

Кинин-калликреиновая система при макрососудистых осложнениях сахарного диабета типа 2

С.В. Воробьев, З.И. Микашинович, Е.А. Черногубова

Ростовский государственный медицинский университет
(ректор – проф. В.Н. Чернышов), Ростов-на-Дону

Среди больных сахарным диабетом (СД) частота артериальной гипертензии (АГ) и сопряженных с ней сердечно-сосудистых заболеваний, по данным различных авторов, составляет 9,5 – 55%, а в общей популяции – 1,6–4,1% [1,2]. У 80% больных СД типа 2 (СД 2) повышение артериального давления предшествует манифестации гипергликемии [3].

Гипергликемия – мощный «раздражающий» фактор, который существенно влияет на все виды обмена в организме, являясь основной причиной развития осложнений при СД. Патофизиологические пути, через которые действует гипергликемия, разнообразны. В настоящее время остается неясным, какой из данных механизмов является инициирующим фактором развития сосудистых осложнений при СД 2. Ведущими гуморальными эндотелиальными модуляторами вазодилатации считаются системы брадикинина и эндотелиального фактора релаксации – NO [4]. Калликреин-кининовая система (ККС) является ключевой протеолитической системой организма, которой принадлежит центральная роль в регуляции каскадных протеолитических систем плазмы крови, обеспечивающих процессы адаптации и защиты организма [5].

Целью нашего исследования стало изучение молекулярных механизмов развития дисфункции эндотелия (ЭД) у больных с СД типа 2 и АГ.

Объем и методы исследования

В основу работы положены результаты обследования больных СД 2 и АГ. Для постановки диагноза СД 2 учитывали критерии, изложенные в Федеральной целевой программе «Сахарный диабет» (2002). Для постановки диагноза АГ использовали критерии ВОЗ/МОАГ (2004). Степень тяжести АГ у пациентов определяли согласно Российским рекомендациям (2004). Все больные были разделены на 3 клинические группы. В 1-ю группу вошли 38 больных АГ (средний возраст $54,9 \pm 2,9$ лет) длительностью заболевания от 4 до 20 лет. 1-я степень АГ наблюдалась у 6 больных (15,8%); 2-я – у 9 (23,7%) и 3-я – у 23 больных (60,5%). Подавляющее большинство больных АГ (89,5%) имели высокую и очень высокую (10,5%) степень стратификационного риска (по критериям ВОЗ/МОАГ, 2004). 2-ю группу составил 31 больной СД 2 (средний возраст $49,0 \pm 1,9$ лет). Все больные этой группы находились в состоянии субкомпенсации углеводного обмена (уровень гликированного гемоглобина $6,8 \pm 0,4\%$). В 3-й группе

было 30 больных СД 2, осложненным АГ (средний возраст $46,1 \pm 0,9$ лет и длительность заболевания от 2 до 23 лет). У больных этой группы в состоянии субкомпенсации (уровень гликированного гемоглобина $6,7 \pm 0,5\%$) было 7 человек (24%), у 23 пациентов (76%) была выявлена декомпенсация углеводного обмена (уровень гликированного гемоглобина $8,7 \pm 0,5\%$).

Распределение пациентов в зависимости от тяжести АГ было следующим: 1-я степень АГ – 3 больных (10%); 2-я степень АГ – 10 (33,3%); 3-я степень АГ – 17 больных (56,7%). Суммарный стратификационный риск у этих больных имел очень высокую степень риска. Контролем служили практически здоровые добровольцы ($n=30$), не имеющие АГ и наследственной отягощенности по СД, сопоставимые по возрасту и полу.

При исследовании сосудодвигательной функции плечевой артерии оценивали реактивную гиперемия (РГ) и состояние эндотелийзависимой вазодилатации (ЭЗВД) в условиях проведения окклюзионной пробы [6,7]. Эндотелийнезависимую вазодилатацию (ЭНВД) изучали при проведении нитроглицериновой пробы. Для определения толщины комплекса интима-медиа (ТИМ) сканировали дистальную часть (10–20 мм) правой сонной артерии в В-режиме с цветовым доплеровским картированием потока.

До и после окклюзионной пробы в сыворотке крови определяли основные показатели ККС: активность калликреина (К) и содержание прекалликреина (ПК) [8], активность α_1 -протеиназного ингибитора (α_1 -ПИ) и α_2 -макроглобулина (α_2 -МГ), общую эстеразную активность по отношению к N- α -бензоил-аргинин-этиловому эфиру (БАЭЭ) [9].

Обработку полученных данных проводили общепринятыми методами медицинской статистики с использованием пакета прикладных программ «Statistica 5.0».

Результаты и их обсуждение

Исследования последнего десятилетия привели к пониманию многогранной роли эндотелия в поддержании «сосудистого здоровья» [10]. Актуальными остаются поиск и изучение информативных маркеров развития сосудистых осложнений СД 2 и разработка алгоритмов их диагностики.

В контрольной группе результаты окклюзионной пробы показали отсутствие признаков нарушения функций эндотелия: реакция сосудов на временное ограничение кровотока выражалась в увеличении более чем на 10% диаметра плечевой артерии относительно исходного уровня. В физиологических условиях дилатационные факторы и факторы констрикции находятся в состоянии динамического рав-

новесия. В ответ на механическое воздействие на сосуд это равновесие нарушается в сторону увеличения дилатационных факторов, что подтверждается увеличением на 29,02% ($p < 0,05$) активности К при одновременном снижении на 21,43% ($p < 0,05$) активности его специфического ингибитора – α_2 -МГ. Остальные показатели ККС после окклюзионной пробы не изменялись.

При исследовании ЭЗВД в пробе с реактивной гиперемией у больных всех групп наблюдали 2 типа сосудистого реагирования на окклюзию (табл. 1). I тип реагирования соответствовал таковому в контрольной группе; II тип реагирования характеризовался отсутствием вазодилатации и вазоконстрикторной реакции в ответ на временную гипоксию. Остальные показатели реактивной гиперемии у больных всех групп не зависели от типа сосудистого реагирования (табл. 2). У больных АГ ЭНВД не отличалась от контрольных значений. У больных СД 2 и при сочетании СД 2 и АГ ЭНВД имела меньшую в 1,2 ($p < 0,05$) и 1,8 раза ($p < 0,05$) амплитуда по сравнению с контрольной группой, что свидетельствовало о повышении ригидности сосудистой стенки при СД 2 и при сочетании его с АГ. Повышение ТИМ у пациентов с СД 2 и при сочетании СД 2 и АГ по сравнению с контрольной группой на 58,9% ($p < 0,05$) и 66,1% ($p < 0,05$), соответственно, подтверждали прогрессирующее структурное remodelирование сосудистой стенки у больных этих групп. Основные показатели ККС крови до и после окклюзионной пробы у больных представлены в табл. 3.

Существуют противоположные точки зрения о первичности ЭД при АГ и СД 2. Нами показано, что у 63,2% больных АГ и у 59,1% при СД 2 отсутствуют признаки дисфункции эндотелия. Однако у больных всех групп отмечено увеличение активности К на фоне снижения содержания его профермента.

Калликреин – полифункциональная протеиназа, высвобождающая брадикинин из высокомолекулярного кининогена. Из множества взаимодействующих с эндотелиальной поверхностью медиаторов именно брадикинин является одним из самых мощных стимулов синтеза и высвобождения NO[4].

Результаты исследования показали, что при I типе сосудистого реагирования у больных 1-й и 2-й групп активность К в 1,49 ($p < 0,05$) и 1,79 ($p < 0,05$) раза, соответственно, превышала таковую в контрольной группе, при этом содержание его профермента ПК снижалось на 33,4% ($p < 0,05$) и 35,1% ($p < 0,05$). Суммарная активность трипсиноподобных протеиназ (БАЭЭ-эстеразная активность) у больных этих клинических групп не отличалась от контрольных величин. Обращает на себя внимание увеличение антипротеолитического потенциала крови у больных АГ, у которых активности α_2 -МГ и α_1 -ПИ были на 28,6% ($p < 0,05$) и 41,2% ($p < 0,05$), соответственно, выше контрольных значений, в то время как при СД 2 они не отличались от таковых в контрольной группе.

Таким образом, при АГ активация калликрейна, и, следовательно, продукция брадикинина, ограничивается, с одной стороны увеличением активности ингибиторов К α_2 -МГ и α_1 -ПИ, а с дру-

Таблица 1

Частота встречаемости разных типов сосудистого реагирования на окклюзионную пробу в 1–3-й клинических группах.				
Тип реагирования	Контрольная группа (n=31)	Клинические группы		
		1-я (n=38)	2-я (n=31)	3-я (n=30)
I	31 (100%)	24 (63,2%)	18 (58,1%)	5 (16,7%)
II	-	14 (36,8%)	13 (41,9%)	25 (83,3%)

Таблица 2

Показатели сосудодвигательной функции эндотелия в 1–3-й клинических группах при разных типах сосудистого реагирования (M±m)				
Тип реагирования	Контрольная группа (n=31)	Клинические группы		
		1-я (n=38)	2-я (n=31)	3-я (n=30)
I тип сосудистого реагирования				
ЭЗВД, %	13,2±0,12	8,9±0,02 (a)	9,0±0,09 (a)	9,1±0,04 (a)
РГ, %	133,3±0,88	92,2±0,79 (a)	61,3±0,94 (a)	32,4±0,53 (a)
ЭНВД, %	20,5±0,22	19,4±0,78	16,8±0,53 (a)	11,4±0,34 (a)
ТИМ, мм	0,56±0,02	0,64±0,04 (a)	0,89±0,26 (a)	0,93±0,32 (a)
II тип сосудистого реагирования				
ЭЗВД, %	-	5,1±0,03 (a b)	3,7±0,07 (a b)	2,3±0,01 (a b)
РГ, %	-	94,1±0,9	62,1±0,9	32,6±0,6
ЭНВД, %	-	18,6±0,5	17,5±0,4	11,7±0,6
ТИМ, мм	-	0,65±0,2	0,87±0,3	0,95±0,2

a – достоверность различий в сравнении с контрольной группой $p < 0,05$;

b – достоверность различий показателей при разных типах сосудистого реагирования $p < 0,05$.

Таблица 3

Группы, этапы исследования		Показатели ККС крови				
		Активность К, Мед/мл	Содержание ПК, Мед/мл	БАЭЭ - эстеразная активность, Мед/мл	Активность α_2 -МГ, ИЕ/мл	Активность α_1 -ПИ, ИЕ/мл
Контрольная группа (n=28)	До пробы	25,5±1,91	357,9±8,35	225,2±10,32	4,2±0,21	27,7±3,59
	После пробы	32,9±1,53 (c)	342,7±9,16	195,6±9,10	3,3±0,12 (c)	24,8±4,51
I тип сосудистого реагирования						
1-я группа (n=24)	До пробы	38,2±2,11 (a)	238,3±5,29 (a)	221,42±5,72	5,4±0,32 (a)	39,1±4,24 (a)
	После пробы	49,2±1,73 (c)	263,1±6,17 (c)	194,84±6,94 (c)	2,7±0,21 (c)	18,9±4,0 (c)
2-я группа (n=18)	До пробы	45,6±1,64 (a)	232,1±6,48 (a)	213,7±3,16	4,5±0,26	30,4±3,76
	После пробы	55,3±0,93 (c)	248,8±7,33	191,7±4,15 (c)	2,88±0,22 (c)	17,5±3,08 (c)
3-я группа (n=5)	До пробы	59,1±0,41 (a)	231,4±8,43 (a)	210,8±0,91	3,7±0,13	24,3±3,57
	После пробы	67,8±0,54 (c)	244,3±9,16	198,2±1,22 (c)	2,6±0,31 (c)	16,1±3,19 (c)
II тип сосудистого реагирования						
1-я группа (n=14)	До пробы	62,4±2,82 (ab)	288,8±7,13 (ab)	222,7±2,96	3,9±0,52 (b)	35,6±4,13
	После пробы	36,7±1,90 (c)	241,5±5,01 (c)	250,1±1,72 (c)	5,9±0,41 (c)	48,7±3,25 (c)
2-я группа (n=13)	До пробы	67,2±2,01 (ab)	247,9±8,94 (a)	212,3±2,19	3,5±0,48	25,4±4,23
	После пробы	41,2±1,29 (c)	201,3±6,75 (c)	233,7±1,86 (c)	5,5±0,18 (c)	38,4±3,18 (c)
3-я группа (n=25)	До пробы	72,4±2,84 (ab)	219,5±10,88 (a)	196,5±2,38 (ab)	3,1±0,31 (a)	19,8±3,39
	После пробы	41,5±2,52 (c)	185,2±7,39 (c)	224,8±1,93 (c)	5,2±0,23 (c)	35,9±4,90 (c)

a – достоверность различий изучаемых показателей с таковыми в контрольной группе $p < 0,05$;

b – достоверность различий изучаемых показателей при разных типах сосудистого реагирования $p < 0,05$;

c – достоверность различий между показателями до и после окклюзионной пробы при $p < 0,05$.

гой, – увеличением активности ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) [11], обладающего помимо ангиотензинпревращающего и брадикининдеградирующим действием. Аддитивность действия этих факторов приводит к дефициту вазодилатирующих факторов и развитию артериальной гипертензии. При СД 2 продукция вазодилатирующих факторов сбалансирована.

I тип сосудистого реагирования на окклюзию при СД 2, осложненном АГ, выявлен только у 16,7% пациентов. У пациентов 3-й группы отмечено увеличение активности К в 1,31 раза ($p_a < 0,05$) на фоне снижения содержания ПК на 35,4% ($p_a < 0,05$) по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе. Таким образом, массивированный калликреиногенез не ограничен у этих больных повышением ингибиторного потенциала ККС (активности α_1 -ПИ и α_2 -МГ не отличаются от таковых в контрольной группе), что приводит к истощению адаптивного потенциала ККС, дефициту вазодилатирующих факторов и, как следствие, к развитию АГ.

У больных со II типом сосудистого реагирования, независимо от генеза заболевания, отмечен более высокий уровень калликреинообразования. Так, нарушение ЭЗВД у больных с АГ, СД 2 и при сочетании СД 2 и АГ сопровождалось увеличением активности К на 63,4% ($p_b < 0,05$), 47,4% ($p_b < 0,05$) и 22,5% ($p_b < 0,05$), соответственно, по сравнению с больными соответствующих нозологических групп с I типом сосудистого реагирования. Развитие ЭД и высокий уровень активности

К у больных 1-й группы компенсируется увеличением на 21,1% ($p_b < 0,05$) содержания ПК и снижением активности α_2 -МГ на 27,8% ($p_b < 0,05$) по сравнению с соответствующими показателями при первом типе сосудистого реагирования. Степень тяжести у больных СД 2 определяется, по-видимому, интенсивностью калликреинообразования.

Развитие дисфункции эндотелия у больных СД 2, осложненным АГ, привело к снижению на 6,9% ($p_b < 0,05$) суммарной активности трипсиноподобных протеиназ по сравнению с аналогичными показателями у больных 3-й группы без признаков ЭД.

Таким образом, одной из причин нарушения вазодилатирующих механизмов при СД 2 и АГ является дезадаптация ККС крови, что приводит к дефициту ее компонентов: истощению «запасов» ПК при выраженном повышении активности К.

Анализ результатов изучения ККС крови при патологических состояниях разного генеза позволяет сделать вывод о ведущей роли этой системы в реализации молекулярных механизмов гомеостаза. Однако существующий подход не содержит информации о степени функционального напряжения, скрытых нарушениях и компенсаторных возможностях как всей системы, так и отдельных ее компонентов. В связи с этим несомненный интерес представляет оценка резервных возможностей ККС в условиях нагрузочных тестов, особенно при сочетании определения основных показателей этой системы с ультразвуковой оценкой сосудистой реакции в ответ на локальную гипоксию. Это позволит оценить адаптивные возможности ККС и установить роль ее отдельных показателей в развитии ЭД, суть которой можно определить как дисбаланс вазодилатационных и вазоконстрикторных факторов.

После окклюзионной пробы при I типе сосудистого реагирования у больных всех групп активность К увеличилась на 28,8% ($p < 0,05$), 21,27% ($p < 0,05$) и 14,7% ($p < 0,05$), соответственно. Содержание его профермента увеличилось на 10,4% ($p < 0,05$) только у больных с АГ, у больных 2-й и 3-й групп содержание ПК в ответ на окклюзию не изменялось. Обращает на себя внимание снижение и протеолитического и ингибиторного потенциала ККС крови после механического воздействия на сосуд у больных всех групп. Так, у больных всех групп БАЭЭ-эстеразная активность крови снизилась на 12,0% ($p < 0,05$), 10,3% ($p < 0,05$) и 6,0% ($p < 0,05$), активность α_2 -МГ — на 50,0% ($p < 0,05$), 36,0% ($p < 0,05$) и 29,7% ($p < 0,05$), а активность α_1 -ПИ — на 51,7% ($p < 0,05$), 42,4% ($p < 0,05$) и 33,7% ($p < 0,05$), соответственно.

Таким образом, результаты исследования основных показателей ККС крови больных с I типом сосудистого реагирования после окклюзионной пробы показали, что при СД 2 калликреиногенез лимитируется только «запасами» прекалликреина. В ответ на действие прессорного фактора у больных и при АГ и при СД 2 выявлена активация калликреинообразования и мобилизация неактивного предшественника — (ПК) из сосудистого эндотелия и тканевых депо, а также снижение активности α_2 -МГ. Подобная динамика этих показателей при окклюзионной пробе выявлена в контрольной группе. У пациентов 3-й группы после окклюзионной пробы отмечено наименьшее увеличение активности К и снижение активностей α_1 -ПИ и α_2 -МГ, а содержание прекалликреина не изменяется, что свидетельствует о дефиците вазодилатирующих факторов и является, по-видимому, одной из причин развития АГ.

Результаты исследования влияния окклюзионной пробы на состояние основных показателей ККС крови показали противоположную динамику при разных типах сосудистого реагирования, т.е. независимо от наличия или отсутствия ЭД. Так, у пациентов всех групп при нарушении ЭЗВД после окклюзионной пробы отмечено снижение активности К на 41,2% ($p < 0,05$), 38,7% ($p < 0,05$) и 42,7% ($p < 0,05$), соответственно. Об истощении

адаптивного потенциала ККС при развитии дисфункции эндотелия свидетельствует снижение содержания ПК после функциональной пробы у больных всех групп на 16,4% ($p < 0,05$), 18,8% ($p < 0,05$) и 15,6% ($p < 0,05$), соответственно. Снижение активности К и содержания его предшественника в крови больных с эндотелиальной дисфункцией во всех группах в ответ на окклюзионную пробу усугублялось увеличением ингибиторного потенциала крови. Так, активность α_1 -ПИ увеличилась в 1-й группе — на 36,8% ($p < 0,05$), во 2-й — на 51,2% ($p < 0,05$) и в 3-й группе — на 81,3% ($p < 0,001$), активность α_2 -МГ увеличилась на 51,3% ($p < 0,05$), 57,1% ($p < 0,05$) и 67,3% ($p < 0,05$) соответственно. Суммарная активность трипсиноподобных протеиназ крови у пациентов всех групп после окклюзионной пробы увеличилась на 12,3% ($p < 0,05$), 10,1% ($p < 0,05$) и 14,4% ($p < 0,05$) соответственно группам. Одновременное снижение активности К, истощение его «запасов» и повышение ингибиторного потенциала ККС ограничивает активное кининообразование в ответ на окклюзию и является одной из причин прогрессирующего ухудшения эндотелийзависимого расслабления сосудов особенно при сочетании СД 2 и АГ.

Необходимо отметить, что развитие макрососудистых осложнений при СД 2 связано, по-видимому, с истощением адаптивного потенциала ККС крови. Однако остается неясным, является ли дисбаланс ККС иницирующим фактором или следствием эндотелиального стресса при СД 2 и при сочетании его с АГ. Несомненно, что массивный калликреиногенез при СД 2 является предпосылкой развития макрососудистых осложнений, а маркером повреждения эндотелия у обследованных больных может служить снижение активности калликреина, содержание его профермента и увеличение ингибиторного потенциала крови после окклюзионной пробы. Таким образом, ККС крови является важным регулятором эндотелиально-вазальной системы. Формирование гипертензивных состояний при СД 2 частично может быть связано с нарушением механизмов эндотелийзависимой вазодилатации за счет дезадаптации ККС крови.

Литература

1. Балаболкин М.И., Мамаева Г.Г., Кравченко Т. В. и др. Артериальная гипертензия у больных сахарным диабетом. Генетические аспекты и особенности терапии. М., Медицина 2003; 68 с.
2. Дедов И. И. // Сахарный диабет. — 1998 - №1. — С. 17-18.
3. Шестакова М.В. // Кардиология. — 1999 - Т. 39. - № 6. — С. 59-65.
4. Беленков Ю.Н., Мареев В.Ю., Агеев В.Т. Ингибиторы ангиотензин превращающего фермента в лечении сердечно-сосудистых заболеваний (Квинаприл и эндотелиальная дисфункция). М. 2002; 86 с.
5. Яровая Г.А. // Вопр. мед. химии. — 2001-Т. 47.- №1. — С. 20-42.
6. Балахонова Т.В., Погорелова О.А., Алиджанова Х.Г. и др. // Тер. архив. — 1998- № 4. — С.15-19.
7. Иванова О.В., Балахонова Т.В., Соболева Г.Н. и др. // Кардиология.-1997-Т.37. № 7. С.41-45.
8. Пасхина Т.С., Кринская А.В. //Вопр. мед. химии.-1974- Т.20.-№6.- С.660-663.
9. Нартикова В.Ф, Пасхина Т.С. //Вопр. мед. химии.- 1979- Т.25.-№4.- С.494-502.
10. Задонченко В.С., Адашева Т.В., Сандомирская А.П. и др. // Кардиоваскулярная терапия и профилактика.- 2003- Т.2. - №2. С.79-90.
11. Елисеева Ю.Е.//Вопр. мед. химии. — 2001 - Т.47. - №1. С.43-54