

FENOTIPSKE KARAKTERISTIKE KARCINOMA
GORNJEG UROTELIJUMA I EKSPRESIJA
E-KADERINA



Autori:

Stojanović Milovan¹, Jelena Najdanović¹, Dina Stojić¹

Mentor: Doc. dr Boris Đinđić²

¹ Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu; ² Institut za patofiziologiju;

SAŽETAK

Inflamacija je važan faktor u patogenezi ateroskleroze o čemu nam svedoci uska povezanost nekoliko inflamatornih markera sa povećanim rizikom od kardiovaskularnih događaja.

Cilj ovog rada bio je da ispita uticaj tromesečnog trenažnog programa na nivo sistemskih inflamatornih markera u pacijenata obolelih od koronarne bolesti srca.

Trideset pet muškaraca i trideset pet žena sa stabilnom koronarnom bolešću srca regrutovano je za ovu studiju. Pacijenti su bili podeljeni u dve grupe, I grupa- 38 pacijenata koji su imali redovan fizikalni aerobni trening kardiovaskularne rehabilitacije u trajanju od šest nedelja i II grupa- 32 pacijenta koji nisu pohađali program aerobne fizikalne rehabilitacije. Nakon završetka aerobnog trenažnog programa mereni su nivoi inflamatornih markera poput ICAM-1 i VCAM-1 molekula, hs CRP, NO, leukocita i nekih antropometrijskih parametara.

Studentski t test nije pokazao značajne razlike u proseku starosti, obimu struka (OS) i struk / kuk odnosu (WHR). Postojao je značajan napredak u BMI (p 0,05). Fizički trening u toku 6 nedelja nije pokazao bilo kakav efekat na leukocite i ICAM-1 u odnosu na kontrolu grupu. S druge strane, trenažni program jeste doveo do značajnog pada nivoa hsCRP (24.9%) i nivoa VCAM-1 (9.18%) u odnosu na vrednosti istih markera u kontrolnoj grupi.

Fizička aktivnost dovodi do značajne redukcije inflamatornog procesa smanjivanjem nivoa CRP i ICAM-1 molekula i stimulacijom pojačane sinteze NO što dalje implicira da fizička aktivnost može imati blagotvoran efekat na prevenciju razvoja kardiovaskularnog oboljenja ili egzacerbaciju već postojećeg oboljenja. To ukazuje na važnost fizičke aktivnosti u primarnoj i sekundarnoj prevenciju kardiovaskularnih oboljenja.

Cljučne reci: koronarno oboljenje, inflamacija, fizička aktivnost

UVOD

Inflamacija je važan faktor u patogenezi ateroskleroze^{1,2} o čemu nam svedoči uska povezanost nekoliko inflamatornih markera sa povećanim rizikom od kardiovaskularnih događaja²⁻⁵. Reaktant

akutne faze, C reaktivni protein (CRP), osetljiv je marker inflamacije⁶. Studije su pokazale da je povišen nivo CRP-a nezavisno povezan sa pojavom akutnog koronarnog događaja kod muškaraca i žena⁷, kao i sa povećanim rizikom od letalnog ishoda kod kardiovaskularnih bolesnika. Fizička aktivnost može smanjiti rizik za



nastanak koronarne bolesti srca (KBS) ublažavajući inflamaciju⁹. Redovne vežbe mogu smanjiti nivo CRP-a¹⁰⁻¹³ kao i proizvodnju ostalih proinflammatoryh, aterogenih citokina IL-1, TNF-a i interferonom c (INF c) kod osoba sa visokim rizikom za razvoj ishemične bolesti srca. S druge strane, redovna fizička aktivnost izaziva povećanu produkciju protektivnih antiinflammatoryh citokina kakav je IL-10. Ovakav tip treninga izgleda da snizava nivo inflammatoryh markera i u zdravoj populaciji^{10,14}.

Osim toga, fizički aktivni stariji muškarci i žene imaju niže nivoe CRP-a nego njihovi manje aktivni vrsnjaci¹⁷⁻¹⁸. I ultramaraton trkači su prijavili da imaju niže nivoe CRP u poređenju sa osobama sličnog indeksa telesne mase (BMI) koji vode sedetarni način života¹⁹.

Nekoliko uloga je dodeljivano CRP-u, uključujući i vezivanje za fosfolipide oštećenih ćelija sa ciljem aktiviranja sistema komplemenata i makrofaga, kao i stimulacija endotelnih ćelija da ekspimiraju adhezione molekule i smanje ekspresiju i bioraspoloživost azot-oksida sintetaze³⁻⁵.

Prema našim saznanjima, ne postoje objavljeni radovi koji su proučavali uticaj fizičke aktivnosti na aterogene citokine IL-1, IL-6, INF-C i CRP, i atheroprotektivnije citokine IL-10 kod obolelih od koronarne bolesti. Zato smo odlučili da ispitamo efekte tromesečnog aerobnog trenažnog programa na nivo CRP, IL-1, IL-6, IL-10 i INF-c kod muškaraca i žena sa dokumentovanom koronarnom bolešću.

MATERIJAL I METODE

Tridesetpet muškaraca i tridesetpet žena sa stabilnom koronarnom bolešću srca, koji su primljeni na program rehabilitacije u Institutu za lečenje i rehabilitaciju kardiovaskularnih oboljenja Niška Banja, Niš, Srbija, bili su regrutovani za ovu studiju. Bolesnici koji su učestvovali imali su istoriju jedne od sledećih bolesti: infarkt miokarda (MI), koronarna revaskularizacija,

angiografski dokaz okluzije više od 50% arterija u jednom ili više krvnih sudova. Bolesnici su bili isključeni iz studije ako su imali nekontrolisane aritmije, hipertenziju (sistolni krvni pritisak 180 mmHg ili dijastolni 100mmHg), nestabilnu anginu pectoris, loše kontrolisanu kongestivnu srčanu insuficijenciju ili neku nekontrolisanu metaboličku bolest (npr. nekontrolisani dijabetes ili bolesti štitnjače).

Medikamentozna terapija koja se mahom zasnivala na statinima nije bila menjana tokom trenažnog procesa kao ni način ishrane bolesnika koji su učestvovali u studiji.

Svi bolesnici su bili podeljeni u dve grupe:

I grupa: 38 bolesnika sa stabilnom koronarnom bolešću srca, koji su imali redovan fizikalni aerobni trening kardiovaskularne rehabilitacije, tri nedelje u centru za rehabilitaciju i tri nedelje u svojim kućama.

II grupa: 32 bolesnika sa stabilnom koronarnom bolešću srca koji nisu pohađali program aerobne fizikalne rehabilitacije već su samo obavljali uobičajene kućne poslove.

Protokol fizikalnog aerobnog programa

Bolesnici su prošli kroz 6 nedelja aerobnog vežbanja. Trening se sastojao od 45 minuta kontinuiranog aerobnog vežbanja na ergometru, stacionarnom biciklu ili šetnje. Intenzitet je održavan na 70-80% individualnog maksimalnog opterećenja srca. Svi bolesnici su trenirali 3 puta nedeljno u toku šest nedelja.

Laboratorijski testovi

Biohemijska ispitivanja su urađena nakon 6 nedelja od početka treninga i fizikalne terapije, nakon čega su dobijene vrednosti upoređivane sa vrednostima kontrolne grupe. Uzorci krvi su prikupljeni najmanje 24h posle poslednjeg treninga kako bi se izbegli neposredni (akutni) efekti vežbanja.

Određivanje visoko osetljivog C reaktivnog proteina (hsCRP) urađeno je komercijalnim Dade Behring testovima.



Serumske vrednosti hsCRP su u mg/l. Merenje adhezionih molekula ICAM-1 i VCAM-1 vršeno je ELISA testom. Koristili smo komercijalne testove Beckman Coutte kompanije i bio-Sistems Elisa čitač. Vrednosti su u ng/ml.

Endotelna funkcija je determinisana koncentracijom NO u krvi. NO koncentracija je merena indirektnom metodom, merenjem koncentracija nitrata i nitrita. Metoda se zasniva na činjenici da oksidacija endogenih NO formira nitrate i nitrite, tako da se njihove koncentracije smatraju kao indikatori za proizvodnju NO. Vrednosti nitrata i nitrita su u nmol/mg proteina.

Antropometrija

Indeks telesne mase (Body mass index, BMI) je izračunat kao kg/m².

Podaci su analizirani standardnim deskriptivnim metodama (znači standardna devijacija i procenat učestalosti). Rezultati su dobijeni korišćenjem Student t test, Hi2 test i Fišer testa u zavisnosti od uzoraka i tipa podataka. Statistička analiza je urađena preko softverskog paketa SPSS 11.0.

REZULTATI

Trideset pet muškaraca i trideset pet žena sa stabilnom koronarnom bolešću srca učestvovali su u ovoj studiji. U istraživanje uticaja fizičke aktivnosti na inflamaciju počeli smo merenjem opisnih, tzv. polaznih podataka (prikazani su u Tabeli 1.).

Tabela 1. Osnovni opisni podaci

	control	physical training	p
Male/female	18/17	17/13	NS
Age	58.4 ± 7.6	62.7 ± 7.1	NS
BMI (kg/m ²)	28.5 ± 2.76	26.9 ± 3.6	0.05
OS (cm)	103.16 ± 6.04	101 ± 5.42	NS
WHR	0.99 ± 0.06	0.97 ± 0.07	NS

Kao što nam tabela pokazuje, nije postojala značajna razlika u distribuciji polova među analiziranim grupama. Hi2 test je pokazao sličan terapijski pristup u rešavanju akutnog koronarnog sindroma. Studentski t test nije pokazao značajne razlike u proseku starosti, obimu struka (whaist circumference, OS) i struk/kuk odnosu (whaist/hipp ratio, WHR). Stepen gojaznosti meren je po BMI. Postojao je

značajan napredak u BMI kod bolesnika koji su bili podvrgnuti terapiji fizičkim treningom u odnosu na kontrolnu grupu (p 0,05) (Tabela 1).

Nakon osnovnih opisnih podataka prešli smo na merenje sistemskih inflamatornih markera. C reaktivni protein, leukociti i adhezioni molekuli mereni su kako u kontrolnoj tako i u eksperimentalnoj grupi podvrgnutoj trenažnom procesu (Tabela 2).

Tabela 2. Inflamatorni markeri

	control	physical training	(%)	P
Leukocyte count (G/l)	6.32 ± 1.33	6.23 ± 1.87	1.42	NS
hsCRP (mg/l)	5.1 ± 3.2	3.82 ± 2.75	24.9	0.01
VCAM-1 (ng/ml)	9.2 ± 1.21	9.2 ± 1.21	9.18	0.05
ICAM-1 (ng/ml)	7.48 ± 1.35	7.48 ± 1.35	0.26	NS



Fizički trening u toku šest nedelja nije pokazao bilo kakve efekte na leukocite i ICAM-1 u odnosu na kontrolnu grupu. S druge strane, trenažni program je doveo do značajnog pada nivoa hsCRP (24.9%) i nivoa VCAM-1 (9.18%) u odnosu na vrednosti istih markera u kontrolnoj grupi.

Takođe, vrednosti NO bile su značajno veće kod bolesnika sa odrađenim trenažnim programom: $80,21 \pm 35,21$ nmol/mg proteina u odnosu na $68,76 \pm 33,8$ nmol/mg proteina u kontrolnoj grupi (p 0,01).

DISKUSIJA

Ovom studijom pokušali smo da istražimo efekte fizičke aktivnosti na inflamatorni proces i endotelnu (dis)funkciju kod bolesnika sa stabilnom koronarnom bolešću srca koji su bili deo aerobnog trenažnog programa rehabilitacije. Rezultati dobijeni tokom istraživanja govore u prilog hipotezi da fizička aktivnost indukuje smanjenje inflamacije i inflamatornih markera kao i da dovodi do popravljavanja funkcije endotela. Prema našim saznanjima nijedno ranije istraživanje nije upoređivalo efekte fizičke aktivnosti aerobnog trenažnog procesa na inflamatorni proces kod osoba sa koronarnom bolešću i osoba koji su imali koronarnu bolest ali nisu bili podvrgnuti nikakvom trenažnom programu.

U ovoj studiji nije postojala razlika u polnoj zastupljenosti, starosti, tipu gojaznosti i načinu terapijskog rešavanja koronarne bolesti između grupa bolesnika sa aerobnim fizičkim treningom i sedentarne kontrole. Efekat fizičkog treninga je vidljiv jedino u nešto manje izraženoj gojaznosti merenoj kroz BMI (Tabela 1).

Prema očekivanjima, bolesnici sa koronarnom bolešću pokazali su značajno povišen nivo CRP-a u odnosu na očekivane vrednosti u zdravoj populaciji²⁰.

Fizička aktivnost najverovatnije utiče kardioprotektivno preko brojnih mehanizama uključujući redukciju adipoznog tkiva, krvnog pritiska, incidence dijabetesa i

popravljaajući eventualnu dislipidemiju, stimulišući insulinsku senzitivnost, glikemijsku kontrolu, fibrinolizu i endotelnu funkciju⁹. Uticaj fizičke aktivnosti na sniženje nivoa CRP-a može predstavljati još jedan kardioprotektivni efekat.

Mehanizam kojim fizička aktivnost dovodi do pada nivoa CRP-a u serumu može se objasniti saznanjem da učestali treninzi smanjuju koncentraciju interleukina. Naime, dokazano je da IL-6, proinflamatorni citokin, stimuliše sintezu CRP-a u jetri i njegovu sekreciju iz adipocita. Moguće je, takođe, da fizička aktivnost redukuje inflamaciju tako što dovodi do redukcije gojaznosti i povećanja insulinske senzitivnosti. Međutim, ranija istraživanja, koja su se bavila uticajem fizičke aktivnosti na gojaznost, isključila su eventualni uticaj redukcije adipoznog tkiva na povećanje nivoa CRP-a (13,15,19). S druge strane, možda fizička aktivnost utiče na sintezu novog, do sada nepoznatog faktora, koji utiče na sintezu CRP-a redukcijom koncentracije IL-6 ili nekim drugim mehanizmom.

Naše istraživanje pokazalo je značajan pad nivoa VCAM-1 molekula nakon šestonedelnog aerobnog fizikalnog programa. Na značajnost ovog otkrića ukazuje uloga koju ICAM-1 i VCAM-1 molekuli imaju u evoluciji koronarne bolesti. Iako su VCAM-1 i ICAM-1 strukturno i funkcionalno slični molekuli, ICAM-1 se smatra znatno senzitivnijim markerom inflamacije kod osoba koji već imaju razvijenu aterosklerozu, što se objašnjava dokazanom činjenicom da nivo ICAM-1 molekula prati aktivnost i stabilnost aterosklerotskog plaka. U tom pogledu, fizička aktivnost je izuzetno bitna u preveniranju eventualne rupture plaka.

Skoro je dokazano da fizička aktivnost stimuliše i popravlja funkciju endotela tako što povećava insulinsku senzitivnost i redukuje količinu masnog tkiva. Takođe, brojnim studijama dokazan je uticaj fizičke aktivnosti na popravljavanje endotelne funkcije kroz stimulaciju sekrecije azot-oksida, koji kao vazodilatator ima



izuzetno protektivnu ulogu na vaskulaturu. Rezultati dobijeni u našem radu potvrđuju činjenicu da fizička aktivnost povećava nivo NO i tako deluje kardioprotektivno.

ZAKLJUČAK

Fizička aktivnost dovodi do značajne redukcije inflamatornog procesa smanjivanjem nivoa CRP i ICAM-1 molekula i stimulacijom pojačane sinteze NO.

Redukcija inflamacije može imati blagotvoran efekat na prevenciju razvoja kardiovaskularnog oboljenja ili egzacerbaciju već postojećeg oboljenja. To ukazuje na važnost fizičke aktivnosti na primarnu i sekundarnu prevenciju kardiovaskularnih oboljenja.

LITERATURA

1. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon 3rd RO, Criqui M, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease. Application to clinical and public health practice. A statement for health care professionals from the Centers for Disease Control and prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003;107:499–511.
- 2-5. Verma S, Wang CH, Li SH, et al. A self-fulfilling prophecy: C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis. *Circulation* 2002;106:913–9.
- 2-5. Ridker PM, Bassuk SS, Toth PP. C-reactive protein and risk of cardiovascular disease: evidence and clinical application. *Curr Atheroscler Rep* 2003;5:341–9.
6. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999;340:448– 54.
7. Ridker PM, Buring JE, Cook NR, Rifai N. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow-up of 14719 initially healthy American women. *Circulation* 2003;107:391– 7.
- 8, 9. Bassuk SS, Manson JE. Physical activity and the prevention of cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep* 2003;5:299 –307.
- 10-13. Mattusch F, Dufaux B, Heine O, Mertens I, Rost R. Reduction of the plasma concentration of C-reactive protein following nine months of endurance training. *Int J Sports Med* 2000;21:21–4.
12. Smith JK, Dykes R, Douglas JE, Krishnaswamy G, Berk S. Longterm exercise and atherogenic activity of blood mononuclear cells in persons at risk of developing ischemic heart disease. *JAMA* 1999;281:1722 –7.
- 15-18. Abramson JL, Vaccarino V. Relationship between physical activity and inflammation among apparently healthy middle-aged and older US adults. *Arch Intern Med* 2002;162:1286 –92.



19. Tomaszewski M, Charchar FJ, Przybycin M, Crawford L, Wallace AM, Gosek K, et al. Strikingly low circulating CRP concentrations in ultramarathon runners
20. Rifai N, Ridker PM. Population distributions of C-reactive protein in apparently healthy men and women in the United States: Implication for clinical interpretation. Clin Chem 2003;49:666–9

**MODERATE EXERCISE TRAINING REDUCES SYSTEMIC
INFLAMMATORY MARKERS IN PATIENTS WITH CARDIOVASKULAR
ATHEROSCLEROTIC DISEASES**

Stojanović Milovan, Jelena Najdanović, Dina Stojić

Inflammation is an important factor in the pathogenesis of atherosclerosis, and several markers of inflammation have been associated with an increased risk of cardiovascular events.

Male (n=35) and female (n=35) patients with stable coronary heart disease were recruited for this study. All patients were divided into two groups: I group - 32 patients with stable CHD and regular aerobic physical training along 6 weeks, and II group - 38 patients with CHD who practice only regular usual house work without recommended aerobic physical training. Anamnestic examination, anthropometrics parameters, leukocyte count, high sensitive C reactive protein-hsCRP, serum adhesive molecules ICAM-1 and VCAM-1 were determined.

Student t test showed no significant difference in average age, waist circumference (OS) and waist/hip ratio (WHR). There was a significant improvement in BMI in patients who underwent 6-week physical training compared to control group ($p < 0.05$). Physical training during 6 weeks did not show any effects on leukocyte count and ICAM-1 levels compared to controls. The exercise training induced reduction in plasma hsCRP levels by 24.9%, $p < 0.001$, (means \pm S.D., paired samples t-test), and reduction in plasma VCAM-1 levels by 9.18%, $p < 0.05$.

Moderate aerobic exercise training resulted in significant reduction of inflammatory state by decreasing CRP and VCAM-1 levels with significant body mass and visceral obesity reduction. All of these exercise-related beneficial changes can contribute to a reduction of the cardiovascular risk in these patients.

Key words: coronary heart disease, inflammation, physical activity

Rad je nagrađen na *INTERNATIONAL STUDENT CONGRESS OF MEDICAL SCIENCES*, kao najbolji rad u sesiji *Movements and The Locomotor System*, Groningen, Holandija, 2010.