

Состояние эндотелия и адгезия лейкоцитов при сахарном диабете

Т.В. Кочемасова

Эндокринологический научный центр (дир. - акад. РАМН И.И. Дедов) РАМН,
Москва

Сахарный диабет (СД) является важной медико - социальной проблемой и стоит в ряду приоритетов национальных систем здравоохранения всех стран мира. По данным экспертной комиссии ВОЗ, к настоящему времени СД страдают более 60 млн человек в мире, ежегодно этот показатель увеличивается на 6-10%, его удвоения следует ожидать каждые 10-15 лет.

Одной из проблем диабетологии являются изучение патогенеза СД, микро - и макрососудистых осложнений, разработка и внедрение методов его профилактики и лечения. Многие аспекты этих вопросов нашли отражение в работах отечественных и зарубежных авторов [1,2, 4, 5, 7, 8]. Подчеркивается роль метаболических сдвигов в развитии осложненной СД. В последнее время большой интерес вызывает механизм межклеточных взаимодействий, нарушение которого может приводить к "повреждению" привычных клеточных коопераций, необходимых для нормального функционирования органов и тканей [3, 9]. Регуляция межклеточных взаимодействий осуществляется системой цитокинов [3, 9], они определяют тип и длительность иммунного ответа, контролируют пролиферацию клеток, гемопоэз, воспаление и другие процессы [6].

Цитокины - это пептидные медиаторы иммунной системы, необходимые для её развития, функционирования и взаимодействия с другими системами организма. (термин "цитокин" предложен Cohen и соавт., 1974)

В настоящее время сложилось представление о системе цитокинов, включающей: клетки-продуценты, цитокины, клетки-мишени с рецепторами, специфичными для конкретных цитокинов, и в ряде случаев антагонисты цитокинов или их рецепторов. Эти биорегуляторные молекулы определяют тип и длительность иммунного ответа, контролируют пролиферацию клеток, ангиогенез, гемопоэз, воспаление и другие процессы [6].

Выделяют следующие группы цитокинов:

- 1) интерлейкины - секреторные регуляторные белки иммунной системы, обеспечивающие медиаторные взаимодействия и связь её с другими системами организма;
- 2) факторы некроза опухоли - цитокины с цитотоксическим и регуляторным действием: ФНО - α и ФНО - β .
- 3) колониестимулирующие факторы (КСФ) - стимуляторы роста и дифференцировки гемопоэтических клеток;
- 4) хемокины - хемоаттрактанты для лейкоцитов;

- 5) факторы роста - регуляторы роста, дифференцировки и функциональной активности клеток различной тканевой принадлежности (фактор роста фибробластов, фактор роста эндотелиальных клеток, фактор роста эпидермиса, трансформирующий фактор роста).

В норме цитокины, образуемые при первичном иммунном ответе, практически не поступают в кровоток. В сыворотке они могут присутствовать в очень низких количествах (пкг/мл). Например, в сыворотке взрослого донора содержание противовоспалительных цитокинов ИЛ - 1 β и ФНО - α не превышает 50 - 100 пкг/мл [6]. Повышение уровня цитокинов свидетельствует об имеющем место активном патологическом процессе, и может использоваться как один из критериев диагностики ряда заболеваний и оценки эффективности проводимой терапии.

При изучении патогенеза СД и его осложнений особый интерес представляют интерлейкины, факторы некроза опухоли, хемокины, факторы роста. Межклеточные взаимодействия, одним из механизмов регуляции которых является цитокиновая система, обеспечиваются адгезивными молекулами, внеклеточным матриксом, растворимыми медиаторами, онкогенами [9].

В настоящее время большое внимание уделяется роли адгезивных молекул, в начале и дальнейшем развитии проявлений диабетического процесса. Рассматривается роль нескольких семейств адгезивных молекул: интегринов, селектинов, суперсемейства иммуноглобулинов, кадхеринов, хоминговых рецепторов. Номенклатура, структура и функции основных членов семейств подробно описаны в ряде обзоров отечественных и зарубежных авторов [3, 9, 29]. Большее количество исследований проведено на моделях животных; полученные результаты уже находят реализацию в клинике [15 - 19, 23, 25]. В последнее время уделяется внимание роли лейкоцитов, их активации и адгезии, что способствует возникновению осложнений СД, клинико - лабораторным признаком которых служит повышение уровня молекул адгезии в сыворотке или плазме крови. Эти тенденции прослеживаются при обоих типах СД. В ряде обзорных статей [10, 11, 13 - 15] освещены результаты исследований адгезивных молекул при СД, обращено внимание на их роль в развитии ретино- и нефропатии. Существуют дан-

ные об их значении в формировании атеросклеротических повреждений [21]. Вопрос о пусковых механизмах, которые приводят к началу усиления экспрессии адгезинов на различных клетках, остаётся дискуссионным. Не вызывает сомнения тот факт, что ключевую роль в запуске и поддержании свойственных диабету патологических проявлений играет повышенный уровень глюкозы крови. Неферментативное гликозилирование белков и других содержащих аминокислотные соединения, аутоокисление глюкозы, приводящее к повышению уровня крайне реакционноспособных свободных радикалов, прямая глюкозотоксичность осуществляют запуск каскада реакций со стороны иммунной, свёртывающей, фибринолитической и других систем. Усиление экспрессии адгезивных молекул лейкоцитами, тромбоцитами, эндотелиальными клетками также может быть обусловлено воздействием глюкозы. Продукты неферментативного гликозилирования (AGE), связываясь с рецепторами (RAGE), обнаруживаемыми на лейкоцитах, эндотелиальных, мезангиальных клетках, стимулируют продукцию фактора некроза опухолей- α и интерлейкина-1 [19, 25]. Цитокины вызывают усиление экспрессии адгезивных молекул на этих клетках. Подобные реакции внутри сосудов мелкого и крупного калибра в условиях метаболических, гемодинамических и реологических сдвигов приводят к тому, что адгезивные молекулы, экспрессируемые одними клетками, связываются со своими контррецепторами, находящимися на других клетках, что вызывает их присоединение друг к другу. Это способствует локальному накоплению клеток, развитию стаза и тромбоза в сосудах, которые в зависимости от своего калибра приводят к полиорганным нарушениям. Однако не все учёные разделяют точку зрения о пусковой и поддерживающей роли гипергликемии в этом процессе, так как в ряде исследований не установлена корреляция между повышенными уровнями молекул адгезии и HbA_{1c} [17, 19, 27].

При исследовании роли молекул адгезии лейкоцитов в развитии ретино- и нефропатии основное внимание уделяется представителям семейств селектинов и иммуноглобулинов (межклеточным и поверхностной молекулам - ICAM-1,2,3 и VCAM - 1) [10, 13, 14, 15, 17, 19, 23,].

E-selectin или ELAM-1 (endothelial leucocyte adhesion molecule) - гликопротеид с молекулярной массой 95 - 115 kDa - адгезивная молекула, выявляемая на эндотелиальных клетках, которая характерна только для активированного эндотелия. После стимуляции цитокинами (интерлейкинами - 1, 2 и фактором некроза опухолей) эндотелиальные клетки синтезируют и экспрессируют E-selectin. Анти-ELAM антитела частично ингибируют адгезию нейтрофилов к цитоклинактивированному эндотелию. Контррецепторы к ELAM пока не охарактеризованы на молекулярном уровне. Сделано предположение о том, что повышение раствори-

мых форм ELAM создаёт предпосылки для развития последующей цепи рецепторных взаимодействий, реализующейся в адгезии лейкоцитов и тромбоцитов с развитием стаза крови (маргинации или краевого стояния) и повреждения окружающих тканей, возникающего в результате миграции клеток сквозь сосудистую стенку и выделения ими токсических субстанций (протеаз, свободных радикалов кислорода, метаболитов арахидоновой кислоты и др) [3,9].

Изучается роль межклеточных молекул 1, 2, 3 и поверхностной молекулы - 1, которые относятся к семейству Ig.

ICAM-1 (Intercellular adhesion molecule) CD 54 - гликопротеид с молекулярной массой 90 kDa, состоит из 5 Ig - подобных доменов. Он широко представлен как на гемопоэтических, так и негемопоэтических клетках. Усиление экспрессии вызывается воздействием интерлейкина-2, фактора некроза опухолей - 1. Самым важным лигандом для ICAM-1 является β_2 - интегрин LFA-1 (lymphocyte function associated antigen-1), CD 11 a\CD 18 -антиген, ассоциированный с функцией лейкоцитов, экспрессируемый на всех типах этих клеток, обеспечивая их функциональную активность. ICAM-1 может существовать в мембраносвязанной и растворимой формах (sICAM-1). Последняя появляется в сыворотке крови в результате протеолиза и слушивания ICAM-1 с мембраны ICAM-1 позитивных клеток. Количество сывороточной s ICAM-1 коррелирует с выраженностью клинических проявлений заболеваний и может служить признаком активности процесса.

Помимо межклеточных молекул адгезии, исследуется поверхностная молекула VCAM-1 (англ. Vascular cellular adhesion molecule), (CD 106) - гликопротеид с молекулярной массой 90 - 110 kDa, который состоит из 6 или 7 Ig - подобных доменов и экспрессируется на поверхности активированного эндотелия и других типах клеток. Его лигандом является интегрин α -4- β -1 (VLA-4), Very late activation antigen), также экспрессируемый лейкоцитами. Появление растворимой биологически активной формы s VCAM-1 в сыворотке также может происходить в результате протеолиза и слушивания с VCAM-1 позитивных клеток и отражать активность процесса [3, 9]. Именно эти молекулы - (E - selectin, ICAM-1 и VCAM-1) рассматриваются как основные возможные кандидаты на роль маркёров, отражающих наличие процесса активации лейкоцитов и эндотелиальных клеток.

При изучении генеза диабетической ретинопатии ряд авторов установили повышение уровня растворимых форм E-selectin, ICAM-1 и VCAM-1 на разных стадиях осложнения [20, 23, 24]. На основании предварительных экспериментальных исследований [22, 26] сделаны предположения о роли активированного эндотелия и лейкоцитов (моноцитов и гра-

нулоцитов) в развитии окклюзии микрокапилляров сетчатки, возникающей уже на ранних стадиях ретинопатии, с последующим микротромбозом сосудов, формированием зон локальной, а затем глубокой ишемии, способствующих росту новообразованных сосудов. При обследовании больных СД и сопоставлении клиничко-офтальмоскопической картины с данными лабораторных исследований было установлено повышение уровня молекул адгезии лейкоцитов до появления первых, визуально определяемых при помощи прямой и непрямой офтальмоскопии, признаков ретинопатии. Флюоресцентно-ангиографическое исследование, проводимое больным на самых ранних сроках СД, помогало документировать начальные изменения микрокапилляров - микроокклюзию с последующей дилатацией [23]. В сыворотке крови обнаруживали повышение растворимых форм E-selectin, что свидетельствовало о начале процесса активации эндотелия сосудов. В сыворотке крови больных СД при препролиферативной и пролиферативной стадиях ретинопатии также установлено повышение уровня растворимых форм E-selectin. В этих случаях на сетчатке обнаруживались участки с нарушенной перфузией, зоны ишемии, пролиферативные изменения с образованием фиброглияльных плёнок, тяжёлой и новообразованных сосудов. Примечательно, что повышение содержания E-селектина, установленное уже на ранних стадиях заболевания, наблюдалось при нормальном уровне холестерина, триглицеридов и отсутствии микроальбуминурии. Эти факты позволяют рассматривать повышенный уровень растворимых форм E-селектина как показатель неблагоприятного прогностического значения [13, 23].

В исследованиях P. Fasching и соавт. [17], J. Olson и соавт. [23], A. Schmidt и соавт. [25] изучалась роль ICAM-1 и VCAM-1 в развитии микроангиопатии. Повышение уровня их растворимых форм в сыворотке крови может указывать на начинающуюся активацию клеток, способных их экспрессировать. Предполагают, что основную роль в данном процессе исполняют лейкоциты. В эксперименте установлено, что гранулоциты, выделенные из организма кошки с СД, генерировали большее, чем в норме, количество токсических супероксидных радикалов, которые оказывают повреждающее воздействие на окружающие ткани [22, 26]. Иммуногистохимическими методами подтверждено скопление лейкоци-

тов в ткани сетчатки, хориоидеи, гломерул и интерстиции почек.

Обследование больных СД с наличием микрососудистых осложнений и определением адгезивных молекул на фоне лечения проведено A. Ceriello [12]. Группы обследуемых лиц формировались по типу СД, длительности, степени компенсации заболевания, полу, возрасту пациентов, инсулинотерапии, сопутствующему медикаментозному лечению. При проведении клинического обследования больных с наличием микрососудистых осложнений получены разноречивые данные. Обнаружено как повышение уровня растворимых форм ICAM-1 при ретино-, нефро-, кардиопатии [11, 13, 22], так и его отсутствие при нарастании уровня VCAM-1 и E-селектина на разных стадиях ретино- и нефропатии [17, 23]. Предметом дискуссии является связь молекул адгезии с уровнем HbA_{1c}. J. Forrester [18], L. Cominacini и др. [13, 14, 15] подтверждают наличие положительной связи этих показателей. P. Fasching [17], K. Hirata [19] не разделяет этой точки зрения. Подобная разница может объясняться ограниченным числом больных и разнородностью обследуемой популяции. Большинству авторов пока не удалось установить взаимосвязь исследуемых маркёров со степенью компенсации СД. Делаются попытки выявить корреляционные связи между повышенным уровнем адгезивных молекул, триглицеридов, холестерина, микроальбуминурии.

Изучаются различные способы влияния на процессы активации эндотелия и лейкоцитов. Разработка методов терапевтического воздействия на данные механизмы представляет перспективную область для исследований. В ходе их изучается роль инсулинотерапии, антиоксидантной терапии [12], ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента [7, 11], применения антиадгезионных антител [23]. В рамках этого обзора мы не останавливались на механизмах, обуславливающих развитие атеросклеротических повреждений при СД [16, 21]. Имеются данные об адгезинах тромбоцитов, таких как P-selectin (GMP-140 или PADGEM, молекулярная масса 75 - 80 000 кДа), охарактеризованный как маркёр предрасположенности к СД [28]. Этот показатель можно использовать в клинической практике в качестве дополнительного теста для скрининга пациентов и лиц, принадлежащих к группам риска развития СД.

Литература

1. Алексеев Л.П., Дедов И. И., Зилов А. В., и др. // Сахарный диабет - 1998 - с 19 - 22
2. Балаболкин М. И. Сахарный диабет. // Москва. - 1994
3. Боценовский В. А., Барышников А. Ю. // Успехи современной биологии - 1994. - том 114 - Вып. 6. - С. 741 - 753
4. Дедов И. И., Фадеев В. В. Введение в диабетологию. Руководство для врачей. // Москва. - 1998
5. Ефимов А. С. Диабетические ангиопатии. // Москва. - 1989
6. Ковальчук Л. В., Ганковская Л. В., Рубакова Э. И. Система цитокинов. // Москва. - 1999
7. Кондратьев Я. Ю., Носиков В. В., Дедов И. И. // Проблемы эндокринологии - 1998 - том 44 - № 1 - С. 43 - 51
8. Чистяков Д. А., Дедов И. И. // Сахарный диабет - 1999 - № 3 - С. 52 - 55
9. Пальцев М. А., Иванов А. А. Межклеточные взаимодействия // Москва. - 1995
10. Albertini J. P, Valensi P, Lormeau B, Arousseau MH, Ferriere F, Attali JR, Gattegno L // Diabetes Care, 21, pp 1008 - 1013, 1998
11. Blann A. D., Lip G. Y. H // Diabetic Medicine - 1998 - № 15 - pp. 634 - 642
12. Ceriello A. // Diabetes, Nutrition and Metabolism - 1999 - Vol. 12, № 1, pp. 42 - 47
13. Cominacini L, Fratta Pasini A, Garbin U, Davoli A, De Santis A, Campagnola M, Rigoni A, Zenti M G, Moghetti P, Lo Cascio V // Diabetologia - 1995 - Vol. 38, № 9, pp 1122 - 1125, 1995
14. Cominacini L, Garbin U, Fratta Pasini A, La Cascio V // Diabetologia - 1996 - Vol. 39, № 10, pp 1242
15. Cominacini L, Fratta Pasini A, Garbin U, Campagnola M, Davoli A, Rigoni A, Zenti M G, Pastorino A M, La Cascio V // Diabetologia - 1997 - Vol 40, № 5, pp 584 - 590
16. Fareed J, Hoppensteadt D A, Leya F, Iqbal O, Wolf H, Bick R // Clinical Chemistry - 1998 - Vol 44, № 8, pp 1845 - 1853
17. Fasching P, Veitl M, Rohac M, Strelci C, Schneider B, Waldhausl W, Wagner O // Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism - 1996 - Vol 81, № 12, pp 4313 - 4317
18. Forrester J V, Knott RM, Olson J, Pascal M, Robertson M and Muckersie E // Diabetes Reviews International - 1997 - Vol 6, № 1, pp 9 - 11
19. Hirata K, Shikata K, Matsuda M, Akijama K, Sugimoto H, Kushiro M, Makino H // Diabetologia - 1998 - Vol 41, pp 185 - 192
20. Kohner E M // British Medical Journal - 1993 - Vol 307 - pp 1195 -- 1199
21. Liao J K // Clinical Chemistry - 1998 - Vol 44, Vol 8, pp 1799 - 1808
22. McLeod SD, Lefer DJ, Merges C, Luty GA // American Journal of Pathology - 1995 - Vol 147, № 3, pp 642 - 652
23. Olson J A, Whitelaw M, McHardy KC, Pearson DWM, Forrester JV // Diabetologia - 1997 - Vol 40 - pp 1166 - 1171
24. Porta M // Diabetologia - 1996 - Vol 39 - pp 739 - 744
25. Schmidt A M, Crandall J, Hori O, Rong C // British Journal of Haematology - 1996 - Vol 92, pp 747 - 750
26. Schroder S, Palinski W, Schmidt - Schonbein GC // American Journal of Pathology - 1991 - Vol 139, № 1, pp 81 - 100
27. Steiner G // Diabetes - 1981 Vol 30, pp 1 - 7
28. Tschoepe D, Driesch E, Schwippert B, Lampeter EF // Diabetologia - 1997 - Vol 40, N 5, pp 573 - 584
29. Wilson G. A. - Cell Adhesion Molecules - 1996