

И.Н. Игнатович, Г.Г. Кондратенко, А.В. Гончарик, Ю.В. Добровольская
**ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА РАЗВИТИЕ НЕЙРОИШЕМИЧЕСКИХ
ПОРАЖЕНИЙ ПРИ СИНДРОМЕ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ**
УО «Белорусский государственный медицинский университет»

В статье исследована связь степени компенсации сахарного диабета, уровня провоспалительных цитокинов, С-реактивного белка, фактора роста эндотелия сосудов, дегидроэпиандростерона-сульфата и 25-ОН-Витамина D сыворотки крови с наличием/отсутствием нейроишемических поражений стопы при сахарном диабете. Установлено, что в сопоставимых по возрасту группах пациентов с нейроишемической формой синдрома диабетической стопы и с сахарным диабетом без поражения артерий имеются достоверные различия в уровне ИЛ-1, ИЛ-6, С-реактивного белка, фактора роста эндотелия сосудов, 25-ОН-Витамина D.

Однако отсутствуют достоверные различия в высоком уровне провоспалительных цитокинов (ИЛ1, ИЛ6, ФНО) и С-реактивного белка, несмотря на наличие/отсутствие воспаления на нижней конечности у пациентов с нейроишемией.

Ключевые слова: *диабет, цитокины, дегидроэпиандростерона-сульфат, 25-ОН-Витамин D.*

I.N. Ignatovich, G. G. Kondratenko, A.V. Goncharik, Yu.V. Dobrovolskaya

**THE FACTORS INFLUENCING DEVELOPMENT OF NEUROISCHEMIC DEFEATS
AT THE SYNDROME OF DIABETIC FOOT**

The relationship between the degree of compensation of diabetes, the serum levels of pro-inflammatory cytokines (IL-1, IL-6, TNF), C-reactive protein, vascular endothelial growth factor, dehydroepiandrosterone sulfate, 25-OH-Vitamin D vs presence/absence neuroischaemic foot lesions of patient with diabetes was researched in the article.

Key words: *diabetes, cytokine, dehydroepiandrosterone sulfate, 25-OH-Vitamin D.*

Сердечно-сосудистые заболевания и остеопороз (т.е. снижение костной массы и нарушения микроархитектоники кости) являются основными проблемами здравоохранения в мире, распространенность которых постоянно растет. Исследованиями последних лет установлено, что эти заболевания имеют общие черты патогенеза. Минеральная плотность кости обратно пропорциональна кальцификации коронарных артерий и/или аорты и прямо пропорциональна уровню холестерина липопротеинов высокой плотности. Высокая скорость

потери костной массы характерна для больных сахарным диабетом, у которых также выражены сосудистые нарушения [2]. Кальцификация сосудов по некоторым своим механизмам имеет общие закономерности формированием кости как на клеточном, так и на молекулярном уровне. Кальцифицированные атеросклеротические бляшки, удаленные из просвета артерии, гистоморфологически неотличимы от кости. Кальцификация атеросклеротической бляшки и артериальной стенки представляет процесс, схожий с формированием новой кости

(или костным ремоделированием). Клетки сосудов могут дифференцироваться в остеобласто- и остеокластоподобные клетки [1, 3]. Этот процесс не является исключительной особенностью старения организма.

Хроническое воспаление играет важную роль в развитии рассматриваемых процессов. Провоспалительные цитокины (ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО) участвуют в развитии как сосудистых заболеваний, так и в патологической резорбции кости. Костная ткань и сосуды находятся под влиянием половых стероидов, оказывающих свое влияние на эти ткани через модификацию секреции цитокинов – ИЛ-6, ФНО. Это предопределяет ускорение развития патологии артерий и остеопороза в условиях мено- и андропаузы [5,6,8]. Таким образом, два самых распространенных заболевания современной цивилизации имеют много общих патофизиологических механизмов [2].

Цель исследования: изучить связь степени компенсации сахарного диабета, уровня провоспалительных цитокинов, С-реактивного белка, фактора роста эндотелия сосудов, дегидроэпиандростерона-сульфата и 25-ОН-Витамина D сыворотки крови с наличием/отсутствием поражения артерий нижней конечности на фоне диабетической полинейропатии.

Материал и методы

Проспективное исследование проведено на базе Центра «Диабетическая стопа» г. Минска и отделении эндокринологии УЗ «10 ГКБ г. Минска» в 2010-2013 годах. Проводилось определение уровня интерлейкина-1альфа (ИЛ-1 альфа), интерлейкина-6 (ИЛ-6), фактора некроза опухолей (ФНО), С-реактивного белка (СРБ), гормона дегидроэпиандростерона-сульфата (ДГЭА-С), 25-ОН-Витамина D в сыворотке крови.

Исследование уровня гормона дегидроэпиандростерона-сульфата (ДГЭА-С) иммуноферментным методом на анализаторе Cobas e411 с использованием ИФА-реагентов производства Roch Diagnostics, Германия. Уровень 25-ОН-Витамина D определялся с помощью набора реагентов 25-ОН-Витамин D, 96 тестов, IDS, AC-57F1, Великобритания. Измерение оптической плотности растворов проводили на спектрофотометре «Stat Fax-3200» (Awareness Technology, США), 2004 г. выпуска. Для исследования влияния уровня указанных субстанций в сыворотке крови пациента на характер течения сахарного диабета выделены 2 группы пациентов.

Группа 1 – пациенты с нейроишемической формой синдрома диабетической стопы;

Группа 2 – пациенты с сахарным диабетом без поражения артерий.

Критериями включения пациентов в группу 1 явились:

- сахарный диабет;
- характерные акральные некрозы, ишемические трофические язвы стопы и/или боли в покое;
- отсутствие пульсации артерий стопы;
- выявленные при ангиографии и/или дуплексном ангиосканировании окклюзионно-стенотические поражения артерий нижней конечности;
- выполненная в связи с критической ишемией нижней конечности высокая ампутация с/без предшествовавшей попыткой реваскуляризации конечности и без язвенно-некротического поражения контрлатеральной конечности;
- проявления диабетической нейропатии 2-3 степени (снижена или отсутствует) при исследовании микрофиламентом по методике Zigger-Carville.

Критериями включения пациентов в подгруппу 2 явились:

- сахарный диабет;
 - отсутствие язвенно-некротических поражений стопы;
 - удовлетворительная пульсация артерий стопы.
- Критериями исключения пациентов из исследования явились:
- отсутствие сахарного диабета;
 - нейропатические язвенные поражения стопы.

Группа 1 (пациенты с нейроишемической формой синдрома диабетической стопы)

Цитокины. Обследовано 67 пациентов (40 мужчин и 27 женщин). Возраст пациентов составил от 33 до 81 года (медиана (Me) = 64 года, 25-75 процентиля (IQR) 59-70 года). Уровень ИЛ -1 альфа составил от 0,00 пг/мл до 11,40 пг/мл (Me= 0,02 пг/мл, IQR 0,00-0,06 пг/мл). Уровень ИЛ- 6 составил от 0,00 пг/мл до 211,20 пг/мл (Me= 7,20 пг/мл, IQR 5,90-20,00 пг/мл). Уровень ФНО составил от 0,00 пг/мл до 22,60 пг/мл (Me= 3,5 пг/мл, IQR 1,70-6,00 пг/мл).

С-реактивный белок. Обследовано 67 пациентов (40 мужчин и 27 женщин). Возраст пациентов составил от 33 до 81 года (Me = 64 года, IQR 59-70 года). Уровень СРБ составил от 1,40 мкг/мл до 56,00 мкг/мл (Me= 51,5 мкг/мл, IQR 15,25-55,50 мкг/мл).

Фактор роста эндотелия сосудов. Обследовано 67 пациентов (40 мужчин и 27 женщин). Возраст пациентов составил от 33 до 81 года (Me = 64 года, IQR 59-70 года). Уровень ФРЭС составил от 14,00 пг/мл до 705,50 пг/мл (Me= 69,00 пг/мл, IQR 40,00-190,00 пг/мл).

25-ОН-Витамин D. Обследовано 32 пациента (19 мужчин и 13 женщин). Возраст пациентов составил от 36 до 81 года (Me = 64,5 года, IQR 57-72 года). Уровень 25-ОН-Витамина D составил от 13,0 нмоль/л до 54,0 нмоль/л (Me= 22,0 нмоль/л, IQR 18,25-27,5 нмоль/л).

Фруктозамин. Обследовано 67 пациентов (40 мужчин и 27 женщин). Возраст пациентов составил от 33 до 81 года (Me = 64 года, IQR 59-70 года). Уровень фруктозамина составил от 180,60 мкмоль/мл до 1444,00 мкмоль/мл (Me=962,00 мкмоль/мл, IQR 829,20-1060,6 мкмоль/мл).

Группа 2 (пациенты с сахарным диабетом без поражения артерий)

Цитокины. Обследовано 25 пациентов (10 мужчин и 15 женщин). Возраст пациентов составил от 28 до 83 лет (Me = 62 года, IQR 48-65 лет). Уровень ИЛ -1 альфа составил от 0,00 пг/мл до 1,50 пг/мл (Me= 0,00 пг/мл, IQR 0,00-0,00 пг/мл). Уровень ИЛ- 6 составил от 0,00 пг/мл до 7,80 пг/мл (Me= 0,00 пг/мл, IQR 0,00-2,86 пг/мл). Уровень ФНО составил от 0,00 пг/мл до 18,10 пг/мл (Me= 4,1 пг/мл, IQR 2,00-5,80 пг/мл).

С-реактивный белок. Обследовано 25 пациентов (10 мужчин и 15 женщин). Возраст пациентов составил от 28 до 83 лет (Me = 62 года, IQR 48-65 лет). Уровень СРБ составил от 1,30 мкг/мл до 56,00 мкг/мл (Me= 5,80 мкг/мл, IQR 2,05-23,00 мкг/мл).

Фактор роста эндотелия сосудов. Обследовано 25 пациентов (10 мужчин и 15 женщин). Возраст пациентов составил от 28 до 83 лет (Me = 62 года, IQR 48-65 лет). Уровень ФРЭС составил от 1,00 пг/мл до 150,00 пг/мл (Me= 39,00 пг/мл, IQR 24,00-76,75 пг/мл).

25-ОН-Витамин D. Обследовано 28 пациентов (10 мужчин и 18 женщин). Возраст пациентов составил от 28 до 83 лет (Me = 62 года, IQR 46-66 лет). Уровень 25-ОН-

Витамина D составил от 12,0 нмоль/л до 61,0 нмоль/л (Me = 37,5 нмоль/л, IQR 34,0- 50,0 нмоль/л). Уровень холестерина от 3,00 ммоль/л до 9,60 ммоль/л (Me = 6,40 ммоль/л, IQR 5,30- 7,30 ммоль/л). Уровень триглицеридов составил от 0,75 ммоль/л до 3,96 ммоль/л (Me = 1,90 ммоль/л, IQR 1,42- 2,37 ммоль/л).

Фруктозамин. Обследовано 25 пациентов (10 мужчин и 15 женщин). Возраст пациентов составил от 28 до 83 лет (Me = 62 года, IQR 48-65 лет). Уровень фруктозамина составил от 138,00 мкмоль/мл до 1245,20 мкмоль/мл (Me=224,40 мкмоль/мл, IQR 189,80-682,60 мкмоль/мл).

Так как воспаление при язвенно-некротическом поражении конечности ведет к росту уровня цитокинов и СРБ, для изучения роли цитокинов в патогенезе синдрома диабетической стопы в группе 1 выделены 2 подгруппы, исходя из признака наличия/отсутствия язвенно-некротического процесса на нижней конечности:

Подгруппа А – пациенты без язвенно-некротического процесса на нижней конечности.

Подгруппа Б – пациенты с язвенно-некротическим процессом на нижней конечности.

Критериями включения пациентов в подгруппу А группы 1 явились:

- 1) отсутствие язвенно-некротических поражений стопы при болях в покое и перемежающейся хромоте;
- 2) выполненная в период от 3 месяцев и более высокая ампутация нижней конечности без раневых осложнений со стороны культи.

Критериями включения пациентов в подгруппу Б группы 1 явились:

- 1) наличие нейроишемических язвенно-некротических поражений стопы;
- 2) выполненная в период до 3 месяцев и более высокая ампутация нижней конечности с раневыми осложнениями со стороны культи.

Подгруппа А – пациенты без воспалительного и язвенно-некротического процесса на нижней конечности.

Цитокины. Обследовано 27 пациентов (14 мужчин и 13 женщин). Возраст пациентов составил от 54 до 81 года (Me = 66 лет, IQR 62-72 года). Уровень ИЛ-1 альфа составил от 0,00 пг/мл до 11,40 пг/мл (Me= 0,02 пг/мл, IQR 0,00-1,00 пг/мл). Уровень ИЛ-6 составил от 0,00 пг/мл до 211,20 пг/мл (Me= 7,20 пг/мл, IQR 5,70-20,00 пг/мл). Уровень ФНО составил от 0,00 пг/мл до 14,70 пг/мл (Me= 3,30 пг/мл, IQR 1,00-5,90 пг/мл).

Подгруппа Б – пациенты с воспалительным и язвенно-некротическим процессом на нижней конечности.

Цитокины. Обследовано 40 пациентов (26 мужчин и 14 женщин). Возраст пациентов составил от 33 до 81 года (Me = 62 года, IQR 57,3-68,3 года). Уровень ИЛ-1 альфа составил от 0,00 пг/мл до 4,20 пг/мл (Me= 0,03 пг/мл, IQR 0,00-0,05 пг/мл). Уровень ИЛ 6 составил от 2,70 пг/мл до 50,00 пг/мл (Me= 7,80 пг/мл, IQR 5,90-20,35 пг/мл). Уровень ФНО составил от 0,00 пг/мл до 22,60 пг/мл (Me= 3,65 пг/мл, IQR 2,00-6,08 пг/мл).

Исследование дегидроэпиандростерона-сульфата проведено для выявления критериев его связи с принадлежностью пациента к одной из указанных групп. Обследовано 114 пациентов (70 мужчин и 44 женщины). Возраст мужчин составил от 45 до 78 лет (Me=60 лет, IQR 56-68,5 лет). Уровень ДГЭА-С в этой группе пациентов составил от 3,1 мкмоль/л до 632,0 мкмоль/л (Me=76,35 мкмоль/л, IQR 47,9-134,85 мкмоль/л). Возраст женщин составил от 51 до 80 лет (Me=62,0 года, IQR 59-70,0 лет).

Таблица 1. Результаты сравнения исследуемых параметров пациентов группы 1 и группы 2.

№	Параметр	p
1	Возраст	0,086
2	Уровень интерлейкина-1 альфа	0,003
3	Уровень интерлейкина -6	0,000
4	Уровень фактора некроза опухолей	0,881
5	Уровень С-реактивного белка	0,001
6	Уровень фактора роста эндотелия сосудов	0,002
7	Уровень 25-ОН-Витамина D	0,000
8	Уровень фруктозамина	0,000

Таблица 2. Результаты сравнения исследуемых параметров пациентов подгруппы А и подгруппы Б группы 1.

№	Параметр	p
1	Возраст	0,015
2	Уровень интерлейкина-1 альфа	0,995
3	Уровень интерлейкина -6	0,552
4	Уровень фактора некроза опухолей	0,518
5	Уровень С-реактивного белка	0,177

Уровень ДГЭА-С в этой группе пациенток составил от 3,1 мкмоль/л до 274,3 мкмоль/л (Me=67,35 мкмоль/л, IQR 48,15-83,23 мкмоль/л).

Результаты и обсуждение

Статистическая обработка данных была проведена при помощи Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 20.0. Т.к. распределение непрерывных количественных переменных в группах 1 и 2 не является нормальным, сравнение средних двух групп проводилось по непараметрическому критерию U Манна-Уитни для независимых выборок. Различие считалось достоверным при вероятности ошибки менее 5% (p<0.05). Результаты сравнения исследуемых параметров пациентов группы 1 и группы 2 представлены в таблице 1.

Таким образом, в сопоставимых по возрасту группах пациентов с нейроишемической формой синдрома диабетической стопы и с сахарным диабетом без поражения артерий имеются достоверные различия в уровне ИЛ-1, ИЛ-6, С-реактивного белка, фактора роста эндотелия сосудов, 25-ОН-Витамина D. Провоспалительные цитокины (ИЛ-1 альфа, ИЛ-6, ФНО) действуют на эндотелиальные клетки и приводят к высвобождению I типа ингибитора активатора плазминогена, который в свою очередь ингибирует тканевой активатор плазминогена и подавляет фибринолиз, что приводит к отложению фибрина в артериях мышечного типа большинства органов и недостаточности артериального кровообращения [6]. Более высокий уровень фактора роста эндотелия сосудов, являющегося ключевым активатором ангиогенеза, у пациентов группы 1 свидетельствует о компенсаторном неоангиогенезе. Дефицит 25-ОН-Витамина D оказывает влияние на окклюзионно-стенотическое поражение артерий вследствие атеросклероза и играет роль в патогенезе нейроишемической формой синдрома диабетической стопы [7,8]. Степень компенсации сахарного диабета была достоверно лучше в группе пациентов с сахарным диабетом без поражения артерий.

Результаты сравнения исследуемых параметров пациентов подгруппы А и подгруппы Б группы 1 представлены в таблице 2.

Таким образом, пациенты подгрупп А и Б различают-

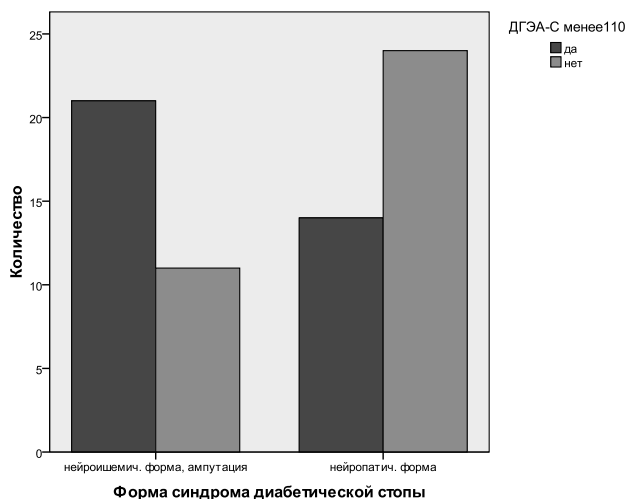


Рис. 1 - Распределение пациентов-мужчин в зависимости от формы синдрома диабетической стопы и уровня ДГЭА-С в сыворотке крови.

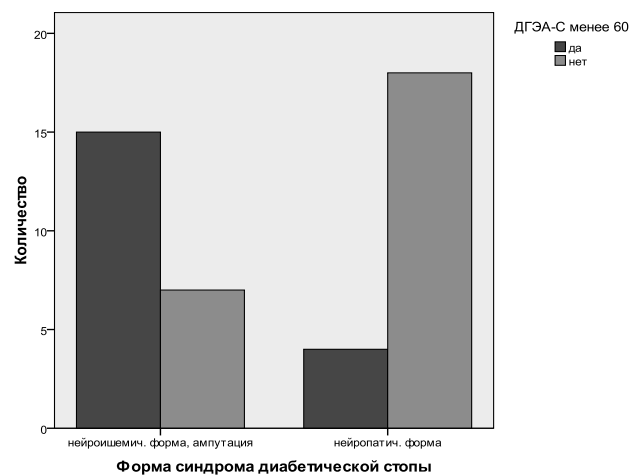


Рис. 2 - Распределение пациенток-женщин в зависимости от формы синдрома диабетической стопы и уровня ДГЭА-С в сыворотке крови.

ся по возрасту в пользу более старшей выборки в подгруппе А, что связано с отбором в эту группу в пациентов после высокой ампутации нижней конечности. Однако в этих подгруппах отсутствуют достоверные различия в высоком уровне провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО) и С-реактивного белка, несмотря на отсутствие воспалительного процесса на нижней конечности у пациентов подгруппы А.

Для исследования связи формы синдрома диабетической стопы и уровня ДГЭА-С в сыворотке крови у мужчин использован Chi-Square Tests. Выявлено, что при уровне ДГЭА-С, равном 110,0 $\mu\text{mol/L}$, $p=0,03$. Так как $p<0,05$, то нулевая гипотеза отклоняется и принимается альтернативная гипотеза о различии в количестве пациентов, отнесенных к разным подгруппам исходя из характера проявлений синдрома диабетической стопы (нейроишемическая форма, ампутация конечности или нейропатическая форма, сохранение конечности).

Графическое распределение пациентов-мужчин в зависимости от анализируемых критериев, при которых Chi-Square Tests выявил достоверные различия ($p=0,03$) представлено на Рис.1.

Для исследования связи формы синдрома диабетической стопы и уровня ДГЭА-С в сыворотке крови у женщин использован Chi-Square Tests.

Выявлено, что при уровне ДГЭА-С, равном 60,0 $\mu\text{mol/L}$, $p=0,02$. Так как $p<0,05$, то нулевая гипотеза отклоняется и принимается альтернативная гипотеза о различии в количестве пациенток, отнесенных к разным подгруппам исходя из характера проявлений синдрома диабетической стопы (нейроишемическая форма, ампутация конечности или нейропатическая форма, сохранение конечности).

Графическое распределение пациенток-женщин в зависимости от анализируемых критериев, при которых Chi-Square Tests выявил достоверные различия ($p=0,02$) представлено на Рис.2.

Выявленная закономерность может быть обусловлена высоким индексом массы тела и поражением хрящей суставов стопы [4,5]. Указанные факторы ведут к язвенно-некротическим поражениям тканей стопы, которые вследствие сниженного кровотока длительно не зажива-

ют и становятся входными воротами для инфекции, что чаще всего и ведет к высокой ампутации конечности.

Выводы

1. Развитие нейроишемических поражений стопы связано с плохой компенсацией сахарного диабета.
2. Для нейроишемической формы синдрома диабетической стопы характерен достоверно более высокий уровень провоспалительных цитокинов, который не связан с наличием/отсутствием воспалительного процесса на нижней конечности.
3. Эффекты 25-ОН-Витамина D в организме гораздо шире, чем только влияние на уровень кальция и метаболизм костной ткани. Одним из мало изученных его эффектов является влияние на окклюзионно-стенотическое поражение артерий вследствие атеросклероза. Исследование уровня 25-ОН-Витамина D может быть использовано для ранней диагностики нейроишемической формы синдрома диабетической стопы.
4. Уровень гормона дегидроэпандростерона-сульфата в сыворотке крови пациентов с синдромом диабетической стопы влияет на характер течения поражения стопы. Низкие уровни указанного гормона (менее 110 $\mu\text{mol/L}$ у мужчин и менее 60 $\mu\text{mol/L}$ у женщин) определяют неблагоприятное течение процесса и могут быть использованы как критерии риска высокой ампутации конечности. Выявленная закономерность может быть использована для ранней диагностики нейроишемической формы синдрома диабетической стопы.
5. В патогенезе нейроишемической формы синдрома диабетической стопы важную роль играет «цитокиновая лавина» на фоне низкого уровня стероидных гормонов и дефицита витамина D, что ведет к патологии артериальной стенки и нарушению кровообращения.

Литература

1. Пашкевич, Л.А., Мохаммади М.Т., Игнатович И.Н., Мартынюк С.Н. Патоморфология диабетической нейропатии // ARS medica. Рецензируемый научно-практ. журнал для врачей и провизоров. 2010, № 9 (29).- С.186-191.
2. Пигарова, Е.А., Дзеранова Л.К., Далантаева Н.С. Остеопороз и сердечно-сосудистые заболевания: управление рисками и рационализация фармакотерапии /Справочник поликлинического врача-2010-№5 реж. доступа: www.

Оригинальные научные публикации

consilium-medicum.com/handbook/article/20027.

3. *Chronic kidney disease as a predictor of cardiovascular disease (from the Framingham Heart Study) / N.I. Parikh [et al.] // Am. J. Cardiol. 2008. – Vol. 102, № 1. – P. 47–53.*

4. *Jo, H., Park J.S., Kim E.M. et al. The in vitro effects of dehydroepiandrosterone on human osteoarthritic chondrocytes //Osteoarthritis. Cartilage. 2003. - Vol.11. - №8. - P.585-594.*

5. *Li Dong Wu, Hua ChenYul, Yan Xiongl, Jie Feng. Effect of dehydroepiandrosterone on cartilage and synovium of knee joints with osteoarthritis in rabbits //J .Rheumatology International. - 2006. - V.21. -№1. - P.79-85.*

6. *Salgado, A., Boveda J.L, Monasterio J., et al. Inflammatory mediators and their influence on hemostasis / Haemostasis- 1994- 24-p.132-138.*

7. *Shanker, J, Maitra A, Arvind P, Nair J, Dash D, Manchiganti R, Rao VS, Radhika KN, Hebbagodi S, Kakkar VV. Role of vitamin D levels and vitamin D receptor polymorphisms in relation to coronary artery disease: the Indian atherosclerosis research study/ Coron Artery Dis- 2011 -Aug;22(5)-p.324-332.*

8. *Zittermann, A, Koerfer R. Vitamin D in the prevention and treatment of coronary heart disease/Curr Opin Clin Nutr Metab Care -2008-11-p.752-757.*

Поступила 15.07.2013 г.