

Małgorzata Wegner, Marzena Dworacka, Hanna Winiarska

Katedra i Zakład Farmakologii Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

# Interleukina 12 — kolejne ogniwo łączące cukrzycę typu 2 z miażdżycą

Interleukin 12 — next essential link between diabetes type 2 and atherosclerosis

## STRESZCZENIE

**WSTĘP.** Interleukina 12 (IL-12) jest cytokiną o wyraźnym działaniu proaterogennym, wywierającą swój niekorzystny wpływ poprzez kilka niezależnych mechanizmów. Wysokie stężenia IL-12 zaobserwowano u osób z chorobą niedokrwienną serca, jednak niewiele wiadomo na ten temat w odniesieniu do chorych na cukrzycę typu 2. Podjęto zatem badania w celu oceny stężenia IL-12 w surowicy chorych na cukrzycę typu 2 oraz w celu wyjaśnienia, które czynniki związane z patogenezą cukrzycy mogą wpływać na stężenie cytokiny.

**MATERIAŁ I METODY.** Zbadano 31 chorych na cukrzycę typu 2, leczonych gliklazydem, oraz 19 zdrowych osób. Oceniono: glikemię na czczo, hemoglobinę glikowaną ( $HbA_{1c}$ ), stężenie 1,5-anhydro-D-glucitolu (1,5-AG) w osoczu, profil lipidowy, stężenie peptydu C, insuliny oraz stężenie IL-12 w surowicy. Obliczono również wskaźnik insulinooporności obwodowej  $HOMA_{IR}$ .

**WYNIKI.** Stężenie IL-12 w surowicy chorych na cukrzycę typu 2 było istotnie wyższe niż u zdrowych osób. Zaobserwowano dodatnie korelacje pomiędzy stężeniem IL-12 w surowicy a wskaźnikiem masy ciała (BMI), stężeniem peptydu C, insuliny oraz między IL-12 a  $HOMA_{IR}$ . Stwierdzono ujemną korelację między IL-12 a stężeniem lipoprotein o wysokiej

gęstości (HDL) w surowicy tych chorych. Zastosowanie modelu wielokrotnej regresji pozwoliło zaobserwować niezależny wpływ BMI na wartości stężeń IL-12 w badanej grupie.

**WNIOSKI.** U chorych na cukrzycę typu 2 obserwuje się znacznie wyższe stężenia proaterogennej IL-12 w surowicy niż u zdrowych osób i są one uwarunkowane jednocześnie kilkoma czynnikami związanymi z przebiegiem choroby: dysfunkcją komórek  $\beta$ , obwodową insulinoopornością, niskimi stężeniami cholesterolu frakcji HDL oraz otyłością. Najskuteczniejszą metodą obniżenia stężenia IL-12 w surowicy chorych na cukrzycę typu 2 jest prawdopodobnie zmniejszenie masy ciała.

**Słowa kluczowe:** interleukina 12, cukrzyca typu 2, miażdżycza

## ABSTRACT

**BACKGROUND.** Interleukin 12 (IL-12) is the evidently proatherogenic cytokine acting throughout several different mechanisms. High serum IL-12 levels were found before in patients with coronary artery disease, while little is known about this cytokine in type 2 diabetic patients. We aimed to evaluate IL-12 serum concentration in patients with diabetes type 2 together with factors related to the pathogenesis of this disease.

**MATERIAL AND METHODS.** We studied 31 patients with diabetes type 2 treated with gliclazide and 19 healthy individuals. Fasting glycaemia, glycated hemoglobin ( $HbA_{1c}$ ), 1,5-anhydro-D-glucitol (1,5-AG) plasma level, lipid profile, C-peptide, insulin and IL-12 concentrations in serum were estimated. Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance ( $HOMA_{IR}$  index) was calculated as well.

Adres do korespondencji: dr hab. med. Marzena Dworacka  
Katedra i Zakład Farmakologii UM im. K. Marcinkowskiego  
ul. Rokietnicka 5a, 60-806 Poznań  
tel.: (0 61) 854 72 47, faks: (0 61) 854 72 53  
e-mail: mdworac@am.poznan.pl  
Diabetologia Praktyczna 2007, tom 8, 11, 425-430  
Copyright © 2007 Via Medica  
Nadesłano: 5.11.2007    Przyjęto do druku: 19.11.2007

**RESULTS.** There was an increase in IL-12 serum level in patients with diabetes type 2 in comparison to healthy group. Serum IL-12 level was positively correlated with body mass index (BMI), C-peptide, insulin and HOMA<sub>IR</sub>. It was also found the negative correlation between IL-12 serum level and high density lipoprotein (HDL). The multivariate regression analysis revealed that IL-12 concentration in serum is independently determined by BMI.

**CONCLUSIONS.** These data revealed higher levels of the IL-12 in serum of diabetic patients than in healthy individuals. These high, potentially proatherogenic, serum IL-12 levels are influenced simultaneously by several factors including b-cells dysfunction, peripheral insulin resistance, low HDL levels and obesity. Nevertheless, it seems to be likely that the most evident decrease in IL-12 serum levels in diabetic patients could be achieved by body mass reduction.

**Key words:** interleukin 12, diabetes type 2, atherosclerosis

## Wstęp

Interleukina 12 (IL-12) jest heterodimerycznym białkiem składającym się z podjednostek p35 i p40. Formy monomeryczne są ze sobą połączone za pomocą 2 mostków disiarczkowych. Pozostałe reszty cysteinowe 2 podjednostek tworzą wewnątrzbiałkowe mostki disiarczkowe warunkujące biologiczną aktywność cytokiny [1, 2]. IL-12 wywiera swoje działanie za pośrednictwem receptora dla IL-12 (IL-12R) składającego się z 2 podjednostek  $\beta_1$  i  $\beta_2$  i znajdującego się na powierzchni komórek NK i limfocytów T [1–3]. IL-12 jest wytwarzana na bardzo wczesnym etapie odpowiedzi immunologicznej, przede wszystkim przez komórki prezentujące antygen oraz przez komórki fagocytujące, czyli przez komórki dendrytyczne i makrofagi. IL-12, oddziałując głównie na komórki NK i limfocyty T, indukuje wydzielanie przez nie cytokin, zwłaszcza interferonu gamma (INF- $\gamma$ ), a także stymuluje ich proliferację i wzmacnia aktywność cytotoksyczną [4]. Cytokina ta reguluje także różnicowanie limfocytów T naiwnych w limfocyty Th1, jednocześnie hamując różnicowanie Th0 w Th2. IL-12 jest zatem wielofunkcyjną cytokiną pobudzającą odpowiedź typu komórkowego, a jej profil działania można określić jako prozapalno-cytotoksyczny i immunoregulacyjny [1, 5]. Jest to działanie pozostające w ścisłym związku z rozwojem zmian miażdżycowych. Interferon gamma stanowi bowiem czynnik mitogenny i nasilający odpowiedź komórkową, a przewaga limfocytów Th1, uwarunkowana wpływem

IL-12, oznacza indukcję efektu cytotoksycznego wobec komórek ściany naczynia. U chorych z miażdżycą tętnic wieńcowych poddawanych cewnikowaniu naczyń wieńcowych zaobserwowano wysokie stężenia IL-12 w surowicy [6]. Obecność IL-12 i związanego z nią INF- $\gamma$  stwierdzono także w blaszkach miażdżycowych pobranych z tętnic szyjnych chorych z objawami zwężenia tych tętnic i wykazano, że IL-12 stanowi łącznik między procesem zapalnym uwarunkowanym wytwarzaniem cytokin indukowanych przez INF- $\gamma$  a odpowiedzią zapalną typu komórkowego w obrębie ogniska miażdżycowego [7]. Ponadto wykazano, na podstawie badań przeprowadzonych na zwierzętach, że zahamowanie aktywności IL-12 prowadzi do znacznej redukcji zmian miażdżycowych [8].

Uwzględniając biologiczne efekty działania IL-12 oraz niewątpliwy związek między miażdżycą a cukrzycą typu 2, podjęto próbę oceny stężenia IL-12 w surowicy chorych na cukrzycę typu 2 i wyjaśnienia, które czynniki związane z patogenezą cukrzycy mogą wpływać na to stężenie.

## Materiał i metody

Zbadano 31 chorych na cukrzycę typu 2, leczonych od co najmniej 3 miesięcy gliklasydem, oraz 19 zdrowych osób, których charakterystykę przedstawiono w tabeli 1. Badani chorzy byli pacjentami poznańskich szpitali i poradni lekarza rodzinnego. Cukrzycę rozpoznawano zgodnie z zaleceniami Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego z 2005 roku [9]. Chorzy na cukrzycę przyjmowali, poza gliklasydem, kwas acetylosalicylowy, statyny, inhibitory konwertazy angiotensyny II, azotany oraz długodziałające pochodne dihydropirydyny. Do badań nie zakwalifikowano chorych z niedokrwistością (Hb < 13 mg/dl), niewydolnością nerek, zaburzeniami czynności wątroby, zaburzeniami czynności gruczołu tarczowego oraz chorych z wykładnikami uogólnionego lub miejscowego procesu zapalnego.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu, a wszystkie osoby były poinformowane o celu badań i wyraziły na nie zgodę.

Krew do badań pobierano z żyły zgięcia łokciowego na czczo przed podaniem porannych dawek stosowanych leków. Materiał biologiczny stosowany w badaniach stanowiły krew pełna, osocze, surowica.

Oceniono: glikemię na czczo (metodą enzymatyczną), stężenie hemoglobiny glikowanej (metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej, test Variant<sup>TM</sup> hemoglobin A<sub>1c</sub>, BIORAD), stężenie 1,5-anhydro-D-glucitolu (1,5-AG) w osoczu — wskaźnik

Tabela 1. Charakterystyka badanych grup

	Chorzy na cukrzycę typu 2 (n = 31) średnia ± SD/mediana	Osoby zdrowe (n = 19) średnia ± SD/mediana
Wiek (lata)	66,3 ± 10,6/66,0*	48,2 ± 3,5/47,0
Czas trwania choroby (lata)	5,7 ± 4,0/6,0	–
Wskaźnik masy ciała [kg/m <sup>2</sup> ]	30,0 ± 3,3/30,0*	26,1 ± 2,6/26,0
Glikemia na czczo [mmol/l]	7,8 ± 1,6/7,7*	5,0 ± 0,6/5,1
HbA <sub>1c</sub> (%)	7,0 ± 1,3/6,6	–
1,5-AG [mg/l]	15,1 ± 5,8/14,4*	20,1 ± 6,2/17,7
Cholesterol całkowity [mmol/l]	5,3 ± 0,9/5,2	–
Cholesterol frakcji HDL [mmol/l]	1,3 ± 0,4/1,2	–
Cholesterol frakcji LDL [mmol/l]	3,0 ± 0,8/2,9	–
Triglicerydy [mmol/l]	1,9 ± 1,5/1,5	–
Peptyd C [ng/ml]	2,1 ± 2,1/1,2	–
Insulina [pmol/l]	71,5 ± 75,3/31,1	–
HOMA <sub>IR</sub>	4,3 ± 2,0/3,8	–

\*Różnica znamienista statystycznie dla  $p \leq 0,05$  wobec osób zdrowych; SD (*standard deviation*) — odchylenie standardowe

nasilenia ostrej hiperglikemii (metodą enzymatyczną) [10], stężenie cholesterolu całkowitego, frakcji HDL (*high-density lipoprotein*), LDL (*low-density lipoprotein*) oraz stężenie triglicerydów w surowicy (standardowymi metodami enzymatycznymi), stężenie peptydu C i insuliny w surowicy na czczo (metodami immunoenzymatycznymi ELISA, DAKO) oraz stężenie IL-12 w surowicy (metodą immunoenzymatyczną ELISA, Bender MedSystem). Dla wszystkich chorych na cukrzycę obliczono wskaźnik insulinooporności obwodowej HOMA<sub>IR</sub>, (*Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance*).

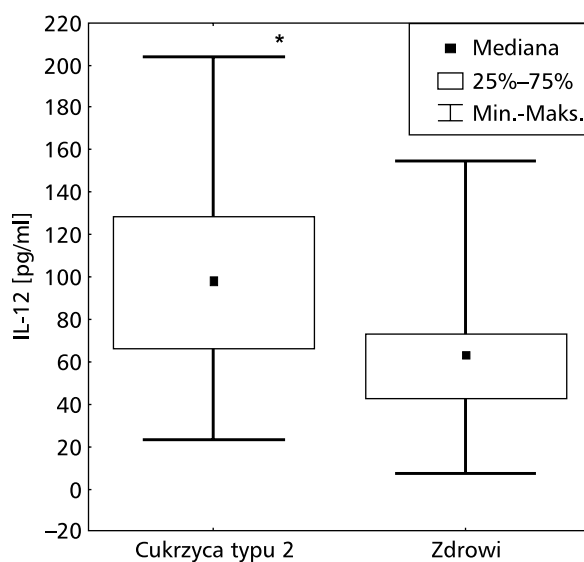
Normalność rozkładu zmiennych sprawdzono testem Kołomogorowa-Smirnowa z poprawką Lillieforce'a i testem Shapiro-Wilka. Wyniki przedstawiono w postaci średniej arytmetycznej wraz z odchyleniem standardowym i/lub w postaci mediany. Za znamienne statystycznie przyjęto wartości dla  $p$  mniejszego lub równego 0,05. Porównań między grupami dokonano, stosując test Manna-Whitneya. Korelacje między badanymi cechami badano testem Spearmana. W celu oceny, który z badanych czynników wpływa niezależnie od pozostałych na wartości zmiennej zależnej, zastosowano metodę wielokrotnej regresji. Aby wykluczyć wpływ wybranych czynników na różnice występujące między badanymi grupami, użyto analizy kowariancji. Obliczeń dokonano za pomocą programu STATISTICA 6.0.

## Wyniki

Stężenie IL-12 w surowicy chorych na cukrzycę typu 2 było istotnie wyższe niż u osób bez cukrzycy

(średnia ± SD i mediana odpowiednio: 103,0 ± 47,7 i 98,0; 69,3 ± 41,6 i 63,0 pg/ml) (ryc. 1). W analizie kowariancji ujawniono, że uzyskane wyniki nie są uwarunkowane zróżnicowaniem grup chorych pod względem wieku i masy ciała [wiek –  $F = 1,41$  dla  $p = 0,24$ ; BMI (*body mass index*; wskaźnik masy ciała) –  $F = 2,2$  dla  $p = 0,14$ ].

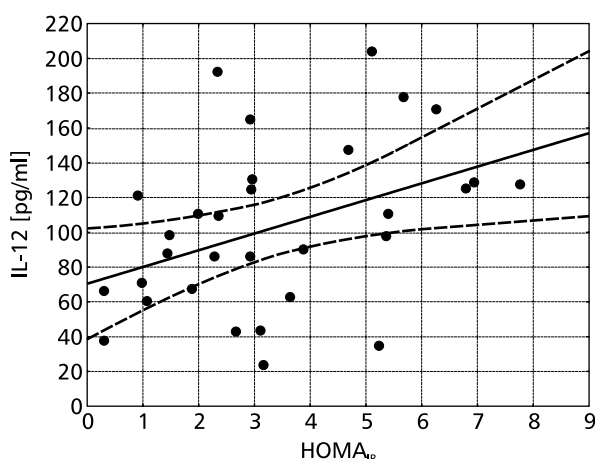
Wśród chorych na cukrzycę zaobserwowano dodatnie korelacje między stężeniem IL-12 w surowicy a BMI ( $r = 0,42$ ), stężeniem peptydu C ( $r = 0,37$ )



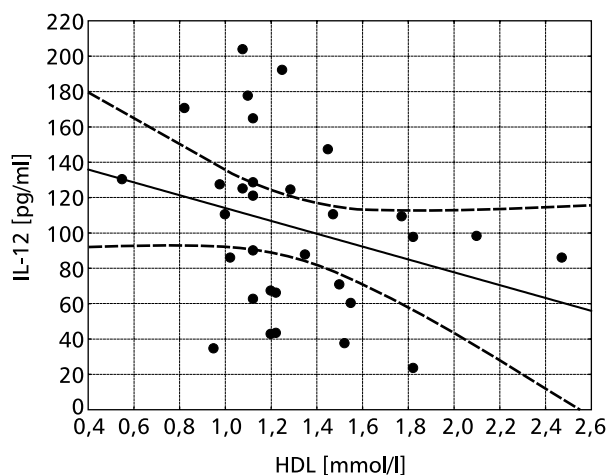
Rycina 1. Porównanie stężeń IL-12 w surowicy u chorych na cukrzycę i u osób zdrowych; \*różnica znamienista statystycznie wobec grupy osób zdrowych dla  $p \leq 0,05$

i insuliny ( $r = 0,48$ ) w surowicy oraz między IL-12 a wskaźnikiem  $HOMA_{IR}$  ( $r = 0,42$ ) (ryc. 2). Ponadto stwierdzono ujemną korelację między IL-12 a stężeniem cholesterolu frakcji HDL w surowicy tych chorych ( $r = -0,37$ ) (ryc. 3). Stężenie IL-12 nie wykazywało związku z pozostałymi wykładnikami gospodarki lipidowej (stężeniem cholesterolu całkowitego, frakcji LDL i triglicerydów), jak też z wykładnikami gospodarki węglowodanowej (glikemią na czczo,  $HbA_{1c}$  i 1,5-AG).

Oceniając model wielokrotnej regresji dla stężenia IL-12 w surowicy, w którym zmiennymi niezależnymi były stężenie peptydu C, stężenie HDL, wskaźnik  $HOMA_{IR}$  oraz BMI, wykazano, że żadna z tych zmiennych nie wpływa na stężenie cytokiny



**Rycina 2.** Zależność pomiędzy stężeniem IL-12 w surowicy a wskaźnikiem insulinooporności  $HOMA_{IR}$  u chorych na cukrzycę typu 2 ( $r = 0,42$ ;  $p \leq 0,05$ )



**Rycina 3.** Zależność pomiędzy stężeniem IL-12 w surowicy a stężeniem HDL w surowicy chorych na cukrzycę typu 2 ( $r = -0,37$ ;  $p \leq 0,05$ )

w sposób niezależny od pozostałych. Analogicznie, analizując wpływ stężenia peptydu C i wskaźnika  $HOMA_{IR}$  na stężenie IL-12, nie stwierdzono niezależnego wpływu żadnego z tych dwu czynników na stężenie IL-12. Natomiast zastosowanie modelu wielokrotnej regresji dla zmiennych niezależnych BMI i stężenia cholesterolu frakcji HDL pozwoliło zaobserwować istotny wpływ BMI na wartości stężeń IL-12 w surowicy chorych na cukrzycę typu 2 (tab. 2).

## Dyskusja

Wyniki wielu badań wskazują, że cukrzyca typu 2 towarzyszy przewlekły stan zapalny o umiarkowanym nasileniu. Potwierdzeniem tego faktu jest między innymi podwyższone stężenie cytokin prozapalnych: IL-6, IL-8 oraz czynnika martwicy nowotworu ( $TNF-\alpha$ , *tumor necrosis factor  $\alpha$* ) we krwi pacjentów z tą chorobą [11–13]. Szeroko rozumiany odczyn zapalny stanowi także podłoże rozwoju miażdżycy i jest czynnikiem wiążącym ją z cukrzycą typu 2 [14]. Uwzględniając fakt, że IL-12 jest wydzielana przez komórki dendrytyczne i makrofagi w związku z prezentacją antygeny [4], a jej główne działanie polega na indukowaniu odpowiedzi cytotoksycznej Th1 i utrzymywaniu jej przewagi nad Th2 [1, 5], nie można pominąć ewentualnego związku między tą cytokiną a rozwojem miażdżycy u chorych na cukrzycę. Jeszcze bardziej interesujące pod tym względem wydają się obserwacje dotyczące wydzielania IL-12 przez komórki dendrytyczne i makrofagi, będącego nie tylko reakcją na prezentację antygeny, ale także istotnym elementem wrodzonej odpowiedzi immunologicznej [15]. Do czynników nieswoiste stymulujących wzrost wytwarzania IL-12 przez makrofagi należą produkty końcowej glikacji (AGE, *advanced glycation endproducts*) oraz utlenowane LDL (oxLDL) oddziałujące za pośrednictwem białek szoku cieplnego Hsp-70 (*heat shock protein-70*) [16, 17]. Wykazano także, że aktywacja IL-12 w przebiegu odporności wrodzonej odgrywa wiodącą rolę w kontroli migracji do blaszki miażdżycowej specyficznej populacji komórek T, a mianowicie komórek  $CD4+CD28^-$  [18]. Te długo żyjące komórki charakteryzują się znacznym potencjałem proliferacyjnym, dużą aktywnością cytolityczną i zdolnością do wytwarzania znacznych ilości  $INF-\gamma$ . Oznacza to, że limfocyty  $CD4+CD28^-$  stanowią istotne zagrożenie dla komórek śródbłonna i mięśni gładkich ściany naczyń, indukując ich apoptozę [15].

Wysokie stężenia IL-12 zaobserwowano przede wszystkim u chorych z miażdżycą i klinicznymi wykładnikami choroby niedokrwiennej serca [7, 19]; znacznie mniej danych dotyczy występowania

Tabela 2. Wartości współczynników  $\beta$  wielokrotnej regresji ocenianej u chorych na cukrzycę typu 2, gdzie zmienną zależną stanowiło stężenie IL-12 w surowicy

n = 31	$\beta$	R <sup>2</sup> = 0,25	$\beta$	R <sup>2</sup> = 0,17	$\beta$	R <sup>2</sup> = 0,23
Peptyd C	0,15		Peptyd C	0,18		
HOMA <sub>IR</sub>	0,25		HOMA <sub>IR</sub>	0,33		
HDL	-0,09				HDL	-0,21
BMI	0,26				BMI	0,38*

\*Znamienne statystycznie dla  $p \leq 0,05$ ; BMI (*body mass index*) — wskaźnik masy ciała

wysokich stężeń IL-12 w surowicy u chorych na cukrzycę [20]. W badaniach własnych potwierdzono istotnie wyższe stężenie IL-12 w surowicy chorych na cukrzycę, w odniesieniu do osób bez zaburzeń gospodarki węglowodanowej, chociaż wśród chorych na cukrzycę było zauważalne znaczne zróżnicowanie pod względem stężenia tej cytokiny. Może to świadczyć o tym, że stężenie IL-12 jest uwarunkowane nie tylko aktywacją stanu zapalnego związanego z hiperglikemią, ale także innymi czynnikami charakterystycznymi dla niektórych chorych na cukrzycę typu 2. Uwzględniając dane z piśmiennictwa, nie można wątpić, że nasilenie hiperglikemii wpływa na indukcję wydzielania IL-12 [16, 21]. W badaniach własnych nie stwierdzono jednak korelacji między stężeniem IL-12 a wykładnikami wyrównania cukrzycy, takimi jak glikemia na czczo, stężenie HbA<sub>1c</sub> czy też stężenie 1,5-AG — wykładnika ostrej hiperglikemii. Zaobserwowano natomiast, że stężenie IL-12 w surowicy chorych na cukrzycę typu 2 jest w dużym stopniu uwarunkowane stanem czynnościowym komórek  $\beta$  wysp trzustki wyrażonym poprzez stężenie peptydu C na czczo oraz nasileniem obwodowej insulinooporności, wówczas gdy jej miernikami są insulinemia na czczo lub wskaźnik HOMA<sub>IR</sub>. Niemniej, w analizie wielokrotnej regresji ujawniono, że żaden z tych czynników nie wpływa na wzrost stężenia IL-12 w surowicy w sposób niezależny od pozostałych.

Czynnikiem, który wykazywał silny negatywny związek ze stężeniem IL-12 w surowicy, było stężenie cholesterolu frakcji HDL. Obserwacja ta potwierdza pośrednio proaterogenne znaczenie wysokich stężeń IL-12 w surowicy. Poza tym, uwzględniając wyniki badań Nofera i wsp. [22], którzy zaobserwowali związek między antyaterogennym oddziaływaniem analogu sfingozyno-1-fosforanu (S1P, *sphingosine 1-phosphate*) — bioaktywnego lizosfingolipidu związanego z HDL — a niskimi stężeniami IL-12, można przypuszczać, że obniżenie stężenia IL-12 w surowicy to kolejny, mniej znany, patomechanizm przeciwmiażdżycowego oddziaływania wysokich stężeń HDL.

W odniesieniu do współczesnych wyników badań ukazujących otyłość jako czynnik sprawczy i jednocześnie wiążący ze sobą patogenezę miażdżycy i cukrzycy typu 2 [23] niezwykle interesujące jest spostrzeżenie, że stężenie IL-12 w znaczący sposób zależy od stopnia otyłości badanych. Potwierdzają je wyniki badań, które przeprowadzili Gomez-Merino i wsp. [24], wykazujące związek między masą ciała a stężeniem IL-12 w tkance tłuszczowej szczurów. Należy podkreślić, że na podstawie analizy wielokrotnej regresji, w której badaną zmienną zależną było stężenie IL-12 w surowicy chorych na cukrzycę, a zmiennymi niezależnymi były BMI i stężenie cholesterolu frakcji HDL, wykazano, iż tylko pierwszy z tych czynników w niezależny sposób może wpływać na stężenie IL-12.

Podsumowując, należy stwierdzić, że wysokie stężenia IL-12 obserwowane w surowicy chorych na cukrzycę typu 2 są uwarunkowane wieloczynnikowo. Spośród czynników, które mogą podlegać modyfikacji w efekcie właściwie prowadzonego leczenia, a które wpływają na stężenie IL-12 w surowicy, należy wymienić dysfunkcję wydzielniczą komórek  $\beta$  wysp trzustki, stężenie HDL, obwodową insulinooporność, a zwłaszcza czynnik wiążący ze sobą większość z wymienionych zaburzeń, czyli otyłość. Prezentowane wyniki badań stanowią więc kolejne uzasadnienie i zachętę do intensywnego i wieloprofilowego leczenia chorych na cukrzycę w celu zmniejszenia ryzyka rozwoju miażdżycy i jej klinicznych następstw.

## Wnioski

U chorych na cukrzycę typu 2 obserwuje się znacznie wyższe stężenia proaterogennej cytokiny — interleukiny 12 — w surowicy niż u zdrowych osób. Są one uwarunkowane jednocześnie kilkoma czynnikami związanymi z przebiegiem choroby: dysfunkcją komórek  $\beta$  wysp trzustki, obwodową insulinoopornością, niskimi stężeniami cholesterolu frakcji HDL oraz otyłością.

Najskuteczniejszą metodą obniżenia stężenia IL-12 w surowicy chorych na cukrzycę typu 2 jest prawdopodobnie zmniejszenie masy ciała.

## PIŚMIENNICTWO

1. Stern A.S., Presky D.H. Interleukin 12 — an integral cytokine in the immune response. *Life Sci.* 1996; 58: 639–654.
2. Del Vecchio M., Bajetta E., Canova S. i wsp. Interleukin 12: biological properties and clinical application. *Clin. Canc. Res.* 2001; 13: 4677–4685.
3. Skarsvik S., Ludvigsson J., Vaarala O. Aberrant regulation of interleukin 12 receptor  $\beta_2$  chain on type 1 cytokine-stimulated T lymphocytes in type 1 diabetes. *Immunology* 2005; 114: 287–293.
4. Trinchieri G. Proinflammatory and immunoregulatory functions of interleukin 12. *Int. Rev. Immunol.* 1998; 16: 365–396.
5. Kang B.Y., Kim E., Sung Kim T. Regulatory mechanisms and their therapeutic implications of interleukin-12 production in immune cells. *Cel. Signal.* 2005; 17: 665–673.
6. Ranjbaran H., Sokol S.I., Gallo A. i wsp. An inflammatory pathway of IFN-gamma production in coronary atherosclerosis. *J. Immunol.* 2007; 178: 592–604.
7. Cola C., Clementi E., Biondi-Zoccai G. i wsp. From carotid plaque biology to serologic markers of vulnerability to predict the risk of cerebrovascular events. *Arch. Acta. Belg.* 2007; 107: 129–142.
8. Hauer A.D., Vyttenhore C., de Vos P. i wsp. Blokade of IL-12 function by protein vaccination attenuates atherosclerosis. *Circulation* 2005; 112: 1054–1062.
9. Polskie Towarzystwo Diabetologiczne. Zalecenia kliniczne dotyczące postępowania u chorych na cukrzycę 2005: Zalecenia Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego. *Diabetol. Prakt.* 2004; 5 (supl. D): D1–D36.
10. Dworacka M., Winiarska H., Kuczyński S. i wsp. Zastosowanie metody enzymatycznej dla oznaczenia stężenia 1,5-anhydro-D-glucitolu w osoczu. *Diagn. Lab.* 1997; 33: 269–276.
11. Herder C., Haaster B., Muller-Scholze S. i wsp. Association of systemic chemokine concentration with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *Diabetes* 2005; 54: 11–17.
12. Strączkowska-Dzienis O., Strączkowski M. Metaboliczne i hormonalne mediatory insulinooporności. *Terapia* 2002; 5: 68–73.
13. Tataranni P.A., Ortega E. A burning question: does adipokine-induced activation of the immune system mediate the effects of overnutrition on type 2 diabetes? *Diabetes* 2005; 54: 917–927.
14. Williams M.D., Nadler J.L. Inflammatory mechanisms of diabetic complications. *Curr. Diab. Rep.* 2007; 7: 242–248.
15. Raines E.W. Antigen-independent targeting of long-lived CD4 + cytotoxic T effector cells to lesions of atherosclerosis. *Circ. Res.* 2006; 98: 434–436.
16. Ge J., Jia Q., Liang C. i wsp. Advanced glycosylation end products might promote atherosclerosis through inducing the immune maturation of dendritic cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005; 25: 2157–2163.
17. Svensson P.A., Asea A., Englund M.C. i wsp. Major role of HSP70 as a paracrine inducer of cytokine production in human oxidized LDL treated macrophages. *Atherosclerosis* 2006; 185: 32–38.
18. Zhang X., Niessner A., Nakajima T. i wsp. Interleukin 12 induces T-cell recruitment into the atherosclerotic plaque. *Circ. Res.* 2006; 98: 524–531.
19. Zhou R.H., Shi Q., Gao H.Q., Shen B.J. Changes in serum interleukin 8 and interleukin 12 levels in patients with ischemic heart disease in a Chinese population. *J. Atheroscler. Thromb.* 2001; 8: 30–32.
20. Winkler G., Dworak O., Salamon F. i wsp. Increased interleukin-12 plasma concentrations in both, insulin-dependent and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia* 1998; 41: 488.
21. Wen Y., Gu J., Li S.L. i wsp. Elevated glucose and diabetes promote interleukin 12 cytokine gene expression in mouse macrophages. *Endocrinology* 2006; 147: 2518–2525.
22. Nofer J.R., Bot M., Brodde M. i wsp. FTY720, a synthetic sphingosine 1 phosphate analogue, inhibits development of atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. *Circulation* 2007; 115: 501–508.
23. Bastard J.P., Maachi M., Lagathu C. i wsp. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur. Cytokine Netw.* 2006; 17: 4–12.
24. Gomez-Merino D., Drogou C., Guezennec C.Y. i wsp. Effects of chronic exercise on cytokine production in white adipose tissue and skeletal muscle of rats. *Cytokine* 2007; 40: 23–29.