

Атеросклероз и факторы роста (TGFb1 и bFGF) у пациентов с сахарным диабетом типа 2

А.Н. Подгребельный, О.М. Смирнова, И.И. Дедов, А.В. Ильин,
Л.В. Никанкина, М.В. Котельников*, Ю.И. Чернядьева*, Ю.И. Сунцов

ГУ Эндокринологический научный центр

(дир. — акад. РАН и РАМН И.И. Дедов) РАМН, Москва

При сахарном диабете (СД) основным повреждающим фактором является гипергликемия, которая посредством различных патологических механизмов приводит к повреждению различных тканей и органов. Самой распространенной в организме является соединительная ткань, которая образуется и в дальнейшем функционирует благодаря основным своим клеточным элементам — фибробластам. Регуляторную и координирующую функцию между клетками обеспечивают различные цитокины и факторы роста, что позволяет, с определенной надеждой, рассматривать их в качестве маркеров тяжести повреждений тканей. Естественно, СД как системный патологический процесс оказывает влияние и на соединительную ткань, повреждая или изменяя функции фибробластов, а также влияя на факторы роста [12].

Функции некоторых факторов роста: bFGF (основной фактор роста фибробластов) — митоген, фактор дифференцировки и фенотипической трансформации различных типов клеток, производных мезодермы и нейроэктодермы, в том числе фибробластов, миоцитов, эндотелиальных клеток, он также активирует ангиогенез, повышает синтетическую функцию фибробластов и миоцитов; bFGF был предложен в качестве основного патогенетического фактора в развитии пролиферативной диабетической ретинопатии и других процессов неоваскуляризации [6]; TGFb1 (трансформирующий фактор роста) — усиливает или подавляет (в зависимости от типа клетки) реакцию большинства клеток на другие ростовые факторы, регулирует дифференцировку некоторых клеток, модулирует активность bFGF [5].

Существует предположение о взаимосвязи антител к фибробластам и ранним возникновением выраженных макро- и микрососудистых осложнений у больных СД. Обнаружена взаимосвязь между антителами к фибробластам и антителами к аутоантителам к поверхностному антигену островковых клеток (АПОК) [3]. Определена положительная корреляционная связь между развитием поздних осложнений СД 1 типа и антител к фибробластам ($r=0,55$) [9]. Показана возможность гликозилирования FGF (факторов роста фибробластов) и активации/деактивации его эффектов, прямая активация фибробластов гипергликемией [2].

Изменение в функционировании фибробластов, вероятно, вызывает изменение синтеза факторов роста, это гипотетически может приводить к пролиферативным изменениям в различных органах, что проявляется в развитии макро- и микроангиопатий. Данное положение подтверждают многочисленные опыты *in*

vitro. В культуре эндотелиальные и гладкомышечные клетки сосудистой стенки, фибробласты и макрофаги синтезируют разнообразные факторы роста, которые могут участвовать в аутокринном или паракринном регулировании роста артериальной стенки [11].

Показано резкое увеличение концентрации CTGF (фактор роста соединительной ткани) и TGFb1, секретлируемых стимулированными эндотелиальными клетками и фибробластами, при развитии атеросклеротических процессов в коронарных артериях [23]. LDL комплексы (нативные и искусственные), вызывали внутриклеточное накопление холестерина и сложных эфиров в макрофагах и фибробластах [13, 14, 21]. bFGF был предложен в качестве основного агента в пролиферативной диабетической ретинопатии и других процессах неоваскуляризации [6, 7]. CTGF и TGFb1 — главные регуляторы продукции мезангиального матрикса и соответственно гипертрофии мезангиальных клеток при сахарном диабете [4, 15, 23]. Фибробласты, показывающие самое большое увеличение роста в ответ на гипергликемию, также экспрессируют избыток bFGF [18]. Подтверждена важная роль TGFb1 в регуляции метаболизма L-аргинина и NO-синтазы в заживлении язвенных дефектов стоп. Эти данные доказывают, что bFGF и TGFb1 играют важную роль в патологическом заживлении раны у некомпенсированных больных с СД [1]. Высокие концентрации глюкозы и инсулина стимулируют экспрессию коллагена типа 1 фибробластами в культуре, причем клетки от пациентов с СД более чувствительны к этому эффекту инсулина. Потенциальным медиатором для этого эффекта может выступать TGFb1 [10, 24].

Подобные данные получены в основном *in vitro* или у незначительного числа пациентов. Имеются единичные работы с определением bFGF и TGFb1 у больных СД и его осложнениями.

Целью нашего исследования было изучение уровня TGFb1 и bFGF у пациентов с высоким коронарным риском (20-40%) по Coronary Risk Chart for Primary Prevention (European and other Societies on Coronary Prevention) с СД типа 2 и без СД типа 2 в сравнении с группой здоровых лиц и выявление возможной взаимосвязи между этими факторами роста и метаболическими показателями (ИМТ, уровень холестерина, HbA1c и др.).

Материалы и методы

В исследование был включен 81 пациент. Все пациенты рас-

* Приносим огромную благодарность за помощь и содействие в проведении работы сотрудникам отделения кардиологии (зав. — к. м. н. М. В. Котельников) Клинического госпиталя ГУВД, Москва.

пределены на 3 группы, основным критерием отбора служил коронарный риск (20-40% и <5% для группы сравнения). Коронарный риск – риск развития ИБС, осложнений ИБС или коронарной смерти в течение следующих 10 лет [22].

При оценке риска учитывались возраст, пол, наличие у данного пациента сердечно-сосудистых заболеваний в прошлом и в настоящее время, наличие и стаж СД, семейный анамнез, проводимое лечение. При опросе обращалось внимание на такие характеристики образа жизни как диета, курение, уровень физической активности, измерялась масса тела (с подсчетом ИМТ), уровень АД, оценивался уровень липидов, глюкозы в крови, гликированный гемоглобин. Риск развития ИБС оценивается на основании исследования всех этих характеристик согласно Coronary Risk Chart for Primary Prevention Coronary Heart Disease [22]. В руководствах по факторам риска принято оценивать прогностическую значимость каждого из них в отдельности. Такой подход не учитывает того, что сочетание нескольких факторов риска значительно увеличивает вероятность возникновения ИБС. Применение нами Coronary Risk Chart for Primary Prevention Coronary Heart Disease позволило комплексно оценить воздействия факторов риска на организм человека и точнее оценить коронарный риск. Необходимо отметить, что в основе Coronary Risk Chart заложены данные Фремингемского исследования.

Другие осложнения СД, кроме атеросклероза, в настоящем исследовании не оценивались.

Показатели TGFb1 и bFGF определялись с использованием ИФА (Biosource systems).

Для статистической обработки материала использовались программы Statistica 6.0 for Windows и BioStat for Windows (Primer of Biostatistics, 4th Edition, S.A.Glantz, McGraw-Hill). Данные представлены в виде медианы (верхний и нижний квартили) и 95% доверительных интервалов (95% CI). Для анализа нормальности распределения использовался критерий Шапиро-Уилка. Группы сопоставлялись методом рангового анализа вариаций по критерию Краскела-Уоллиса (H). Связь между различными показателями устанавливали с помощью ранговой корреляции Спирмена (Spearman R). Вероятность того, что статистические выборки отличались друг от друга, существовала при $p < 0,05$.

Результаты

На основании обследования пациентов были сфор-

мированы 3 группы (см. таблицу). Из них 32 человека составили 1-ю группу (с коронарным риском 20-40% без СД) – 29 мужчин, 3 женщины; 37 человек во 2-й группе (с коронарным риском 20-40% и СД 2 типа) – 21 мужчина и 16 женщин, стаж СД 5 лет (2-13) и 12 человек – 3-я группа контроля (коронарный риск <5%, без СД) – 5 мужчин и 7 женщин.

Нами установлено, что пациенты, длительно страдающие СД, имели более высокий уровень холестерина по сравнению с пациентами со стажем диабета менее 2 лет. Была обнаружена прямая корреляция уровня холестерина от длительности СД 2 типа ($R \text{ Spearman} = 0,405$; $p = 0,024$) (-0,021-0,178 95% CI), что подтверждает роль СД в прогрессировании атеросклероза.

Обнаружено, что уровень TGFb1 в 1-й группе составил 10300,00 пг/мл (8580,00-12100,00) во 2-й – 8480,00 пг/мл (4960,00-10440,00) и был выше по сравнению с группой контроля 7640,00 пг/мл (5000,00-9240,00), $p = 0,003$. Различия в уровне TGFb1 между 1-й и 2-й группами было статистически достоверно $p = 0,006$ (рис. 1). Доверительные интервалы медианы TGFb1 1-й группы 10300,00 пг/мл (8720,00-11920,00 95% CI), 2-й группы 8480,00 пг/мл (6840,00-9480,00 95% CI) и 3-й группы 7640,00 пг/мл (1004,00-9360,00 95% CI) указывают на клинически значимый уровень повышения TGFb1 в 1-й и 2-й группах. Уровень bFGF статистически не отличался во всех 3 группах.

При анализе полученных данных выявлена умеренная прямая корреляция между уровнем bFGF и возрастом больных в 1-й группе ($R \text{ Spearman} = 0,360$; $p = 0,043$) (0,015-0,178 95% CI) (рис. 2). У этих больных в возрасте старше 50 лет отмечался более высокий уровень bFGF, чем у более молодых лиц (до 50 лет); реже встречались нулевые значения признака, однако эта разница была недостоверна ($p = 0,083$). У пациентов 1-й группы отмечена умеренная прямая корреляция между возрастом и АД, как систолическим, так и диастолическим ($R \text{ Spearman} = 0,479$; $p = 0,005$) (-0,033-0,167 95% CI); у пациентов, страдающих артериальной гипертензией, не получающих гипотензивную терапию, с возрастом уровень артериальной гипертензии закономерно увеличивается.

Отмечена умеренная обратная корреляция между

Клиническая характеристика групп			
Признак	1-я группа n=32	2-я группа n=37	3-я группа n=12
Возраст, лет	48,0 (41,5-52,0)	51,0 (49,0-53,0)	24,5 (23,0-25,0)
Вес, кг	85,50 (78,50-97,50)	85,00 (82,00-98,00)	58,00 (54,50-61,00)
ИМТ, кг/м ²	28,72 (25,13-31,15)	31,22 (28,40-33,41)	20,82 (19,80-22,13)
Курящие, %	84	43	17
HbA1c, %	5,80 (5,55-5,95)	8,70 (7,20-10,50)	5,20 (5,00-5,40)
АД сист., мм рт. ст.	150 (140-160)	160 (140-180)	120 (105-120)
АД диаст., мм рт. ст.	90 (80-100)	98 (80-110)	80 (70-80)
Холестерин, ммоль/л	6,82 (6,17-7,85)	6,61 (6,14-7,16)	4,65 (4,25-5,7)
bFGF, пг/мл	2,05 (0,00-11,37)	0,00 (0,00-5,286)	1,69 (0,00-13,12)
TGFb1, пг/мл	10300 (8580-12100)	8480 (4960-10440)	7640 (5000-9240)

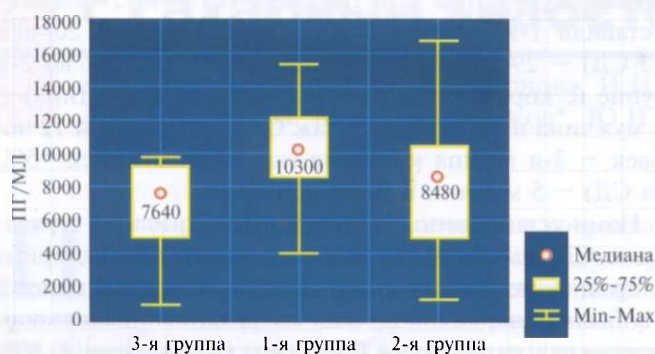


Рис. 1. Значения TGFb1 в исследуемых группах.

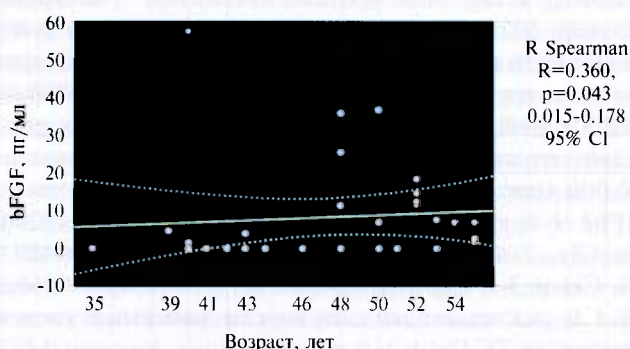


Рис. 2. Корреляции между уровнем bFGF и возрастом пациентов.

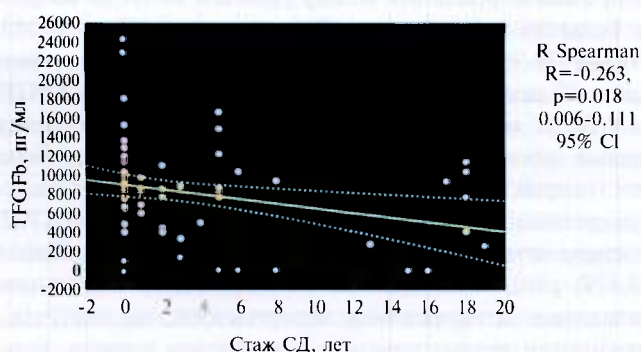


Рис. 3. Корреляции TGFb1 и стажа сахарного диабета.

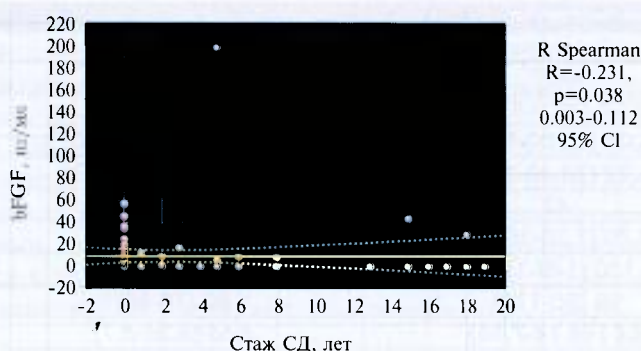


Рис. 4. Корреляции bFGF и стажа сахарного диабета.

уровнем TGFb1 и наличием СД 2 типа (R Spearman = -0,263; $p=0,018$) (0,006-0,111 95% CI) и обратная корреляция с длительностью течения СД (R Spearman = -0,290; $p=0,009$) (0,007-0,111 95% CI) (рис. 3). Аналогично уровень bFGF коррелировал с наличием СД 2 типа (R Spearman = -0,220; $p=0,048$) (0,004-0,112 95% CI) и стажем СД (R Spearman = -0,231; $p=0,038$) (0,003-0,112 95% CI) (рис. 4). Можно предположить, что у пациентов с СД типа 2 уровень исследуемых факторов роста должен быть выше, чем у здоровых людей, и такие отличия обнаружены в нашем исследовании для TGFb1 (в отношении bFGF таких отличий нет).

При изучении влияния возраста, а также длительности заболевания на уровни ростовых факторов в конечных стадиях болезни выявлены следующие существенные отличия. В дебюте заболевания СД и ИБС, а также у лиц с ИБС без СД отмечается достоверное увеличение концентрации TGFb1 по сравнению с контрольной группой ($p=0,006$), уровень bFGF достоверно не отличался.

У пациентов с ИБС без СД с увеличением возраста (и естественно длительности ИБС) определялось достоверное увеличение уровня TGFb1 ($N = 3,896$, число степеней свободы = 1; $p=0,048$). Концентрация TGFb1 у лиц старше 50 лет была выше и при сравнении с группой контроля ($N = 10,081$; число степеней свободы = 2; $p=0,006$). В отношении больных сахарным диабетом подобные различия не определялись.

У пациентов с ИБС без СД с увеличением возраста и у лиц с СД и ИБС с увеличением длительности СД и возраста отмечены существенные различия в уровне bFGF: у пациентов 1-й группы с возрастом отмечается нарастание уровня данного фактора роста; у пациентов с ИБС и СД типа 2 – снижение уровня bFGF; при сравнении пациентов с ИБС старше 50 лет и больных с длительностью СД более 5 лет уровень bFGF достоверно был выше у пациентов с ИБС без СД.

Чувствительность корреляций TGFb1 и bFGF при $\alpha=0,05$ составила 0,616.

Обсуждение

Важной частью патогенеза макрососудистой патологии при СД является гипертрофия и патологический рост различных клеток сосудистой стенки. Эндотелиальные и гладкомышечные клетки сосудистой стенки, фибробласты и моноциты/макрофаги синтезируют, по крайней мере, в культуре, разнообразные факторы роста, которые могли участвовать в аутокринном или паракринном регулировании роста артериальной стенки [11]. Патофизиологические механизмы развития СД и атеросклероза могут совместно воздействовать на высвобождение факторов роста, но их вклад в развитие макрососудистой патологии изучен недостаточно.

Были обнаружены высокие значения TGFb1 в 1-й и 2-й группах по сравнению с контролем, что подтвер-

ждает стимулирующее влияние гипергликемии на фибробласты и другие клеточные элементы соединительной ткани и синтез ими различных факторов роста. Однако наибольшее повышение уровня TGFb1 отмечено у больных ИБС без СД, что может быть объяснено меньшей стимуляцией синтеза данного фактора и/или меньшими темпами повреждения фибробластов у этих пациентов и снижением их функции, чем у больных с СД.

Полученные данные могут свидетельствовать об активации функции фибробластов и усилении патологического синтеза TGFb1 и bFGF в начале заболевания (ИБС и СД) с последующим его истощением при СД из-за возможной гибели фибробластов. Необходимо отметить, что снижение уровня факторов роста не достигает цифр контрольной группы, вероятно, в силу того, что оставшиеся фибробласты синтезируют факторы роста в «стимуляционном» режиме. В пользу этого свидетельствует обратная корреляция показателей TGFb1 и bFGF с наличием и длительностью некомпенсированного СД типа 2 и достоверные различия уровней bFGF у пациентов с длительным стажем СД (более 5 лет) по сравнению с длительностью ИБС. У пациентов с ИБС не отмечается снижения уровня bFGF с длительностью ИБС, а наоборот, есть тенденция к увеличению — вероятно, решающим фактором в снижении секреции факторов роста является гипергликемия.

Увеличение концентрации TGFb1 и bFGF в начале заболевания может приводить к пролиферативным процессам в различных органах-мишенях (почки, сердце и сосуды, сетчатка глаза), а с течением времени вместе с уменьшением концентрации — к дистрофическим процессам в соединительной ткани и усугублению возникших ранее осложнений.

Полученные данные в целом согласуются с подобными исследованиями других факторов роста. Так, J. Peczynska с соавт. указывали на значительное повышение VEGF (сосудистого эндотелиального фактора роста) у детей с СД по сравнению с контрольной группой и увеличение уровня пропорционально длительности заболевания. [20]. Отмечено увеличение концентрации VEGF при плохом глике-

мическом контроле [8]. D. Zdarska и др. при исследовании уровня TGFb у впервые выявленных больных с СД (LADA) отметили статистически значимое увеличение концентрации этого фактора роста по сравнению с группой контроля [25]. Английскими учеными выявлена ассоциация гена TGFb1 с диабетической нефропатией [19].

Можно предположить, что атеросклероз и СД — системные заболевания, имеющие общие патогенетические пути, включающие патологию фибробластов. D. Naskret с соавт. указывают на связь между диабетической ретинопатией и сниженной перфузией миокарда; ими был выявлен более высокий уровень VEGF у пациентов с ретинопатией [17].

У здоровых лиц концентрация факторов роста, возможно, с возрастом уменьшается, что может находить отражение в дегенеративных процессах во время старения; системные заболевания — СД, атеросклероз и другая патология, вероятно, также ведут к уменьшению их уровня и усилению патологических процессов.

Полученные данные о влиянии факторов роста на возникновение и течение осложнений при СД, а возможно и на развитие атеросклероза, безусловно, имеют огромное значение для клиники. Опубликован ряд исследований, где для лечения диабетической нейропатии с положительным эффектом использовался человеческий рекомбинантный bFGF [16]. В связи с этим дальнейшее изучение роли факторов роста в развитии хронических осложнений СД представляется актуальным.

Выводы

1. СД типа 2 и атеросклероз оказывают стимулирующее действие на синтез TGFb1. Гипергликемия имеет главное значение в изменении уровней исследуемых факторов роста.

2. В дебюте СД типа 2 отмечен максимальный уровень TGFb1 и bFGF с их последующим снижением, не достигающим нормы.

3. Для пациентов с ИБС без СД уровень bFGF увеличивался прямопропорционально возрасту.

Литература

- Бондаренко О. Н., Галстян Г. Р., Кузнецова Т. В. и др. // Проблемы эндокринологии — 2004 — том 50 (№ 1) — с. 3-9
- Один В. И. Аутоиммунный сахарный диабет — Санкт-Петербург: Издательство Военно-Медицинской Академии, 2003 — с. 42-44, 55-64
- Смирнова О. М., Чугунова Л. А., Злобина Е. Н. и др. // Клиническая эндокринология — 1993 — том 39 (№ 3) — с. 4-5
- Abdel-Wahab N, Weston BS, Roberts T, Mason RM // J Am Soc Nephrol 2002 Oct; 13(10):2437-45
- Biology of growth factors — New York and London: Plenum press, 1988. — p. 23-39
- Hanneken A, de Juan E Jr, Luffy GA, Fox at al. // Arch Ophthalmol 1991 Jul; 109(7):1005-11
- Hueber A, Wiedemann P, Esser P, Heimann K // Int Ophthalmol 1996-97; 20(6):345-50
- Itoh M., Kakizawa H., Itoh Y., et al. The relationship between glycemic control and plasma VEGF and ET-1 concentration in diabetic patients.
- Keda IM, Kriukova IV, Smirnova OM et al. // Vestn Ross Akad Med Nauk 1994; (12):33-9
- Kjellström T, Malmquist J // Horm Metab Res 1984 Apr; 16(4):168-71
- Koschinsky T, Bunting CE, Rutter R, Gries FA // Diabete Metab 1987 Jul; 13(3 Pt 2):318-25
- Labat-Robert J, Robert L // Exp Gerontol 1988; 23(1):5-18
- Lopes-Virella MF // Horm Metab Res Suppl 1985; 15:83-7
- Lopes-Virella MF, Virella G // Diabetes 1996 Jul; 45 Suppl 3:S40-4
- Murphy M, Godson C, Cannon S, at al. // The journal of biological chemistry 1999 Feb; 274(9):5830-34
- Nakae M., Nakamura J., Kamiya H., et al Effect of bFGF on diabetic neuropathy
- Naskret D., Zozulinska D., Lesniewska K., Wiktorowicz K. Retinopathy is associated with impaired myocardial perfusion in young adults with long lasting Type 1 diabetes
- Ohgi S, Johnson PW // J Periodontol Res 1996 Nov; 31(8):579-88
- Patel A., Rippin J. D., Scott W. R. et al Transforming growth factor-beta 1 gene contributes to the genetic predisposition to nephropathy in Type 1 diabetes
- Peczynska J., Urban M., Glowinska B., Urban B. Vascular endothelial growth factor (VEGF) level in children and adolescent with diabetes Type 1.
- Ponsin G, Calvo C, Berthezene F // Diabete Metab 1991 Nov-Dec; 17(6):497-502
- Prevention of coronary heart disease in clinical practice (Recommendations of the Second Joint Task Force of European and other Societies on Coronary Prevention) // European Heart Journal 1998; 19:1434-1503.
- Riser BL, Denichilo M, Cortes P at al. // J Am Soc Nephrol 2000; 11:25-38
- Saed GM, Diamond MP // Fertil Steril 2003 Jan; 79(1):158-63
- Zdarska D., Kvapil M., Zavadova E. Transforming growth factor beta 1 in plasma of patients with newly diagnosed diabetes mellitus Type 2 in comparison to patients with latent autoimmune diabetes mellitus (LADA).