική δυσλειτουργία της ομάδας Β στο  $9.93 \pm 3.57$  pg/ml, για τους διαβητικούς ασθενείς χωρίς διαστολική δυσλειτουργία της ομάδας Γ στο  $11.31 \pm 3.05$  pg/ml και, τέλος για τους διαβητικούς με διαστολική δυσλειτουργία (ομάδα Δ) στο  $14.97 \pm 5.23$  pg/ml (γράφημα 1). Η μέση τιμή του sST2 της ομάδας Α δεν διαφέρει στατιστικά με αυτήν της ομάδας Β ( $p = 0.514$ ). Σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε μεταξύ υγιών μαρτύρων και διαβητικών χωρίς διαστολική δυσλειτουργία ( $p = 0.007$ ). Επιπροσθέτως, οι διαβητικοί με διαστολική δυσλειτουργία εμφάνισαν την στατιστικά υψηλότερη τιμή sST2 σε σχέση με όλες τις υπόλοιπες ομάδες της μελέτης (ομάδα Α σε σχέση με ομάδα Δ:  $p < 0.001$ , ομάδα Β σε σχέση με ομάδα Δ:  $p < 0.001$ , ομάδα Γ σε σχέση με ομάδα Δ:  $p = 0.001$ ). Οι αντίστοιχες τιμές για το BNP  $\pm$  SD στις 4 ομάδες της μελέτης ήταν: Α:  $28.78 \pm 13.73$  pg/ml, Β:  $33.37 \pm 19.88$  pg/ml, Γ:  $40.06 \pm 31.39$  pg/ml και Δ:  $29.63 \pm 22.55$  pg/ml. Οι τιμές αυτές δεν διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους, κυρίως λόγω της μεγάλης διασποράς των τιμών.



Ομάδα Α: Υγιείς μάρτυρες, Ομάδα Β: Μη διαβητικοί με διαστολική δυσλειτουργία, Ομάδα Γ: Διαβητικοί χωρίς διαστολική δυσλειτουργία, Ομάδα Δ: Διαβητικοί με διαστολική δυσλειτουργία.

Η μέση τιμή του sST2 της ομάδας Α δεν διαφέρει στατιστικά με αυτήν της ομάδας Β ( $p=0.514$ ). Διαφορά παρατηρήθηκε μεταξύ υγιών μαρτύρων και διαβητικών χωρίς διαστολική δυσλειτουργία ( $p=0.007$ ). Επιπροσθέτως, οι διαβητικοί με διαστολική δυσλειτουργία εμφάνισαν την υψηλότερη τιμή sST2 σε σχέση με όλες τις υπόλοιπες ομάδες της μελέτης.

Εστιάζοντας στην ομάδα Γ των διαβητικών ασθενών χωρίς διαστολική δυσλειτουργία, παρατηρήσαμε ότι στην μονοπαραγοντική ανάλυση τα επίπεδα του sST2 συσχετιζόνταν θετικά με την τιμή των hs-CRP ( $p=0.04$ ), ινωδογόνου ( $p=0.027$ ), σάκχαρο νηστείας ( $p<0.01$ ), γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη ( $p<0.01$ ) και αρνητικά με την τιμή της HDL-χοληστερόλης ( $p<0.01$ ), γυναικείο φύλο ( $p<0.01$ ), ιστορικό υπέρτασης ( $p=0.045$ ) και χρόνιας αποφρακτικής πνευμονοπάθειας ( $p=0.01$ ). Καμμία συσχέτιση δεν βρέθηκε με τις υπόλοιπες μελετώμενες παραμέτρους. Κατά την πολυπαραγοντική ανάλυση, όμως, των ανωτέρω μόνο τα HDL-χοληστερόλη, γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη, φύλο, ιστορικό υπέρτασης και χρόνιας αποφρακτικής πνευμονοπάθειας αναδείχθηκαν ως οι πιο ισχυροί και ανεξάρτητοι παράγοντες που προβλέπουν ή ερμηνεύουν το 81% της τιμής του sST2 στην ομάδα αυτή.

Αντιστοίχως για την ομάδα Δ των διαβητικών ασθενών με διαστολική δυσλειτουργία αριστερής κοιλίας, στην μονοπαραγοντική ανάλυση ο sST2 βρέθηκε να συσχετίζεται θετικά με την γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη ( $p<0.01$ ) ενώ

αρνητικά με την HDL-χοληστερόλη ( $p=0.041$ ). Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, όμως, μόνο η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη κατάφερε να αναδειχθεί ως ανεξάρτητος παράγοντας που επηρεάζει την τιμή του sST2 στην ομάδα αυτή.

### Συζήτηση

Η εργασία μας απέδειξε ότι οι τιμές αναφοράς του sST2 σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 με ή χωρίς διαστολική δυσλειτουργία είναι υψηλότερες σε σχέση με τον υγιή πληθυσμό. Η τιμή δε αυτή σχετίζεται ισχυρά με το επίπεδο ρύθμισης του διαβήτη (γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη). Επιπλέον, οι υψηλότερες τιμές sST2 παρατηρούνται στους διαβητικούς ασθενείς με διαστολική δυσλειτουργία αριστερής κοιλίας, εύρημα συχνό στον διαβήτη που συχνά χαρακτηρίζεται ως διαβητική μυοκαρδιοπάθεια<sup>12</sup>. Η συσχέτιση αυτή φαίνεται να μην ισχύει για το BNP, έναν άλλο καθιερωμένο δείκτη συστολικής καρδιακής ανεπάρκειας, σύμφωνα και με άλλες μελέτες<sup>[13]</sup>.

Τα ευρήματα αυτά πιθανώς να αντανακλούν το βάρος που επιπροσθέτει ο σακχαρώδης διαβήτης και η χρόνια υπεργλυκαιμία στην καρδιακή λειτουργία που καταλήγουν τελικά στην αύξηση της έκκρισης του sST2 στην κυκλοφορία. Είναι πιθανόν η χρόνια υπεργλυκαιμία με τα συμπαρομαρτούντα οξειδωτικό και φλεγμονώδες στρες να πυροδοτούν αντιρροπτικούς καρδιαγγειακούς μηχανισμούς, που καταλήγουν σε άνοδο του sST2 στον ορό των πασχόντων. Βέβαια, τα ακριβή βιοχημικά μονοπάτια παραμένουν ακόμα ασαφή.

Άλλο ένα εύρημα από τη μελέτη αυτή είναι ότι οι υγιείς μάρτυρες έχουν παρόμοια επίπεδα sST2 σε σύγκριση με αυτά των μη διαβητικών με διαστολική δυσλειτουργία αριστερής κοιλίας. Θα μπορούσαμε, λοιπόν, να υποστηρίξουμε ότι η ύπαρξη διαστολικής δυσλειτουργίας χωρίς την συνύπαρξη διαβήτη δεν προάγει την περαιτέρω έκκριση sST2.

**SUMMARY**

This study tried to evaluate the differences in the levels of sST2 and BNP between healthy controls and patients with type 2 diabetes with and without Left Ventricular Diastolic Dysfunction (LVDD). We tried, also, to reveal the correlations of sST2 with other biomarkers of type 2 diabetes, such as HbA1c.

158 volunteers were recruited. Echocardiography confirmed systolic & diastolic cardiac status. Subjects with ejection fraction < 50% were excluded. The study population was divided in 4 groups: 42 healthy controls, 18 subjects without diabetes with LVDD, 48 patients with type 2 diabetes without LVDD & 50 patients with type 2 diabetes & LVDD. ELISA technique was performed to measure sST2. statistical analysis performed with Mann-Whitney test (continuous variables), chi squared or Fischer exact test (discrete variables), Spearman coefficient (univariate analysis) and step-wise backward method (multivariate analysis).

Patients with type 2 diabetes with (p<0.001) or without LVDD (p=0.007) had higher serum ST2 levels compared to healthy controls, state not found for the corresponding BNP levels (p=0.213 & p=0.207 respectively). Patients with type 2 diabetes & LVDD had higher serum ST2 than the respective patients without LVDD (p=0.001). In multivariate analysis, HbA1c was positively and independently correlated with sST2 levels in both groups of patients with type 2 diabetes.

Patients with type 2 diabetes exhibit higher sST2 levels compared to healthy controls. The presence of LVDD in patients with type 2 diabetes is associated with even higher sST2 levels. Analysis revealed significant correlation between glycemetic control and sST2.

**Key words:** soluble ST2, BNP, diastolic dysfunction, DM 2

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

- Weinberg EO, Shimp M, De Keulenaer GW, MacGillivray C, Tominaga S, Solomon SD, Rouleau JL, Lee RT. Expression and regulation of ST2, an interleukin-1 receptor family member, in cardiomyocytes and myocardial infarction. *Circulation* 2002; 106(23):2961-6
- Weinberg EO, Shimp M, Hurwitz S, Tominaga S, Rouleau JL, Lee RT. Identification of serum soluble ST2 receptor as a novel heart failure biomarker. *Circulation* 2003; 107(5): 721-6
- Rehman SU, Mueller T, Januzzi JL Jr. Characteristics of the novel interleukin family biomarker ST2 in patients with acute heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2008; 52(18): 1458-65
- Pascual-Figal DA, Ordonez-Lianos J, Tornel PL, Vazquez R, Puig T, Valdes M, Cinca J, de Luna AB, Bayes-Genis A; MUSIC Investigators. Soluble ST2 for predicting sudden cardiac death in patients with chronic heart failure and left ventricular systolic dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54(23):2174-9
- Shimp M, Morrow DA, Weinberg EO, Sabatine MS, Murphy SA, Antman EM, Lee RT. Serum levels of the interleukin-1 receptor family member ST2 predict mortality and clinical outcome in acute myocardial infarction. *Circulation* 2004; 109(18): 2186-90
- Weir RA, Miller AM, Murphy GE, Clements S, Steedman T, Connell JM, McInnes IB, Dargie HJ, McMurray JJ. Serum soluble ST2: a potential novel mediator in left ventricular and infarct remodeling after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55(3):243-50
- Sabatine MS, Morrow DA, Higgins LJ, MacGillivray C, Guo W, Bode C, Rifai N, Cannon CP, Gerszten RE, Lee RT. Complementary roles for biomarkers of biomechanical strain ST2 and N-terminal prohormone B-type natriuretic peptide in patients with ST-elevation myocardial infarction. *Circulation* 2008; 117(15): 1936-44
- Januzzi JL Jr, Peacock WF, Maisel AS, Chae CU, Jesse RL, Baggish AL, O'Donoghue M, Sakhuja R, Chen AA, van Kimmenade RR, Lewandrowski KB, Lloyd-Jones DM, Wu AH. Measurement of the interleukin family member ST2 in patients with acute dyspnea: results from the PRIDE (Pro-Brain Natriuretic Peptide Investigation of Dyspnea in the Emergency Department Study) study. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50(7): 607-13
- Januzzi JL Jr, Rehman S, Mueller T, van Kimmenade RR, Lloyd-Jones DM. Importance of biomarkers for long term mortality prediction in acutely dyspneic patients. *Clin Chem* 2010; 56(12): 1814-21
- Dieplinger B, Gegenhuber A, Kaar G, Poelz W, Haltmayer M, Mueller T. Prognostic value of established and novel biomarkers in patients with shortness of breath attending an emergency department. *Clin Biochem* 2010; 43(9): 714-9
- Shah RV, Chen-Tournoux AA, Picard MH, van Kimmenade RR, Januzzi JL. Serum levels of the interleukin-1 receptor family member ST2, cardiac structure and function and long term mortality in patients with acute dyspnea. *Circ Heart Fail* 2009; 2(4): 311-9
- Cosson S, Kevorkian JP. Left ventricular diastolic dysfunction: an early sign of diabetic cardiomyopathy? *Diabetes Metab* 2003; 29(5):455-66
- Kiencke S, Handschin R, von Dahlen R, Muser J, Brunner-Larocca HP, Schumann J, Felix B, Berneis K, Rickenbacher P. Pre-clinical diabetic cardiomyopathy: prevalence, screening, and outcome. *Eur J Heart Fail*, 2010; 12(9): 951-7