

ČO SIGNALIZUJE VZŤAH DIGOXÍNU PODOBNEJ IMUNOAKTIVITY K HLADINÁM INZULÍNU V SÉRE TEHOTNÝCH ŽIEN?

¹MARTINKA E., ²MATÚŠEK J., ³OČENÁŠOVÁ A., ⁴SCHUDICHOVÁ J., ⁵STRAKOVÁ J., ¹GALAJDA P., ¹PLANKOVÁ E.,
¹BALÁŽ D., ⁶LICHARDUS B., ¹MOKÁŇ M.

RELATION OF DIGOXIN-LIKE IMMUNOACTIVITY TO INSULIN LEVELS IN PREGNANT WOMEN

Background: Digoxin-like immunoactivity (DLIA) reflects the presence of endogenous substances which are close to cardiac glycosides. These substances via inhibition of $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ increase intracellular calcium stores (Ca^{2+}) and may modulate various Ca^{2+} -dependent mechanisms. Although DLIA are known primarily as hypertension and natriuresis promoting factors, several recent works have suggested that DLIA relates also to diabetes mellitus. The main stimulus for DLIA secretion represents volume-expansion.

Aim of study: To assess relation of DLIA to glucose tolerance and insulin levels in pregnant women (PW).

Subjects and methods: 1) 67 PW (DLIA measured by RIA-kit HUMA-LAB Košice), 2) 53 PW (DLIA measured by RIA-kit ORION). PW were subdivided according to the glucose tolerance and insulin concentrations.

Results: 1. DLIA in hyperinsulinemic PW were significantly higher than in those with normal insulin levels. 2. DLIA significantly correlated with insulin levels as well as with insulinogenic index. 3. The increase in plasma glucose and insulinemia during OGTT was accompanied by a decrease in DLIA. These findings were independent of other measured parameters (age, body mass index, pregnancy induced weight gain, blood pressure and steroid hormones).

Conclusions: These findings suggest that DLIA does not respond only to changes regarding sodium-retention and volume-expansion, but also to changes in glucose and insulin metabolism. Thus, DLIA could represent one of the markers of „specific“ neurohumoral activation. However, the question of whether an elevation in DLIA may consequently modulate mechanisms of insulin secretion, insulin sensitivity, vascular

Pozadie problému: Digoxínu podobná imunoaktivita (DLIA) odráža prítomnosť substancií príbuzných srdcovým glykozidom, ktoré inhibičným účinkom na aktivitu $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPázy}$ vedú k vzostupu intracelulárnych zásob kalcia (Ca^{2+}), a tak môžu ovplyvňovať rôzne Ca^{2+} -závislé mechanizmy. Hoci DLIA sú známe predovšetkým ako látky podporujúce hypertenziu a diurézu, v posledných rokoch pribúdajú práce poukazujúce na vzťah DLIA aj k diabetes mellitus. Najznámejší stimul pre zvýšené uvoľňovanie DLIA predstavuje objemová expanzia.

Cieľ štúdie: Posúdiť vzťah DLIA k tolerancii glukózy a hladinám inzulínu u tehotných žien (TŽ).

Súbory a metódy: 1. skupina: 67 TŽ (DLIA merané RIA-súpravou HUMA-LAB Košice), 2. skupina: 53 TŽ (DLIA merané RIA-súpravou ORION, Fínsko). TŽ boli rozdelené do podskupín podľa tolerancie glukózy a hladín inzulínémie.

Výsledky: 1. Hladiny DLIA u hyperinzulinemických TŽ boli v porovnaní s normoinzulinemickými TŽ významne vyššie. 2. Koncentrácie DLIA významne korelovali s hladinami inzulínu, ako aj s inzulínogénnym indexom. 3. Vzostup glykémie a inzulínémie počas OGTT bol sprevádzaný poklesom DLIA. Výsledky boli nezávislé od ostatných meraných parametrov (vek, body mass index, prírastok hmotnosti počas gravidity, krvný tlak, steroidné hormóny).

Záver: Výsledky poukazujú, že substancie s DLIA reagujú nielen na zmeny súvisiace s retenciou sodíka a objemom telesných tekutín, ale aj na zmeny v metabolizme glukózy a inzulínu, a tak by mohli predstavovať marker „špecifickej“ neurohumorálnej aktivácie. Otázky, nakoľko môže vlastný vzostup DLIA následne modulovať mechanizmy sekrécie inzulínu, citlivosť tkanív na inzulín, kontraktilitu ciev a ďalšie Ca^{2+} -dependentné mechanizmy, zostávajú zatiaľ hypotetické. (Tab. 4, obr. 4, lit. 41.)

Kľúčové slová: digoxínu podobná imunoaktivita, inzulín, gestačný diabetes, kalcium, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPáza}$.

¹I. interná klinika, ²Gynekologicko-pôrodná klinika, ³Endokrinologické laboratórium, ⁴Oddelenie klinickej biochémie, ⁵Oddelenie lekárskej imunológie a alergológie Martinskej fakultnej nemocnice v Martine, a ⁶Ústav experimentálnej endokrinológie Slovenskej akadémie vied v Bratislave
¹The 1st Internal Clinic, ²The Gynaecologic-Newborn Clinic, ³The Endocrinological Laboratory, ⁴The Department of Clinical Biochemistry, ⁵The Department of Clinical Immunology and Allergology, Martin Faculty Hospital, Martin, and ⁶The Institute of Experimental Endocrinology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava

Address for correspondence: E. Martinka, MD, PhD, I. interná klinika JLF UK, Kollárova 2, 036 59 Martin, Slovakia.
Phone: +421.842.203 820, Fax: +421.842. 353 86

Prítomnosť substancií skrížene reagujúcich s antidigoxínovými a antiouabainovými protilátkami v sére a iných telesných tekutinách nedigitalizovaných jedincov je známa už niekoľko rokov (Schreiber a spol., 1980). Poukazuje sa aj na potenciálnu úlohu týchto substancií v patogenéze niektorých ochorení (Blaustein,

reactivity and other Ca^{2+} -dependent mechanisms remains speculative. (Tab. 4, Fig. 4, Ref. 41).

Key words: digoxin-like immunoactivity, insulin, gestational diabetes, calcium, Na^+ - K^+ -ATPase.

Bratisl Lek Listy 1997; 98: 544–554

1993; Kohn a spol., 1992; Lazúrová a spol., 1996). Hoci presná chemická povaha substancií s digoxínu, resp. ouabáinu podobnou imunoaktivitou (DLIA) nie je dosiaľ celkom jasná, nedávne zistenia poukazujú, že najpravdepodobnejšie ide o látky príbuzné srdcovým glykozidom produkované kôrou nadobličky (Hamlyn a spol., 1991; Goto a spol., 1993).

Podľa súčasných názorov substancie s DLIA predstavujú špecifické inhibitory Na^+ - K^+ -ATPázy. Následná redukcia transmembránového gradientu sodíka vedie k inhibícii Na^+ / Ca^{2+} výmeny a k akumulácii Ca^{2+} v intracelulárnych zásobárňach. Substancie s DLIA by tak mohli „modulovať“ rôzne Ca^{2+} -závislé mechanizmy, ako aj bunkovú odpoveď na rôzne stimuly (Blaustein, 1993). Najznámejší podnet pre zvýšené uvoľňovanie DLIA predstavuje zmnoženie tekutín v extracelulárnom priestore (DeWardener a spol., 1961; Lichardus a spol., 1986; Kramer a spol., 1989; Blaustein, 1993).

Hoci substancie s DLIA sú známe predovšetkým ako pôsobky podporujúce kontrakciu ciev a nátriurézu, v posledných rokoch pribúda prác dokumentujúcich vzťah DLIA aj k iným ochoreniam vrátane diabetes mellitus (Giampetro a spol., 1988; Andronico a spol., 1992; Martinka a spol., 1993, 1997; Takahashi a spol., 1993; Wasada a spol., 1995; Graves a spol., 1995).

V našich predošlých prácach sme poukázali na vzťah DLIA ku gestačnému diabetes mellitus (GDM), keď vyššie hladiny DLIA korelovali s väčšou sekréciou inzulínu počas OGTT (Martinka a spol., 1993). Keďže graviditu sprevádza celé spektrum hormonálnych zmien (Vedra, 1987), vznikla otázka, či uvedené vzťahy nie sú ich sekundárnym dôsledkom. Viaceré z hormónov indukovaných graviditou (kortizol, progesterón, estradiol, hPL a pod.) môžu totiž jednak ovplyvňovať citlivosť tkanív na inzulín a sekréciu inzulínu u tehotných žien (Costrini a spol., 1971; Vedra, 1987; Ryan a spol., 1988; Kuhl, 1991) jednak skrížene reagovať s anti-digoxínovými protilátkami niektorých súprav, a tak ovplyvňovať výsledky merania DLIA (Schreiber a spol., 1981; Vasdev a spol., 1985; Longerich a spol., 1988).

Ako ukázali aj naše zistenia, hladiny DLIA merané súpravou HUMA-LAB Košice (ktorú sme používali v predošlých štúdiách) korelovali s hladinami progesterónu. Keďže v prípade súpravy ORION sme v sérach tehotných žien nezaznamenali korelácie DLIA so žiadnym z testovaných steroidných hormónov (kortizol, progesterón, estradiol, aldosterón), overili sme zistenia predošlých štúdií aj touto súpravou a výsledky sme navzájom porovnali.

Súbor a metódy

V štúdií bolo zahrnutých 120 tehotných žien (TŽ) s rôznou toleranciou glukózy. U 67 TŽ sme koncentrácie DLIA vyšetrovali súpravou HUMA-LAB (skupina HUMA LAB), u 53 TŽ súpravou ORION (skupina ORION). Skupinu HUMA LAB tvorilo 20 žien s normálnou toleranciou glukózy a normálnou inzulíniou (NGT-NI), 10 žien s normálnou toleranciou glukózy s hyperinzu-

linémiou (NGT-HI), 21 žien s poruchou tolerancie glukózy alebo gestačným diabetes mellitus s normálnou inzulíniou (GDM-NI) a 16 žien s gestačným diabetes mellitus s hyperinzulíniou (GDM-HI). Skupinu ORION tvorilo 15 žien s NGT-NI, 16 žien s NGT-HI, 10 žien s GDM-NI a 12 žien s GDM-HI. Tolerancia glukózy sa klasifikovala podľa kritérií WHO (1985). Ako hyperinulinémia sa klasifikovali hladiny IRI nalačno $>20 \mu\text{U/ml}$, resp. $>90 \mu\text{U/ml}$ po záťaži 75 g OGTT (Bartoš a Pelikánová, 1996). Ani jedna zo žien nemala žiadne chronické ochorenie a okrem vitamínov neužívali žiadnu medikamentóznú liečbu. Časť žien — 4 v skupine HUMA LAB a 3 v skupine ORION mala v deň testu prechodne hraničné hodnoty krvného tlaku (140/90 mmHg).

Merali sa nasledovné parametre: vek, body mass index (BMI), prírastok hmotnosti (rozdiel hmotnosti v deň testu a hmotnosti pred graviditou), digoxínu podobná imunoaktivita (DLIA), glykémia (PG), imunoreaktívny inzulín (IRI), inzulínogénny index (IRI/PG), kortizol, progesterón, aldosterón, dehydroepiandrosterón a krvný tlak. Koncentrácie DLIA sa merali radioimunoanalyticky (RIA) vo venóznej krvi s použitím buď súpravy (HUMA-LAB Košice — skupina HUMA LAB) alebo Orion Diagnostica, Finland — skupina ORION).

PG sa merala v kapilárnej krvi glukóza-oxidázovou metódou s elektrochemickou detekciou (Monarch 2000). Sérové hladiny IRI sa merali RIA vo venóznej krvi (v skupine HUMA-LAB súpravou RIA-SAX-Insulin 100 Laboratorium Saxoniae GmbH Nemecsko, v skupine ORION súpravou Diagnostic Products Corporation, USA). Kortizol (v skupine HUMA-LAB súpravou ÚVVR Československo, v skupine ORION súpravou Immunotech, Česká republika), aldosterón (v skupine HUMA-LAB súpravou ÚVVR Československo, v skupine ORION súpravou Immunotech Česká republika), progesterón (v skupine HUMA-LAB súpravou RIA-test-PROG HUMA-LAB Košice, v skupine ORION súpravou Immunotech, Francúzsko), estradiol (len v skupine ORION, súpravou Immunotech Francúzsko), dehydroepiandrosterón (len v skupine HUMA-LAB, súpravou Immunotech, Francúzsko) sa merali vo venóznej krvi. PG, IRI a DLIA sa merali v troch časových intervaloch: nalačno, na konci prvej a na konci druhej hodiny počas OGTT (odrážajú predovšetkým dynamiku v uvedených parametroch). Okrem toho uvádzame aj úhrnné koncentrácie „area under curve = plocha pod krivkou (AUC)“ ktoré odrážajú celkovú kvantitatívnu reakciu príslušného parametra na záťaž glukózou. AUC sme počítali ako obsah päťuholníka z hodnôt nalačno, na konci prvej, na konci druhej hodiny a časového úseku — 2 hodiny. Systolický (SBP) a diastolický (DBP) krvný tlak sa meral v polohe posediačky ortuťovým sfgymomanometrom. Hodnoty krvného tlaku sa klasifikovali podľa odporučení JNC V a WHO 1993 (JNC V, 1993). Od všetkých TŽ sa po predchádzajúcej informácii získal súhlas a štúdiu schválila lokálna etická komisia. *Štatistická analýza.* Hodnoty sú uvedené ako priemer/medián/SD. Po predchádzajúcom testovaní rozloženia (Kolmogorov—Smirnov test) sa na porovnanie rozdielov medzi skupinami použili nasledovné neparametrické testy. Medzi dvoma skupinami sa použil Mannov—Whitneyov test, medzi tromi a viac skupinami sa použil Kruskallov-Vallisov test. Korelácie medzi jednotlivými parametrami sa posudzovali výpočtom Spearmanovho korelačného koeficientu. Na posúdenie dynamiky v parametroch počas OGTT sa použil Wilcoxonov párový test. Výpočty sa realizovali na PC — software PC.CSS.

Tab. 1. Hodnotené parametre v skupine HUMA LAB.
Tab. 1. Values of assessed parameters in group HUMA-LAB.

x±SD	HV	NGT-NI	NGT-HI	GDM-NI	GDM-HI	SS
\bar{x}	n=16	n=20	n=10	n=21	n=16	
age(years)	27.1 ± 4.3 27.5	26.7 ± 4.9 27.5	24.1 ± 3.8 23.5	27.9 ± 5.0 28.0	29.2 ± 6.7 28.0	
BMI(kg/m ²)	22.8 ± 2.4 23.5	27.5 ± 3.5 27.3	25.7 ± 3.6 24.7	25.4 ± 4.3 24.8	28.0 ± 5.6 28.7	
+ kg	–	8.5 ± 3.0 9.0	7.2 ± 1.9 8.0	8.2 ± 3.6 8.0	8.8 ± 3.5 9.0	
PG (mmol/l)	0 4.41± 0.44 4.45	4.19± 0.44 4.10	4.27± 0.48 4.25	4.73± 0.55 4.60	4.52± 0.57 ^b 4.5	
	1 5.71± 1.71 5.35	7.88± 1.19 7.70	7.91± 1.73 8.35	9.24± 1.48 9.45	10.61± 1.37 ^{bcef} 10.5	
	2 4.98± 0.89 4.75	5.78± 1.05 5.70	6.58± 0.87 6.80	7.63± 1.50 8.05	7.86± 2.23 ^{abcd} 7.40	
AUC (mmol/l.2h)	–	12.86± 1.55 12.52	13.34± 2.05 14.02	15.41± 1.79 15.05	16.80± 2.20 ^{bcd} 16.35	
IRI (μU/ml)	0 4.76± 2.07 4.77	9.09± 3.48 8.88	14.76± 7.11 13.31	9.73± 3.81 9.22	11.78± 5.25 ^a 12.30	
	1 33.88±21.44 26.75	62.91±17.20 64.96	131.97±41.14 111.36	56.85±21.16 64.18	121.85±48.46 ^{acdf} 122.90	
	2 19.49±10.48 17.66	38.98±21.00 35.07	84.88±52.20 82.57	48.42±20.61 50.45	115.92±44.58 ^{acf} 110.00	
AUC (μU/ml.2h)	–	86.94±25.17 85.93	181.79±63.65 161.22	85.92±25.86 96.10	185.70±51.22 ^{acdf} 181.55	
IRI/PG	0 –	2.18±0.85 2.21	3.41± 1.50 3.20	2.06± 0.74 1.93	2.57± 1.05 ^{ad} 2.79	
	1 –	8.21± 2.88 8.53	17.12± 4.86 16.82	6.3 ± 2.47 7.26	11.53± 4.88 ^{abcdf} 11.21	
	2 –	6.56± 3.25 6.26	12.72± 7.44 12.86	6.53± 2.72 6.38	14.58± 3.04 ^{acdf} 14.76	
AUC/AUC	–	6.80± 1.98 6.66	13.62± 4.04 12.60	5.70± 1.87 6.64	11.13± 3.15 ^{acdef} 10.69	
DLIA (nmol/l)	0 0.25± 0.14 0.20	0.42± 0.29 0.46	0.59± 0.23 0.58	0.44± 0.21 0.45	0.67± 0.17 ^{ef} 0.67	
	1 –	0.24± 0.26 0.16	0.47± 0.19 0.43	0.26± 0.18 0.31	0.35± 0.19 ^{ad} 0.34	
	2 –	0.19± 0.17 0.17	0.48± 0.28 0.45	0.24± 0.18 0.24	0.35± 0.23 ^{acd} 0.37	
AUC (nmol/l.2h)	–	0.55± 0.42 0.45	1.00± 0.38 0.99	0.60± 0.33 0.67	0.86± 0.30 ^{acdf} 0.95	
SBP (mmHg)	117 ± 11 115	119 ± 13 120	124 ± 14 123	115 ± 11 115	120 + 11 115	
DBP (mmHg)	79 ± 8 80	73 ± 7 73	81 ± 7 83	74 ± 9 75	78 ± 8 ^a 75	

Poznámky: HV = zdravé dobrovoľníčky, NGT-NI = normálna tolerancia glukózy s normoinzulinémiou, NGT-HI = normálna tolerancia glukózy s hyperinzulinémiou, GDM-NI = porucha tolerancie glukózy alebo gestačný diabetes mellitus s normoinzulinémiou, GDM-HI = porucha tolerancie glukózy alebo gestačný diabetes mellitus s hyperinzulinémiou, age (vek), BMI = body mass index, (+kg) = váhový prírastok, PG = glykémia, IRI = imunoreaktívny inzulín, AUC=úhrnná koncentrácia v priebehu 2 hodín OGTT, DLIA = digoxínu podobná imunoaktivita, SBP = systolický krvný tlak, DBP = diastolický krvný tlak, 0 = nalačno, 1 = prvá hodina OGTT, 2= druhá hodina OGTT. SS = štatistická významnosť aspoň p<0.05, a = NGT-NI vs. NGT-HI, b = NGT-NI vs. GDM-NI, c = NGT-NI vs. GDM-HI, d = NGT-HI vs. GDM-NI, e = NGT-HI vs. GDM-HI, f = GDM-NI vs. GDM-HI, n.s. = štatisticky nevýznamné.

Notes: HV = healthy volunteers, NGT-NI = normal glucose tolerance with normal insulin levels, NGT-HI = normal glucose tolerance with hyperinsulinemia, GDM-NI = impaired glucose tolerance or gestational diabetes mellitus with normal insulin levels, GDM-HI = impaired glucose tolerance or gestational diabetes mellitus with normal insulin levels, BMI = body mass index, (+kg) = weight gain, PG = plasma glucose, IRI = immunoreactive insulin, AUC = integrated concentrations during 2 hours OGTT. DLIA = digoxin-like immunoactivity, SBP = systolic blood pressure, DBP = diastolic blood pressure. 0 = fasting, 1 = at 1st hour of OGTT, 2 = at 2nd hour of OGTT, SS = statistical significance at least of p<0.05, a = NGT-NI vs. NGT-HI, b = NGT-NI vs. GDM-NI, c = NGT-NI vs. GDM-HI, d = NGT-HI vs. GDM-NI, e = NGT-HI vs. GDM-HI, f = GDM-NI vs. GDM-HI, n.s. = not significant.

Tab. 2. Hodnoty posudzovaných parametrov v skupine ORION.
Tab. 2. Values of assessed parameters in group ORION.

x±SD x	HV n=20	NGT-NI n=15	NGT-HI n=16	GDM-NI n=10	GDM-HI n=12	SS
age(years)	29.2 ± 5.2 29.0	26.3 ± 3.2 27.0	27.1 ± 4.1 27.0	30.7 ± 7.4 31.5	27.8 ± 3.7 27.5	
BMI(kg/m ²)	23.7 ± 2.7 24.0	25.07± 3.4 24.4	27.10± 4.26 26.9	24.39± 4.39 23.22	27.94± 4.92 25.85	
+ kg	–	10.3 ± 2.6 10.0	9.6 ± 3.7 10.0	10.0 ± 4.2 8.0	8.4 ± 3.5 9.0	
PG (mmol/l)	0 4.88± 0.23 4.9	4.51± 0.35 4.60	4.64± 0.28 4.7	5.36± 0.56 5.30	5.08± 0.92 ^{bd} 9.85	
	1 5.58± 1.43 5.3	7.43± 1.16 7.50	8.50± 1.17 8.60	7.95± 2.16 8.00	10.23± 1.83 ^{acef} 9.85	
	2 4.48± 0.56 4.55	5.54± 1.19 5.70	5.90± 1.18 6.30	5.77± 51.67 5.60	7.73± 2.03 ^{cef} 8.00	
AUC (mmol/l.2h)	– 12.45± 1.22	13.76± 1.49 12.50	13.52± 2.57 13.50	16.64± 2.36 ^{acef} 13.48	16.42	
IRI (μU/ml)	0 9.56± 3.48 9.2	11.50± 6.27 8.90	13.38± 5.63 11.75	10.17± 5.02 10.63	18.00± 10.88 ^f 15.18	
	1 52.04± 31.60 49.3	65.54± 23.73 62.60	137.68± 55.71 125.76	55.92± 18.45 61.83	140.21± 44.39 ^{acdf} 141.40	
	2 30.16± 20.39 24.0	42.90± 22.16 37.70	63.77± 32.17 63.40	32.82± 19.05 26.52	128.25± 42.82 ^{cdef} 122.55	
AUC (μU/ml.2h)	–	92.74± 32.42 82.25	76.26± 62.16 64.72	77.42± 22.66 81.14	212.34± 57.62 ^{acdf} 206.68	
IRI/PG	0 –	2.56± 1.39 1.94	2.87± 1.15 2.53	1.91± 0.95 2.06	3.62± 2.41 ^{df} 3.09	
	1 –	8.92± 3.26 9.02	16.66± 7.38 15.14	7.84± 4.01 8.21	14.35± 6.00 ^{acdf} 13.01	
	2 –	7.84± 4.26 6.32	10.48± 4.20 11.54	5.50± 2.50 5.30	18.56± 10.51 ^{cdef} 14.28	
AUC/AUC	–	7.50± 2.67 7.35	12.94± 4.70 11.7	5.97± 2.08 6.59	13.35± 5.17 12.47	
DLIA (nmol/l)	0 0.08± 0.07 0.08	0.10± 0.12 0.07	0.14± 0.11 0.13	0.08± 0.06 0.08	0.15± 0.15 0.11	
	1 –	0.09± 0.08 0.05	0.13± 0.12 0.08	0.05± 0.06 0.03	0.18± 0.18 ^{df} 0.11	
	2 –	0.07± 0.07 0.05	0.12± 0.13 0.10	0.10± 0.07 0.10	0.17± 0.13 ^c 0.17	
AUC (nmol/l.2h)	–	0.17± 0.11 0.14	0.26± 0.22 0.17	0.14± 0.09 0.13	0.34± 0.22 ^{cf} 0.30	
SBP (mmHg)	122 ± 5 120	125 ± 10 120	121 ± 14 125	112 ± 5 110	120 ± 6 ^{bf} 120	
DBP (mmHg)	79 ± 5 80	77 ± 8 80	74 ± 10 80	71 ± 7 70	75 ± 7 80	

Poznámky: HV = zdravé dobrovoľníčky, NGT-NI = normálna tolerancia glukózy s normoinzulinémiou, NGT-HI = normálna tolerancia glukózy s hyperinzulinémiou, GDM-NI = porucha tolerancie glukózy alebo gestačný diabetes mellitus s normoinzulinémiou, GDM-HI = porucha tolerancie glukózy alebo gestačný diabetes mellitus s hyperinzulinémiou, age (vek), BMI = body mass index, (+kg) = váhový prírastok, PG = glykémia, IRI = imunoreaktívny inzulín, AUC = úhrnná koncentrácia v priebehu 2 hodín OGTT, DLIA = digoxínu podobná imunoaktivita, SBP = systolický krvný tlak, DBP = diastolický krvný tlak, 0 = nalačno, 1 = prvá hodina OGTT, 2 = druhá hodina OGTT. SS = štatistická významnosť aspoň p<0.05, a = NGT-NI vs. NGT-HI, b = NGT-NI vs. GDM-NI, c = NGT-NI vs. GDM-HI, d = NGT-HI vs. GDM-NI, e = NGT-HI vs. GDM-HI, f = GDM-NI vs. GDM-HI, n.s. = štatisticky nevýznamné.

Notes: HV = healthy volunteers, NGT-NI = normal glucose tolerance with normal insulin levels, NGT-HI = normal glucose tolerance with hyperinsulinemia, GDM-NI = impaired glucose tolerance or gestational diabetes mellitus with normal insulin levels, GDM-HI = impaired glucose tolerance or gestational diabetes mellitus with normal insulin levels, BMI = body mass index, (+kg) = weight gain, PG = plasma glucose, IRI = immunoreactive insulin, AUC = integrated concentration during 2 hours OGTT. DLIA = digoxin-like immunoactivity, SBP = systolic blood pressure, DBP = diastolic blood pressure. 0 = fasting, 1 = at 1st hour of OGTT, 2 = at 2nd hour of OGTT, SS = statistical significance at least of p<0.05, a = NGT-NI vs. NGT-HI, b = NGT-NI vs. GDM-NI, c = NGT-NI vs. GDM-HI, d = NGT-HI vs. GDM-NI, e = NGT-HI vs. GDM-HI, f = GDM-NI vs. GDM-HI, n.s. = not significant.

Výsledky

1. *Skupina HUMA LAB* (tab. 1). Jednotlivé podskupiny TŽ: NGT-NI, NGT-HI, GDM-NI a GDM-HI sa navzájom nelíšili vo veku BMI ani hmotnostnom prírastku (+kg). Koncentrácie DLIA nalačno (DLIA₀) u GDM-HI boli signifikantne vyššie (>) v porovnaní s NGT-NI a GDM-NI (p<0,01). Koncentrácie DLIA na konci prvej hodiny (DLIA₁) u NGT-HI boli > (p<0,05) oproti NGT-NI a GDM-NI. Koncentrácie DLIA na konci druhej hodiny (DLIA₂) u NGT-HI boli > (p<0,05) oproti NGT-NI, GDM-NI a GDM-HI. Úhrnné koncentrácie DLIA za dve hodiny OGTT (DLIA_{AUC}) u NGT-HI boli > (p<0,01) oproti u NGT-NI, u GDM-HI > (p<0,05) oproti NGT-NI a u GDM-HI > (p<0,05) oproti NGT-HI a GDM-NI. DLIA₁ boli oproti DLIA₀ signifikantne nižšie (p<0,001). V porovnaní s bežnou zdravou populáciou (HV) boli koncentrácie DLIA u TŽ (NGT-HI, GDM-NI a GDM-HI) signifikantne vyššie (p<0,01) (tab. 2). Koncentrácie DLIA u NGT-NI sa od HV štatisticky významne nelíšili.

V rámci celej skupiny TŽ koncentrácie DLIA₀ signifikantne korelovali s: PG₁, PG_{AUC}, IRI₁, IRI₂, IRI_{AUC}, IRI/PG₁, IRI/PG₂ a IRI/PG_{AUC}. DLIA₀ okrem toho významne korelovali s hladinami progesterónu (tab. 3). DLIA₀ nekorelovali s vekom, BMI, (+kg), SBP, DBP ani s ostatnými steroidnými hormónmi (aldosterón, kortizol, DHEA). Koncentrácie DLIA_{1,2,AUC} korelovali s IRI₀, IRI₁, IRI₂, IRI_{AUC}, IRI₀/PG₀, IRI₁/PG₁, IRI₂/PG₂, ako aj IRI_{AUC}/PG_{AUC}. Najvýznamnejšie korelácie vo všetkých prípadoch boli s IRI_{AUC}. DLIA_{1,2,AUC} nekorelovali s vekom, BMI, (+kg), SBP ani DBP (tab. 4).

Rozdiely v hladinách IRI_{0,1,2,AUC} a IRI/PG_{0,1,2,AUC} sú uvedené v tabuľke 1. Vo všeobecnosti možno konštatovať, že ženy s GDM charakterizovala jednak oneskorená sekrécia inzulínu, jednak nižší inzulínogénny index (IRI/PG). Koncentrácie IRI_{0,1,2,AUC} (okrem korelácie IRI₂ a kortizolu) nekorelovali s vekom, BMI, (+kg), SBP, DBP ani so žiadnym z ostatných meraných steroidných hormónov (tab. 3). Korelácie IRI a PG boli štatisticky významné, v práci ich však neuvádzame.

Tab. 3. Hladiny steroidných hormónov a ich korelácie s hladinami DLIA a IRI.
Tab. 3. The levels of steroid hormones and their correlations with DLIA and IRI.

HUMA LAB (n=22)	x / \bar{x} / SD	korelácie (correlations)					
		DLIA ₀	IRI ₀	IRI ₁	IRI ₂	IRI _{AUC}	+kg
Kortizol*	859.1/ 860.1/ 387.2	r= n.s.	n.n	n.s.	0.50	n.s.	n.s.
Cortisol	(nmol/l)	p<			0.05		
Progesterón*	97.7/ 101.8/ 19.1	r= 0.70	n.s	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Progesterone	(ng/ml)	p< 0.001					
Aldosterón*	506.1/ 401.6/ 344.25	r= n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Aldosterone	(pg/ml)	p<					
DHEA*	3.35/ 2.94/ 1.68	r= n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
DHEA	(ng/ml)	p<					
SBP (mmHg)	119/ 120/ 12	r= n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
		p<					
DBP (mmHg)	76/ 80/ 9	r= n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
		p<					
ORION (n=19)	x / \bar{x} / SD	korelácie (correlations)					
		DLIA ₀	IRI ₀	IRI ₁	IRI ₂	IRI _{AUC}	+kg
Kortizol*	579.9/ 559.2/ 185.3	r= n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Cortisol	(nmol/l)	p<					
Progesterón*	94.8/ 95.4/ 18.7	r= n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Progesterone	(ng/ml)	p<					
Estradiol*	3730.1/3521.0/ 1611.1	r= n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Estradiol	(pg/ml)	p<					
Aldosterón*	409.1/ 391.4/ 158.1	r= n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Aldosterone	(pg/ml)	p<					
SBP (mmHg)	119/ 120/ 10	r= n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
		p<					
DBP (mmHg)	74/ 80/ 8	r= n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
		p<					

Poznámky: DLIA = digoxínu podobná imunoaktivita, IRI = imunoreaktívny inzulín, +kg = váhový prírastok počas gravidity, DHEA = dehydroepiandrosterón, SBP= systolický krvný tlak, DBP = diastolický krvný tlak, 0 = nalačno, 1 = prvá hodina OGTT, 2 = druhá hodina OGTT, AUC = úhrnná koncentrácia v priebehu 2 hodín OGTT, r = Spearmanov korelačný koeficient, p = štatistická významnosť, n.s. = štatisticky nevýznamné.

*použité RIA-súpravy vid' text

Notes: DLIA = digoxin-like immunoactivity, IRI = immunoreactive insulin, +kg = weight gain during pregnancy, DHEA = dehydroepiandrosteron, SBP= systolic blood pressure, DBP= diastolic blood pressure, 0 = fasting, 1 = at 1st hour of OGTT, 2 = at 2nd hour of OGTT, AUC = integrated concentration during 2 hours OGTT, r = Spearman correlation coefficient, p = statistical significance, n.s. = not significant.

*for used RIA-kits see text

Tab. 4. Korelácie DLIA s ostatnými meranými parametrami.
Tab. 4. Correlations of DLIA with other measured parameters.

Súbor	HUMA-LAB (n=67)				ORION (n=53)			
	DLIA ₀	DLIA ₁	DLIA ₂	DLIA _{AUC}	DLIA ₀	DLIA ₁	DLIA ₂	DLIA _{AUC}
age								
r=	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
p<								
BMI								
r=	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
p<								
+kg								
r=	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
p<								
PG ₀								
r=	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
p<								
PG ₁								
r=	0.28	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
p<	0.05							
PG ₂								
r=	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
p<								
PG _{AUC}								
r=	0.26	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
p<	0.05							
IRI ₀								
r=	n.s.	0.28	0.24	0.28	n.s.	0.30	0.29	n.s.
p<		0.05	0.05	0.05		0.05	0.05	
IRI ₁								
r=	0.41	0.35	0.35	0.44	n.s.	n.s.	0.40	0.40
p<	0.001	0.01	0.01	0.001			0.01	0.01
IRI ₂								
r=	0.51	0.43	0.34	0.50	n.s.	0.36	0.41	0.42
p<	0.001	0.001	0.01	0.001		0.01	0.01	0.01
IRI _{AUC}								
r=	0.51	0.45	0.41	0.54	n.s.	0.34	0.43	0.43
p<	0.001	0.001	0.001	0.001		0.05	0.001	0.001
IRI ₀ /PG								
r=	n.s.	0.28	0.25	0.30	n.s.	n.s.	0.30	n.s.
p<		0.05	0.05	0.05			0.05	
IRI ₁ /PG ₁								
r=	0.29	0.33	0.36	0.39	n.s.	n.s.	0.30	0.31
p<	0.05	0.01	0.01	0.01			0.05	0.05
IRI ₂ /PG ₂								
r=	0.49	0.49	0.31	0.47	n.s.	0.40	0.44	0.43
p<	0.001	0.001	0.05	0.001		0.01	0.001	0.001
IRI _{AUC} /PG _{AUC}								
r=	0.42	0.40	0.39	0.48	n.s.	0.31	0.41	0.41
p<	0.001	0.001	0.01	0.001		0.05	0.01	0.01
SBP								
r=	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
p<								
DBP								
r=	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
p<								

Poznámky: r = Spearmanov korelačný koeficient, p = štatistická významnosť, DLIA = digoxínu podobná imunoaktivita, O = nalačno, 1 = prvá hodina OGTT, 2 = druhá hodina OGTT, BMI = body mass index, (+kg) = váhový prírastok, PG = glykémia, IRI = imunoreaktívny inzulín, PG/IRI = inzulínogénny index, SBP = systolický krvný tlak, DBP = diastolický krvný tlak, n.s. = štatisticky nevýznamné

Notes: r = Spearman correlation coefficient, p = statistical significance, DLIA = digoxin-like immunoactivity, O = fasting, 1 = at 1st hour, 2 = at 2nd hour, BMI = body mass index, (+kg) = weight gain, PG = plasma glucose, IRI = immunoreactive insulin, PG/IRI = insulinogenic index, SBP = systolic blood pressure, DBP = diastolic blood pressure, n.s. = non significant

Hodnoty systolického krvného tlaku (SBP) a diastolického krvného tlaku (DBP) sa medzi podskupinami TŽ vcelku štatisticky nelíšili. Jedinou výnimkou bol signifikantne ($p < 0,05$) vyšší DBP u NGT-HI v porovnaní s NGT-NI. SBP ani DBP nekorelovali ani s koncentraciami DLIA ani s koncentraciami IRI. Hodnoty a štatistické rozdiely medzi ostatnými hodnotenými parametrami sú uvedené v tabuľkách 1, 3 a 4.

2. Skupina ORION (tab. 2). Podskupiny TŽ: NGT-NI, NGT-HI, GDM-NI a GDM-HI sa navzájom nelíšili vo veku, BMI ani (+kg).

Koncentrácie DLIA₀ u NGT-HI a GDM-HI boli v priemere vyššie ako u NGT-NI a GDM-NI, tieto rozdiely však nedosahovali štatistickú významnosť. V priebehu OGTT sa tieto rozdiely zvýraznili. Koncentrácie DLIA₁ u NGT-HI boli $>$ ($p < 0,05$) oproti GDM-NI a u GDH-MI boli $>$ ($p < 0,05$) oproti GDM-HI. DLIA₂ u GDM-HI boli $>$ ($p < 0,05$) oproti NGT-NI. DLIA_{AUC} u GDM-HI boli $>$ ($p < 0,05$) oproti NGT-NI a GDM-NI. DLIA₁ boli oproti DLIA₀ nižšie, tento rozdiel však nedosahoval štatistickú významnosť. V porovnaní s bežnou zdravou populáciou boli koncentrácie DLIA u TŽ v priemere vyššie, tieto rozdiely však nedosahovali štatistickú významnosť.

V rámci celej skupiny TŽ DLIA1 korelovali s IRI₀, IRI2 IRIAUC, IRI2/PG2 IRIAUC/PGAUC. DLIA2 korelovali s IRI₀, IRI1, IRI2, IRIAUC, IRI0/PG0, IRI1/PG1, IRI2/PG2, ako aj s IRIAUC/PGAUC. DLIAAUC signifikantne korelovali s: IRI1, IRI2, IRIAUC, IRI1/PG1, IRI2/PG2 a IRIAUC/PGAUC. Najvýznamnejšie korelácie vo všetkých prípadoch boli s IRIAUC. Koncentrácie DLIA₀ nekorelovali so žiadnym z hodnotených parametrov. DLIA1,2 a AUC nekorelovali s vekom, BMI (+kg), PG, SBP ani DBP (tab. 4). Rozdiely v hladinách IRI₀,1,2 a AUC a IRI/PG₀,1,2 a AUC sú uvedené v tabuľke 2. Vo všeobecnosti možno konštatovať, že ženy s GDM (obdobne ako v prípade skupiny HUMA-LAB) charakterizovala jednak oneskorená sekrecia inzulínu, jednak nižší IRI/PG index. Okrem korelácií s DLIA, koncentrácie IRI nekorelovali so žiadnym z ostatných hodnotených parametrov okrem korelácií s PG, ktoré však v práci neuvádzame. Hodnoty SBP u NGT-HI a GDM-HI boli v porovnaní s GDM-NI signifikantne ($p < 0,01$) vyššie. Iné rozdiely v SBP a DBP sa medzi podskupinami TŽ nenašli. SBP ani DBP nekorelovali ani s koncentraciami DLIA, ani s koncentraciami IRI. Hodnoty a štatistické rozdiely medzi ostatnými hodnotenými parametrami sú uvedené v tabuľkách 2–4.

Diskusia

V súlade s údajmi literatúry (Schreiber a spol., 1980), ako aj našimi predchádzajúcimi prácami (Martinka a spol., 1993, 1997) výsledky štúdie potvrdili, že v sére nedigitalizovaných jedincov sú prítomné substancie, ktoré skrížene reagujú s protilátkami proti digoxínu a predstavujú tzv. digoxínu podobnú imunoaktivitu (DLIA). Hoci presná chemická povaha týchto substancií nie je dosiaľ celkom jasná, všeobecne sa uznáva, že ide o skupinu viacerých látok príbuzných srdcovým glykozidom. Rôzne RIA súpravy pre stanovenie digoxínu zachytávajú jednotlivé zložky tohto spektra v rôznej kvantite (Pudek a spol., 1983; Naomi a spol., 1991; Dasgupta a spol., 1996; Miller a spol., 1996). To zrejme vysvetľuje aj rozdiely v hodnotách DLIA v závislosti od použitej súpravy, čo dokumentovali viacerí autori (Pudek a spol., 1983; Naomi a spol., 1991). Protilátky proti digoxínu však okrem endogénnych

kardioglykozidov môžu v určitom percente skrížene reagovať aj s inými steroidnými látkami, predovšetkým so steroidnými hormónmi a ich prekurzormi. Aj keď táto skrížená reaktivita obvykle nepresahuje 0,0005 %, za určitých špecifických stavov, akým je napríklad gravidita, mohlo by aj takéto malé percento ovplyvniť výsledky merania DLIA. V tejto súvislosti viacerí autori poukázali na možný podiel najmä progesterónu, kortizolu a dehydroepiandrosterónu na nameraných koncentráciách DLIA pri použití niektorých súprav (Schreiber a spol., 1981; Vasdev a spol., 1985; Longereich a spol., 1988;). Obdobne, podľa našich skúseností v prípade merania súpravou HUMA LAB hladiny DLIA korelovali s hladinami progesterónu. V prípade súpravy ORION sme však nezaznamenali korelácie DLIA s hladinami žiadneho z paralelne meraných steroidných hormónov (kortizol, progesterón, estradiol, aldosterón).

Uvedené rozdiely medzi súpravami by mohli vysvetľovať aj priemerne vyššie hladiny DLIA namerané súpravou HUMA LAB v porovnaní so súpravou ORION v našej štúdií. Rovnako možno vysvetliť aj vyššie koncentrácie DLIA u tehotných žien v porovnaní so súborom zdravých netehotných dobrovoľníčok v prípade merania súpravou HUMA-LAB oproti skupine ORION, kde boli tieto rozdiely naznačené, nedosahovali však štatistickú významnosť.

Napriek uvedeným rozdielom v absolútnych hodnotách DLIA však možno konštatovať, že výsledky v prípade oboch súprav zhodne dokumentovali vzťah DLIA k hladinám inzulínu, čo odrážajú nasledovné zistenia.

1. V oboch súboroch (HUMA-LAB aj ORION) boli hladiny DLIA signifikantne vyššie v podskupinách TŽ s hyperinzulinémiou v porovnaní s normoinzulinemickými TŽ. Po záťaži glukózou sa rozdiely v DLIA medzi podskupinami v tomto zmysle ešte zvýraznili, čo zdôrazňuje súvislosť vyšších koncentrácií DLIA s hyperinzulinémiou u TŽ. Komplexne túto súvislosť najlepšie vyjadrujú rozdiely úhrnnej sekrecie DLIA počas OGTT (obr. 1, 2).

2. V oboch súboroch korelovali hladiny DLIA významne s hladinami inzulínu, ako aj inzulínogénnym indexom (IRI/PG) v priebehu OGTT, a to opäť predovšetkým ich úhrnné koncentrácie (DLIAAUC: IRIAUC, DLIAAUC: IRIAUC/PGAUC) (obr. 3, 4).

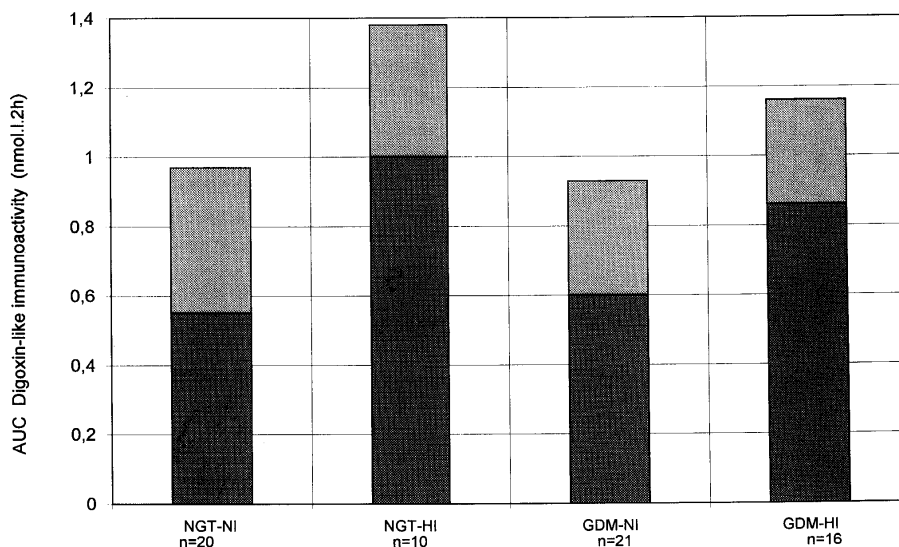
3. Hladiny DLIA reagovali na záťaž glukózou, keď vzostup glykémie a inzulínémie počas OGTT sprevádzal pokles hladín DLIA (tento pokles bol štatisticky významný v skupine HUMA LAB, v prípade skupiny ORION bol naznačený, no nedosahoval štatistickú významnosť).

Uvedené zistenia poukazujú na vzájomný vzťah medzi hladinami DLIA a hladinami inzulínu. Otázkou zostáva, čo signalizujú tieto vzťahy a či vyššie hladiny DLIA u hyperinzulinemických TŽ len odrážajú zmoženie extracelulárnych tekutín (objemovú expanziu), alebo majú aj priamu súvislosť s hyperinzulinémiou.

Vzostup DLIA ako dôsledok objemovej expanzie a korelácia DLIA s následným priamym (inhibíciou renej N_{a+}-K⁺-ATPázy), či nepriamym (stimuláciou sekrecie ANP*) zvýšením nátriurézy sú známe a dokumentovali ich viacerí autori (DeWardener a spol., 1961; Lichardus a spol., 1986, 1993; Kramer a spol., 1989). V tomto zmysle vzostup DLIA predstavuje potrebný kompenzačný mechanizmus, ktorým sa organizmus bráni nadmernému prevodneniu.

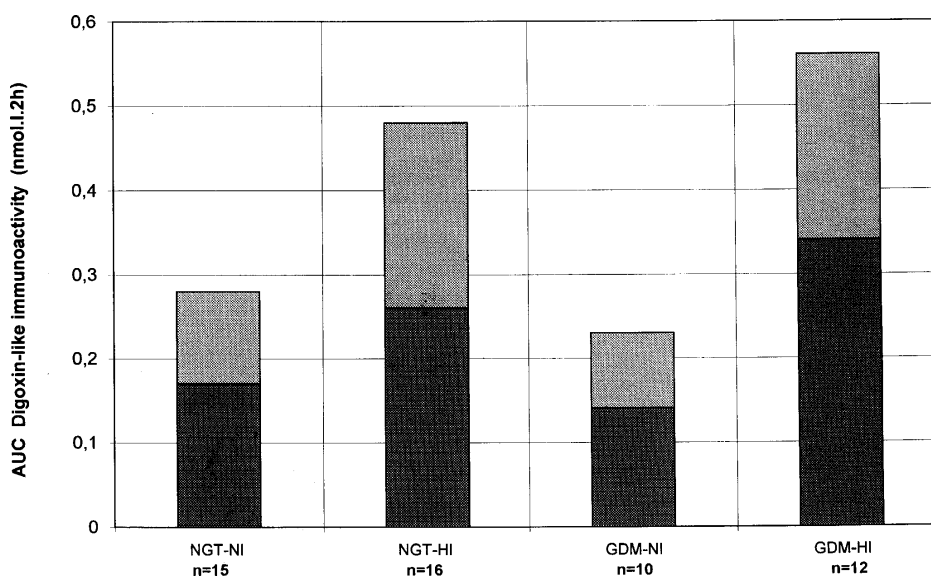
Hyperinzulinémia podporuje retenciu sodíka a objemovú expanziu (DeFronzo, 1981), čo následne môže viesť k zvýšenému

* ANP – átriálny nátriuretický faktor



Obr. 1. Rozdiely v úhrnných koncentráciách Digoxínu podobnej imunoaktivity medzi tehotnými ženami rozdelenými podľa tolerancie glukózy a hladín inzulínu v súbore HUMA-LAB. Štatistická významnosť (aspoň $p < 0.05$): NGT-NI vs. NGT-HI, NGT-NI vs. GDM-NI, NGT-NI vs. GDM-HI, NGT-HI vs. GDM-NI, NGT-HI vs. GDM-HI, GDM-NI vs. GDM-HI.

Fig. 1. Differences in integrated digoxin-like immunoactivity concentrations among pregnant women divided according to glucose tolerance and insulin levels in group HUMA-LAB. Statistical significance (at least $p < 0.05$): NGT-NI vs. NGT-HI, NGT-NI vs. GDM-NI, NGT-NI vs. GDM-HI, NGT-HI vs. GDM-NI, NGT-HI vs. GDM-HI, GDM-NI vs. GDM-HI.

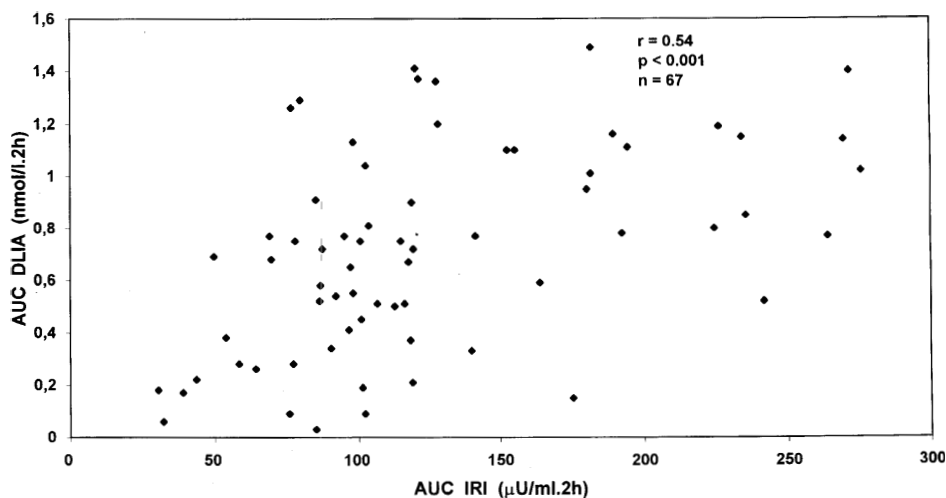


Obr. 2. Rozdiely v úhrnných koncentráciách Digoxínu podobnej imunoaktivity medzi tehotnými ženami rozdelenými podľa tolerancie glukózy a hladín inzulínu v súbore ORION. Štatistická významnosť (aspoň $p < 0.05$): NGT-NI vs. NGT-HI, NGT-NI vs. GDM-NI, NGT-NI vs. GDM-HI, NGT-HI vs. GDM-NI, NGT-HI vs. GDM-HI, GDM-NI vs. GDM-HI.

Fig. 2. Differences in integrated digoxin-like immunoactivity concentrations among pregnant women divided according to glucose tolerance and insulin levels in group ORION. Statistical significance (at least $p < 0.05$): NGT-NI vs. NGT-HI, NGT-NI vs. GDM-NI, NGT-NI vs. GDM-HI, NGT-HI vs. GDM-NI, NGT-HI vs. GDM-HI, GDM-NI vs. GDM-HI.

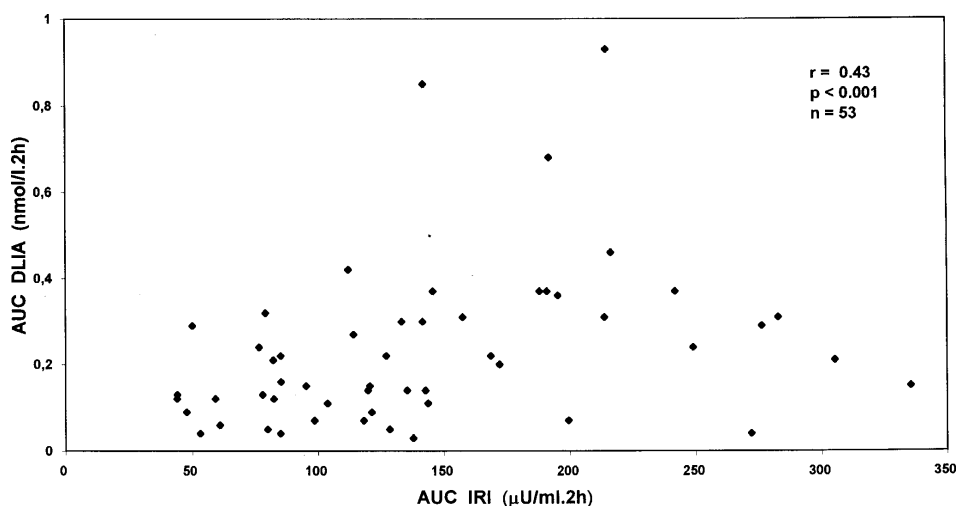
uvoľňovaniu DLIA (za účelom podporiť nátriúrezu). V našej štúdií sme však ani v jednom súbore nenašli koreláciu medzi hladinami DLIA a prírastkom hmotnosti v priebehu gravidity, ktorý by mohol (aspoň približne) odrážať stupeň retencie tekutín. Nenašli sme ani koreláciu prírastku hmotnosti s inzulíniou a hladinami mera-

ných steroidných hormónov, čo hovorí skôr proti predpokladu, že vzťah DLIA:inzulín je iba sekundárny — sprostredkovaný objemovou expanziou navodenou graviditou indukovanými hormonálnymi zmenami a účasťou hyperinzulinémie. Ako ukázali naše predchádzajúce skúsenosti, DLIA jasne reaguje (stúpa) na náhlu objemovú



Obr. 3. Korelácia úhrnnej koncentrácie digoxínu podobnej imunoaktivity a úhrnnej koncentrácie inzulínu v súbore HUMA-LAB.

Fig. 3. Correlation of integrated concentration of digoxin-like immunoactivity to integrated concentration of insulin in group HUMA-LAB.



Obr. 4. Korelácia úhrnnej koncentrácie digoxínu podobnej imunoaktivity a úhrnnej koncentrácie inzulínu v súbore ORION.

Fig. 4. Correlation of integrated concentration of digoxin-like immunoactivity to integrated concentration of insulin in group ORION.

záťaž fyziologickým roztokom. Na rozdiel od toho viedol náhly vzostup glykémie a inzulínémie počas OGTT v tejto štúdií k poklesu koncentrácií DLIA. Graves a spol. (1989) zas pozorovali vzostup DLIA po hyperinzulinémiou navodenej hypoglykémii. Hladiny DLIA teda pravdepodobne reagujú nielen na zmeny v koncentrácií sodíka a objemu extracelulárnej tekutiny, ale aj na zmeny v koncentráciách glukózy a inzulínu. Pozoruhodné pritom je, že DLIA a inzulín majú niekoľko opačných biologických účinkov. Kým inzulín aktivuje Na⁺-K⁺-ATPázu, vedie k retencii sodíka, vazodilácii a poklesu krvného tlaku (DeFronzo, 1981; Gans a spol., 1992), substancie s DLIA inhibujú aktivitu Na⁺-K⁺-ATPázy, podporujú

nátriúru, vedú k vazokonstrikcii a vzostupu krvného tlaku (Hamlyn a spol., 1991; Blaustein, 1993).

Substancie s DLIA by tak mohli predstavovať jedného z účastníkov/marker neurohumorálnej aktivácie, ktorý odráža „určité“ deje v organizme, a tak môže byť indikátorom aktivácie niektorých patofyziologických mechanizmov. Zvýšené hladiny sa zistili napr. pri akútnom infarkte myokardu (Kohn a spol., 1992), pri srdcovom zlyhávaní (Schreiber a spol., 1980), hypertenzii (Hamlyn a spol., 1991) a ďalších ošhoeniach.

Substancie s DLIA sa považujú predovšetkým za pôsobky majúce úlohu v patogenéze hypertenzie (Hamlyn a spol., 1991; Blaustein, 1993). V literatúre je množstvo štúdií dokumentujúcich vzťah

DLIA k esenciálnej hypertenzii, ale aj k hypertenzii indukovanej graviditou (Graves a spol., 1984, 1995). Niektorí autori dokonca označili DLIA za jeden z markerov, ktorý by mohol byť využiteľný pri včasnej diagnóze hroziacej preeklampsie. U pacientov s diabetes mellitus sa uvažuje, že vyššie hladiny DLIA by mohli vysvetľovať častejší výskyt hypertenzie u týchto jedincov (Giampietro a spol., 1988; Takahashi a spol., 1993).

Keďže GDM, obdobne ako NIDDM je významne častejšie sprevádzaný hypertenziou, vynára sa otázka, či vyššie hladiny DLIA u hyperinzulinemických žien v našej štúdií nesúvisia so súčasne vyšším krvným tlakom u týchto žien. Ženy zaradené do našej štúdie však boli normotenzné, jednotlivé podskupiny sa navzájom v hodnotách krvného tlaku nelíšili a hladiny DLIA s hodnotami krvného tlaku nekorelovali. Vzťah DLIA k inzulínemii v našej štúdií teda nesúvisel s hodnotami krvného tlaku. Obdobne bol eliminovaný aj ďalší faktor — renálna insuficiencia, ktorá by sa tiež mohla zúčastňovať na vyšších hladinách DLIA. Všetky ženy zaradené do našej štúdie mali normálne hodnoty sérového kreatinínu a fyziologický močový nálež.

Otázka, či vlastný vzostup DLIA môže modulovať mechanizmy sekrécie inzulínu a citlivosť tkanív na inzulín, však zatiaľ zostáva hypotetická (Martinka a spol., 1997). Ak vychádzame zo všeobecného predpokladu, že substancie s DLIA („endogénne kardioglykozidy“) predstavujú špecifické inhibítory Na⁺-K⁺-ATPázy vedúce k vzostupu zásob Ca²⁺ (Blaustein, 1993), potom by mohli modulovať nielen kontraktilitu ciev (Hamlyn a spol., 1991; Blaustein, 1993), ale aj iné Ca²⁺-dependentné mechanizmy vrátane citlivosti tkanív na inzulín a sekrécie inzulínu. Oba tieto mechanizmy sú totiž významne ovplyvnené koncentráciou intracelulárneho Ca²⁺ (Draznin, 1993; Grapengiesser a spol., 1993; Levy a spol., 1994).

Vzťah DLIA k diabetes mellitus v posledných rokoch opísali aj iní autori. Dokumentovali vyššie hladiny DLIA u diabetických pacientov, ďalej koreláciu DLIA s inzulínémiou, koreláciu DLIA so stupňom IR, ako aj vyššie hladiny DLIA u žien s GDM (Andronico a spol., 1992; Takahashi a spol., 1993; Vasada a spol., 1995; Graves a spol., 1995). Okrem toho opísali v *in vitro* štúdiách vplyv rastlinného ouabaínu na hladiny Ca²⁺ v betabunkách pankreasu, ako aj na sekréciu inzulínu (Grapengiesser a spol., 1993).

Všetky uvedené zistenia poukazujú, že výsledky našich prác nie sú náhodné. Uvedomujeme si však komplexnosť a zložitý mechanizmov zúčastnených v patogenéze diabetes mellitus aj na vývoji následných komplikácií, a preto by bolo predčasné hodnotiť ich hlavný význam pre klinickú prax.

Záver

Vzostup DLIA pri GDM (rovnako ako pri NIDDM) je pravdepodobne sekundárny. Môže predstavovať len „nevinný marker“ neurohumorálnej aktivity, ktorý síce charakterizuje určité deje v organizme, a tak môže byť prediktorom rozvoja niektorých komplikácií, no bez ďalšieho vlastného biologického významu. Pravdepodobnejším sa však zdá, že vzostup koncentrácie substancií s DLIA má aj ďalší vlastný účinok. Známy je napríklad vzťah medzi vzostupom DLIA a zvýšením nátriurézy, či vzostupom TK. Vplyvom na koncentráciu intracelulárneho Ca²⁺, môžu substancie s DLIA modulovať rôzne Ca²⁺-dependentné mechanizmy vrátane citlivosti tkanív na inzulín a sekréciu inzulínu. Podporu nátriurézy môžu

mať pozitívnu úlohu v snahe zbaviť organizmus zmnoženej extracelulárnej tekutiny, a tak zamedziť rozvoju niektorých diabetickej komplikácií (Straub a spol., 1995), resp. môže ísť o kombináciu uvedených efektov.

Zhodnotenie významu týchto mechanizmov a ich využitia v klinickej praxi však vyžaduje ešte ďalšie predovšetkým experimentálne zamerané štúdie.

Literatúra

Andronico G., Mule G., Mangano M.T., Piazza G., Donatelli M., Cerasola G., Bompiani G.D.: Insulin resistance and endogenous digoxin-like factor in obese hypertensive patients with glucose intolerance. *Acta Diabetologica*, 28, 1992, s. 203—205.

Bartoš V., Pelikánová T.: Praktická diabetologie. Maxdorf Jessenius, 1996, 376 s.

Blaustein M.P.: Physiological effects of endogenous ouabain: control of intracellular Ca stores and cell responsiveness. *Amer. J. Physiol.*, 264, 1993, s. C1367—C1387.

Costrini N.V., Kalhoff L.K.: Relative effects of pregnancy, estradiol and progesterone on plasma insulin and pancreatic islet insulin secretion. *J. clin. Invest.*, 50, 1971, s. 992—997.

Dasgupta A., Schammel D.P., Limman A.C.: Estimating concentrations of total digoxin and digoxin-like immunoreactive substances in volume-expanded patients being treated with digoxin. *Therapeutic drug monitoring*, 18, 1996, č. 1, s. 34—39.

De Fronzo R.A.: The effect of insulin on renal sodium reabsorption. *Diabetologia*, 21, 1981, s. 165—171.

DeWardener H.E., Mills I.H., Clapham W.F., Hayter C.J.: Studies on the efferent mechanism of the sodium diuresis which follows the administration of intravenous saline in the dog. *Clin. Sci.*, 21, 1961, s. 249—358.

Draznin B.: Cytosolic calcium and insulin resistance. *Amer. J. Kidney Dis.*, 21, 1993, s. 32—38.

Gans R.O.B., Bilo H.J.G., Nauta J.J.P.: Acute hyperinsulinemia induces a sodium retention and a blood pressure decline in diabetes mellitus. *Hypertension*, 20, 1992, s. 199—209.

Giampietro O., Clerico A., Gregori G., Bertoli S., DelChicca M.G., Miccoli R., Lucchetti A., Cruschelli L., Navalesi R.: Increased urinary excretion of digoxin-like immunoreactive substance by insulin-dependent diabetic patients: a linkage with hypertension? *Clin. Chem.*, 34, 1988, s. 2418—2422.

Goto A., Yamada K., Yagi N., Hui C., Nagoshi H., Sasabe M., Yoshioka M.: Digitalis-like factors from human urine. *J. cardiovasc. Pharmacol.*, 22, 1993, č. 2, s. S58—S59.

Grapengiesser E., Berts A., Saha S., Lund P.E., Gylfe E., Hellman B.: Dual effects of Na/K pump inhibition on cytoplasmic Ca²⁺ oscillations in pancreatic β -cells. *Arch. Biochem. Biophys.*, 300, 1993, s. 372—377.

Graves S.W., Lincoln K., Cook S.L., Seely E.W.: Digitalis-like factor and digoxin-like immunoreactive factor in diabetic women with preeclampsia, transient hypertension of pregnancy, and normotensive pregnancy. *Amer. J. Hypertens.*, 8, 1995, s. 5—11.

Graves S.W., Adler G., Stuenkel C.: Increase in plasma digitalis-like factor activity in response to insulin-induced hypoglycemia. *Neuroendocrinol.*, 49, 1989, s. 586—591.

- Graves S.W., Williams G.H.: An endogenous ouabain like **factor associated with hypertensive pregnant women**. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 59, 1984, s. 1070–1078.
- Hamlyn J.M., Blaus^ein M.P., Bova S., DuChardme D.W., Harris D.W., Mandel F., Mathews W.R., Ludens J.H.: **Identification and characterization of an ouabain-like compound from human plasma**. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 88, 1991, s. 6259–6263.
- Kohn R., Lichardus B., Rusnák M.: Endogenous digitalis-like factor in patients with acute myocardial infarction. *Cor Vasa*, 34, 1992, č. 3, s. 227–237.
- Kramer J.H., Lichardus B., DeWardener H.E.: Natriuretic hormones and disorders of sodium homeostasis. S. 39–86. In: Gonick H.C. (Ed.): *Current Nephrology*. Vol. 12. Chicago—London, Year Book Medical Publishers Inc. 1989.
- Kühl C.: Insulin secretion and insulin resistance in pregnancy and GDM. Implications for diagnosis and management. *Diabetes*, 40, 1991, č. 2, s. 18–24.
- Lazurová I., Rosochová B., Lichardus S., Trejbal D., Hildebrand T., Tkáč I., Macháňová Y., Murár J.: Neurohumorálna aktivita pri cirhóze pečene. *Vnitřní lékařství*, 41, 1995, č. 10, s. 667–671.
- Levy J., Gavin J.R., Sowers J.R.: Diabetes-mellitus a disease of abnormal cellular calcium metabolism. *Amer. J. Med.*, 96, 1994, s. 260–273.
- Lichardus B., Foldes O., Styk J., Zemankova A., Kovacs L.: On the role of digoxin-like substances, ANP, and AVP in natriuresis induced by hypertonic saline infusion in dogs. *J. cardiovasc. Pharmacol.*, 22, 1993, s. 82–83.
- Lichardus B.: Nátriuretické hormóny. *Bratisl. lek. Listy*, 85, 1986, s. 75–82.
- Longerich L., Brent D.A., Johnson R.L., Vasdev S., Gault M.H.: **Identification of progesteron and cortisol as immunoreactive plasma digitalis like factors in pregnancy**. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 59, 1988, č. 3, s. 383–393.
- Martinka E., Matúšek J., Ochodnický M., Květenký J., Mokáň M.: Digoxin-like immunoactivity and glucose tolerance in pregnancy. *Diab. Nutr. Metab.*, 6, 1993, s. 189–194.
- Martinka E., Galajda P., Ochodnický M., Kerný J., Mokáň M.: Digoxin-like immunoactivity in patients with diabetes mellitus and hypertension. *Amer. J. Hypertens.*, 1997 (in press).
- Martinka E., Galajda P., Ochodnický M., Lichardus B., Straka Š., Mokáň M.: Endogenous digitalis-like immunoactivity and diabetes mellitus. **The facts and hypotheses**. *Medical Hypotheses*, 49, 1997, s. 271–275.
- Martinka E., Ochodnický M., Mokáň M.: Digoxin-like immunoactivity in pregnant women with diabetes mellitus. *Amer. J. Hypertens.*, 9, 1996, s. 516.
- Miller J.J., Straub R.W., Valdes R.: Analytical performance of a monoclonal digoxin assay with increased specificity on the ACS: 180. *Therapeutic Drug Monitoring*, 18, 1996, č. 1, s. 65–72.
- Naomi S., Graves S., Lazarus M., Williams G.H., Hollenberg, N.K.: Variation in apparent serum digitalis-like factors levels with different digoxin antibodies: the immunochemical fingerprint. *Amer. J. Hypertens.*, 4, 1991, s. 795–801.
- Pudek M.R., Seccombe D.W., Jacobson B.E.: Seven different digoxin immunoassay kits compared with respect to interference by a digoxin immunoactive substance in serum from premature and full term infants. *Clin. Chem.*, 29, 1983, s. 1972.
- Ryan E.A., Enns L.: Role of gestational hormones in the induction of insulin resistance. *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 67, 1988, s. 341–347.
- Schreiber V., Kolbel F., Štěpán J.: Zdánlivá imunoreaktivita v séru kryš se srdečním přetížením. **K otázce endogénního kardiotonika**. *Čas. Lék. čes.*, 119, 1980, s. 768–770.
- Schreiber V., Štěpán J., Gregorova I.: Crossed digoxin immunoreactivity in chromatographic fractions of rat adrenal extract. *Biochem. Pharmacol.*, 30, 1981, č. 7, s. 805–806.
- Straub R.H., Kramer B.K., Roth M., Palitzsch K.D.: Influence of digoxin-like immunoactive factor on late complications in patients with diabetes mellitus. *Europ. J. clin. Invest.*, 24, 1994, s. 482–487.
- Takahashi H., Matsusawa M., Nishimura M., Nakanishi T., Yoshimura M.: Digoxin-like immunoactivity may contribute to hyperinsulinemia-associated hypertension in patients with glucose intolerance. *J. cardiovasc. Pharmacol.*, 22, 1993, s. S22–S24.
- The Joint National Committee on Detection Evaluation and Treatment of High Blood Pressure: **The fifth report of the Joint National Committee on Detection and Evaluation of High Blood Pressure (JNC V)**. *Arch. Intern. Med.*, 154, 1993, s. 154–183.
- Vasdev S., Longerich L., Johnson E. a spol.: Dehydroepiandrosterone sulfate as digitalis-like factor in plasma of healthy human adults. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 49, 1985, s. 387–399.
- Vedra B.: **Těhotenství a diabetes**. Praha, Avicenum 1987, 183 s.
- Wasada T., Kuroki H., Naruse M., Arii H., Maruyama A., Katsumori K., Saito S., Watanabe Y., Naruse K., Demura H., Omori Y.: Insulin resistance is associated with high plasma ouabain-like immunoactivity concentration in NIDDM. *Diabetologia*, 38, 1995, s. 792–797.
- WHO Study Group on prevention of diabetes Mellitus: Prevention of diabetes mellitus: report of a WHO study group, WHO Technical Report Series 844, 1994.

Do redakcie došlo 18.12.1996.