

Emelkedett szérumb-dipeptidil-peptidáz-4 enzimaktivitása 1-es típusú diabetesben: összehasonlító vizsgálat

VARGA TÍMEA DR. ■ FIRNEISZ GÁBOR DR. ■ NAGY GÉZA DR.
SOMOGYI ANIKÓ DR.

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, II. Belgyógyászati Klinika, Budapest

A dipeptidil-peptidáz-4 enzim – amely azonos a T-lymphocytá membránfelszínhez kötött CD26 molekulával – az inkretin hormonok bontásával jelentős szerepet játszik a szénhidrát-anyagcsere szabályozásában. *Célkitűzés:* Vizsgálatunk célja az volt, hogy meghatározzuk az éhomi és postprandialis szérumb-DPP-4 enzimaktivitását 41 1-es, 87 2-es típusú cukorbetegben, valamint 25 egészséges személyben. *Módszer:* A szérumb-DPP-4-enzimaktivitás meghatározása microplate-alapú kinetikus eljárással történt éhomi, majd étkezést követően 60 és 120 perces időszakokban. *Eredmények:* A DPP-4-enzimaktivitás mind éhomi, mind postprandialis állapotban szignifikánsan magasabb volt az 1-es típusú diabetesben szenvedőknél, mint a 2-es típusú diabeteses vagy a kontrollszemélyekben. Nem találtunk változást az enzimaktivitásban egyik csoporton belül sem a postprandialis és az éhomi állapot között. Nem volt korreláció sem az éhomi plazmaglükóz- és a szérumb-DPP-4-enzimaktivitás, sem a HbA_{1c} és a szérumb-DPP-4-enzimaktivitás között. *Következtetés:* Eredményeink felvetik annak a valószínűségét, hogy a DPP-4-gyel kapcsolatba hozható vércukorszint-változás nem a szérumban mérhető DPP-4-aktivitás-változás következménye, hanem parakrin módon ható DPP-4-hatásként jelentkezik. Az 1-es típusú diabetesben észlelhető emelkedett DPP-4-enzimaktivitás ugyanakkor a pancreas autoimmun folyamatára utalhat, de hormonális feed-back mechanizmust, esetleg célszervkárosodást is jelezhet.

Kulcsszavak: dipeptidil-peptidáz-4, glucagon-like peptide-1, glucose dependent insulinotropic polypeptide, 1-es típusú cukorbetegség, 2-es típusú cukorbetegség, autoimmunitás

Elevated serum dipeptidyl peptidase-4 activity in type 1 diabetes mellitus: a direct comparison

Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) has an important role in the carbohydrate metabolism with the degradation of incretin hormones. *Aim:* We assessed the serum DPP-4 activity both in fasting and postprandial condition in patients with type 1-, type 2 diabetes and healthy controls. *Methods:* Serum DPP-4 activities were determined at fasting state and at 60 and 180 minutes after test meal. DPP-4 activity was measured by microplate-based kinetic assay in 41 type 1-, and in 87 type 2 diabetic patients and in 25 healthy volunteers. *Results:* Serum DPP-4 activities were found significantly higher both in fasting and postprandial state in patients with type 1 diabetes than in type 2 and control subjects. No change in the enzyme activities was found after test meal. Correlation was neither detected between the fasting plasma glucose nor between the HbA_{1c} and the DPP-4 values in any of the groups studied. *Conclusions:* Results suggest that it is not the hyperglycemia, rather the type of diabetes which determines the serum DPP-4 enzymatic activity. The exact background of this phenomenon is not yet clear, however, increased serum DPP-4 enzyme activity in type 1 diabetes mellitus may refer to pancreatic autoimmune process, concomitant autoimmune diseases, hormonal feed back mechanism, or even target organ damage.

Keywords: dipeptidyl peptidase-4, glucagon-like peptide-1, glucose dependent insulinotropic polypeptide, type 1 diabetes mellitus, type 2 diabetes mellitus, autoimmunity

(Béérkezett: 2010. február 3.; elfogadva: 2010. március 22.)

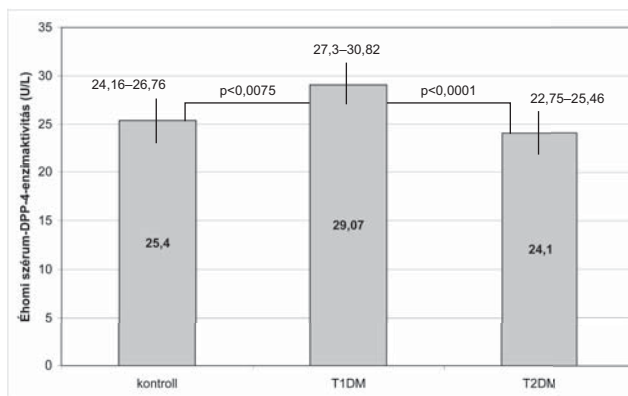
Rövidítések

BMI = body mass index; CNTRL = kontroll; DPP-4 = dipeptidil-peptidáz-4; GIP = glucose dependent insulinotropic polypeptide; GLP-1 = glucagon-like peptide-1; HbA_{1c} = glycolated haemoglobin; T1DM = 1-es típusú cukorbetegség; T2DM = 2-es típusú cukorbetegség

A vékonybél K-, illetve L-sejtjeiből szekretálódnak az úgynevezett inkretinhormonok. A GIP (glucose dependent insulinotropic polypeptide) hormon a K-, a GLP-1 (glucagon-like peptide-1) hormon az L-sejtekből szabadul fel a vércukorszint-emelkedés hatására és azonnali inzulinelválasztást indukál. A DPP-4 (dipeptidil-peptidáz-4) enzim, amely nagyrészt szintén a bélben található, az inkretin hormonok bontásával befolyásolhatja az enteroinsularis axis működését. Fokozott DPP-4-enzimaktivitás a biológiailag aktív, intakt GLP-1-szint redukciójához vezethet, ezért az inzulinelválasztás fiziológiás redukcióját okozza. Számos vizsgálat felvetette, hogy 2-es típusú diabetesben (T2DM) károsodott inkretin hatással számolhatunk [1]. 2007-ben *Knop és munkatársai* a 2-es típusú diabeteses betegeket vizsgálva csökkent plazma-inkretinhatást mértek, amelyet nem tartottak a T2DM közvetlen manifesztálódási okának. Mások a károsodott GLP-1 (glucagon-like peptide-1) -szekréciót a betegség egyik meghatározó, kezdeti elváltozásának tartják [2].

A DPP-4 enzim szolúbilis és membránhoz kötött formában fordul elő a szervezetben. A membránhoz asszociált forma számos szövet, máj-, vese-, bélepithel-sejtjein, valamint a T-sejtek felszínén található meg. A T-sejtek felszínéhez kötött, DPP-4-aktivással és T-sejt-aktivációs hatással is rendelkező molekulát CD26-nak nevezzük. A membránhoz asszociált DPP-4 molekula jelentősége az extracelluláris domén DPP-4-aktivitása. Mindkét forma inaktíválja a szénhidrátbevitelt követően szekretálódnak inkretinhormonokat. A membránhoz kötött DPP-4 forma nem változik reciprok módra a szolúbilis formával. A szolúbilis forma nem a membránhoz kötött formáról válik le. Tekintettel a DPP-4/CD26 T-sejt-aktivációs szerepére [3, 4, 5], feltételezhető, hogy a szolúbilis DPP-4 szerepe nem csak a szénhidrát-anyagcsere szabályozására korlátozódik. Erre utal az is, hogy szintje különböző megbetegedésekben eltérően változik [6].

Emelkedett enzimaktivitást sclerosis multiplexben, Graves-kórban, Hashimoto-thyreoiditisben, sarcoidosisban, primer biliaris cirrhosisban, csökkent aktivitást ANCA-asszociált vasculitisben, szisztémás lupus erythematosusban mértek [7, 8, 9, 10, 11, 12, 13]. Egy korábbi vizsgálat a >8,5% HbA_{1c}-értékkel rendelkező T2DM-betegeknél magasabb enzimaktivitást észlelt és pozitív korrelációt talált az éhomi szérumban DPP-4- és a HbA_{1c}-, valamint az éhomi szérumban DPP-4- és az éhomi glükózsztint között. T1DM-ben ezt az összefüggést nem észlelték [14, 15]. Ezeket az eltéréseket a mi nagyobb esetszámmal elvégzett pilot vizsgálatunk



1. ábra Éhomi szérumban DPP-4-enzimaktivitás 1-es (T1DM, n = 41) és 2-es típusú (T2DM, n = 87) diabetesben, valamint egészséges kontrollszemélyekben (n = 25). A T1DM-csoportban magasabb a szérumban DPP-4-enzimaktivitás nemcsak az egészséges (p < 0,0075), hanem a T2DM-csoportéhoz (p < 0,0001) viszonyítva is. Az ábrán az átlagértékek (U/L) és a 95%-os konfidenciaintervallum-értékek vannak feltüntetve.

nem tudta megerősíteni [16]. Vizsgálatunk célja az volt, hogy meghatározzuk az éhomi és postprandialis szérumban DPP-4-enzimaktivitás változását 41 fő 1-es, 87 fő 2-es típusú cukorbetegben, valamint 25 egészséges személyben, és ezzel adatokat nyerjünk arról, hogy a mérhető szolúbilis DPP-4 aktivitása változik-e szénhidrátbevitelre, egészségesekben, illetve cukorbetegben.

Betegek és módszer

A vizsgálatban összesen 153 személy: 87 T2DM (nő/férfi=47/40; kor: 62,96±11,10 év; éhomi plazmaglükóz: 9,20±3,92 mmol/L; HbA_{1c}: 7,80±1,57%; BMI: 29,49±5,20 kg/m²), 41 T1DM (nő/férfi=17/24; kor: 36,39±12,03 év; éhomi plazmaglükóz: 8,14±3,04 mmol/L; HbA_{1c}: 7,47±1,57%; BMI: 25,25±4,33 kg/m²) és 25 egészséges személy (nő/férfi=15/10; kor: 35,48±13,99 év; éhomi plazmaglükóz: 4,88±0,49 mmol/L; HbA_{1c}: 5,58±0,76%; BMI: 23,24±3,89 kg/m²) vett részt.

Éhomi szérumban DPP-4-enzimaktivitás, valamint klinikai laboratóriumi értékek (éhomi plazmaglükóz, HbA_{1c}) meghatározása történt mind a 153 személy esetében. Az éhomi DPP-4 enzim meghatározása mellett 50 egyén esetében (17 T2DM, 15 T1DM és 18 egészséges) tesztétkezést követően (50 g szénhidrát+24 g fehérje+12 g zsír = 410 kcal) 60 és 120 percnél is történt DPP-4-enzimaktivitás-mérés.

A szérumban DPP-4-enzimaktivitás meghatározása microplate-alapú kinetikus módszer segítségével történt 405 nm-en, 25 °C-on, 30 perc alatt duplikátumokból. A mérés során 15 µl szérumot, 185 µl pufferoldatot (10 mM Tris-HCL, pH 7,6), benne szubsztrátként 4 mmol/L-es Gly-Pro-pnitroanilide tosylate-ot (Gly-Pro-PNA Bachem, Bubendorf, Svájc) használtunk wellenként [17, 18]. Az enzimaktivitást nmol/ml/min-ben (U/L) határoztuk meg.

1. táblázat | Klinikailag fontos laborparaméterek és szérums (s) DPP-4-enzimaktivitás átlagértékei és 95% konfidenciaintervallum (CI) értékei éhomi és postprandialis állapotokban 1-es és 2-es típusú diabeteses csoportban, valamint az egészséges kontrollcsoportban

	Kontroll	2-es típusú diabetes	1-es típusú diabetes
Betegek száma (nő/férfi)	25 (nő/férfi=15/10)	87 (nő/férfi=47/40)	41 (nő/férfi=17/24)
Kor (év)	35,48 95% CI: 29,3–41,6	62,9 95% CI: 60,6–65,2	36,4 95% CI: 32,5–40,01
HbA _{1c} (%)	5,58 95% CI: 5,28–5,93	7,80 95% CI: 7,29–8,31	7,47 95% CI: 7,13–7,8
Éhomi vércukor (mmol/L)	4,91 95% CI: 4,71–5,11	9,2 95% CI: 7,95–10,45	8,1 95% CI: 7,50–8,77
sDPP-4-enzimaktivitás 0' (U/L)	25,45 95% CI: 24,16–26,76	24,10 95% CI: 22,75–25,46	29,07 95% CI: 27,30–30,82
sDPP-4-enzimaktivitás 60' (U/L)*	24,42 95% CI: 24,34–27,43, n=18	27,84 95% CI: 24,6–30,9, n=17	31,33 95% CI: 25,83–36,, n=15
sDPP-4-enzimaktivitás 120' (U/L)*	25,86 95% CI: 24,66–29,41, esetszám: 18	27,05 95% CI: 22,82–31,27 esetszám: 17	30,08 95% CI: 25,57–34,50 esetszám: 15

*Az eredmények alapján nem volt változás a DPP-4-enzimaktivitásban étkezést követően egyik csoporton belül sem, ezért tesztképzést követő DPP-4-enzimaktivitás-vizsgálat csak az első 50 beteg esetében történt.

Eredményeink értékeléséhez Kolmogorov–Smirnov-tesztet, majd T-próbát és Pearson-korrelációt használtunk. A $p < 0,05$ értéket tekintettük szignifikánsnak.

Eredmények

Szignifikánsan magasabb éhomi szérums DPP-4-enzimaktivitást mértünk T1DM-ben [29,065 (95% CI: 27,30–30,826)] úgy az egészséges személyekhez [25,45 (95% CI: 24,16–26,76)], mint a T2DM-betegcsoporthoz viszonyítva [24,10 (95% CI: 22,75–25,46)] (T1DM vs. CNTRL $p < 0,0075$; T1DM vs. T2DM $p < 0,0001$) (1. ábra). Nem találtunk változást a szérums DPP-4-enzimaktivitásban tesztképzést követően egyik csoporton (T1DM, T2DM, CNTRL) belül sem (1. táblázat). A hyperglykaemia mértéke nem különbözött a két cukorbetegcsoportban: nem volt különbség sem az éhomi plazmaglükóz- (T1DM: átlag=8,1 mmol/L, 95% CI: 7,50–8,77; T2DM: átlag=9,2 mmol/L, 95% CI: 7,95–10,45), sem a HbA_{1c}-átlagértékek (T1DM: átlag=7,47, 95% CI: 7,13–7,8; T2DM: átlag=7,80, 95% CI: 7,29–8,31) között (1. táblázat). Egyik csoporton belül sem találtunk szignifikáns korrelációt az éhomi plazmaglükóz vagy HbA_{1c} és az éhomi DPP-4-enzimaktivitás értékei között.

Megbeszélés

Mannucci és mtsai T1DM- és T2DM-betegekben is összefüggést találtak a szérums DPP-4-enzimaktivitás és az éhomi szérumglükóz, valamint a HbA_{1c}-értékek között [14, 15]. Az általunk végzett vizsgálatban ezeket az összefüggéseket nem mértük.

Nem változott a szérums DPP-4-aktivitás étkezés hatására sem, ami arra utalhat, hogy a membránhoz kötött forma aktivitása változik a vércukorszint-változás hatására. Szignifikánsan magasabb éhomi és postprandialis DPP-4-enzimaktivitást találtunk a szérumban a T1DM-csoportban nemcsak az egészséges kontrollcsoporthoz, hanem a T2DM-csoporthoz képest is. Eredményeink alapján azt a következtetést vontuk le, hogy a szérums DPP-4-enzimaktivitás mértéke nem az aktuális vércukorszint jelzője, hanem inkább a diabetes típusának a markere lehet. Az emelkedett enzimaktivitás hátterében T1DM-ben autoimmun folyamat fennállása szerepet játszhat. Az 1-es típusú diabetes gyakran szövődik egyéb autoimmun kórképekkel, mint például Hashimoto-thyreoiditis, Basedow-kór, amely betegségek szintén emelkedett enzimaktivitással járnak [6]. Lehetséges, hogy 1-es típusú diabetesben az enzimaktivitás emelkedése utalhat autoimmun társbetegség jelenlétére vagy a pancreasban zajló autoimmun folyamatra.

Másik feltételezésünk szerint, mivel 1-es típusú diabetesben a pancreas magas vércukorszint esetében sem képes inzulintermelésre, az inkretin hormonok – mintegy feed-back mechanizmussal – fokozottan expresszálódnak a szérumba, és ennek mintegy következménye a fokozott DPP-4-termelődés is. Mindkét lehetőség esetében kimondható, hogy a szérumban mérhető fokozott DPP-4-aktivitás 1-es típusú cukorbetegségre utal.

Köszönetnyilvánítás

A jelen munka a 2009-es ETT 55075 és a PD-73606 OTKA és az MDT támogatásával jött létre.

Irodalom

- [1] Kazakos, K. A., Sarafidis P. A., Yovos, J. G.: The impact of diabetic autonomic neuropathy on the incretin effect. *Med. Sci. Monit.*, 2008, 14, CR213–220.
- [2] Knop, F. K., Vilsboll, T., Hojberg, P. V. és mtsai: Reduced incretin effect in type 2 diabetes: cause or consequence of the diabetic state? *Diabetes*, 2007, 56, 1951–1959.
- [3] Ohnuma, K., Yamochi, T., Uchiyama, M. és mtsai: CD26 mediates dissociation of Tollip and IRAK-1 from caveolin-1 and induces upregulation of CD86 on antigen-presenting cells. *Mol. Cell. Biol.*, 2005, 25, 743–757.
- [4] Ikushima, H., Munakata, Y., Iwata, S. és mtsai: Soluble CD26/dipeptidyl peptidase IV enhances transendothelial migration via its interaction with mannose 6-phosphate/insulin-like growth factor II receptor. *Cell. Immunol.*, 2002, 215, 106–110.
- [5] Gorrell, M. D., Gysbers, V., McCaughan, G. W.: CD26: a multifunctional integral membrane and secreted protein of activated lymphocytes. *Scand. J. Immunol.*, 2001, 54, 249–264.
- [6] Drucker, D. J.: Therapeutic potential of dipeptidyl peptidase IV inhibitors for the treatment of type 2 diabetes. *Expert Opin Investig Drugs*, 2003, 12, 87–100.
- [7] Maes, M., De Meester, I., Verkerk, R. és mtsai: Lower serum dipeptidyl peptidase IV activity in treatment resistant major depression: relationships with immune-inflammatory markers. *Psychoneuroendocrinology*, 1997, 22, 65–78.
- [8] Elgun, S., Keskinoglu, A., Kumbasar, H.: Dipeptidyl peptidase IV and adenosine deaminase activity. Decrease in depression. *Psychoneuroendocrinology*, 1999, 24, 823–832.
- [9] Hildebrandt, M., Rose, M., Mayr, C. és mtsai: Dipeptidyl peptidase IV (DPP IV, CD26) in patients with mental eating disorders. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2000, 477, 197–204.
- [10] Stancikova, M., Lojda, Z., Lukac, J. és mtsai: Dipeptidyl peptidase IV in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 1992, 10, 381–385.
- [11] Cordero, O. J., Salgado, F. J., Meravarela, A. és mtsai: Serum interleukin-12, interleukin-15, soluble CD26, and adenosine deaminase in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol. Int.*, 2001, 21, 69–74.
- [12] Schonermark, U., Csernok, E., Trabandt, A. és mtsai: Circulating cytokines and soluble CD23, CD26 and CD30 in ANCA associated vasculitides. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 2000, 18, 457–463.
- [13] Lefebvre, J., Murphey, L. J., Hartert, T. V. és mtsai: Dipeptidyl peptidase IV activity in patients with ACE-inhibitor associated angioedema. *Hypertension*, 2002, 39, 460–464.
- [14] Mannucci, E., Pala, L., Ciani, S. és mtsai: Hyperglycaemia increases dipeptidyl peptidase IV activity in diabetes mellitus. *Diabetologia*, 2005, 48, 1168–1172.
- [15] Ryskjaer, J., Deacon, C. F., Carr, R. D. és mtsai: Plasma dipeptidyl peptidase-IV activity in patients with type-2 diabetes mellitus correlates positively with HbA_{1c} levels, but is not acutely affected by food intake. *Eur. J. Endocrinol.*, 2006, 155, 485–493.
- [16] Varga, T., Somogyi, A., Firneisz, G. és mtsai: Higher serum dipeptidyl peptidase-4 activity in type 1 diabetes mellitus than type 2: a direct comparison. *Diabetologia*, 2008, 51, S239, A589.
- [17] Selmecci, L., Szokodi, I., Horváth-Karajsz, K.: A sensitive microplate-based continuous-monitoring (kinetic) assay for serum neutral endopeptidase (EC 3.4.24.11) activity. *Clin. Chim. Acta*, 1996, 244, 111–116.
- [18] Firneisz, G., Lakatos, P. L., Szalay, F.: Hungarian Viral Hepatitis Study Group. Serum dipeptidyl peptidase IV (DPP IV, CD26) activity in chronic hepatitis C. *Scand J Gastroenterol.*, 2001, 36, 877–880.

(Varga Tímea dr.,
Budapest, Szentkirályi utca 46., 1088
e-mail: timcsus@yahoo.com)

Tisztelt Olvasónk!

Újítsa meg előfizetését változatlan áron 2010-re is!

Köszönjük, hogy figyelemmel kíséri az **Orvosi Hetilap**ban megjelenő közleményeket. Reméljük, hogy továbbra is olvasóink, előfizetőink táborában tudhatjuk.

A 2010. évi előfizetési díj egy évre:	22 900 Ft,
fél évre:	14 520 Ft,
negyed évre:	9 160 Ft.

Nyugdíjas és ifjúsági (35 év alatti) kedvezmények:

A 2010. évi előfizetési díj egy évre:	16 030 Ft,
fél évre:	10 140 Ft,
negyed évre:	6 395 Ft.

Egyes lapszámok ára: 760 Ft

Az egyes lapszámok megvásárolhatók a **Mediprint Orvosi Könyvesboltban**.
1053 Budapest, Múzeum krt. 17. • Telefon: 317-4948

Az Orvosi Hetilap az alábbi elérhetőségeken rendelhető meg:
Akadémiai Kiadó Zrt. 1117 Budapest, Prielle Kornélia u. 19/d, Telefon: (06-1) 464-8240, kapcsolattartó: Gulyás Andrea,
E-mail: journals@akkrt.hu