

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**Anyagcsere markerek jelentősége alacsony fokú, krónikus - és akut
gyulladásos kórképekben**

Dr. Juhász Imre Zoltán

Témavezető: Prof. Dr. Paragh György



DEBRECENI EGYETEM

EGÉSZSÉGTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2023.

Anyagcsere markerek jelentősége alacsony fokú, krónikus - és akut gyulladáisos kórképekben

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
Egészségtudományok tudományágban*

Írta: **Dr. Juhász Imre Zoltán**
belgyógyász szakorvos

Készült a Debreceni Egyetem Egészségtudományok doktori iskolája
anyagcsere és endokrin betegségek megelőzése és kontrollja program keretében

Témavezető: **Prof. Dr. Paragh György**

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Balázs Margit, az MTA doktora
tagok: Prof. Dr. Ilyés István, az MTA doktora
Prof. Dr. Somogyi Anikó, az MTA doktora

A doktori szigorlat időpontja: 2023. 11.28. 11:00
Debreceni Egyetem ÁOK, Belgyógyászati Intézet „A” Épület könyvtára

Az értekezés bírálói:

Prof. Dr. Bodolay Edit, az MTA doktora
Prof. Dr. Márk László, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Balázs Margit, az MTA doktora
tagok: Prof. Dr. Bodolay Edit, az MTA doktora
Prof. Dr. Márk László, PhD
Prof. Dr. Ilyés István, az MTA doktora
Prof. Dr. Somogyi Anikó, az MTA doktora

Az értekezés védésének időpontja: 2023. 11.28. 14:00
Debreceni Egyetem ÁOK, Belgyógyászati Intézet „A” Épület előadóterme

1. Bevezetés

Az WHO (World Health Organization, Egészségügyi világszervezet) definíciója alapján túlsúlyról akkor beszélünk, ha a beteg BMI-je (body mass index, testtömeg index = a kilogrammokban kifejezett testsúly és a négyzetméterben kifejezett testfelület hányadosa) 25-29.9 kg/m². Amennyiben a beteg testtömeg indexe 30-34.9 kg/m² mérsékelt vagy I. fokú, 35-39.9 kg/m² esetén súlyos vagy II. fokú, 40 kg/m² felett pedig extrém, III. fokú elhízásról beszélünk. Elhízás akkor alakul ki, ha a szervezet energiafelvétele hosszabb távon meghaladja a szervezet energiaigényét. Az utóbbit három tényező határozza meg: a leggyakrabban az Owen-formula segítségével kiszámolt alapanyagcsere, a fizikai aktivitás és a barna zsírszövetben zajló, az energiát hő formájában felszabadító adaptív termogenezis.

Az elhízás egy multifaktoriális állapot, hátterében genetikai okok (pl. Prader-Willi szindróma, leptin- és leptin receptor deficiencia) demográfiai és életmódbeli tényezők (pl. rassz, iskolázottsági fok, étkezési szokások, ülő életmód), endokrin zavarok (leggyakrabban hipotireózis, Cushing szindróma), gyógyszerhatás (pl. szteroidok, antipszichotikumok, antidepresszánsok), valamint az életkorral bekövetkező változások egyaránt állhatnak.

Az inkább férfiakra jellemző centrális (android/alma típusú) elhízás, a metabolikusan aktív, számos hormont termelő viscerális zsírsejtek miatt - a hölgyekre jellemző csípőre lokalizálódó perifériás (gynoid/körte típusú) elhízással szemben - fokozza a kardiovaszkuláris rizikót. Elhízás során jelentős anyagcsere változások következnek be: többek között megváltozik a zsírsejtek által termelt hormonok (adipokinek) összetétele és szintje, diszlipidémia, fokozott oxidatív stressz, mitokondriális diszfunkció, az endoplazmatikus retikulum működészavara, krónikus, alacsony fokú gyulladás és inzulin-rezisztencia alakul ki. Utóbbi alatt a szövetek endogén/exogén inzulinra adott csökkent választását értjük.

Az inzulin-rezisztencia végül manifeszt 2-es típusú cukorbetegség kialakulásához vezet, melyre gyakran rutin vérvétel során derül fény vagy a klasszikus tünetek megjelenése (poliuria, polydipszia, niktúria, fogyás) hívja fel rá a figyelmet. A cukorbetegség diagnózisának felállítása a klinikai tünetek, a 3 havi átlagos vércukorszintről információt adó HbA1c (hemoglobin A1c), az éhomi és random vércukor szint mérése, valamint OGTT (orális glükóz tolerancia teszt) révén történik. Diabétesz mellitusról akkor beszélünk, ha a HbA1c $\geq 6.5\%$, ha az éhomi - legalább 8 órás éhezés után mért - vércukor érték ≥ 7 mmol/l vagy az étkezéstől függetlenül bármikor mért vércukor szint ≥ 11.1 mmol/l.

A 2-es típusú cukorbetegség etiológiai tényezői és rizikófaktorai nagy mértékben átfednek az obezitás kialakulásában szerepet játszó tényezőkkel és rizikófaktorokkal. Nem megfelelő glikémiás kontroll esetén kialakulnak a diabétesz mikrovaszkuláris- és makrovaszkuláris szövődményei (mikrovaszkuláris szövődmények: retinopathia, nephropathia, neuropathia, makrovaszkuláris szövődmények: agyi keringészavar, átmeneti agyi ischaemiás roham, stroke, ischaemiás szívbetegség, perifériás artériás betegség), zavart szenved a sejt- és a celluláris immunitás, a szervezet akut fertőzésre adott válaszreakciója, fokozódik a szepszis kockázata és romlik a prognóza.

A szepszis hátterében - cukorbetegekben is - főleg bakteriális, ritkábban virális és gomba okozta fertőzések állnak, a diagnózis felállítása pedig a SIRS (systemic inflammatory response syndrome, szisztémás gyulladáshoz válaszreakció) vagy a qSOFA (quick Sequential Organ Failure Assessment score) és SOFA (Sequential Organ Failure Assessment score) kritériumok segítségével történik.

SIRS használata esetén akkor állítható fel a szepszis diagnózisa, ha a 4 SIRS kritériumból (pulzus $> 90/\text{min}$, testhőmérséklet $> 38\text{ }^\circ\text{C}$ vagy $< 36\text{ }^\circ\text{C}$, légzésszám $> 20/\text{min}$ vagy artériás szén-dioxid koncentráció = $\text{PaCO}_2 < 32\text{ Hgmm}$, fehérvérsejt szám $> 12\text{ G/l}$ vagy $< 4\text{ G/l}$ vagy $> 10\%$ éretlen alak) legalább 2 teljesül és az állapotromlás hátterében infektív ok merül fel/egyértelmű infekció áll. Amennyiben a SIRS alapján szepszisben szervi elégtelenség/hipoperfúzió vagy hipotónia is jelen van súlyos szepsziszről, adekvát folyadékterápia ellenére fennálló hipotóniával járó állapot esetén pedig szepszisről beszélünk.

qSOFA score használatakor amennyiben a 3 kritériumól (megváltozott tudatállapot, légzésszám $\geq 22/\text{min}$, szisztolés vérnyomás $\leq 100\text{ Hgmm}$) legalább 2 teljesül és a SOFA score alapján (vizsgált SOFA paraméterek: artériás oxigén koncentráció/belélegzett levegő oxigén tartalma = $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$, artériás középnyomás = MAP, bilirubin szint, kreatinin szint, Glasgow kóma skála szerinti tudatállapot = GCS, thrombocita szám) célszervkárosodás is fennáll (SOFA score ≥ 2 pont) a szepszis diagnózisa felállítható. Abban az esetben, ha a SOFA score alapján szepszisben szervi elégtelenség mellett katekolamin támogatásra is szorul (a MAP $\geq 65\text{ Hgmm}$ fenntartásához) és laktát szintje emelkedett ($\geq 2\text{ mmol/l}$) szepszisről beszélünk. Amennyiben a qSOFA score < 2 , de szepszis gyanúja továbbra is fennáll meg kell határozni a célszervkárosodás mértékét, azaz ki kell számolni a beteg SOFA score-ját. qSOFA < 2 érték esetén - amennyiben szepszis nem valószínű - a szepszis diagnózisa kizárható, az állapotromlás hátterében pedig egyéb okok keresendők.

2016 óta több cikk is megjelent melyben a SIRS, qSOFA és SOFA hatékonyságát próbálták összehasonlítani, azonban az eredmények korántsem voltak egyértelműek, sőt egyes vizsgálatok a qSOFA szenzitivitását alacsonyabbnak találták a korábban preferált SIRS kritériumokhoz képest. Részben az előbbieket miatt a 2016-os ajánlások nem teljes körűen elfogadottak és mind a mai napig számos országban a korábbi SIRS kritériumokat preferálják a szepszis diagnózisának felállításához.

A szepszis kialakulásának fő rizikófaktorai a cukorbetegségen túl az előrehaladott életkor (≥ 65 év), a korábbi kórházi kezelés (főleg a megelőző 90 napon belül, intenzív osztályos kezelés, nozokomiális infekciók, közösségben szerzett tüdőgyulladás), az immunszuppresszióval járó állapotok fennállása (pl. daganatos betegség, vese- és májelégtelenség, AIDS, splenectómia) és a genetikai hajlamosító tényezők jelenléte.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. Epidemiológia

Az obezitás, valamint az elhízáshoz gyakran társuló cukorbetegség, modern korunk legjelentősebb egészségügyi problémái közé tartoznak.

A túlsúlyosak és obezek száma világszerte nő. Egyes tanulmányok szerint a világ összlakosságának megközelítően egyharmada túlsúlyos vagy elhízott. Az elhízás incidenciája magas-jövedelmű országokban inkább tetőzni látszik, szemben az alacsony- és közepes jövedelmű országokkal, ahol egyértelmű incidenciamelkedés figyelhető meg. Az Európai Unió országaiban az előbbiekhöz hasonló tendencia jellemző, az elhízás férfiaknál, az idősebb generáció tagjainál és városokban lakóknál gyakoribb. Egy 2015-ös Magyarországi vizsgálat szerint a túlsúly prevalenciája férfiaknál 40%, nőknél 32%, míg az elhízás prevalenciája mindkét nemben 32% volt, az életkor előrehaladtával pedig mindkét nemnél jelentősen nőtt az előfordulása. A túlsúly leginkább felsőfokú végzettségű férfiaknál, az obezitás főleg alacsony képzettségű nőknél fordult elő. A túlsúly és az elhízás ráadásul a magyar gyermekek körében is egyre gyakoribb. Az obezitás jelentősen fokozza a mortalitást, és ennek nagy részéért kardiovaszkuláris okok, valamint tumoros betegségek felelősek. Az elhízásban észlelhető egyik leggyakoribb anyagcsere eltérés az inzulin rezisztencia fokozódása, mely 2-es típusú diabetes kialakulását eredményezi.

A cukorbetegségek száma - az obezitáshoz hasonlóan - világszerte növekvő tendenciát mutat. Európában már 2013-ban is közel 56 millióan szenvedtek cukorbetegségben, egyes előrejelzések szerint 2035-re pedig akár a 66 millió főt is meghaladhatja a diabéteszes betegek száma. Magyarországon végzett tanulmányok szintén növekvő incidenciáról számolnak be. 2-es típusú diabéteszes betegek esetén a mortalitás és morbiditás jelentős részéért szintén a kardiovaszkuláris szövődmények felelősek.

Egy 2016-ban publikált metaanalízis szerint a szeptikus betegek száma 31.5 millióra, a súlyos szepszisben szenvedőké pedig 19.4 millióra volt tehető globális szinten évente, a szepszissel összefüggő éves halálozás pedig meghaladta az 5 millió főt. Egy másik cikk szerint 2017-ben a szepszis a globális összhálaózás 19.7%-ért volt felelős. Annak ellenére, hogy a megjelent publikációkban az incidenciam- és mortalitási adatok igen eltérőek, abban a legtöbb szerző egyetért, hogy a szepszis továbbra is jelentős részben felelős a globális mortalitásért.

2.2. Anyagcsere változások obezitásban, alacsony fokú, krónikus gyulladás és inzulin-rezisztencia kialakulása

2.2.1. Adipokinek és hepatokinek

Adipokinek

Az emberi zsírszövet számos endokrin, parakrin és autokrin hatással rendelkező ún. adipokinek termelésén keresztül komoly szereppel bír a homeosztázis fenntartásában és szabályozásában. Az adipokinek között vannak proatherogén és antiatherogén hatással bíró változatok is, mennyiségük pedig jelentősen függ a viscerális zsírszövet mennyiségétől, az elhízás mértékétől.

Az egyik legrégbben ismert adipokin az adiponektin, melynek szintje jól korrelál az inzulin-érzékenységgel: minél magasabb a szintje annál jobb a szövetek inzulinra adott válasza. Az adiponektin az AMPK (AMP-aktivált protein-kináz) és PPAR- α (peroxiszóma proliferátor-aktivált receptor) aktiválásán keresztül javítja az inzulin-érzékenységet, így fokozza a szabad zsírsav oxidációt és glükóz felvételt izomban és csökkenti a hepatikus glükóz termelését. Az adiponektin ezen túl direkt hat a β sejt funkcióra és anti-apoptotikus hatást fejt ki. Hatására a májban csökken a zsírsavtranszportért felelős CD36 (cluster of differentiation) expressziója, az erekben csökken az adhézions molekulák száma, fokozódik az endotheliális nitrogén-oxid termelés és az angiogenezis, gátolja továbbá a monocita-habos sejt átalakulást. Obezitásban a szervezet adiponektin szintje alacsonyabb, mint normál testsúly esetén.

A leptin gátolja a hypothalamusban található NPY/AgRP (neuropeptid Y) neuronok működését, serkenti továbbá a POMC (pro-opiomelanocortin) neuronokat, emelve ezzel az alfa-MSH (melanocita stimuláló hormon) és CART (CART = kokain és amfetamin regulált transzkript) szinteket, ami együttesen étvágycsökkenéshez vezet. Proatherogén faktorként számos módon fejt ki hatását: serkenti a vazokonstriktor endothelin 1 termelését, indukálja az érfal simaizom sejtjeinek migrációját, proliferációját és az érfali sejtek kalcifikációját, stimulálja a gyulladást sejteteket, fokozza a zsírszöveti makrofágok TNF α (tumor nekrosis faktor- α), IL-6 (interleukin 6), IL-12 (interleukin 12) termelését, növeli a ROS (reaktív oxigén gyökök) szintjét és így hozzájárul az alacsony fokú gyulladás kialakulásához. A leptin szintje a szervezet zsírszövetével egyenesen arányosan változik, elhízás során mennyisége a vérben jelentősen megnő.

A rezisztint főleg a makrofágok és monociták termelik. Gyulladásos citokinek hatására fokozódik a termelése és önmaga is fokozza a proinflammatorikus citokinek termelését. A rezisztin rontja az inzulin jelátvitelt, fokozza a glükoneogenezist, glikogenezist és csökkenti a glükóz felvételt.

Hepatokinek

A máj - a zsírszövethez hasonlóan – autokrin, parakrin és humorális hatással bíró fehérjéket termel, melyeknek szintén nagy szerepük van az inzulin-rezisztencia és az obezitáshoz társuló anyagcsere változások kialakulásában (pl. afamin, fetuin-A, FGF21).

Afamin

Az utóbbi években a hepatokinek közül az afamin került a figyelem középpontjába. Az afamin az albumin családba tartozó, máj által termelt, de az emberi ovárium folliculusokban és a liquorban is megtalálható glikoprotein, mely speciális α - és γ -tokoferol kötő helyekkel rendelkezik ezért kiemelkedő szereppel bír az E vitamin metabolizmusban. Az emberi afamin gént hordozó egerekre - szemben a gént nem hordozó társaikkal - nagyobb súly, valamint magasabb lipid és glükóz szintek jellemzők. Az afamin szintje emelkedett elhízásban és metabolikus szindrómában, és a koncentrációja jól korrelál a metabolikus szindróma elemeivel obezekben és 2-es típusú cukorbetegekben (csípőkorfogát, BMI, triglicerid, glükóz, LDL = low-density lipoprotein, alacsony denzitású lipoprotein). Hasonló eredmények figyelhetők meg policisztás ovárium szindrómában szenvedő betegeknél is. Egy multicentrikus vizsgálat során szignifikáns pozitív korrelációt találtak a 2-es típusú diabétesz incidenciája és prevalenciája és az afamin szintek között egy másik tanulmány alapján pedig felmerült az afamin szerepe, mint a máj lipid tartalmának potenciális biomarkere 2-es típusú diabéteszben. Az afamin anti-apoptotikus és anti-oxidáns hatásának köszönhetően fontos szerepet játszik oxidatív stressz során: fokozott oxidatív stresszel járó kórképekben (pl. metabolikus szindróma, 2-es típusú diabétesz mellitus, obezitás) szintje jelentősen emelkedik.

Ovárium rákban szenvedő betegeknél az afamin szint szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyult, egyes vizsgálatok pedig szignifikáns összefüggést találtak az afamin szint és a várható kimenetel között petefészekes rákos betegeknél. Ezzel szemben jóindulatú nőgyógyászati kórképekben (pl. endometriózisban) az afamin szint hasonló csökkenést nem mutatott.

Az afamin az előbbieken túl neuroprotektív hatású és egyes neurológiai kórképekben (pl. Alzheimer-kór, sclerosis multiplex) felmerül a szerepe, mint esetleges biomarker.

Szövődménymentes terhességben az afamin szintje közel kétszeresére emelkedik, majd szülés után szinte azonnal visszatér a terhesség előtti értékre. Preeclampsziában az afamin koncentrációja szignifikánsan magasabb, mint szövődménymentes terhesség során. Az előbbieken alapján az afaminnak jelentős prognosztikai értéke is van egyes terhességi kórképekben.

Fetuin A

Az Ahsg gén által kódolt fetuin A-t legnagyobb mennyiségben a máj termeli, de kisebb mértékben a placentában és zsírszövetben is megtalálható. A fetuin A szintje szignifikánsan magasabb 2-es típusú cukorbetegekben, nem alkoholos zsírmáj esetén és atherosclerosisban. A szabad zsírsavak és glükóz emelkedett koncentrációja az NF- κ B (nukleáris faktor kappa B) és ERK-1/ERK-2 (extracelluláris szignál-regulált kináz) útvonalakon keresztül fokozott fetuin A expresszióhoz vezet. A fetuin A gátolja az inzulin-receptor tirozin-kináz működését, a TLR4 (toll-like receptor 4) ligandjaként fokozza a proinflammatorikus választ, növeli a gyulladásos citokinek termelését monocitákban és zsírszövetben, valamint gátolja az adiponektin termelését, így fontos szerepet tölt be az obezitáshoz társuló inzulin-rezisztencia kialakulásában.

FGF21 (fibroblaszt növekedési faktor 21)

A 209 aminosavból álló FGF21 kedvező hatással van az oxidatív stresszre, az endoplazmatikus retikulum működészavarára, mitokondriális diszfunkcióra, az obezitásban megfigyelhető krónikus, alacsony fokú gyulladásra, lassítja a nem-alkoholos zsírmáj progresszióját, javítja az inzulin-érzékenységet. A TNF α gátolja az FGF21 termelését.

2.2.2. Diszlipidéma

2.2.2.1. Lipid anyagcsere egészséges, nem obez egyéneknél

A koleszterin és triglicerid nemcsak a sejtmembrán strukturális elemei, hanem fontos szerepet töltenek be mint jelátvivő molekulák és energiaforrásként is szolgálnak. Szállításuk a szervezetben - tekintettel arra, hogy nem vízoldékonyak - speciális módon például lipoproteinek által történik. A trigliceridben gazdag lipoproteineket a bél kilomikronok vagy a máj VLDL (very-low-density lipoprotein, nagyon alacsony denzitású lipoprotein) formájában juttatja a keringésbe. Az emésztőrendszerbe jutott zsírok a pancreas lipáz által történt lebomlás után a bélből felszívódnak, majd kilomikronok formájában jutnak el a keringésben a célszervekig (zsírszövet és izom), ahol az endothelen található LPL (lipoprotein-lipáz) hatására hidrolizálódnak, belőlük nem észterifikált zsírsavak keletkeznek, melyet a sejtek felvesznek. A lipoprotein lipázt döntően a zsír és izomszövet termeli, a szintézis és szabályozás pedig az inzulin által irányított folyamatok: jóllakott állapotban inzulin hatására az LPL aktivitás fokozódik a zsírszövetben és párhuzamosan csökken az izomban. A máj inzulin hatására képes zsírsavakból és glicerolból triglicerid előállítására, mely VLDL formájában jut a keringésbe. A folyamathoz szükséges zsírsavak a keringésből vagy de novo lipidszintézisből származnak. Az inzulin a májban

a májsejt membránban található SREBF1-en (sterol regulatory element-binding transcription factor 1) keresztül aktiválja a de novo lipidszintézisben résztvevő géneket. A zsírsavak keringésből történő felvétele a májba egy nem szabályozott folyamat, melynek ütemét a plazma szabadzsírsav koncentrációja határozza meg: amennyiben a VLDL képzéshez és kiválasztáshoz képest nagyobb mennyiségű zsírsav kerül felvételre akkor az zsír depozitumok formájában kerül tárolásra. Éhezés során glukagon hatására a triglicerid lebontása indul meg a HSL (hormon-szenzitív lipáz) által, a folyamatban pedig nem-észterifikált zsírsavak keletkeznek, amik energiaforrásként szolgálnak.

2.2.2.2. Lipid anyagcsere változásai obezitásban

Elhízás során proatherogén diszlipidémiá alakul ki, melyet a szérum triglicerid, FFA (free fatty acid, szabadzsírsav) szint emelkedés, a HDL (high-density lipoprotein, nagy denzitású lipoprotein) szintek csökkenése és a kicsi denz oxidációra hajlamos LDL szint növekedése jellemez. Inzulin-rezisztenciában és 2-es típusú diabéteszben az obezitáshoz hasonló módon alakul a lipidösszetétel. A megemelkedett plazma FFA szint a szénhidrát-anyagcsere szabályozásában fontos szerepet játszó szövetek általi fokozott zsírfelvételt eredményez (pl- izom, máj, pancreas). Az FFA-k a sejtbe való bejutás után aktiválódnak a koenzim A kapcsolódása által, ami LCACoA (long-chain acyl-CoA, hosszú láncú acetil-koenzim A) képződéshez vezet. Az aktivált zsírsavak LCACoA formájában a de novo lipidszintézis szubsztrátjai lesznek vagy β -oxidáción mennek keresztül a mitokondriumban. A sejtek zsírsavoxidációs képességének túllépése miatt a mitokondriumban lipidek halmozódnak fel, mely lipotoxicitáshoz és következményes inzulin-rezisztenciához vezet: a túlzott mennyiségben keletkező LCACoA-k a protein-kináz C olyan izoformáit aktiválják, amik az IRS-1 (inzulin receptor szubsztrát 1) szerin foszforilációjához vezetnek, így gátolva a PI3K (foszfatidilinozitol-3-kináz) kötését és aktivációját. Korábban az inzulin-rezisztencia kialakulásában a triacilglicerolok szerepét valószínűsítették, napjainkban azonban az inzulin jelátviteli útban szereplő enzimekre direkt ható, biológiailag aktív lipidek kerültek a figyelem középpontjába (LCACoA, Cer -ceramidok, DAG - diacilglicerol).

A fokozott VLDL termelés és a trigliceridben gazdag lipoproteinek csökkent lebontása következményes hypertrigliceridémiát hoz létre. Mivel a triglicerid lebontása során képződő lipid részecskék és apolipoproteinek a HDL prekurzorai, károsodik a HDL érése, csökken a képződése és következményes HDL szint csökkenés jön létre. A HDL fő antiatherogén hatását a reverz koleszterin transzport révén fejt ki, mely során a perifériás sejtekből a koleszterin a májba, onnan pedig kiválasztásra kerül. A folyamat az ApoA-I (apolipoprotein A-I) szekréciójával indul a májból és a bélből, majd az ABCA-1-el való kölcsönhatás révén foszfolipidek és koleszterol kerülnek felvételre. Az LCAT (lecitin-koleszterol-aciltranszferáz) hatására észterifikálódik a koleszterol és koleszterin-észter jön létre, mely a HDL belső részébe

kerül, így biztosítja a felszínen az újabb koleszterol észterifikációját. Ezáltal megváltozik a HDL struktúrája, gömb alakúvá válik. A CETP (koleszterin-észter transzfer protein) révén a HDL trigliceridben gazdag részecskékkel lép interakcióba. A trigliceridben gazdag részecskékről a CETP trigliceridet juttat át a HDL-re, míg a HDL-ről koleszterin-észtert az LDL és VLDL részecskékre. A folyamat végén a SR-BI (scavenger receptor class B type I) receptoron keresztül a koleszterin eltávolításra kerül a májban. A HDL-nek az előbbieken túl anti-inflammatorikus, antithrombotikus és anti-oxidáns hatása is van. Az obezekben nagyobb mennyiségben jelenlévő CETP növeli a HDL triglicerid tartalmát és csökkenti a koleszterin-észter tartalmát, ennek következtében a HDL kisebb, denzebb lesz, könnyebben metabolizálódik és ez is a HDL szint csökkenéséhez vezet. Elhízásban a CETP hatására nemcsak a HDL termelése csökken, hanem fokozódik az immár trigliceridben gazdag HDL hepatikus-lipáz általi clearance is. Az előbbieken túl az LDL összetétel is változik: a trigliceridben gazdag LDL hepatikus-lipáz általi lipolízise fokozódik, melynek eredményeként nő a kicsi denz LDL képződése.

2.2.3. Mitokondriális diszfunkció, oxidatív stressz és az ER (endoplazmatikus retikulum) működészavara

Mitokondriális diszfunkció alatt a mitokondrium szám, a sűrűség és funkció csökkenését értjük. A mitokondrium a glükóz- és zsírsav metabolizmus központi intracelluláris szerve, a működés csökkenése hozzájárul az FFA és lipid felhalmozódáshoz. Némely zsírsav anyagcsere terméke (pl. DAG) gátolja az inzulin jelátviteli utat, a fokozott FFA és glükóz kínálat a mitokondriumban - a hipoxiával együtt ROS felhalmozódáshoz vezet. A ROS a PKC (protein kináz C), JNK (c-Jun N-terminális kináz) és NF- κ B aktiváción keresztül gátolja az inzulin jelátvitelt, valamint aktiválja a TNF- α útvonalat is. Az máig nem teljesen egyértelmű, hogy a mitokondium diszfunkció vezet-e inzulin rezisztenciához vagy éppen fordítva.

Az endoplazmatikus retikulum működészavara szabálytalan protein struktúrák (UPR, unfolded proteins) kialakulását, UPR target gének transzkripcióját és az inzulin érzékenység csökkenését eredményezi.

2.2.4. Alacsony fokú, krónikus gyulladás

Az obezitásban megfigyelhető, alacsony fokú krónikus gyulladást leukocitózis és proinflammatorikus citokin túlsúly jellemzi. A gyulladós folyamat direkt (az IRS tirozin foszforizációjának kompetitív gátlása, IRS-1/PI3K/Akt jelátviteli út gátlása) és egyéb indirekt (csökkent PPAR-gamma expresszió, az inzulin jelátvitel indirekt gátlása révén lipolízist és a szabadzsírsav szintet fokozva) módokon járul hozzá az inzulin-rezisztencia kialakulásához. Az intracelluláris gyulladós jelátviteli utak aktiválódásáért a megváltozott adipocitokin szintek, diszlipidémia, mitokondriális diszfunkció, oxidatív

stressz, az endoplazmatikus retikulum működészavara és a proinflammatorikus citokinek együttesen felelősek.

A TNF- α -t makrofágok, monociták, zsír- és izomszövet egyaránt termelik. A TNF- α a p55 receptoron keresztül hatva gátolja az inzulin jelátviteli útban szereplő IRS-1, valamint a PPAR γ működését (fokozódik az IRS szerin-kinázok általi foszforilációja), gátolja a GLUT4 (glükóz transzporter 4-es típus) membránba történő transzlokációját, csökkenti a zsírsav és glükóz metabolizmust, valamint az adiponektin koncentrációt. A TNF- α segíti egyéb proinflammatorikus citokinek termelését (pl. IL1, IL6) a zsírszöveti makrofágokban, aktiválja az NF- κ B út vonalat és fokozza az oxidatív stresszt a zsírszövetben. Részből az NF- κ B út vonal aktiválása felel a pancreas β sejteinek gyulladásáért és következményes csökkent inzulin termelésért. Obezekben a TNF- α szintje emelkedett, így fontos szerepet játszik az inzulin-rezisztencia kialakulásában.

Az IL6 csökkenti az inzulin receptor expressziót, az adiponektin szintet és zavarja az inzulin jelátviteli utat az inzulin receptor és IRS1 foszforiláción keresztül.

Az IKK β (inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit beta)/NF- κ B az egyik fontos gyulladásos jelátviteli út vonal: az IKK β az IRS-1 foszforilációján keresztül képes gátolni az inzulin jelátvitelét zsírszövetben.

Az előbbieken túl a zsírsavak általi TLR-4 receptor aktiváció IRS foszforilációt és az inzulin jelátviteli út zavarát, a TLR-4/NF- κ B út vonal aktiválódása pedig proinflammatorikus citokinek termelését okozza.

Obezitasban a zsírszövet fokozott makrofágok általi infiltrációja figyelhető meg. Ezek a makrofágok - a zsírszövethez képest - sokkal aktívabban termelnek TNF- α -t és proinflammatorikus citokineket. A zsírszöveti makrofágok 2 típusa ismert: az első a jelentős IL 12 (interleukin 12), iNOS (nitrogén-monoxid szintáz), MHC II (fő hisztonkompatibilitási komplex II) expresszióval, alacsony arináz és IL-10 (interleukin 10) termeléssel jellemezhető, proinflammatorikus M1 típus, a második az inkább anti-inflammatorikus sajátságokkal bíró M2 típus. Obezitásban az M1 típusú makrofágok dominanciája jellemző.

Jelenlegi ismereteink alapján nem teljesen egyértelmű, hogy a gyulladás vezet-e inzulin-rezisztenciához vagy éppen fordítva.

2.2.5. Inzulin-rezisztencia

Az elhízás jelentősen megnöveli az inzulin-rezisztencia és 2-es típusú diabétesz kialakulásának esélyét. Az inzulin-rezisztencia hátterében a fentebb említett folyamatok, a megváltozott adiponektin szint és összetétel, diszlipidémia, mitokondriális diszfunkció, oxidatív stressz és az endoplazmatikus retikulum működészavara miatt kialakuló alacsony fokú, krónikus gyulladás áll.

2.2.5.1. Inzulin jelentősége és hatása a szervezetben

Az inzulint a hasnyálmirigy β sejtjei termelik, hatására fokozódik a glükózfelvétel, glükózfelhasználás (oxidáció), glikogenezis, lipogenezis és protein szintézis, gátlódik a glükoneogenezis-, glikogenolízis, protein lebontás- és lipolízis. Az inzulin az inzulin receptor alfa alegységéhez kötődik, ami receptor autofoszforilációt és az IRS foszforilációját eredményezi. Utóbbi a PKB (protein-kináz B)/Akt aktivációjához vezet, melynek hatására GLUT4 épül be a sejtmembránba fokozva a glükózfelvételt. Az inzulin az előbbieken túl foszforilálja az SCH proteint (Sch adapter fehérje), ami a MAPK (mitogén aktivált protein-kináz)/RAS útvonalon keresztül sejtproliferációhoz és sejtnövekedéshez vezet.

A zsírsavanyagcserére hatva az inzulin fokozza a lipogenezist és gátolja a lipolízis folyamatát. Inzulin hatására nő a lipoprotein-lipáz aktivitása, ami fokozza a keringésben lévő TAG (triacil-glicerol), kilomikron és VLDL hidrolízisét, lehetővé téve a szabad zsírsavak sejtbe történő felvételét. Intracellulárisan a szabad zsírsavak - acetil-koenzim A szintetáz hatására - acetil-koenzim A-vá alakulnak, ami a de novo lipidszintézis szubsztrátjaként szolgál. A TAG de novo szintézisében a GPAT (glicerol-3-foszfát-aciltranszferáz) katalizálja a foszfatidsavak keletkezését, amiből a foszfatidsav foszfatáz általi defoszforilálódás után DAG keletkezik. A DAG-TAG átalakulást a DGAT (diacil-glicerol acetil-transzferáz) végzi. Amennyiben a zsírszövet több zsír tárolására már nem képes más szövetekben, többek között az izomban és a májban zajlik tovább a lipidek raktározása inzulin rezisztenciához vezetve. Az inzulin az előbbieken túl a hormon-szenzitív lipáz gátlása révén csökkenti a lipolízist zsírszövetben, elősegíti az ApoB100 (apolipoprotein B100) lebomlását és csökkenti a máj VLDL szekrécióját. A keringésben az inzulin elősegíti a VLDL-ből a triglicerid LPL mediált hidrolízisét és fokozza a hepatikus-lipáz működését. A májban inzulin hatására defoszforilálódik a HMG-CoA reduktáz (3-hidroxi-3-metil-glutaril-koenzim-A reduktáz) fokozva így a koleszterol szintézist.

Abban az esetben, ha a szervezet energiaigénye megnő, fokozódik a lipolízis, a tárolt TAG-ok hidrolizációja során FFA és glicerol szabadulnak fel. A lipolízis folyamatának legfőbb elindítói a katekolaminok, de egyéb hormonok is szerepet játszanak a folyamatban (pl. növekedési hormon, glukagon, natriuretikus peptidok, sTSH = thyreoida-stimuláló hormon). A katekolaminok a zsírsejt membránban található adrenerg receptorokon keresztül hatnak (főleg β_1 , β_2 és kisebb mértékben β_3 receptoron). A receptor aktivációja cAMP (ciklikus adenosin monofoszfát) emelkedéshez, a protein-kináz A aktivációjához és a hormon-szenzitív lipáz foszforilációjához és aktivációjához vezet, melynek következménye a TAG lebomlása, digliceridek és monogliceridek keletkezése. A natriuretikus peptidok a cGMP (ciklikus guanozin monofoszfát) útvonal aktivációja és a HSL útvonalon fejtik ki hatásukat (obezekben és DM2-ben a plazma natriuretikus peptid szintje alacsonyabb).

2.2.5.2. Inzulin rezisztencia és következményei

Inzulin-rezisztencia alatt a szövetek endogén/exogén inzulinra adott csökkent válaszát értjük. Inzulin-rezisztencia esetén az inzulin nem képes a hormon szenzitív lipáz általi lipolízis megfelelő gátlására a zsírszövetben. Az LPL megfelelő aktivációja szintén elmarad, ami növeli a keringésben lévő triglicerid szintjét, a CETP révén fokozódik a triglicerid és koleszterin-észterek kicserélődése az apolipoproteinek között, az LDL és HDL részecskék trigliceridben gazdagok, a hidrolízis során kisebbek és denzebbek lesznek. Jelentős postprandiális lipémia és nem-észterifikált zsírsav szint emelkedés következik be, utóbbit pedig legnagyobb mértékben a máj veszi fel. A folyamat ellensúlyozása céljából a májban fokozódik a - főleg nagy méretű - VLDL termelés. Mivel a kiválasztás ütemét a VLDL termelés és kiválasztás határozza meg a felesleges triglicerid a májban lerakódik nemalkoholos zsírmáj kialakulását eredményezve. Már enyhe inzulin-rezisztencia esetén is a hyperinzulinémia fokozottan aktiválja a májsejt membránban található SREBP 1-c-n (sterol regulatory-element binding protein) keresztül a de novo lipidszintézisben résztvevő géneket. A hiperglikémia inzulin rezisztenciában szintén képes a ChREBP (carbohydrate response element binding protein) aktiválásán keresztül fokozni a lipogenezist.

Az inzulin rezisztencia következtében nő, a 2-es típusú diabétesz mellitusz, a koronária betegség, a metabolikus szindróma (centrális elhízás, hiperglikémia, diszlipidémia és hipertónia együttes fennállása), a policisztás ovárium szindróma, a zsírmáj és egyes daganatok (pl. vastagbél-, emlő- és petefészekrák) előfordulásának esélye.

2.2.6. Szénhidrátháztartás, diabétesz és szepszis kapcsolata

A szénhidrát anyagcsere kisiklása gyakori jelenség kritikus állapotú betegekben. A folyamatot a szervezetet érő stressz indítja el, ami hiperglikémiához és megnövekedett glükóz variabilitáshoz vezet (glycemic variability). Szepszis során a felszabaduló gyulladásos mediátorok fokozzák a hepatikus glükoneogenezist és a perifériás inzulin-rezisztenciát, a mellékveséből felszabaduló katekolaminok és kortizol pedig tovább rontják a helyzetet. Szepszisben a felvételtől észlelt magas vércukorszint és az intenzív inzulin terápia során jelentkező hypoglikémia rossz prognózisa utal, a szoros glikémiás kontroll pedig javítja a túlélési esélyeket.

A diabétesz - figyelembe véve a kórkép prevalenciáját és cukorbetegben a szervezet jelentősen megváltozott védekezőképességét a fertőzésekkel szemben - a szepszis egyik fő rizikó faktora. A cukorbetegben fennálló krónikus hiperglikémia és a septicus állapotot okozó mikroorganizmusok, valamint a belőlük felszabaduló toxinok mind hozzájárulnak a gyulladásos válaszreakció fokozódásához. A diabétesz és szepszis hatására felszabaduló pro-inflammatorikus citokinek és az immunrendszer aktivációja endotél diszfunkcióhoz és szervi elégtelenséghez vezet. Diabéteszes betegekben

gyakoribbak a multirezisztens kórokozók okozta fertőzések és a poszt-szeptikus szövődmények.

Egy az Egyesült Királyságban, döntően 2-es típusú diabéteszes betegekben végzett kohorsz vizsgálatban a fertőzések esélyének növekedését írták le <6% és 7%< HbA1c érték esetén a 6-6,9%-os HbA1c-vel rendelkező betegekhez képest.

Egy másik, közel 70000 2-es típusú cukorbeteg bevonásával készült dán kutatásban azt találták, hogy az 5,5-6,5% közötti HbA1c tartományon kívül eső betegekben jelentősen emelkedett a kórházi felvételt igénylő fertőzések száma.

Egy 2021-ben megjelent, több mint 500000 diabéteszes beteget vizsgáló, prospektív svéd tanulmány során U alakú összefüggést találtak a HbA1c és a szepszis előfordulása között (a megfelelő glikémiás kontrollú – HbA1c 6,5-6,9 - betegekhez viszonyítva a szepszis kockázata HbA1c <6.1% értéknél 1,15x, 6,1-6,5% között 1x, 7-7,8% között 0,93x, 7,9-8,7% között 1,05x, 8,8-9,7% között 1,14x, 9,7%< 1,52x volt). Szintén ebben a vizsgálatban azt találták, hogy a szeptikus, diabéteszes betegekben jellemzően régebb óta állt fenn cukorbetegség, rosszabb volt a glikémiás kontroll és 4,16x magasabb volt a mortalitás nem szeptikus, cukorbeteg társaikhoz képest. A HbA1c értéke és mortalitás között a vizsgálat nem talált összefüggést.

Korábbi vizsgálatok arra is rámutattak, hogy diabéteszes, szeptikus betegekben egy mérsékelten emelkedett vércukorszint elérése kedvezőbb lehet a kimenetel szempontjából.

A diabétesz kezelésében alkalmazott gyógyszereknek is vannak ismert kedvezői hatásai szepszisben. Az inzulin például gátolja a magas vércukorszint következtében kialakuló kedvezőtlen immunológiai változásokat, valamint direkt és indirekt gyulladáscsökkentő hatása is bír. A merckforminnak ismert a gyulladáscsökkentő, a vazóaktív és az anti-mikrobiális hatása, a tiazolidindionok fokozzák a neutrofil migrációt javítva ezzel a szervezet védekező képességét.

2.3. Célkitűzések

2.3.1. A szérumbafamin szint vizsgálata és kapcsolata szénhidrát- és lipid paraméterekkel nem diabéteszes, morbid elhízott betegekben (n=50) és normál testtömegű, egészséges kontroll személyekben (n=32).

Prospektív tanulmányban kíváncsiak voltunk arra, hogy a szérumbafamin szint milyen kapcsolatban van a lipid-, az oxidált LDL-, az α - és γ -tokoferol szintekkel, a lipoprotein szubfrakciókkal, a szénhidrát háztartás paramétereivel és hogy melyek az afamin szint független prediktorai.

2.3.2. A HbA1c potenciális diagnosztikus és prediktív szerepének vizsgálata diabéteszes, szeptikus betegekben.

Retrospektív, egycentrikus tanulmányunkban SIRS kritériumok alapján szeptikus, diabéteszes betegeket vizsgáltunk, akiknek a sürgősségi felvételekor vagy azt követő 24 órában történt meg a HbA1c meghatározása (SIRS 24h alcsoport, n=73), ill. akiknek a sürgősségi felvételt megelőző 30 napon történt meg a HbA1c meghatározása (SIRS 30d alcsoport, n=39). Ezek után közülük kiválogattuk a SOFA kritérium alapján is szeptikus, diabéteszes betegeket (n=55), és a HbA1c meghatározás ideje alapján szintén 2 alcsoportra osztottuk őket (SOFA 24h alcsoport, n=34 és SOFA 30d alcsoport, n=21). Az egyes betegcsoportokban vizsgáltuk a HbA1c korrelációját rutin laboratóriumi paraméterekkel (elektrolit szintek, urea, kreatinin, GFR = glomeruláris filtrációs ráta, glükóz, májfunkciós értékek, pancreas enzimek, CRP = C-reaktív protein, PCT = procalcitonin, albumin, vérkép) és a kórházi tartózkodás időtartamával. Kíváncsiak voltunk továbbá arra, hogy mely paraméterek a HbA1c független prediktorai.

3. Betegek és módszerek

3.1. Nem diabéteszes, obese betegek kiválasztása

A vizsgálatba előzetes tájékoztatás és beleegyező nyilatkozat kitöltése után 50 obese (BMI > 30 kg/m²), nem diabéteszes és 32 normál súlyú, egészséges, korban és nemből illesztett kontroll páciens kerültek bevonásra. A máj-, vese- és endokrin betegségek (az 1-es és 2-es típusú cukorbetegséget is ide sorolva), az aktív daganatos betegségek, a terhesség, szoptatás, dohányzás és rendszeres alkoholfogyasztás mind kizárási kritériumok voltak. A betegek és a kontrollok a bevonáskor részletes szóbeli tájékoztatást követően írásban beleegyezésüket adták. A vizsgálat megfelel a Helsinki deklarációban foglaltaknak. A vizsgálat a Debreceni Egyetem helyi és regionális etikai bizottsága (DE RKEB/IKEB 5513B-2020) és a Egészségügyi Tudományos Tanács etikai bizottsága támogatta (ETT TUKÉB: 7324-9/2017/EÜIG).

3.2. Szeptikus betegek kiválasztása

Betegeinket a vizsgálati periódusban (2017.01.01-2018.12.31.) a Debreceni Egyetem Klinikai Központ Belgyógyászati Intézet Sürgősségi Osztályán, majd később az időközben létrejött, önálló Sürgősségi Klinikán megjelent páciensek közül válogattuk ki (27 737 beteg, 42 766 eset). Először kiválasztottuk azokat a betegeket, akiknek a vizsgálati periódusban volt HbA1c érték mérve (3 743 beteg), majd ebből a csoportból kiválogattuk azokat a diabéteszes, SIRS kritériumok alapján szeptikus betegeket, akiknek a HbA1c a

sürgősségi ellátásban való megjelenésük előtti 30 napban vagy a sürgősségi felvételkor/sürgősségi felvétel utáni 24 órában került leérésre. Kizárási kritériumok voltak az autoimmun betegségek, a végstádiumú veseelégtelenség, a májcirrhózis és az aktív daganatos betegség. Mivel a HbA1c értéke jelentősen függ a vörösvértestek turnoverétől (lassú turnover esetén magasabb, gyors turnover esetén alacsonyabb HbA1c értékek mérhetőek) azok a betegek akik vas-, B12- vagy folsavhiányos vérszegénységben, vagy hemolitikus anémiában szenvedtek szintén kizárásra kerültek, akárcsak azok a páciensek akik eritropoetin kezelésben részesültek. Tekintettel arra, hogy a HbA1c szintje különböző lehet egyes rasok és etnikai csoportok között (pl. afro amerikaiakban és ázsiaiakban magasabb értékek mérhetőek), vizsgálatunkba kizárólag kaukázusi rasszba tartozó betegek kerültek beválogatásra. Ily módon összesen 112 diabéteszes, SIRS alapján szepikus beteg került beválogatásra (SIRS csoport), akik közül 39-nek a felvételt megelőző 30 napon belül (SIRS 30 d alcsoport) és 73-nak a sürgősségi felvételkor/sürgősségi felvétel utáni 24 órában (SIRS 24 h alcsoport) volt HbA1c érték nézve. A betegek kórelőzményét (diabétesz típusa, hipertónia, diszlipidémia, iszkémiás szívbetegség, korábbi szívinfarktus, percután koronária intervenció, CABG = koszorúér bypass graft műtét, TIA = átmeneti agyi ischaemiás roham, stroke, perifériás érbetegség, krónikus vesebetegség), antidiabetikus terápiáját (merckformin, szulfonilurea, DPP4 gátló = dipeptidil-peptidáz 4 gátló, inzulin, egyéb szerek), laboratóriumi eredményeit (artériás vérgáz értékek, elektrolit szintek, urea, kreatinin, GFR, glükóz, májfunkciós értékek, pancreas enzimek, CRP, PCT, albumin, vérkép), HbA1c értékét és a meghatározás időpontját, SIRS és SOFA értékeit, mikrobiológiai eredményeit, a kórházi kezelés időtartamát és mortalitási adatait táblázatban foglaltuk össze. A laboratóriumi paramétereket – a HbA1c esetleges kivételével – a felvételkor levett vérből vizsgáltuk. A SIRS csoportból később kiválogattuk azokat a diabéteszes, szepikus betegeket, akik a SOFA score alapján is szepikusak voltak (SOFA score ≥ 2 , SOFA csoport, 55 beteg), majd ennek a csoportnak a betegeit is két csoportra osztottuk ugyanazon elv alapján, mint ahogy a SIRS csoportban tettük (SOFA 30 d alcsoport és SOFA 24 h alcsoport). A vizsgálat megfelel a Helsinki deklarációban foglaltaknak. A vizsgálat a Debreceni Egyetem helyi és regionális etikai bizottsága (DE RKEB/IKEB H.0172–2020) és a Egészségügyi Tudományos Tanács etikai bizottsága támogatta (ETT TUKEB: 7324-9/2017/EÜIG).

3.3. Mintavétel és rutin laboratóriumi mérések az elhízott és kontroll csoportban

A vénás vérminták levételére Vacutainer csövekbe történt 12 órás éhezést követően. Cobas c501 (Roche Ltd., Mannheim, Germany) készüléket használtunk a szénhidrát és lipid paraméterek meghatározásánál. Cukorbetegség fennállását 75 g glükóz felhasználásával, OGTT segítségével zártuk ki. HbA1c és inzulin meghatározás is történt a cukormérésekkel egyidőben. Az inzulin-rezisztencia megállapítása a HOMA-IR (homeostasis model assessment-estimated insulin resistance, $HOMA-IR = \frac{\text{éhomizuglkozkoncentracio (mmol/L)} \times \text{éhomizuglkozkoncentracio (mmol/L)}}{22.5}$) segítségével történt. A szérumból komponensek szétválogatásához centrifugálást alkalmaztunk (4 °C-on, 3500-as

fordulatszámmal 10 percen át). A rutin laboratóriumi paraméterek meghatározása friss szérumból Cobas c501 készülékkel történt (Roche Ltd. Mannheim, Germany). Az összkoleszterin szint méréshez enzimatis, kalorimetriás módszert (cholesterol oxidase-p-aminophenazone—GPOD-PAP; Modular P-800 analyzer; Roche/Hitachi), a HDL és LDL koleszterin szint mérése homogén, enzimatis, kalorimetriás módszert (Roche HDL-C plus third generation and Roche LDL-C plus second generation, respectively), az Apo A-I és ApoB méréshez pedig immunoturbidimetrikus assayt használtunk (Tinaquant apolipoprotein A-I ver. 2 and Tina-quant apolipoprotein B ver. 2, respectively). Minden tesztet a gyártó utasításának megfelelően végeztünk el.

A lipoprotein szubfrakciók analíziséhez és ELISA mérésekhez szükséges szérum és plazma mintákat -70 °C-on, fagyasztva tároltuk.

3.4. Szérum afamin szint meghatározás

A szérum afamin szint meghatározása a kereskedelmi forgalomban kapható ELISA kit segítségével történt (Afamin Human ELISA, cat. number: RD194428100R, BioVendor, Asheville, NC, USA), betartva a gyártó utasításait. Az intra- és inter assay variációs koefficiens <3.61% és <3.4% volt.

3.5. Szérum oxidált LDL koncentráció meghatározása

A szérum oxidált LDL koncentrációját kereskedelmi forgalomban kapható ELISA kit segítségével határoztuk meg (Mercodia AB, Uppsala, Svédország), a gyártó utasításait betartva. Az intra- és inter-assay variációs koefficiens 5.5–7.3% és 4.0–6.2%, a szenzitivitás pedig <1 mU/L volt.

3.6. Szérum α - és γ -tokoferol szint meghatározás gáz kromatográfia és tömeg spektrometria segítségével

A plazma α - és γ -tokoferol szintjének meghatározása Zerbiante és munkatársai által publikált módszer alapján történt. A gáz kromatográfias és tömeg spektrometriás méréseket Finnigan Trace GC Ultra és Polaris Q tömeg spektrométer segítségével végeztük (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). A mintákat felvittük az Agilent J&W oszlopokra (DB-5MS UI; 60 m \times 0.25 m \times 0.25 μ m), 2 μ l mintát injektáltunk, vívőgázként pedig héliumot használtunk (1 mL/min, folyamatos áramlás). A kolonna kezdeti hőmérséklete 150 °C volt 2 percig, majd 25 °C/perc felfűtési sebességgel 300 °C-ra emelkedett, melyet további 15 percig tartott. A teljes futási idő 23 perc volt. A tömegspektrométer szelektív ionkövetés (SIM = selective ion monitoring) módban működött. A választott ionok a következők voltak: α -tokoferol-TMS: 237.3 m/z, γ -tokoferol-TMS: 488.4 m/z, 2,2,5,7,8-Pentamethyl-6-chromanolTMS: 292.3 m/z.

3.7. HDL szubfrakciók vizsgálata

A HDL szubfrakciók vizsgálata elektroforetikus módszerrel történt poliakrilamid gélen Lipoprint rendszerrel (Quantimetrix Corp., Redondo Beach, CA, USA), a gyártói útmutató betartásával. Tíz HDL szubfrakció volt elkülöníthető a VLDL + LDL és albumin csúcsok között, melyeket 3 nagy csoportra osztottunk: nagy, közepes és kicsi HDL szubfrakciókra. Az előbbi szubfrakciók (nagy HDL - HDL1-), közepes HDL - HDL4-7, kicsi HDL - HDL8-10) analíziséhez Lipoware szoftvert (Quantimetrix Corp., Redondo Beach, CA, USA) használtunk. A HDL részecskék koleszterin tartalmát a HDL koncentrációk és a szubfrakciós sávok görbe alatti területének szorzataként számoltuk ki.

3.8. LDL szubfrakciók vizsgálata

Az LDL szubfrakciók vizsgálata szintén a Lipoprint rendszerrel (Quantimetrix Corp., Redondo Beach, CA, USA), a gyártói útmutató betartásával történt. A Lipoware szoftver (Quantimetrix Corp., Redondo Beach, CA, USA) segítségével meghatározásra került a VLDL görbe alatti terület, midband A,B,C (mely döntően IDL-ből áll), 7 LDL szubfrakció és HDL csúcsok. A nagy LDL százalékos aránya az LDL 1 és 2 arányának, a kis LDL aránya pedig az LDL 3-7 arányának összegéből adódott. Az LDL szubfrakciók koleszterin tartalmát a minta összkoleszterin koncentrációjának és a szubfrakciók görbe alatti részének szorzataként számoltuk ki. Az LDL részecskék átlagos méretét Lipoware software-rel határoztuk meg (Quantimetrix Corp., Redondo Beach, CA, USA).

3.9. Statisztikai elemzések

Az adatok elemzése a STATISTICA (ver: 13.7; StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA) program segítségével történt. Az adatok eloszlásának vizsgálatához Kolmogorov–Smirnov tesztet használtunk. Normál eloszlás esetén kétmintás Student t-tesztet, nem normál eloszlású változók esetén pedig Mann–Whitney u-tesztet alkalmaztunk. Normál eloszlás esetén a változók átlag \pm szórás (SD), nem normál eloszlás esetén pedig medián, alsó és felső kvartilis formájában vannak megadva.

Folyamatos változók közötti összefüggéseket a Pearson-féle korrelációval vizsgáltuk. Abban az esetben, ha a vizsgálni kívánt változó nem volt normál eloszlású, úgy az elemzés előtt az adatokat logaritmizáltuk.

Multivariációs analízist (backward-stepwise method) alkalmaztunk, hogy megtaláljuk azokat a paramétereket amik legjobban korrelálnak az afamin szintjével.

Backward, stepwise multiregressziós analízist használtunk a HbA1c független prediktorainak meghatározásához. A modellben vizsgáltuk az életkort, nemet, túlélőkben a kórházi kezelés hosszának 10-es alapú logaritmusát, inzulin használatot, thrombocita számot, bilirubin 10-es alapú logaritmusát, fehérvérsejt számot és glükóz 10-es alapú

logaritmusát. Azok a változók melyek nem mutattak korrelációt a HbA1c-vel az elemzés előtt kizárásra kerültek.

Az eredményeket akkor tekintettük szignifikánsnak amikor a p értéke $p < 0,05$ volt.

4. Eredmények

4.1. Nem diabéteszes, obez és normál testtömegű kontroll személyek laboratóriumi értékei

A lipid és szénhidrát értékek jelentősen különböztek az obez és a korban ($44,20 \pm 13,50$ év vs $41,87 \pm 6,71$ év), illetve nemben ($n=50$, 43 férfi és 7 nő vs $n=32$, 27 férfi és 5 nő) illesztett kontroll csoportokban (BMI $41,96 \pm 8,63$ kg/m² vs $24,24 \pm 2,54$ kg/m², $p < 0,001$), de mindkét populációban normál tartományban voltak. A triglicerid [$1,4$ mmol/l ($1,1-2,0$) vs $1,0$ mmol/l ($0,75-1,39$), $p < 0,01$] és LDL ($3,17 \pm 0,74$ mmol/l vs $2,86 \pm 0,55$ mmol/l, $p < 0,05$) értékek szignifikánsan magasabbak, a HDL ($1,36 \pm 0,33$ mmol/l vs $1,59 \pm 0,47$ mmol/l, $p < 0,001$) és ApoA-I ($1,48 \pm 0,24$ g/l vs $1,71 \pm 0,31$ g/l, $p < 0,001$) szintek pedig szignifikánsan alacsonyabbak voltak az obez csoportban. Az koleszterin ($5,04 \pm 0,83$ mmol/l vs $5,02 \pm 0,75$ mmol/l) és ApoB ($0,86 \pm 0,20$ g/l vs $0,88 \pm 0,23$ g/l) szintjében a két csoportban szignifikáns különbséget nem találtunk. A HbA1c ($5,07 \pm 0,33$ % vs $5,76 \pm 0,54$ % $p < 0,001$) és éhomi vércukor értékek ($5,41 \pm 0,71$ mmol/l vs $4,79 \pm 0,47$ mmol/l, $p < 0,001$) szignifikánsan magasabbak voltak az obez, nem cukorbeteg csoportban, de még ezek a paraméterek is normál tartományban voltak. A cukorbetegség kizárása 2 órás OGTT értékek és HOMA-IR alapján történt. Az obezekben mért magasabb hsCRP [magas érzékenységű C reaktív fehérje, $8,24$ mg/l ($3,2-13,09$) vs $1,4$ mg/l ($0,5-2,46$), $p < 0,001$] érték hátterében a korábban már részletesen leírt krónikus alacsony fokú gyulladás állt. Az obez csoportban a fentiekben túl szignifikánsan magasabb húgysav ($315,24 \pm 91,61$ μ mol/l vs $254,53 \pm 63,73$ μ mol/l, $p < 0,001$), GOT ($23,52 \pm 8,98$ U/l vs $18,71 \pm 3,87$ U/l, $p < 0,01$), GPT ($29,4 \pm 15,25$ U/l vs $18,13 \pm 7,87$ U/l, $p < 0,001$), GGT ($33,58 \pm 21,44$ U/l vs $24,34 \pm 15,35$ U/l, $p < 0,05$) és LDH ($355,58 \pm 83,95$ U/l vs $222,24 \pm 73,23$ U/l, $p < 0,001$) szinteket mértünk. Az sTSH szintjében ($1,98 \pm 0,98$ mU/L vs $2,06 \pm 1,22$ mU/L) szignifikáns különbséget nem találtunk.

Az össz HDL-C koncentráció szignifikánsan alacsonyabb volt nem diabéteszes, obez betegekben ($1,36 \pm 0,33$ mmol/l vs $1,59 \pm 0,47$ mmol/l, $p < 0,001$). Ugyanebben a betegcsoportban megfigyelhető volt a HDL szubfrakciók arányának eltolódása a kicsi denz HDL szubfrakciók irányában. A nagy HDL szubfrakciók abszolút mennyisége és százalékos aránya szignifikánsan alacsonyabb volt a betegekben a kontroll populációhoz viszonyítva ($0,319 \pm 0,157$ mmol/l vs $0,528 \pm 0,308$ mmol/l, $p < 0,05$, $22,5 \pm 5,7$ % vs $30,9 \pm 9,4$ %, $p < 0,05$), míg kis méretű HDL szubfrakciók esetén ennek épp az ellenkezőjét figyeltük meg ($0,333 \pm 0,070$ mmol/l vs $0,282 \pm 0,060$ mmol/l, $p < 0,01$, $25,2 \pm 5,9$ % vs $18,9 \pm 5,7$ %, $p < 0,05$). Közepes méretű HDL részecskéknél enyhe, de szignifikáns csökkenés volt az obez csoportban ($0,708 \pm 0,169$ mmol/l vs $0,781 \pm 0,170$ mmol/l, $p < 0,001$, $52,3 \pm 3,4$ % vs $50,2 \pm 4,7$ %, $p < 0,001$). Az össz LDL-C koncentráció ($3,17 \pm 0,74$ mmol/l vs $2,86 \pm 0,55$ mmol/l, $p < 0,05$), akárcsak a kis, denz ($0,113 \pm 0,118$ mmol/l vs $0,051 \pm 0,109$ mmol/l, $p < 0,05$, $2,0 \pm$

1,6 % vs $1,0 \pm 2,1$ %, $p < 0,001$) és nagy LDL ($1,317 \pm 0,361$ mmol/l vs $1,077 \pm 0,352$ mmol/l, $p < 0,01$, $25,8 \pm 4,1$ % vs $21,4 \pm 5,9$ %, $p < 0,05$) szubfrakciók mennyisége és aránya magasabb volt az elhízott csoportban. Obезekben az átlagos LDL méret szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyult a kontroll csoporthoz képest ($26,980 \pm 0,314$ nm vs $27,253 \pm 0,346$ nm, $p < 0,01$).

A nem diabéteszes elhízott csoportban szignifikánsan magasabb szérumszűz afamin ($70,43 \pm 12,87$ $\mu\text{g/ml}$ vs $47,56 \pm 8,46$ $\mu\text{g/ml}$, $p < 0,0001$), oxidált LDL ($46,8 \pm 9,95$ U/L vs $40,20 \pm 10,10$ U/L, $p < 0,005$), valamint szignifikánsan magasabb α - [$9,4$ $\mu\text{g/ml}$ ($7,9$ - $13,17$) vs $8,22$ $\mu\text{g/ml}$ ($7,21$ - $9,69$)], $p < 0,05$] és γ tokoferol [$0,2$ $\mu\text{g/ml}$ ($0,16$ - $0,31$) vs $0,12$ $\mu\text{g/ml}$ ($0,1$ - $0,17$)], $p < 0,001$] szintet mértünk a kontrollokhoz viszonyítva. Az utóbbi különbség akkor is fennállt, ha az α - és γ tokoferol szinteket a koleszterin értékekre normalizáltuk [α -tokoferol/cholesterol $1,953$ ($1,620$ - $2,507$) vs $1,640$ ($1,491$ - $1,9464$)], $p < 0,05$, γ -tokoferol/cholesterol $0,042$ ($0,031$ - $0,062$) vs $0,0255$ ($0,021$ - $0,0327$)], $p < 0,0001$].

4.2. A szérumszűz afamin korrelációi az antropometriai és laboratóriumi paraméterekkel

Korábbi tanulmányokhoz hasonlóan szignifikáns pozitív korrelációt találtunk a BMI ($r = 0,582$, $p < 0,001$), haskőrfogat ($r = 0,434$, $p < 0,005$), glükóz ($r = 0,468$, $p < 0,001$), HbA1c ($r = 0,661$, $p < 0,001$), hűgysav ($r = 0,573$, $p < 0,001$), hsCRP ($r = 0,537$, $p < 0,001$) és afamin szintek között. Szignifikáns pozitív korrelációt találtunk az afamin és oxLDL (oxidált alacsony denzitású lipoprotein) szint, valamint negatív korrelációt az afamin és átlagos LDL méret között. Az α - és γ tokoferol szintek nem korreláltak az afaminnal obez betegekben ($r = 0,20$; $p = 0,2$ és $r = 0,22$; $p = 0,1$).

Szignifikáns negatív korreláció volt a nagy HDL szubfrakció szintje, aránya és a szérumszűz afamin koncentráció között, valamint szignifikáns pozitív korrelációt figyeltünk meg kis HDL szubfrakció szintje, aránya és a szérumszűz afamin szint között a két vizsgálati csoportot együttvéve.

Multivariációs analízis alapján megállapítható, hogy a modellbe bevont paraméterek közül (életkor, BMI, haskőrfogat, glükóz, HbA1c, α - és γ -tokoferol, α -tokoferol/koleszterin, γ -tokoferol/koleszterin, oxidált LDL, a kis és nagy HDL szintje és aránya) az afamin szint független prediktora a haskőrfogat ($\beta = 0,685$, $p < 0,001$), a HbA1c ($\beta = 0,291$, $p < 0,01$) és a kis HDL szubfrakció szintje ($\beta = 0,282$, $p < 0,05$).

4.3. Diabéteszes, szeptikus betegek, akiknek a sürgősségi felvételkor/sürgősségi felvétel utáni 24 órában volt HbA1c mérve

4.3.1. SIRS 24h csoport

A SIRS 24h csoportba tartozó betegek életkora $72,8 \pm 12,7$ év volt (73 beteg: 47 nő, 26 férfi). Minden személy 2-es típusú diabétesz mellitusban szenvedett. A betegek kórelőzményében leggyakrabban hipertónia ($n = 67$, 91,8%) szerepelt, de egyéb társbetegségek is jelentős számban fordultak elő (diszlipidémia $n = 31$, 42,5%, ISZB/AMI/PCI/CABG $n = 32$, 43,8%, TIA/stroke $n = 15$, 20,6%, PAD $n = 42$, 57,5%, KVE $n =$

27, 37%). A legtöbb beteg metformin terápia részesült (n = 30, 41,1%), egyéb orális antidiabetikumot jóval kevesebben szedtek (szulfonilurea n = 24, 32,9%, DPP4 n = 4, 5,5%). Inszulin összesen 18 beteg használt (24,7%). Az átlagos vércukor szint 11,5 mmol/l (7,7-16,3), HbA1c $7,47 \pm 1,8\%$, urea 8,4 mmol/l (6-12,3), kreatinin 99 mmol/l (77-137), GFR 52 ml/min \times 1,73 m² (38-75), CRP 77 mg/l (21-151,5), GOT 21 U/L (17-33,5), GGT 35 U/L (21-69), GPT 21 U/L (14-32), bilirubin 10 μ mol/l (6,5-17,4), fehérvérsejt szám $15,8 \pm 6,1$ G/L, Hgb $129,8 \pm 22,3$ g/L, thrombocita szint pedig $252,6 \pm 76,9$ G/l volt. A túlélők átlagosan 8 napot (6-11,5) töltöttek kórházban.

Vizsgáltuk a HbA1c korrelációját a laboratóriumi paraméterekkel és a kórházban töltött napok számával, valamint megnéztük a leukocita szám és glükóz, vérlemezke szám és glukóz, glükóz és kórházi kezelés ideje közötti korrelációkat is. A SIRS 24h csoportban szignifikáns pozitív korrelációt találtunk a glükóz és HbA1c értékek között (p < 0,001), szignifikáns negatív korrelációt a fehérvérsejt szám és glükóz (p = 0,01), valamint fehérvérsejt szám és HbA1c szintek között (p = 0,001). Az előbbi összefüggések abban az esetben is majdnem mindig megfigyelhetőek voltak amikor a betegeket nemek, antidiabetikus terápia (inzulint használó és inzulint nem használó cukorbeteg), életkor (<65 év vs. \geq 65 év) és a megelőző 90 napon belüli kórházi kezelés alapján alcsoportokra osztottuk. A HbA1c és mortalitás kapcsolatáról érdemi következtetést az erre vonatkozó adatok hiánya miatt levonni nem tudtunk.

4.3.2. SOFA 24h csoport

Ebbe a csoportba 34 fő 2-es típusú diabéteszes szepszis beteg tartozott (21 nő, 13 férfi, életkor: $73,9 \pm 12,3$ év). A betegek kórelőzményében ebben a csoportban is leggyakrabban hipertónia (n = 31, 91,2%) szerepelt, de egyéb társbetegségek is jelentős számban fordultak elő (diszlipidémia n = 12, 35,3%, ISZB/AMI/PCI/CABG n = 18, 52,9%, TIA/stroke n = 6, 17,7%, PAD n = 18, 52,9%, KVE n = 13, 38,2%). A SOFA 24h csoportban azonos számú beteg használt metformint és részesült inzulin terápiaiban (n = 11 - 11, 32,4%), és közel azonos számú beteg szedett szulfonilureát (n = 10, 29,4%). DPP4 terápiaiban egyik beteg sem részesült. Az átlagos vércukor szint $12,05$ mmol/l (8,5-19,2), HbA1c $7,26 \pm 1,9\%$, urea 9,85 mmol/l (6,2-19,4), kreatinin 118 mmol/l (95-172), GFR 42 ml/min \times 1,73 m² (27-61), CRP 108 mg/l (21,3-246,3), GOT 25 U/L (16-42), GGT 40 U/L (16-124), GPT 21 U/L (14-37), bilirubin 11,2 μ mol/l (6,3-33,6), fehérvérsejt szám $17,3 \pm 7,3$ G/L, Hgb $133,8 \pm 19,4$ g/L, thrombocita szint pedig $251,0 \pm 92,8$ G/l volt. A túlélők ebben a csoportban is átlagosan 8 napot (7-11,5) töltöttek kórházban.

A SOFA 24h alcsoportban vizsgáltuk a HbA1c kapcsolatát laboratóriumi paraméterekkel és a kórházban töltött napok számával, valamint megnéztük a leukocita szám és glükóz, vérlemezke szám és glukóz, glükóz és kórházi kezelés ideje közötti összefüggéseket. A SIRS 24 órán belüli csoporthoz hasonlóan itt is szignifikáns pozitív összefüggést találtunk a glükóz és HbA1c értékek között (p < 0,001). Szignifikáns negatív

korrelációt találtunk továbbá a fehérvérsejt szám és glükóz ($p = 0,02$), valamint fehérvérsejt szám és HbA1c között ($p = 0,02$).

Az előbbieken túl szignifikáns pozitív korrelációt találtunk a HbA1c és túlélőknél a kórházi napok száma között ($p = 0,01$). Az előbbi összefüggések abban az esetben is gyakran megfigyelhetőek voltak amikor a betegeket nemek, antidiabetikus terápia (inzulinus és nem inzulinos cukorbeteg), életkor (<65 év vs. ≥ 65 év) és a megelőző 90 napon belüli kórházi kezelés alapján alcsoportokra osztottuk. A HbA1c és mortalitás kapcsolatáról érdemi következtetést az erre vonatkozó adatok hiánya miatt levonni nem tudtunk.

4.4. Diabéteszes, szeptikus betegek, akiknek a sürgősségi felvétel előtti 30 napon belül volt HbA1c mérve

4.4.1. SIRS és SOFA 30d csoportok

A SIRS 30d csoportban összesen 39 diabéteszes, szeptikus beteg volt. Ugyanazokat az összefüggéseket vizsgáltuk mint a SIRS 24 órán belüli és a SOFA 24 órán belüli csoportokban, azonban szignifikáns összefüggéseket ebben a csoportban és később a SOFA 30d csoportban (21 beteg) sem találtunk. A HbA1c és mortalitás kapcsolatáról érdemi következtetést az erre vonatkozó adatok hiánya miatt levonni nem tudtunk.

4.5. Backward, stepwise multivariációs analízis

Backward, stepwise multivariációs analízist használtunk a HbA1c független rizikófaktorainak vizsgálatához. A modellben vizsgáltuk az életkort, nemet, túlélőkben a kórházi kezelés hosszának 10-es alapú logaritmusát, inzulin használatot, thrombocita számot, bilirubin 10-es alapú logaritmusát, fehérvérsejt számot és glükóz 10-es alapú logaritmusát. A glükóz ($\beta = 0,324$; $p = 0,02$) és inzulin használat ($\beta = 0,612$; $p = 0,003$) bizonyultak a HbA1c független prediktorainak.

5. Megbeszélés

5.1. Nem diabéteszes, obese betegek

Nemzetközi szinten is az elsők között vizsgáltuk az afamin szintjét és annak kapcsolatát a szénhidrát háztartás paramétereivel, a lipid-, az oxidált LDL-, α - és γ -tokoferol szintekkel, valamint a lipoprotein szubfrakciókkal nem cukorbeteg, kórosan elhízott betegekben. Az afamin szintje 48,1%-al magasabb volt obesekben a kontroll csoporthoz viszonyítva. Eredményeink hasonlóak egy korábbi vizsgálat eredményeihez, amikor cukorbetegeket és egészséges egyéneket hasonlítottak össze, habár a metodikai különbségek miatt az értékek nem teljesen összehasonlíthatók.

A lipid és glükóz értékek szignifikánsan magasabbak voltak nem cukorbeteg, obezekben, de még mindig normál laboratóriumi referencia tartományon belül voltak. A BMI, haskőrfogat, éhomi vércukor, triglicerid, hsCRP és LDL-C értékek - cukorbeteghez hasonlóan - jól korreláltak az afamin szintjével a nem diabéteszes, obese csoportban. Ezek alapján felmerül, hogy az afamin az inzulin-rezisztencia kialakulásának korai szakaszában lehet jelentősége. Korábban csak néhány vizsgálatban nézték az afamin és lipid szubfrakciók kapcsolatát elhízott betegekben. Vizsgálatunkban szignifikáns korrelációkat találtunk a HDL szubfrakciók abszolút és százalékos mennyisége valamint az afamin között. Az afamin kicsi, denz HDL-hez való kötődése és az obezításban megfigyelhető eltolódás a denzebb HDL részecskék irányában korábbról már ismert jelenségek voltak. Multiregressziós analízis alapján a kicsi HDL szubfrakció mennyisége bizonyult az afamin szint egyik legfőbb meghatározójának. A HDL szubfrakciók és afamin között talált korrelációk segíthetnek nekünk jobban megérteni az egyes HDL szubfrakciók működését. Az is jól ismert, hogy egyes antiatherogén proteinek - pl. A humán paraoxonáz-1 - szintén a kicsi, denz LDL szubfrakciókhoz kötődnek. A kis HDL szubfrakció abszolút és százalékos mennyisége azonban - tekintettel arra, hogy nem cukorbeteg obezekben mindössze 18,1%-al volt magasabb a szintje - önmagában nem magyarázza az afamin jelentős emelkedését. Az E-vitamin jelentőségét évtizedek óta kutatják. Gyulladásban a fokozott oxidatív stressz miatt nő a szabadgyökök keletkezése, mely lipid peroxidációhoz és atherosclerosis-hoz vezet. Az α - és γ -tokoferol (a két legismertebb E-vitamin származék) antioxidáns hatása szintén régóta ismert. Ugyanakkor az E-vitamin atherosclerosisra kifejtett hatásával foglalkozó tanulmányok eredményei nem egyértelműek, valószínűleg a vizsgálati populációk eltérő jellemzői és kardiovaszkuláris rizikója miatt. Jelenleg úgy gondoljuk, hogy az E-vitaminnak jótékony hatása lehet az érelmeszesedés folyamatára magas rizikójú betegeknek. Az α - és γ -tokoferol szintje, az α - és γ -tokoferol/összcholesterin arányhoz hasonlóan szignifikánsan magasabb volt nem cukorbeteg obezekben. Jelen vizsgálat volt az első, mely az α - és γ -tokoferol szintjét vizsgálta nem cukorbeteg, elhízott betegekben, bár tény, hogy az E-vitamin és lipid szintekkel való kapcsolatát korábban már leírták különböző betegcsoportokban. Az α - és γ -tokoferol, valamint az afamin színje között összefüggést nem találtunk. Ez arra utal, hogy az afaminnak - annak ellenére, hogy specifikus α - és γ -tokoferol kötő helyekkel rendelkezik - nincs döntő szerepe a keringésben az E-vitamin szint szabályozásában. Nem diabéteszes, obese betegekben a magasabb oxLDL szint miatt az emelkedett α - és γ -tokoferol szintnek kedvező hatása lehet az oxidatív stressz csökkentésében, azonban ennek megerősítéséhez további vizsgálatokra lenne szükség. Vizsgálatunk célja az volt, hogy jobban megismerjük az afamin a lipoprotein metabolizmus szabályozásában és az oxidatív folyamatokban betöltött szerepét nem cukorbeteg, obese betegekben. Így lehetőségünk van jobban megismerni az elhízás hatását normál szénhidrát háztartású betegekben. Az így nyert információ hasznos lehet elhízottaknál a kardiovaszkuláris rizikó felmérésében, valamint egyénre szabott terápia elindításában.

5.2. Diabéteszes, szepikus betegek

Vizsgálatunkban - tekintettel arra, hogy a diabétesz mellitus a szepszis egyik major rizikófaktora - arra voltunk kíváncsiak, hogy a cukorbetegség és a rossz glikémiás kontroll hogyan befolyásolja a szepszis diagnózist és prognózist. Tudásunk szerint ez az első vizsgálat, mely a HbA1c potenciális szerepét vizsgálta diabéteszes, szepikus betegekben. A SIRS 24 órán belüli csoportban szignifikáns pozitív korrelációt találtunk a glükóz és HbA1c, ill. szignifikáns negatív összefüggést a fehérvérsejtszám és glükóz, valamint fehérvérsejtszám és HbA1c között. Az előbbi összefüggések abban az esetben is majdnem mindig megfigyelhetőek voltak amikor a betegeket nemek, antidiabetikus terápia (inzulint használós és nem inzulint nem használó cukorbeteg), életkor (<65 év vs. ≥65 év) és a megelőző 90 napon belüli kórházi kezelés alapján alcsoportokra osztottuk. A negatív korrelációk hátterében a fehérvérsejtszám és glükóz, valamint fehérvérsejt szám és HbA1c között a korábbról ismert, a pancreas béta sejtjeiben megfigyelt glükóz toxicitás oki szerepe valószínű. Korábbi vizsgálatok alapján a hiperglikémia diabéteszes szepikus betegekben fokozza az oxidatív stresszt, továbbá glükóz-mediált apoptózishoz vezet főleg metabolikusan aktív sejtekben, mint például a fehérvérsejtekben. A fentiek alapján vannak olyan diabéteszes, SIRS kritériumok alapján szepikus betegek, akiknek a fehérvérsejt száma normál tartományban van (4–12 G/l) viszont a HbA1c értéke emelkedett. Ez azért is különösen fontos, mivel a fehérvérsejtszám a SIRS kritériumok egyike (pozitív SIRS kritérium: fvs szám <4 G/l vagy fvs szám >12 G/l, vagy az éretlen fvs-ek aránya >10%). Előfordulhat ezért, hogy SIRS alapján diabéteszes, szepikus betegekben a fehérvérsejt szám normális (4-12 G/l közötti) és a többi SIRS kritérium (pulzus > 90/min, teshő <36°C vagy >38° C, légzésszám >20/min vagy PaCO₂ <32 Hgmm) közül csak 1 pozitív. SIRS kritériumok alapján az előbbi betegek nem merítik ki a szepszis definícióját, habár a potenciálisan letális anyagcsere folyamatok már elindultak a szervezetükben. A HbA1c - figyelembe véve a fehérvérsejt szám és HbA1c közötti kapcsolatot - hasznos eszköz lehet az előbbi betegek megtalálásában: normál fehérvérsejt szám (4-12 G/l közötti) mellett az emelkedett HbA1c érték pozitív SIRS kritériumként lehetne értékelhető diabéteszes, szepikus betegekben. A 24 órán belül (lehetőleg már érkezéskor) levett HbA1c értékes eszköze lehet ezen diabéteszes betegeknél a szepszis diagnózisának korai felállításának. További, multi-centrikus tanulmányokra van szükség az eredmények megerősítésére.

A SOFA 24 órán belüli csoportban szignifikáns pozitív korrelációt találtunk a glükóz és HbA1c, ill. szignifikáns negatív összefüggést a fehérvérsejt szám és glükóz, valamint fehérvérsejt szám és HbA1c között. Szignifikáns pozitív korrelációt találtunk továbbá a HbA1c értéke és a kórházban töltött napok száma között a túlélőkben. A SOFA 24 órán belüli csoportban - hasonlóan a SIRS 24 órán belüli csoporthoz - szignifikáns negatív korrelációt találtunk a fehérvérsejt szám és HbA1c között, mivel azonban a fehérvérsejt szám nem része a SOFA kritériumoknak ennek az összefüggésnek nincs hasonló jelentősége a szepszis diagnózisának felállításában SOFA alapján szepikus, diabéteszes betegeknél. A HbA1c - figyelembe véve a HbA1c és a kórházban töltött napok száma közötti szignifikáns pozitív

korrelációt túlélőkben - hasznos lehet prognosztikai szempontból SOFA alapján szeptikus, diabéteszes betegekben.

A SIRS 30 napon belüli csoportban szignifikáns összefüggést nem találtunk. Korábbi tanulmányok nem írtak le lényeges különbséget a felvételkor és 30 nappal korábban mért HbA1c értékek között súlyos állapotú betegekben. Ezek alapján a SIRS 30 napon belüli csoportban hasonló összefüggéseket kellett volna találnunk, mint a SIRS 24 órán belüli csoportban. A megfigyelés háttérében az állhat, hogy az általunk végzett vizsgálatban a SIRS 30 napon belüli csoportban a HbA1c nem pontosan 30 nappal a sürgősségi felvétel előtt került levételre és a felvételkor levett HbA1c jobban korrelál a megelőző hetek glükóz koncentrációjával.

A SOFA 30 napon belüli csoportban szintén nem találtunk szignifikáns korrelációt.

5.3. Új eredmények összefoglalása

Nem diabéteszes, morbid elhízott betegekben és kontrollokban:

- A szérum afamin és az oxidált LDL szint szignifikánsan magasabb volt az elhízott csoportban a kontrollhoz képest.
- A nagy és a kis, denz LDL szubfrakció szintje és aránya szignifikánsan magasabb, az LDL méret szignifikánsan alacsonyabb volt az elhízott csoportban a kontrollhoz viszonyítva.
- A nagy HDL szubfrakció szintje és aránya szignifikánsan alacsonyabb, a kis HDL szubfrakció szintje és aránya szignifikánsan magasabb volt az elhízott csoportban a kontrollhoz képest.
- A plazma α - és γ -tokoferol szint, valamint az α - és γ -tokoferol/összkoleszterin arány szignifikánsan magasabb volt az elhízott csoportban a kontrollhoz viszonyítva és nem korrelált az afamin szinttel.
- Az afamin az oxidált LDL szinttel pozitívan, az átlagos LDL mérettel negatívan korrelált.
- Az afamin a nagy HDL szubfrakció mennyiségével és arányával negatívan, a kis HDL szubfrakció mennyiségével és arányával pozitívan korrelált.
- Az afamin független prediktorai a haskőrfogat, HbA1c és a kis HDL szubfrakció.

Diabéteszes, szeptikus betegekben:

- A SIRS 24h csoportban szignifikáns pozitív korrelációt igazolódott a glükóz és HbA1c között, szignifikáns negatív korreláció volt a fehérvérsejt szám és glükóz, valamint fehérvérsejt szám és HbA1c szint között. Az összefüggések abban az esetben is általában megfigyelhetőek voltak amikor a betegeket nemek, antidiabetikus terápia (inzulint használó és inzulint nem használó cukorbeteg), életkor (<65 év vs. ≥ 65 év) és a megelőző 90 napon belüli kórházi kezelés alapján alcsoportokra osztottuk.
- A SOFA 24h csoportban szignifikáns pozitív korrelációt igazolódott a glükóz és HbA1c, valamint a kórházi napok száma és a HbA1c között túlélőknél. Szignifikáns negatív korreláció volt a fehérvérsejt szám és glükóz, valamint fehérvérsejt szám és HbA1c szint között. Az összefüggések abban az esetben is általában megfigyelhetőek voltak amikor a

betegeket nemek, antidiabetikus terápia (inzulint használó és inzulint nem használó cukorbeteg), életkor (<65 év vs. ≥65 év) és a megelőző 90 napon belüli kórházi kezelés alapján alcsoportokra osztottuk.

- A HbA1c független prediktora a glükóz szint és az inzulin használat.

5.4. Limitációk

Vizsgálatainknak - a relative alacsony betegszámon túl - megvannak a korlátai.

Metabolikusan aktív, obese betegekénél az étkezési szokásokról és esetleges E-vitamin szedésről nem volt információnk. Vizsgálataink alapján nem teljesen egyértelmű, hogy a magasabb afamin értékek metabolikusan egészséges, obese egyéneknél hozzájárulnak-e az inzulin-rezisztencia kialakulásához vagy attól független következményei a túlsúlynak. Az előbbieket miatt a későbbiekben tervezzük a betegszám növelését, prediabéteszes és 2-es típusú cukorbeteg személyek bevonásával.

Diabéteszes, szeptikus betegek esetén - a betegszám növelésén túl - prospektív vizsgálatok elvégzését tervezzük.

6. Összefoglalás

Metabolikusan egészséges, obese betegekben az afamin szint emelkedett volt, de az α - és γ -tokoferol szintekkel nem korrelált. A nagy és kis HDL, az oxLDL, átlagos LDL méret, a metabolikus szindróma komponensei és az afamin között viszont szoros összefüggéseket találtunk ezen betegcsoportban. Az afamin emelkedett szintje, valamint ennek a lipid szubfrakciókkal megfigyelt kapcsolata hasznos lehet a későbbiekben az obezitáshoz társuló kardiovaszkuláris rizikó felmérésekor. Vizsgálatunk alapján obesekben az afaminnak szerepe lehet a korai szénhidrátháztartási és lipid metabolizmus zavar és oxidatív stressz kialakulásában. További vizsgálatokra lesz szükség a későbbiekben az afamin obezitásban és inzulin rezisztencia kialakulásában betöltött szerepének tisztázására.

Diabéteszes, SIRS alapján szeptikus betegekben normál fehérvérsejt szám is lehet kóros, ha a felvétel utáni 24 órán belül (lehetőleg már a felvételekor) levett HbA1c érték magasnak bizonyul. Ezekben a betegekben a normál fehérvérsejt szám (4-12 G/l) emelkedett HbA1c szint mellett pozitív SIRS kritériumként lenne értékelhető. A rossz glikémiás kontroll és következményesen az emelkedett HbA1c, megváltozott fehérvérsejt választ eredményez akut fertőzés esetén, melyet érdemes figyelembe venni a sepszis diagnózisának felállításakor, főleg amennyiben a SIRS kritériumokat használjuk. Diabéteszes, SOFA alapján szeptikus betegekben akiknél a HbA1c meghatározása a felvétel utáni 24 órában (lehetőség szerint felvételekor) történt, a HbA1c fontos prognosztikai értékkel bírhat, figyelembe véve a HbA1c és kórházi napok között megfigyelt pozitív korrelációt a túlélők esetében. Vizsgálatunk alapján a HbA1c – a diabétesz diagnózisában és kontrolljában betöltött szerepén túl – fontos marker lehet cukorbetegekben a sepszis diagnózisának felállításában és prognosztikájában is. További, multicentrikus tanulmányok szükségesek az eredményeink megerősítéséhez.

7. Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet fejezem ki témavezetőmnek, Dr. Paragh György professzor úrnak, aki már hallgató korom óta folyamatosan támogatott, segített mind a pályaválasztásban, mind pedig a tudományos előrehaladásomban, tanácsai és felügyelete nélkül a jelen munka nem készülhetett volna el. Köszönettel tartozom Dr. Szabó Zoltán professzor úrnak a tudományos munkám támogatásért.

Köszönettel tartozom Dr. Lőrincz Hajnalkának, aki a vizsgálatok és a disszertáció elkészítése során nélkülözhetetlen segítséget nyújtott. Köszönetemet fejezem ki továbbá Dr. Harangi Mariann professzor asszonynak, Dr. Seres Ildikó tudományos főmunkatársnőnek, Hrabovszky Andreának, a tudományos közleményeim valamennyi társszerzőjének, illetve a Debreceni Egyetem Klinikai Központ Belgyógyászati Intézet A épület és Sürgősségi Klinika valamennyi szakdolgozójának.