Streszczenie pracy doktorskiej mgr Mirosława Janczury

Promotor: dr hab. Teresa Domagała

Temat pracy doktorskiej: *„Metabolic syndrome, individual risk factors for ischemic heart disease, and biochemical markers of atherosclerosis – a cohort-based study"*
(„Zespół metaboliczny, indywidualne czynniki ryzyka choroby niedokrwiennej serca oraz biochemiczne markery miażdżycy – badanie kohortowe") **– cykl publikacji**

Zgrupowanie wzajemnie powiązanych czynników ryzyka chorób serca i naczyń (ChSiN) pochodzenia metabolicznego, tj., otyłości brzusznej, ciśnienia tętniczego ≧85/≧130, dyslipidemii (małe stężenie cholesterolu HDL, lub/i duże stężenie triglicerydów) oraz hiperlikemii określa się terminem „zespół metaboliczny" (MetS). Około jedna czwarta światowej populacji ma MetS, oraz jego występowanie w krajach rozwiniętych systematycznie się zwiększa, będąc jednym z kluczowych wyzwań dla sektora zdrowia publicznego, ze względu na zwiększone ryzyko rozwoju ChSiN oraz cukrzycy typu 2 u osób z MetS. Otyłość, zwłaszcza otyłość trzewna, jest kluczowym czynnikiem rozwoju insulinooporności (IR), i często na wiele lat wyprzedza inne zaburzenia metaboliczne składające się na kliniczny obraz MetS i ogólne ryzyko ChSiN. Indywidualny styl życia, a szczególnie brak aktywności fizycznej, złe nawyki żywieniowe, stres psychologiczny, predysponują do rozwoju MetS, oraz zwiększają ryzyko zachorowalności i śmiertelności z powodu ChSiN. Z pośród czynników środowiskowych, zwiększa się rola stresu psychologicznego w patogenezie nadciśnienia tętniczego, IR, cukrzycy typu 2 oraz MetS, również w związku ze zmienionym indywidualnym stylem życia i szybkim tempem postępu technologicznego.

Chociaż stresory psychologiczne wpływają na szeroki zakres procesów fizjologicznych, to jednak, długotrwały stres psychologiczny może być powiązany z czynnikami promującymi rozwój miażdżycy (dysfunkcja śródbłonka, stan zapalny, oraz stres oksydacyjny). Zawód policjanta jest uważany jest za jeden z najbardziej stresujących zawodów, ze względu na powtarzające się narażenie na duże obciążenie pracą oraz liczne bezpośrednie zagrożenia życia podczas pełnienia służby.

Cele badania

1. Czy MetS i jego składowe, a także inne czynniki ryzyka ChSiN są związane z obecnością blaszek miażdżycowych w tętnicach wieńcowych. Badano również czy stres psychologiczny jest związany zarówno z MetS, jak i z obecnością blaszki miażdżycowej

2. Ocena związków między wskaźnikami stresu psychologicznego (postrzegany stres, kortyzol) z markerem (8-izo-prostaglandyna $F_{2\alpha}$, 8-izo-$PGF_{2\alpha}$) stresu oksydacyjnego i występowaniem IR.
3. Ustalenie związków pomiędzy występowaniem klinicznych zmiennych (nadciśnienie, otyłość, blaszka w tętnicach wieńcowych, wartość cIMT) oraz stężeniem 8-izo-$PGF_{2\alpha}$ w osoczu z liczbą składowych MetS.
4. Ocena związków pomiędzy postrzeganym stresem, składowymi MetS, stężeniem 8-izo-$PGF_{2\alpha}$ w osoczu, oraz z występowaniem nadciśnienia, oraz czy badane związki są związane z płcią.
5. Ocena poziomu aktywności fizycznej oraz jego związek z występowaniem MetS, oraz poszczególnymi jego składowymi.

Metody

Przeprowadzono przekrojowe badanie kohorty funkcjonariuszy policji (n=243), którzy zgłosili się do Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie, w celu wykonania kompleksowych badań klinicznych i laboratoryjnych, ze szczególnym uwzględnieniem chorób układu krążenia. MetS definiowano zgodnie z kryteriami zaproponowanymi przez *International Diabetes Federation* (IDF). Stres psychologiczny oceniano poprzez pomiar postrzeganego stresu oraz pomiar kortyzolu w moczu. Do pomiaru postrzeganego stresu stosowano skalę PSS-10 (*Perceived Stress Scale-10*). Testy kliniczne obejmowały elektrokardiografię wysiłkową, koronarografię metodą tomografii komputerowej, badania ultrasonograficzne zastępczych wskaźników miażdżycy (odpowiedzi rozkurczowej tętnicy ramiennej [*flow-mediated dilation*, FMD], oraz pomiar grubości kompleksu błony wewnętrznej-środkowej tętnicy szyjnej [*carotid intima-media thickness*, cIMT]). Do oceny aktywności fizycznej wykorzystano kwestionariusz aktywności fizycznej (*International Physical Activity Questionnaire-Long Form*, IPAQ-LF). Badania laboratoryjne obejmowały badania podstawowe, pomiar stężenia białka CRP, insuliny, oraz markera stresu oksydacyjnego (8-izo-prostaglandyna $F_{2\alpha}$, 8-izo-$PGF_{2\alpha}$).

Wyniki

Spośród 243 osób u których przeprowadzono badania lekarskie, ostatecznie 235 (19 kobiet) czynnych zawodowo policjantów, wieku 27-56 lat, uznano za w pełni spełniające kryteria włączenia do badania. Stwierdzono częste występowanie tradycyjnych czynników

ryzyka ChSiN. Nadwaga, otyłość, dyslipidemia, oraz nadciśnienie tętnicze występowały u około 43%, 44%, 51%, 47% osób odpowiednio, natomiast ponad 33% badanych było aktualnie palącymi papierosy. W oparciu o kryteria IDF, MetS występował u ponad 46% badanych. W grupie osób z MetS, częściej występowała miażdżyca tętnic wieńcowych (p=0,007) oraz istotnie większa była średnia wartość cIMT (p=0,0002), w porównaniu do osób bez MetS. Wykazano większe średnie stężenie CRP w grupie osób z MetS (p=0,0001) i dodatni związek CRP z 8-izo-$PGF_{2\alpha}$ oraz z innymi zmiennymi (obwód talii, ciśnienie tętnicze, oraz HOMA-IR) [Publikacja nr 1, Publikacja nr 3].

Ilość składowych MetS zwiększała się z wiekiem. Zgrupowanie 2 i 3 składowych MetS występowało najczęściej (odpowiednio 24,46% i 24,90%) i klaster obejmujący zwiększone wartości "obwodu talii, ciśnienia tętniczego i triglicerydów" stwierdzono u 72 (69,23%) osób z MetS [Publikacja nr 3]. Miażdżyca tętnic wieńcowych była silniej związana ze współistnieniem klasycznych czynników ryzyka ChSiN (OR=5,65, p=0,03 oraz OR=9,05, p=0,02, odpowiednio dla 3 i 6 czynników ryzyka) niż z MetS (OR=2,62, p=0,01). Ponadto, zmiennymi również zwiększającymi szansę wystąpienia miażdżycy tętnic wieńcowych były: postrzegany stres (OR=1,05, p=0,04), wiek (OR=1,11, p=0,006), a z pośród składowych MetS zwiększone ciśnienie tętnicze (OR=1,05, p=0,009). Wartość cIMT dodatnio korelowała z wieloma czynnikami ryzyka miażdżycy, stężeniem CRP, natomiast ujemnie z FMD tętnicy ramiennej [Publikacja nr 1].

Średni poziom postrzeganego stresu był istotnie większy u osób z MetS w porównaniu do osób bez MetS (p=0,03). Postrzegany stres korelował dodatnio z obwodem talii (r=0,17, p=0,03), stężeniem triglicerydów w osoczu (p=0,002) oraz ciśnieniem tętniczym (p=0,01; p=0,03; skurczowym i rozkurczowym odpowiednio) oraz zwiększał szansę wystąpienia MetS (OR=1,07, p=0,03) [Publikacja nr 1]. Stwierdzono dodatni związek między stężeniem kortyzolu i postrzeganym stresem (B=2,15, p=0.03), oraz że oba wskaźniki stresu psychologicznego były związane ze stężeniem 8-izo-$PGF_{2\alpha}$ w osoczu (B=0,139, p=0,002, oraz B=0,007, p=0,03; dla postrzeganego stresu oraz kortyzolu, odpowiednio). Ponadto, kortyzol i marker stresu oksydacyjnego były dodatnio związane z HOMA-IR (0,003, p=0,02, oraz B=0,069, p=0,01), oraz w jednoczynnikowych modelach regresji logistycznej zwiększały szansę wystąpienia IR (OR=1.007, p=0,002 oraz OR=1,10, p=0,02), dla kortyzolu i 8-izo-$PGF_{2\alpha}$, odpowiednio. Oprócz cholesterolu HDL, pozostałe składowe MetS miały wpływ na wystąpienie IR, ale najpilniejszy związek stwierdzono dla obwodu talii (OR=4,96, p<0,0004) [Publikacja nr 2].

Częstość występowania blaszek miażdżycowych, otyłości i nadciśnienia tętniczego oraz mediana cIMT, różniły się istotnie między podgrupami wyodrębnionymi ze względu na status składowych MetS. Mediana [zakres między kwartylowy] stężeń 8-izo-$PGF_{2\alpha}$ w osoczu była istotnie większa w grupie osób z MetS w porównaniu do pozostałych (8,32 [5,93-10,20] pg/mL *vs.* 6,37 [4,60-8,47] pg/mL, p=0,0001). Stwierdzono że stężenie 8-izo-$PGF_{2\alpha}$ było związane z liczbą składowych MetS (p=0,003), a największe stężenia występowały u osób z 3 i ≥4 składowymi, w porównaniu do osób nie mających składowych MetS. Ponadto, wykazano, że związek postrzeganego stresu z 8-izo-$PGF_{2\alpha}$ w osoczu, oraz wpływ tych zmiennych i obwodu talii na występowanie nadciśnienia tętniczego były jednoznacznie związane z płcią [Publikacja nr 3].

Z pośród różnych dziedzin aktywności fizycznej (czas wolny, zajęcia domowe i ogrodnicze, aktywność związana z pracą i transportem), tylko aktywność w czasie wolnym zmniejszała szansę wystąpienia MetS (OR=0,98, p=0,02). Stwierdzono, że w porównaniu do osób bez składowych MetS, poziom aktywności fizycznej w czasie wolnym był istotnie mniejszy w podgrupie osób z 3 i ≥4 składowymi MetS (p=0,003 oraz p=0,03). Ponadto, aktywność fizyczna w czasie wolnym i aktywność fizyczna związana z całkowitym chodzeniem były ujemnie związane z obwodem talii (B=-0,074, p=0,04 oraz B=-0,32, p=0,02) oraz stężeniem triglicerydów (B=-0,01, p=0,04 oraz B=-0,04, p=0,03) w osoczu [Publikacja nr 1, Publikacja nr 3].

W podsumowaniu, przeprowadzone badania wykazały częste występowanie tradycyjnych czynników ryzyka ChSiN u policjantów, oraz że stres psychologiczny ma związek z występowaniem składowych MetS, tj. otyłością, nadciśnieniem tętniczym oraz IR. Uzyskane wyniki wskazują na złożone mechanizmy rozwoju MetS, oraz że postrzegany stres, aktywność fizyczna oraz czynniki metaboliczne, takie jak stan zapalny i stres oksydacyjny, mogą również odgrywać rolę w grupowaniu się czynników ryzyka ChSiN.

Summary

The grouping of interrelated CVD risk factors of metabolic origin, i.e. abdominal obesity, blood pressure ≧85/≧130, dyslipidemia (low HDL cholesterol and/or high triglyceride levels), and hyperglycemia, is referred to as "metabolic syndrome" (MetS). Approximately a quarter of the world's population is affected by MetS, and its prevalence in the developed countries is steadily on the rise, being one of the key challenges for the public health sector; this principally owing to the higher risk of CVD and type 2 diabetes established in the individuals affected by MetS. Obesity, especially of the visceral type, is the key factor in the development of insulin resistance (IR), and often precedes for many years a full development of other metabolic disorders, which collectively comprise the clinical picture of MetS and overall risk of CVD. Individual lifestyle, especially physical inactivity, poor dietary habits, and psychological stress, predispose to the development of MetS, and increase overall risk of morbidity and mortality linked to CVD. Out of the environmental factors, the role of psychological stress in the origin and development of hypertension, IR, diabetes, and MetS is on the rise, also partly owing to altered lifestyle and rapid pace of technological advances.

Although psychological stressors affect a wide range of physiological processes, the long-term psychological stress may be associated with the factors promoting the development of atherosclerosis (i.e. endothelial dysfunction, inflammation, and oxidative stress). Being a police officer is regarded as one of the most stressful occupations, primarily in view of the repeated exposure to high workloads and numerous immediate threats to life, while on duty.

.

Objectives of the study

1. To establish whether MetS and its components, as well as other CVD risk factors, are associated with the presence of atherosclerotic plaques in coronary arteries. We also examined whether psychological stress is associated with both MetS and the presence of atherosclerotic plaques.
2. To assess the associations between psychological stress indices (perceived stress, cortisol) with marker (8-iso-prostaglandin $F_{2\alpha}$, 8-iso-$PGF_{2\alpha}$) of oxidative stress and the incidence of IR.
3. To find out whether there is an association between the prevalence of clinical variables (i.e. hypertension, obesity, plaque, cIMT), and plasma 8-iso-$PGF_{2\alpha}$ concentration, relative to the actual number of MetS components.

4. To assess the associations between perceived stress, MetS components, plasma 8-iso-PGF2α concentrations, with the prevalence of hypertension, whilst also try to establish whether the associations under study are in any way related to gender.
5. To assess the level of physical activity and its association with the incidence of MetS, and its individual components.

Methods

A cross-sectional study was conducted on a cohort of police officers (n=243) who reported to the University Hospital in Krakow for comprehensive clinical exams and lab testing, with its principal focus set on cardiovascular disease. MetS was defined in line with the criteria proposed by the International Diabetes Federation (IDF). Psychological stress was assessed by assessing perceived stress and measuring urinary cortisol. The Perceived Stress Scale-10 (PSS-10) was applied to assess the perceived stress. Clinical tests comprised exercise electrocardiography, computed tomography coronary angiography, and ultrasound studies of surrogate indicators of atherosclerosis (brachial artery diastolic response [*flow-mediated dilation*, FMD], and *carotid intima-media thickness* [cIMT]). The International Physical Activity Questionnaire-Long Form (IPAQ-LF) was used to assess individual physical activity. Laboratory investigations comprised baseline tests, measurement of CRP protein, insulin, and oxidative stress marker (8-iso-prostaglandin F2α, 8-iso-PGF2α).

Results

Out of 243 subjects, who underwent medical exams, ultimately 235 active police officers (aged 27-56 years; 19 women), were established as fully compliant with the inclusion criteria for the study protocol. Traditional risk factors for CVD were established to be prevalent. Overweight, obesity, dyslipidemia, and hypertension were present in approximately 43%, 44%, 51%, 47% of subjects, respectively, while more than 33% of respondents were current cigarette smokers. Based on the IDF criteria, MetS was encountered in more than 46% of the subjects. In the MetS group, coronary atherosclerosis was more common (p=0.007), and mean cIMT was significantly higher (p=0.0002), as compared to those unaffected by MetS. Higher mean CRP levels were established in the MetS group (p=0.0001), and a positive association of CRP with 8-iso-$PGF_{2\alpha}$, as well as with the other variables (e.g. waist circumference, blood pressure, and HOMA-IR) [Publication 1, Publication 3]. The number of MetS components increased with age. The clustering of MetS components 2 and 3 was

encountered most frequently (24.46% and 24.90%, respectively), whereas the cluster comprising the increased values of "waist circumference, blood pressure, and triglycerides" was encountered in 72 (69.23%) individuals affected by MetS [Publication 3].

Coronary atherosclerosis was more strongly associated with the coexistence of classical CVD risk factors (OR=5.65, p=0.03 and OR=9.05, p=0.02, for 3 and 6 risk factors, respectively), than with MetS (OR=2.62, p=0.01). Furthermore, the variables also accountable for increasing the chance of coronary atherosclerosis were established to be the perceived stress (OR=1.05, p=0.04), age (OR=1.11, p=0.006), whereas out of the MetS components – with the increased blood pressure (OR=1.05, p=0.009). The cIMT value positively correlated with multiple atherosclerosis risk factors, CRP levels, whereas negatively - with the brachial artery FMD [Publication 1]. The mean level of perceived stress was significantly higher in those affected by MetS, as compared to the unaffected ones (p=0.03). Perceived stress correlated positively with waist circumference (r=0.17, p=0.03), plasma triglyceride levels (p=0.002), and blood pressure (p=0.01; p=0.03; systolic and diastolic, respectively) and increased the chance of MetS (OR=1.07, p=0.03) [Publication 1].

Positive association between cortisol levels and perceived stress (B=2.15, p=0.03) was established, as well as that both psychological stress markers were associated with plasma 8-iso-PGF2α levels (B=0.139, p=0.002, and B=0.007, p=0.03; for perceived stress and cortisol, respectively). Furthermore, cortisol and the marker of oxidative stress were positively associated with HOMA-IR (0.003, p=0.02, and B=0.069, p=0.01), whereas in the logistic univariate regression models increased the chance of IR (OR=1.007, p=0.002, and OR=1.10, p=0.02), for cortisol and 8-iso-PGF2α, respectively. Apart from HDL cholesterol, other MetS components affected the incidence of IR, but the most immediate association was established for waist circumference (OR=4.96, p<0.0004) [Publication 2].

The prevalence of atherosclerotic plaques, obesity, and hypertension, and the median cIMT, differed significantly between the sub-groups stratified by MetS component status. Median [interquartile range] plasma 8-iso-$PGF_{2\alpha}$ concentrations were significantly higher in the MetS group, as compared to other groups (8.32 [5.93-10.20] pg/mL vs. 6.37 [4.60-8.47] pg/mL, p=0.0001). It was established that 8-iso-PGF2α concentrations were associated with the number of MetS components (p=0.003), and the highest concentrations were encountered in the subjects affected by 3 and ≥4 components, compared to those unaffected by them. Furthermore, the association of perceived stress with plasma 8-iso-PGF2α and the effects of

these variables and waist circumference on the prevalence of hypertension were uniquely associated with gender [Publication 3].

Out of diverse types of physical activity (leisure time, household and gardening activities, work-related activities, and transportation), only the leisure time activity reduced the chance of MetS (OR=0.98, p=0.02). In comparison to the subjects unaffected by any MetS components, the leisure-time physical activity levels were significantly lower in the sub-group of subjects affected by 3 and ≥4 MetS components (p=0.003 and p=0.03). Furthermore, the leisure-time physical activity and total walking physical activity were negatively associated with waist circumference (B=-0.074, p=0.04 and B=-0.32, p=0.02) and plasma triglyceride levels (B=-0.01, p=0.04 and B=-0.04, p=0.03) [Publication 1, Publication 3].

In conclusion, the present study showed a high prevalence of traditional risk factors for CVD in police officers, as well as highlighted that psychological stress was related to the presence of MetS components, i.e. obesity, hypertension, and IR. The results are clearly indicative of complex mechanisms for the development of MetS, and that the perceived stress, physical activity, and metabolic factors such as inflammation and oxidative stress, may also be instrumental in the clustering of CVD risk factors.