УДК 616.155.1-007.1616.43 Оригинальная статья

ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕМОПОЭЗА У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЛИЧИЯ СОСУДИСТЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ

Т.П. Бондарь – *ГОУ ВПО Ставропольский ГУ, кафедра физико-химических основ медицины, лабораторной диагностики и фармакологии, заведующая кафедрой физико-химических основ медицины и лабораторной диагностики, профессор, доктор медицинских наук;* ***О.И. Анфиногенова –*** *ГОУ ВПО Ставропольский ГУ, старший преподаватель кафедры физико-химических основ медицины и лабораторной диагностики, кандидат биологических наук;* ***М.В. Бондарь –*** *ГОУ ВПО Ставропольский ГУ, соискатель кафедры физико-химических основ медицины и лабораторной диагностики, врач МУЗ ГКБ № 3 г. Ставрополя;* ***А.А. Солдатов –*** *ГОУ ВПО Ставропольский ГУ, аспирант кафедры физико-химических основ медицины и лабораторной диагностики*

HEMOPOIESIS INDICES IN PATIENTS WITH DIABETES TYPE II WITH AND WITHOUT VASCULAR COMPLICATIONS

T.P. Bondar *– Stavropol State University, Head of Department of Physico-chemical Bases of Medicine, Laboratory Diagnostics and Pharmacology, Professor, Doctor of Medical Science;* ***O.I. Anfinogenova*** *– Stavropol State University, Department of Physico-chemical Bases of Medicine, Laboratory Diagnostics and Pharmacology, Candidate of Biological Science;* ***M.V. Bondar –*** *Stavropol State University, Department of Physico-chemical Bases of Medicine, Laboratory Diagnostics and Pharmacology, Post-graduate;* ***A.A. Soldatov –*** *Stavropol State University, Department of Physico-chemical Bases of Medicine, Laboratory Diagnostics and Pharmacology, Post-graduate.*

Дата поступления – 24.09.2010 г. Дата принятия в печать – 14.12.2010 г.

Бондарь Т.П., Анфиногенова О.И., Бондарь М.В., Солдатов А.А. **Изменение показателей гемопоэза у больных сахарным диабетом 2-го типа в зависимости от наличия сосудистых осложнений // Саратовский научно-медицинский журнал. 2010. Т. 6, № 4. С. 783-786.**

В работе представлены результаты анализа данных 1470 историй болезни и данные лабораторных исследований 293 больных СД и 82 доноров, впервые сдававших кровь. Установлены изменения морфологических и биофизических показателей эритроцитов, тромбоцитов, лейкоцитов. Выявлены достоверные различия изменений лабораторных показателей при сосудистых осложнениях сахарного диабета по сравнению с данными больных сахарным диабетом, протекающим без сосудистых осложнений, и здоровыми.

Ключевые слова: сахарный диабет, диабетические ангиопатии, эритроциты, лейкоциты, тромбоциты, морфофункциональное состояние клеток крови.

Bondar T.P., Anfinogenova O.I., Bondar M.V., Soldatov A.A. **Hemopoiesis indices in patients with diabetes type II with and without vascular complications // Saratov Journal of Medical Scientific Research. 2010. Vol. 6, № 4. P. 783-786.**

The article presents data of 1470 case histories and laboratory findings of 290 patients with diabetes and 82 donors who have done such procedure for the first time. Changes of morphological and biophysical indices of erythrocytes, thrombocytes and leukocytes are determined. The analysis of laboratory findings among patients with diabetes complicated by vascular disorders, with diabetes without complications and healthy representatives of the investigation has been carried out. It has revealed significant changes in indices.

Key words: diabetes, vascular complications, erythrocytes, leukocytes, thrombocytes, morphofunctional blood cells state.

Введение. В последние годы во всех развитых странах отмечается значительный рост заболеваемости сахарным диабетом (СД): общее количество больных увеличивается ежегодно почти на 5%, что обусловливает исключительную актуальность профилактики СД и его лечения. Большая социальная значимость СД сопряжена с тем, что он приводит к ранней инвалидизации и летальности в связи с поздними сосудистыми осложнениями, в числе которых микроангиопатии (ретинопатия и нефропатия), макроангиопатии (инфаркт миокарда, инсульт, гангрена нижних конечностей), невропатии. Сахарный диабет – очень частая причина слепоты, смерти от уремии; велик риск развития сердечно-сосудистых заболеваний. На фоне СД летальность таких больных увеличивается в 2-3 раза.

Сахарный диабет, по определению М.И. Балаболкина, – это синдром хронической гипергликемии и глюкозурии, обусловленный абсолютной или относительной инсулиновой недостаточностью, приводящий к нарушению всех видов обмена веществ, поражению сосудов, нейропатии и патологическим изменениям в различных органах и тканях. Каждый добавленный год с учетом качества жизни больного СД, при увеличении ее продолжительности, требует глубокого и всестороннего обследования, направленного на раннее выявление сосудистых осложнений диабета, минимизацию рисков инвалидизации и летальности от этого заболевания.

Известно, что в результате хронической декомпенсации углеводного обмена у больных СД развивается комплекс метаболических нарушений, патологически воздействующий на морфофункциональное состояние периферических клеток, циркулирующих в крови. Так, неферментативное гликирование гемоглобина и белков мембраны эритроцита (ЭР) приводит к появлению аномальных форм клеток периферического отдела эритрона. Повышение концентрации свободных радикалов и продуктов ненаправленного протеолиза в организме больного СД дестабилизируют клеточные мембраны Эр. В конечном итоге выраженность метаболического стресса при СД, осложненном ангиопатиями, приводит к уменьшению числа Эр, циркулирующих в крови, по-

Ответственный автор – Бондарь Татьяна Петровна.
Адрес: 355009, г. Ставрополь, ул. Пушкина, 1, корп. 2.
Тел.: (865-2) 32-19-76.
E-mail: Tatiana_bond_st@mail.ru

вышению активности тромбоцитов (Тр) и развитию клеточно-депрессивного иммунодефицита [1].

Изменения эритроцитов у больных в условиях хронической гипергликемии нельзя рассматривать без учета особенностей влияния инсулина на эритропоэз [2]. Установлено, что инсулин стимулирует образование эритроидных колоний независимо от наличия эритропоэтина. Усиление эритропоэза в условиях гипергликемии сопровождается увеличением в крови количества ретикулоцитов и выбросом в кровоток молодых качественно измененных эритроцитов, что указывает на напряжение эритропоэза [3].

Форма эритроцитов при хронической гипергликемии изменяется в зависимости от степени ее компенсации. Так, морфологические нарушения эритроцитов наблюдаются при обоих типах сахарного диабета, а продолжительность их жизни уменьшается более чем на 13%. Неферментативное гликирование белков эритроцитарных мембран – один из путей реализации глюкозотоксичности, что приводит к их необратимой структурно-функциональной модификации, а также снижает устойчивость и деформируемость клеток, увеличивает их хрупкость, изменяет агрегацию [4, 5].

Установлено, что нарушения эритроцитов, развивающиеся вследствие абсолютной или относительной инсулиновой недостаточности, значительно затрудняют их функционирование. Таким образом, нарушения морфофункционального состояния эритроцитов в условиях длительной гипергликемии более выражены при развитии ее декомпенсации, что впоследствии ведет к количественным и качественным нарушениям периферического звена эритрона. Способность эритроцитов к обратимым изменениям размеров и формы названа деформабельностью. Деформабельность эритроцитов может изменяться при различных заболеваниях, в том числе при сахарном диабете [6].

Основная цель исследования: изучение морфофункционального состояния различных пулов клеток периферической крови в условиях длительной гипергликемии у больных сахарным диабетом.

Побудительной причиной для исследования явилось эмпирически выявленное снижение числа эритроцитов в крови больных СД. Для подтверждения или опровержения данного суждения было изучено 1106 историй болезни пациентов, отобранных методом селективного скрининга, с установленным клиническим диагнозом СД, осложненным диабетическими ангиопатиями (ДА), и 364 истории болезни, в которых диагностирован СД без клинических признаков сосудистых осложнений (СО), установлена частота встречаемости анемии. Все больные СД – пациенты эндокринологического отделения ГБ № 3.

Оказалось, что снижение гемоглобина ниже 120 г/л выявлено в 35,8% пациентов с ДА, а при СД без клинических признаков ангиопатий – в 7,9% случаев [7].

Установив факт анемии при СО СД, мы провели лабораторное обследование у 293 больных СД и 82 доноров, впервые сдававших кровь.

Методы. Лабораторное исследование метаболических показателей компенсации гликемии: глюкоза крови натощак, содержание НвА1С, Степень тяжести СЭИ: уровень СМ; величина ЛИИ; содержание ЦИК. Активность окислительного стресса: малоновый диальдегид мембран Эр. Степень нарушения липидного обмена: общий ХС, ХС ЛПВП, триглицериды в крови.

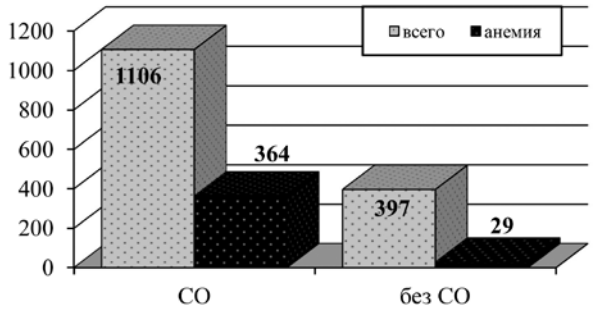

Рис. 1. Анемический синдром у больных сахарным диабетом с сосудистыми осложнениями и без них

Изучение крови: количественные показатели клеток периферической крови, лейкоформула, ЛИИ, функциональное состояние Эр, деформабельность Эр, Тр, морфометрия Эр, Рт, Тр, степень зрелости Рт, иммунный статус, показатели активности апоптоза, морфология клеток костного мозга.

Результаты. В результате статистической обработки полученных данных установлены изменения во всех клеточных пулах системы гемопоэза, причем эти изменения различались в зависимости от длительности заболевания, вида сосудистых и наличия гнойно-воспалительных осложнений и степени выраженности метаболических нарушений.

Ранее установлено, что у больных СД отмечается повышение количества циркулирующих в периферической крови эритроцитов. Оказалось, что были обследованы пациенты в первые месяцы заболевания, а усиление продукции красных клеток крови – компенсаторная реакция костного мозга в ответ на тканевую гипоксию. В нашем исследовании мы выделили группу больных СД без СО, с установленным СД не более чем 5 лет назад (51 человек). При этом также отмечено усиление продукции клеток красного ряда. Кроме того, выявлено повышение как относительного, так и абсолютного количества ретикулоцитов (Рт) в 2-3 раза (в отдельных случаях до 30‰), причем за счет появления молодых форм; достоверно увеличивается индекс созревания Рт по сравнению с нормой (0,435±0,032 и 0,694±0,034 соответственно).

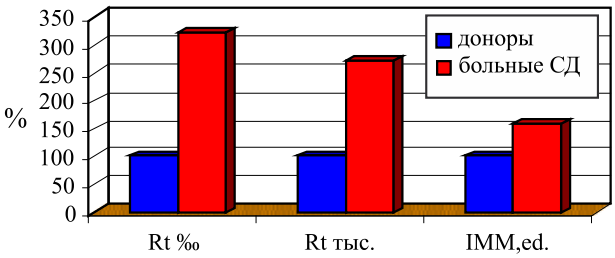

Рис. 2. Изменение ретикулоцитарных показателей у больных сахарным диабетом (51 чел.)

При этом количество Эр, циркулирующих в крови, эритроцитарные индексы и концентрация эритропоэтина (ЭПО) определяется в пределах референсных значений, но при проведении компьютерной цитоморфометрии отмечается появление обратимо и необратимо измененных форм Эр и достоверное уменьшение среднего диаметра Эр. Статистический анализ полученных данных, проведенный с использованием последовательного анализа Вальда, позволил выделить ряд информативных лабораторных признаков для предварительного суждения о риске

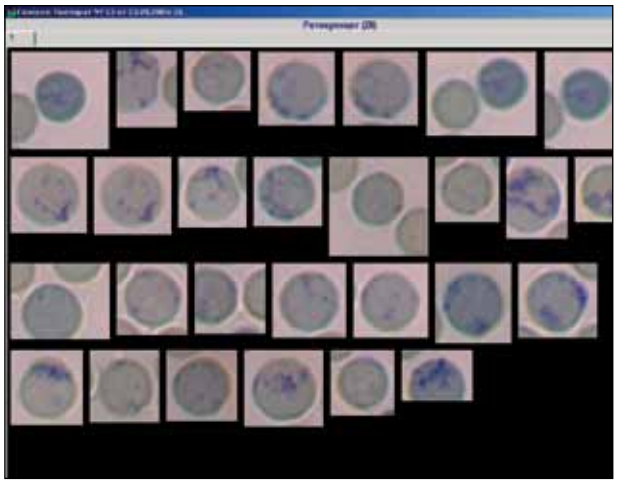

Рис. 3. Галерея Rt, полученная при компьютерной цитоморфометрии

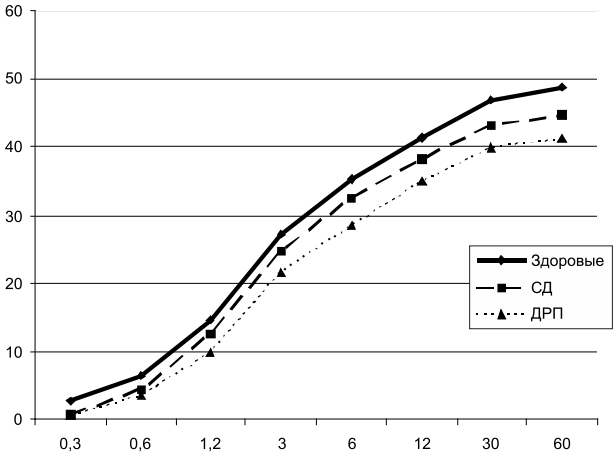

Рис. 4. Деформабельность эритроцитов

развития СО у больных с СД. Оказалось, что, помимо известных критериев риска развития ангиопатий (изменение содержания в крови показателей липидного обмена [7]), диагностически значимыми являются снижение количества Рт менее 13‰, индекса созреваемости Рт и повышение концентрации ЭПО в периферической крови.

При декомпенсированной гипергликемии у больных СД отмечаются изменения эритроцитов. Так, если уровень HвA1c в крови более 7,5%, то выявляются снижение концентрации гемоглобина; уменьшение количества эритроцитов; уменьшение среднего объема эритроцита; снижение среднего содержания гемоглобина в эритроците; уменьшение среднего диаметра эритроцита.

Были обследованы 8 испытуемых с сахарным диабетом с целью изучения деформабельности Эр. При исследовании элонгации эритроцитов у больных СД было выявлено снижение показателей элонгации при всех значениях давления, что доказывает зависимость элонгации от концентрации глюкозы в крови (таблица).

Общая картина элонгации эритроцитов

Давление, Па	Здоровые (n=12)	СД (n=8)	P
0,3	2,79±0,4	0,63±0,18	≤0,001
0,6	6,43±0,37	4,15±0,43	≤0,001
1,2	14,49±0,81	11,89±0,89	≤0,05
3	27,2±0,84	23,86±1,12	≤0,001
6	35,24±0,81	31,50±1,14	≤0,001
12	41,35±0,75	37,44±1,04	≤0,001
30	46,88±0,74	42,46±0,96	≤0,001
60	48,78±0,84	43,98±0,93	≤0,001

Помимо концентрации глюкозы, на деформабельность влияют осложнения сахарного диабета. Так, при диабетической ретинопатии происходит снижение элонгации в микроциркуляторном и артериальном русле (в пределах давлений 0,6-6 и 12-60 Па соответственно), притом что элонгация в венозном русле не страдает (при 0,3 Па).

У больных СД при развитии СО (242 человека) отмечаются изменения в периферическом звене эритрона, характеризующиеся как вторичная нормохромная микроцитарная анемия, протекающая с выраженным анизоцитозом и пойкилоцитозом. Отмечается достоверное снижение концентрации HB в крови, количества Эр (менее $3{,}8\times10^{12}$/л), уменьшение MCV, ретикулоцитоз (до 17-20‰) и повышение концентрации ЭПО.

Обсуждение. Основными причинами развития анемического синдрома при ДА являются: метаболические изменения мембран Эр, связанные с повышенным гликированием протеинов, активностью окислительного стресса, вызванных хронической гипергликемией; механическое повреждение Эр в измененном микрокапиллярном русле. Усиление гликирования белков эритроцитарных мембран приводит к изменению деформируемости Эр и повышению склонности Эр к гемолизу.

При декомпенсации углеводного обмена у больных с СО СД II типа по сравнению с данными доноров отмечается лейкоцитоз ($7{,}55\pm0{,}25\times10^6$/л против $4{,}77\pm0{,}02\times10^6$/л у доноров) с увеличением количества палочкоядерных нейтрофилов, лимфопения, эозинофилия и снижение функциональной активности нейтрофильных лейкоцитов, усиливающиеся пропорционально усилению активности окислительного стресса. При этом с увеличением длительности болезни нарастает количество палочкоядерных лейкоцитов (на 168 при заболевании менее 5 лет, 185 – от 5 до 10 лет и 229 при длительности болезни более 10 лет по сравнению с донорами) и эозинофилов (на 182, 188 и 241% соответственно).

Отмечается также активация апоптоза: исследование показало, что у больных ДА достоверного различия экспрессии CD95+ на лимфоцитах не обнаруживается, тогда как CD95L+ достоверно снижена. Статистический корреляционный анализ показал достоверную значимую зависимость между абсолютным количеством лимфоцитов и CD95+ ($r=0{,}521$, при $p<0{,}001$).

Состояние иммунного статуса больных СД, осложненным ДА, представляет собой вторичный иммунодефицит по клеточно-депрессивному типу II-III степени: умеренное снижения Т-хелперов на фоне выраженной депрессии В-лимфоцитов, естественных киллеров, уменьшение количества лимфоцитов с рецепторами к ИЛ2. При этом уровень иммуноглобулинов сыворотки крови остается в пределах референсных показателей, а факторы неспецифической защиты снижены. Нарушения состояния иммунного статуса в зависимости от

вида ангиопатии отличаются степенью клеточной иммунодепрессии, которая максимальна у больных СД II типа с диабетической нефропатией и синдромом диабетической стопы (СДС) [5-7].

При анемическом синдроме ДА развивается комбинированный иммунодефицит по клеточно-депрессивному типу III степени с преимущественным снижением Т-лимфоцитов и функциональной активности нейтрофилов. У больных ДА степень компенсации гликемии и активность ОС влияют на степень клеточной депрессии. Введение в комплексную терапию больных СД II типа иммуномодуляторов в комплексе с антиоксидантами приводит к нормализации показателей иммунного статуса.

У больных с СО СД II типа количественные изменения Тр проявляются в умеренном увеличении числа циркулирующих в периферической крови клеток, среднего объема Тр, а также тромбокрита и различаются в зависимости от вида СО, степени компенсации углеводного обмена и наличия анемического синдрома. Агрегационная активность Тр у больных с СД II типа проявляется в увеличении скорости и степени агрегации Тр с коллагеном, АДФ и ристоцетином, максимальные изменения определяются при развитии анемического синдрома и СДС. Увеличение диаметра и площади Тр периферической крови, цветояркостные и оптические показатели, полученные с помощью компьютерной цитоморфометрии, у больных с декомпенсацией углеводного обмена и анемическим синдромом ДА свидетельствуют об активации тромбоцитопоэза. Развитие метаболического стресса у больных с анемическим синдромом ДА приводит к повышению скорости агрегации и изменению морфометрических показателей Тр. Установлена корреляционная зависимость тромбоцитарных показателей от декомпенсации углеводного и липидного обмена, активности перекисного окисления липидов и выраженности анемии.

Изменения клеточного состава костного мозга больных с СДС и анемией в условиях декомпенсации углеводного обмена проявляются в расширении мегакариоцитарного ростка, умеренном увеличении количества и плоидности мегакариоцитов, что свидетельствует об активизации мегакариоцитарного ростка костного мозга.

Заключение. Таким образом, количественные, морфологические и функциональные нарушения клеток периферической крови, полученные различными методами лабораторного анализа, характеризуют степень выраженности метаболического стресса и являются дополнительным лабораторным критерием для диагностики сосудистых нарушений при сахарном диабете.

Библиографический список

1. Лисовский В.А., Кидалов В.Н., Гущ В.В. Трансформация эритроцитов как диагностический тест в клинической практике // Лабораторное дело. 1986. № 10. С. 594-598.

2. Congote L.F., DiFalco M.R., Gibbs B.F. Thrombospondin 1, produced by endothelial cells under the action of erythropoietin, stimulates thymidine incorporation into erythroid cells and counteracts the inhibitory action of insulin-like growth factor binding protein 3 // Cytokine. 2005. № 5. P. 248-253.

3. Козинец Г.И., Погорелов В.М. Консерватизм биологических процессов – стабильность кроветворения // Клиническая лабораторная диагностика. 1998. № 12. С. 21-32.

4. Салтыков Б.Б., Пауков В.С. Диабетическая микроангиопатия. М.: Медицина, 2002. 238 с.

5. Lindmark K., Engstrom K.G. Theoretical and experimental aspects of erythrocyte filterability testing; flow acceleration and systemic resistance // J. Biomech. 2002. № 5. P. 683-688.

6. Лабораторная гематология / С.А. Луговская, В.Т. Морозова, М.Е. Почтарь [и др.] М., 2002. 120 с.

7. Изучение влияния биохимического состава плазмы на размеры и форму эритроцитов при сахарном диабете и атеросклерозе / Т.П. Бондарь, О.И. Запарожцева, О.С. Косторнова [и др.] // Клиническая и лабораторная диагностика. 2006. № 9. С. 58-59.

УДК 616.1:[612.015.1:612.017.1]-078.33-074(045) Оригинальная статья

ЗНАЧЕНИЕ MCP-1 КАК ПРЕДИКТОРА СОСУДИСТЫХ НАРУШЕНИЙ

В.В Никитина *– ГОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Росздрава, кафедра клинической лабораторной диагностики ФПК и ППС, ассистент, кандидат медицинских наук;* ***Н.Б. Захарова –*** *ГОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Росздрава, кафедра клинической лабораторной диагностики ФПК и ППС, профессор, доктор медицинских наук.*

VALUE MCP-1 AS PREDICT VASCULAR DISTURBANCES

V.V. Nikitina *– Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Department of Clinical Laboratory Diagnostics of Raising Skills Faculty, Assistant, Candidate of Medical Science;* ***N.B. Zakharova –*** *Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Department of Clinical Laboratory Diagnostics of Raising Skills Faculty, Professor, Doctor of Medical Science.*

Дата поступления – 10.09.2010 г. Дата принятия в печать – 14.12.2010 г.

Никитина В.В., Захарова Н.Б. **Значение MCP-1 как предиктора сосудистых нарушений // Саратовский научно-медицинский журнал. 2010. Т. 6, № 4. С. 786-790.**

Сосудистые нарушения изучаются на протяжении более чем 150 лет. В настоящее время сосудистые нарушения лежат в основе многих заболеваний, о чем свидетельствуют многочисленные работы. В данной статье представлено значение моноцитарного хемоаттрактантного протеина -1 (MCP-1), его участие в атерогенезе и приведены данные собственных исследований.

Ключевые слова: моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1 (MCP-1), сосудистые нарушения.

Nikitina V.V., Zaharova N.B. **Value MCP-1 as predict vascular disturbances // Saratov Journal of Medical Scientific Research. 2010. Vol. 6, № 4. P. 786-790.**

Vascular disturbances have been studying for more than 150 years. Nowadays vascular disorders cause many diseases. The article presents the significance of monocytic chemotactic protein-1 (MCP-1) and its function in atherogenesis. The data of the research are considered.

Key words: monocytic chemotactic protein-1 (MCP-1), vascular disturbances.