

Endokrynologia Pediatria Pediatric Endocrinology

Status chemokin CCL2/MCP-1 oraz CXCL10/IP-10 u dzieci i młodzieży z mikroangiopatią cukrzycową

The Status of the CCL2/MCP-1 and CXCL10/IP-10 Chemokines in Children and Youths with Type 1 Diabetes Mellitus

¹Katarzyna Zorena, ²Małgorzata Myśliwiec, ¹Jolanta Myśliwska, ²Anna Balcerska, ³Piotr Wiśniewski, ¹Marta Kula, ⁴Dorota Raczyńska

¹Zakład Immunologii, ²Oddział Diabetologii Dziecięcej Kliniki Pediatrii, Hematologii, Onkologii i Endokrynologii, ³Klinika Endokrynologii i Chorób Wewnętrznych, ⁴Katedra i Klinika Chorób Oczu Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

¹Department of Immunology, ²Diabetological Department at Clinic of Paediatrics, Haematology, Oncology and Endocrinology of the Medical University of Gdańsk, ³Department of Endocrinology and Internal Medicine, ⁴Department and Clinic of Ophthalmology Medical University of Gdańsk

Adres do korespondencji: Katarzyna Zorena, Zakład Immunologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, Dębinki 1, 80-210 Gdańsk, e-mail: kzorena@gumed.edu.pl

Słowa kluczowe: cukrzyca typu 1, dzieci i młodzież, zapalenie, CCL2/MCP-1, CXCL10/IP10
Key words: type 1 diabetes mellitus, children and youths, inflammation, CCL2/MCP-1, CXCP-10/IP-10

STRESZCZENIE/ABSTRACT

Wstęp. Nieliczne badania wskazują, na zaangażowanie chemokin w proces zapalenia u pacjentów z cukrzycą typu 1, prowadzący do rozwoju przewlekłych powikłań naczyniowych. **Cel badań.** Ocena poziomu chemokin CCL2/MCP-1 oraz CXCL10/IP10 w surowicy krwi u dzieci i młodzieży z długotrwałą cukrzycą typu 1. **Pacjenci i metody.** Badania przeprowadzono w grupie 85 dzieci i młodzieży (39 dziewcząt, 45 chłopców) z długotrwałą cukrzycą typu 1, pozostających pod opieką Oddziału Diabetologii Dziecięcej Kliniki Pediatrii, Hematologii, Onkologii i Endokrynologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Grupę kontrolną stanowiło 24 zdrowych dzieci i młodzieży. W badanej grupie pacjentów z cukrzycą wykonano badania biochemiczne oraz przeprowadzono całodobowy pomiar ciśnienia krwi, jak też badania okulistyczne. Stężenie poziomu CCL2/MCP-1 oraz CXCL10/IP10 w surowicy krwi pacjentów oraz grupy kontrolnej oznaczono metodą immunoenzymatyczną ELISA. **Wyniki.** Wyniki badań wykazały, że pacjenci z długotrwałą cukrzycą typu 1 oraz powikłaniami mikronaczyniowymi cechują się dłuższym czasem trwania choroby, znamienne wyższym poziomem HbA_{1c}, wyższym poziomem białka C-reaktywnego, wyższym poziomem wydalanych albumin z dobowej zbiórki moczu oraz wyższym ciśnieniem skurczowym i rozkurczowym, natomiast istotnie niższym wiekiem zachorowania na cukrzycę typu 1 w porównaniu z grupą dzieci bez objawów mikroangiopatii cukrzycowej. Ponadto wykazaliśmy dodatnią korelację białka CCL2/MCP-1 z czasem trwania choroby, poziomem HbA_{1c}, jak też z białkiem CRP. Natomiast badając poziom chemokiny CXCL10/IP10 stwierdziliśmy istotnie niższy poziom tej chemokiny u pacjentów z mikroangiopatią cukrzycową w odniesieniu do grupy pacjentów bez

powikłań mikronaczyniowych. **Wnioski.** Wstępne badania wskazują na zaburzenie równowagi pomiędzy chemokiną CCL2/MCP-1 a CXCP-10/IP-10. Wydaje się, że produkcja antyangiogennej CXCP-10/IP-10 jest niewystarczająca, aby zrównoważyć ekspansję białek zapalnych CCL2/MCP-1 oraz CRP. Jednakże potrzebne są dalsze badania, aby wykazać status tych chemokin u pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1. Endokrynol. Ped. 9/2010;4(33):9-18.

Introduction. Only a few research studies have indicated the involvement of chemokines in the inflammatory process leading to the development of chronic vascular complications in patients with type 1 diabetes mellitus. **Research aim.** To assess the level of the CCL2/MCP-1 and CXCL10/IP10 chemokines in the blood serum of children and youths with type 1 diabetes mellitus. **Patients and methods.** The tests were carried out on a group of 84 children and youths (39 girls, 45 boys) with type 1 diabetes mellitus who were being treated at the Children's Diabetology Department at the Clinic of Paediatrics, Haematology, Oncology and Endocrinology at Gdańsk Medical University. The control group consisted of 24 healthy children and youths. In the tested group of patients with diabetes, biochemical tests were conducted along with 24-hour measurement of blood pressure and ophthalmological examinations. The concentration of the level of CCL2/MCP-1 and CXCL10/IP10 in the blood serum of patients and control group was determined by the ELISA immuno-enzymatic method. **Results.** The results of our research indicate that patients with diabetes and micro-vascular complications are characterised by a longer duration of the disease, a significantly higher level of HbA1c, a higher level of C-reactive protein, a higher level of albumin excretion from the 24-hour urine collection and higher systolic and diastolic blood pressure but a significantly lower age of contracting type 1 diabetes in comparison to the group of children without diabetic microangiopathy. Furthermore, we showed a positive correlation between the CCL2/MCP-1 protein and the duration of the disease with the level of HbA1c and also with the CRP protein. On the other hand, we determined a lower level of the CXCL10/IP10 chemokine in patients with microangiopathy in relation to the group of patients without microvascular complications. **Conclusions.** Our initial research indicates a disturbance in the balance between the CCL2/MCP-1 and CXCP-10/IP-10 chemokines. It seems that production of the anti-angiogenic CXCP-10/IP-10 is insufficient to balance the expansion of the inflammatory CCL2/MCP-1 proteins and also CRP. However, further research is needed in order to show the status of these chemokines in patients with type 1 diabetes mellitus. *Pediatr. Endocrinol.* 9/2010;4(33):9-18.

Wstęp

Zarówno badania eksperymentalne jak i kliniczne wskazują, że hiperglikemia pełni rolę centralnego czynnika w indukcji późnych powikłań naczyniowych. Powstające w wyniku jej działania na komórki śródbłonna wolne rodniki tlenowe (*reactive oxygen species*, ROS), końcowe produkty glikacji białek (*advanced glycation products*, AGE) wraz ze wzmożonym tworzeniem angiotensyny II (ANGII) należą do wczesnych, bezpośrednich konsekwencji niedoboru insuliny [1–2]. Dalszy aktywny etap zmian patologicznych wiąże się z procesem zapalnym [3]. Kluczowymi czynnikami procesu zapalnego, najpierw lokalnego a potem uogólnionego, w cukrzycy są cytokiny, chemokiny, czynniki wzrostu, a także białka dopełniacza [4–6]. W ostatnich latach ukazało się wiele badań wykazujących rolę cytokin, czynników wzrostu w rozwoju i progresji mikroangiopatii u dzieci i młodzieży z długotrwałą cukrzycą typu 1 [7–10]. Jednakże pomimo zaangażowania wielu ośrodków badawczych patomechanizm powikłań mikronaczyniowych nie jest do końca poznany.

W świetle ostatnich badań ukazały się prace wskazujące na zaangażowanie chemokin w kaskadę zapalenia, prowadzące do rozwoju przewlekłych

powikłań naczyniowych [11–14]. Chemokiny są to cytokiny podobne do siebie pod względem budowy, oddziałujące chemotaktycznie oraz aktywującą na różne populacje leukocytów poprzez receptory związane z białkami G [11]. W ostatnim 10-leciu zostało wykrytych około 50 chemokin i wykazano, że niektóre z nich mają wpływ na rozwój i progresję późnych powikłań cukrzycowych [12–13]. Dlatego w niniejszym badaniu podjęliśmy próbę oceny poziomu CCL2/MCP-1 oraz CXCL10/IP10 w surowicy krwi u dzieci i młodzieży z długotrwałą cukrzycą typu 1.

Pacjenci i metody

Badania przeprowadzono w grupie 84 dzieci i młodzieży (39 dziewcząt, 45 chłopców) z długotrwałą cukrzycą typu 1, pozostających pod opieką Oddziału Diabetologii Dziecięcej Kliniki Pediatrii, Hematologii, Onkologii i Endokrynologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Cukrzycę typu 1 rozpoznano na podstawie kryteriów American Diabetes Association [15]. Grupę kontrolną stanowiło 24 zdrowych dzieci i młodzieży. Dawka dobową insuliny humanizowanej, którą otrzymywały dzieci z cukrzycą typu 1, wynosiła $0,87 \pm 0,21$ j/kg wagi ciała. Stopień wyrównania

metabolicznego cukrzycy oceniono na podstawie stężenia hemoglobiny glikozylowanej (HbA_{1c}) oznaczonego w surowicy krwi metodą immunoturbidymetryczną (Hoffmann-La Roche AG, Basel, Szwajcaria). Poziom białka CRP oznaczono testem wysokiej czułości (HsCRP) firmy Beckman Instr. Inc, Ireland. U wszystkich pacjentów oceniono dobowe wydalanie albumin w moczu metodą immunoturbidymetryczną przy użyciu testu Tina-quant® (Boehringer Mannheim GmbH, Germany). Jako mikroalbuminurię określono wydalanie albumin w moczu w granicach 30–299 mg/dobę w dwóch spośród trzech próbek jałowego moczu, zebranego w ciągu 6 miesięcy od chorych z wyrównaną cukrzycą bez cech klinicznych i laboratoryjnych kwasicy ketonowej. U wszystkich badanych dzieci i u młodzieży z przewlekłą cukrzycą typu 1 wykonano badanie okulistyczne. Badanie dna oka przeprowadzono po podaniu kropli 1% Sol. Tropicaid, soczewką +90D firmy Okular Instruments – USA. Oceny przedniego odcinka gałki ocznej dokonano lampą szczelinową (Topcon SL-8Z – Japonia). U pacjentów chorujących dłużej niż 5 lat oraz po uprzednim badaniu dna oka wykonano angiografię fluoresceinową (FL-A) kamerą cyfrową Topcon Imagenet 2000 (Japonia). Analizę obrazu dna oczu badanych dzieci przeprowadzono wg obowiązującej klasyfikacji [16]. Ponadto wykonano 24-godzinny pomiar ciśnienia tętniczego Holtera (ABPM). Średnie wartości ciśnienia tętniczego oceniono w oparciu o siatki centylowe [17].

Pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 podzielono na dwie grupy: z powikłaniami mikronaczyniowymi ($n = 37$) oraz bez powikłań mikronaczyniowych ($n = 47$). W grupie pacjentów z mikroangiopatią cukrzycową u 24 stwierdzono retinopatię nieproliferacyjną, u 33 – mikroalbuminurię, natomiast u 22 – nadciśnienie tętnicze. Parametry kliniczne i biochemiczne badanych grup przedstawiono w tabelach I i II. Grupę kontrolną stanowiło 24 zdrowych dzieci i młodzieży, u których na podstawie wywiadu, badania klinicznego, badań biochemicznych wykluczono cukrzycę jak też inne choroby. Na realizację badań będących przedmiotem pracy uzyskano zgodę rodziców i/lub opiekunów oraz Niezależnej Komisji Bioetycznej do Spraw Badań Naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym (NKEBN/204/2009).

Stężenie poziomu CCL2/MCP-1 oraz CXCL10/IP10 w surowicy krwi pacjentów oraz grupy kontrolnej oznaczono metodą immunoenzymatyczną ELISA, przy zastosowaniu zestawów Human Quantikine R&D; Minneapolis, MN, USA wg procedury producenta.

Analiza statystyczna. Analizy danych dokonano przy pomocy pakietu komputerowego Statistica 8.1 firmy StatSoft, Kraków, Polska. Zgodność rozkładu badanych zmiennych z rozkładem normalnym badano testem Shapiro–Wilka. Do porównania średnich stosowano test t–Studenta oraz test U Manna–Whitneya. Za poziom istotności statystycznej w pracy przyjęto $p < 0,05$.

Tabela I. Porównanie grupy pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 oraz grupy kontrolnej

Table I. Comparison of patients with type 1 diabetes mellitus and the control group

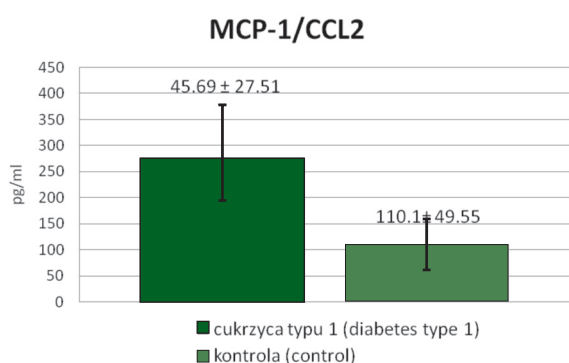
Parametry kliniczne	Pacjenci z długotrwałą cukrzycą typu 1	Kontrola	p
Liczba (n)	84	24	–
Wiek (lata)	14,07 ± 3,84	14,34 ± 4,35	0,009
Wiek zachorowania (lata)	8,11 ± 3,75	–	–
Czas trwania choroby (lata)	5,06 ± 3,5	–	–
Ciśn. skurcz. krwi (mmHg)	113 ± 10	106 ± 8	< 0,001
Ciśn. rozkurcz. krwi (mmHg)	71 ± 8	62 ± 6	< 0,001
HbA _{1c} (%)	8,23 ± 1,77	0,87 ± 0,43	< 0,001
CRP (mg/ml)	1,69 ± 1,46	0,52 ± 0,4	< 0,001
Kreatynina (mg/dl)	0,75 ± 0,14	0,68 ± 0,18	0,008
Albuminy z dobowej zbiórki moczu (mg/24 h)	18,93 ± 14,82	3,97 ± 0,88	< 0,001

NS – nieistotne statystycznie

Wyniki

Parametry kliniczne dzieci z cukrzycą typu 1 oraz kontrolnej grupy dzieci zdrowych

U dzieci i młodzieży z długotrwałą cukrzycą typu 1 wykazano statystycznie znamienne wyższe ciśnienie zarówno skurczowe, jak też rozkurczowe, wyższy poziom HbA_{1c}, białka C-reaktywnego oraz wyższe dobowe wydalanie albumin z moczem w porównaniu z grupą dzieci zdrowych. Ponadto w grupie pacjentów z cukrzycą wykazano wyższy poziom chemokin CCL2/MCP-1 oraz CXCL10/IP10 w porównaniu ze zdrową grupą kontrolną [tabela I],[rycina 1].



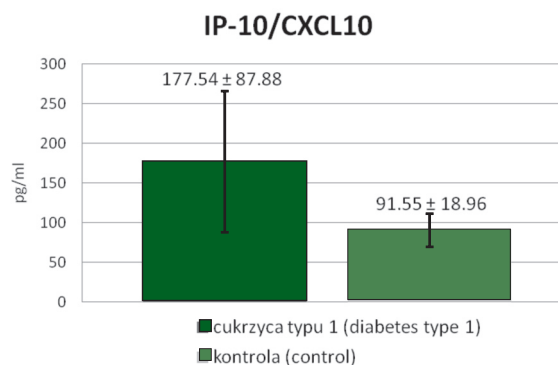
Ryc. 1. Poziom białka CCL2/MCP-1 u pacjentów z cukrzycą typu 1 oraz w grupie dzieci zdrowych

Fig. 1. Level of CCL2/MCP-1 in patients with type 1 diabetes mellitus and control group

Charakterystyka kliniczna pacjentów z mikroangiopatią oraz bez mikroangiopatii cukrzycowej oraz zdrowej grupy kontrolnej

Dzieci i młodzież z przewlekłą cukrzycą typu 1 z rozpoznaną mikroangiopatią cukrzycową cechowały się statystycznie znamionym dłuższym czasem trwania choroby, wyższym poziomem HbA_{1c}, CRP, wyższym dobowym wydalaniem albumin w moczu oraz wyższym ciśnieniem skurczowym i rozkurczowym, natomiast istotnie niższym wiekiem zachorowania na cukrzycę typu 1 w porównaniu z grupą dzieci bez objawów mikroangiopatii cukrzycowej. Wykazano również statystycznie znamienne wyższe poziomy HbA_{1c}, białka CRP, wyższy poziom dobowego wydalania albumin w moczu oraz wyższe ciśnienie skurczowe i rozkurczowe u pacjentów z mikroangiopatią w porównaniu z grupą dzieci zdrowych. Także grupę pacjentów bez powikłań mikroangiopatii cechowały istotnie wyższe poziomy HbA_{1c}, białka C-reaktywnego, wyższe dobowe wydalanie albumin w moczu, jak też

ciśnienie skurczowe i rozkurczowe krwi w porównaniu z dziećmi zdrowymi [tabela II].

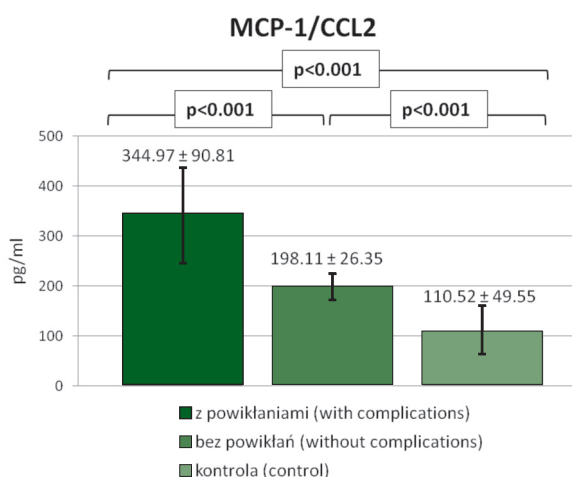


Ryc. 2. Poziom białka CXCL10/IP10 u pacjentów z cukrzycą typu 1 oraz w grupie dzieci zdrowych

Fig. 2. Level of CXCL10/IP10 in patients with type 1 diabetes mellitus and control group

Poziom badanych chemokin CCL2/MCP-1 oraz CXCL10/IP10 w surowicy krwi pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 oraz w grupie dzieci zdrowych

Poziom CCL2/MCP-1 w surowicy krwi był statystycznie znamienne wyższy u pacjentów z objawami mikroangiopatii cukrzycowej w porównaniu z grupą pacjentów bez powikłań mikroangiopatii oraz ze zdrową grupą kontrolną ($344,97 \pm 90,81$ pg/ml vs $198,11 \pm 26,35$ vs $110,52 \pm 49,55$, $p < 0,001$). Wykazano również istotnie znamienne ($p < 0,001$) wyższy poziom białka CCL2/MCP-1 porównując grupę pacjentów z cukrzycą typu 1 ale bez powikłań, z grupą dzieci zdrowych [rycina 3].



Ryc. 3. Poziom CCL2/MCP-1 u pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 oraz w grupie kontrolnej

Fig. 3. Level of CCL2/MCP-1 in patients with type 1 diabetes mellitus and control group

Tabela II. Porównanie pacjentów z powikłaniami i bez powikłań mikronaczyniowych oraz grupą kontrolną
Table II. Comparison between patients with and without diabetic vascular complications and the control group

	Pacjenci z cukrzycą typu 1		Kontrola	p
	z powikłaniami	bez powikłań		
Liczba (n)	37	47	24	–
Powikłania R/N/NT	24/33/22	–	–	–
Wiek (lata)	14,26 ± 3,61	14,6 ± 3,84	14,34 ± 4,36	p = NS* p = NS** p = NS***
Wiek zachorowania (lata)	6,84 ± 3,45	8,63 ± 3,76	–	p = 0,003*
Czas trwania choroby (lata)	7,76 ± 3,61	3,99 ± 2,82	–	p < 0,001*
Ciśnienie skurczowe krwi (mmHg)	120 ± 9	111 ± 9	106 ± 8	p < 0,001* p < 0,001** p = 0,005***
Ciśnienie rozkurczowe krwi (mmHg)	76 ± 8	69 ± 8	62 ± 6	p < 0,001* p < 0,001** p < 0,001***
HbA _{1c} (%)	8,89 ± 1,65	7,96 ± 1,75	0,87 ± 0,43	p < 0,001* p < 0,001** p < 0,001***
CRP (mg/ml)	1,93 ± 1,25	1,59 ± 1,53	0,52 ± 0,39	p = 0,008* p < 0,001** p < 0,001***
Kreatynina (mg/dl)	0,79 ± 0,12	0,74 ± 0,14	0,68 ± 0,18	p = 0,015* p < 0,001** p = NS***
Albuminy z dobowej zbiórki moczu (mg/24 h)	39,94 ± 24,72	10,47 ± 7,59	3,97 ± 0,88	p < 0,001* p < 0,001** p < 0,001***

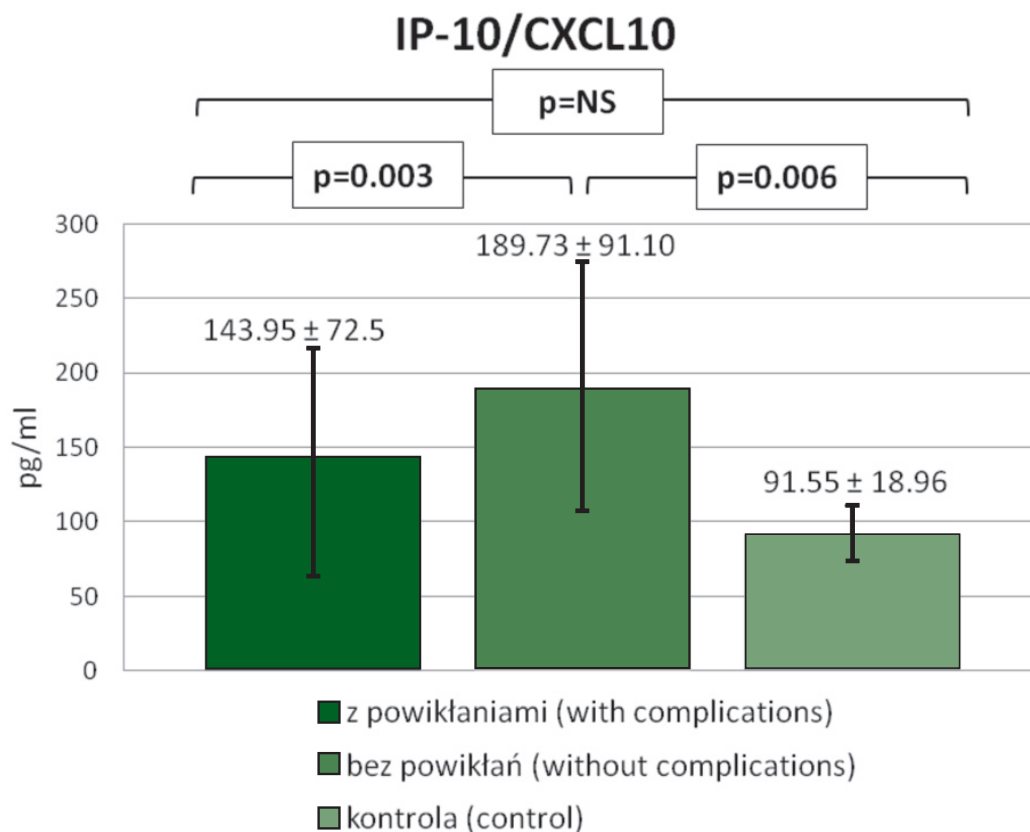
R – retinopatia, N – nefropatia, NT – nadciśnienie tętnicze

* Porównanie grupy pacjentów z powikłaniami i bez powikłań; ** Porównanie pacjentów z powikłaniami z grupą kontrolną; *** Porównanie grupy pacjentów bez powikłań z grupą kontrolną

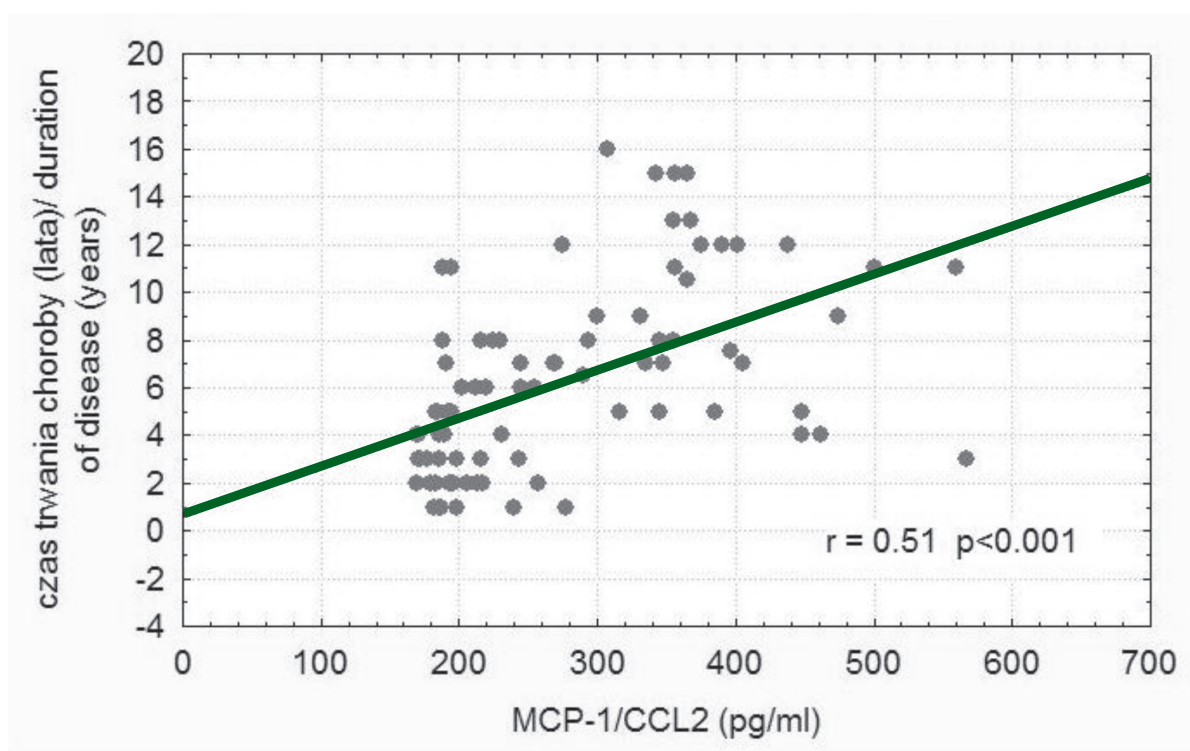
Natomiast poziom białka CXCL10/IP10 w surowicy krwi w badanej grupie pacjentów z mikroangiopatią cukrzycową był statystycznie znacznie niższy ($143,95 \pm 75,5$ vs $189,73 \pm 91,10$, $p = 0,003$) w porównaniu z grupą pacjentów bez powikłań mikronaczyniowych. Nie zaobserwowano różnic istotnie statystycznych porównując grupę pacjentów z mikroangiopatią cukrzycową ze zdrową grupą kontrolną ($143,95 \pm 75,5$ vs $91,55 \pm 18,96$, $p = NS$). Z kolei wykazano istotnie wyższy poziom CXCL10/IP10 w surowicy krwi u pacjentów bez powikłań mikronaczyniowych w odniesieniu do zdrowej grupy kontrolnej ($189,73 \pm 91,10$ vs $91,55 \pm 18,96$, $p = 0,006$) [rycina 4].

Analiza statystyczna jednoczynnikowa pomiędzy poziomem CCL2/MCP-1 oraz CXCL10/IP10 a badanymi parametrami klinicznymi

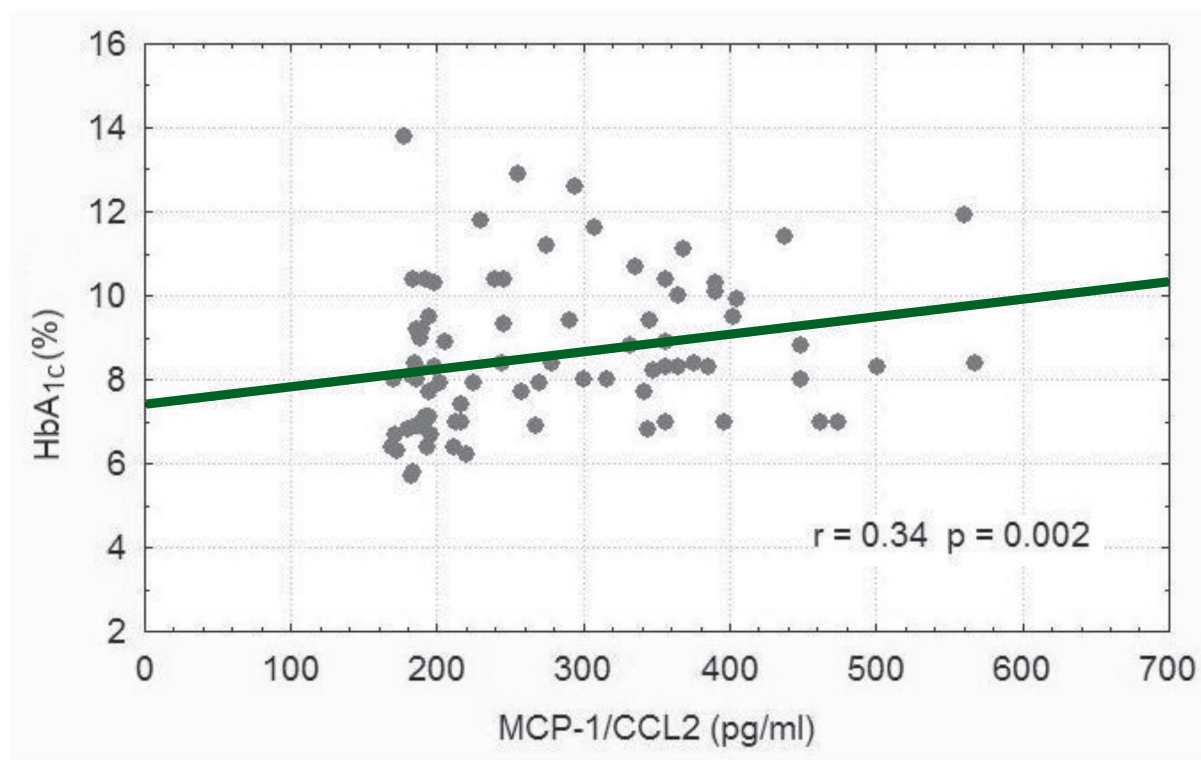
Wykazano statystycznie znaczącą dodatnią korelację pomiędzy poziomem CCL2/MCP-1 a czasem trwania choroby, poziomem HbA_{1c} oraz między CCL2/MCP-1 a poziomem białka C-reaktywnego [rycina 5–7]. Ponadto wykazano ujemną istotnie znaczącą korelację pomiędzy białkiem CXCL10/IP10 a czasem trwania cukrzycy [rycina 8].



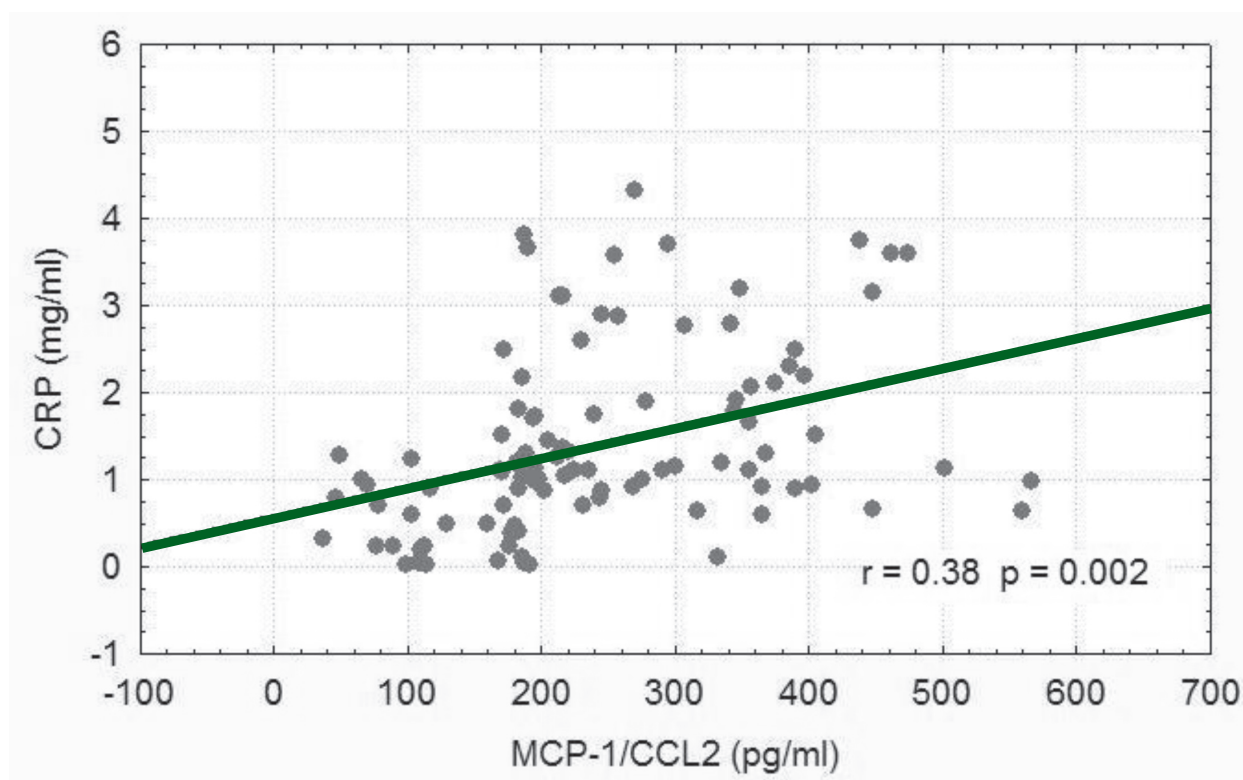
Ryc. 4. Poziom CXCL10/IP10 u pacjentów z długotrwałą cukrzycą oraz w grupie kontrolnej
Fig. 4. Level of CXCL10/IP10 in patients with type 1 diabetes mellitus and control group



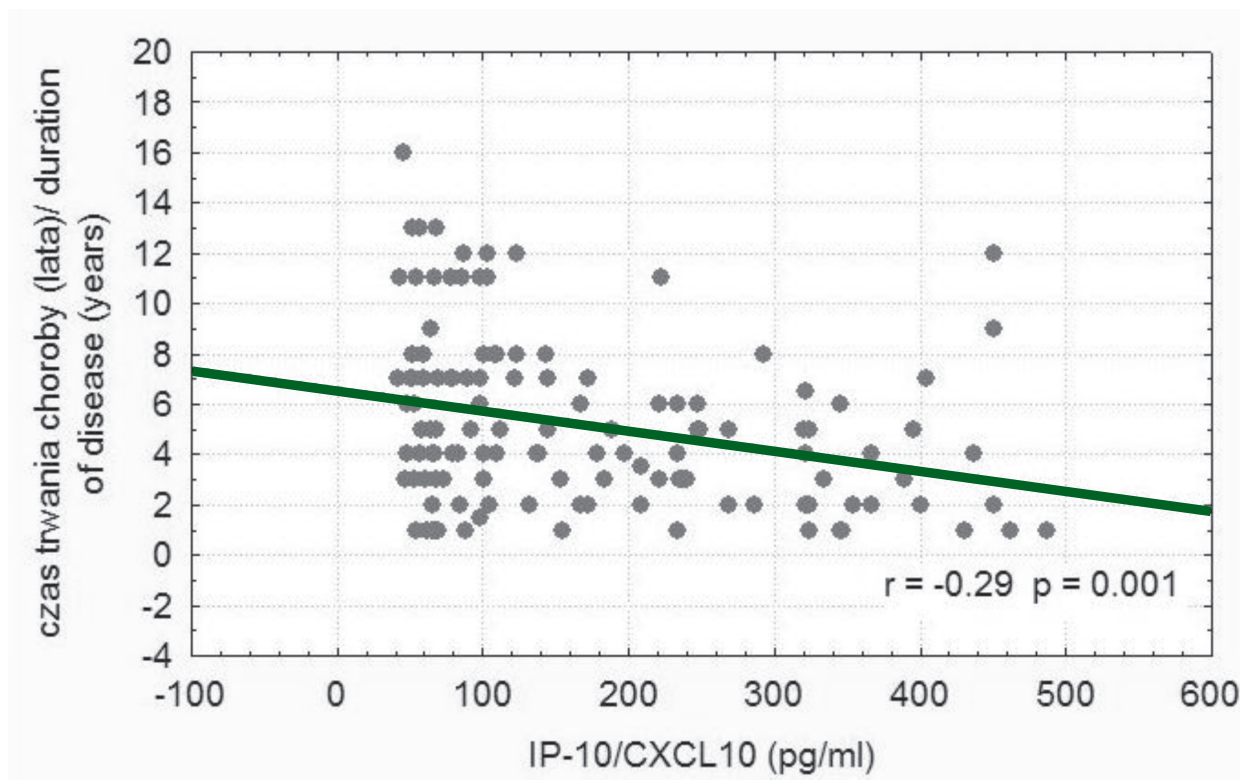
Ryc. 5. Korelacje pomiędzy czasem trwania cukrzycy a poziomem CCL2/MCP-1 u pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1
Fig. 5. Correlation between duration of disease and CCL2/MCP-1 in patients with type 1 diabetes mellitus



Ryc. 6. Korelacje pomiędzy poziomem HbA1c a poziomem CCL2/MCP-1 u pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1
Fig. 6. Correlation between HbA1c and CCL2/MCP-1 in patients with type1 diabetes mellitus



Ryc. 7. Korelacje pomiędzy poziomem białka C-reaktywnego a poziomem CCL2/MCP-1 u pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1
Fig. 7. Correlation between C-reactive protein and CCL2/MCP-1 in patients with type1 diabetes mellitus



Ryc. 8. Korelacje pomiędzy białkiem CXCL10/IP10 a czasem trwania cukrzycy u pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1
Fig. 8. Correlation between duration of disease and CXCL10/IP10 and in patients with type1 diabetes mellitus

Dyskusja

Zdrowy organizm dąży do utrzymania perfekcyjnej równowagi pomiędzy czynnikami pro- i antyzapalnymi, pro- i antyangiogennymi. Natomiast zaburzenia interakcji pomiędzy komórkami odpowiedzi zapalnej oraz towarzysząca temu nasiloną ekspresją molekuł adhezyjnych, uwalnianie enzymów proteolitycznych, czynników wzrostowych, toksycznych pochodnych tlenu, białek ostrej fazy prowadzą do zaburzenia równowagi pomiędzy czynnikami pobudzającymi a hamującymi wzrost naczyń włosowatych [3]. Takie zburzenie równowagi pomiędzy cytokinami TNF a IL12 wykazaliśmy u młodych pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1 [18]. Obecnie celem naszych badań była ocena poziomu chemokin CCL2/MCP-1 oraz CXCL10/IP10 w surowicy krwi u dzieci i młodzieży z długotrwałą cukrzycą typu 1 oraz mikroangiopatią cukrzycową.

Wyniki naszych badań wykazały, że pacjenci z długotrwałą cukrzycą typu 1 oraz z objawami powikłań mikronaczyniowych wykazują się dłuższym czasem trwania choroby, znamienne wyższym poziomem HbA_{1c}, wyższym poziomem białka C-reaktywnego, wyższym poziomem wydalanych albumin z dobowej zbiórki moczu oraz wyższym

ciśnieniem skurczowym i rozkurczowym, natomiast istotnie niższym wiekiem zachorowania na cukrzycę typu 1 w porównaniu z grupą dzieci bez objawów mikroangiopatii cukrzycowej. Ponadto stwierdzono statystycznie znamienne wyższy poziom CCL2/MCP-1 u pacjentów z mikroangiopatią cukrzycową w porównaniu z grupą pacjentów bez powikłań mikronaczyniowych, jak też wyższy w odniesieniu do zdrowej grupy kontrolnej. Dodatkowo korelacja CCL2/MCP-1 z czasem trwania choroby, jak też z poziomem HbA_{1c}, wskazuje na zaangażowanie tej chemokiny w rozwój i/lub progresję mikroangiopatii cukrzycowej. Jak wykazano w dużych badaniach epidemiologicznych Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) oraz United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) oraz w próbach eksperymentalnych, kluczowymi determinantami uszkodzenia tkanek w cukrzycy są czas trwania cukrzycy oraz nasilenie hiperglikemii [19–20]. Nasze wyniki korespondują z badaniami Chiarelli i wsp., którzy wykazali podwyższone poziomy MCP-1 i HbA_{1c} u pacjentów z nefropatią cukrzycową [20]. Hernández i wsp. oraz Abu EL-Asrar stwierdzili również wyższe poziomy tej chemokiny w cieple szklistym u pacjentów z retinopatią proliferacyjną [21–22].

Dalsza nasza analiza statystyczna wykazała dodatnią korelację poziomu CCL2/MCP-1 z białkiem C-reaktywnym w grupie pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1. Wyniki te świadczą o toczącym się procesie zapalnym u badanych pacjentów z cukrzycą typu 1. Badania Khreiss i wsp. a ostatnio również Hebecker i wsp. dowiodły, że w ustroju człowieka występuje zarówno forma natywna białka C-reaktywnego, jak i postać monomeryczna, która jest czynnikiem prozapalnym i zwiększającym adhezję granulocytów obojętnochłonnych do komórek śródbłonna [23–24]. Ponadto białko C-reaktywne nasila syntezę białka chemotaktycznego dla monocytów CCL2/MCP-1, zmniejsza biodostępność tlenu azotu oraz bierze udział w aktywacji składowych dopełniacza [11]. Z drugiej strony MCP-1 indukuje aktywację i migrację monocytów/makrofagów, granulocytów zasadochłonnych, limfocytów CD4 oraz komórek NK. W następstwie ich aktywacji dochodzi do wytwarzania cytokin, czynników wzrostu, czynników transkrypcyjnych, prowadzących m.in. do zwiększenia wydzielania białek ostrej fazy, modulując dalszy przebieg reakcji zapalnej [14]. Hiperglikemia również indukuje przewlekły proces zapalny, w którego wyniku zmianie ulega regulacja napięcia i przepuszczalności naczyń oraz wzrasta aktywność pozakrzepowa śródbłonna.

Rosnące dowody sugerują, że chemokina CXCL10, czyli chemoatraktant CD4+Th1, zwany także białkiem IP-10, jest patogenetycznie zaangażowany w kilka chorób autoimmunologicznych, jak reumatoidalne zapalenie stawów czy też cukrzycę typu 1 [13–14]. Brak informacji o potencjalnym związku chemokiny CXCP-10/IP-10 z powikłaniami mikronaczyniowymi zainspirował nasz zespół do zbadania tego proangiogenego białka w surowicy krwi dzieci i młodzieży z długotrwałą cukrzycą

typu 1. Co ciekawe, wyniki naszych badań wykazały istotnie statystycznie niższy poziom tej chemokiny CXCL10/IP10 w badanej grupie pacjentów z mikroangiopatią ($p = 0,003$) w porównaniu z grupą pacjentów bez powikłań mikronaczyniowych. Natomiast nie zaobserwowano różnic istotnie statystycznych porównując poziom białka IP-10 w surowicy krwi w grupie pacjentów z mikroangiopatią cukrzycową ze zdrową grupą kontrolną. Jednakże w grupie pacjentów z cukrzycą typu 1 wykryliśmy wyższy poziom białka CXCP-10/IP-10 w odniesieniu do grupy dzieci zdrowych. W badaniach Xin i wsp. autorzy wykazali, że poziom białka CXCP-10/IP-10 u nowo diagnozowanych pacjentów był istotnie wyższy niż u osób z okresem choroby dłuższym niż dwa lata ($p < 0,01$) [25]. Również badania Nicoletti i wsp. są zgodne z badaniami chińskich badaczy [26]. Chemokina IP-10 była częstsza i o wyższych stężeniach zarówno u pacjentów z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1, jak i u osób z wysokim ryzykiem choroby.

Reasumując, nasze wstępne badania wskazują na zaangażowanie chemokin CCL2/MCP-1 w proces zapalenia. Natomiast produkcja antyangiogennej chemokiny CXCP-10/IP-10 wydaje się niewystarczająca do zahamowania reakcji zapalnej i może być jedną z przyczyn rozwoju mikroangiopatii cukrzycowej. Potrzebne są jednak dalsze badania, aby wykazać rolę tych chemokin u pacjentów z długotrwałą cukrzycą typu 1.

Podziękowania: Praca została wykonana w ramach badań ST-28. Kierownik: prof. dr hab. med. Jolanta Myśliwska, oraz ST-56, kierownik: prof. dr hab. med. Krystyna Raczyńska

Konflikt interesów: Autorzy pracy nie zgłaszają konfliktu interesów.

REFERENCES/PÍSMIENICTWO

- [1] Nicolls M.R., Haskins K., Flores S.C.: Oxidant stress, immune dysregulation, and vascular function in type I diabetes. *Antioxid Redox Signal.*, 2007;9, 879-889.
- [2] Yonekura H., Yamamoto Y., Sakurai S. et al.: Roles of the Receptor for Advanced Glycation Endproducts in Diabetes-Induced Vascular Injury. *J. Pharmacol. Sci.*, 2005;97, 305-311.
- [3] Naldini A., Carraro F.: Role of inflammatory mediators in angiogenesis. *Current Drug Targets – Inflammation & Allergy*, 2005;4, 3-8.
- [4] Wright R.J., Newby D.E., Stirling D. et al.: Effects of acute insulin-induced hypoglycemia on indices of inflammation: putative mechanism for aggravating vascular disease in diabetes. *Diabetes Care*, 2010;33, 1591-1597.
- [5] Chatzigeorgiou A., Harokopos V., Mylona-Karagianni C. et al.: The pattern of inflammatory/anti-inflammatory cytokines and chemokines in type 1 diabetic patients over time. *Ann Med.*, 2010;42, 426-438.
- [6] King G.L.: The role of inflammatory cytokines in diabetes and its complications. *J. Periodontol.*, 2008;79(8 Suppl), 1527-1534.
- [7] Wolkow P.P., Niewczas M.A., Perkins B. et al.: Association of urinary inflammatory markers and renal decline in microalbuminuric type 1 diabetics. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2008;19, 789-797.

- [8] Myśliwiec M., Balcerska A., Zorena K. et al.: The role of vascular endothelial growth factor, tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 in pathogenesis of diabetic retinopathy. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 2008;79, 141-146.
- [9] Zorena K., Myśliwska J., Myśliwiec M. et al.: Modulatory factors responsible for neoangiogenesis in young patients with long-standing diabetes mellitus type 1. *Recent. patents Endocr. Metabol. Immun. Drug Disc.*, 2009;3, 144-149.
- [10] Zorena K., Myśliwska J., Myśliwiec M. et al.: Serum TNF-alpha level predicts nonproliferative diabetic retinopathy in children. *Mediators Inflamm.*, 2007;2007, 92196.
- [11] Ruster C., Wolf G.: The role of chemokines and chemokine receptors in diabetic nephropathy. *Front Biosci*, 2008;13, 944-45.
- [12] Zineh I., Beitelshes A.L., Silverstein J.H. et al.: Serum monocyte chemoattractant protein-1 concentrations associate with diabetes status but not arterial stiffness in children with type 1 diabetes. *Diabetes Care*, 2009;32, 465-467. Erratum in: *Diabetes Care*, 2010; 33, 2486.
- [13] Christen U., Von Herrath M.G.: IP-10 and type 1 diabetes: a question of time and location. *Autoimmunity*, 2004;37, 273-282.
- [14] Romagnani P., Lasagni L., Annunziato F. et al.: CXC chemokines: the regulatory link between inflammation and angiogenesis. *Trends Immunol.*, 2004;25, 201-209.
- [15] American Diabetes Association: Diagnosis and Classification of Diabetes. *Diabetes Care*, 2010;33, 62-69.
- [16] Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Classification of diabetic retinopathy from fluorescein angiograms: ETDRS report number 11. *Ophthalmology*, 1991;98 (Suppl), 807-822.
- [17] The fourth report on the diagnosis, evaluation and treatment of high blood pressure in children and adolescent. *Pediatrics*, 2004;114 Suppl. 24th Report, 555-576.
- [18] Zorena K., Myśliwska J., Myśliwiec M. et al.: Interleukin-12 and tumour necrosis factor-alpha equilibrium is a prerequisite for clinical course free from late complications in children with type 1 diabetes mellitus. *Scand. J. Immunol.*, 2008;67, 204-208.
- [19] Murray P., Chune G.W., Raghavan V.A.: Legacy effects from DCCT and UKPDS: what they mean and implications for future diabetes trials. *Curr. Atheroscler. Rep.*, 2010;12, 432-439.
- [20] Chiarelli F., Cipollone F., Mohn A. et al.: Circulating monocyte chemoattractant protein-1 and early development of nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetes Care*, 2002;25, 1829-1834.
- [21] Abu El-Asrar A.M., Struyf S., Kangave D. et al.: Chemokines in proliferative diabetic retinopathy and proliferative vitreoretinopathy. *Eur. Cytokine Netw*, 2006;17, 155-165.
- [22] Hernández C., Segura R.M., Fonollosa A. et al.: Interleukin-8, monocyte chemoattractant protein-1 and IL-10 in the vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Diabet Med.*, 2005;22, 719-722.
- [23] Khreiss T., József L., Potempa L.A. et al.: Conformational rearrangement in C-reactive protein is required for proinflammatory actions on human endothelial cells. *Circulation*, 2004;109, 2016-2022.
- [24] Hebecker M., Okemefuna A.I., Perkins S.J. et al.: Molecular basis of C-reactive protein binding and modulation of complement activation by factor H-related protein 4. *Mol. Immunol.*, 2010;47, 1347-1355.
- [25] Xin Y., Zhao Y.Q., Zhao Y.X. et al.: The changes of serum interferon-inducible protein-10 levels in children with type 1 diabetes mellitus. *Zhonghua Er Ke Za Zhi*, 2007;45, 853-855.
- [26] Nicoletti F., Conget I., Di Mauro M. et al.: Serum concentrations of the interferon-gamma-inducible chemokine IP-10/CXCL10 are augmented in both newly diagnosed Type I diabetes mellitus patients and subjects at risk of developing the disease. *Diabetologia*, 2002;45, 1107-1110.