

Оксид азота и диабетические ангиопатии

И.А.Бондарь, В.В.Климонтов, И.А.Поршенников

Кафедра внутренних болезней (зав. - акад. РАМН Л.Д. Сидорова)
лечебного факультета Новосибирской медицинской академии

Патогенез сосудистых осложнений сахарного диабета (СД) является до конца нерешенной проблемой. Важную роль в развитии диабетических ангиопатий (ДА) отводят дисфункции эндотелия и нарушениям регуляции сосудистого тонуса. Особый интерес вызывает оксид азота NO - свободный радикал, вызывающий эндотелийзависимую вазодилатацию (другое название - эндотелиальный фактор релаксации), ингибирующий агрегацию тромбоцитов, адгезию лейкоцитов к эндотелию и пролиферацию гладкомышечных клеток сосудистой стенки [8].

Образование NO происходит из L-аргинина под действием NO-синтазы (NOS). В эндотелии и тромбоцитах функционирует конституционально экспрессируемая изоформа фермента (eNOS), катализирующая образование сравнительно небольших количеств нитрооксида. В макрофагах, нейтрофилах, гепатоцитах, мезангиальных и гладкомышечных клетках синтез NO определяет индуцибельная NO-синтаза (iNOS), при стимуляции которой продукция оксида азота может возрастать в десятки раз, при этом NO приобретает цитотоксические свойства [3]. Генерация оксида азота iNOS в β -клетках поджелудочной железы в рамках аутоиммунного процесса участвует в деструкции клеток и развитии СД 1 типа [1, 3].

При определении роли NO в патогенезе ДА получены противоречивые данные, что связано как с различиями клинических характеристик больных, так и с разными методическими подходами к оценке синтеза NO. В некоторых работах о продукции оксида азота судили по активности eNOS клеток, в частности, тромбоцитов; одни авторы выявили ее снижение [14, 17, 18], другие зафиксировали повышение [4].

Иной подход основан на интегральной оценке уровня NO по содержанию в крови или моче стабильных продуктов его окисления - нитратов и нитритов. В плазме крови больных СД были обнаружены как нормальные [6], так и повышенные [9] показатели метаболитов оксида азота.

Цель нашего исследования состояла в изучении уровня эндогенного NO на основании экскреции нитратов с мочой у больных СД 1 типа в зависимости от выраженности ДА и повреждения сосудистого эндотелия.

Объем исследований и методы

Обследовано 40 больных СД 1 типа (20 мужчин и 20 женщин) в возрасте 15-48 лет с длительностью заболевания от 2 мес. до 23 лет. 32 пациента находились в состоянии декомпенсации углеводного обмена. У 12 больных не выявлено признаков ДА (1-я группа), у 12 - выраженные стадии ДА (3-я группа). Артериальная гипертензия (АГ) имела место у 13 пациентов с диабетической нефропатией. В обследование не включались пациенты с инфекциями мочеполовой системы, а также получавшие препараты-донаторы NO (нитраты, нитропруссид натрия и др.). Контрольную группу составили 24 здоровых человека.

Уровень гликированного гемоглобина (HbA1c) определяли иммунотурбидиметрическим методом на аппарате COBAS MIRA фирмы Roche Diagnostika. Нормальный уровень HbA1c при определении данным методом не превышает 6%.

С целью верификации повреждения эндотелия сосудов исследовали содержание антигена фактора Виллебранда (ФВ) в плазме венозной крови ELISA-методом с использованием наборов фирмы Boehringer Mannheim.

Для оценки уровня эндогенного NO определяли экскрецию нитритов в утренней порции мочи с помощью реакции Griess; Использовался раствор реактива Griess в 12%-ной уксусной кислоте, дающий в присутствии нитритов пригодную для спектрофотометрического определения красную окраску. К образцам мочи раствор Griess добавляли в соотношении 5:1, инкубировали в течение 1 ч при комнатной температуре и спектрофотометрировали при $\gamma=538$ нм. Концентрацию нитритов в пробах рассчитывали по калибровочной кривой, в качестве которой использовали последовательные разведения 20 мкмоль раствора NaNO_2 . Результат приводили к величине экскретируемого креатинина и выражали в мкмоль нитритов на 100 мкмоль креатинина.

Статистическая обработка проведена с использованием стандартных методов вариационной статистики ($M \pm m$).

Результаты и их обсуждение

Клинико-лабораторная характеристика больных СД представлена в таблице; группы обследованных сопоставимы по возрасту, показателям углеводного обмена и различались по длительности заболевания и уровню среднего артериального давления (АД).

При исследовании экскреции нитритов с мочой не установлено различий показателей у больных СД без сосудистых осложнений и лиц контрольной группы (рис. 1). У пациентов с ДА (группы 2-я и 3-я) обнаружено почти двукратное в сравнении с контролем повышение уровня экскреции. Наиболее высокие показатели регистрировались у больных с начальными стадиями ДА, с увеличением тяжести ангиопатий

Клинико-лабораторная характеристика больных СД 1 типа с различной выраженностью ДА (M±m)

Показатель	Группы больных		
	1-я (n=12)	2-я (n=16)	3-я (n=16)
Возраст, лет	32,0±2,8	32,0±2,8	32,0±2,8
Длительность СД, лет	3,1±0,9	9,3±1,1*	14,7±1,7**
Среднее АД, мм. рт. ст.	88,8±2,4	91,9±3,0	107,5±6,1**
HbA1c, %	8,5±0,5	8,9±0,5	8,7±0,3
Среднесуточная гликемия, ммоль/л	10,6±0,8	11,9±0,9	9,5±1,5

Примечание: звездочки - достоверные (p<0,05) различия; одна - с 1-й группой больных, две - со 2-й.

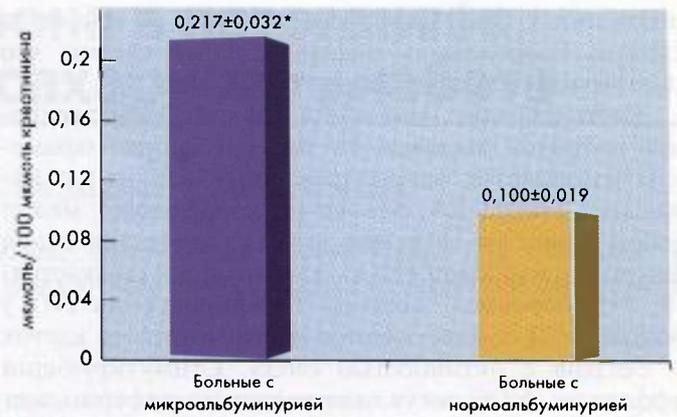


Рис. 2. Экскреция нитритов с мочой у больных СД 1 типа в зависимости от наличия микроальбуминурии.

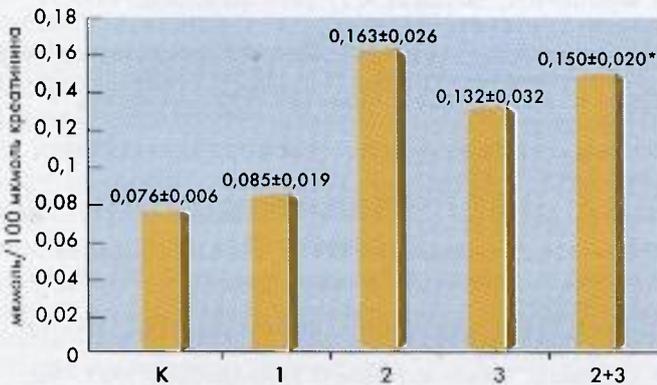


Рис. 1. Экскреция нитритов с мочой у больных СД 1 типа с различной выраженностью ДА.

Здесь и на рис. 2 и 3: К - контроль, 1-3 - группы больных СД, звездочка - достоверное различие с контролем и с 1-й группой больных.

и длительности СД величина экскреции нитритов снижалась. Выявлена зависимость данного параметра от темпов развития ангиопатий: высокие значения (0,175±0,022 мкмоль нитритов/100 мкмоль креатинина) наблюдались у 12 больных с ранним развитием ДА (при длительности СД менее 5 лет) и их быстро прогрессирующим течением. Не отмечено различий экскреции нитритов в зависимости от пола и возраста обследованных, а также корреляции уровня нитритов с показателями углеводного обмена.

При анализе взаимосвязи величин экскреции метаболитов NO с показателями функции почек обнаружено, что содержание нитритов в моче у больных с микроальбуминурией было в 2,2 раза выше, чем у пациентов с нормальной экскрецией альбумина с мочой и в 2,9 раза выше, чем в контроле (рис. 2). Данные различия могут объясняться влиянием эндогенного оксида азота на почечную гемодинамику,

а именно его способностью поддерживать внутриклубочковую гипертензию и гиперфилтрацию [5, 15] как важные неиммунные факторы прогрессирования нефропатии [16]. Гиперпродукция NO способствует поражению почек при СД.

Учитывая важную роль нарушений синтеза азота в формировании дисфункции эндотелия, представляло интерес провести сравнительное изучение уровня метаболитов NO и выраженности эндотелиального повреждения. Среди веществ, вырабатываемых эндотелием, особое место занимает ФВ. Синтез ФВ в отличие от NO осуществляется в эндотелиальных клетках, а повышение его уровня в крови является надежным маркером их повреждения [13].

У больных СД, осложненным ДА (2-я и 3-я группы), содержание антигена ФВ в плазме крови было заметно повышено, в то время как у пациентов без ангиопатий (1-я группа) данный показатель не отличался от контрольных значений (рис. 3). Следовательно, уже на начальных стадиях сосудистых ос-

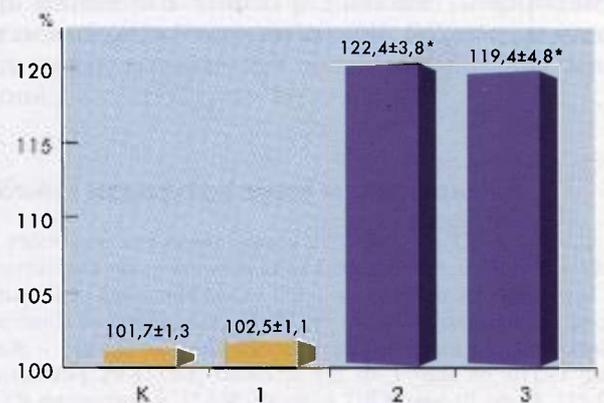


Рис. 3. Содержание антигена ФВ в плазме крови у больных СД 1 типа в зависимости от выраженности ДА.

ложнений у больных СД имеет место та или иная степень повреждения эндотелиальных клеток, что подтверждает данные Т. Jensen [12].

Сопоставление изменений уровня ФВ и экскреции нитритов показало, что при СД данные параметры изменяются однонаправленно, начиная с начальных стадий ДА, однако не коррелируют между собой (известно, что при повреждении эндотелия синтез оксида азота eNOS, как правило, снижается) [8, 11]. Вероятно, поэтому гиперпродукция NO у больных СД осуществляется другими типами клеток и связана с активностью iNOS. Стимулирующий эффект на iNOS могут оказывать γ -интерферон, интерлейкин-1 и другие цитокины [3], уровень которых повышен при СД [1, 2].

В пользу преимущественно внеэндотелиальной продукции оксида азота свидетельствует также то, что экскреция нитритов практически не зависела от курения и АГ, роль которых в развитии эндотелиальной дисфункции считается доказанной [8].

NO является частью многокомпонентной системы регуляции сосудистого тонуса. При СД и наличии гипергликемии, дислипидемии, окислительного стресса и нарушений цитокинового статуса данная система претерпевает сложные изменения, что приводит к преобладанию вазоконстрикции и прогрессированию ДА [1, 11]. В этой связи повышенный уровень NO у больных с ангиопатиями может в известной степени противостоять действию мощных вазоконстрикторных факторов, таких как тромбоксан и эндотелин-1, продукция которых у больных с ДА существенно возрастает [1]. Полученные нами данные согласуются с результатами других исследований, продемонстрировавших значительное увеличение уровня стабильных метаболитов NO в крови и моче у животных с экспериментальным СД [7, 10, 15], а также с данными М.В.Шестаковой и соавт. [4], обнаруживших повышение синтеза оксида азота у больных СД 1 типа с нефропатией.

Механизмы, лежащие в основе изменений продукции радикалов NO, и их патофизиологическая

роль при СД заслуживают, на наш взгляд, дальнейших исследований.

Таким образом, исследования указывают на повышенное образование оксида азота NO у больных СД 1 типа, осложненным ангиопатиями. Увеличение экскреции с мочой нитритов - конечных метаболитов эндогенного NO - является характерной биохимической особенностью уже при начальных стадиях ДА. Гиперпродукция NO, по-видимому, имеет отношение к формированию сосудистых осложнений СД.

Литература

1. Балаболкин М.И. // Пробл. эндокринолог. - 1997. - Т. 43, № 6. - С. 3-9.
2. Бондарь И.А. Клинические, метаболические и иммунные особенности формирования поздних осложнений сахарного диабета: Автореф. Дисс. д-ра мед. наук. - Новосибирск, 1997.
3. Вербовая Н.И., Лебедева Е.А. // Пробл. эндокринолог. - 1997. - Т. 43, № 1. - с. 43-46.
4. Шестакова М.В., Северина И.С., Дедов И.И. и др. // Вестник Российской академии мед. наук. - 1995. - № 5. - С. 30-34.
5. Bank N., Aynedijian H.S. // Kidney Int. - 1993. - Vol. 43, N 6. - P. 1306-1312.
6. Catalano M/, Carzaniga G., Perilli E. et al. // Vasc. Med. - 1997. - Vol. 2, N 4. - P. 302-305.
7. Choi K C., Lee S. C., Kim S.W. et al. // Korean J. Intern. Med. - 1999. - Vol. 14, N 1. - P. 32-41.
8. Cohen R.A. // Medicographia. - 1997. - Vol 19, N 2. - P. 157-161.
9. Ferlito S., Gallina M. // Panminerva Med. - 1998. - Vol. 40, N 4. - P/ 304-308.
10. Goor Y., Peer G., Iaina A. et al. // Diabetologia. - 1996. - Vol 39, N 9. - P. 1036-1140.
11. Giugliano D., Ceriello A., Paolisso G. // Metabolism/ - 1995. - Vol. 44, N 3. - P. 363-368.
12. Jensen T. // Br. Med. J. - 1989. - Vol. 298. - P. 27-28.
13. Lip G. Y. H., Blann A. // Cardiovasc Res. - 1997. - Vol. 34. - P. 255-265.
14. Martina V., Bruno G.A., Truccj F. et. al. // Thromb. Haemost. - 1998. - Vol 79, N 3. - P. 520-522/
15. Mattar A.L., Fujihara C.K., Ribeiro M.O. et al // Nephron. - 1996. - Vol. 74, N 1. - P. 136-143.
16. Mogensen C.E. // Diab Nutr. Metab. - 1989. - Vol. 2. - 227-244.
17. Rabini R.A., Staffolani R, Fimelli P. et al. // Diabetologia. - 1998. - Vol. 41, N 1. - P. 101-104.
18. Schaeffer G., Wascher T.C., Kostner G.M., Graier W.F. // Там же - Vol. 42, N 2. - С. 167-176.