

Masao Kanauchi, Takahiro Kawano, Kazuhiro Dohi

# Związek pomiędzy zakażeniem *Chlamydia pneumoniae* a nefropatią cukrzycową

Association of *Chlamydia pneumoniae* infection with diabetic nephropathy

Przedrukowano za zgodą z: *Diabetes Research and Clinical Practice* 2000, 47, 45-48

## STRESZCZENIE

W badaniu oceniano związek pomiędzy zakażeniem *Chlamydia pneumoniae* (CP) a rozwojem nefropatii cukrzycowej. W zależności od zaawansowania rozlanych zmian kłębuszkowych, stosując kryteria Gellmana, 60 chorych na cukrzycę typu 2 podzielono na 2 grupy: z rozpoczynającą się i z zaawansowaną nefropatią cukrzycową. Grupę kontrolną stanowiło 34 chorych na cukrzycę typu 2 bez nefropatii (normoalbuminuria) oraz 59 osób niechorujących na cukrzycę. Stężenie przeciwciał IgG przeciwko CP mierzono za pomocą testu ELISA. Przeciwciała przeciw CP wykryto u 45,8% osób z grupy kontrolnej niechorujących na cukrzycę, u 47,1% chorych na cukrzycę bez nefropatii, u 52,6% chorych na cukrzycę z rozpoczynającą się nefropatią oraz u 78% chorych na cukrzycę z zaawansowaną nefropatią. Obecność przeciwciał przeciw CP powodowała 4,22-krotny wzrost ryzyka wystąpienia zaawansowanej nefropatii. Wyniki badania wskazują na związek pomiędzy przewlekłym zakażeniem CP a zaawansowaną nefropatią cukrzycową.

Słowa kluczowe: *Chlamydia pneumoniae*, nefropatia cukrzycowa, biopsja nerki

## ABSTRACT

We evaluated the association of *Chlamydia pneumoniae* (CP) infection with progression of diabetic nephropathy. Type 2 diabetic patients (60) were divi-

ded into two groups, those with incipient nephropathy and those with advanced nephropathy, based on the severity of diffuse glomerular lesions using Gellman's criteria. Type 2 (34) diabetic patients without nephropathy (normoalbuminuria) and 59 nondiabetics served as control groups. Serum IgG-antibody against CP was measured using ELISA. CP antibody was detected in 45.8% of nondiabetic controls, in 47.1% of diabetic patients without nephropathy, in 52.6% of diabetic patients with incipient nephropathy, and 78% of diabetic patients with advanced nephropathy. There was 4.22-fold increase in the risk of advanced nephropathy associated with the presence of CP antibody. Our findings indicate an association between chronic CP infection and advanced diabetic nephropathy.

Key words: *Chlamydia pneumoniae*, diabetic nephropathy, renal biopsy

## Wstęp

*Chlamydia pneumoniae* (CP) jest uznawana za jeden z trzech gatunków *chlamydii* stanowiących częstą przyczynę zakażeń dróg oddechowych [1]. Publikowane ostatnio wyniki badań wskazują, że CP może się wiązać z rozwojem miażdżycy tętnic wieńcowych oraz tętnic domózgowych i naczyń ośrodkowego układu nerwowego [2-6]. Ciałka elementarne i DNA CP stwierdzano w obrębie blaszek miażdżycowych, jak również w komórkach śródbłonna, mięśni gładkich i w makrofagach [7, 8]. *Chlamydia pneumoniae* bytuje i namnaża się wewnątrz makrofagów. Przewlekłe zakażenie CP, utrzymujące się w makrofagach, prawdopodobnie odgrywa ważną rolę w nasilaniu miażdżycowych pro-

cesów zapalnych i proliferacyjnych. Ponieważ w wielu badaniach wykazano udział makrofagów w patogenie nefropatii cukrzycowej [9], niewykluczone, że przewlekłe zakażenie CP (utrzymujące się wewnątrz makrofagów) ma znaczenie w jej rozwoju. Niniejsze badanie to jako pierwsze ocenia związek pomiędzy obecnością przeciwciał przeciw CP a ryzykiem rozwoju nefropatii cukrzycowej u chorych na cukrzycę typu 2.

## Materiał i metody

W badaniu wzięto udział 60 chorych na cukrzycę typu 2, u których wykonano biopsję nerek. Próbkę pobrane za pomocą przeszkrórną biopsji nerki poddano ocenie przy użyciu mikroskopu świetlnego. Stopień zaawansowania rozlanych zmian kłębuszkowych oceniano na podstawie kryteriów Gellmana [10], klasyfikując je jako: D0, D1, D2, D3 i D4. Na tej podstawie chorych podzielono na dwie grupy: pierwszą — obejmującą pacjentów z rozpoczynającą się nefropatią (D0-1) oraz drugą, do której włączono chorych z zaawansowaną nefropatią (D2-4). Grupę kontrolną stanowiło 34 chorych na cukrzycę bez nefropatii (normoalbuminuria; wielkość wydalania albumin  $< 15 \mu\text{g}/\text{min}$ ) oraz 59 osób bez cukrzycy. Z badania wyłączone chorych z objawami infekcji górnych dróg oddechowych i/lub chorych, którzy otrzymywali antybiotyki tuż przed pobraniem próbek krwi. W tabeli 1 przedstawiono charakterystykę kliniczną każdej z grup. Przeciwciała IgG przeciw CP oznaczano za pomocą testu ELISA (*Hitachi Chemical Co., Ltd., Hitachi, Japonia*). Wynik przeciwciał równy 1,0 uznano za wartość graniczną dla przebytego zakażenia CP.

## Analiza statystyczna

Otrzymane wartości przedstawiono jako średnie  $\pm$  odchylenie standardowe. Analizy statystycznej dokonano przy użyciu nieparametrycznego testu Wilcoxon oraz testu *t*-Studenta. Wartości  $p < 0,05$  uznawano za istotne.

## Wyniki

Badane grupy nie różniły się istotnie w zakresie wieku, częstości nadciśnienia tętniczego, choroby wieńcowej, nałogu palenia tytoniu i wartości stężenia kreatyniny w surowicy. Czas trwania cukrzycy był wyraźnie dłuższy u osób z zaawansowaną nefropatią niż u chorych na cukrzycę bez nefropatii lub z rozpoczynającą się nefropatią. Utrata albumin z moczem była również wyraźnie większa u pacjentów z zaawansowaną nefropatią niż u chorych na cukrzycę bez nefropatii i u osób z rozpoczynającą się nefropatią. Nie stwierdzono różnic w stężeniu  $\text{HbA}_{1c}$  pomiędzy trzema grupami chorych na cukrzycę (tab. 1).

Przeciwciała przeciw CP wykryto u 27 (45,8%) z 59 osób bez cukrzycy z grupy kontrolnej, u 16 (47,1%) z 34 chorych na cukrzycę bez nefropatii, u 10 (52,6%) z 19 chorych z rozpoczynającą się nefropatią oraz u 32 (78,0%) z 41 chorych z zaawansowaną nefropatią cukrzycową. Obecność przeciwciał przeciw CP powodowała 4,22-krotny wzrost ryzyka wystąpienia zaawansowanej nefropatii cukrzycowej (tab. 2). Różnice pomiędzy odsetkiem chorych z obecnymi przeciwciałami przeciw CP płci męskiej i żeńskiej ilustruje tabela 3. Odsetek chorych z zaawansowaną nefropatią, u których stwierdzono przeciwciała przeciw CP był podobny u mężczyzn i u kobiet.

Tabela 1. Charakterystyka kliniczna osób z grupy kontrolnej bez cukrzycy, chorych na cukrzycę bez nefropatii oraz chorych z rozpoczynającą się i z zaawansowaną nefropatią cukrzycową<sup>a</sup>

	Grupa kontrolna bez cukrzycy	Chorzy na cukrzycę		
		bez DN	rozpoczynającą się DN	z zaawansowaną DN
Kobiety/mężczyźni	39/20	26/8	16/3	29/12
Wiek (lata)	59,0 $\pm$ 7,9	56,8 $\pm$ 7,8	56,1 $\pm$ 8,6	57,9 $\pm$ 8,7
Czas trwania cukrzycy (lata)	–	3,9 $\pm$ 3,8	3,7 $\pm$ 3,4	11,3 $\pm$ 7,8 <sup>b,c</sup>
Nadciśnienie tętnicze (%)	54	29	41	45
CAD (%)	60	58	64	45
Palenie tytoniu (%)	51	49	45	48
UAE [mg/d.]	–	10 $\pm$ 4	47 $\pm$ 23	1129 $\pm$ 370 <sup>d,e</sup>
Stężenie kreatyniny [mg/dl]	0,68 $\pm$ 0,20	0,71 $\pm$ 0,26	0,79 $\pm$ 0,19	1,09 $\pm$ 0,99
HbA <sub>1c</sub> (%)	–	7,62 $\pm$ 1,84	7,42 $\pm$ 1,73	8,04 $\pm$ 2,09

<sup>a</sup> DN — nefropatia cukrzycowa, CAD — choroba wieńcowa, UAE — wydalanie albumin z moczem; <sup>b</sup>  $p < 0,01$  w porównaniu z pacjentami bez DN; <sup>c</sup>  $p < 0,001$  w porównaniu z pacjentami z rozpoczynającą się DN; <sup>d</sup>  $p < 0,01$  w porównaniu z pacjentami bez DN; <sup>e</sup>  $p < 0,05$  w porównaniu z pacjentami z rozpoczynającą się DN

Tabela 2. Związek pomiędzy obecnością przeciwciał przeciw *Chlamydia pneumoniae* a nefropatią cukrzycową

Grupa kontrolna bez cukrzycy (n)		Chorzy na cukrzycę					
		bez DN		z rozpoczynającą się DN		z zaawansowaną DN	
		n	OR (95% CI)	n	OR (95% CI)	n	OR (95% CI)
CP (-)	32	18	1,0	9	1,0	9	1,0
CP (+)	27	16	1,05 (0,45–2,45)	10	1,32 (0,47–3,72)	32	4,22 (1,71–10,38)

<sup>a</sup> DN — nefropatia cukrzycowa; OR — iloraz szans; CP — przeciwciała przeciwko *Chlamydia pneumoniae*

Tabela 3. Różnica pomiędzy odsetkiem chorych z obecnością przeciwciał przeciw *Chlamydia pneumoniae* u mężczyzn i u kobiet<sup>a</sup>

Płeć	Grupa kontrolna bez cukrzycy (%)	Chorzy na cukrzycę		
		bez DN	z rozpoczynającą się DN	z zaawansowaną DN
Mężczyźni	48,7	46,1	56,3	79,3 <sup>b,d</sup>
Kobiety	40,0	50,0	33,3	75,0 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> DN — nefropatia cukrzycowa; <sup>b</sup>  $p < 0,01$  w porównaniu z grupą kontrolną bez cukrzycy; <sup>c</sup>  $p < 0,05$  w porównaniu z grupą kontrolną bez cukrzycy; <sup>d</sup>  $p < 0,01$  w porównaniu z pacjentami bez DN

## Dyskusja

W badaniu stwierdzono obecność przeciwciał IgG przeciw CP u 45,8% osób z grupy kontrolnej bez cukrzycy oraz u 78,0% chorych z zaawansowaną nefropatią cukrzycową. Ryzyko rozwoju zaawansowanej nefropatii cukrzycowej było 4,22 razy większe u chorych na cukrzycę, u których wykryto przeciwciała przeciw CP wskazujące na przebyte zakażenie, niż u chorych na cukrzycę z negatywnym testem na obecność przeciwciał. Według dostępnych danych częstość przeciwciał przeciw CP w populacji ogólnej wynosi: około 40% w Kanadzie, 50% w Japonii, 60% w Belgii, Niemczech, Tajwanie, Panamie, Finlandii i innych krajach skandynawskich [11, 12]. Dane epidemiologiczne potwierdzają zatem związek pomiędzy podwyższonym mianem przeciwciał przeciw CP a zaawansowaną nefropatią cukrzycową.

W dotychczas przeprowadzonych badaniach wykazano, że częstość występowania przeciwciał przeciw CP jest również większa u osób z chorobą wieńcową i wynosi 67% [3], w przypadku chorych z miażdżycą tętnic szyjnych — 73% [4], zaś u pacjentów z miażdżycą naczyń ośrodkowego układu nerwowego — 74% [6]. Jednakże częstość choroby wieńcowej była podobna we wszystkich badanych grupach. W żadnej z grup nie stwierdzono przypadków udaru mózgu.

W badaniu liczba kobiet z zaawansowaną nefropatią była większa od liczby pacjentek z rozpoczynającą się nefropatią. Nie wiadomo, dlaczego zaobserwowano tego rodzaju różnice. Niemniej jednak odsetek chorych z zaawansowaną nefropatią cukrzycową, u których stwierdzono obecność przeciwciał przeciw CP, był podobny u kobiet i u mężczyzn.

Mechanizm leżący u podłoża rozwoju nefropatii cukrzycowej w przebiegu zakażenia CP nie stanowił przedmiotu badania. Przewlekłe zakażenie CP może jednak wpływać na rozwój nefropatii cukrzycowej poprzez kilka czynników. Być może CP namnaża się w makrofagach wewnątrzkrębuszkowych na podobnej zasadzie jak w makrofagach pęcherzyków płucnych. Uważa się, że lipopolisacharydowy składnik ściany komórkowej chlamydii wywołuje uwalnianie takich cytokin, jak: TNF- $\alpha$ , interleukina 1 (IL-1) czy interleukina 6 (IL-6) [13]. Przewlekłe zakażenie CP może także stymulować wytwarzanie takich czynników wzrostu, jak płytkowopochodny czynnik wzrostu. Ciągłe uwalnianie cytokin i czynników wzrostu w przebiegu przewlekłego zakażenia CP może się przyczyniać do uszkodzenia kłębuszków nerkowych. Rozważano także możliwość związku między zakażeniem CP a niedrożnością naczyń [6]. Dlatego też zmiany niedokrwienne mogą być istotnym czynnikiem ryzyka uszkodzenia kłębuszków nerkowych.

Uzyskane wyniki wskazują na konieczność badań nad związkiem pomiędzy przewlekłym zakażeniem CP a zaawansowaną nefropatią cukrzycową.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Grayston J.T., Kuo C.C., Cambell L.A., Wang S.P.: *Chlamydia pneumoniae* sp. nov. for *Chlamydia* sp. strain TWAR. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1989; 39: 88–90.
2. Saikku P., Leinonen M., Tenkanen L. i wsp.: Chronic *Chlamydia pneumoniae* infection as a risk factor for coronary heart disease in the Helsinki Heart Study. *Ann. Intern. Med.* 1992; 116: 273–278.
3. Thom D.H., Grayston J.T., Siscovick D.S. i wsp.: Association of prior infection with *Chlamydia pneumoniae* and angiographically demonstrated coronary artery disease. *J. Am. Med. Assoc.* 1992; 268: 68–72.
4. Melnick S., Shahar E., Folsom A.R. i wsp.: Past infection by *Chlamydia pneumoniae* strain TWAR and asymptomatic carotid atherosclerosis. *Am. J. Med.* 1993; 95: 499–504.
5. Grayston J.T., Kuo C.C., Coulson A.S. i wsp.: *Chlamydia pneumoniae* in atherosclerosis of the carotid artery. *Circulation*, 1995; 92: 3397–3400.
6. Wimmer M.L.J., Sandmann-Strupp R., Saikku P., Haberl R.L.: Association of chlamydial infection with cerebrovascular disease. *Stroke* 1996; 27: 2207–2210.
7. Kuo C.C., Grayston J.T., Cambell L.A., Goo Y.A., Wissler R.W., Benditt E.P.: *Chlamydia pneumoniae* in coronary arteries of young adults. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995; 92: 6911–6914.
8. Muhlestein J.B., Hammond E.H., Carlquist J.F. i wsp.: Increased incidence of *Chlamydia* species within the coronary arteries of patients with symptomatic atherosclerosis versus other forms of cardiovascular disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1996; 27: 1555–1561.
9. Furuta T., Saito T., Ootaka T. i wsp.: The role of macrophages in diabetic glomerulosclerosis. *Am. J. Kidney Dis.* 1993; 21: 480–485.
10. Gellman D.D., Pirani C.L., Soothill J.F., Muehrcke R.C., Kark R.M.: Diabetic nephropathy; a clinical and pathologic study based on renal biopsies. *Medicine* 1959; 38: 312–367.
11. Grayston J.T., Cambell L.A., Kuo C.C. i wsp.: A new respiratory tract pathogen; *Chlamydia pneumoniae* strain TWAR. *J. Infect. Dis.* 1990; 161: 618–625.
12. Kanamoto Y., Ouchi K., Mizti M., Ushio M., Usui T.: Prevalence of antibody to *Chlamydia pneumoniae* TWAR in Japan. *J. Clin. Microbiol.* 1991; 29: 816–818.
13. Kaukoranta-Tolvanen S.S., Teppo A.M., Leinonen M., Saikku P., Laitinen K.: *Chlamydia pneumoniae* induces the production of TNF- $\alpha$ , IL-1, and IL-6 by human monocytes. *Proc. Eur. Soc. Chlamydia Res.* 1992; 2: 85.