

ОСОБЕННОСТИ НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ И СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ С ДИАБЕТИЧЕСКОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИЕЙ

Мельник Т.М.

Донецкий национальный медицинский университет

У больных сахарным диабетом с диабетической энцефалопатией установлено нарушение функционального состояния сосудистого эндотелия, которое связано с активацией синтеза провоспалительного цитокина – фактора некроза опухолей – альфа. Выявленные закономерности расширяют возможности медикаментозной коррекции церебральных нарушений у больных сахарным диабетом.

Ключевые слова: диабетическая энцефалопатия, эндотелиальная дисфункция, провоспалительные цитокины.

Актуальность. Нарушения состояния центральной нервной системы (ЦНС) у больных сахарным диабетом (СД) расцениваются в клинических и экспериментальных исследованиях как проявления диабетической энцефалопатии (ДБЭ). Согласно современным представлениям, развитие ДБЭ обусловлено хроническими метаболическими и сосудистыми нарушениями, присущими СД [2, 5]. В последние годы появились данные о важной роли биологически активных веществ, вырабатываемых сосудистым эндотелием, в регуляции кровообращения. Эндотелиальной дисфункцией принято называть дисбаланс между факторами, обеспечивающими регуляцию сосудистого тонуса, процессов гемостаза, пролиферации, миграции клеток крови в сосудистую стенку. В качестве факторов, повреждающих эндотелиальные клетки, рассматривают оксидативный стресс, воспалительные цитокины и нарушения липидного обмена [4]. Воспалительная реакция в ответ на повреждение эндотелия различными факторами (окисленные липопротеины низкой плотности, гомоцистеин и др.) на ранних этапах атерогенеза опосредуется экспрессией молекул клеточной адгезии, провоспалительных цитокинов (фактор некроза опухолей – альфа), хемокинов, некоторых факторов роста.

Реакция воспаления также является одним из основных этапов прогрессирования хронического ишемического нарушения мозгового кровообращения [1]. Активированная ишемией микроглия и астроциты в свою очередь продуцирует ряд провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухолей – альфа (ФНО- α), и другие потенциально токсичные молекулы, включая оксид азота NO [3, 9]. Все эти процессы усугубляют начальное повреждение вследствие гипергликемии и могут привести к перманентному процессу церебральных нарушений у больных с ДБЭ. В проспективных исследованиях получены противоречивые данные о роли многих маркеров воспаления, их роли в развитии цереброваскулярных осложнений СД и тяжести течения [1, 6]. Не изучена взаимосвязь биологически активных веществ, вырабатываемых сосудистым эндотелием, с провоспалительным цитокином ФНО- α у больных СД с ДБЭ.

Целью работы явилась оценка показателей функционального состояния эндотелия у больных сахарным диабетом (СД) с диабетической энцефалопатией (ДБЭ) и их корреляционных взаимоотношений с уровнем провоспалительного цитокина фактора некроза опухолей – альфа (ФНО- α).

Материал и методы. Обследовано 88 больных СД, из них у 27 человек (1-я группа) диагностирован СД с синдромом вегетативной дистонии (СВД), у 33 – ДБЭ I стадии (2-я группа), у 28 – ДБЭ II стадии (3-я группа). Диагностику цереброваскуляр-

ной патологии осуществляли в соответствии с принятыми критериями (Шмидт Е.В., 1985; Вейн А.М., 1998). Группу больных СД с СВД составили 15 мужчин и 12 женщин (средний возраст 36,3 \pm 4,2 года). У 14 пациентов (52%) диагностирован СД 1 типа, у 13 (48%) – СД 2 типа. Средний уровень гликозилированного гемоглобина (HbA1c) 7,4 \pm 0,2%. Диагноз ДБЭ I установлен у 16 мужчин и 17 женщин (средний возраст 46,9 \pm 8,5 года). Из них СД 1 типа был выявлен у 18 больных (54,5%) и СД 2 типа – у 15 больных (45,5%). Средний уровень HbA1c – 7,9 \pm 0,7%. Группу больных с ДБЭ II составили 15 мужчины и 13 женщин (средний возраст 50,8 \pm 9,1 года). СД 1 типа был диагностирован у 16 пациентов (57%), СД 2 типа – у 12 (43%). Средний уровень HbA1c – 9,3 \pm 0,3%. Длительность СД значительно не различалась у пациентов с СД 1 типа (11,5 \pm 7,5 лет) и СД 2 типа (12,7 \pm 8,5 года). Критериями исключения были декомпенсация СД, кетоацидоз, инфаркт миокарда и острые нарушения мозгового кровообращения в анамнезе, нестабильная стенокардия и нарушения сердечного ритма; тяжелая соматическая патология. В исследование не были включены лица, получавшие препараты потенциально способные влиять на функциональное состояние эндотелия, а именно: гиполипидемические средства, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, блокаторы кальциевых каналов, нитраты, гормональные контрацептивные средства и препараты заместительной гормональной терапии. За 3 дня до забора крови для исследования из пищевого рациона исключались продукты, которые могут иметь соединения азота (копчености). В контрольную группу здоровых лиц вошли 12 мужчины и 18 женщин, средний возраст которых составил 39,1 \pm 8,2 года.

С целью уточнения и подтверждения цереброваскулярной патологии было проведено комплексное обследование, включавшее параклинические и биохимические исследования и консультации смежных специалистов (кардиолога, офтальмолога и др.). Содержание HbA1c исследовали с помощью наборов фирмы «Лаксма Диагностика» (Брно, Чехия).

Содержание нитрит-аниона определяли спектрофотометрическим методом Грина с использованием реактива Гриса в современной модификации, содержание нитрат-аниона определяли спектрофотометрическим методом с помощью брудинового реактива. Для определения активности индуцибельной NO-синтазы использовали классический метод в современной модификации, приспособленный для спектрофотометрического измерения одного из продуктов реакции – нитрит-аниона. Определение уровня эндотелина-1 и ФНО- α проводилось иммуноферментным методом в сыворотке крови с использованием наборов «Endotelin (1-21)»

фирмы BIOMEDICA (Австрия) и «ProCon TNF- α » производства ООО «Протеиновый контур», г. Санкт Петербург (Россия). Исследования проводились на планшетном ELISA-анализаторе «Stat Fax-303 Plus» (США) [7,8].

Статистический анализ проводили с помощью компьютерной программной системы STATISTICA for Windows (версия 6.0). Оценивались средние значения и средне-квадратичные отклонения показателей. Для сравнения показателей в группах пациентов применяли непараметрический метод сравнения независимых групп Краскела-Уоллиса. Если отличия в сравниваемых группах были достоверны ($p < 0,05$), далее проводили попарное сравнение для выяснения, в каких конкретно группах наблюдались отличия. При этом использовали непараметрический тест Манна-Уитни с применением поправки на множественные сравнения. Линейную связь количественных признаков исследовали с применением коэффициента корреляции Спирмена (r).

Результаты и обсуждение. В результате проведенного исследования установлено, что функциональное состояние эндотелия у больных СД с ДБЭ характеризуется изменением соотношения между синтезом основного фактора релаксации – оксида азота и одним из наиболее мощных вазоконстрикторных агентов – эндотелина-1 (см. табл. 1).

У пациентов 1-й, 2-й и, особенно, 3-й группы отмечалось статистически достоверное нарастание уровня эндотелина-1 в сыворотке крови, максимально выраженное у больных 3-й группы. Это свидетельствовало об усилении вазоконстрикторных влияний при более выраженных проявлениях поражения головного мозга. У больных 1-й группы наблюдалось снижение уровня нитритов ($p < 0,05$) по сравнению с группой контроля. Выявленное в исследовании снижение уровня маркера синтеза NO – нитрита в сыворотке крови больных 1 группы может приводить к нарушению NO-зависимого расслабления артерий, в том числе сосудов, обеспечивающих кровоснабжение мозга. Поскольку NO является ингибитором синтеза эндотелина-1 через механизм, включающий образование цГМФ [9], вероятно увеличение синтеза эндотелина-1 в этой группе больных отчасти обусловлено нарушением синтеза нитрита. Следствием отмеченных метаболических сдвигов в сыворотке крови больных 1 группы является смещение равновесия между вазодилататором, антиагрегантом NO и вазоконстриктором эндотелином-1 в сторону последнего. У больных 3-й группы отмечалось также статистически достоверное ($p < 0,05$) повышение уровня нитритов и нитратов по сравнению с 1-й группой и группой контроля. Рост содержания эндотелина-1 в крови у пациентов 2-й и 3-й групп на фоне повышения уровней нитрита и нитрата может быть расценен как следствие утраты метаболического контроля NO за синтезом эндотелина-1 в результа-

те деградации оксида азота и, возможно, по иным причинам. У пациентов 2-й и 3-й групп выявлено достоверное ($p < 0,05$) повышение активности индуцибельной NO-синтазы, по сравнению с лицами контроля и 1-й группой больных.

Исследовался уровень провоспалительного цитокина ФНО- α , мощного индуктора окислительного стресса, в сыворотке крови указанных групп больных. Установлено, что уровень ФНО- α нарастает с увеличением тяжести сосудистых расстройств: в 1,5 ($0,05 < p < 0,1$) в 1-й группе больных, в 2,7 раза ($p < 0,01$) во 2-й группе и в 3,7 раза ($p < 0,01$) в 3-й группе по сравнению с контролем. Фактором активации синтеза NO и увеличения концентрации нитрита в сыворотке крови больных 2-й и 3-й групп является достоверное возрастание поступления в кровотоки провоспалительного цитокина ФНО- α . Обнаруженное нарастание уровня ФНО- α в сыворотке крови больных всех групп является мощным фактором развития окислительного стресса, источником свободных радикалов в цитокин-опосредованных воспалительных реакциях. Кроме того, провоспалительные цитокины, включая ФНО- α , активируют индуцибельную NO-синтазу, что в совокупности ведет к синтезу высоких уровней оксида азота.

При проведении корреляционного анализа выявлена достоверная взаимосвязь между уровнем гликемии сыворотки крови и активностью индуцибельной NO-синтазы ($r = 0,56$; $p = 0,0036$), содержанием нитрит- и нитрат-аниона (соответственно $r = 0,48$; $p = 0,0024$ и $r = 0,42$; $p = 0,0028$), уровнем ФНО- α ($r = 0,5806$, $p = 0,0023$), что свидетельствует о важной патогенетической роли гипергликемии в формировании выявленных нарушений. Выявлена достоверная взаимосвязь между уровнями эндотелина-1 и провоспалительным цитокином ФНО- α ($r = 0,62$; $p = 0,0034$), что отражает взаимосвязь эндотелиальной дисфункции с системным воспалением у больных СД с ДБЭ.

Выводы:

1. Функциональное состояние сосудистого эндотелия у больных сахарным диабетом с диабетической энцефалопатией характеризуется смещением равновесия между синтезом оксида азота и эндотелина-1 в сторону последнего, возрастающим по мере прогрессирования заболевания.
2. Фактором развития окислительного стресса и возникновения дефицита NO у пациентов с диабетической энцефалопатией, наряду с ишемическо-реперфузионными повреждениями церебрального микроциркуляторного русла является активация синтеза провоспалительного цитокина ФНО- α .
3. Прогрессирование тяжести диабетической энцефалопатии сопровождается утратой контроля NO за синтезом эндотелина-1 и усугублением эндотелиальной дисфункции.
4. Установлена достоверная взаимосвязь гипергликемии с формированием эндотелиальной дис-

Таблица 1

Показатели эндотелиальных вазоактивных факторов и фактора некроза опухолей – альфа (ФНО- α) у пациентов основных и контрольной групп

Показатель	Группы пациентов			
	Контрольная (n=30)	1 группа (n=27)	2 группа (n=33)	3 группа (n=28)
Нитрит-анион, нмоль/мг белка	0,09 \pm 0,01	0,03 \pm 0,04*	0,104 \pm 0,02*#	0,11 \pm 0,01*#
Нитрат-анион, нмоль/мг белка	4,25 \pm 0,04	6,65 \pm 0,01*	7,81 \pm 0,1*	8,14 \pm 0,06*#
Активность индуцибельной NO-синтазы, пмоль в мин./мг белка	11,05 \pm 0,01	11,56 \pm 0,02	19,56 \pm 0,03*#	23,61 \pm 0,02*#
Эндотелин-1, пмоль/л	4,4 \pm 0,74	7,2 \pm 1,6*	8,6 \pm 0,6*#	9,7 \pm 0,8*#
ФНО- α , пг/мл	35,96 \pm 7,79	54,89 \pm 17,05	97,72 \pm 28,39*	134,5 \pm 15,65*#

Примечание: * – Достоверные различия с группой контроля, $p < 0,05$; # – Достоверные различия с 1-й группой, $p < 0,05$

функції у больных сахарним діабетом с церебральними порушеннями.

5. Выявлена кореляційна залежність між рівнями ендотеліна-1 і провоспалительним цитокіном ФНО- α , що відображає взаємозв'язок ендотеліаль-

ної дисфункції с системним запаленням у больных сахарним діабетом с діабетическою енцефалопатією.

6. Выявленні закономірності розширяють можливість медикаментозної корекції церебральних порушень у больных сахарним діабетом.

Список літератури:

1. Заславская Р. М., Тулемисов Е. У., Смирнова Л. В., Айтмагамбетова Б. А. Сосудистые осложнения у больных сахарным диабетом (альтернативные методы диагностики и лечения) / Р. М. Заславская, Е. У. Тулемисов, Л. В. Смирнова, Б. А. Айтмагамбетова – М.: ИД «Медпрактика-М», 2008. – 264 с.
2. Маньковский Б. Н. Диабетическая нейропатия: классификация, клинические проявления, лечение / Б. Н. Маньковский. – Здоров'я України XXI сторіччя. – 2006, № 22. – С. 28.
3. Мельник Т. М. Цитокины как маркеры ранних сосудистых осложнений сахарного диабета / Мельник Т. М. – Питання експериментальної та клінічної медицини. – 2010. – Вип. 14, Т. 2. – С. 189-193.
4. Мельник Т. М. Эндотелиальная дисфункция у больных с диабетической энцефалопатией / Мельник Т. М. – Український неврологічний журнал. – 2011. – № 2. – С. 48-52.
5. Соматоневрология: руководство для врачей / под ред. А. А. Скоромца. – СПб.: СпецЛит, 2009. – С. 288-303.
6. Фадеев П. А. Сахарный диабет / Фадеев П. А. – М.: ОНИКС. Мир образования. – 2009. – С. 16-18.
7. Энциклопедия клинических лабораторных тестов / Под ред. Н. У. Тиц. – М.: Лабинформ, 2008. – 363 с.
8. American Diabetes Association Standards of medical care in diabetes / Diabetes Care. – 2005. – Vol. 28. – P. S4-S36.
9. Yamagata T. Agents against cytokine synthesis or receptors / Yamagata T., Ichinose M. // Eur. J. Pharmacol. – 2006. – Vol. 8, № 533(1-3). – P. 289-301.

Мельник Т.М.

Донецький національний медичний університет

ОСОБЛИВОСТІ ДЕЯКИХ ПОКАЗНИКІВ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ ТА СИСТЕМНОГО ЗАПАЛЕННЯ У ХВОРИХ НА ДІАБЕТИЧНУ ЕНЦЕФАЛОПАТІЮ

Анотація

У хворих на цукровий діабет з діабетичною енцефалопатією встановлено порушення функціонального стану судинного ендотелію, яке пов'язано із активацією синтезу прозапального цитокіну – фактора некрозу пухлин – альфа. Виявлені закономірності розширюють можливості медикаментозної корекції церебральних порушень у хворих на цукровий діабет.

Ключові слова: діабетична енцефалопатія, ендотеліальна дисфункція, прозапальні цитокіни.

Melnyk T.M.

Donetsk National Medical University

FEATURES SOME INDICATORS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION AND SYSTEMIC INFLAMMATION IN PATIENTS WITH DIABETIC ENCEPHALOPATHY

Summary

Diabetic patients with diabetic encephalopathy found a violation of the functional state of the vascular endothelium, which is associated with activation of the synthesis of proinflammatory cytokines – tumor necrosis factor – alpha. Revealed laws empower medical correction of brain damage in patients with diabetes.

Keywords: diabetic encephalopathy, endothelial dysfunction, pro-inflammatory cytokines.