

Sylwia Płaczkowska¹, Izabela Kokot², Lilla Pawlik-Sobecka², Agnieszka Piwowar³

¹Diagnostyczne Laboratorium Naukowo-Dydaktyczne, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

²Zakład Praktycznej Nauki Zawodu Analityka, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

³Katedra i Zakład Toksykologii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Analiza profilu glukagonopodobnego peptydu-1 w przebiegu doustnego testu tolerancji glukozy u ludzi młodych

Glucagon-like peptide-1 profile during oral glucose tolerance test in young people

Artykuł jest tłumaczeniem pracy:

Płaczkowska S, Kokot I, Pawlik-Sobecka L, Piwowar A. Glucagon-like peptide-1 profile during oral glucose tolerance test in young people. Clin Diabetol 2017; 6, 5: 151–158. DOI: 10.5603/DK.2017.0026.

Należy cytować wersję pierwotną.

STRESZCZENIE

Wstęp. Obecnie ogromnym problemem społecznym jest występowanie insulinooporności i zaburzeń metabolicznych, będących czynnikami ryzyka rozwoju cukrzycy typu 2. Szczególnie niepokojące są doniesienia o pojawianiu się takich zaburzeń u coraz większej liczby osób młodych. Gospodarkę węglowodanową organizmu regulują mechanizmy neurohormonalne, a główną rolę w utrzymaniu homeostazy glukozy odgrywa insulina, której wydzielanie jest warunkowane aktualnym stężeniem glukozy oraz działaniem hormonów inkretynowych. Efekt inkretynowy polega na znacznie silniejszej odpowiedzi insulinowej po doustnym przyjęciu posiłku zawierającego glukozę niż w odpowiedzi na taki sam bodziec glukozowy podany dożylnie. Zmniejszenie zdolności do wydzielania hormonów inkretynowych jest wyraźnie widoczne u osób z zaburzeniami gospodarki węglowodanowej. Celem badania była analiza profilu stężenia glukagonopodobnego peptydu-1 (GLP-1) w przebiegu rozszerzonego (3-punktowego) doustnego testu tolerancji glukozy

(DTTG) u młodych, potencjalnie zdrowych osób oraz ocena związku stężenia GLP-1 z kształtem krzywej glikemicznej po obciążeniu 75 g glukozy oraz obecnością lub brakiem cech zespołu metabolicznego (ZM) w tej grupie osób.

Materiał i metody. Grupę badaną stanowiło 53 ochotników (40 kobiet i 13 mężczyzn) w wieku 19–28 lat, z prawidłową glikemią na czczo oraz prawidłową tolerancją glukozy. Wykonano u nich pomiary obwodu pasa oraz ciśnienia tętniczego krwi, oznaczono stężenie cholesterolu całkowitego, frakcji lipoprotein o dużej gęstości (HDL), lipoprotein o niskiej gęstości (LDL), triglicerydów, glukozy, insuliny, GLP-1 i białka C-reaktywnego (hsCRP) oznaczonego metodą ultraczułą na czczo oraz glukozy, insuliny i GLP-1 w 60. i 120. minucie DTTG. Wyniki analizowano w wyodrębnionych grupach: w zależności od czasu powrotu glikemii do wartości na czczo oraz liczby zidentyfikowanych cech ZM.

Wyniki. Porównanie wyników uzyskanych na czczo oraz w 60. i 120. minucie rozszerzonego DTTG nie wykazało istotnych różnic w stężeniach glukozy oraz GLP-1. Stężenie insuliny na czczo było natomiast istotnie niższe od wartości uzyskanych w 60. i 120. minucie DTTG. Zarówno szybkość powrotu glikemii do wartości obserwowanych na czczo, jak i liczba cech ZM nie były związane z występowaniem istotnych różnic stężenia GLP-1 między analizowanymi grupami w żadnym z punktów pomiarowych (na czczo, w 60. i 120. min

Adres do korespondencji:

dr Sylwia Płaczkowska

Diagnostyczne Laboratorium Naukowo-Dydaktyczne

Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

ul. Borowska 211A, 50-556 Wrocław

e-mail: sylwia.placzkowska@umed.wroc.pl

Nadesłano: 10.05.2017

Przyjęto do druku: 12.11.2017

DTTG). Zaobserwowano jedynie tendencję do występowania niższych wartości GLP-1 w grupie osób z ZM. Wnioski. Poczynione obserwacje mogą wskazywać na brak przydatności oznaczania GLP-1 w celu interpretacji profilu odpowiedzi insulinowej na obciążenie glukozą u młodych osób bez jawnych zaburzeń węglowodanowych; oznaczenie to może być jednak istotne w ocenie rozwoju ZM u takich osób. Przedstawione badanie będzie kontynuowane na większej liczbie ochotników, co pozwoli na uzyskanie bardziej szczegółowego obrazu regulacji insulinemii na drodze inkretynowej i potwierdzenie potencjalnej roli GLP-1 w rozwoju zespołu metabolicznego u młodych osób.

Słowa kluczowe: glukagonopodobny peptyd-1, doustny test tolerancji glukozy, zespół metaboliczny, osoby młode, insulinooporność

ABSTRACT

Introduction. Currently, a major social problem is the occurrence of insulin resistance and metabolic disorders, which are risk factors for the development of type 2 diabetes. Particularly disturbing are the reports of an increasing number of such disorders in young people. The carbohydrate metabolism is regulated by neurohormonal mechanisms and insulin plays a major role in maintaining glucose homeostasis. Its secretion is determined by the current glucose concentration and the action of incretin hormones. The incretin effect describes the phenomenon whereby oral glucose elicits higher insulin secretory response than does the same intravenous glucose administration. This effect is visibly defective in patients with carbohydrate metabolism disorders.

Objective. The aim of the study was to analyse the glucagon-like peptide 1 (GLP-1) concentration profile during the extended (three-point) oral glucose tolerance test (OGTT) and to assess its relationship to OGTT curve shape after 75 g glucose load and presence or absence of metabolic syndrome (MS) features in young, potentially healthy individuals.

Material and methods. The study group consisted of 53 volunteers (40 women and 13 men) aged 19–28 years, with normal fasting blood glucose and normal glucose tolerance. Body mass, waist circumference, blood pressure, glucose, insulin, triglycerides, total and HDL cholesterol, GLP-1 and hsCRP concentrations were measured in the fasting state. Glucose, insulin and GLP-1 levels were also measured at 60 and 120 min after oral administration of 75 g of glucose. The results were analysed in subgroups based on the time required to return to fasting levels of blood glucose and the number of identified features of MS.

Results. Comparison of the results obtained in the fasting state and at 60 and 120 min of the extended OGTT showed no significant differences in glucose and GLP-1 concentrations, whereas fasting plasma insulin concentrations were significantly lower than those observed at 60 and 120 min of the OGTT. Neither the time for blood glucose to return to fasting values nor the number of metabolic syndrome features were associated with significant differences in GLP-1 concentrations between the groups analysed at any of the measurement points (fasting state, 60 and 120 min of the OGTT). Only the tendency to lower GLP-1 values was observed in the group of patients with the MS. **Conclusions.** Our observations may suggest that GLP-1 level measurements are not useful in determining the insulin response profile after glucose oral administration in young people without apparent carbohydrate disorders, but they may indicate disturbances in the incretin effect in subjects with MS. Our study will be continued with a larger number of volunteers to provide a more detailed mechanism of the regulation of insulin secretion by incretins and the potential role of GLP-1 in the development of MS in young people.

Key words: glucagon-like peptide-1, oral glucose tolerance test, metabolic syndrome, young people, insulin resistance

Wstęp

Gospodarka węglowodanowa organizmu jest regulowana przez mechanizmy neurohormonalne, a główną rolę w utrzymaniu homeostazy glukozy odgrywa insulina, której wydzielanie jest warunkowane aktualnym stężeniem glukozy oraz działaniem hormonów inkretynowych, takich jak glukagonopodobny peptyd-1 (GLP-1, *glucagon-like peptide-1*) oraz glukozozależny peptyd insulinotropowy (GIP, *glucose-dependent insulinotropic peptide*). Hormony inkretynowe są składową osi jelitowo-trzustkowej i odgrywają istotną rolę w poposiłkowym zwiększeniu wydzielania insuliny przez komórki β trzustki. Zależny od tych hormonów tzw. efekt inkretynowy polega na znacznie silniejszej odpowiedzi insulinowej po doustnym przyjęciu posiłku zawierającego glukozę niż w odpowiedzi na taki sam bodziec glukozowy podany dożylnie [1, 2]. Przyjęcie posiłku stymuluje komórki L błony śluzowej jelita cienkiego do syntezy i wydzielania hormonów inkretynowych, które drogą naczyń krwionośnych docierają do komórek β trzustki i pobudzają wydzielanie insuliny, jeszcze zanim dojdzie do wzrostu stężenia glukozy w płynie międzykomórkowym wysp trzustkowych [3].

Glukagonopodobny peptyd-1 działa poprzez połączenie ze swoistymi receptorami GLP-1R, które są zlokalizowane na komórkach wysp trzustkowych, a także w układzie pokarmowym, nerkach, płucach, naczyniach krwionośnych, sercu i mózgu. W trzustce GLP-1 stymuluje komórki β do syntezy insuliny poprzez indukcję ekspresji odpowiedniego genu [4]. Ponadto ma zdolność stymulacji proliferacji i różnicowania komórek β oraz chroni je przed apoptozą [5]. Peptyd ten wywiera efekt hipoglikemizujący także przez hamowanie wydzielania glukagonu z trzustki oraz opóźnienie pasażu treści pokarmowej z żołądka do jelita cienkiego. Doustne podanie glukozy powoduje większe i szybsze wydzielanie GLP-1 niż przyjęcie posiłku mieszanego w formie stałej [6]. Bardzo istotna jest zdolność GLP-1 do nasilania sekrecji insuliny głównie w stanie hiperglikemii i jego znikome insulinotropowe działanie na komórki β trzustki w stanie normoglikemii, dzięki czemu nie dochodzi do wystąpienia stanu hipoglikemii [7]. Wzrost stężenia GLP-1 jest obserwowany zarówno u osób szczupłych, jak i otyłych po przyjęciu posiłku lub doustnym obciążeniu glukozą [8]. Osłabienie efektu inkretynowego, polegające na zmniejszeniu wydzielania GLP-1 przy zachowanym prawidłowym wydzielaniu GIP, jest obserwowane u osób z jednocześnie występującą nieprawidłową glikemią na czczo (IFG, *impaired fasting glucose*) i nieprawidłową tolerancją glukozy (IGT, *impaired glucose tolerance*) oraz u chorych na cukrzycę typu 2 [9].

Wyniki badań z ostatnich lat wskazują na wciąż narastający problem występowania insulinooporności i zaburzeń metabolicznych w populacjach krajów uprzemysłowionych [10], a szczególnie niepokojące są doniesienia wskazujące na pojawianie się takich zaburzeń u coraz większej liczby ludzi młodych [11]. Problem ten jest tym bardziej istotny, że wiele z tych osób nie ma świadomości występowania zaburzeń oraz nie poddaje się systematycznym badaniom profilaktycznym [12]. Podstawą diagnozowania nieprawidłowości gospodarki węglowodanowej nadal pozostaje dwupunktowy doustny test tolerancji glukozy (DTTG), w którym jednak nie obserwuje się dynamiki zmian stężenia glukozy. Ostatnie doniesienia podkreślają jednak przydatność pomiarów glikemii w kilku punktach czasowych DTTG w określaniu zaburzeń węglowodanowych [13]. Dane z piśmiennictwa pokazują, że u osób z wartościami glikemii na czczo i w 120. minucie DTTG wskazujących na brak zaburzeń węglowodanowych krzywa zmian glikemii może mieć różny kształt, warunkowany zdolnością do uwalniania insuliny oraz wrażliwością tkanek organizmu na ten hormon. Szacuje się, że efekt inkretynowy odpowiada nawet w 70% za poposiłkowe wydzielanie insuliny [14].

W dostępnym piśmiennictwie znaleźć można jedynie znikomą ilość danych na temat zmian profilu GLP-1 w trakcie DTTG [8, 15, 16] oraz w zależności od występowania zmiennej liczby cech determinujących rozpoznanie zespołu metabolicznego (ZM). Brak natomiast badań, które odnoszą się do zmian stężenia tej inkretyny w zależności od czasu powrotu glikemii do wartości obserwowanych na czczo i kształtu krzywej. Oba te parametry, tj. szybkość obniżania się glikemii w stanie pioresorpcyjnym oraz występowanie cech ZM, są ściśle powiązane z nasileniem insulinooporności tkanek. W tym aspekcie interesujące wydały się analiza profilu stężenia GLP-1 w przebiegu rozszerzonego (3-punktowego) DTTG u młodych, potencjalnie zdrowych osób oraz ocena związku stężenia GLP-1 z obecnością lub brakiem cech ZM w tej grupie.

Materiały i metody

Grupę badaną stanowiło 53 ochotników (40 kobiet i 13 mężczyzn) w wieku 19–28 lat. Uczestnictwo w badaniach było dobrowolne, a na ich realizację uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu (nr KB — 194/2009). U wszystkich uczestników wykonano badania ankietowe, antropometryczne, kliniczne oraz laboratoryjne. Badanie przedmiotowe obejmowało podstawowe pomiary antropometryczne (wzrost, masa ciała, obwód pasa) oraz pomiary ciśnienia tętniczego krwi. W badaniach laboratoryjnych przeprowadzono oznaczenia stężenia glukozy, insuliny, GLP-1, profilu lipidowego [cholesterol całkowity i frakcja lipoproteiny o dużej gęstości (HDL, *high density lipoprotein*), triglicerydy; wyliczono stężenie cholesterolu frakcji lipoproteiny o niskiej gęstości (LDL, *low density lipoprotein*)] oraz zmierzono stężenie białka C-reaktywnego metodą ultraczułą (hsCRP, *high-sensitivity C-reactive protein*). Kryteriami włączenia do badania były: dobry ogólny stan zdrowia, brak występowania hiperglikemii na czczo i po obciążeniu glukozą oraz brak wcześniej rozpoznanego ZM. Jako kryteria wykluczenia przyjęto zgłaszane przez uczestników w wywiadzie: nietolerancję glukozy lub cukrzycę, nadciśnienie tętnicze lub przyjmowanie leków hipotensyjnych, hipercholesterolemię lub przyjmowanie leków hipolipemizujących, niewydolność wątroby lub nerek. Ponadto z udziału w badaniu wykluczały: przebyte choroby nowotworowe, ostre infekcje przebyte w ciągu 2 tygodni poprzedzających badanie lub leki przeciwalergiczne przyjmowane w okresie 3 miesięcy poprzedzających badanie. Dodatkowymi kryteriami wykluczenia z udziału w badaniu były wartości glikemii ≥ 126 mg/dl w osoczu krwi żyłnej na czczo, stężenie białka hsCRP ≥ 10 mg/l w surowicy oraz liczba leukocytów we krwi obwodowej $\geq 10,0$ G/l.

Doustny test tolerancji glukozy został wykonany zgodnie z zaleceniami Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego (PTD) [17], z wprowadzeniem modyfikacji polegającej na pobraniu dodatkowej próbki krwi w 60. minucie po obciążeniu glukozą. Materiałem do badań laboratoryjnych były próbki krwi żyłnej pobrane w trakcie trzypunktowego DTTG z obciążeniem 75 g glukozy, tj. na czczo oraz w 60. i 120. minucie. Krew żylną na czczo pobierano przy użyciu systemu zamkniętego *Monovette* firmy Sarstedt (Niemcy) do trzech próbek: dwóch zawierających EDTA-K3 oraz kolejnej — z aktywatorem krzepnięcia. W próbce krwi pełnej wykonywano badanie morfologii krwi obwodowej, natomiast w osoczu oznaczano stężenia glukozy i GLP-1. W surowicy oznaczono parametry profilu lipidowego, insulinę oraz hsCRP. W próbkach pobranych w 60. i 120. minucie testu zmierzono stężenie glukozy i GLP-1 w osoczu oraz insuliny w surowicy. Oznaczenia biochemiczne wykonano z wykorzystaniem analizatora biochemicznego *Konelab 20i* firmy ThermoScientific (USA). Badanie morfologii krwi obwodowej wykonano z użyciem analizatora hematologicznego *Cell-Dyn 1800* (Abbott, USA). Stężenie insuliny oznaczono metodą immunoenzymatyczną zestawem odczynnikowym firmy DRG Diagnostics (Niemcy), a stężenie GLP-1 — metodą immunoenzymatyczną Yanaihara Institute Inc (Japonia) z użyciem czytnika mikroplątek *MR-96A* firmy Mindray (Chiny).

Analiza statystyczna

Analizy statystycznej uzyskanych wyników dokonano z użyciem pakietu *Statistica 12, PL* (StatSoft, USA). Zmierzone wartości przedstawiono jako mediany z 25–75% zakresem obserwowanych wartości (dolny i górny kwartył) oraz wartościami minimalnymi i maksymalnymi. Dla wszystkich zmiennych ciągłych oceniano normalność rozkładu z wykorzystaniem testu Shapiro-Wilka. Do analizy porównawczej wyników wykorzystano test ANOVA Kurskale-Wallisa dla zmiennych niezależnych i ANOVA Friedmana dla zmiennych zależnych. We wszystkich stosowanych testach dla obserwowanych różnic przyjęto — jako statystycznie istotny — poziom prawdopodobieństwa $< 0,05$.

Wyniki

Na wstępie przeprowadzono analizę parametrów antropometrycznych, klinicznych i biochemicznych z uwzględnieniem płci badanych osób, co przedstawiono w tabeli 1. Fizjologicznie znamienne wyższe stężenie cholesterolu frakcji HDL stwierdzono u kobiet, natomiast u mężczyzn obserwowano istotnie wyższe obwody pasa. Ponadto przebadani mężczyźni charakteryzowali się istotnie wyższym ciśnieniem skurczowym krwi oraz stężeniem triglicerydów.

W tabeli 2 zestawiono wartości glikemii, insulinemii i GLP-1 na czczo oraz w 60. i 120. minucie DTTG w badanej grupie osób młodych wraz z analizą statystyczną. Rozkład wartości stężeń GLP-1 zmierzonych na czczo oraz w 60. i 120. minucie DTTG w całej badanej grupie przedstawiono na rycinie 1.

Analiza uzyskanych wyników zmierzonych na czczo oraz w 60. i 120. minucie rozszerzonego DTTG nie wykazała istotnych różnic w stężeniach glukozy oraz GLP-1. Stężenie insuliny obserwowane na czczo było natomiast istotnie niższe od wartości uzyskanych w 60. i 120. minucie DTTG.

W kolejnym etapie dokonano analizy profilu zmian stężeń GLP-1 w przebiegu rozszerzonego DTTG, uwzględniając podział na grupy oparty na różnicach w czasie powrotu glikemii do wartości na czczo w trakcie DTTG. Analizę przeprowadzono w trzech wyodrębnionych grupach (oznaczonych odpowiednio jako 1, 2 i 3). Grupę 1 stanowiło 26 osób, u których glikemia powróciła do wartości na czczo przed 60. minutą DTTG. Grupa 2 obejmowała 13 osób, u których glikemia powróciła do wartości na czczo między 60. a 120. minutą DTTG. Grupę 3 stanowiło 13 osób, u których nie zaobserwowano powrotu glikemii do wartości na czczo przed 120. minutą DTTG. Wyniki tej analizy przedstawiono w tabeli 3.

W żadnej z analizowanych grup uwzględniających szybkość powrotu glikemii do wartości na czczo (1, 2, 3) nie wykazano istotnych zmian w stężeniu GLP-1 zarówno na czczo, jak i w trakcie trwania DTTG. Zaobserwowano natomiast, że wraz z wydłużeniem się czasu powrotu glikemii do wartości na czczo zmniejsza się stężenie GLP-1 obserwowane w 60. i 120. minucie testu. Wyniki analizowane w obrębie danej grupy cechowały się jedynie tendencją spadkową w porównaniu do wartości na czczo, a najniższe wartości obserwowano w 60. minucie testu w każdej z grup. Nie zaobserwowano także istotnych różnic w stężeniu GLP-1 między analizowanymi grupami w poszczególnych punktach pomiarowych DTTG. Najbardziej widoczna tendencja spadkowa stężenia GLP-1 w poszczególnych punktach pomiarowych występowała w grupie 3, ale zmiany te nie miały charakteru istotnego statystycznie.

W kolejnym etapie analizy uczestników badania podzielono na grupy (oznaczone odpowiednio jako I, II i III) w zależności od liczby cech determinujących rozpoznanie ZM. Identyfikację cech ZM przeprowadzono zgodnie z następującymi kryteriami rekomendowanymi przez *International Diabetes Federation* (IDF) w 2009 roku: obwód pasa ≥ 80 cm dla kobiet i ≥ 94 cm dla mężczyzn, stężenie triglicerydów $\geq 1,7$ mmol/l, stężenie cholesterolu frakcji HDL $< 1,3$ mmol/l dla kobiet i $< 1,0$ mmol/l dla mężczyzn, ciśnienie krwi tętnicznej skur-

Tabela 1. Parametry antropometryczne, profilu lipidowego, stanu zapalnego i ciśnienia krwi tętniczej w przebadanej grupie osób z uwzględnieniem płci

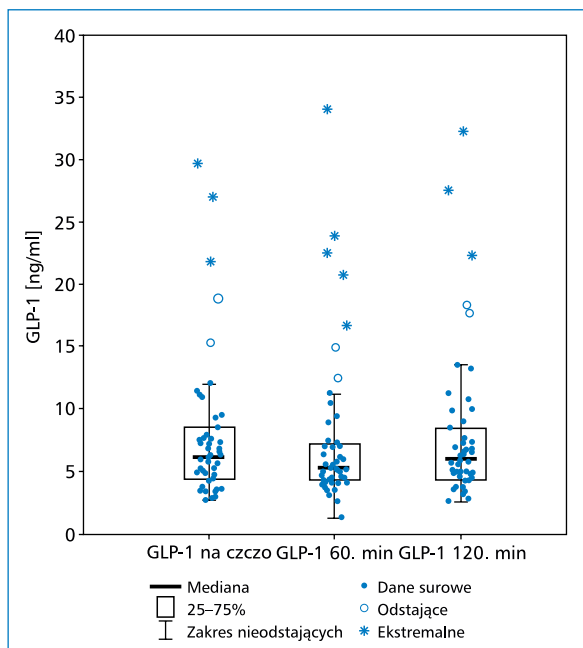
Parametr	Wszyscy n = 53	Kobiety n = 40	Mężczyźni n = 13	p
Wiek (lata)	22 (21–23) (19–28)	22 (21–23) (19–26)	23 (21–24) (20–28)	0,056
Obwód pasa [cm]	79 (72–83) (65–107)	76 (72–82) (65–92)	86 (82–96) (76–107)	0,001
Cholesterol całkowity [mmol/l]	4,1 (3,8–4,7) (3,3–7,4)	4,1 (3,9–4,7) (3,5–6,2)	4,2 (3,8–4,6) (3,3–7,4)	0,914
Cholesterol frakcji HDL [mmol/l]	1,4 (1,2–1,6) (0,8–2,3)	1,5 (1,3–1,6) (1,0–2,3)	1,0 (1,0–1,2) (0,8–1,4)	0,000
Triglicerydy [mmol/l]	0,9 (0,6–1,4) (0,4–2,6)	0,8 (0,6–1,2) (0,4–2,2)	1,0 (0,8–1,7) (0,7–2,6)	0,044
Ciśnienie skurczowe krwi [mm Hg]	110 (105–120) (90–140)	109 (103–119) (90–140)	116 (110–125) (110–140)	0,008
Ciśnienie rozkurczowe krwi [mm Hg]	71 (70–80) (55–90)	70 (70–80) (55–90)	77 (70–80) (70–90)	0,136
Leukocyty [G/l]	6,3 (5,5–7,2) (3,4–8,9)	6,2 (5,5–7,1) (3,4–8,9)	6,5 (6,0–7,9) (4,5–8,3)	0,441
Stężenie hsCRP [mg/l]	0,73 (0,31–1,65) (0,01–9,85)	0,90 (0,32–2,43) (0,01–9,85)	0,54 (0,01–0,82) (0,01–1,06)	0,104

HDL (*high density lipoprotein*) — lipoproteina o dużej gęstości; hsCRP (*high-sensitivity C-reactive protein*) — białko C-reaktywne oznaczone metodą ultraczułą. Wyniki przedstawiono jako: mediana, (25–75% zakres wartości), (min–max)

Tabela 2. Wartości stężeń glukozy, insuliny i glukagonopodobnego peptydu-1 (GLP-1) na czczo oraz w 60. i 120. minucie doustnego testu tolerancji glukozy u wszystkich przebadanych osób

Parametr	Doustny test tolerancji glukozy			p
	Na czczo	60. min	120. min	
Glukoza [mmol/l]	5,0 (4,8–5,3) (4,2–5,5)	5,3 (4,3–6,3) (3,0–8,5)	5,0 (4,3–5,9) (2,5–6,9)	NS
Insulina [μ IU/ml]	11,0 (8,6–13,9) (2,9–30,9)	49,0 (28,8–67,9) (12,3–166,9)	37,2 (27,6–56,9) (7,2–94,5)	< 0,001
GLP-1 [ng/ml]	6,14 (4,50–7,93) (2,74–29,65)	5,28 (4,28–7,06) (1,33–34,00)	5,99 (4,57–7,59) (2,60–32,20)	NS

Wyniki przedstawiono jako: mediana, (25–75% zakres wartości), (min–max)



Rycina 1. Rozkład wartości stężeń glukagonopodobnego peptydu-1 (GLP-1) na czczo oraz w 60. i 120. minucie doustnego testu tolerancji glukozy u wszystkich uczestników badania

czowe ≥ 130 mm Hg i/lub rozkurczowe ≥ 80 mm Hg oraz stężenie glukozy na czczo $\geq 5,5$ mmol/l. Rozpoznanie ZM wymagało spełnienia co najmniej trzech z tych kryteriów [18].

Uczestników badania przyporządkowano do następujących trzech grup: I — 26 osób, u których nie występowała żadna z cech ZM; II — 23 osoby, u których wykazano obecność jednej lub dwóch cech ZM; III — 4 osoby z ZM zidentyfikowanym na podstawie wyników badania. W wyodrębnionych grupach przeanalizowano wartości stężeń GLP-1 zmierzonych w trakcie DTTG, a więc na czczo, w 60. i 120. minucie testu. Wyniki analizy przedstawiono w tabeli 4.

W żadnej z analizowanych grup uwzględniających liczbę cech determinujących rozpoznanie ZM (I, II, III) nie wykazano statystycznie istotnych zmian w stężeniu GLP-1 zarówno na czczo, jak i w trakcie DTTG. Zaobserwowano jedynie tendencję spadkową stężenia GLP-1 wraz ze wzrostem liczby cech ZM, a najniższe wartości odnotowano w grupie osób ze zidentyfikowanym ZM. Nie wykazano także różnic w stężeniu GLP-1 w obrębie analizowanych grup w poszczególnych punktach pomiarowych DTTG.

Tabela 3. Analiza wartości glukagonopodobnego peptydu-1 (GLP-1) w poszczególnych punktach doustnego testu tolerancji glukozy (DTTG) w odniesieniu do czasu powrotu glikemii w trakcie DTTG do wartości obserwowanych na czczo

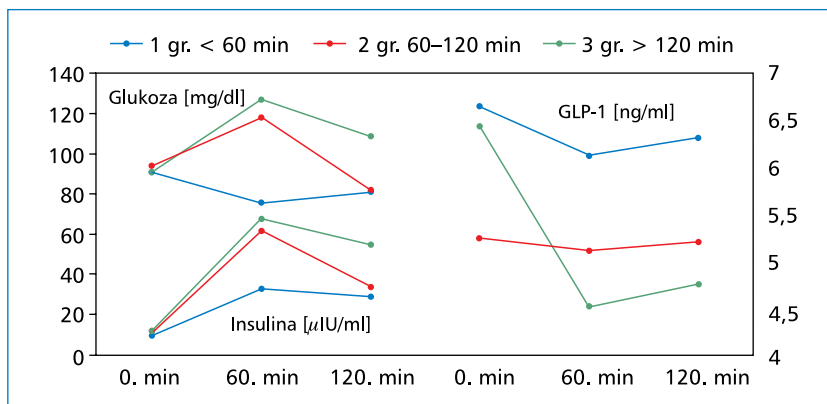
Punkty pomiarowe	Grupy	Grupa 1	Grupa 2	Grupa 3	p*
		< 60. min DTTG	60.–120. min DTTG	> 120. min DTTG	
GLP-1 na czczo [ng/ml]		6,65 (4,85–11,16)	5,24 (3,70–7,72)	6,44 (4,39–7,66)	NS
GLP-1 — 60. min DTTG [ng/ml]		6,12 (5,00–9,36)	5,11 (4,24–7,04)	4,52 (4,01–5,58)	NS
GLP-1 — 120. min DTTG [ng/ml]		6,31 (4,68–9,36)	5,20 (4,29–7,01)	4,76 (4,85–5,59)	NS
p**		NS	NS	NS	

p* — porównanie stężeń GLP-1 między grupami w określonym punkcie pomiarowym DTTG; p** — porównanie stężeń GLP-1 między poszczególnymi punktami pomiarowymi DTTG w obrębie jednej grupy. Wyniki przedstawiono jako: mediana, (25–75% zakres wartości)

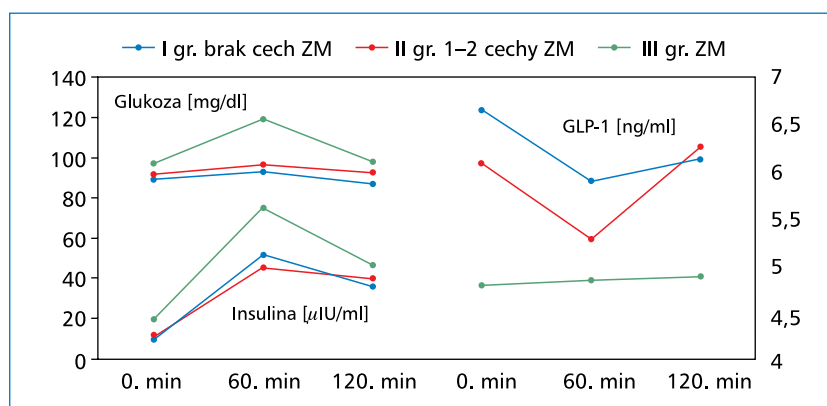
Tabela 4. Wartości glukagonopodobnego peptydu-1 (GLP-1) w poszczególnych punktach doustnego testu tolerancji glukozy (DTTG) w odniesieniu do liczby występujących cech zespołu metabolicznego (ZM) u badanych osób

Punkty pomiarowe	Grupy	Grupa I	Grupa II	Grupa III	p*
		(brak cech ZM)	(1–2 cechy ZM)	(zidentyfikowany ZM)	
GLP-1 na czczo [ng/ml]		6,65 (4,85–11,16)	6,08 (4,65–8,93)	4,79 (3,88–6,25)	NS
GLP-1 — 60. min DTTG [ng/ml]		5,89 (4,52–8,9)	5,27 (4,28–7,09)	4,84 (4,08–5,27)	NS
GLP-1 — 120. min DTTG [ng/ml]		6,13 (4,57–10,01)	6,25 (3,70–7,36)	4,89 (4,76–5,77)	NS
p**		NS	NS	NS	

p* — porównanie stężeń GLP-1 między grupami w określonym punkcie pomiarowym DTTG; p** — porównanie stężeń GLP-1 między poszczególnymi punktami pomiarowymi DTTG w obrębie jednej grupy. Wyniki przedstawiono jako: mediana, (25–75% zakres wartości)



Rycina 2. Mediany stężeń glukozy, insuliny i glukagonopodobnego peptydu-1 (GLP-1) w trakcie doustnego testu tolerancji glukozy w poszczególnych grupach (1, 2, 3) uwzględniających czas powrotu glikemii do wartości na czczo



Rycina 3. Mediany stężeń glukozy, insuliny i glukagonopodobnego peptydu-1 (GLP-1) w trakcie doustnego testu tolerancji glukozy w poszczególnych grupach (I, II, III) uwzględniających liczbę cech zespołu metabolicznego

Zmiany glikemii, insulinemii i stężeń GLP-1 w trakcie DTTG, przedstawione jako mediany analizowanych parametrów w poszczególnych grupach wyodrębnionych na podstawie czasu powrotu glikemii do wartości na czczo (grupy 1, 2, 3) oraz zidentyfikowanej liczby cech ZM (grupy I, II, III), zobrazowano odpowiednio na rycinach 2 i 3.

Dyskusja

Wartości glikemii obserwowane po przyjęciu posiłku lub obciążeniu glukozą w DTTG są wypadkową oddziaływania wielu czynników, wśród których największe znaczenie mają: szybkość utylizacji glukozy przez tkanki obwodowe, zdolność komórek β trzustki do wydzielania insuliny oraz wydzielanie i aktywność hormonów inkretynowych związana z szybkością pasażu treści pokarmowej z żołądka do dwunastnicy. Czynniki te warunkują nie tylko całkowitą wielkość

zmian glikemii po obciążeniu glukozą, ale również kształt krzywej glikemicznej oraz czas, w którym obserwowane są najniższe i najwyższe stężenia glukozy we krwi [19, 20]. Wartości glikemii mierzone na czczo i po obciążeniu glukozą w DTTG są użytecznymi predyktorami rozwoju cukrzycy w przyszłości, a pośrednio także mogą być przydatne w prognozowaniu ZM, z uwagi na insulinoporność leżącą u podłoża rozwoju tego zaburzenia [21]. Badania *San Antonio Heart Study* pokazały, że wśród osób z prawidłową glikemią na czczo i prawidłowym wynikiem testu tolerancji glukozy, brak powrotu glikemii w trakcie DTTG do wartości obserwowanych na czczo jest związany ze zwiększonym ryzykiem rozwoju cukrzycy w przyszłości w porównaniu z osobami, u których glikemia po obciążeniu powróciła do wartości na czczo w ciągu 30, 60 lub 120 minut testu [22]. Jedyne dane dotyczące pomiaru stężenia GLP-1 w różnych punktach pomiarowych w trzygodzinnym

DTTG zostały przeprowadzone przez Velasquez-Mieyer i wsp. [15] wśród otyłych, zdrowych osób, między innymi rasy kaukaskiej. Przedstawiony w tej pracy wykres zmian dla stężenia GLP-1, podany w [pmol/l] — podobnie jak w naszym badaniu, w którym wyniki przedstawiono w [ng/ml] — wskazuje na brak znaczących różnic w poszczególnych punktach pomiarowych w trakcie DTTG.

Dużą trudność stanowi odniesienie się do wartości stężeń GLP-1 pochodzących z różnych badań, gdyż na rynku dostępne są testy ELISA kalibrowane, co prawda na wzorce o tych samych zakresach stężeń (0–50), jednak przedstawianych w różnych jednostkach stężeń ([ng/ml], [pg/ml] lub [pmol/l]) [15, 16, 23, 24]. Wzajemne ich przeliczanie prowadzi do niejednoznacznych wyników, które uniemożliwiają porównanie wartości bezwzględnych uzyskanych przez różnych autorów. Rozbieżności w mierzonych stężeniach GLP-1 mogą być spowodowane brakiem standaryzacji wzorców używanych do kalibracji zestawów odczynnikowych wykorzystywanych do oznaczania tej inkretyny. Z tego powodu, analizując wyniki otrzymane w badaniu przedstawionym w niniejszej pracy, autorki ograniczyły się do porównania zmian profilu GLP-1 w trakcie DTTG.

W przebadanej grupie osób młodych bez zaburzeń węglowodanowych nie stwierdzono istotnych zmian stężenia GLP-1 w żadnym z trzech punktów pomiarowych rozszerzonego DTTG. Zaobserwowano jednak znacznie niższe wartości glikemii we krwi obwodowej, szczególnie w 60. minucie DTTG, w porównaniu do danych pochodzących z piśmiennictwa [8]. Mając na uwadze niewielkie zmiany stężenia glukozy w czasie DTTG w naszym badaniu, nie można wykluczyć, że znaczący wzrost stężenia GLP-1 mógł nastąpić w czasie 10–30 minut od momentu obciążenia glukozą, a szybkie wchłanianie glukozy do tkanek obwodowych u osób z prawidłową gospodarką węglowodanową powodowało brak dalszej stymulacji wydzielania GLP-1. Dodatkowo, szybka degradacja tej inkretyny, zachodząca w krążeniu pod wpływem dipeptydylopeptydazy IV (DPP-4), mogła spowodować brak dynamicznej zmiany stężenia GLP-1 w obserwacji opartej na oznaczeniach dokonanych w odstępach 60-minutowych.

Analiza stężeń GLP-1 w powiązaniu z występowaniem zmiennej liczby cech determinujących rozpoznanie ZM u młodych, potencjalnie zdrowych osób również nie wykazała istotnych zmian w wyodrębnionych grupach. W żadnym z punktów pomiarowych DTTG nie zaobserwowano związku między stężeniem GLP-1 a liczbą cech ZM, co wskazuje na brak występowania takich zależności wśród przebadanych ludzi młodych, mimo że w ZM dochodzi do osłabienia uwalniania inkretyn [25]. Zaobserwowano jednak tendencję spadkową stężenia GLP-1 u osób ze zdiagnozowanym ZM w stosunku do

pozostałych dwóch grup, co może być związane z nasilaniem zaburzeń węglowodanowo-lipidowych wraz z pojawianiem się kolejnych cech predysponujących do rozpoznania ZM. Odmienne obserwacje poczynili Yamaoka i wsp. [26], którzy wskazali na wyższe stężenie GLP-1 u osób z ZM, jednak badania te dotyczyły populacji japońskiej w wieku około 50 lat. Obserwacje auterek tej pracy mają charakter pilotażowy i wymagają przebadania większej liczby osób młodych, gdyż ZM zidentyfikowano jedynie u 4 uczestników badania.

Wnioski

Przedstawione w niniejszej pracy wyniki są interesujące z uwagi na fakt, że zarówno dane z piśmiennictwa, jak i wyniki wcześniejszych badań własnych [12, 27, 28] wskazują na coraz większą liczbę osób młodych, u których wykrywa się różnego rodzaju zaburzenia metaboliczne, co w przyszłości może niepokojąco zwiększyć statystyki występowania ZM i zachorowalności na cukrzycę typu 2. Potencjalny udział zmniejszonego uwalniania inkretyn w okresie przedcukrzycowym jest istotny w rozwoju zaburzeń metabolicznych. Stężenie glukagonopodobnego peptydu-1 nie wykazuje istotnych różnic w trakcie przebiegu rozszerzonego DTTG w odniesieniu do wartości obserwowanych na czczo u osób z prawidłową glikemią na czczo oraz prawidłową tolerancją glukozy. Obserwacje te mogą wskazywać na brak przydatności oznaczania tego parametru w celu interpretacji profilu odpowiedzi insulinowej na obciążenie glukozą u młodych osób bez jawnych zaburzeń węglowodanowych, ale parametr ten może być istotny w ocenie rozwoju ZM u takich osób [26, 29]. Przedstawione badania będą kontynuowane na większej liczbie ochotników, co pozwoli uzyskać bardziej szczegółowy obraz regulacji inkretynowej i potencjalnej roli GLP-1 w rozwoju ZM u młodych osób.

PIŚMIENNICTWO

- Matuszek B, Lenart-Lipinska M, Nowakowski A. Incretin hormones in the treatment of type 2 diabetes. Part I: influence of insulinotropic gut-derived hormones (incretins) on glucose metabolism. *Endokrynol Pol.* 2007; 58(6): 522–528.
- Marathe CS, Rayner CK, Jones KL, et al. Glucagon-like peptides 1 and 2 in health and disease: a review. *Peptides.* 2013; 44: 75–86, doi: [10.1016/j.peptides.2013.01.014](https://doi.org/10.1016/j.peptides.2013.01.014), indexed in Pubmed: [23523778](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23523778/).
- Bodnaruc AM, Prud'homme D, Blanchet R. Nutritional modulation of endogenous glucagon-like peptide-1 secretion: a review. *Nutr Metab.* 2016; 13(92), doi: [10.1186/s12986-016-0153-3](https://doi.org/10.1186/s12986-016-0153-3).
- Holst JJ. The physiology of glucagon-like peptide 1. *Physiol Rev.* 2007; 87(4): 1409–1439, doi: [10.1152/physrev.00034.2006](https://doi.org/10.1152/physrev.00034.2006), indexed in Pubmed: [17928588](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17928588/).
- Cornu M, Thorens B. GLP-1 protects β -cells against apoptosis by enhancing the activity of an IGF-2/IGF1-receptor autocrine loop. *Islets.* 2009; 1(3): 280–282, doi: [10.4161/isl.1.3.9932](https://doi.org/10.4161/isl.1.3.9932), indexed in Pubmed: [21099285](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21099285/).

6. Yamane S, Harada N, Hamasaki A, et al. Effects of glucose and meal ingestion on incretin secretion in Japanese subjects with normal glucose tolerance. *J Diabetes Investig.* 2012; 3(1): 80–85, doi: [10.1111/j.2040-1124.2011.00143.x](https://doi.org/10.1111/j.2040-1124.2011.00143.x), indexed in Pubmed: [24843549](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24843549/).
7. Kieffer T, Habener JF. The Glucagon-Like Peptides. *Endocr Rev.* 1999; 20(6): 876–913, doi: [10.1210/edrv.20.6.0385](https://doi.org/10.1210/edrv.20.6.0385), indexed in Pubmed: [10605628](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10605628/).
8. Muscelli E, Mari A, Casolaro A, et al. Separate impact of obesity and glucose tolerance on the incretin effect in normal subjects and type 2 diabetic patients. *Diabetes.* 2008; 57(5): 1340–1348, doi: [10.2337/db07-1315](https://doi.org/10.2337/db07-1315), indexed in Pubmed: [18162504](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18162504/).
9. Zhang F, Tang X, Cao H, et al. Impaired Secretion of Total Glucagon-like Peptide-1 in People with Impaired Fasting Glucose Combined Impaired Glucose Tolerance. *Int J Med Sci.* 2012; 9(7): 574–581, doi: [10.7150/ijms.4128](https://doi.org/10.7150/ijms.4128), indexed in Pubmed: [22991496](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22991496/).
10. Zdrojewski T, Rutkowski M, Bandosz P, et al. Rozpowszechnienie i kontrola czynników ryzyka sercowo-naczyniowego w Polsce. Cele i sposób realizacji badania NATPOL 2011. *Kardiol Pol.* 2013; 71(4): 381–392, doi: [10.5603/kp.2013.0066](https://doi.org/10.5603/kp.2013.0066), indexed in Pubmed: [23788344](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23788344/).
11. Wirtualny magazyn Pielęgniarki i Położnej. Diagnoza stanu zdrowia Polaków według NATPOL 2011. http://www.nursing.com.pl/Aktualnosc_Diagnoza_stanu_zdrowia_Polakw_wedug_NATPOL_2011_1006.html (02.02.2017).
12. Placzkowska S, Pawlik-Sobecka L, Kokot I, et al. [Incidence of complex metabolic disorders among young people — preliminary report]. *Pol Merkur Lekarski.* 2014; 37(221): 269–273, indexed in Pubmed: [25546987](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25546987/).
13. Otto-Buczkowska E, Dryżałowski M. Użyteczność pomiaru glikemii w pierwszej godzinie doustnego testu tolerancji glukozy. *Diabetologia Praktyczna.* 2016; 4(2): 146–149.
14. Salehi M, Aulinger B, D’Alessio DA. Effect of Glycemia on Plasma Incretins and the Incretin Effect During Oral Glucose Tolerance Test. *Diabetes.* 2012; 61(11): 2728–2733, doi: [10.2337/db11-1825](https://doi.org/10.2337/db11-1825), indexed in Pubmed: [22733799](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22733799/).
15. Velasquez-Mieyer PA, Umpierrez GE, Lustig RH, et al. Race affects insulin and GLP-1 secretion and response to a long-acting somatostatin analogue in obese adults. *International Journal of Obesity.* 2004; 28(2): 330–333, doi: [10.1038/sj.ijo.0802561](https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0802561), indexed in Pubmed: [14708034](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14708034/).
16. Wang XL, Ye F, Li J, et al. Impaired secretion of glucagon-like peptide 1 during oral glucose tolerance test in patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. *Saudi Med J.* 2016; 37(1): 48–54, doi: [10.15537/smj.2016.1.12035](https://doi.org/10.15537/smj.2016.1.12035), indexed in Pubmed: [26739974](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26739974/).
17. Zalecenia kliniczne dotyczące postępowania u chorych na cukrzycę 2016 Stanowisko Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego. *Diabetologia Kliniczna.* 2016; 5(Supplement A).
18. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, et al. International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention, National Heart, Lung, and Blood Institute, American Heart Association, World Heart Federation, International Atherosclerosis Society, International Association for the Study of Obesity. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation.* 2009; 120(16): 1640–1645, doi: [10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644](https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644), indexed in Pubmed: [19805654](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19805654/).
19. Tschritter O, Fritsche A, Shirkavand F, et al. Assessing the Shape of the Glucose Curve During an Oral Glucose Tolerance Test. *Diabetes Care.* 2003; 26(4): 1026–1033, doi: [10.2337/diacare.26.4.1026](https://doi.org/10.2337/diacare.26.4.1026), indexed in Pubmed: [12663568](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12663568/).
20. Abdul-Ghani MA, Matsuda M, Jani R, et al. The relationship between fasting hyperglycemia and insulin secretion in subjects with normal or impaired glucose tolerance. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008; 295(2): E401–E406, doi: [10.1152/ajpendo.00674.2007](https://doi.org/10.1152/ajpendo.00674.2007), indexed in Pubmed: [18492770](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18492770/).
21. Abdul-Ghani MA, DeFronzo RA. Plasma Glucose Concentration and Prediction of Future Risk of Type 2 Diabetes. *Diabetes Care.* 2009; 32(suppl_2): S194–S198, doi: [10.2337/dc09-s309](https://doi.org/10.2337/dc09-s309), indexed in Pubmed: [19875551](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19875551/).
22. Abdul-Ghani MA, Williams K, DeFronzo R, et al. Risk of progression to type 2 diabetes based on relationship between postload plasma glucose and fasting plasma glucose. *Diabetes Care.* 2006; 29(7): 1613–1618, doi: [10.2337/dc05-1711](https://doi.org/10.2337/dc05-1711), indexed in Pubmed: [16801587](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16801587/).
23. Pontikis C, Yavropoulou MP, Toulis KA, et al. The incretin effect and secretion in obese and lean women with polycystic ovary syndrome: a pilot study. *J Womens Health (Larchmt).* 2011; 20(6): 971–976, doi: [10.1089/jwh.2010.2272](https://doi.org/10.1089/jwh.2010.2272), indexed in Pubmed: [21671782](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21671782/).
24. Mannucci E, Ognibene A, Cremasco F, et al. Glucagon-like peptide (GLP)-1 and leptin concentrations in obese patients with Type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med.* 2000; 17(10): 713–9, indexed in Pubmed: [11110504](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11110504/).
25. de Luis DA, Aller R, Conde R, et al. Basal glucagonlike peptide 1 levels and metabolic syndrome in obese patients. *J Investig Med.* 2012; 60(6): 874–877, doi: [10.2310/JIM.0b013e3182544f9e](https://doi.org/10.2310/JIM.0b013e3182544f9e), indexed in Pubmed: [22534628](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22534628/).
26. Yamaoka-Tojo M, Tojo T, Takahira N, et al. Elevated circulating levels of an incretin hormone, glucagon-like peptide-1, are associated with metabolic components in high-risk patients with cardiovascular disease. *Cardiovasc Diabetol.* 2010; 9: 17, doi: [10.1186/1475-2840-9-17](https://doi.org/10.1186/1475-2840-9-17), indexed in Pubmed: [20470376](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20470376/).
27. Placzkowska S, Kokot I, Pawlik-Sobecka L, et al. Indices of insulin resistance in Wrocław university students — Preliminary report. *Family Medicine and Primary Care Review.* 2013; 15(3): 370–1.
28. Szostak-Wegierek D, Waskiewicz A. Metabolic disorders in women at procreative age living in Warsaw. *Rocz Panstw Zakł Hig.* 2015; 66(3): 245–51, indexed in Pubmed: [26400121](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26400121/).
29. Manco M, Panunzi S, Macfarlane DP, et al. One-Hour Plasma Glucose Identifies Insulin Resistance and Beta-Cell Dysfunction in Individuals With Normal Glucose Tolerance: Cross-sectional data from the Relationship between Insulin Sensitivity and Cardiovascular Risk (RISC) study. *Diabetes Care.* 2010; 33(9): 2090–2097, doi: [10.2337/dc09-2261](https://doi.org/10.2337/dc09-2261), indexed in Pubmed: [20805281](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20805281/).