

Związek pomiędzy markerami stanu zapalnego a miażdżycą tętnic szyjnych i zdarzeniami sercowo-naczyniowymi u chorych przewlekle hemodializowanych

Chorych ze schyłkową niewydolnością nerek charakteryzuje dramatycznie wysokie ryzyko sercowo-naczyniowe. Za jeden z kluczowych czynników ryzyka uważa się obecnie, charakterystyczny dla mocznicy, przewlekły stan zapalny. Celem pracy była prospektywna porównawcza ocena przydatności wybranych markerów stanu zapalnego oraz rozpuszczalnych cząsteczek adhezyjnych (sICAM-1, sE-selektyny i sVCAM-1) w określeniu stopnia miażdżycy i przewidywaniu zagrożenia występowaniem powikłań sercowo-naczyniowych u chorych przewlekle hemodializowanych z powodu schyłkowej mocznicy. Badaniem objęto 55 chorych (14 kobiet i 41 mężczyzn) bez cukrzycy, w średnim wieku 50 ± 13 lat. Zmiany naczyniowe oceniano za pomocą badania ultrasonograficznego tętnic szyjnych metodą Dopplera, w prezentacji B, z oceną grubości kompleksu intima-media (IMT) i liczby blaszek miażdżycowych. Po wykonaniu w/w badań, chorych poddano dwuletniej obserwacji. Analiza wyników wykazała, że najbardziej wiarygodnym wskaźnikiem rokowniczym, zarówno rozwoju zmian miażdżycowych w naczyniach, jak i występowania zdarzeń sercowo-naczyniowych było stężenie interleukiny-6 w surowicy; podwyższone wartości obserwowano u 33% badanych. Stężenie IL-6 okazało się najsilniej korelującym markerem stanu zapalnego, zarówno z IMT ($r=0,60$; $p=0,0001$ vs $r=0,41$; $p=0,003$ dla fibrynogenu i $r=0,32$; $p=0,02$ dla CRP), jak i liczbą blaszek miażdżycowych w tętnicach szyjnych ($r=0,50$; $p=0,0002$ vs ns dla fibrynogenu i CRP). Także wartość IL-6 jako czynnika ryzyka zdarzeń sercowo-naczyniowych była większa niż CRP ($p=0,005$ vs $p=0,04$). Podwyższone stężenia sICAM-1 stwierdzono u 51%, sE-selektyny u 44%, a sVCAM-1 u 98% badanych. Nie znaleziono istotnej korelacji pomiędzy stężeniem cząsteczek adhezyjnych a zmianami w tętnicach szyjnych ani występowaniem zdarzeń sercowo-naczyniowych. U chorych przewlekle dializowanych z powodu schyłkowej niewydolności nerek stężenia IL-6 w surowicy wydają się dobrym predyktorem zdarzeń sercowo-naczyniowych i progresji miażdżycy. Wyniki te potwierdzają podstawowe znaczenie reakcji zapalnej i stanowią kolejny argument za istotnym aktywnym udziałem tej cytokiny w rozwoju choroby sercowo-naczyniowej w tej populacji.

(NEPHROL. DIAL. POL. 2006, 10, 21-25)

Association between inflammation markers and carotid atherosclerosis and cardiovascular events in haemodialysis patients

The cardiovascular mortality and morbidity is unacceptably high in patients with end-stage renal disease. Chronic inflammation has been identified as a major risk factor of those complications. The aim of the study was to determine the predictive value of the selected inflammatory markers and three serum soluble adhesion molecules (sICAM-1, sE-selectin and sVCAM-1) for progression of atherosclerosis and risk of cardiovascular events and all-cause mortality in patients undergoing haemodialysis. Fifty five non-diabetic patients (14 women and 41 men; mean age 50 ± 13 years) participated in the study. By using noninvasive B-mode ultrasonography, we evaluated changes in a surrogate marker of atherosclerosis: the intima-media thickness (IMT) and plaque number in both carotid arteries. After the initial evaluation, patients were followed up for two years. Among parameters studied serum interleukin-6 was the strongest predictor of clinical events ($p=0.005$ vs $p=0.04$ for CRP), and atherosclerosis progression, assessed by both: IMT ($r=0.60$; $p=0.0001$ vs $r=0.41$; $p=0.003$ for fibrinogen and $r=0.32$; $p=0.02$ for CRP) and plaque number ($r=0.50$; $p=0.0002$ vs ns for fibrinogen and CRP). Increased serum IL-6 concentrations were found in 33% of the patients, and increased sICAM-1, sE-selectin and sVCAM-1 con-

Monika WIELICZKO

Joanna MATUSZKIEWICZ-ROWIŃSKA

Dariusz WŁODARCZYK

Krzysztof BIJAK

Jerzy PRZEDLACKI

Stanisław NIEMCZYK

Kazimierz OSTROWSKI

Katedra i Klinika Nefrologii, Dializoterapii i Chorób Wewnętrznych Akademii Medycznej w Warszawie

Kierownik Kliniki:

Prof. dr hab med

Joanna Matuszkiewicz-Rowińska

Słowa kluczowe:

- przewlekła niewydolność nerek
- hemodializa
- choroba sercowo-naczyniowa
- miażdżycza tętnic szyjnych
- interleukina 6
- białko C-reaktywne
- cząsteczki adhezyjne

Key words:

- chronic renal failure
- haemodialysis
- cardiovascular disease
- carotid atherosclerosis
- interleukin-6
- C-reactive protein
- adhesion molecules

Adres do korespondencji:

Dr Monika Wieliczko

Katedra i Klinika Nefrologii, Dializoterapii i Chorób Wewnętrznych

02-097 Warszawa, ul. Banacha 1

Tel.: + 48 22 599 26 58, + 48 22 599 26 60,

Fax + 48 22 599 16 58

e-mail: jotmatrow@tlen.pl

centrations – in 51%, 44% and 98%, respectively. No significant correlations between soluble adhesion molecules concentration and carotid atherosclerosis nor clinical events were found. In patients with end-stage renal disease undergoing haemodialysis, elevated circulating IL-6 seems to be a valuable predictor for cardiovascular events and atherosclerotic changes progression. These findings highlight the key role of inflammation and supports a significant active role of IL-6 in uraemic cardiovascular disease.

(NEFROL. DIAL. POL. 2006, 10, 21-25)

Wstęp

Osoby przewlekle dializowane z powodu schyłkowej niewydolności nerek charakteryzuje szybki postęp miażdżycy naczyń i dramatycznie wysokie ryzyko sercowo-naczyniowe. Jest to spowodowane wyjątkowo częstym występowaniem w tej populacji różnych czynników ryzyka, zarówno klasycznych, jak i typowych dla mocznicy. Za jeden z najważniejszych uważa się obecnie, charakterystyczny dla mocznicy przewlekły stan zapalny, nasilający się pod wpływem powtarzających się zabiegów dializy. U chorych z przewlekłą niewydolnością nerek wykazywano wielokrotnie istotne znaczenie prognostyczne stężenia białka C-reaktywnego (CRP). Ostatnio pojawiły się również pojedyncze prace na temat związku wysokich stężeń cytokin prozapalnych ze zdarzeniami sercowo-naczyniowymi w tej populacji [25,28,29]. Kluczową cytokiną w inicjacji reakcji ostrej fazy wydaje się interleukina-6 (IL-6). Uważa się, że odgrywa ona podstawową rolę w rozwoju zarówno niedożywienia, jak i miażdżycy w przewlekłej niewydolności nerek [13,19,24].

Ostatnio sugeruje się również istotny udział w patogenezie miażdżycy molekuł adhezyjnych. Zwiększona ich ekspresja na komórkach śródbłonna naczyniowego jest odpowiedzią na działanie cytokin; ułatwia ona m.in. adhezję i migrację leukocytów przez ścianę naczyń i przyczynia się do proliferacji komórek mięśniówki gładkiej naczyń [15]. Ogniskową ekspresję ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule-1*), E-selektyny i V-CAM-1 (*vascular cell adhesion molecule-1*) wykazano w ludzkich blaszkach miażdżycowych w populacji ogólnej, oraz u myszy z mocznicą [7,9]. Rozpuszczalne formy cząsteczek adhezyjnych (sICAM-1, sVCAM-1 i sE-selektyny) wykrywa się w surowicy; mają one odzwierciedlać ekspresję tych białek na błonach komórek śródbłonna. W pojedynczych badaniach sugerowano, że do aktywacji śródbłonna przez procesy zapalne dochodzi we wczesnych stadiach miażdżycy, i że wysokie stężenia krążących cząsteczek adhezyjnych mogą poprzedzać występowanie zdarzeń sercowo-naczyniowych oraz korelować z zaawansowaniem miażdżycy tętnic szyjnych w populacji ogólnej, a także u chorych z mocznicą [2,18,26].

Celem pracy była prospektywna porównawcza ocena przydatności poszczególnych markerów stanu zapalnego w określeniu stopnia miażdżycy i przewidywaniu zagrożenia występowaniem powikłań sercowo-naczyniowych u chorych przewlekle hemodializowanych z powodu schyłkowej mocznicy.

Materiał i metody

Badaniem objęto 55 chorych (14 kobiet i 41 mężczyzn), w wieku 22-70 lat (50 ± 13 lat), leczonych powtarzanymi dializami pozaustrojowymi od przynajmniej 3 miesięcy (średnio 58 ± 62 miesiące, 4-264 miesiące). Do kryteriów wykluczenia należała obecność: cukrzycy, niedożywienia (wskaźnik masy ciała – BMI < 18 kg/m²), choroby autoimmunologicznej, jawnego klinicznie przewlekłego lub ostrego stanu zapalnego, nowotworu, ciężkiego uszkodzenia wątroby. Żaden z chorych nie przyjmował glikokortykosteroidów, leków immunosupresyjnych, hormonów płciowych, antykoagulantów. Chorzy otrzymujący preparaty hipolipemizujące byli kwalifikowani do badania jedynie wówczas, gdy ich dawki były stałe i nie zmieniały się podczas obserwacji.

Podstawową chorobą nerek było: u 36 chorych kłębuszkowe zapalenie nerek, u 9 chorych śródmiąższowe zapalenie nerek, u 6 chorych wielotorbielowatość nerek, u dwóch amyloidoza i u jednego rak nerki leczony przed 10 lat operacyjnie. Wszyscy chorzy wyrazili świadomą zgodę na badanie, a projekt został zaakceptowany przez Senacką Komisję Etyczną do Spraw Badań Naukowych Akademii Medycznej w Warszawie.

Wszyscy chorzy byli dializowani w sposób standardowy, trzy razy w tygodniu po 4-5 godzin tygodniowo, przy użyciu buforu dwuwęglanowego i błon polisulfonowych lub hemofanowych. 92% badanych otrzymywało ludzką rekombinowaną erytropoetynę; średnia jej dawka wynosiła 100 jmk/kg/tydz. 82% badanych przyjmowało leki hipotensyjne; 4 osoby przyjmowały fibryaty, a jedna z nich dodatkowo statynę.

U badanych oznaczono w surowicy krwi stężenie: CRP, IL-6, sICAM-1, sVCAM-1, sE-selektyny, fibrynogenu, albumin, ferrytyny, transferyny, oraz homocysteiny, cholesterolu całkowitego, cholesterolu HDL, triglicerydów i lipoproteiny (a) [Lp(a)]. Stężenie cholesterolu LDL obliczano ze wzoru *Friedewalda* [13]. Ponadto u wszystkich przeprowadzono badanie ultrasonograficzne tętnic szyjnych metodą *Dopplera*, w prezentacji B, z oceną grubości kompleksu błony wewnętrznej i środkowej (*intima-media*) i liczby blaszek miażdżycowych. U wszystkich chorych przeprowadzono 24-godzinny pomiar ciśnienia tętniczego krwi.

Następnie chorych poddano dwuletniej obserwacji, rejestrując wszystkie zdarzenia sercowo-naczyniowe, zgony z przyczyn sercowo-naczyniowych oraz zgony z innych przyczyn. Za zdarzenie sercowo-naczyniowe przyjęto: zgon z przyczyn sercowo-naczyniowych, zawał serca nie zakończony zgonem, ostry zespół wieńcowy z uniesieniem lub bez uniesienia odcinka ST, udar mózgu lub przejściowe ostre niedokrwienie mózgu (TIA - *Tran-*

sient Ischemic Attack), oraz krytyczne niedokrwienie kończyn pochodzenia miażdżycowego

Metody laboratoryjne

Krew do badań pobierano na czczo, przed pierwszą dializą w tygodniu. Surowicę do oznaczeń stężeń IL-6, molekuł adhezyjnych, homocysteiny i Lp(a), zamrażano po odwirowaniu do -70°C , a badania wykonywano w większych seriach. Pozostałe badania wykonywano na bieżąco.

Stężenie IL-6 i krążących molekuł adhezyjnych (sICAM-1, sVCAM-1, sE-selectin) oznaczano metodą ELISA przy użyciu zestawów firmy Research & Diagnostic Systems Europe Ltd, Abington, UK); wartości referencyjne wynoszą dla IL-6 - 3,13-12,5 pg/ml, dla s-VCAM 395-714 ng/ml, dla s-ICAM - 115-306 ng/ml i dla sE-selectin 29,1-63,4 ng/ml. Stężenie homocysteiny w surowicy oznaczano metodą EIA za pomocą zestawu Microplate Enzyme Immunoassay Homocysteine (BIO-RAD Norwegia) (norma 5-15 $\mu\text{mol/l}$, a > 60 r.ż. 5-20 $\mu\text{mol/l}$). Stężenie Lp(a) oznaczano metodą manualną ELISA przy zastosowaniu zestawu Total Lipoprotein A (OLAB; Biomedica, Austria) (norma < 30 mg/dl), stężenie fibrynogenu – metodą automatyczną Claussa z zastosowaniem analizatora STA Compact firmy Roche (norma 200-400 mg/dl), stężenie ferrytyny – automatyczną metodą chemiluminescencyjną (*Chemiluminescent Microparticle Immunoassay* – CMIA) z zastosowaniem odczynników firmy ABBOTT (norma 15-275 ng/ml), stężenie transferyny – metodą immunoturbidymetryczną za pomocą analizatora Cobas Integra Roche (norma 200-360 mg/dl), stężenie CRP oznaczano metodą immunologiczną przy użyciu analizatora Cobas Integra i zestawu C-Reactive Protein (Latex) (norma < 10 mg/l).

Ultrasonograficzną ocenę tętnic szyjnych przeprowadzono metodą Dopplera w prezentacji B (*Duplex Doppler- high resolution B-mode*). U wszystkich chorych pomiaru dokonywała ta sama osoba. Badań dokonano przy pomocy aparatu Toshiba i głowicy liniowej o częstotliwości 7,5 MHz. Chorych badano w pozycji leżącej. Badano obie tętnice szyjne wspólne, 1-2 cm poniżej opuszki na długości 2-3 cm. oraz tętnice szyjne wewnętrzne; ocenie poddawano ścianę dalszą (tylną) i bliższą (przednią) naczyń. Oceniano: grubość kompleksu intima-media (IMT) w miejscu jej maksymalnego pogrubienia oraz obecność i liczbę blaszek miażdżycowych w badanym obszarze tętnic szyjnych. Dokonywano trzech pomiarów w różnych segmentach obu tętnic, a następnie uśredniano wyniki. Jako podstawę oceny IMT przyjęto przesłone na ścianie dalszej naczyńia pomiędzy pierwszą jasną echogeniczną linią, odpowiadającą granicy krew-śródbłonek, a drugą echogeniczną linią, będącą odpowiednikiem granicy *media*-przydan-

ka; wartości $\geq 0,9$ mm przyjęto za nieprawidłowe. Takiego samego pomiaru dokonywano na ścianie bliższej. Grubość blaszki oceniano w innych regionach niż pogrubienie kompleksu *intima-media*. Blaszka została zdefiniowana jako miejscowe poszerzenie ściany do wewnątrz naczynia bez względu na jego echogeniczność.

24-godzinny pomiar ciśnienia tętniczego krwi przeprowadzano metodą pośrednią za pomocą aparatu *Ambulatory Blood Pressure Monitor* firmy *Spacelabs Medical*, Inc, przy użyciu programu *ABP Report Management System Version 1.03.16* firmy *Spacelabs Medical, Inc.* Średnie ciśnienie tętnicze wyliczano ze wzoru: $MAP = DBP + [(SBP - DBP) / 3]$, gdzie: MAP – średnie ciśnienie tętnicze, SBP – ciśnienie skurczowe, DBP – ciśnienie rozkurczowe.

Analiza statystyczna

Uzyskiwane dane gromadzono w arkuszach kalkulacyjnych programu komputerowego *Excell 7,0* (Microsoft) i poddawano analizie statystycznej w programie *Statistica*. Pozwalało to na uzyskanie średnich wartości i odchyłeń standardowych (SD). Korelacje uzyskano przy użyciu testu *Spearmana* i testu χ^2 . Dane wyrażano jako średnie \pm SD. Różnice uznawano za istotne statystycznie przy wartości $p < 0,05$.

Wyniki

W tabeli I przedstawiono podstawowe dane kliniczne i biochemiczne badanych.

U 15 osób w czasie dwuletniej obserwacji wystąpiło łącznie 15 zdarzeń sercowo-naczyniowych: w tym 6 zgonów, 3 zawały nie zakończone zgonem, 2 epizody TIA, 2 ostre zespoły wieńcowe; u jednego chorego wykonano angioplastykę z powodu krytycznego zwężenia tętnicy biodrowej i u jednego – amputację podudzia z powodu miażdżycy zarostowej tętnic kończyn dolnych. Ponadto obserwowano 6 zgonów z innych niż sercowo-naczyniowe przyczyn, tak więc łączna dwuletnia śmiertelność wynosiła 22% (12 zgonów u 55 chorych). W pierwszym roku obserwacji zmarło 5 osób w tym 4 z przyczyn sercowo-naczyniowych, w drugim roku obserwacji zmarło 7 osób – w tym były 2 zgony sercowo-naczyniowe.

U badanych chorych stwierdziliśmy wysoką dodatnią korelację pomiędzy występowaniem zdarzeń sercowo-naczyniowych a stężeniem IL-6 ($p=0,005$), słabszą ze stężeniem CRP ($p=0,04$) oraz zależność pomiędzy zdarzeniami klinicznymi a liczbą blaszek miażdżycowych ($p=0,02$), paleniem tytoniu ($p=0,02$), czasem trwania dializoterapii ($p=0,04$). Bliskie istotności statystycznej były związki pomiędzy wystąpieniem zdarzeń sercowo-naczyniowych a stężeniem fibrynogenu ($p=0,08$), wiekiem ($p=0,055$), Kt/V ($p=0,07$) oraz grubością kompleksu *intima-media* ($p=0,09$).

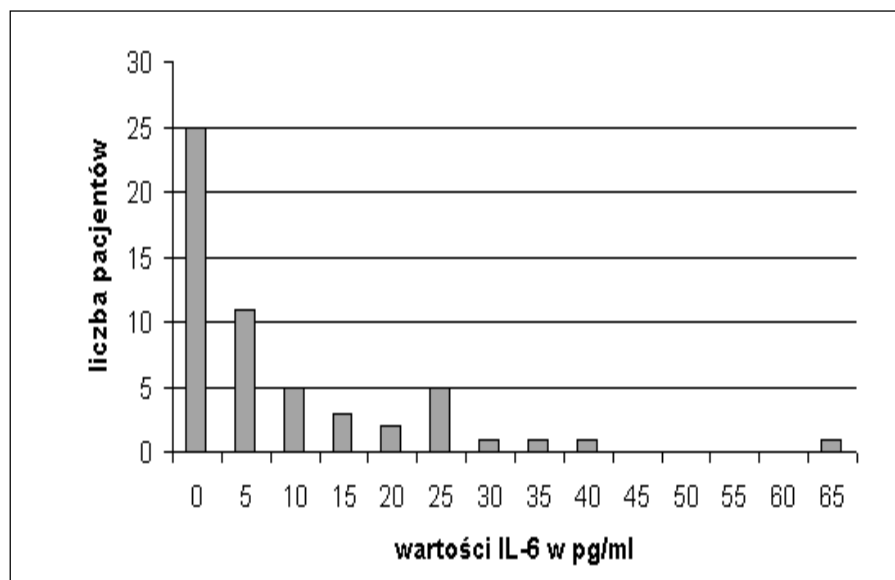
Wśród badanych, aż 40 osób (73%) miało ultrasonograficzne cechy pogrubienia ($\geq 0,9$ mm) kompleksu *intima-media* w tętnicach szyjnych. Średnia IMT u tych 40 chorych wynosiła $1,54 \pm 0,52$ mm, a w całej grupie badanych $1,31 \pm 0,59$ mm. U 29 osób (53%) stwierdzono w naczyniach szyjnych blaszki miażdżycowe, przy czym średnia liczba blaszek w tej grupie wynosiła aż $2,7 \pm 1,4$! Największa liczba blaszek miażdżycowych u jednego chorego wynosiła 7.

Tabela I

Podstawowe cechy kliniczne i laboratoryjne u badanych.

Clinical and laboratory characteristics of the studied patients.

	średnia \pm SD	Zakres	wartości referencyjne
Liczba badanych	55	–	–
Wiek (lata)	50 \pm 13	22 - 70	–
Kobiety / mężczyźni	13 / 42	–	–
Ciśnienie skurczowe (mmHg)	146 \pm 13,9	100 - 170	< 130
Ciśnienie rozkurczowe (mmHg)	86 \pm 9,2	60 - 105	< 80
Czas dializ (miesiące)	58 \pm 62	4 - 264	-
Hemoglobina (g/dl)	10,3 \pm 1,17	7,0 - 12,9	11 - 15
Kt/V	1,31 \pm 0,25	0,78 - 1,85	–
Białko C-reaktywne (mg/l)	10,8 \pm 12,6	5,00 - 84,0	<10
IL-6 (pg/ml)	11,3 \pm 13,2	0,0 - 69	3,13 - 12,5
sICAM 1 (ng/ml)	340 \pm 139	133 - 847	115 - 306
sVCAM 1 (ng/ml)	1650 \pm 597	713 - 3232	395 - 714
sE-Selektyna (ng/ml)	65,2 \pm 34,9	14 - 181	29,1 - 63,4
Albuminy (g/dl)	4,36 \pm 0,33	3,6 - 5,1	$\geq 4,0$
Fibrynogen (mg/dl)	440 \pm 105	252 - 704	200 - 400
Ferrytyna (ng/ml)	684,3 \pm 525,8	58 - 1993	15 - 275
Transferytyna (mg/dl)	162 \pm 34,31	98 - 247	200 - 360
Homocysteina (μ mol/l)	41 \pm 17	22 - 100	5-15
Cholesterol LDL (mg/dl)	98 \pm 34	34 - 194	< 100
Cholesterol HDL (mg/dl)	40 \pm 10	22 - 67	>40
Triglicerydy (mg/dl)	149 \pm 86	34 - 428	< 150
Lp(a) (mg/dl)	20 \pm 20	0,5- 104	< 30



Rycina 1

Rozkład wartości stężeń IL-6 w surowicy w całej grupie 55 badanych.

Serum IL-6 levels in studied group of 55 subjects.

W całej grupie badanych, z grubością kompleksu *intima-media*, najsilniej korelowały: wiek ($r=0,64$; $p=0,000$), stężenie IL-6 ($r=0,60$; $p=0,0001$), homocysteiny ($r=0,38$, $p=0,005$) oraz liczba blaszek miażdżycowych w tętnicach szyjnych ($r=0,51$; $p=0,0001$). Wysokie dodatnie korelacje stwierdzono także dla stężenia fibrynogenu

($r=0,41$; $p=0,003$) i CRP ($r=0,32$; $p=0,02$), palenia tytoniu ($r=0,39$; $p=0,003$), ciśnienia skurczowego krwi ($r=0,28$; $p=0,04$). Bliska istotności statystycznej pozostawała dodatnia korelacja z występowaniem zdarzeń sercowo-naczyniowych ($p=0,09$).

Z kolei liczba blaszek miażdżycowych korelowała najsilniej dodatnio z: grubością

kompleksu *intima-media* ($r=0,51$; $p=0,0001$), wiekiem badanych ($r=0,50$; $p=0,0001$), stężeniem IL-6 ($r=0,50$; $p=0,0002$), stężeniem Lp(a) ($r=0,33$, $p=0,01$) i paleniem tytoniu ($r=0,46$; $p=0,0005$), a ponadto także ze średnim ciśnieniem tętniczym krwi ($r=0,32$; $p=0,02$), występowaniem zdarzeń sercowo-naczyniowych ($p=0,02$). Stwierdzono również ujemną, bliską istotności statystycznej, korelację ze stopniem wydializowania mierzonym Kt/V ($r=-0,24$, $p=0,08$). Stężenie IL-6 znajdowało się powyżej górnej granicy zakresu wartości referencyjnych aż u 18 osób (33%). Rozkład wartości stężeń IL-6 w badanej grupie przedstawiono na rycinie 1.

Stężenie IL-6, poza opisanym wyżej silnym związkiem ze zmianami w tętnicach szyjnych i zdarzeniami klinicznymi, korelowało wysoko z pozostałymi markerami stanu zapalnego w surowicy: dodatnio ze stężeniem CRP ($r=0,50$; $p=0,0002$) i fibrynogenu ($r=0,49$; $p=0,0002$), ujemnie ze stężeniem albumin ($r=-0,46$; $p=0,0005$). Stwierdzono również istotną zależność pomiędzy stężeniem IL-6 a z paleniem tytoniu ($r=0,46$; $p=0,005$), czasem dializoterapii ($r=0,40$; $p=0,0034$) i wiekiem badanych ($r=0,52$, $p=0,0001$).

Podwyższone stężenie CRP stwierdzono u 14 osób tj 26%, jednakże u nikogo nie stwierdzono stężenia CRP < 5 mg/l. Wykazano istotne dodatnie korelacje pomiędzy stężeniem CRP a stężeniem fibrynogenu ($r=0,43$, $p=0,001$), ICAM-1 ($r=0,35$, $p=0,008$), IL6 ($r=0,5$, $p=0,0002$), IMT ($r=0,32$, $p=0,02$), czasem trwania dializoterapii ($r=0,38$, $p=0,004$), i ujemną ze stężeniem albumin ($r=-0,27$, $p=0,048$). Wykazano dodatnią istotną korelację pomiędzy stężeniem CRP a wystąpieniem incydentów sercowo-naczyniowych ($p=0,004$). W grupie osób z podwyższonym > 5 mg/l stężeniem CRP stwierdzono istotnie wyższe: stężenie IL-6 ($p=0,0004$), stężenie fibrynogenu ($p=0,002$), grubszy kompleks *intima-media* ($p=0,009$) oraz niższe stężenie albumin ($p=0,03$); pacjenci ci byli dłużej dializowani (lata; $p=0,002$).

Podwyższone stężenie fibrynogenu stwierdzono, aż u 36 osób (66% badanych). Wykazano istotną dodatnią korelację pomiędzy stężeniem fibrynogenu a: stężeniem IL-6 ($r=0,49$, $p=0,0002$), CRP ($r=0,43$, $p=0,001$), IMT ($r=0,4$, $p=0,003$), wiekiem ($r=0,29$, $p=0,03$) i czasem trwania dializoterapii ($r=0,27$, $p=0,049$). Zależność pomiędzy stężeniem fibrynogenu a występowaniem incydentów sercowo-naczyniowych była nieco poniżej istotności statystycznej ($p=0,08$). Stężenie albumin korelowało silnie ujemnie przede wszystkim z IL6 ($r=-0,46$, $p=0,0005$) i CRP ($r=-0,27$, $p=0,048$), oraz dodatnio ze stężeniem triglicerydów ($r=0,29$, $p=0,03$) i transferyny ($r=0,27$, $p=0,047$). Podwyższone stężenie ferrytyny stwierdzono u 44 osób (80% badanych). Stwierdzono ujemną korelację ze stężeniem transferyny ($r=-0,41$, $p=0,002$). Obniżone stężenie transferyny stwierdzono u 47 badanych (86%). Wykazano dodatnią korelację pomiędzy stężeniem transferyny a stężeniem albumin ($r=0,27$, $p=0,047$), ICAM-1 ($r=0,28$, $p=0,04$), E-selektyny ($r=0,44$, $p=0,0007$), a także istotną ujemną zależność ze stężeniem ferrytyny ($r=-0,42$, $p=0,002$).

Podwyższone stężenia molekuł adhezyj-

nych stwierdzono u większości badanych: sICAM-1 u 51%, sE-selektyny u 44%, a sVCAM 1 u wszystkich z wyjątkiem jednej osoby (98%). Nie znaleziono istotnej zależności pomiędzy stężeniem krążących molekuł adhezyjnych a zmianami w tętnicach szyjnych, występowaniem zdarzeń sercowo-naczyniowych; stężenie to wbrew oczekiwaniom nie korelowało również ze stężeniem IL-6. Stwierdzono różne istotne zależności pomiędzy stężeniami cząsteczek adhezyjnych a innymi badanymi parametrami. W przypadku sICAM była to korelacja ze stężeniem CRP ($r=0,35$; $p=0,0084$), stężeniem transferyny ($r=0,28$, $p=0,04$) i długością dializoterapii ($r=0,49$; $p=0,0001$); w przypadku sVCAM-1 – związek z czasem trwania niewydolności nerek ($r=0,44$, $p=0,0009$) i czasem trwania dializoterapii ($r=0,61$, $p=0,0000$) oraz ujemny ze stężeniem cholesterolu HDL ≤ 35 mg% ($r=-0,54$, $p=0,01$), i w przypadku E-selektyny związek ze stężeniem transferyny ($r=0,44$, $p=0,0007$). Ponadto stwierdzono istotne dodatnie zależności pomiędzy poszczególnymi cząsteczkami adhezyjnymi (ICAM-1-VCAM-1: $r=0,49$, $p=0,0002$; ICAM-1 - E-selektyna: $r=0,51$, $p=0,0001$; VCAM-1 -E-selektyna: $r=0,35$, $p=0,009$).

Omówienie wyników

Biochemiczne cechy przewlekłego stanu zapalnego są często obserwowanym zjawiskiem w schyłkowej niewydolności nerek; dotyczy to zarówno podwyższonych stężeń CRP, jak i cytokin prozapalnych z IL-6 na czele, aczkolwiek opisywane wartości wahają się w dość dużych granicach. Zimmermann i wsp. wykazali stężenia CRP stwierdzili aż u 46% chorych hemodializowanych, podczas gdy w badaniu Owena i Lowrie'ego były one podwyższone w tej grupie u 35% badanych [16,28]. W ocenianej przez nas grupie, odsetek ten był jeszcze mniejszy i wyniósł 26%, jednakże wartości pozostałych badanych markerów stanu zapalnego były wysokie u znacznie większej liczby chorych. Dotyczyło to IL-6 (33% badanych), fibrynogenu (66% badanych), ferrytyny (80% badanych). Jedynie 13% chorych miało obniżone stężenie albumin i aż 86% obniżone stężenie transferyny. Także średnie stężenia większości badanych parametrów markerów zapalnych były nieprawidłowe. Należy podkreślić, że z badania wyłaczono chorych wykazujących jakiegokolwiek kliniczne cechy ostrego lub przewlekłego stanu zapalnego.

Przyczyny przewlekającej się reakcji ostrej fazy, obserwowanej u chorych ze schyłkową niewydolnością nerek są niejasne. Wymienia się tu m.in. przebiegające subklinicznie różnego rodzaju procesy zapalne, choroby towarzyszące, przede wszystkim częściej występująca w tej populacji choroba sercowo-naczyniowa, nadciśnienie tętnicze i przewodnienie, oporność na insulinę oraz upośledzenie usuwania z ustroju cytokin. Niektórzy przypisują dodatkową, istotną rolę stymulacji reakcji zapalnej przez powtarzający się kontakt z tworzywem sztucznym i zanieczyszczeniami płynu dializacyjnego u osób hemodializowanych lub kontakt otrzewnej z drażniącymi składnikami płynu w przypadku dializy otrzewnowej. Przeciw istotnemu znaczeniu tego ostatniego mechanizmu, przemawiają

wyniki badań tych, którzy nie wykazali istotnych różnic w stężeniach CRP, fibrynogenu i cytokin pomiędzy chorymi ze schyłkową niewydolnością nerek, bezpośrednio przed rozpoczęciem dializy a chorymi dializowanymi [11,26,20]. Wyniki tych ostatnich prac sugerują, że niewydolność nerek *pe se* jest czynnikiem usposabiającym do stanu zapalnego.

Stwierdzone przez nas wysokie dodatnie korelacje zmian morfologicznych w tętnicach szyjnych ze stężeniem IL-6 i białek ostrej fazy (CRP i fibrynogen) przemawiają za istotnym udziałem stanu zapalnego w rozwoju miażdżycy u chorych dializowanych z powodu schyłkowej niewydolności nerek. Podobne dane opublikowali Kato i wsp. oraz Stenvinkel i wsp, którzy stwierdzili istotną dodatnią korelację pomiędzy stężeniem IL-6 a grubością kompleksu *intima-media* tętnic szyjnych [13,26]. W naszym badaniu, IL-6 okazała się najsilniej korelującym markerem stanu zapalnego, zarówno z IMT ($r=0,60$; $p=0,0001$), jak i liczbą blaszek miażdżycowych w tętnicach szyjnych ($r=0,50$; $p=0,0002$). Mniejsze, choć nadal wysokie dodatnie korelacje stwierdzono także dla stężenia fibrynogenu ($r=0,41$; $p=0,003$) i CRP ($r=0,32$; $p=0,02$) w stosunku do IMT. Obie stwierdzane w badaniu ultrasonograficznym patologie pozostawały w ścisłej dodatniej zależności ze sobą ($r=0,51$; $p=0,0001$) oraz takimi klasycznymi czynnikami ryzyka jak wiek badanych ($r=0,64$; $p=0,0001$ dla IMT i $r=0,50$; $p=0,0001$ dla liczby blaszek), palenie tytoniu ($r=0,39$; $p=0,003$ i $r=0,46$; $p=0,0001$) oraz ciśnienie tętnicze: skurczowe (IMT) lub średnie (liczba blaszek). Liczba blaszek miażdżycowych korelowała także – ze stężeniem Lp(a), ciśnieniem rozkurczowym, a IMT- ze stężeniem homocysteiny ($r=0,38$, $p=0,005$). Zaskoczeniem okazał się natomiast brak istotnych korelacji z innymi parametrami gospodarki lipidowej oraz zaburzeniami metabolizmu wapniowo-fosforowego.

Markery stanu zapalnego, zarówno CRP, jak i IL-6 są obecnie uważane za jedne z najlepszych predyktorów ryzyka sercowo-naczyniowego w populacji ogólnej. Istotne znaczenie prognostyczne stężenia CRP wykazywano również u chorych z przewlekłą niewydolnością nerek, natomiast badań na temat związku wysokich stężeń IL-6 ze zdarzeniami sercowo-naczyniowymi i rozwojem zmian w naczyniach u chorych z niewydolnością nerek jest stosunkowo niewiele [4,19,21]. Ostatnio, w badaniu Tripepi i wsp., IL-6 okazała się najlepszym parametrem w określaniu ryzyka zgonu, zarówno z powodu choroby sercowo-naczyniowej, jak ze wszystkich przyczyn, przy czym jej wartość w tym zakresie 2721]. U badanych chorych stwierdziliśmy wysoką dodatnią korelację pomiędzy występowaniem zdarzeń sercowo-naczyniowych a stężeniem IL-6 ($p=0,005$), słabszą ze stężeniem CRP ($p=0,04$) oraz zależność pomiędzy zdarzeniami klinicznymi a liczbą blaszek miażdżycowych ($p=0,02$), paleniem tytoniu ($p=0,02$), czasem trwania dializoterapii ($p=0,04$).

Tak silny związek IL-6 ze zmianami miażdżycowymi i jej powikłaniami klinicznymi, także w stosunku do CRP, stanowi kolejny argument za tym, że cytokina ta jest nie tylko markerem zmian w układzie ser-

cowo-naczyniowym, ale bierze aktywny udział w ich rozwoju. Sugerują to zarówno wyniki badań eksperymentalnych, w których podanie rekombinowanej IL-6 myszom pozbawionym apolipoproteiny E wyraźnie nasila obserwowaną u nich wczesną miażdżycę, jak i doniesienia opisujące obecność mRNA dla IL-6 w blaszkach miażdżycowych tętnic wieńcowych chorych poddawanych zabiegom przeszczepienia serca lub ateryktomii [12,23].

Wysokie stężenia krążących cząsteczek adhezyjnych mają odzwierciedlać zwiększoną ich ekspresję na komórkach śródbłonna i stanowią wczesny marker zmian naczyniowych. Nieprawidłowe wartości s-VCAM-1 obserwowaliśmy u prawie wszystkich (98%) badanych. Fakt, że u większości naszych chorych stężenia cząsteczek adhezyjnych były podwyższone przemawia za istotnym zaburzeniem czynności śródbłonna w moczniccy. Średnie stężenia sVCAM-1, sICAM-1 i sE-selektyny były podwyższone i wynosiły kolejno: 1650 ± 597 ng/ml, 340 ± 139 ng/ml i 65 ± 35 ng/ml, a więc były wyraźnie wyższe niż opisywane przez *Stenvinkela* i wsp. (1240 ± 52 ng/ml, 254 ± 9 ng/ml i 56 ± 3 ng/ml, odpowiednio) [26]. Wysokość stężeń rozpuszczalnych cząsteczek adhezyjnych, podobnie jak cytokin, może być wypadkową ich syntezy oraz uwalniania do krążenia i usuwania z ustroju. *Bonomini* i wsp. wykazali, że stężenie molekuł adhezyjnych narasta wraz ze zmniejszaniem się przesączania kłębuszkowego [3]. Chorzy badani przez *Stenvinkela* znajdowali się jeszcze w okresie przeddializacyjnym i mieli resztkową czynność nerek, wyrażającą się średnim klirensem kreatyniny i moczniaka 7 ± 1 ml/min ($2-15$ ml/min), podczas gdy osoby badane przez nas były dializowane, często przez dłuższy okres i w większości przypadków pozbawione resztkowej czynności nerek, co może tłumaczyć obserwowane przez nas tak wysokie wartości.

Jednakże, mimo tak wyraźnie podwyższonych stężeń wszystkich trzech badanych cząsteczek adhezyjnych, nie stwierdziliśmy zależności pomiędzy nimi a występowaniem zdarzeń sercowo-naczyniowych i zgonów. Przydatność sICAM w ocenie ryzyka wystąpienia zgonów z wszystkich przyczyn opisali *Stenvinkel* i wsp.; w ich badaniu parametr ten miał największe znaczenie rokownicze [26]. Także, w przeciwieństwie do *Papagianni'ego* i wsp. [17, 18], którzy opisali korelację pomiędzy sICAM a grubością kompleksu *intima-media*, zarówno u chorych hemodializowanych, jak i leczonych dializą otrzewnową, nie udało się potwierdzić związku pomiędzy żadną z krążących cząsteczek adhezyjnych a zmianami w tętnicach szyjnych. Więcej, wbrew naszym oczekiwaniom stężenie tych cząsteczek nie korelowało również ze stężeniem IL-6.

Stwierdzono natomiast różne istotne zależności pomiędzy stężeniami cząsteczek adhezyjnych a innymi badanymi parametrami, m.in. potwierdzono obecność opisywanego zarówno w populacji ogólnej, jak i w populacji chorych z niewydolnością nerek w

okresie przeddializacyjnym i dializowanych, związku pomiędzy sICAM-1 a CRP ($r=0,35$; $p=0,0084$) [11,21,26]. Stężenia sICAM-1, jak i sVCAM-1 korelowały też wysoko z czasem trwania dializoterapii. Warte podkreślenia jest też obserwowana przez nas ujemna wysoka korelacja pomiędzy sVCAM-1 a stężeniem cholesterolu HDL ≥ 35 mg% ($r=-0,54$, $p=0,01$). Może to być spowodowane ochronnym wpływem tego ostatniego na czynność śródbłonna. Sugeruje się, że wysokie stężenia HDL działając antyoksydacyjnie hamują nadmierną ekspresję cząsteczek adhezyjnych [8,14]. Analogiczną zależność w stosunku do ICAM-1 opisali w grupie 49 chorych w okresie przeddializacyjnym lub dializowanych *Bolton* i wsp. [5].

Podsumowując: u chorych przewlekłe dializowanych z powodu schyłkowej niewydolności nerek stężenia IL-6 w surowicy wydają się bardzo dobrym predyktorem zdarzeń sercowo-naczyniowych i progresji miażdżycy. Wyniki te potwierdzają podstawowe znaczenie reakcji zapalnej i stanowią kolejny argument za istotnym aktywnym udziałem tej cytokiny w rozwoju choroby sercowo-naczyniowej w tej populacji.

Piśmiennictwo

- Bijak K.:** Wybrane czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego u chorych przewlekłe dializowanych. Praca na stopień doktora nauk medycznych. Akademia Medyczna w Warszawie, 2005.
- Blankenberg S., Rupprecht H.J., Bickel C. et al.:** Circulating cell adhesion molecules and death in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001, 104, 1336.
- Bonomini M., Reale M., Santarelli P. et al.:** Serum levels of soluble adhesion molecules in chronic renal failure and dialysis patients. *Nephron* 1998, 79, 399.
- Bologa R.N., Levine D.M., Parker T.S. et al.:** IL-6 predicts hypoalbuminemia, hypocholesterolemia and mortality in hemodialysis patients. *Am. J. Kidney Dis.* 1998, 32, 107.
- Bolton C.H., Downs L.G., Victory J.G.G. et al.:** Endothelial dysfunction in chronic renal failure: roles of lipoprotein oxidation and pro-inflammatory cytokines. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2001, 16, 1189.
- Borazan A., Ustun H., Ustundag Y. et al.:** The effects of peritoneal dialysis and hemodialysis on serum tumor necrosis factor-alpha, interleukin-6, interleukin-10, and C-reactive protein levels. *Med. Inflamm.* 2004, 13, 201.
- Bro S., Moeller F., Andersen C.B. et al.:** Increased expression of adhesion molecules in uremic atherosclerosis in apolipoprotein-E-deficient mice. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2004, 15, 1495.
- Cockerill G.W., Rye K.A., Gamble J.R. et al.:** High-density lipoproteins inhibit cytokine-induced expression of endothelial cell adhesion molecules. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1995, 15, 1987.
- Davies M.J., Gordon J.L., Pigott R. et al.:** The expression of the adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1, PECAM, and E-selectin in human atherosclerosis. *J. Pathol.* 1993, 171, 223.
- Friedewald W.T., Levy R.I., Fredrickson D.S.:** Estimation of the concentration of low density lipoprotein in plasma without use of preparative centrifuge. *Clin. Chem.* 1972, 18, 499.
- Herbelin A., Urena P., Nguyen A.T. et al.:** Influence of uremia and hemodialysis on circulating interleukin-1 and tumor necrosis factor alpha. *Kidney Int.* 1991, 37, 116.
- Huber S.A., Sakkinen P., Conze D. et al.:** Interleukin-

6 exacerbates early atherosclerosis in mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1999, 19, 2364.

- Kato A., Odamaki M., Takita T. et al.:** Association between interleukin-6 and carotid atherosclerosis in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2002, 61, 1143.
- Lupattelli G., Marchesi S., Lombardini R. et al.:** Mechanisms of high-density lipoprotein cholesterol effects on the endothelial function in hyperlipemia. *Metabolism* 2003, 52, 1191.
- O'Brien K.D., McDonald T.O., Chait A. et al.:** Neovascular expression of E-selectin, intercellular adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 in human atherosclerosis and their relation to intimal leukocyte content. *Circulation* 1996, 93, 672.
- Owen W.F., Lowrie E.G.:** C-reactive protein as an outcome predictor for maintenance hemodialysis patients. *Kidney Int.* 1998, 54, 627.
- Papagianni A., Kokolina E., Kalouvolos M. et al.:** Carotid atherosclerosis is associated with inflammation, malnutrition and intercellular adhesion molecule-1 in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2004, 19, 1258.
- Papagianni A., Kalouvolos M., Kirmizis D. et al.:** Carotid atherosclerosis is associated with inflammation and endothelial cell adhesion molecules in chronic haemodialysis patients. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2003, 18, 113.
- Pecoits-Filho R., Barany P., Lindholm B. et al.:** Interleukin-6 is an independent predictor of mortality in patients starting dialysis treatment. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2002, 17, 1684.
- Pereira B.J.G., Shapiro L., King A.J. et al.:** Plasma levels of IL-1beta, TNFalpha and their specific inhibitors in undialyzed chronic renal failure, CAPD, and hemodialysis patients. *Kidney Int.* 1994, 45, 890.
- Rao M., Guo D., Perianayagam M.C. et al.:** Plasma interleukin-6 predicts cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am. J. Kidney Dis.* 2005, 45, 324.
- Ridker P.M., Hennekens C.H., Roitman-Johnson B. et al.:** Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule 1 and risks of future myocardial infarction in apparently healthy men. *Lancet* 1998, 351, 88.
- Schieffer B., Schieffer E., Hilfiker-Kleiner D. et al.:** R-expression of angiotensin II and interleukin 6 in human coronary atherosclerotic plaques. Potential implications for inflammation and plaque instability. *Circulation* 2000, 101, 1372.
- Stenvinkel P., Barany P., Heimbürger O. et al.:** Mortality, malnutrition, and atherosclerosis in ESRD: What is the role of interleukin-6? *Kidney Int.* 2002, 80, 103.
- Stenvinkel P., Heimbürger O., Paulre F. et al.:** Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int.* 1999, 55, 1899.
- Stenvinkel P., Lindholm B., Heimbürger M., Heimbürger O.:** Elevated serum levels of soluble adhesion molecules predict death in pre-dialysis patients. Association with malnutrition, inflammation, and cardiovascular disease. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2000, 15, 1624.
- Tripepi G., Mallamaci F., Zoccali C.:** Inflammation markers, adhesion molecules, and all-cause and cardiovascular mortality in patients with ESRD: searching for the best risk marker by multivariate modeling. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2005, 16, S 83.
- Zimmermann J., Herrlinger S., Pruy A. et al.:** Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in haemodialysis. *Kidney Int.* 1999, 55, 648.
- Zoccali C., Mallamaci F., Tripepi G.:** Inflammation and atherosclerosis in end-stage renal disease. *Blood Purification* 2003, 21, 29.