

Содержание фибронектина в сыворотке крови больных сахарным диабетом 1-го типа с микроангиопатиями, болеющих с детства, и у лиц с ожирением

К.м.н. Л.А. МОГИЛЬНИЦКАЯ

Хмельницкая областная больница, Украина

Микро- и макроангиопатии — основная причина инвалидности и смертности при сахарном диабете. Эндотелиальная дисфункция — ранний и важный этап развития диабетических ангиопатий. Содержание циркулирующего фибронектина может быть одним из маркеров эндотелиальной дисфункции. Нами обнаружено повышение содержания фибронектина в сыворотке больных сахарным диабетом 1-го типа с микроангиопатиями и у лиц с ожирением, которое коррелировало с индексом массы тела, показателями углеводного и липидного обмена. Выявленные савиги могут служить маркером эндотелиальной дисфункции при указанных патологических состояниях.

Ключевые слова: фибронектин, эндотелиальная дисфункция, сахарный диабет 1-го типа, микроангиопатии, ожирение.

Serum fibronectin content in the patients suffering from type 1 diabetes mellitus with microangiopathies since the childhood and in the subjects presenting with obesity

L.A. MOGIL'NITSKAYA

Khmelnitsk Regional Hospital, Ukraine

Micro- and macroangiopathies are the main causes of disability and mortality among the patients suffering from diabetes mellitus. Endothelial dysfunction is the early and important condition preceding the development of diabetic angiopathies. The serum fibronectin content may be one of the markers of endothelial dysfunction. We have documented the enhanced serum fibronectin content in the patients suffering from type 1 diabetes mellitus with concomitant microangiopathies and in the subjects presenting with obesity. The rise in the serum fibronectin level correlated with the body mass index, parameters of carbohydrate and lipid metabolism. Alteration of these parameters discovered in the present study may be used as the markers of endothelial dysfunction associated with the above pathological conditions.

Key words: fibronectin, endothelial dysfunction, type 1 diabetes mellitus, microangiopathies, obesity.

Атеросклеротические изменения в сосудистой стенке формируются задолго до появления их клинических признаков [1]. Многочисленные исследования указывают на начало атеросклеротического процесса уже в подростковом возрасте. Прогрессирование атеросклероза в детском возрасте определяется теми же факторами риска, что и у взрослых.

Проспективные исследования, длившиеся более 20 лет, выявили связь между традиционными факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний у здоровых детей и атеросклеротическим поражением сонных сосудов у взрослых [2, 3].

Поражение сосудов (микро- и макроангиопатии) — основная причина смертности и инвалидности больных сахарным диабетом (СД) [4]. Эндотелиальная дисфункция — ранний и важный этап в развитии диабетических ангиопатий [5]. Функциональное состояние эндотелия характеризуется, с одной стороны, эндотелийзависимой релаксацией, а с другой — содержанием эндотелиальных вазоактивных факторов в сыворотке. Содержание фибронек-

тина в крови может быть одним из маркеров эндотелиальной активации.

Фибронектин — гликопротеин, присутствующий в плазме, экстрацеллюлярном матриксе и на поверхности клеток. Он способствует взаимодействиям «клетка—клетка», «клетка—экстрацеллюлярный матрикс», а также принимает участие в формировании и реконструкции тканей [6, 7]. Большая часть фибронектина, присутствующего в плазме, синтезируется в печени. Фибронектин, находящийся в субэндотелиальном слое и матриксе соединительной ткани, производится локально эндотелиальными клетками, гладкомышечными клетками и фибробластами. На долю клеточного фибронектина обычно приходится всего 1—2% общего его количества в плазме [8].

При СД обнаруживаются поражения сосудистой стенки с характерными изменениями эндотелиального экстрацеллюлярного матрикса. Накопление белков в субэндотелиальном матриксе при СД выявляется при микроскопии в виде Шифф-

положительных веществ, содержащих ламинин, коллаген IV типа, фибронектин [9]. Таким образом, содержание фибронектина в плазме может отображать изменения экстрацеллюлярного матрикса и поражение сосудистой стенки при СД.

Цель настоящего исследования — изучение уровня фибронектина в сыворотке у больных СД 1-го типа (СД1) с микроангиопатиями, болеющих с детства, а также у лиц молодого возраста с ожирением.

Материал и методы

Всего обследованы 88 человек (48 женщин и 40 мужчин). Из них 30 больных СД1 с микроангиопатиями, болеющих с детства, 30 больных с ожирением, 28 контрольных лиц. Клинико-лабораторная характеристика обследованных лиц представлена в таблице.

Группа больных СД1 с микроангиопатиями насчитывала 17 (56,7%) женщин и 13 (43,3%) мужчин. Выборка больных СД1 с микроангиопатиями была обогащенной. В группу включались пациенты с выраженными микрососудистыми осложнениями. При обследовании глазного дна больных этой группы у 20 (66,6%) наблюдалась пролиферативная ретинопатия, у 5 (16,6%) — препролиферативная ретинопатия и у 5 (16,6%) — диабетическая ангиопатия сетчатки. У 27 (90 %) больных выявлена диабетическая нефропатия, протеинурическая стадия. У 3 (10%) больных — микроальбуминурия. Артериальная гипертензия наблюдалась у 23 (76,6%) больных этой группы, причем только 12 (52,1%) из них получали гипотензивные препараты (β -блокаторы, индопамид).

В группе лиц с ожирением были 14 (46,7%) женщин и 16 (53,3%) мужчин. Ожирение диагностировалось при индексе массы тела (ИМТ) >30 кг/м². У 19 (59,3%) человек имелось ожирение I степени (ИМТ=30—35 кг/м²) и у 11 (40,7%) — ожирение II степени (ИМТ=35—40 кг/м²).

Статистически значимая разница ($p<0,05$) наблюдалась между ИМТ в группе ожирения и в кон-

трольной группе. ИМТ больных группы СД1 не отличался от контроля ($p>0,05$).

Дополнительно рассчитывали коэффициент, отражающий тип ожирения у обследованных лиц. Этот коэффициент представляет собой соотношение окружности талии к окружности бедер (ОТ/ОБ). В соответствии с рекомендациями ВОЗ (1999), при коэффициенте более 0,9 для мужчин и более 0,85 для женщин ожирение определялось как андрогенное или абдоминальное. Абдоминальный тип ожирения наблюдался у 29 (90,6%) человек.

При включении пациентов в группу ожирения и в контрольную группу с целью исключения нарушения углеводного обмена проводили стандартный глюкозотолерантный тест. Артериальная гипертензия наблюдалась у 7 (23,3 %) больных с ожирением. При этом ни один больной не получал гипотензивной терапии, не придерживался гипопищевой диеты и не получал медикаментозных средств для коррекции дислипидемии.

Определение уровня фибронектина проводилось иммуноферментным методом с использованием сорбционных колонок Amprer («Amersham Lifesilence») и тест-систем Amersham Pharmacia Biotech (Великобритания). Исследования проводились на ELISA-анализаторе Stat Fax-303 Plus (США).

Статистическую обработку данных проводили методами вариационной и описательной статистики с помощью стандартного пакета статистического расчета данных программы Microsoft Excel. Достоверность различий средних величин определяли по t -критерию Стьюдента. Отличие считалось достоверным при величине показателя $p<0,05$. Корреляционный анализ проводили с использованием коэффициента Пирсона.

Результаты и обсуждение

Содержание фибронектина в сыворотке больных СД1 с микроангиопатиями составило $315,46 \pm 29,31$ пмоль/мл; в сыворотке лиц с ожирением — $276,16 \pm 24,12$ пмоль/мл и в сыворотке контрольных лиц — $216,98 \pm 17,1$ пмоль/мл (см. рисунок).

Клинико-лабораторная характеристика обследованных лиц.

Показатель	Контрольная группа	Больные с СД1 и микроангиопатиями	Лица с ожирением
Количество обследованных лиц	28	30	30
Возраст, годы	$19,96 \pm 2,06$	$20,3 \pm 2,07$	$19,56 \pm 2,5$
ИМТ, кг/м ²	$20,48 \pm 2,18$	$20,37 \pm 2,19$	$35,06 \pm 4,49^*$
Гликированный гемоглобин, %	$5,33 \pm 0,45$	$10,32 \pm 1,59^*$	$5,47 \pm 0,49$
Глюкоза крови натощак, ммоль/л	$4,6 \pm 0,57$	$10,76 \pm 2,36^*$	$4,61 \pm 0,67$
Общий холестерин, ммоль/л	$4,14 \pm 0,51$	$5,34 \pm 0,92^*$	$5,44 \pm 1,72^*$
Триглицериды, ммоль/л	$1,46 \pm 0,29$	$2,53 \pm 0,57^*$	$2,58 \pm 0,61^*$
Липопротеины высокой плотности, ммоль/л	$1,34 \pm 0,23$	$1,03 \pm 0,2^*$	$1,05 \pm 0,19^*$
Липопротеины низкой плотности, ммоль/л	$2,63 \pm 0,4$	$3,32 \pm 1,01^*$	$3,68 \pm 1,29^*$

Примечание. * — $p<0,05$. Данные приведены в виде средней величины $\pm$ стандартная ошибка.

Уровень фибронектина в сыворотке у больных СД1 с микроангиопатиями статистически значимо превышал таковой в контроле на 45,38% ($p<0,04$).

Предположение о роли гипергликемии в повышении содержания фибронектина в сыворотке подтверждают данные корреляционного анализа, который выявил статистически значимую прямую корреляцию между уровнем фибронектина и гликированного гемоглобина у больных этой группы ($r=0,84$; $p<0,05$). Выявлена также статистически значимая прямая корреляция между уровнями фибронектина и глюкозы в сыворотке больных этой группы ($r=0,76$; $p<0,05$).

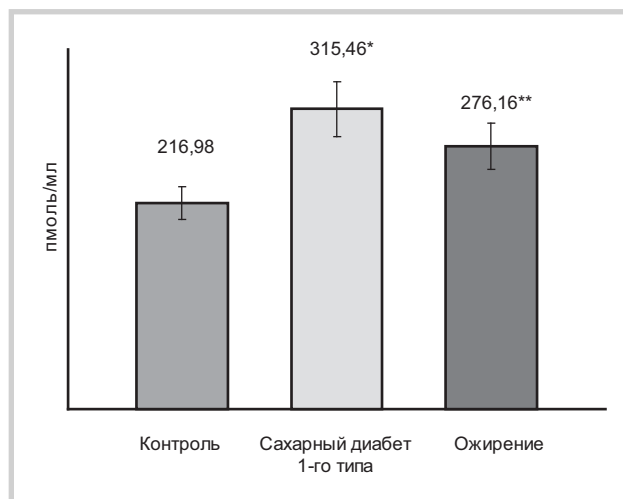
Повышение содержания фибронектина на 27,27% в сыворотке обнаружено и у лиц с ожирением, не страдающих сахарным диабетом ($p<0,03$). Содержание фибронектина прямо коррелировало с ИМТ пациентов этой группы ($r=0,88$; $p<0,05$).

Мы исследовали также влияние дислипидемии на уровень фибронектина у больных СД1 с микроангиопатиями и у молодых лиц с ожирением. При этом была выявлена статистически значимая прямая корреляция между содержанием триглицеридов и уровнем фибронектина в сыворотке как у больных СД1 с микроангиопатиями ($r=0,72$; $p<0,05$), так и у лиц с ожирением без СД ($r=0,67$; $p<0,05$). У больных СД1 с микроангиопатиями имелась обратная корреляция между содержанием фибронектина в сыворотке и уровнем липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) ($r=0,37$; $p<0,05$). Аналогичная корреляция имела место также у лиц с ожирением без СД ($r=0,31$; $p<0,05$).

Нами выявлена статистически значимая прямая корреляция между содержанием общего холестерина и уровнем фибронектина в сыворотке как у больных СД1 с микроангиопатиями ($r=0,52$; $p<0,05$), так и у лиц с ожирением без СД ($r=0,73$; $p<0,05$). Прямая корреляция обнаружена также между содержанием фибронектина в сыворотке и уровнем липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) как у больных СД1 с микроангиопатиями ($r=0,61$; $p<0,05$), так и у лиц с ожирением без СД ($r=0,83$; $p<0,05$).

В группу больных СД1 входили пациенты с выраженными микрососудистыми осложнениями. Такая выборка формировалась с целью демонстрации у больных СД1 с микроангиопатиями, несмотря на их молодой возраст, эндотелиальной активации. Риск сердечно-сосудистых катастроф у больных с нефропатией возрастает в 100 раз, а СД, который развивается в детстве (до пубертата), характеризуется более агрессивным течением, более ранним развитием микрососудистых осложнений [22].

Как известно, три основных дефекта — эндотелиальная дисфункция, изменения в выработке/выбросе гормонов и нарушение метаболизма в клетках гладкой мускулатуры — играют основную роль в развитии повреждений мелких артерий и капилля-



Содержание фибронектина в сыворотке крови, пмоль/мл.

* — $p<0,01$ — разница между СД1 с микроангиопатиями и контролем;
 ** — $p<0,01$ — между ожирением и контролем.

ров (микроангиопатии) под влиянием гипергликемии [23, 24].

Повреждению эндотелия предается важнейшее значение в атерогенезе [2], причем атеросклеротические изменения в сосудистой стенке обнаруживаются задолго до появления их клинических признаков [1].

Повышение содержания фибронектина в сыворотке больных СД1 с микроангиопатиями может быть проявлением эндотелиальной активации и дисфункции при данном патологическом состоянии, что в свою очередь может служить предпосылкой развития атеросклероза у этих пациентов.

Повышение содержания фибронектина у больных СД1 с микроангиопатиями и корреляции между содержанием глюкозы в крови, гликированного гемоглобина и фибронектина может указывать на роль гипергликемии в развитии указанных сдвигов.

Как известно, основными компонентами белкового матрикса являются мембранные протеины, такие как коллаген IV типа, ламинин, а также фибронектин, но без структурных доменов ED-A и ED-B [10]. После экспериментального удаления эндотелия наблюдается быстрое (24–48 ч) повышение экспрессии мРНК ED-A-, ED-B-положительных изоформ фибринонектин. Эта экспрессия сохраняется даже после восстановления эндотелия [11]. Повышение содержания ED-A, ED-B вариантов фибронектина объясняет повышение общей концентрации фибронектина при различных патологических состояниях. Таким образом, нарушение целостности эндотелия может быть причиной повышения уровня фибронектина в сыворотке крови больных СД и ожирением.

С другой стороны, при СД возрастает содержание различных матричных протеинов [12]. Мелкие

артерии содержат больше фибронектина и ламинина. При диабетической ретинопатии наблюдается повышение синтеза ED-A фибронектина, а также пассивная аккумуляция уже имеющегося фибронектина в экстрацеллюлярном матриксе [13]. Полиризация фибронектина и образование его нерастворимых форм в экстрацеллюлярном матриксе делает невозможным его дальнейшее выход в кровеносное русло. Нарушение поляризации фибронектина также может быть причиной повышения его концентрации в сыворотке при СД [14].

В настоящее время существует большое количество маркеров микроангиопатий: микроальбуминурия, повышение уровня фактора Виллебранда, адгезивных молекул, нарушение эндотелийзависимой вазодилатации. Однако эти маркеры неспецифичны для диабетической микроангиопатии и выявляются при атеросклерозе без СД. Роль этих факторов как предикторов смертности от кардиоваскулярной патологии невелика.

По данным некоторых исследований [15, 16], уровень фибронектина значительно повышен у больных СД по сравнению с лицами с выраженным атеросклерозом. Это может указывать на существование при СД дополнительных механизмов эндотелиальной активации. Повышение уровня фибронектина наблюдается при таких неатеросклеротических сосудистых поражениях, как васкулиты, эклампсия, острая травма, сепсис, тромбоцитопеническая пурпура [17–19]. Повышение уровня фибронектина может указывать на общие с перечисленными состояниями механизмы активации эндотелиальных клеток, несвойственные атеросклеротическому процессу без СД.

Жировая ткань играет важнейшую роль в патогенезе метаболического синдрома, провоцируя воспаление, гипертензию и дислипидемию, которые в свою очередь приводят к развитию СД2, атеросклероза, тромбоза [20]. Абдоминальная жировая ткань, ассоциируемая с центральным ожирением, является характерным признаком метаболического синдрома и основным источником избыточного поступления свободных жирных кислот, что способствует разви-

тию инсулинорезистентности и нарушению функции β -клеток [21]. Лица молодого возраста с ожирением имеют повышенный риск развития сердечно-сосудистой патологии, а также СД2.

Нами выявлено повышение содержания фибронектина у лиц с ожирением без СД, что может указывать на роль ожирения в развитии указанных сдвигов. Эти предположения подтверждаются данными корреляционного анализа, который выявил прямую корреляцию между содержанием фибронектина в сыворотке лиц с ожирением и ИМТ.

Нарушение липидного обмена играет важную роль в иницировании и прогрессировании атеросклероза, а также развитии эндотелиальной дисфункции. Возможно, повышение уровня фибронектина в сыворотке у лиц с ожирением без СД связано с дислипидемией, характерной для этой группы. Дислипидемия наблюдалась и в других группах с повышенным уровнем фибронектина, а именно, у больных СД1 с микроангиопатиями.

Проведенный корреляционный анализ подтверждает эти предположения и указывает на роль уровня ЛПВП, ЛПНП, общего холестерина и триглицеридов в повышении содержания фибронектина в сыворотке больных СД1 с микроангиопатиями, а также у лиц с ожирением без СД.

Заключение

СД1 с микроангиопатиями сопровождается повышением содержания фибронектина в сыворотке. Это может быть одним из механизмов эндотелиальной активации, а также проявлением атеросклеротических изменений у пациентов с данной патологией, несмотря на их молодой возраст. Повышение уровня фибронектина в сыворотке обнаруживается и у лиц с ожирением без СД. Гипергликемия, ожирение, дислипидемия могут влиять на уровень фибронектина в сыворотке крови.

Автор декларирует отсутствие конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Larsen J, Brekke M, Sandvik L, et al. Silent Coronary Atheromatosis in Type 1 Diabetic Patients and Its Relation to Long-Term Glycemic Control. *Diabetes*. 2002;51(8):2637–2641. doi: 10.2337/diabetes.51.8.2637.
2. Jarvisalo MJ. Endothelial Dysfunction and Increased Arterial Intima-Media Thickness in Children With Type 1 Diabetes. *Circulation*. 2004;109(14):1750–1755. doi: 10.1161/01.cir.0000124725.46165.2c
3. Schoenhagen P, Nissen S. Coronary Atherosclerotic Disease Burden: An Emerging Endpoint in Progression / Regression Studies Using Intravascular Ultrasound. *Current Drug Targets -Cardiovascular & Hematological Disorders*. 2003;3(3):218–226. doi: 10.2174/1568006033481401
4. Caballero AE, Arora S, Saouaf R, et al. Microvascular and macrovascular reactivity is reduced in subjects at risk for type 2 diabetes. *Diabetes*. 1999;48(9):1856–1862. doi: 10.2337/diabetes.48.9.1856
5. Williams SB, Cusco JA, Roddy M-A, et al. Impaired nitric oxide-mediated vasodilation in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1996;27(3):567–574. doi: 10.1016/0735-1097(95)00522-6.
6. Hynes RO. Fibronectins. *Sci. Am.* 1986;254(6):42–51. doi: 10.1038/scientificamerican0686-42
7. Tomasini-Johansson BR, Annis DS, Mosher DF. The N-terminal 70-kDa fragment of fibronectin binds to cell surface fibronectin assembly sites in the absence of intact fibronectin. *Matrix Biol.* 2006;25(5):282–293. doi: 10.1016/j.matbio.2006.02.002.

8. Singh P, Carraher C, Schwarzbauer JE. Assembly of Fibronectin Extracellular Matrix. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2010;26(1):397-419. doi: 10.1146/annurev-cellbio-100109-104020
9. Kanters SDJM, Banga JD, Algra A, et al. Plasma Levels of Cellular Fibronectin in Diabetes. *Diabetes Care.* 2001;24(2):323-327. doi: 10.2337/diacare.24.2.323
10. Olsen AL, Sackey BK, Marcinkiewicz C, et al. Fibronectin Extra Domain-A Promotes Hepatic Stellate Cell Motility but Not Differentiation Into Myofibroblasts. *Gastroenterology.* 2012;142(4):928-937.e923. doi: 10.1053/j.gastro.2011.12.038
11. Bauters C, Marotte F, Hamon M, et al. Accumulation of Fetal Fibronectin mRNAs After Balloon Denudation of Rabbit Arteries. *Circulation.* 1995;92(4):904-911. doi: 10.1161/01.cir.92.4.904
12. Habib SL, Yadav M, Tizani S, et al. Tuberin Inhibits Production of the Matrix Protein Fibronectin in Diabetes. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2012;23(10):1652-1662. doi: 10.1681/asn.2012030285
13. Trudeau K, Roy S, Guo W, et al. Fenofibric Acid Reduces Fibronectin and Collagen Type IV Overexpression in Human Retinal Pigment Epithelial Cells Grown in Conditions Mimicking the Diabetic Milieu: Functional Implications in Retinal Permeability. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2011;52(9):6348-6354. doi: 10.1167/iops.11-7282
14. Lim Y, Jo DH, Kim JH, et al. Human Apolipoprotein(a) Kringle V Inhibits Ischemia-Induced Retinal Neovascularization via Suppression of Fibronectin-Mediated Angiogenesis. *Diabetes.* 2012;61(6):1599-1608. doi: 10.2337/db11-1541
15. Rohwedder I, Montanez E, Beckmann K, et al. Plasma fibronectin deficiency impedes atherosclerosis progression and fibrous cap formation. *EMBO Mol. Med.* 2012;4(7):564-576. doi: 10.1002/emmm.201200237
16. Chiang HY, Korshunov VA, Serour A, et al. Fibronectin Is an Important Regulator of Flow-Induced Vascular Remodeling. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2009;29(7):1074-1079. doi: 10.1161/atvbaha.108.181081
17. Aziz-Seible RS. Fibronectin: Functional character and role in alcoholic liver disease. *World J. Gastroenterol.* 2011;17(20):2482. doi: 10.3748/wjg.v17.i20.2482
18. van der Plas RM, Schiphorst ME, Huizinga EG, et al. von Willebrand factor proteolysis is deficient in classic, but not in bone marrow transplantation-associated, thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 1999;93(11):3798-3802.
19. van Beers JJBC, Willemze A, Stammen-Vogelzangs J, et al. Anticitrullinated fibronectin antibodies in rheumatoid arthritis are associated with human leukocyte antigen-DRB1 shared epitope alleles. *Arthritis Res. Ther.* 2012;14(1):R35. doi: 10.1186/ar3744
20. Erbey JR, Kuller LH, Becker DJ, Orchard TJ. The Association Between a Family History of Type 2 Diabetes and Coronary Artery Disease in a Type 1 Diabetes Population. *Diabetes Care.* 1998;21(4):610-614. doi: 10.2337/diacare.21.4.610
21. Tooke JE. Possible pathophysiological mechanisms for diabetic angiopathy in type 2 diabetes. *J. Diabetes Complications.* 2000;14(4):197-200. doi: 10.1016/s1056-8727(00)00083-0
22. Lehto S, Ronnema T, Pyorala K, Laakso M. Poor Glycemic Control Predicts Coronary Heart Disease Events in Patients With Type 1 Diabetes Without Nephropathy. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1999;19(4):1014-1019. doi: 10.1161/01.atv.19.4.1014
23. Adameova A, Dhalla NS. Role of microangiopathy in diabetic cardiomyopathy. *Heart Fail. Rev.* 2013;19(1):25-33. doi: 10.1007/s10741-013-9378-7
24. Chillarón JJ, Flores Le-Roux JA, Benaiges D, Pedro-Botet J. Type 1 diabetes, metabolic syndrome and cardiovascular risk. *Metabolism.* 2014;63(2):181-187. doi: 10.1016/j.metabol.2013.10.002