

Η επίδραση του μεταβολικού συνδρόμου στα προγονικά ενδοθηλιακά κύτταρα και την ασύμμετρη διμεθυλαργινίνη στον προδιαβήτη

A. Αγγελίδη^{1,2}, A. Καζιάνη², Θ. Σεργεντάνης³, Σ. Ματσάγγος⁴, I. Πρωτοψάλτης¹, N. Κανέλλιας², Χ. Σαγιά², Γ. Χριστοφιλίδης², Γ. Κρανιδιώτης², A. Μελιδώνης^{1,2}

¹ Διαβητολογικό κέντρο, ΓΝ Πειραιά «Τζάνειο», ² Α΄ Παθολογική Κλινική, ΓΝ Πειραιά «Τζάνειο», ³ Εργαστήριο Υγιεινής, Επιδημιολογίας και Ιατρικής Στατιστικής, ΕΚΠΑ, Αθήνα, ⁴ Ν. Υ. Αιμοδοσίας, ΓΝ Πειραιά «Τζάνειο»

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός: Το μεταβολικό σύνδρομο (ΜΣ) αποτελεί μία συστάδα καρδιομεταβολικών παραγόντων κινδύνου σχετιζόμενων με την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και τον αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο. Η ασύμμετρη διμεθυλαργινίνη (ADMA), κύριος ενδογενής αναστολέας της συνθετάσης του μονοξειδίου του αζώτου (NO), εμπλέκεται στην ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και το οξειδωτικό στρες. Τα προγονικά ενδοθηλιακά κύτταρα (EPCs) έχουν πρόσφατα προταθεί ως ένας νέος δυνητικός βιολογικός δείκτης της ακεραιότητας του ενδοθηλίου, συμβάλλουν στη νεοαγγειογένεση, την επανενδοθηλιοποίηση και την επιδιόρθωση του βεβλαμμένου ενδοθηλίου.

Τα EPCs και ADMA θεωρούνται δυνητικοί δείκτες της αθηρωματικής νόσου και του καρδιαγγειακού κινδύνου. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της επίδρασης του ΜΣ στα επίπεδα των EPCs και ADMA στον προδιαβήτη.

Υλικό-Μέθοδος: Πενήντα-τρία άτομα με νεοδιαγνωσθέντα προδιαβήτη (μετά από δοκιμασία ανοχής γλυκόζης) δίχως καρδιαγγειακή ή νεφρική νόσο συμπεριλήφθησαν στη μελέτη. Τα άτομα ταξινομήθηκαν σε 2 ομάδες ανάλογα με την ύπαρξη (15 άτομα) ή μη (38 άτομα) ΜΣ (κατά NCEP/ATPIII). Σε κάθε συμμετέχοντα προσδιορίστηκαν διάφοροι ανθρωπομετρικοί και καρδιομεταβολικοί παράγοντες κινδύνου, τα επίπεδα των EPCs και ADMA. Η ανίχνευση και μέτρηση των EPCs πραγματοποιήθηκε με κυτταρομετρία ροής χρησιμοποιώντας μονοκλωνικά αντισώματα (CD34-FITC, CD133-PE, VEGF-PE). Η ADMA προσδιορίστηκε με ανοσοενζυμική μέθοδο ELISA. Η στατιστική ανάλυση έγινε με χρήση λογισμικού STATA11.1.

Αποτελέσματα: Κατά τη μονομεταβλητή ανάλυση τα άτομα με ΜΣ συγκριτικά με εκείνα δίχως ΜΣ εμφάνιζαν στατιστικά υψηλότερα επίπεδα: hs-CRP (6.50 ± 5.86 vs 2.93 ± 3.28 mg/L, $p=0.017$), ινσουλίνης (29.0 ± 19.5 vs 16.2 ± 2.4 pmol/L, $p=0.04$), HOMA-IR (7.26 ± 4.64 vs 4.04 ± 0.63 , $p=0.015$), ADMA (0.79 ± 0.16 vs 0.66 ± 0.11 μmol/L, $p=0.009$) και αρνητική συσχέτιση με τα επίπεδα του C-πεπτιδίου (2.86 ± 2.34 vs 3.71 ± 1.64 ng/mL, $p=0.038$). Δεν παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση με τα επίπεδα των EPCs ($p=0.634$). Στην πολυμεταβλητή λογαριθμιστική παλινδρόμηση η παρουσία ΜΣ εμφάνιζε ανεξάρτητη συσχέτιση με: ADMA (increment=0.1 μmol/L, OR=6.30, $p=0.002$) και hs-CRPM (increment=1mg/L, OR=1.78, $p=0.017$).

Συμπεράσματα: Η παρουσία του ΜΣ στον προδιαβήτη πιθανόν να επάγει την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και τον αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο μέσω της συσχέτισης του με τη φλεγμονή και τα αυξημένα επίπεδα ADMA.

Λέξεις ευρητηρίου: προγονικά ενδοθηλιακά κύτταρα, ασύμμετρη διμεθυλαργινίνη, μεταβολικό σύνδρομο, προδιαβήτη.

Παραπομπή

A. Αγγελίδη, Α. Καζιάνη, Θ. Σεργεντάνης, Σ. Ματσάγγος, Ι. Πρωτοφάλης, Ν. Κανέλλιας, Χ. Σαγιά, Γ. Χριστοφιλίδης, Γ. Κρανιδιώτης, Α. Μελιδώνης. Η επίδραση του μεταβολικού συνδρόμου στα προγονικά ενδοθηλιακά κύτταρα και την ασύμμετρη διμεθυλαργινίνη στον προδιαβήτη. Επιστημονικά Χρονικά 2014;19(2): 160-170.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το μεταβολικό σύνδρομο αποτελείται από μια συστάδα μεταβολικών διαταραχών που οδηγούν στην εμφάνιση σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και καρδιαγγειακής νόσου. Βασικές συνιστώσες του συνδρόμου είναι η κεντρικού τύπου παχυσαρκία, οι διαταραχές γλυκόζης και λιπιδίων και η υπέρταση. Κοινός παρονομαστής των διαταραχών του μεταβολικού συνδρόμου είναι η παρουσία ινσουλινοαντίστασης.

Υπάρχουν διάφορες προτάσεις σχετικά με τα κριτήρια διάγνωσης του μεταβολικού συνδρόμου από μεγάλους οργανισμούς όπως WHO (Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας), NCEP ATP III (Αμερικάνικη Επιτροπή Ειδικών), IDF (Παγκόσμια Οργάνωση για τον Διαβήτη). Η κλινική ταξινόμηση του μεταβολικού συνδρόμου που έχει προταθεί από την Αμερικάνικη Επιτροπή Ειδικών (αναθεωρημένη μερικώς το 2005) [1] χρησιμοποιείται ως επί το πλείστον λόγω του εύκολου προσδιορισμού του στην κλινική πράξη.

Ως προδιαβήτη ορίζεται η παθολογική αύξηση των τιμών γλυκόζης στο πλάσμα οι οποίες ωστόσο είναι μικρότερες από τις

οριζόμενες ως διαγνωστικά κριτήρια του διαβήτη. [2] Ο προδιαβήτη χαρακτηρίζεται από ινσουλινοαντίσταση και συχνά σχετίζεται με τη φλεγμονή και την παρουσία επιπρόσθετων παραγόντων κινδύνου αθηρωμάτωσης που επίσης συνδέονται με την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. [3] Η δυσλειτουργία και διαταραχή του ενδοθηλίου αποτελούν πρώιμα σημεία αθηροσκλήρυνσης και δυνητικοί παράγοντες καρδιαγγειακών συμβαμάτων. [4]

Τα προγονικά ενδοθηλιακά κύτταρα (EPCs) προέρχονται κυρίως από τον μυελό των οστών ενώ ανιχνεύθηκαν για πρώτη φορά στο περιφερικό αίμα το 1997 από τους Asahara και συν. [5] Τα EPCs διαδραματίζουν κυρίαρχο ρόλο στη νεοαγγείωση, συμμετέχουν στη διατήρηση της ακεραιότητας του ενδοθηλίου, την επανενδοθηλιοποίηση και συμβάλλουν στην αγγειακή ομοιόσταση. [6] Τα μειωμένα επίπεδα των EPCs, ως πιθανός βιολογικός δείκτης, συνδέονται με επιδείνωση της αθηρωματικής νόσου και αύξηση του καρδιαγγειακού κινδύνου. [7,8] Αναφορικά με τον προδιαβήτη έχει διαπιστωθεί η αρνητική του συσχέτιση με τα επίπεδα των EPCs. [9]

Τις τελευταίες δεκαετίες, πλήθος μελετών έχουν επικεντρωθεί στον ρόλο και τη δράση των προγονικών ενδοθηλιακών κυττάρων (EPCs) ως νέου βιολογικού δείκτη ενδοθηλιακής λειτουργίας. Οι μελέτες μέχρι σήμερα έχουν εξετάσει κυρίως τις συσχετίσεις μεταξύ EPCs και κοινωνικοδημογραφικών, ανθρωπομετρικών και καρδιομεταβολικών παραγόντων κινδύνου, είτε σε άτομα υγιή είτε σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη ή/και καρδιαγγειακή νόσο. [10,11] Η ηλικία, το φύλο, η σωματική άσκηση, το κάπνισμα, το λιπιδαιμικό προφίλ, η ινσουλινοαντίσταση, η φλεγμονή, η αρτηριακή πίεση και το γενετικό υπόβαθρο, έχουν αναδειχθεί ως σημαντικοί παράγοντες που σχετίζονται με τα επίπεδα των EPCs.

Το μονοξείδιο του αζώτου (NO) αποτελεί τον ισχυρότερο ενδογενή αγγειοδιασταλτικό παράγοντα ο οποίος απελευθερώνεται συνεχώς από το υγιές ενδοθήλιο των αρτηριών. [12] Το NO συμβάλει στη διατήρηση του αγγειακού τόνου, στην εξαρτώμενη από αυτό αγγειοδιαστολή και εν γένει στην αγγειακή ομοιόσταση. Η ασύμμετρη διμεθυλαργινίνη (ADMA) αποτελεί ενδογενή αναστολέα της συνθεσίας του NO. [13,14] Διάφορες μελέτες υποστηρίζουν ότι τα επίπεδα της ADMA αποτελούν δυνητικό δείκτη ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και καρδιαγγειακών συμβαμάτων. [15-19] Η παρούσα εργασία αποσκοπεί στη διερεύνηση της επίδρασης του μεταβολικού συνδρόμου στα επίπεδα των EPCs, της ADMA καθώς και άλλων παραγόντων καρδιομεταβολικού κινδύνου σε άτομα με προδιαβήτη δίχως καρδιαγγειακή νόσο

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Ο πληθυσμός του δείγματος αποτελείτο από 53 ενήλικες εθελοντές με νεοδιαγνωσθέντα προδιαβήτη χωρίς καρδιαγγειακή νόσο. Η διάγνωση του προδιαβήτη ετέθη μετά την εκτέλεση καμπύλης σακχάρου 75gr γλυκόζης, σύμφωνα με τα κριτήρια του ADA. [20] Τα άτομα ταξινομήθηκαν ανάλογα αν εμφάνιζαν: διαταραχή της γλυκόζης νηστείας (IFG: impaired fasting glucose) όταν τα επίπεδα της γλυκόζης νηστείας ήταν μεταξύ 100-125 mg/dL, παθολογική ανοχή στη γλυκόζη (IGT: impaired glucose tolerance) όταν τα επίπεδα γλυκόζης 2 ώρες μετά τη χορήγηση των 75gr γλυκόζης ήταν μεταξύ 140-199 mg/dL, ή και τα δύο. Η καρδιαγγειακή νόσος αποκλείστηκε μετά από έναν πλήρη ιατρικό έλεγχο που περιελάμβανε ΗΚΓ, υπέρηχο καρδιάς, test κόπωσης σε κυλιόμενο τάπητα, και κόπωση με θάλειο 201. Όλοι οι συμμετέχοντες δεν έπασχαν από νεφρική ή αιματολογική πάθηση. Κριτήρια αποκλεισμού ήταν: δευτεροπαθής αρτηριακή υπέρταση, θετικό ιστορικό αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου, περιφερική αγγειακή νόσος, χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια (NYHA class III και IV), ιστορικό κακοήθειας, ιστορικό πρόσφατης λοίμωξης τον τελευταίο μήνα, υπερ- ή υποθυρεοειδισμός, αυτοάνοσο νόσημα, κατάχρηση αλκοόλ (>14 ποτά/εβδομάδα για γυναίκες και >21 ποτά/εβδομάδα για άνδρες), θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης και χρήση αντιουλληπτικών.

Το ατομικό ιατρικό ιστορικό, οι ανθρωπομετρικοί και βιοχημικοί παράμετροι εκτιμήθηκαν για όλους τους συμμετέχοντες. Η περίμετρος μέσης προσδιορίστηκε στη μεσότητα μεταξύ του κατώτερου πλευρικού τόξου και της λαγόνιας ακρολοφίας, ενώ η περίμετρος ισχίων στο ύψος των μείζονων τροχαντήρων. Επιπρόσθετα, δείγματα

αίματος νηστείας συλλέχθηκαν από όλους τους συμμετέχοντες για τον προσδιορισμό των επιπέδων των EPCs, της ADMA, του λιπιδαιμικού προφίλ, της γλυκόζης, της ινσουλίνης, του C-πεπτιδίου και της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης υψηλής ευαισθησίας (hs-CRP). Η ινσουλινοαντίσταση υπολογίστηκε σύμφωνα με τον δείκτη HOMA-IR (homeostasis model assessment of insulin resistance), όπως έχει περιγραφεί από τους Mathews και συν. [21] Οι συμμετέχοντες ταξινομήθηκαν αναφορικά με την άσκηση ως σωματικά δραστήριοι όταν ανέφεραν μέτρια σωματική δραστηριότητα (τουλάχιστον 150 min αεροβικής άσκησης την εβδομάδα) ή ως μη ασκούμενοι όταν δεν είχαν καμία φυσική δραστηριότητα. Έντονη φυσική άσκηση δεν αναφέρθηκε από κανένα συμμετέχοντα.

Ποσοτικός προσδιορισμός των EPCs και της ADMA

Η ανίχνευση των EPCs πραγματοποιήθηκε με κυτταρομετρία ροής, που αποτελεί την gold standard μέθοδο ποσοτικού προσδιορισμού των EPCs χρησιμοποιώντας τα ειδικά μονοκλωνικά αντισώματα CD34+FITC (Beckman Coulter, Fullerton, CA), CD133-PE (Miltenyi) και anti-VEGFR-2 (R&D Systems). Ο ποσοτικός προσδιορισμός των EPCs πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια των BD Trucount tubes™ (BD Biosciences, San Jose, CA, USA), που περιείχαν γνωστό αριθμό μικροσφαιριδίων που μας επιτρέπουν να μετρήσουμε τον απόλυτο αριθμό των EPCs όπως αυτό περιγράφεται στη διεθνή βιβλιογραφία. [22] Τα CD34+ κύτταρα (βάσει του πρωτοκόλλου κατά ISHAGE) [23] τα οποία εμφάνιζαν έκφραση του CD133 και του VEGFR-2 χαρακτηρίστηκαν ως EPCs και προσδιορίστηκε ο απόλυτος αριθμός τους ως κύτταρα ανά ml.

Το μόριο της ADMA ανιχνεύθηκε και προσδιορίστηκε ποσοτικά στον ορό των ατόμων χρησιμοποιώντας τη μέθοδο ELISA - enzyme immunoassay (competitive ELISA).

Ορισμός του μεταβολικού συνδρόμου

Για τον ορισμό του μεταβολικού συνδρόμου χρησιμοποιήθηκαν τα ακόλουθα κατά NCEP ATP III κριτήρια [1]: 1) περίμετρος μέσης: >88cm (γυναίκες) ή >102cm (άνδρες), 2) Τριγλυκερίδια \geq 150mg/dL, 3) HDL <50mg/dL (γυναίκες) ή <40 mg/dL (άνδρες), 4) Αρτηριακή πίεση \geq 130/85 mmHg ή αντιυπερτασική αγωγή, 5) Γλυκόζη νηστείας \geq 100mg/dL. Η διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου ετίθετο όταν τα άτομα είχαν θετικά τουλάχιστον 3 από τα προαναφερθέντα κριτήρια.

Στατιστική ανάλυση

Για τη διερεύνηση των πιθανών συσχετίσεων μεταξύ μεταβολικού συνδρόμου και της συγκέντρωσης των EPCs, της ADMA, καθώς και των λοιπών παραμέτρων πραγματοποιήθηκε μονοπαραγοντική και πολυπαραγοντική ανάλυση.

Στην πολυπαραγοντική μελέτη συμπεριλήφθησαν οι παράμετροι που αποδείχθηκαν στατιστικά σημαντικές στην μονοπαραγοντική ανάλυση, και εντάχθηκαν στο πολυμεταβλητό μοντέλο ως ανεξάρτητες μεταβλητές. Το επίπεδο της στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε μικρότερο του 0.05. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το λογισμικό STATA 8.0 statistical software (Stata Corporation, College Station, TX, USA).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ο πληθυσμός της μελέτης αποτελείτο συνολικά από 53 άτομα, 24 (45.3%) άνδρες και 29 (54.7%) γυναίκες, μέσης ηλικίας 50.6 ± 11.2 έτη. Η πλειοψηφία (56.6%) των προδιαβητικών ατόμων εμφάνιζε μόνο IFG διαταραχή, το 26.4% παρουσίαζε τόσο διαταραχή IFG όσο και IGT, ενώ το 17.0% των ατόμων είχε μόνο IGT διαταραχή. Αναφορικά με την φυσική άσκηση, 23 άτομα (43.4%) ανέφεραν σωματική άσκηση, ενώ 30 άτομα (56.6%) όχι. Το 35.8% του πληθυσμού ήταν καπνιστές (n=19). Οι ανευρεθείσες τιμές HbA1c ήταν μεταξύ 5.5 και 6.3% (μέση τιμή±SD: 5.93 ± 0.21). Ο αριθμός των EPCs κυμαινόταν μεταξύ 0 και 1133 κύτταρα/ml (199 ± 180 κύτταρα/ml). Τα κύρια δημογραφικά, ανθρωπομετρικά, κλινικά και μεταβολικά χαρακτηριστικά των 53 συμμετεχόντων συνοψίζονται στον Πίνακα 1.

Μονοπαραγοντικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με στόχο να εξετασθεί η επίδραση του μεταβολικού συνδρόμου στα επίπεδα των EPCs, της ADMA καθώς και των λοιπών παραμέτρων που μελετήθηκαν στα άτομα με προδιαβήτη. Στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση διαπιστώθηκε (έχοντας αποκλείσει τις παραμέτρους που αποτελούν συνιστώσες του μεταβολικού συνδρόμου) μεταξύ της παρουσίας του μεταβολικού συνδρόμου και του σωματικού βάρους, του δείκτη μάζας σώματος, περιμέτρου ισχίων, της καρδιακής συχνότητας, των επιπέδων ινσουλίνης, του δείκτη ινσουλινοαντίστασης HOMA-IR, της hs-CRP και των επιπέδων της ADMA, ενώ αρνητική συσχέτιση παρατηρήθηκε με τα επίπεδα του c-πεπτιδίου. Τα αποτελέσματα των μονοπαραγοντικών αναλύσεων αναλύονται στον Πίνακα 2.

Από την εφαρμογή πολυμεταβλητής λογαριθμιστικής παλινδρόμησης στατιστικά

σημαντική και ανεξάρτητη συσχέτιση προέκυψε μεταξύ του μεταβολικού συνδρόμου και των επιπέδων της ADMA (OR 6.30 [95% CI 1.93 - 20.55] $p=0.002$) και της hs-CRP (OR 1.78 [95% CI 1.11 - 2.85] $p=0.017$), ενώ οι λοιπές παράμετροι (c-πεπτιδίο, σωματικό βάρος, δείκτης μάζας σώματος, περίμετρος ισχίων, επίπεδα ινσουλίνης, δείκτη ινσουλινοαντίστασης HOMA-IR, καρδιακή συχνότητα) έχασαν τη στατιστική τους σημασία.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Το μεταβολικό σύνδρομο έχει συσχετισθεί με την αθηρωμάτωση και την καρδιαγγειακή νόσο. [24] Κοινός παρονομαστής του μεταβολικού συνδρόμου και του προδιαβήτη είναι η ινσουλινοαντίσταση, η οποία στα ενδοθηλιακά κύτταρα συνδυάζεται με μειωμένη διαθεσιμότητα NO και ενδοθηλιακή δυσλειτουργία η τελευταία συνδέεται με την αθηρωμάτωση εκφραστής της οποίας αποτελεί η καρδιαγγειακή νόσος. [25-27] Σκοπός της μελέτης μας ήταν η διερεύνηση της επίδρασης του μεταβολικού συνδρόμου σε άτομα με νεοδιαγνωσθέντα προδιαβήτη και συνεπώς υποκείμενη ινσουλινοαντίσταση δίχως έκδηλη υπεργλυκαιμία. Σύμφωνα με τα ευρήματα της μελέτης μας, η παρουσία του μεταβολικού συνδρόμου στα άτομα με προδιαβήτη συνδέεται με αυξημένα επίπεδα ADMA, του ενδογενούς αναστολέα της συνθετάσης του NO, και αυξημένες τιμές της hs-CRP που αποτελεί δείκτη φλεγμονής. Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν από μελέτη που διενεργήθηκε σε άτομα δίχως διαταραχές του μεταβολισμού της γλυκόζης όπου το μεταβολικό σύνδρομο εμφάνισε συσχέτιση με αυξημένα επίπεδα ADMA. [28] Συνεπώς, από τα ευρήματα μας φαίνεται πως η παρουσία του μεταβολικού συνδρόμου

Πίνακας 1

Χαρακτηριστικά του πληθυσμού μελέτης (συνολικός αριθμός συμμετεχόντων n=53).

Κατηγορικές μεταβλητές	Συχνότητα (%)
Υποκατηγορίες προδιαβήτη	
IFG	30 (56.6)
IGT	9 (17.0)
IFG & IGT	14 (26.4)
Άνδρες	24 (45.3)
Γυναίκες	29 (54.7)
Κάπνισμα	
Ναι	19 (35.8)
Όχι	34 (64.2)
Άσκηση	
Ναι	23 (43.4)
Όχι	30 (56.6)
Υπέρταση	
Ναι	
Όχι	
Μεταβολικό Σύνδρομο (NCEP/ATPIII)	
Ναι	15 (28)
Όχι	38 (72)
Στατίνες	
Ναι	12 (22.6)
Όχι	41 (77.4)
Οικογενειακό ιστορικό διαβήτη	
Ναι	21 (42.0)
Όχι	29 (58.0)
Συνεχείς μεταβλητές	Mean±SD
Ηλικία (έτη)	50.6 ±11.2
Δείκτης μάζας σώματος (kg/m ²)	33.6 ±7.0
Περίμετρος μέσης (cm)	110.4 ±18.0
Περίμετρος Ισχιών (cm)	118.9 ±14.0
Κάπνισμα (packyears)	20.1 ±39.8
Μέση Αρτηριακή Πίεση (mmHg)	103.8 ±11.3
Καρδιακή συχνότητα (bpm)	77 ±11
Ινσουλίνη (μU/ml)	25.4 ±17.5
Homa-IR	6.3 ±4.2
EPCs (κύτταρα/ml)	199 ±180
hs-CRP (mg/L)	5.4 ±5.4
ADMA (μmol/L)	0.76 ±0.16
Χοληστερόλη (mg/dL)	191.0 ±29.8
HDL (mg/dL)	42.6 ±10.6
LDL (mg/dL)	125.2 ±28.3
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	120.9 ±38.6

HOMA-IR: δείκτης ινσουλινοαντίστασης

EPCs: προγονικά ενδοθηλιακά κύτταρα

hs-CRP: C-αντιδρώσα πρωτεΐνη υψηλής εναισθησίας

ADMA: ασύμμετρη διμεθυλαργινίνη

επιδρά στα επίπεδα της ADMA σε άτομα με προδιαβήτη.

Η ADMA έχει προταθεί ως μια σημαντική συνιστώσα με δυνητικά προγνωστικό χαρακτήρα σχετιζόμενη με παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου, ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, αθηρωμάτωσης και καρδιαγγειακής νόσου. [29] Επιπρόσθετα, μελέτες έχουν καταδείξει τη θετική συσχέτιση των υψηλών επιπέδων της ADMA με καρδιαγγειακά συμβάματα. [30-32]

Η παρουσία του μεταβολικού συνδρόμου στα άτομα της μελέτης μας σχετίστηκε με αυξημένα επίπεδα hs-CRP. Προγενέστερες μελέτες έχουν καταδείξει θετική συσχέτιση μεταξύ μεταβολικού συνδρόμου και επιπέδων hs-CRP. [33-35]

Διάφορες μελέτες έχουν καταδείξει μια συσχέτιση μεταξύ hs-CRP και καρδιαγγειακής νόσου [36-38] ενώ επιπρόσθετα, έχει προταθεί πως η εκτίμηση των επιπέδων της hs-CRP μπορεί να συμβάλλει στην εκτίμηση των ατόμων που διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο εκδήλωσης καρδιαγγειακών συμβαμάτων. [39,40]

Συνεπώς, από τα ευρήματα της μελέτης μας φαίνεται πως η παρουσία του μεταβολικού συνδρόμου εμφανίζει θετική συσχέτιση με τα επίπεδα της ADMA και της hs-CRP ανεξάρτητα της υποκείμενης ινσουλινοαντίστασης στα άτομα με προδιαβήτη. Η παρουσία του ΜΣ στον προδιαβήτη πιθανόν να επάγει την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και τον αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο μέσω της συσχέτισης του με τη φλεγμονή και τα αυξημένα επίπεδα της ADMA.

Πίνακας 2

Αποτελέσματα μονομεταβλητής ανάλυσης.

	Χωρίς ΜΣ (mean±SD)	Με ΜΣ (mean±SD)	P
Σωματικό Βάρος (kg)	79.6±12.9	102±25.1	0.001
Δείκτης μάζας σώματος (kg/m ²)	28.1±4.6	35.8±6.6	0.0005
Περίμετρος ισχίων(cm)	104.5±4.3	123.4±12.9	<0.001
Καρδιακή συχνότητα (bpm)	70.5±11.7	78.9±10.4	0.017
Ινσουλίνη	16.2±2.4	29.0±19.5	0.05
C-πεπτιδίο (ng/mL)	3.71±1.64	2.86±2.34	0.038
HOMA-IR	4.04±0.63	7.26±4.64	0.015
hs-CRP(mg/L)	2.93±3.28	6.50±5.86	0.017
EPCs	190±87	202±207	0.634
ADMA (μmol/L)	0.66±0.11	0.79±0.16	0.009

*ΜΣ: Μεταβολικό Σύνδρομο (κατά NCEP/ATPIII)
HOMA-IR: δείκτης ινσουλινοαντίστασης
hs-CRP: C-αντιδρώσα πρωτεΐνη υψηλής ευαισθησίας
EPCs: προγονικά ενδοθηλιακά κύτταρα
ADMA: ασύμμετρη διμευλαργινίνη*

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*. 2005;112:2735-2752.
2. Genuth S, Alberti KG, Bennett P, et al. Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2003;26:3160-3167.
3. Laakso M. Cardiovascular disease in type 2 diabetes from population to man to mechanisms: the Kelly West Award Lecture 2008. *Diabetes Care*. 2010;33:442-449.
4. Davignon J and Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation*. 2004;109(Suppl.1):III27-III32.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

Αναφορικά με τους περιορισμούς αυτής της μελέτης, το σχετικά μικρό μέγεθος του δείγματος, μπορεί να περιορίσει τη στατιστική του δύναμη, και τη διατύπωση μιας αιτιολογικής ή παθοφυσιολογικής υπόθεσης. Επιπλέον, μεγαλύτερο δείγμα πληθυσμού φαίνεται να απαιτείται προκειμένου να τεκμηριωθεί οποιαδήποτε ετερογένεια και διαφορά μεταξύ των υποομάδων των ατόμων με προδιαβήτη.

Η ύπαρξη ομάδας ελέγχου “controls” δεν κρίθηκε απαραίτητη, εφ’ όσον η μελέτη μας επικεντρώθηκε σε ένα συγκεκριμένο υποπληθυσμό (προδιαβήτη), ωστόσο η απουσία ομάδας ελέγχου αποτελεί έναν εν δυνάμει περιορισμό αυτής.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συμπερασματικά, το ΜΣ σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα hs-CRP και ADMA σε άτομα με προδιαβήτη. Αυτή η συσχέτιση μπορεί να αποτελεί έναν πιθανό συνδετικό κρίκο μεταξύ μεταβολικού συνδρόμου ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας/αγγειακής ομοιόστασης και καρδιαγγειακού κινδύνου στα άτομα με προδιαβήτη.

5. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science*. 1997;275:964-967.
6. Urbich C and Dimmeler S. Endothelial progenitor cells: characterization and role in vascular biology. *Circ Res*. 2004;95:343-353.
7. Schmidt-Lucke C, Rössig L, Fichtlscherer S, et al. Reduced number of circulating endothelial progenitor cells predicts future cardiovascular events: proof of concept for the clinical importance of endogenous vascular repair. *Circulation*. 2005;111:2981-2987.
8. Werner N, Kosiol S, Schiegl T, et al. Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes. *N Engl J Med*. 2005;353:999-1007.
9. Fadini GP, Pucci L, Vanacore R et al. Glucose tolerance is negatively associated with circulating progenitor cell levels. *Diabetologia*. 2007;50:2156-2163.
10. Fadini G, Agostini C, Sartore S and Avogaro A. Endothelial progenitor cells in the natural history of atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2007;194:46-54.
11. Shantsila E, Watson T and Lip GY. Endothelial progenitor cells in cardiovascular disorders. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49:741-752.
12. Vallance P, Collier J, Moncada S. Nitric oxide synthesized from L-arginine mediates endothelium dependent dilatation in human veins in vivo. *Cardiovasc Res*. 1989;23:1053-1057.
13. Calver A, Collier J, Leone A, Moncada S, Vallance P. Effect of local intra-arterial asymmetric dimethylarginine (ADMA) on the forearm arteriolar bed of healthy volunteers. *J Hum Hypertens*. 1993;7:193-194.
14. Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet*. 1992;339:572-575.
15. Cooke JP. ADMA: its role in vascular disease. *Vasc Med*. 2005;10:S11-S17
16. Cooke JP. Does ADMA cause endothelial dysfunction? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20:20-32.
17. Kielstein JT, Donnerstag F, Gasper S, et al. ADMA increases arterial stiffness and decreases cerebral blood flow in humans. *Stroke*. 2006;37:2024-2029.
18. Cavusoglu E, Ruwende C, Chopra V, et al. Relation of baseline plasma ADMA levels to cardiovascular morbidity and mortality at two years in men with diabetes mellitus referred for coronary angiography. *Atherosclerosis*. 2010;210:226-231.
19. Böger RH. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and cardiovascular disease: insights from prospective clinical trials. *Vasc Med*. 2005;10:S19-S25.
20. Nathan DM, Davidson MB, DeFronzo RA, et al. Impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance: implications for care. *Diabetes Care*. 2007;30:753-759.

21. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28:412–419.
22. Thomas HE, Avery PJ, Ahmed JM, et al. Local vessel injury following percutaneous coronary intervention does not promote early mobilization of endothelial progenitor cells in the absence of myocardial infarction. *Heart*. 2009;95:555–558.
23. Sutherland DR, Nayyar R, Acton E, et al. Comparison of two single-platform ISHAGE-based CD34 enumeration protocols on BD FACSCalibur and FACSCanto flow cytometers. *Cytotherapy*. 2009;11:595–605.
24. Ninomiya JK, L'Italien G, Criqui MH, Whyte JL, Gamst A, Chen RS. Association of the metabolic syndrome with history of myocardial infarction and stroke in the third national health and nutrition examination survey. *Circulation*. 2004;109:42–46.
25. Duncan ER1, Crossey PA, Walker S, et al. Effect of endothelium-specific insulin resistance on endothelial function in vivo. *Diabetes*. 2008;57:3307–3314.
26. Werner N, Wassmann S, Ahlers P, Kosiol S, Nickenig G. Circulating CD31+/annexin V+ apoptotic microparticles correlate with coronary endothelial function in patients with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26:112–116.
27. Asai K, Kudej RK, Shen YT, et al. Peripheral vascular endothelial dysfunction and apoptosis in old monkeys. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1493–1499.
28. Palomo I, Contreras A, Alarcón LM, Leiva E, Guzmán L, Mujica V, Icaza G, Díaz N, González DR, Moore-Carrasco R. Elevated concentration of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in individuals with metabolic syndrome. *Nitric Oxide*. 2011;24:224–228.
29. Boger R.H. The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor, *Cardiovasc. Res*. 2003;59:824–833.
30. Maas R, Schulze F, Baumert J, et al. Asymmetric dimethylarginine, smoking, and risk of coronary heart disease in apparently healthy men: prospective analysis from the population-based Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Disease/Kooperative Gesundheitsforschung in der Region Augsburg study and experimental data. *Clin. Chem*. 2007;53:693–701.
31. Valkonen V.P, Paiva H, Salonen J.T, et al. Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine, *Lancet*. 2001;358:2127–2128.
32. Leong T, Zylberstein D, Graham I, et al. Asymmetric dimethylarginine independently predicts fatal, nonfatal myocardial infarction, stroke in women 24-year follow-up of the population study of women in Gothenburg, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2008;28:961–967.

33. Voils SA, Cooper-DeHoff RM. Association between high sensitivity C-reactive protein and metabolic syndrome in subjects completing the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2009-10. *Diabetes Metab Syndr*. 2014;8:88-90.
34. da Cruz LL, Cardoso LD, Pala D, et al. Metabolic syndrome components can predict C reactive protein concentration in adolescents. *Nutr Hosp*. 2013;28:1580-1586.
35. DeBoer MD, Gurka MJ, Sumner AE. Diagnosis of the metabolic syndrome is associated with disproportionately high levels of high-sensitivity C-reactive protein in non-Hispanic black adolescents: an analysis of NHANES 1999-2008. *Diabetes Care*. 2011;34:734-740.
36. Ridker P.M, Cushman M, Stampfer M.J, Tracy R.P, Hennekens C.H. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med*. 1997;336:973-979.
37. Rost N.S, Wolf P.A, Kase C.S, et al. Plasma concentration of C-reactive protein and risk of ischemic stroke and transient ischemic attack: the Framingham study. *Stroke*. 2001;32:2575-2579.
38. Ridker P.M, Buring J.E, Shih J, Matias M, Hennekens C.H. Prospective study of C-reactive protein and the risk of future cardiovascular events among apparently healthy women. *Circulation*. 1998;98:731-733.
39. Goldstein L.B, Bushnell C.D, Adams R.J, et al. Guidelines for the primary prevention of stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2011;42:517-584.
40. Perk J, De Backer G, Gohlke H, et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The fifth joint task force of the European Society of Cardiology and other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Eur Heart J*. 2012;33:1635-1701.

Association of metabolic syndrome with endothelial progenitor cell levels and asymmetric dimethylarginine in prediabetes

A. Angelidi ^{1,2}, A. Kaziani ², T. Sergentanis ³, S. Matsagos ⁴, I. Protopsaltis ¹, N. Kanellias ², C. Sagia ², G. Christofilidis ², G. Kranidiotis ², Melidonis ^{1,2}

¹ Diabetes Center, Tzaneion General Hospital, Piraeus, Greece, ² First Department of Internal Medicine, Tzaneion General Hospital, Piraeus, Greece, ³ Department of Epidemiology and Biostatistics, Athens University Medical School, Athens, Greece, ⁴ Blood Bank Service, Tzaneion General Hospital, Piraeus, Greece

ABSTRACT

Background: Metabolic syndrome is a cluster of cardiometabolic risk factors associated with endothelial dysfunction and increased cardiovascular risk. Asymmetric dimethylarginine (ADMA), an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, is associated with reduced nitric oxide (NO) production. ADMA has evolved as a possible novel marker of endothelial dysfunction and atherosclerosis in humans. Endothelial progenitor cells (EPCs) have recently been considered as a potential novel biomarker of vascular integrity, atherosclerosis and cardiovascular risk.

Aim: The purpose of the study was to investigate the association between metabolic syndrome with ADMA and EPC levels in individuals with prediabetes.

Materials - Methods: Fifty-three subjects with newly diagnosed prediabetes free from overt cardiovascular or renal disease were enrolled. Flow cytometry was used to quantify EPCs (CD34+VEGFR-2+CD133+). Traditional risk factors, high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) and anthropometric parameters were recorded.

Results: At the univariate analysis, metabolic syndrome was significantly and positively associated with hs-CRP (6.50±5.86 vs 2.93±3.28 mg/L, p=0.017), insulin (29.0±19.5 vs 16.2±2.4 pmol/L, p=0.04), HOMA-IR (7.26±4.64 vs 4.04±0.63, p=0.015), ADMA (0.79±0.16 vs 0.66±0.11 μmol/L, p=0.009) while a negative association was observed between metabolic syndrome and C-peptide levels (2.86±2.34 vs 3.71±1.64 ng/mL, p=0.038). No statistical difference was documented between metabolic syndrome and EPCs (p=0.634).

However, at the multivariate ordinal logistic regression analysis, only ADMA (increment=0.1μmol/L, OR=6.30,p=0.002) and hs-CRPM (increment=1mg/L, OR=1.78,p=0.017) retained their statistical significance.

Conclusions: The presence of MS in prediabetes probably induces endothelial dysfunction and increased cardiovascular risk through its association with inflammation and the increased levels of ADMA.

Keywords: endothelial progenitor cells, asymmetric dimethylarginine, metabolic syndrome, prediabetes

Citation

A. Angelidi, A. Kaziani, T. Sergentanis, S. Matsagos, I. Protopsaltis, N. Kanellias, C. Sagia, G. Christofilidis, G. Kranidiotis, Melidonis. Association of metabolic syndrome with endothelial progenitor cell levels and asymmetric dimethylarginine in prediabetes. *Scientific Chronicles* 2014;19(2): 160-170.