

Дисфункция эндотелия при сахарном диабете 1 типа у детей и подростков и ее роль в формировании диабетической периферической полинейропатии

А.А. Афонин, М.В. Комкова, Г.А. Галкина, Н.В. Морозова

ФГУ «Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии
Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи», Ростов-на-Дону, Россия
(директор – д.м.н., профессор В.И. Орлов)

Цель исследования. Изучить содержание эндотелиальных факторов – метаболитов оксида азота (NOx), эндотелина-1 (ET-1) и основного фактора роста фибробластов (bFGF) у детей и подростков, страдающих сахарным диабетом (СД) с учетом формирования у них диабетической периферической нейропатии (ДПНП).

Материалы и методы. Обследованы 130 детей и подростков с СД1. Длительность заболевания от 3 месяцев до 14 лет. Контрольную группу составили 20 детей и подростков, не имевших СД и неврологической патологии. Для оценки субъективных проявлений ДПНП использовали стандартизованный опросник *Neuropathy Symptom Score (NSS)*. Для оценки объективных изменений применяли шкалу нейропатического дисфункционального счета (НДС). Для определения содержания метаболитов NOx использовали реактив Грисса («Aldrich Chemical CO», USA). Уровень ET-1 и bFGF в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа наборами фирм DRG (США) и CYTIMMUNE (США) соответственно.

Результаты. У всех детей и подростков с СД1 выявлено снижение уровня NOx и bFGF относительно контроля. Содержание ET-1 у больных СД1 было в 3,5 раза выше по сравнению с контролем. Более выраженная дисфункция эндотелия была определена у больных СД1 с ДПНП по сравнению с контролем и больными СД1 без ДПНП. Пациенты с гиперпродукцией NOx имели длительность заболевания более 10 лет. Сумма баллов по шкале НДС при этом значимо была выше по сравнению с остальными пациентами.

Заключение. Эндотелиальная дисфункция у детей и подростков с СД1 прогрессирует по мере формирования ДПНП. Истощение резервных возможностей эндотелия определяет неблагоприятное течение ДПНП.

Ключевые слова: сахарный диабет 1 типа, дети, подростки, диабетическая периферическая полинейропатия, эндотелиальная дисфункция.

Endothelial dysfunction in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus and its role in the development of diabetic peripheral polyneuropathy

A. A. Afonin, M. V. Komkova, G. A. Galkina, N. V. Morozova

Aim. To measure endothelial factors (nitric oxide (NOx) metabolites, endothelin-1 (ET-1), and basic fibroblast growth factor (bFGF)) in children and adolescents with diabetes mellitus (DM) during development of diabetic peripheral polyneuropathy (DPNP).

Materials and methods. A total of 130 children and adolescents with diabetes mellitus were examined. Duration of DM varied from 3 months to 14 years. The control group comprised 20 children and adolescents without DM or neurologic pathology. Subjective manifestations of DPNP were assessed based on the data of a standardized *Neuropathy Symptom Score (NSS)* questionnaire. *Neuropathy Disability Score (NDS)* questionnaire was used to monitor objective changes of DPNP. NOx metabolites were detected with Griess reagent (Aldrich Chemical Co, USA). Serum ET-1 and bFGF were measured using solid-phase immunoenzyme assay (DRG, USA) and CYTIMMUNE (USA) kits respectively.

Results. All children and adolescents with DM1 had lower NOx and bFGF levels than controls. ET-1 level in DM patients was 3.5 times that in controls. DM patients with DPNP had more pronounced endothelial dysfunction than DM patients without DPNP and control subjects. Patients with hyperproduction of NOx had DM for more than 10 years and their total NDS score was significantly higher than in two other groups.

Conclusion. Endothelial dysfunction in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus progresses with the development of DPNP. Depletion of endothelial functional reserve is responsible for the unfavourable course of DPNP.

Key words: endothelial dysfunction, children, adolescents, type 1 diabetes mellitus, diabetic peripheral polyneuropathy.

Сахарный диабет 1 типа (СД1) является одной из актуальных проблем педиатрии. По данным ВОЗ заболеваемость СД1 постоянно растет, наряду с этим увеличивается и число осложнений. Одним из наиболее частых осложнений является диабетическая периферическая полинейропатия (ДПНП) – дистальное симметричное поражение нервных волокон, преимущественно в нижних конечностях, характеризующееся развитием атрофии, дегенерации и демиелинизации аксонов.

Патогенез ДПНП мультифакториален и до настоящего времени изучен недостаточно. Известно, что в основе формирования полинейропатии лежит прогрессивная демиелинизация и эндоневральная микроангиопатия. В настоящее время рассматриваются две основные теории, объясняющие механизм развития ДПНП: метаболическая теория, связанная с повреждающим действием хронической гипергликемии на нервную ткань и сосудистая теория, в основе которой лежит ишемия периферических нервов [1, 2].

Согласно сосудистой теории, развитие ДПНП связано с первичным поражением интраневральных сосудов, приводящим к снижению кровотока в нерве и нарушению капиллярной проницаемости. Прогрессирующее снижение гемодинамики в периферических нервах, в свою очередь, усугубляет имеющиеся при ДПНП метаболические нарушения [3, 4]. Вместе с тем, механизмы, посредством которых гипергликемия приводит к изменению сосудистой стенки, до конца не изучены. Представляется более вероятным, что патогенез ДПНП связан с повреждающим воздействием гипергликемии на основную клетку – мишень – эндотелий сосудов, который первым подвергается воздействию высокой концентрации глюкозы в крови с первых же дней развития СД1 [5, 6].

Столь высокая восприимчивость сосудов к воздействию гипергликемии при СД обусловлена тем, что эндотелиаль-

ные клетки как крупных, так и мелких сосудов являются инсулиннезависимыми, то есть не требующими присутствия инсулина для транспорта в них глюкозы. Поэтому в условиях гипергликемии глюкоза может беспрепятственно проникать в эндотелий сосудов, вызывая дисфункцию этих клеток, характеризующуюся наличием дисбаланса между релаксацией и констрикцией, между анти- и протромбогенезом, антипролиферацией и пролиферацией [7].

В связи с этим целью настоящего исследования явилось изучение содержания эндотелиальных факторов – метаболитов оксида азота (NOx), эндотелина-1 (ET-1) и основного фактора роста фибробластов (bFGF) у детей и подростков, страдающих СД 1, с учетом формирования у них ДПНП.

Материалы и методы

Под наблюдением находились 130 детей и подростков, страдающих СД1 с длительностью заболевания от 3 месяцев до 14 лет, лечившихся в детском эндокринологическом отделении ФГУ «РНИИАП Росмедтехнологий». Среди обследованных пациентов было 68 детей (52,3%) и 62 подростка (47,7%), при этом среди детей было 33 мальчика (48,5%) и 35 девочек (51,5%), среди подростков – 32 юноши (51,6%) и 30 девушек (48,4%). Критериями отбора служили отсутствие сопутствующей патологии нервной системы и опорно-двигательного аппарата до манифестации СД1 на основании данных анамнеза и анализа амбулаторных карт развития.

В зависимости от отсутствия или наличия ДПНП пациенты были разделены на две основные группы. В I группу вошли 46 детей и подростков (35,4%) (31 ребенок и 15 подростков – 67,4% и 32, 6% соответственно) с отсутствием жалоб и признаков патологии периферической нервной системы при клинических и функциональных методах

обследования. II группу составили 84 пациента (64,6%) (37 детей и 47 подростков – 44,0% и 56,0% соответственно) с различной степенью выраженности ДПНП.

Согласно классификации, предложенной P.J. Dyck, P.K. Thomas (1999) [8] и применяемой в настоящее время в отечественной диабетологии, во II группе были выделены две подгруппы: ПА подгруппа с субклинической стадией ДПНП – 46 больных (25 детей и 21 подросток – 54,4% и 45,6% соответственно) и ПБ подгруппа с клинической стадией ДПНП – 38 пациентов (12 детей и 26 подростков – 31,6% и 68,4% соответственно).

Контрольную группу составили 20 детей и подростков (11 детей и 9 подростков, 55,0% и 45,0%, соответственно), не имевших неврологической патологии и нарушений со стороны эндокринной системы, в том числе углеводного обмена на момент исследования.

Для количественной оценки субъективных проявлений ДПНП использовали стандартизированный опросник Neuropathy Symptom Score (NSS), позволяющий оценить выраженность имеющихся жалоб в баллах. Для количественной оценки объективных изменений (состояние сухожильных рефлексов и нарушение различных видов чувствительности) применяли шкалу нейропатического дисфункционального счета (НДС).

Для определения степени компенсации СД1 определяли уровень гликемии натощак и в течение дня энзиматическим колориметрическим методом с депротеинизацией («Ольвекс Диагностикум», Россия) (нормативные показатели – 3,9–5,6 ммоль/л) и уровень гликированного гемоглобина (HbA_{1c}) микроколочным ионообменным методом («Human», Германия). Регистрация электромиографии (ЭМГ) проводилась на компьютерном электромиографе «Нейромиан» Российского предприятия «Медиком ЛТД» г. Таганрог.

Определение содержания метаболитов NO_x проводили, используя коммерческий реактив Грисса («Aldrich Chemical CO», USA). Уровень ET-1 и bFGF в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуоферментного анализа наборами фирмы DRG (США) и CYTİM-MUNE (США) соответственно.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием Excel-2003 и пакета прикладных программ Statistica-6. При этом оценивались значения медианы и интерквартильного размаха (25–75%). Для оценки вероятности справедливости нулевой гипотезы использовали порог $p < 0,05$. Для выявления взаимосвязи и взаимовлияния различных факторов использовали коэффициент корреляции по Спирмену (R). Оценка наличия статистически значимых отличий между сравниваемыми группами проводили с использованием непараметрического U-критерия Манна–Уитни.

Результаты и их обсуждение

Изучение содержания эндотелиальных факторов у детей и подростков, больных СД1 (табл. 1), выявило достоверное снижение уровня NO_x у обследованных пациентов относи-



Схема 1. Патогенетические механизмы формирования ДПНП у детей и подростков, больных СД1

тельно контрольных данных. Содержание ET-1 у наблюдаемого контингента больных было более, чем в 3,5 раза выше по сравнению с контролем. Определение концентрации bFGF в сыворотке крови больных СД1 выявило существенное его снижение относительно показателей контрольной группы.

Отсутствие значимых различий в содержании изучаемых показателей между детьми и подростками как контрольной группы, так и в группе больных диабетом позволило нам в дальнейшем не выделять подгруппы по возрастному критерию.

Изучение содержания эндотелиальных факторов в сыворотке крови детей и подростков, больных СД1, с учетом развития у них диабетической периферической полинейропатии (табл. 2) выявило более выраженную дисфункцию эндотелия у больных с ДПНП (II группа) не только по сравнению с контрольными данными, но и относительно больных, не имеющих ДПНП (I группа): более низкие значения NO_x и bFGF, а также более высокий уровень ET-1, что говорит о прогрессировании эндотелиальной дисфункции у больных СД1 по мере формирования ДПНП с преобладанием процессов вазоконстрикции, приводящей к ишемии периферических нервов и нарушению регенерации эндотелиальных клеток. Установленные низкие значения bFGF у больных с ДПНП свидетельствуют о снижении пролиферативной и нейропротективной активности эндотелиальных и нервных клеток.

Корреляционные взаимосвязи, выявленные между содержанием метаболитов NO_x, ET-1, bFGF и длительностью СД, метаболическими показателями компенсации (гликированным гемоглобином) и липидного обмена, суммой баллов по шкале НДС и ЭМГ, подтверждают участие эндотелиальных факторов в патогенезе СД1 и формировании ДПНП у детей и подростков.

При индивидуальном анализе изучаемых показателей у обследованных детей и подростков с СД1 установлено, что у больных ПБ подгруппы значения NO_x имели разнонаправленный характер (табл. 3): у большинства пациентов этой подгруппы (30 человек – 78,9%) показатели NO_x были ниже контрольных данных ($p = 0,000003$) и колебались в пределах от 5 до 26,5 мкмоль/л, в то же время у 8-ми подростков

Таблица 1

Содержание эндотелиальных факторов в сыворотке крови детей и подростков, больных сахарным диабетом 1 типа, в зависимости от развития у них ДПНП				
Группы	Показатели	Метаболиты оксида азота, мкмоль/л	Эндотелин-1, пкг/мл	Основной фактор роста фибробластов, нг/мл
Дети и подростки с СД1 (n=130)		19,8 (13,0;25,4)	40,5 (25,2;76,3)	1,2 (0,8;4,0)
Контрольная группа (n=20)		35,0 (27,7;41,1)	11,8 (8,3;15,2)	4,3 (3,1;5,8)
p		0,000004	0,000001	0,006970

Примечание: p – статистически обоснованные различия между группами.

Таблица 2

Содержание эндотелиальных факторов в сыворотке крови детей и подростков, больных сахарным диабетом 1 типа, в зависимости от развития у них ДПНП				
Группы	Показатели	Метаболиты оксида азота, мкмоль/л	Эндотелин-1, пкг/мл	Основной фактор роста фибробластов, нг/мл
I группа (без ДПНП) n=46		23,3 (15,1; 29,75)	24,9 (17,6;35,1)	4,0 (1,5;8,2)
II группа (с ДПНП)	IIA подгруппа (субклиническая стадия) n=46	18,3 (15,0; 22,4)	53,6 (40,0;103,8)	1,0 (0,7;1,4)
	IIБ подгруппа (клиническая стадия) n=38	19,0 (10,0; 35,1)	53,5 (31,0;143,8)	0,9 (0,7;1,4)
	II группа (всего с ДПНП) n=84	18,5 (10,9; 23,6)	53,5 (37,5;121,9)	0,9 (0,7;1,4)
Контрольная группа (n=20)		35,0 (27,7; 41,1)	11,8 (8,3;15,2)	4,3 (3,1;5,8)
P ₁		0,021930	0,000001	0,000001
P ₂		0,008088	0,000001	0,000008
P ₃		0,237111	0,000016	0,000051
P ₄		0,672623	0,736096	0,719119
P ₅		0,000085	0,000001	0,983301
P ₆		0,000005	0,000001	0,000054
P ₇		0,000001	0,000001	0,000111
P ₈		0,004766	0,000001	0,000507

Примечание: p – статистические различия между группами:

p₁ – I и II группами; p₂ – I группой и IIA подгруппой; p₃ – I группой и IIБ подгруппой; p₄ – IIA и IIБ подгруппами;

p₅ – I группой и контрольной группой; p₆ – II группой и контрольной группой; p₇ – IIA подгруппой и контрольной группой;

p₈ – IIБ подгруппой и контрольной группой.

(21,1%) уровень исследуемого показателя колебался от 40 до 100 мкмоль/л и превышал значения контрольной группы (p=0,000945). Это дало основание выделить во IIБ подгруппе две категории больных – с гипо- и гиперпродукцией NO_x.

Вместе с тем необходимо отметить, что если у больных с гипопродукцией NO_x показатели ET-1 были самые высокие среди всех наблюдаемых пациентов, значительно превышающие значения этого вазоактивного пептида не только по сравнению с контрольной группой, но и относительно пациентов с субклинической стадией ДПНП, то у всех 8 пациентов с гиперпродукцией NO_x зарегистрированы наиболее низкие значения ET-1 относительно всех наблюдаемых больных с СД1 и не отличающиеся от показателей контрольной группы.

У пациентов IIБ подгруппы концентрация bFGF как с гипо-, так и с гиперпродукцией NO_x оставалась одинаково низкой, однако достоверно значимые различия от контрольных данных и I группы были получены только у пациентов с низким содержанием NO_x. В то же время у больных с высоким уровнем метаболитов оксида азота значимых отличий в содержании bFGF выявлено не было из-за большого разброса показателей.

Обращает на себя внимание, что пациенты с гиперпродукцией NO_x имели стаж СД1 более 10 лет, что статистически значимо превышало длительность заболевания детей и подростков этой же подгруппы с низкими показателями оксида азота (p=0,027272). Среднесуточная потребность в инсулине была высокой (свыше 1 ед/кг) у всех 8-ми подрост-

ков и значимо превышала потребность в инсулине у детей и подростков с клиническими проявлениями ДПНП, имеющими сниженные показатели NO_x (p=0,033223). Все подростки с гиперпродукцией NO_x имели множественные диабетические осложнения (ретинопатия, нефропатия, кардиопатия, гепатоз, ограниченная подвижность суставов, липоидный некробиоз). Сумма баллов по шкале НДС у подростков со сверхэкспрессией NO_x статистически значимо была выше по сравнению с остальными пациентами IIБ подгруппы. Несмотря на то, что параметры ЭМГ статистически не различались между пациентами IIБ подгруппы с высокими и сниженными уровнями NO_x, у подростков с гиперпродукцией оксида азота зарегистрированы изменения всех показателей ЭМГ как по моторному, так и по сенсорному нервам. Из них у 3-х подростков диагностирована тяжелая стадия ДПНП, характеризующаяся умеренной слабостью сгибателей стопы и атрофией мышц дистальных отделов конечностей.

Таким образом, патогенетические механизмы формирования ДПНП у детей и подростков, больных СД1, с позиций выявленной в наших исследованиях эндотелиальной дисфункции и данных литературы, представляются следующим образом (схема 1).

В основе формирования ДПНП лежит эндотелиальная дисфункция, развивающаяся у больных СД1 под влиянием хронической гипергликемии посредством нескольких механизмов. Один из них связан с активацией сорбитолового пути обмена глюкозы, в ходе которого происходит истощение содержания в эндотелиальных клетках NADPH, являю-

Таблица 3

Значения эндотелиальных факторов в сыворотке крови у детей и подростков IIБ подгруппы с низким и высоким содержанием метаболитов оксида азота (NO _x)				
Группы	Показатели	Метаболиты оксида азота, мкмоль/л	Эндотелин-1, пкг/мл	Основной фактор роста фибробластов, нг/мл
С низким содержанием NO _x (n=30)		13,0 (8,75; 21,88)	85,7 (51,1; 151,3)	0,9 (0,6; 1,4)
С высоким содержанием NO _x (n=8)		50,0 (43,88; 58,75)	15,5 (12,5; 23,8)	0,9 (0,8; 3,3)

щегося облигатным кофактором эндотелиальной NOS, что в итоге приводит к снижению уровня NO [8]. Инактивация NO происходит также при участии реактивных кислородных радикалов, образующихся в большом количестве в результате «окислительного стресса», наблюдаемого при СД1 [1, 5, 6]. Помимо этого, окислительный стресс способствует повышению продукции ET-1, участвующего в развитии диабетических осложнений, включая ДПНП [3, 9].

Одновременно с этим, по данным C.Rask-Madsen, G.L. King (2005) [10], под влиянием гипергликемии в эндотелиальных клетках активируется протеинкиназа C, способствующая увеличению выработки сосудосуживающих факторов, в том числе ET-1. Кроме того, конечные продукты неферментативного гликирования белков вызывают ишемию *vasa nervosum* в результате снижения активности NO_x и посредством их накопления на белках эндотелия [7, 9, 11]. Эндоневральные сосуды аккумулируют отложения углеводсодержащих внесосудистых белков плазмы, что, в конечном итоге, приводит к утолщению, гиперплазии базальной мембраны и быстрому росту эндотелиальных клеток. Эти морфологические изменения, лежащие в основе микрососудистых нарушений, возникают на самых ранних этапах развития диабетических микроангиопатий и формирования ДПНП [12, 13].

Недостаточная экспрессия bFGF, развивающаяся в результате длительной хронической гипергликемии, приводит к снижению репаративных процессов в сосудах, к их пролиферации и ремоделированию, в результате чего нарушаются процессы восстановления в эндотелиальных и шванновских клетках [14].

В случаях тяжелого течения СД1 и значительных патологических изменений со стороны периферических нервов, вероятно, вследствие демиелинизации нервных волокон, отмечает-

ся чрезмерная продукция NO_x, при одновременном снижении ET-1, что определяет неблагоприятное течение ДПНП.

Заключение

Представленные данные убедительно свидетельствуют о том, что эндотелиальная дисфункция, развивающаяся у детей и подростков с СД1 и характеризующаяся снижением продукции метаболитов оксида азота (NO_x) и повышением концентрации эндотелина-1 (ET-1) в сыворотке крови, прогрессирует по мере формирования ДПНП, сопровождаясь снижением основного фактора роста фибробластов (bFGF), что вызывает ишемию периферических нервов, понижение пролиферативной и нейротрофической активности эндотелиальных и нервных клеток. У больных с тяжелым течением ДПНП отмечается чрезмерная продукция метаболитов NO_x при одновременном снижении уровня ET-1 и сохраняющемся низком содержании bFGF, что свидетельствует об истощении резервных возможностей эндотелия и приводит к структурным дегенеративным изменениям в периферических нервах, что может являться критерием неблагоприятного течения диабетической полинейропатии. Проведенные собственные исследования и данные литературы, позволяют заключить, что в центре запуска патологических реакций, приводящих к развитию ДПНП, находится поврежденная клетка эндотелия сосудов. Беспрепятственное проникновение глюкозы в эндотелиальные клетки нарушает сбалансированную выработку эндотелием vasoактивных факторов, факторов роста и пролиферации. В результате нарушается внутриорганная и тканевая гемодинамика, активируются процессы пролиферации сосудов и гладкомышечных клеток. Таким образом, эндотелиальной дисфункции принадлежит важная роль в возникновении, развитии и прогнозе характера течения ДПНП у детей и подростков.

Литература

1. Дедов И.И., Кураева Т.Л., Петеркова В.А., Щербачева Л.Н. Сахарный диабет у детей и подростков. – М.: Универсум Паблшинг, 2002. С. 391.
2. Thomas P.K. Diabetic peripheral neuropathies: their cost to patient and society and the value of knowledge of risk factors for development of interventions. – *Eur. Neurol.* 1999; V.41: 35–43.
3. Галстян Г.Р. Хронические осложнения сахарного диабета: этиопатогенез, клиника, лечение. – *Русский мед. журнал.* 2002; 27: 1266–1269.
4. Сахарный диабет. Руководство для врачей. – Под ред. И.И. Дедова, М.В. Шестаковой. – М.: Универсум Паблшинг, 2003. С. 450.
5. Смирнова О.М. Окислительный стресс и возможности предотвращения его развития. – *Диабетон.* 1999; 19–25.
6. Ceriello A. Патолофизиологические механизмы сосудистых осложнений при сахарном диабете: роль окислительного стресса. – *Медикография.* 2000; 62: с. 25–28.
7. Stevens M.I., Feldman E.L., Green D.A. The aetiology of diabetic neuropathy: the combined role of metabolic and vascular defects. – *Diabetic Medicine.* 1995; V.12: 566–579.
8. Dyck P.J., Thomas P.K. *Diabetic Neuropathy // 2-nd Edd.*: Philadelphia, 1999. – 265p.
9. Ribera J., Marsal J., Casanovas A. et al. Nitric oxide synthase in rat Neuromuscular junction and in nerve terminals of Torpedo electric organ: its role as regulator of acetylcholine re-lease. – *J. Neurosci. Res.* 1998; V.51: 90–102.
10. Rask-Madsen C., King G.L. Proatherosclerotic Mechanisms Involving Protein Kinase C in Diabetes and Insulin Resistance. – *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 2005; V.25: 487.
11. Almhanna K., Wilkins P.L., Bavis J.R. et al. Hyperglycemia triggers abnormal signaling and proliferative responses in Schwann cells. – *Neurochem. Res.* 2002; V.27 (N 11): 1341–1347.
12. Malik R.A., Tesfaye S., Newrick P.G. et al. Sural nerve pathology in diabetic patients with minimal but progressive neuropathy. – *Diabetologia.* 2005; V.48 (N 3): 578–585.
13. Sima A.A. New insights into the metabolic and molecular basis for diabetic neuropathy. – *Cell Mol. Life Sci.* 2003; V.60: 2445–2464.
14. Song B., Vinters H. V., Wu D., Pardridge W.M. Enhanced Neuroprotective Effects of Basic Fibroblast Growth Factor in Regional. – *Brain Ischemia after Conjugation to a Blood-Brain Barrier Delivery Vector.* 2002; V.301 (N 2): 605–610.