

A folyamatos cukormonitorozás, az oxidatív stressz és az endotél-diszfunkció klinikai és experimentális vizsgálata

Tamaskó Mónika

Pécsi Tudományegyetem Klinikai Központ

Reumatológiai és Immunológiai Klinika

Összefoglalás

A 2-es típusú diabétesz mellitusz kezelési lehetőségeinek fejlődése következtében a betegek leggyakoribb halál oka ma már a kardiovaszkuláris szövődmények. Az érrendszer károsodása már a diabéteszt megelőző állapotok kifejlődésekor elkezdődik és mindvégig progresszív marad. Emiatt napjainkban a diabetológia egyik legnagyobb kihívása a kardiovaszkuláris szövődmények megelőzése és progressziójának lassítása. Munkánk során egyrészt a folyamatos cukormonitorozáson alapuló személyre szabott terápiának a jobb glikémiás kontroll és ezáltal a szövődmények rizikójának csökkentésében betöltött szerepét vizsgáltuk. Jól ismert az oxidatív stressznek a diabétesz mellitusz patogenezisében és szövődményeinek kialakulásában betöltött központi szerepe. További kísérleteink során a vaszkuláris szövődmények hátterében álló oxidatív stressz monitorozásának egy új lehetséges módszerét terveztük kidolgozni. Emellett endotélsejteken végzett kísérleteink során az érszövődmények további major rizikófaktorának számító dohányzás endotél-diszfunkciót okozó hatásának eddig ismeretlen, lehetséges mechanizmusát kutattuk. Vizsgálatainkkal igazoltuk, hogy a folyamatos cukormonitorozás az ujjbegyi méréseknél lényegesen pontosabban jelzi a vércukorszint ingadozásait és kifejezetten alkalmas az aszimptomás hipoglikémiák kimutatására is. A módszer nagy segítséget jelent a személyre szabott antidiabetikus terápia kialakításában és az anyagcsereállapot javításában. További vizsgálataink során létrehoztunk egy hidrogén-peroxid szenzort, mely in vitro körülmények között alkalmasnak bizonyult a hidrogén-peroxid szint szelektív, szenzitív és megbízható mérésére. Antioxidáns kapacitással bíró biológiai mintákban végzett méréseink során a szenzor alkalmas volt a minták antioxidáns működésének kimutatására. Egér endotélsejteken végzett kísérleteinkkel - dohányfüst-pufferrel rövid ideig történő inkubációt követően - elsőként sikerült igazolnunk, hogy az endotheliális nitrogén-monoxid szintáz enzim foszforilációjának gátló irányba történő eltolódása vezet az enzim aktivitásának csökkenéséhez. Eredményeinkkel igazoltuk, hogy a dohányfüst már rövid távon csökkenteni képes a nitrogén-monoxid biológiai hozzáférhetőségét, ezáltal az endotél-függő vazodilatációt.

Kulcsszavak: glikémiás kontroll, folyamatos cukormonitorozás, hidrogén-peroxid szenzor, nitrogén-monoxid szintáz enzim, endotél-függő vazodilatáció

Clinical and experimental investigation of continuous glucose monitoring, oxidative stress and endothelial dysfunction

Summary

Thanks to the novel therapeutic strategies nowadays the main causes of death are cardiovascular complications in type 2 diabetic patients. The damage of the cardiovascular system begins to develop in the prediabetic conditions and remains progressive. Therefore one of the main challenges of diabetology is the prevention and reduction of the progression of cardiovascular complications. We investigated how the individual therapy based on continuous glucose monitoring can help to achieve better glycaemic control and decrease the risk of later diabetic complications. It is well known that oxidative stress plays crucial role in the pathogenesis of diabetes mellitus and the development of diabetic complications. In further investigations we tried to establish a novel method to monitoring oxidative

stress processes. In experiments carried out on endothelial cells we tried to reveal a possible new mechanism of the development of endothelial dysfunction induced by cigarette smoke. We revealed that glucose level fluctuations can be much more accurately detected by continuous glucose monitoring than fingerstick method. This method is appropriate to observe unawared, asymptomatic hypoglycaemias. The method contributes to the development of individual therapeutic strategies and the achievement of better glycaemic control. In our further investigations we developed a hydrogen peroxide sensor, capable of the selective, sensitive and reliable detection of hydrogen peroxide levels in vitro. This sensor was able to reveal the antioxidant capacity of different biological samples. Finally in experiments carried out on mouse endothelial cells we firstly confirmed that the shift of phosphorylation state of endothelial nitrogen monoxide synthase enzyme to an inhibitory state may result in the decrease of the enzyme activity. We revealed that cigarette smoke can reduce the bioavailability of nitrogen monoxide and hereby endothel dependent vasodilation within a short period.

Keywords: glycaemic control, continuous glucose monitoring, hydrogen peroxide sensor, nitrogen monoxide synthase enzyme, endothel dependent vasodilation

Irodalom

1. Metzger M, Leibowitz G, Wainstein J et al: Reproducibility of glucose measurements using the glucose sensor. *Diabetes Care* 2002; 6: 1185-91.
2. Sachedina N, Pickup JC: Performance assessment of the Medtronic-MiniMed Continuous Glucose Monitoring System and its use for measurement of glycaemic control in type 1 diabetic subjects. *Diabetic Medicine* 2003; 20: 1012-15.
3. Valko M, Leibfritz D, Moncol J et al: Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 44-84.
4. Kaneto H, Katakami N, Matsuhisa M et al: Role of reactive oxygen species in the progression of type 2 diabetes and atherosclerosis. Review article. Hindawi Publishing Corporation, *Mediators of Inflammation* Volume 2010; Article ID 453892, 11 pages
5. Madamanchi NR, Vendrov A, Runge MS: Oxidative stress and vascular disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 2005; 25: 29-38.
6. Halliwell B, Clement MV, Ramalingam J et al: Hydrogen peroxide. Ubiquitous in cell culture and in vivo? Critical review *IUBMB Life* 2000; 50: 251-57.
7. Guilbault GG, Lubrano GJ: An enzyme electrode for the amperometric determination of glucose. *Anal Chim Acta* 1973; 64: 439-55.
8. Nagy L, Nagy G, Gyurcsányi RE et al: Development and study of an amperometric biosensor for the in-vitro measurement of low concentration of putrescine in blood. *J Biochem Biophys Methods* 2002; 53: 165-75.
9. Smith CJ, Fischer TH: Particulate and vapour phase constituents of cigarette mainstraem smoke and risk of myocardial infarction. *Atherosclerosis* 2001; 158: 257-67.
10. Celermajer DS, Sorensen KE, Georgakopoulos D: Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults. *Circulation* 1993; 88: 2149-55.
11. Michell BJ, Chen Z, Tiganis T, et al.: Coordinated control of endothelial nitric-oxide synthase phosphorylation by protein kinase C and the cAMP-dependent protein kinase. *The Journal of Biological Chemistry* 2001; 276:17625-8.
12. Circu ML, Aw TY: Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. *Free Radical Biology and Medicine* 2010;48:749-62.

13. Metzger M, Leibowitz G, Wainstein J et al: Reproducibility of glucose measurements using the glucose sensor. *Diabetes Care* 2002; 6: 1185-91.
14. Sachedina N, Pickup JC: Performance assessment of the Medtronic-MiniMed Continuous Glucose Monitoring System and its use for measurement of glycaemic control in type 1 diabetic subjects. *Diabetic Medicine* 2003; 20: 1012-15.
15. Cengiz E and Tamborlane WV: A tale of two compartments: interstitial versus blood glucose monitoring. *Diab Technol Ther* 2009; 11(S1): S11-S16.
16. Kubiak T, Hermanns N, Schreckling HJ et al: Assessment of hypoglycaemia awareness using continuous glucose monitoring. *Diabetic Medicine* 2004; 21: 487-90.
17. Schaepelynck-Belicar P, Vague P, Simonin G et al: Improved metabolic control in diabetic adolescents using the Continuous Glucose Monitoring System (CGMS). *Diabetes Metab* 2003; 6: 608-12.
18. Kerner W, Kiwit M, Linke B et al: The function of a hydrogen peroxide-detecting electroenzymatic glucose electrode is markedly impaired in human sub-cutaneous tissue and plasma. *Biosens Bioelectron* 1993; 8: 473-82.
19. Feletou M and Vanhoutte PM: Endothelial dysfunction: A multifaceted disorder. (The Wiggers Award Lecture) *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 2006; 291:H985-H1002.
20. Celermajer DS, Sorensen KE, Georgakopoulos D: Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults. *Circulation* 1993; 88: 2149-55.
21. Mazák I, Wittmann I, Wagner L, et al.: Cigarette smoke and its formaldehyde component inhibit bradykinin-induced calcium increase in pig aortic endothelial cells. *Endothelium* 2002; 9:103-8.
22. Zhang WZ, Venardos K, Chin-Dusting J et al: Adverse effects of cigarette smoke on NO bioavailability. Role of arginine metabolism and oxidative stress. *Hypertension* 2006; 48: 278-85.