

Показатели тромбоцитарного гемостаза и дисфункции эндотелия у пациентов с сахарным диабетом с диабетической нефропатией

О.Ф.Сибирева, О.И.Уразова, В.В.Калюжин

Областное государственное учреждение здравоохранения
«Томская областная клиническая больница» (главный врач — М.Н.Заюков)
Томск, Россия

У больных сахарным диабетом имеются биохимические признаки дисфункции эндотелия, проявляющиеся повышением концентрации в крови эндотелина-1, которое особенно выражено при диабетической нефропатии. Несмотря на очевидное повреждение эндотелия у больных сахарным диабетом, отягощенным диабетической нефропатией, индуцированная ристомизином агрегация тромбоцитов не претерпевает закономерных изменений, поэтому говорить о повышении активности фактора фон Виллебранда как о надежном маркере эндотелиальной дисфункции у этих пациентов не представляется возможным.

Ключевые слова: сахарный диабет, диабетическая нефропатия, коагуляция.

Введение

С момента публикации в 1980 г. революционной работы R.F.Furchgott и J.V.Zavadzki [23], посвященной эндотелийзависимому фактору релаксации, являющемуся аргининовым производным окиси азота, отмечается устойчиво возрастающий интерес к изучению роли аномалий эндотелиальных клеток в развитии органной патологии, в частности нефропатии, у больных сахарным диабетом (СД) [16, 32, 33, 35]. Вследствие высокой нестабильности оксида азота [25] в качестве косвенного маркера дисфункции эндотелия у больных СД, характеризующейся депрессией синтеза эндотелиальных факторов релаксации и повышением концентрации в крови вазоконстрикторов, а также прокоагулянтов, в большинстве научных работ рассматривают нарушение эндотелийзависимой релаксации резистивных артерий (плечевой или лучевой) в ответ на различные стимулы (например, на реактивную гиперемию) [5, 6, 8, 19, 22, 27, 34], в то время как о клиническом, диагностическом и прогностическом значении биохимических признаков дисбаланса паракринно-аутокринной активности эндотелиоцитов известно меньше [1, 18, 20, 29].

Целью исследования было изучить степень повышения содержания фактора фон Виллебранда и уровня эндотелина-1 в плазме кро-

ви в подгруппах больных сахарным диабетом, сформированных в зависимости от типа болезни и наличия фенотипа с поражением почек.

Материалы и методы исследования

В работе использованы данные, полученные при обследовании в стационарных условиях (показаниями к госпитализации являлись выраженная декомпенсация углеводного обмена или прогрессирование сосудистых осложнений) 176 больных СД, наблюдавшихся в отделении эндокринологии Областного государственного учреждения здравоохранения «Томская областная клиническая больница». У 65 пациентов был диагностирован СД I типа (СД I), у 111 — СД II типа (СД II). Программа исследования включала рутинные клинические и лабораторные тесты, принятые в эндокринологической и нефрологической клиниках. Диабетическая нефропатия (ДН) III-IV стадий по классификации С.Е.Могенсен и соавт. (1995) [31] верифицирована у 36 (55,4%) больных СД I и 52 (46,8%) пациентов с СД II. Диагноз ДН устанавливался при наличии микроальбуминурии или протеинурии. Начинающуюся ДН (III стадия) диагностировали при уровне альбуминурии от 30 до 300 мг в сутки, выраженную ДН (IV стадия) — при бо-

лее высоких значениях суточной потери белка с мочой. У всех пациентов с ДН азотовыделительная функция почек была сохранена. Клиническая характеристика обследованных больных представлена в табл. 1.

В качестве маркеров дисфункции эндотелия рассматривали активность фактора фон Виллебранда и концентрацию эндотелина-1 в крови. Определение активности фактора фон Виллебранда выполняли по методике, описанной в руководстве З.С.Баркагана и А.П.Мамота «Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза» (2001) [4]. Для определения концентрации эндотелина-1 в крови использовали иммуноферментные наборы «Эндотелин 1-21» фирмы «Biomedica Gruppe» (Австрия) для количественного определения эндотелина-1, также определяли количество тромбоцитов и изучали индуцированную (адреналином в концентрации 0,5 мкМ и ристомидином в концентрации 3,75 мг/мл) агрегацию последних на агрегометре AP 2110 AMS 600 (Россия, Санкт-Петербург) [10]. Для суждения о нормальных параметрах изучаемых показателей обследовано 30 здоровых лиц (контрольная группа).

При статистической обработке данных применяли пакет программ STATISTICA 6.0 (StatSoft, Inc.). Количественные данные представлены в виде медианы, 25 и 75 процентилей (Me [LQ;UQ]), качественные — в виде n, % (число больных с данным признаком, процент от их количества в группе). В процедуре группового сравнения использовали Kruskal-Wallis ANOVA статистику. При отклонении нулевой гипотезы в ходе непараметрического дисперсионного анализа проводили парное сравнение групп с использованием Mann-Whitney U-теста и поправки Бонферрони на число парных сравнений.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты исследования показателей тромбocyтарного гемостаза и концентрации эндотелина-1 в крови в подгруппах больных СД, сформированных в зависимости от типа болезни и наличия ДН, представлены в табл. 2.

Следует отметить, что количество тромбоцитов у больных СД обоих типов было статистически значимо ниже, чем в группе контроля ($p < 0,05$), особенно это касалось пациентов с СДII, отягощенным ДН (на 34,7%). Можно предположить, что данное снижение связано с недостаточной выработкой тромбопоэтина у этих больных либо с элиминацией из кровотока большого количества необратимоактивированных тромбоцитов [2]. Известно, что гипергликемия вызывает гликолизирование белковых компонентов клеточных мембран, в частности тромбоцитов, что приводит к снижению их количества за счет сокращения продолжительности жизни [3, 7].

Агрегация тромбоцитов с ристомидином при СДII повышена по сравнению с контролем и аналогичными показателями в группе больных СДИ (на 29,6% и 23,6% соответственно; $p < 0,05$), в то время как адреналин-индуцированная агрегация снижена во всех группах пациентов с СД ($p < 0,05$). В научной литературе есть данные как о повышении, так и о снижении адгезивно-агрегационных свойств тромбоцитов у больных СД [2, 7, 28]. Полярность результатов исследования зависящего от функционального состояния эндотелия сосудисто-тромбocyтарного гемостаза, по-видимому, связана с наличием в кровотоке пациентов стимулированных, опустошенных тромбоцитов и определенного количества интактных кровяных пластинок. В ответ на добавление агонис-

Таблица 1

Клиническая характеристика больных сахарным диабетом

Показатель	Пациенты с СДИ (n=65)	Пациенты с СДII (n=111)
Возраст, годы	34,45 (25; 47)	51,09 (54; 68)
Мужчины / женщины, n (%)	36 (55,4) / 29 (44,6)	32 (28,8) / 79 (71,2)
Длительность СД, годы	14,21 (7; 19)	13,01 (7; 20)
Степень тяжести СД, n (%)		
Средней степени	21 (32,3)	31 (27,9)
Тяжелое течение	44 (67,7)	80(72,1)
Стадия ДН, n (%*)		
III	9 (25,0)	24 (21,6)
IV	27 (75,0)	87 (78,4)
Индекс массы тела, кг/м ²	23,1 (20; 27)	29,0 (25; 33)
Скорость клубочковой фильтрации, мл/мин	82,0 (76; 89)	83,0 (76; 90)

Примечание: * — в подгруппе пациентов с ДН.

Таблиця 2

Сравнительная характеристика показателей тромбоцитарного гемостаза и концентрация эндотелина-1 в крови в подгруппах больных СД, сформированных в зависимости от наличия ДН (Me [LQ; UQ])

Показатели	Контроль (n=30)	СД		СДII	
		с ДН (n=36)	без ДН (n=29)	с ДН (n=52)	без ДН (n=59)
Количество тромбоцитов, Г/л	304,3 (260,1; 353,3)	219,5 (173,4; 272,0) p<0,05	229,8 (189,0; 263,0) p<0,05	198,6 (164,0; 221,0) p<0,05	220,4 (177,1; 262,1) p<0,05
Степень агрегации тромбоцитов с ристомидином, %	97,5 (89,0; 112,0)	102,0 (96,0; 110,2) p2<0,05	99,5 (98,9; 106,3)	128,5 (123,0; 134,0) p<0,05	124,0 (114,0; 132,0) p<0,05
Степень агрегации тромбоцитов с адреналином, %	96,6 (70,8; 85,9)	54,0 (13,4; 85,8) p<0,05p2<0,005	54,5 (11,3; 88,9) p<0,05	27,6 (5,0; 58,8) p<0,001	38,3 (8,1; 68,3) p<0,001; p2<0,05
Скорость агрегации тромбоцитов за 30 сек., %/мин.	12,4 (7,2; 16,2)	12,6 (9,5; 21,0) p2<0,05	13,6 (9,3; 27,8)	9,1 (5,6; 10,2) p<0,05	8,5 (5,8; 12,8) p<0,05
Время агрегации тромбоцитов, мин.	8,6 (8,1; 9,3)	8,3 (7,4; 9,3)	9,2 (7,3; 11,0)	7,7 (7,5; 8,5)	7,3 (5,8; 9,1) p<0,05
Фактор фон Виллебранда, %	103,7 (92,0; 115,5)	85,0 (67,0; 103,0) p<0,05; p2<0,05	86,8 (61,0; 103,0) p<0,05	107,9 (75,0; 152,5)	105,2 (84,0; 118,0)
Эндотелин-1, фкмоль	0,25 (0,18; 0,31)	1,36 (0,97; 1,54) p<0,001; p2<0,005	0,75 (0,46; 1,09) p<0,001; p1<0,05	3,13 (2,94; 3,78) p<0,005	1,49 (0,89; 1,97) p<0,001; p2<0,05

Примечания: уровень статистической значимости различий: p — с показателями контрольной группы; p1 — с показателями в подгруппе больных СДI с ДН; p2 — с показателями в подгруппе больных СДII с ДН.

тов стимулированные клетки могут не реагировать, а интактные клетки активируются, что и создает пеструю картину.

У больных СДII активность фактора фон Виллебранда была соизмерима с таковой в группе контроля (p>0,05), а у пациентов с СДI — ниже контрольных цифр на 16,2% (p<0,05). Эти данные противоречат результатам исследований, в соответствии с которыми параллельно с нарастанием тяжести ДН у больных СДI и СДII наблюдается повышение уровня этого сывороточного маркера дисфункции эндотелия [18, 24, 26]. Вероятно, из-за постоянного воздействия сильных агонистов в тромбоцитах уменьшается количество гранул или нарушается реакция их высвобождения, поэтому уровень фактора фон Виллебранда снижается.

Кроме того, при повреждении эндотелия большое количество фактора фон Виллебранда связывается с компонентами субэндотелия, а поскольку плотность и чувствительность гликопротеиновых рецепторов тромбоцитов уменьшаются, понижается и активность фактора фон Виллебранда.

Концентрация эндотелина-1 у больных СДI и СДII статистически значительно превышала контрольные значения с максимальным (12-кратным) отклонением от нормы в группе

пациентов СДII, отягощенным ДН. Прогрессирующее повышение уровня этого пептида у больных СД по мере нарастания тяжести нефропатии, с максимальными значениями на стадиях протеинурии и хронической почечной недостаточности, описано в ряде научных работ [9, 13, 18, 30].

Если учитывать, что функциональная перестройка эндотелия при воздействии патологических факторов проходит несколько стадий [12, 14, 15, 17, 21], то можно полагать, что при СД наблюдается нарушение сбалансированной секреции эндотелиальных факторов, регулирующих тонус сосудов, систему гемостаза, процессы межклеточного взаимодействия. Разбалансирование системы у пациентов СДII, отягощенным ДН, характеризуются тем, что в ответ на повышение концентрации эндотелина-1 не наблюдается существенного выброса маркера адгезии и агрегации — фактора фон Виллебранда. В то время как у большинства больных СДI с ДН наблюдалась III стадия поражения эндотелия (истощение эндотелия, сопровождающееся гибелью клеток, их слущиванием и замедленными процессами регенерации), что и объясняет меньшую, чем у пациентов с СДII, концентрацию эндотелина-1 и снижение уровня фактора фон Виллебранда.

Выводы

1. У всех больных сахарным диабетом имеются признаки дисфункции эндотелия, проявляющиеся повышением концентрации в крови эндотелина-1, которое особенно выражено диабетической нефропатией.

2. Несмотря на очевидное повреждение эндотелия у больных сахарным диабетом, отя-

гощенным диабетической нефропатией, индуцированная ристомизином агрегация тромбоцитов не претерпевает закономерных изменений, поэтому говорить о повышении активности фактора фон Виллебранда как о надежном маркере эндотелиальной дисфункции у этих пациентов не представляется возможным.

Литература

1. Афонин А.А., Комкова М.В., Галкина Г.А., Морозова Н.В. Дисфункция эндотелия при сахарном диабете 1 типа у детей и подростков и ее роль в формировании диабетической периферической полинейропатии // Сахарный диабет. — 2009. — №1. — С. 29-32.
2. Балаболкин М.И. Лабораторная диагностика и мониторинг сахарного диабета // Лаборатория. — 2001. — №1. — С. 15-17.
3. Балаболкин М.И., Голега Е.Н. Функциональная активность тромбоцитов у больных инсулинзависимым сахарным диабетом // Проблемы эндокринологии. — 1999. — №1. — С. 6-9.
4. Баркаган З.С., Мамот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза: методические рекомендации. — М.: НьюДиамед, 2001. 134 с.
5. Викулова О.К., Ярек-Мартынова И.Р., Трубицына Н.П., Шестакова М.В. Показатели вазомоторной функции эндотелия и эластичности артериальной стенки при терапии ингибитором ангиотензинпревращающего фермента рамиприлом у больных сахарным диабетом 2-го типа // Кардиология. — 2008. — №11. — С. 47-57.
6. Евсеева Я.В., Курильская Т.Е., Рунович А.А. Ультразвуковое исследование вазодилатационных реакций у больных сахарным диабетом 2-го типа, ассоциированным с ишемической болезнью сердца и артериальной гипертензией // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. — 2005. — №6 (2). — С. 87-89.
7. Кондратьева Е.И., Суханова Г.А., Новицкий В.В. Гемостаз у детей и взрослых с СД1 // Детская эндокринология. — 2007. — №4. — С. 50-53.
8. Панина И.Ю. Вазомоторная форма эндотелиальной дисфункции при хронической болезни почек // Нефрология. — 2006. — №2. — С. 33-37.
9. Панфилова В.Н., Таранушенко Т.Е., Голубенко Н.К. и др. Вазоконстрикторный пептид эндотелин-1 у детей и подростков с сахарным диабетом 1-го типа // Проблемы эндокринологии. — 2008. — №5. — С. 12-16.
10. Сибирева О.Ф. Связь патологии гемостаза у больных сахарным диабетом с полиморфизмом генов метилентетрагидрофолатредуктазы (С677Т), II (G20210А) и V (G1691А) факторов свертывания крови // Клиническая лабораторная диагностика. — 2011. — №3. — С. 36-39.
11. Сизиков В.И., Нелаева А.А., Хасанова Ю.В., Быкова И.Ю. Дисфункция эндотелия и нарушение тромбоцитарно-коагуляционного гемостаза в развитии диабетической нефропатии при сахарном диабете 2 типа // Сахарный диабет. — 2007. — №1. — С. 46-48.
12. Шабров А.В., Котова С.М. Сахарный диабет и сердечно-сосудистая система // Медицинский академический журнал. — 2008. — №1. — С. 167-172.
13. Шестакова М.В. Дисфункция эндотелия. Причина или следствие метаболического синдрома // Русский медицинский журнал. — 2001. — №2. — С. 88-90.
14. Шестакова М.В., Мартынов С.А. Диабетическая нефропатия: все ли факторы риска мы учитываем? // Сахарный диабет. — 2006. — №4. — С. 29-33.
15. Шестакова М.В., Дедов И.И. Сахарный диабет и хроническая болезнь почек. — М.: Медицинское информационное агентство, 2009. — 482 с.
16. Шестакова М.В., Ярек-Мартынов И.Р., Кошель Л.А. Профилактика сосудистых осложнений сахарного диабета: решенные и нерешенные вопросы // Consilium Medicum. — 2002. — №10. — С. 527-530.
17. Шестакова М.В., Ярек-Мартынова И.Р., Иванишина Н.С. и др. Кардиоренальный синдром при сахарном диабете 1-го типа: роль дисфункции эндотелия // Кардиология. — 2005. — №6. — С. 35-41.
18. Шестакова М.В., Ярек-Мартынова И.Р., Иванишина Н.С., Дедов И.И. Оценка вазомоторной функции эндотелия у больных сахарным диабетом типа 1 на разных стадиях диабетической нефропатии // Тер. архив. — 2003. — №6. — С. 17-21.
19. Энерт А.В., Иванов С.Н., Самойлова Ю.Г. Роль эндотелиальной дисфункции в развитии и прогрессировании сосудистых осложнений сахарного диабета 1-го типа у детей и подростков // Сибирский медицинский журнал. — 2010. — №2. — С. 38-43.
20. Catherwood M.A., Powell L.A., Anderson P. et al. Glucose-induced oxidative stress in mesangial cells // Kidney Int. — 2002. — Vol. 61 (2). — P. 599-608.
21. Choi H.Y., Lee J.E., Han S.H. et al. Association of inflammation and protein-energy wasting with endothelial dysfunction in peritoneal dialysis patients // Nephrol. Dial. Transplant. — 2010. — Vol. 25. — P. 1266-1271.
22. Furchgott R.F., Zawadzki J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine // Nature. — 1980. — Vol. 288. — P. 373-376.

23. Gaede P., Vedel P., Parving H.H. et al. Elevated levels of plasma von Willebrand factor and the risk of macro- and microvascular disease in type 2 diabetes patients with microalbuminuria // *Nephrol. Dial. Transplant.* — 2001. — Vol. 16. — P. 2028-2033.
24. Ganz P., Vita J. A. Testing endothelial vasomotor function: nitric oxide, a multipotent molecule // *Circulation.* — 2003. — Vol. 108. — P. 2049-2053.
25. Jager A., van Hinsbergh V.W.M., Kostense P.J. et al. Prognostic implications of retinopathy and a high plasma von Willebrand factor concentration in type 2 diabetic subjects with microalbuminuria // *Nephrol. Dial. Transplant.* — 2001. — Vol. 16 (3). — P. 529-536.
26. Jarvisalo M.J., Raitakari M., Toikka J.O. et al. Endothelial dysfunction and increased arterial intima-media thickness in children with type 1 diabetes // *Circulation.* — 2004. — Vol. 109. — P. 1750-1755.
27. Landray M.J., Wheeler D.C., Lip G.Y. et al. Inflammation, endothelial dysfunction, and platelet activation in patients with chronic kidney disease: the chronic renal impairment in Birmingham (CRIB) study // *Am. J. Kidney Dis.* — 2004. — Vol. 43. — P. 244-253.
28. Malyszko J., Malyszko J. S., Mysliwiec M. Endothelial cell injury markers in chronic renal failure on conservative treatment and continuous ambulatory peritoneal dialysis // *Kidney Blood Press. Res.* — 2004. — Vol. 27. — P. 71-77.
29. Mather K. J., Lteif A., Steinberg H. O., Baron A. D. Interactions between endothelin and nitric oxide in the regulation of vascular tone in obesity and diabetes // *Diabetes.* — 2004. — Vol. 53. — P. 2060-2066.
30. Mogensen C.E., Keane W.F., Bennet P.H. Prevention of diabetic renal disease with special reference to microalbuminuria // *Lancet.* — 1995. — Vol. 346. — P. 1080-1084.
31. Potenza M.A., Gagliardi S., Nacci C. et al. Endothelial dysfunction in diabetes: from mechanisms to therapeutic targets // *Curr. Med. Chem.* — 2009. — Vol. 16 (1). — P. 94-112.
32. Stehouwer C.D.A. Endothelial dysfunction in diabetic nephropathy: state of the art and potential significance for non-diabetic renal disease // *Nephrol. Dial. Transplant.* — 2004. — Vol. 19 (4). — P. 778-781.
33. Yilmaz M.I., Saglam M., Qureshi A.R. et al. Endothelial dysfunction in type-2 diabetics with early diabetic nephropathy is associated with low circulating adiponectin // *Nephrol. Dial. Transplant.* — 2008. — Vol. 23. — P. 1621-1627.
34. Zanatta C.M., Canani L.H., Silveiro S.P. et al. Endothelin system function in diabetic nephropathy // *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.* — 2008. — Vol. 52 (4). — P. 581-588.

О.Ф.Сібір'ова, О.І.Уразова, В.В.Калюжин. Показники тромбоцитарного гемостазу і дисфункції ендотелію у пацієнтів із цукровим діабетом з діабетичною нефропатією. Томськ, Росія.

Ключові слова: цукровий діабет, діабетична нефропатія, коагуляція.

У хворих на цукровий діабет є біохімічні ознаки дисфункції ендотелію, що проявляються підвищенням концентрації в крові ендотеліну-1, яке особливо виражене при діабетичній нефропатії. Незважаючи на очевидне пошкодження ендотелію у хворих на цукровий діабет, обтяжений діабетичною нефропатією, індукована ристоміцином агрегація тромбоцитів не зазнає закономірних змін, тому говорити про підвищення активності фактора фон Віллебранда як про надійний маркер ендотеліальної дисфункції у цих пацієнтів не представляється можливим.

O.F.Sibiriyova, O.I.Urazova, V.V.Kalyuzhin. Indices of platelet haemostasis and endothelial dysfunction at patients with diabetes mellitus and diabetic nephropathy. Tomsk, Russia.

Key words: diabetes mellitus, diabetic nephropathy, coagulation.

Diabetic patients have biochemical signs of endothelial dysfunction, manifested by higher blood concentrations of endothelin-1, which is most severe at diabetic nephropathy. Despite the obvious damage to the endothelium in patients with diabetes, burdened with diabetic nephropathy platelet aggregation induced by ristocin does not undergo regular changes, so to speak, to increase the activity of von Willebrand factor as the reliable marker of endothelial dysfunction in these patients is not possible.

Надійшла до редакції 23.12.2011 р.