

# Дисфункция эндотелия и нарушения тромбоцитарно-коагуляционного гемостаза в развитии диабетической нефропатии при сахарном диабете 2 типа

В.И. Сизиков, А.А. Нелаева, Ю.В. Хасанова, И.Ю. Быкова

ГОУ ВПО Тюменская государственная медицинская академия Росздрава,  
Эндокринологический диспансер, Тюмень

**П**очти в половине случаев сахарный диабет (СД) обнаруживается только после развившихся осложнений; нефропатия определяется у 25% вновь выявленных больных, и это осложнение манифестирует в виде стойкой микроальбуминурии (МАУ) [1,2]. В России, по данным Государственного регистра больных сахарным диабетом 1999–2000 гг., распространенность диабетической нефропатии (ДН) в среднем составляет при СД 1 типа 19%, при СД 2 типа – 8%, что ниже мировых значений в 2 и 5 раз соответственно. В Москве и Московской области (по данным регистра за 2005 г.) распространенность ДН наиболее приближена к данным мировой статистики и составляет при СД 1 типа 33%, при СД 2 типа – 25%. По данным регистра по г. Тюмени, распространенность ДН – 23,3%; у больных СД 1 типа – 32,5%, СД 2 типа – 22% (данные на 2005 г.). Однако при активном скрининге истинная распространенность ДН в России превышает зарегистрированную в 2–8 раз.

Известно, что в развитии микроангиопатий при СД играет роль снижение выработки оксида азота (NO) и нарушение функционального состояния эндотелия, а также изменение тромбоцитарно-коагуляционного гемостаза [3]. К эндотелийзависимым процессам относятся тонус и проницаемость сосудов, адгезия лейкоцитов и тромбоцитов, ангиогенез, тромбогенность и тромборезистентность. Эндотелиальную дисфункцию рассматривают как значимое звено в патогенезе атеросклероза, гипертонической болезни и СД [4].

NO обуславливает релаксацию мышц сосудов и, таким образом, обладает сосудорасширяющим действием [2]. В нормальных кровеносных сосудах эндотелий регулирует тонус гладкомышечных клеток, адгезию тромбоцитов и нейтрофилов посредством высвобождения медиаторов, из которых основными можно считать NO и эндотелин-1 (ЕТ-1), являющийся вазоконстриктором. При патологических изменениях в сосудах образование NO снижается, а ЕТ-1 возрастает, что может изменять реактивность сосудов и влиять на агрегатное состояние крови [5]. Снижение содержания NO в эндотелии может быть связано с нарушением экспрессии или транскрипции eNOS, снижением доступности запасов L-аргинина для eNOS и/или ускоренным метаболизмом NO (при повышенном образовании свободных

радикалов). Причиной снижения активности eNOS могут быть гиперхолестеринемия и повышение уровня окисленных ЛПНП [6,7].

Особый интерес представляет изучение функционального состояния эндотелия и коагуляционно-тромбоцитарного гемостаза у больных с впервые выявленным СД 2 типа.

## Объект и методы исследования

Для исследования было сформировано 3 группы пациентов (сопоставимых по возрасту, полу, степени ожирения и АГ): 1) больные с впервые выявленным СД 2 типа с ДН на стадии МАУ (33 человека), 2) с впервые выявленным СД 2 типа без ДН (28 человек), 3) группа контроля – лица без нарушения углеводного обмена (34 человека) с ожирением (ИМТ –  $31,24 \pm 4$  кг/м<sup>2</sup>) и АГ I–II степени по классификации ВОЗ (АД  $139,3 \pm 11/89,33 \pm 9$  мм рт.ст.). Женщин было 82%, мужчин – 18%. Средний возраст обследованных составил  $50,96 \pm 11$  лет.

Гликированный гемоглобин (HbA1c) и МАУ определяли на аппарате «Nycocard rider 2». Для оценки тромбоцитарного звена гемостаза использовали фотометрический метод, динамику изменений светопропускания плазмы оценивали на лазерном агрегометре «Биола». Определяли число тромбоцитов и уровень фибриногена; фактор Виллебранда (ФВ), протромбиновое отношение (ПО) и время рекальцификации измеряли на аппарате «Trombostat II». В качестве индуктора при определении ФВ использовали ристомин (15 мг в 0,5 мл растворителя). Уровень метаболитов NO в плазме крови определяли по методу В.Б. Карпюка (2000), активность ксантиноксидазы (КСО) – по методу Дьячиной (1973).

Функцию эндотелия оценивали на плечевой артерии (ПА). Ответ на реактивную гиперемию (РГ) рассчитывали как разницу диаметров артерии на фоне реактивной гиперемии и исходного [1,3]. Пробы проводили с помощью ультразвукового аппарата ALOKA 1700 Duna View II с линейным датчиком частотой 7,5 МГц. Нормальной реакцией ПА принято считать ее расширение на фоне РГ на 10% и более от исходного ее диаметра [2, 3].

При статистической обработке использовалась программа Biostat. Данные в тексте и таблицах приведены

в виде  $M \pm m$ . Достоверность различий оценивали с помощью непараметрического парного критерия Уилкоксона (Т) для связанных выборок и критерий Манна-Уитни (U) для несвязанных выборок в доверительном интервале более 95% при нормальном распределении вариационного ряда. Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

## Результаты и их обсуждение

У больных СД 2 с сохраненной функцией почек изменения диаметра ПА в пробе с РГ существенно не отличались от аналогичных показателей у лиц контрольной группы: 7,9 и 7,96% ( $p > 0,05$ ) соответственно. Следовательно, у лиц с АГ и ожирением уже имеются нарушения вазорегулирующей функции эндотелия, что, возможно, способствует появлению МАУ [8]. Некоторые авторы [9] полагают, что дисфункция эндотелия играет основную роль в патогенезе АГ, связанной с метаболическими нарушениями. У лиц с ожирением, причинами которого могут быть инсулинорезистентность и гиперинсулинемия, наблюдается снижение реакции на вазодилатационное и усиление на вазоконстрикторное воздействие, что обусловлено снижением активности NO, уменьшением образования простагличина и увеличением продукции вазоконстрикторных веществ (ЕТ-1, тромбоксан А<sub>2</sub>, простагландин F<sub>2</sub>). Немаловажное значение в формировании дисфункции эндотелия может иметь характерное для таких больных усиление окислительного стресса. Таким образом, эндотелиальная функция является интегральным аспектом синдрома инсулинорезистентности и способствует ее усугублению, увеличению реактивности сосудов, формированию АГ, что ведет к кардиоваскулярным осложнениям. Показано, что артериальная гипертензия изменяет морфологию и функции эндотелия [3]. По сравнению с пациентами с нормальным АД в этих случаях развивается усиленное взаимодействие тромбоцитов и моноцитов с клетками эндотелия, а окислительный стресс при повышенном АД уменьшает зависящую от эндотелия вазодилатацию. С возрастом эндотелиальный синтез NO уменьшается и усиливается реакция эндотелия на сосудосужающие факторы. У больных СД часто обнаруживается резкое ускорение артериосклеротических изменений. Причиной этого может быть дисфункция эндотелия, вызванная хронически повышенным уровнем сахара в крови. В экспериментальных исследованиях было показано, что повышенная концентрация глюкозы приводит к парадоксальной вазоконстрикции [10]. Мы нашли, что содержание метаболитов NO в плазме у лиц с СД 2 без ДН было на 45,4% ниже, а уровень ФВ на 21,8% выше, чем в контроле. Остальные показатели гемостаза у пациентов с СД без ДН не отличались от аналогичных показателей в контроле ( $p > 0,05$ ) (табл. 1).

Таблица 1

| Исследованные показатели у больных СД 2 без нефропатии и в контрольной группе (без СД) |                    |                     |
|----------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|---------------------|
| Показатель                                                                             | Контрольная группа | СД 2 без нефропатии |
| МАУ, мг/л                                                                              | 17.31±03.99        | 19.61±0.51***       |
| Спонтанная агрегация, %                                                                | 2.87±0.27          | 3.06±0.24***        |
| Количество тромбоцитов, тыс/мкл                                                        | 268.6±19.12        | 48.5±12.88***       |
| Фибриноген, г/л                                                                        | 3.38±0.06          | 3.39±0.05***        |
| ПО                                                                                     | 0.95±0.02          | 0.92±0.02***        |
| Время рекальцификации, с                                                               | 92.3±4.3           | 83.05±3.54***       |
| Фактор Виллебранда, %                                                                  | 71.14±4.71         | 90.95±4.1*          |
| NO, нмоль/мл                                                                           | 5.42±0.45          | 2.96±0.23*          |
| КСО, нмоль/мл • мин                                                                    | 3.37±0.37          | 3.43±0.13***        |

Примечание, здесь и в табл. 2 и 3: \* $p < 0,01$ , \*\* $p < 0,05$ , \*\*\* $p > 0,05$ .

Таблица 2

| Исследованные показатели у больных СД 2 без нефропатии и с нефропатией на стадии МАУ |              |                     |
|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------|---------------------|
| Показатель                                                                           | СД 2 с ДН    | СД 2 без нефропатии |
| HbA1c, %                                                                             | 8.55±0.35    | 7.95±0.27*          |
| МАУ, мг/л                                                                            | 215.5±15.83  | 19.61±0.51*         |
| Спонтанная агрегация, %                                                              | 3.91±0.46    | 3.06±0.24*          |
| Количество тромбоцитов, тыс/мкл                                                      | 312.75±15.68 | 248.5±12.88*        |
| Фибриноген, г/л                                                                      | 3.65±0.05    | 3.39±0.05**         |
| ПО                                                                                   | 1.02±0.02    | 0.92±0.02**         |
| Время рекальцификации, с                                                             | 98.85±3.75   | 83.05±3.54*         |
| Фактор Виллебранда, %                                                                | 98.94±4.81   | 90.95±4.1**         |
| NO, нмоль/мл                                                                         | 2.59±0.16    | 2.96±0.23**         |
| КСО, нмоль/мл • мин                                                                  | 4.17±0.27    | 3.43±0.13*          |

Таблица 3

| Исследованные показатели у больных СД 2 и ДН и в контрольной группе |              |                    |
|---------------------------------------------------------------------|--------------|--------------------|
| Показатель                                                          | СД 2 с ДН    | Контрольная группа |
| МАУ, мг/л                                                           | 215.5±15.83  | 75.61±13.99*       |
| Спонтанная агрегация, %                                             | 3.91±0.46    | 2.87±0.27*         |
| Количество тромбоцитов, тыс/мкл                                     | 312.75±15.68 | 268.6±19.12*       |
| Фибриноген, г/л                                                     | 3.65±0.05    | 3.38±0.06**        |
| ПО                                                                  | 1.02±0.02    | 0.95±0.02**        |
| Время рекальцификации, с                                            | 98.85±3.75   | 92.3±4.3**         |
| Фактор Виллебранда, %                                               | 98.94±4.81   | 71.14±4.71*        |
| NO, нмоль/мл                                                        | 2.59±0.16    | 5.42±0.45*         |
| КСО, нмоль/мл • мин                                                 | 4.17±0.27    | 3.37±0.37**        |

У больных СД 2 и ДН на стадии МАУ дисфункция эндотелия оказалась более выраженной: ответ ПА=6,92% ( $p < 0,05$ ). Уровень метаболитов NO в плазме крови у лиц с СД 2 с ДН на стадии МАУ был на 12,5% ниже, чем у пациентов с СД 2 без ДН, и на 45,4% ниже, чем в контроле. Концентрация HbA1c в группе с ДН была на 0,6% выше, чем в группе с СД 2 без МАУ. Выделение белка с мочой у пациентов с ДН была на 90,9% (в 11 раз) выше, чем у больных с СД без ДН.

Уровень ФВ у больных СД 2 при наличии МАУ был на 8,8% выше, чем в группе без нефропатии, и на 39% выше, чем у лиц без СД.

Нарушения гемостаза при СД 2 проявляются тромбозом и ДВС-синдромом, что является следствием повышенной агрегации тромбоцитов и гиперкоагуляции. У лиц с ДН по сравнению с контролем и больными без ДН были повышены уровень фибриногена, ПО, время рекальцификации, количество тромбоцитов и спонтанная агрегация (табл. 2,3).

Таким образом, при ДН установлено развитие эндотелиальной дисфункции, выражающейся не только в нарушении вазорегуляции, но и в нарушении фибринолитической и антикоагуляционной активности крови.

У больных СД выявлена отрицательная корреляция между уровнем метаболитов NO в плазме и МАУ ( $r=-0,51$ ;  $p<0,05$ ). Показатели поток-зависимой вазодилатации коррелировали с уровнем метаболитов NO ( $r=0,44$ ;  $p<0,05$ ). Ранее [1, 2] с помощью УЗИ было обнаружено снижение эндотелиальной регуляции тонуса

периферических артерий у пациентов с АГ по сравнению со здоровыми людьми.

## Выводы

1. У больных с впервые выявленным СД 2 ответ ПА на РГ при наличии ДН на стадии МАУ меньше, чем у больных без ДН.

2. СД 2 характеризуется изменениями тромбоцитарно-коагуляционного гемостаза, что проявляется повышением количества тромбоцитов с увеличением их спонтанной агрегации.

3. Тромбоцитарно-коагуляционные изменения наиболее выражены у больных СД 2 с ДН на стадии МАУ.

4. Уровень метаболитов NO у больных с ожирением и АГ без СД 2 типа выше, чем при СД 2. Это может указывать на снижение выработки эндотелием NO при хронической гипергликемии.

5. Установлена корреляционная связь между изменениями в системе гемостаза и нарушениями эндотелиальной регуляции сосудистого тонуса.

## Литература

1. Epstein M, Sowers JR: Diabetes mellitus and Hypertension 1992; 19:403-418.
2. Затеишкова А.А., Затеишиков Д.А. Эндотелиальная регуляция сосудистого тонуса методы исследования и клиническое значение // Кардиология - 1998. - № 9. - С. 68-76.
3. Mogensen CE, Hansen KW: Preventing and postpoing renal disease in insulin-depedent diabetes by glycemic and non-glycemic intervention.
3. Иванова О.В., Рогоза А.Н., Балахонова Т.В. и др. Определение чувствительности плечевой артерии к напряжению сдвига на эндотелии как метод оценки состояния эндотелийзависимой вазодилатации с помощью ультразвука высокого разрешения у больных артериальной гипертензией // Кардиология. - 1998. - № 3. - С. 37-41.
4. Петрищев НН, Власов ТД. Физиология и патофизиология эндотелия. В: Петрищев НН, ред. Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция. Изд-во СПбГМУ, СПб., 2003; 4-38
5. Robert MF, Rabelink TJ. Atherosclerosis and two faces of endothelial nitric oxide syntase. Circulation. 1998; 97: 108-112.
6. Warner TD. Relationships between the endothelin and nitric oxide pathways, Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology. 1999; 26: 247- 252.
7. Watts GF, Herrmann S, Dogra GK et al. Vascular function of peripheral circulation in patients with nephrosis. Kidney International. 2001; 60(1): 182-188.
8. Luscher T.F. Endothelial dysfunction as a therapeutic target: the ENCORE trials // Europ. Heart J. - 2000. - Vol. 2, (Suppl. D). - P. 20-26. Contrib Nephrol 1990; 78:73-100.
8. Stehouwer CDA, Fisher HRA, Kuijk AWR van, et al. Endothelial dysfunction precedes development of microalbuminuria in IDDM. Diabetes 1995;44:561-4.
9. Задионченко В.С., Адашева Т.В., Демичева О.Ю. и др. Артериальная гипертензия при метаболическом синдроме: патогенез, основы терапии. Consilium-medicum, Т. 06/ N 9/2004, www.consilium-medicum.com
10. Бэр Ф.М. Клиническое значение эндотелиальной дисфункции. Журнал Топ Медицина, 2000, №3.