

Изменение биохимического состава мембран тромбоцитов у больных с диабетической нефропатией и его коррекция сулодексидом

Е.А. Александрова, Ю.В. Нелаева,
А.А. Нелаева, М.В. Шестакова

Городской эндокринологический центр
(гл. врач — проф. А.А. Нелаева), Тюмень,
Тюменская государственная медицинская академия
(ректор — проф. Э.А. Кашуба),
Эндокринологический научный центр
(дир. — акад. РАМН И.И. Дедов) РАМН, Москва

Диабетическая нефропатия (ДН) — одно из самых тяжелых осложнений сахарного диабета (СД) — в настоящее время является ведущей причиной инвалидизации и смертности больных СД. Частота этого осложнения колеблется в пределах от 20 до 40 % при СД 1 типа [3]. ДН занимает первое место среди всех уточненных причин терминальной почечной недостаточности. Установлена важная роль процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в патогенезе СД 1 типа и сосудистых осложнений [9]. Активация ПОЛ сопровождает процесс физиологического старения организма, а также играет важную роль в развитии и прогрессировании многих заболеваний, в том числе СД и его осложнений. Параллельно с интенсификацией ПОЛ отмечаются изменения активности системы антиоксидантной защиты, но результаты исследований состояния антиоксидантных ферментов разноречивы.

Для ДН характерны глубокие нарушения тромбоцитарно-коагуляционного гемостаза, ее развитие сопровождается нарушением реологических свойств крови и в связи с этим исследование мембран тромбоцитов открывает новые перспективы в изучении сосудистых осложнений, а применение антиоксидантной терапии в настоящее время становится одним из основных компонентов современного лечения этой большой группы больных [9].

Целью настоящей работы явилось изучение структурно-функциональной организации мембран тромбоцитов у больных СД 1 типа с различными стадиями ДН и оценка эффективности применения препарата “Сулодексид” (“Vessel Due F”, фирма “Alfa Wassermann”, Италия) [1, 2, 4, 6, 8, 14, 20].

Задачами исследования явились: исследование активности процессов ПОЛ, активности ферментов антиоксидантной защиты, изучение фосфолипидно-

Таблица 1

Характеристика больных СД по полу и возрасту

Больные		1-я группа; n=40	2-я группа; n=40	3-я группа; n=40	Всего
Пол	Ж	10 (0,08)	26 (0,22)	19 (0,16)	55 (0,46)
	М	30 (0,25)	14 (0,12)	21 (0,17)	65 (0,54)
Возраст	До 20 лет	8 (0,065)	1 (0,01)	9 (0,075)	18 (0,15)
	20-40 лет	29 (0,24)	15 (0,12)	21 (0,18)	65 (0,54)
	Старше 40 лет	3 (0,03)	24 (0,24)	10 (0,08)	37 (0,31)
Всего...		40 (0,33)	40 (0,33)	40 (0,33)	120 (1,0)

Примечание. В скобках после абсолютных величин приведены значения частоты признака (отношение числа анализируемых признаков к общему количеству значений в вариационном ряду).

го состава мембран тромбоцитов, характеристика транспортных АТФ-аз у больных СД I типа в зависимости от стадии ДН и оценка клинической эффективности применения сулодексида наряду с традиционной терапией ДН.

Сулодексид является естественным продуктом, полученным из слизистой оболочки свиной, относится к классу гликозаминогликанов (ГАГ) и состоит из гепариноподобной (80%) и дерматановой (20%) фракций. Препарат, помимо его действия на систему свертывания крови, обладает нефропротективным эффектом, что проявляется способностью предотвращать пролиферацию мезангиума и гиперпродукцию экстрацеллюлярного матрикса, а также утолщение базальной мембраны клубочков и нарушение ее проницаемости при диабетическом поражении почек.

Материалы и методы исследований

Обследовано 120 больных СД I типа с различными стадиями ДН, которые находились в состоянии субкомпенсации. Выделены следующие группы (по 40 пациентов в каждой): 1-я) больные СД I типа с нормоальбуминурией; 2-я) больные СД I типа с микроальбуминурией; 3-я) больные СД I типа с макроальбуминурией (табл. 1).

Средняя длительность заболевания СД I типа с ДН составила 11.8 ± 0.2 года. Длительность заболевания до 5 лет имели 33 % обследованных пациентов, до 10 лет – 24 % больных, до 15 лет – 22 % и свыше 15 лет – 21 % больных. Средняя суточная доза инсулина 38 ± 0.9 Ед. Все пациенты получали человеческие инсулины фирм Novo-Nordisk и Eli Lilly. На традиционной схеме двукратного введения инсулина находилось 75 % больных, интенсифицированную схему инсулинотерапии получали 25% больных.

30 человек были обследованы повторно после лечения сулодексидом на фоне традиционной терапии. В качестве контрольной группы обследованы 30 практически здоровых лиц с нормальной толерантностью к глюкозе и при отсутствии наследственной предрасположенности к СД.

Сулодексид назначался по 1 капсуле (250 LSU) 2 раза в день в течение 21 дня [10, 13].

Полное клиническое и биохимическое обследование включало также определение гликированного гемоглобина (анализатор «1040» - Boehringer Mannheim) (табл. 2), тест на микроальбуминурию («Micral-Test» - Boehringer Mannheim). Выделение тромбоцитов проводилось по методу К.В.Чурина и сотр. (1991). Диеновые конъюгаты (ДК) определяли по методу И.Д. Стальной (1977); шиффовы основания (ШО) - по методу Ф.З.Меерсона и соавт. (1979), фосфолипазную активность - по методу С.А.Тужилина, А.И. Салуэня (1975). Показатели антиоксидантной защиты определяли по методу В.Н.Чумакова, Л.Ф.Осинской (1977). Результаты обработаны методом вариационной статистики с помощью пакета прикладных программ (SPSS), а также пакета анализа Microsoft Excel на ЭВМ PC (Pentium III).

Результаты и их обсуждение

У больных СД I типа с нормоальбуминурией установлен высокий уровень ДК ($p < 0.05$) и ШО ($p < 0.05$) в сравнении с группой здоровых (табл. 3). С развитием ДН наблюдалось прогрессивное накопление ДК, максимально в стадии макроальбуминурии, наряду со снижением ШО ($p < 0.05$), расцененное нами как снижение резистентности мембран к окислительному стрессу, что согласуется с мнением других авторов [5].

В настоящее время данные о состоянии антиоксидантных ферментов противоречивы. Депрессию супероксиддисмутазы (СОД) при СД I типа объясняют степенью гликирования фермента. Мы установили повышение активности СОД ($p < 0.02$) и каталазы ($p < 0.05$) у больных с нормоальбуминурией (см. табл. 3). В то же время обнаружено угнетение активности каталазы уже в стадии микроальбуминурии ($p < 0.005$) наряду с тенденцией к снижению активности СОД и глубокое угнетение активности каталазы ($p < 0.001$) в стадии макроальбуминурии. По мере нарастания тяжести ДН активность Г-6-ФДГ ($p < 0.05$), участвующей в восстановлении глутатиона, резко изменялась, наиболее значительно повышалась у больных с макроальбуминурией.

Дисбаланс в системе ПОЛ - антиоксидантная система в мембранах тромбоцитов у больных СД I типа с различными стадиями ДН изменяет функциональные параметры клеточных мембран, в частности транспортных АТФаз. Достоверно снижается активность $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ - АТФазы по мере нарастания тяжести ДН ($p < 0.05$). Mg^{2+} и Ca^{2+} - АТФазы имеют тенденцию к увеличению активности в стадии развития макроальбуминурии соответственно до 0.154 ± 0.040 и 0.391 ± 0.020 мкмоль/мг белка в час по сравнению с аналогичными показателями 0.102 ± 0.003 и 0.324 ± 0.024 мкмоль/мг белка в час в группе здоровых.

Следующим этапом нашего исследования было изучение особенностей липидного состава мембран тромбоцитов у больных СД I типа с различными стадиями ДН (табл. 4). Мы получили достоверное снижение наиболее ненасыщенных фракций фосфолипидов ФЭА и ФХ при микро- и макроальбуминурии, причем уменьшение этих фракций нарастало по

Таблица 2

Содержание гликированного гемоглобина у больных СД

Показатель	Контрольная группа (n=30)	1-я группа (n=40)	2-я группа (n=40)	3-я группа (n=40)
HbA _{1c} %	5.51 ± 0.24	6.08 ± 0.33 *	6.22 ± 0.22 **	7.01 ± 0.21 ***

Примечание. Звездочки (*) - достоверность ($p < 0.05$) различий у больных СД I типа: * - у больных с нормоальбуминурией с показателями здоровых; ** - у больных с микроальбуминурией с показателями у больных с нормоальбуминурией; *** - у больных с макроальбуминурией с показателями у больных с микроальбуминурией.

Таблица 3

Содержание продуктов ПОЛ в мембранах тромбоцитов, активность антиоксидантных ферментов, активность ферментов трансмембранного транспорта ионов у больных СД I типа с различными стадиями ДН ($M \pm m$)

Показатели	Контрольная группа (n=30)	1-я группа (n=40)	2-я группа (n=40)	3-я группа (n=40)
ДК, нмоль/мл	18.99 ± 0.58	26.90 ± 1.20 *	30.69 ± 1.13 **	35.05 ± 1.14 ***
ШО, усл.ед.фл.	7.69 ± 0.08	11.50 ± 0.03 *	10.29 ± 0.64 **	9.60 ± 0.74 ***
СОД, усл.ед.торм./мг белка	2.56 ± 0.18	3.28 ± 0.11 *	2.59 ± 0.18 **	2.10 ± 0.12 ***
Каталаза, мкмоль/мин/мг белка	0.85 ± 0.11	0.97 ± 0.03 *	0.58 ± 0.02 **	0.37 ± 0.02 ***
Г-6-ФДГ, мед.акт./мг белка	0.27 ± 0.05	0.32 ± 0.02 *	0.31 ± 0.03 **	0.36 ± 0.01 ***
Na ⁺ -K ⁺ – АТФаза, мкмоль/час/мг белка	0.11 ± 0.01	0.12 ± 0.04 *	0.12 ± 0.01 **	0.11 ± 0.03 ***
Mg ²⁺ – АТФаза, мкмоль/час/мг белка	0.10 ± 0.03	0.14 ± 0.01 *	0.15 ± 0.02 **	0.15 ± 0.04 ***
Ca ²⁺ – АТФаза, мкмоль/час/мг белка	0.32 ± 0.02	0.34 ± 0.06 *	0.37 ± 0.01 **	0.39 ± 0.02 ***

Примечание. Звездочки (*) - достоверность ($p < 0,05$) различий у больных СД I типа: * - у больных с нормоальбуминурией с показателями здоровых; ** - у больных с микроальбуминурией с показателями у больных с нормоальбуминурией; *** - у больных с макроальбуминурией с показателями у больных с микроальбуминурией.

мере усугубления тяжести ДН при одновременном увеличении в клеточных мембранах фракции ЛФХ. Наибольшее содержание ЛФХ установлено в стадии развития макроальбуминурии ($0,015 \pm 0,003$ ммоль/л).

Для коррекции выявленных нарушений использовали препарат "Сулодексид". Мы исследовали влияние сулодексида на состояние мембран тромбоцитов в различные стадии ДН. Предварительно оценивали препарат в группе больных СД I типа с нормоальбуминурией. Состояние компенсации метаболических

нарушений в течение 21 дня оставалось стабильным. Сахароснижающая терапия не изменялась.

На фоне применения сулодексида, особенно отчетливо во 2-й группе больных с микроальбуминурией, отмечен положительный эффект на структурно-функциональную организацию клеточных мембран тромбоцитов. Препарат оказывал ингибирующее воздействие на начальные этапы ПОЛ (табл. 5) при одновременном накоплении конечных продуктов ШО. Ограничение процессов ПОЛ при использова-

Таблица 4

Содержание основных фракций фосфолипидов (в ммоль/л) в мембранах тромбоцитов у больных СД I типа с различными стадиями диабетической нефропатии ($M \pm m$)

Показатели	Контрольная группа (n=30)	1-я группа (n=40)	2-я группа (n=40)	3-я группа (n=40)
Лизофосфатидилхолины (ЛФХ)	0.009 ± 0.001	0.011 ± 0.005 *	0.013 ± 0.004 **	0.015 ± 0.003 ***
Фосфатидилсерины (ФС)	0.017 ± 0.001	0.016 ± 0.008 *	0.017 ± 0.002 **	0.018 ± 0.001 ***
Сфингомиелины (СМ)	0.034 ± 0.002	0.033 ± 0.004 *	0.031 ± 0.002 **	0.029 ± 0.004 ***
Фосфатидилхолины (ФХ)	0.063 ± 0.003	0.053 ± 0.009 *	0.046 ± 0.002 **	0.042 ± 0.003 ***
Фосфатидилэтанолламины (ФЭА)	0.038 ± 0.001	0.035 ± 0.002 *	0.031 ± 0.004 **	0.028 ± 0.004 ***

Примечание. Звездочки (*) - достоверность ($p < 0,05$) различий у больных СД I типа: * - у больных с нормоальбуминурией с показателями здоровых; ** - у больных с микроальбуминурией с показателями у больных с нормоальбуминурией; *** - у больных с макроальбуминурией с показателями у больных с микроальбуминурией.

Таблица 5

Динамика содержания продуктов ПОЛ в мембранах тромбоцитов, активности антиоксидантных ферментов, содержания основных фракций фосфолипидов, изменение активности ферментов трансмембранного транспорта ионов мембран тромбоцитов у больных СД 1 типа с микроальбуминурией на фоне терапии сулодексидом ($M \pm m$)

Показатели	Контрольная группа (n=30)	Больные до лечения (n=10)	Больные после лечения (n=10)
Диеновые конъюгаты, нмоль/ мл	18.99 ± 0.58	30.81 ± 0.11 *	20.46 ± 0.15 **
Шиффовые основания, усл.ед.фл.	7.69 ± 0.08	10.75 ± 0.52 *	8.97 ± 0.32 **
СОД, усл.ед.торм./ мг белка	2.56 ± 0.18	2.61 ± 0.16 *	2.22 ± 0.18 **
Каталаза, мкмоль/ мин/ мг белка	0.85 ± 0.11	0.59 ± 0.02 *	0.60 ± 0.03 **
Г-6-ФДГ, мед.акт./ мг белка	0.27 ± 0.05	0.31 ± 0.03 *	0.29 ± 0.01 **
ЛФХ, ммоль/ мл	0.009 ± 0.001	0.014 ± 0.004 *	0.011 ± 0.003 **
ФС, ммоль/ мл	0.017 ± 0.001	0.018 ± 0.002 *	0.017 ± 0.004 **
СМ, ммоль/ мл	0.034 ± 0.002	0.032 ± 0.002 *	0.032 ± 0.002 **
ФХ, ммоль/ мл	0.063 ± 0.003	0.049 ± 0.003 *	0.052 ± 0.005 **
ФЭА, ммоль/ мл	0.038 ± 0.001	0.032 ± 0.003 *	0.035 ± 0.003 **
Na ⁺ -K ⁺ - АТФаза, мкмоль/ час/ мг белка	0.108 ± 0.009	0.119 ± 0.010 *	0.118 ± 0.011 **
Mg ²⁺ - АТФаза, мкмоль/ час/ мг белка	0.102 ± 0.003	0.148 ± 0.017 *	0.137 ± 0.048 **
Ca ²⁺ - АТФаза, мкмоль/ час/ мг белка	0.324 ± 0.024	0.372 ± 0.012 *	0.357 ± 0.014 **

Примечание. Звездочки (*) - достоверность ($p < 0,05$) различий у больных СД 1 типа: * - у больных с микроальбуминурией с показателями здоровых; ** - у больных с микроальбуминурией до лечения с показателями у больных с микроальбуминурией после лечения.

нии сулодексида сопровождалось повышением активности СОД и каталазы. Высокий эффект препарата был у больных СД 1 типа с нормо- и микроальбуминурией, что позволяет сделать вывод о его высокой антиоксидантной активности.

У больных с макроальбуминурией эффект применения сулодексида был менее выраженным, что предполагает необходимость более длительного приема препарата (см. рисунок).

Выводы

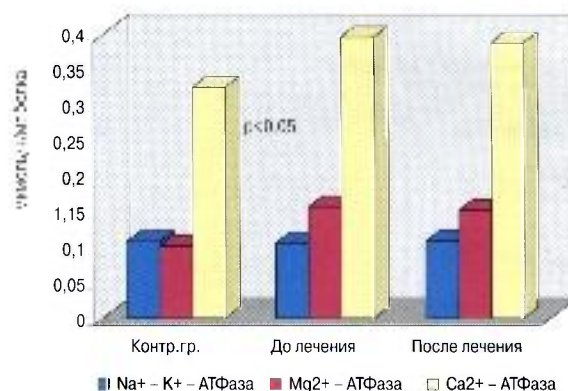
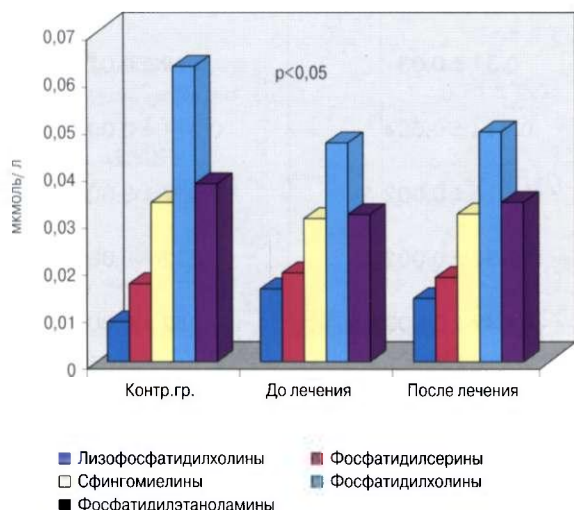
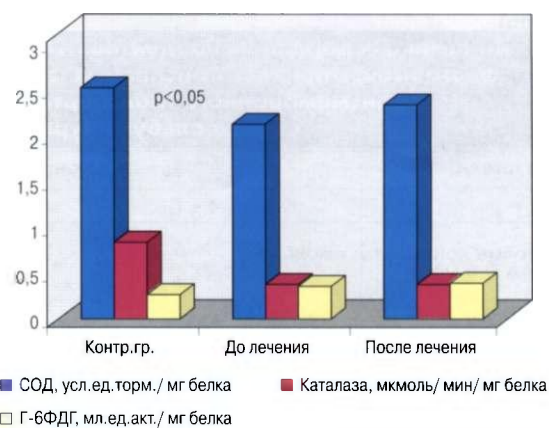
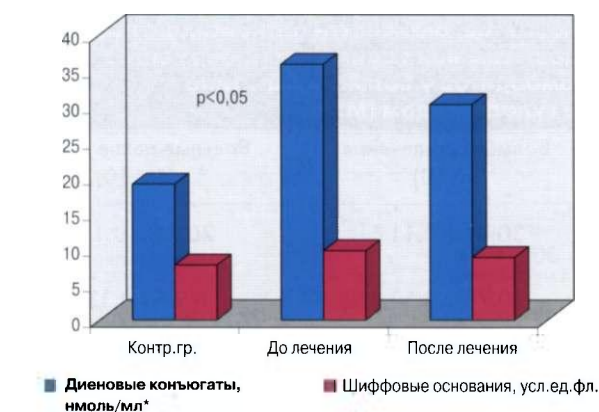
Характер и выраженность структурно-функциональных нарушений (дестабилизации) клеточных мембран тромбоцитов у больных СД 1 типа с ДН зависят от стадии развития ДН.

Активация свободнорадикального окисления липидов в тромбоцитах больных СД 1 типа с ДН при-

водит к модификации липидного бислоя клеточных мембран, что проявляется значительным уменьшением содержания фракций фосфатидилэтаноламина наряду с возрастанием фракции лизофосфатидилхолина.

Изменение липидного состава клеточных мембран тромбоцитов у больных СД 1 типа по мере прогрессирования ДН сопровождается угнетением активности Na⁺-K⁺ - АТФазы наряду с повышением активности Ca²⁺ и Mg²⁺ - АТФазы.

Применение сулодексида у больных СД 1 типа с различными стадиями ДН в течение трех недель по 1 капсуле 2 раза в день (500 LSU) способствует во всех исследуемых группах снижению уровня диеновых конъюгатов, повышению активности ферментов антирадикальной защиты, что оказывает мембраностабилизирующий эффект. Более эффективным было назначение препарата у больных с микроальбуминурией.



Изменение основных показателей у больных СД1 типа с макроальбуминурией на фоне терапии сулодексидом

Литература

1. Астамирова Х.С., Залевская А.Г., Карпова И.А. и др.// Тезисы докладов I Российского диабетологического конгресса. - М., 1998. - С. 31.
2. Воронцов А.В., Дедов И.И., Шестакова М.В. и др.// Пробл. эндокринол. - 1996. - Т. 42. - № 5. - С. 14 - 18.
3. Дедов И.И., Шестакова М.В. Диабетическая нефропатия. - М., 2000.
4. Казакова И.А., Черемискина И.Б., Мосеев Д.С.// Тезисы докладов I Российского диабетологического конгресса. - М., 1998. - С. 146.
5. Нефропатии (Аспекты мембранологии)/ Жмуров В.А., Крылов В.И., Кашуба Э.А., Чимаров В.М. - Тюмень, 1993.
6. Петеркова В.А., Мишина И.И., Щербачева Л.Н. и др.// Сахарный диабет. - 1999. - № 3. - С. 31 - 33.
7. Расовский Б.Л., Тарасов А.В., Трельская Н.Ю. и др.// Клиническая медицина. - 1998. - № 7. - С. 40 - 42.
8. Роль гликозаминогликанов (ГАГ) в лечении сосудистых осложнений сахарного диабета// Тезисы выступлений на конференции, 26 ноября 1996 г. - С.-Петербург, 1996.
9. Тромбоциты (состав, функции, биомедицинское значение)/ Бышевский А.Ш., Галян С.Л., Деметьева И.А. и др. - Тюмень, 1996.
10. Чугунова Л.А., Шамхалова М.Ш., Шестакова М.В. и др.// Тезисы докладов I Российского диабетологического конгресса. - М., 1998.
11. Чугунова Л.А., Шестакова М.В., Шамхалова М.Ш.// Сахарный диабет. - 1999. - № 3. - С. 34 - 35.
12. Шестакова М.В., Воронцов А.В., Чугунова Л.А. и др.// Клиническая фармакология и терапия. - 1997. - Т. 6. - № 1. - С. 80 - 81.
13. Шестакова М.В., Чугунова Л.А., Воронцов А.В. и др.// Терапевтический архив. - 1997. - Т. 69. - № 6. - С. 34 - 37.
14. Dedov I., Shestakova M., Vorontsov A., Palazzini E.// Nephrol Dial Transplant. - 1997. - Nov. 12(11). - P. 2295-2300.
15. Gaddi A., Galetti C., Illuminati B. et al.// J.Int.Med.Res. - 1996. - Sep. 24(5). - P. 389 - 406.
16. Gambaro G., Baggio B.// Nephrol. Dialys. Transplant. - 1996. - Vol. 11. - P. 762 - 764.
17. Gambaro G., Venturini A.P., Noonan D.M. // Kidney Int. - 1994. - Vol. 46. - P. 797 - 806.
18. Skrha J., Perusicova J., Pontfuch P. et al.// Diabetes Research and Clinical Practice. - 1997. - Vol. 38 (Issue 1) - P. 25-31.
19. Sorrenti G., Grimaldi M., Canova N. et al.// J.Int.Med.Res. - 1997. - Mar. 25(2). - P. 81 - 86.
20. Szelanowska M., Poplawska A., Jopdska J. et al.// Curr. Med. Res. Opin. - 1997. - Vol. 3(9). - P. 539 - 545.