

П.А. Герасимчук, П.В. Кисиль, В.Г. Власенко, А.В. Павлышин

Тернопольский государственный медицинский университет им. И.Я. Горбачевского, Украина

Показатели эндотелиальной дисфункции у больных с синдромом диабетической стопы

В последние годы значительно возрос интерес ученых к роли эндотелия в патогенезе формирования сосудистых поражений различного генеза, в т.ч. у больных сахарным диабетом. **Цель исследования:** изучить степень выраженности нарушения функции эндотелия у больных с синдромом диабетической стопы (СДС) путем исследования содержания оксида азота, эндотелина-1 в сыворотке крови, а также состояния микроциркуляции нижних конечностей методом лазерной доплеровской флоуметрии. **Пациенты и методы:** обследовано 72 пациента с синдромом диабетической стопы I–IV степени поражения (по классификации Меггит–Вагнера). Нейропатическая форма диагностирована у 32 человек, ишемическая — у 40 пациентов. Функцию эндотелия изучали на основе иммуноферментного определения содержания NO и эндотелина-1 в сыворотке периферической крови, а также по оценке состояния микроциркуляции нижних конечностей методом лазерной доплеровской флоуметрии с использованием аппарата «ЛАКК-02» (Россия). **Результаты:** у больных с СДС имеет место дисфункция эндотелия, степень выраженности которой зависит от типа сахарного диабета, уровня гликемии и патогенетической формы поражения. Это проявляется снижением секреции вазодилаторов (NO) и повышенным синтезом вазоконстрикторов (эндотелина-1), что приводит к нарушению периферической гемодинамики. Характерным изменением микроциркуляции является резкое нарушение эндотелийзависимого механизма регуляции с перераспределением крови в сторону нутритивного кровообращения. Также отмечается значительное снижение резервных возможностей капиллярного русла в ответ на окклюзионную пробу и восстановление кровотока в период реактивной гиперемии. **Выводы:** развитие эндотелиальной дисфункции и изменения периферической гемодинамики у больных с СДС способствуют возникновению и пролонгации злойно-некротических поражений, а также нарушению репаративных процессов.

Ключевые слова: сахарный диабет, синдром диабетической стопы, дисфункция эндотелия.
(Вестник РАМН. 2014; 5–6: 107–110)

107

Введение

Научные публикации последних лет свидетельствуют о значительном росте интереса ученых к роли эндотелиальной дисфункции (ЭД) в патогенезе формирования сосудистых поражений различного генеза, в т.ч. и у больных сахарным диабетом (СД) [1–4]. Согласно современным представлениям, ЭД — это неспецифическая реакция эндотелия, которая выражается дисбалансом факторов, вызывающих сужение и дила-

тацию сосудов, протромбогенных факторов, процессов пролиферации и ремоделирования. Однако под ЭД прежде всего понимают нарушение регуляции тонуса сосудов за счет изменений синтеза вазодилаторов (оксида азота, NO) и вазоконстрикторов (эндотелина-1). NO имеет разнонаправленное влияние, которое выражается прямым отрицательным инотропным действием, вазодилатацией, антиатеросклеротическим, антитромботическим, антиадгезивным воздействием. Эндотелин-1 относится к наиболее сильным вазоконстрикторам эн-

P.A. Gerasymchuk, P.V. Kisil, V.G. Vlasenko, A.V. Pavlyshyn

Ternopil State Medical University n.a. Y.Ya. Horbachevskoho, Ukraine

Endothelial Dysfunction Indicators in Patients with Diabetic Foot Syndrome

Background: In recent years, scientists have become increasingly interested in the role of the endothelium in the pathogenesis of vascular lesions of various origins, including diabetic patients. Therefore, the aim of the study was to investigate the expression of endothelial dysfunction in patients with diabetic foot syndrome (DFS), by examining the levels of nitric oxide, endothelin-1 levels in the serum, as well as lower limb microcirculation by laser doppler flowmetry. **Patients and methods:** It was examined 72 patients with diabetic foot syndrome with I–IV degree of lesion (by Meggit–Wagner classification). Neuropathic form was diagnosed in 32 people, ischemic — 40 patients. The function of endothelium was studied on the basis of the determination of enzyme-linked immunosorbent NO and endothelin-1 in peripheral blood serum, as well as to assess the state of the microcirculation of the lower limbs by laser doppler flowmetry, using apparatus LACK-02 (Russia). **Results:** Patients with DFS are marked with endothelial dysfunction, the severity of which depends on the type of diabetes, glycemic level and pathogenic forms of destruction. This is manifested by secretion reducing of vasodilators (NO) and increased synthesis of vasoconstrictors (endothelin-1), which leads to disruption of peripheral hemodynamic. Characteristic changes in the microcirculation are a dramatic violation of endothelium-dependent regulation mechanism, the redistribution of blood towards the nutritional circulation. Also it is showed a significant reduction in reserve capacity of the capillary bed in response to the sample and the occlusal restoration of blood flow during reactive hyperemia. **Conclusion:** Development of endothelial dysfunction and changes in peripheral hemodynamic in patients with DFS contributes to the emergence and prolongation of necrotic lesions, as well as violation of reparative processes.

Key words: Diabetes, diabetic foot syndrome, endothelial dysfunction.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 5–6: 107–110)

догенного происхождения, механизм действия которого реализуется через высвобождение кальция. Это приводит к стимуляции всех фаз гемостаза с развитием гиперкоагуляции, сокращению и росту гладких мышц сосудов с утолщением их стенок и развитию вазоконстрикции [5–8]. Указанные процессы вызывают нарушения периферического кровоснабжения, приводя к развитию гнойно-некротических поражений тканей и нарушают репаративные процессы в ранах, что особенно актуально у больных с СД, осложненным развитием синдрома диабетической стопы (СДС).

Цель исследования: изучить выраженность эндотелиальной дисфункции у больных с СДС.

Пациенты и методы

Участники исследования

Обследовано 72 больных СДС с I–IV степенью поражения по классификации Меггит–Вагнера. Нейропатическая форма (НФ) диагностирована у 32 человек, ишемическая (ИФ) — у 40 пациентов. В обследованной группе было 48 мужчин и 24 женщины. Средний возраст пациентов составил 60,8 лет. СД 1-го типа страдали 13 больных, 2-го — 59 пациентов. Длительность заболевания СД колебалась в пределах от 1 до 18 лет. Контрольную группу составили 20 здоровых индивидуумов без клинических проявлений поражений нижних конечностей, сопоставимые по возрасту и полу с наблюдаемыми из основной группы.

Методы исследования

Всем больным при поступлении в стационар проводили комплексное клиническое и лабораторно-инструментальное обследование с целью дифференциации клинической формы и степени поражения стопы.

Функцию эндотелия изучали на основе иммуноферментного определения содержания NO и эндотелина-1 в сыворотке периферической крови, а также по оценке состояния микроциркуляции нижних конечностей методом лазерной доплеровской флоуметрии.

Для определения концентрации NO использовали стандартный набор реактивов фирмы R&D (США), для оценки содержания эндотелина-1 — набор реактивов производства фирмы DRG (США). Кровь для исследования брали из кубитальной вены в утреннее время суток с последующим центрифугированием и дальнейшим иммуноферментным исследованием сыворотки.

Изучение микроциркуляции нижних конечностей осуществляли методом лазерной доплеровской флоуметрии с использованием аппарата «ЛАКК-02» (Россия). С целью снижения вариабельности сигнала исследование проводили в адаптированных условиях в период с 9 до 10 часов утра. За 1 ч до исследования больному запрещалось принимать пищу, курить, выполнять физические нагрузки. За 15 мин до исследования пациент принимал горизонтальное положение с соблюдением физического и психоэмоционального покоя, при комнатной температуре 20–23 °С. Конечность освобождали

от одежды. Исследование микроциркуляции проводили на тыльной поверхности стопы, в области дистальной трети первого межпальцевого промежутка или на расстоянии 1 см от края раны (при ее наличии в области исследования). Исследование проводили в 2 этапа: первый — при изучении базального кровотока, второй — при проведении окклюзионной пробы.

Статистическая обработка данных

Анализ результатов осуществляли на основании оценки средних значений перфузии тканей (показатели постоянной составляющей перфузии М, переменной составляющей σ , коэффициента вариации Kv) и данных Вейвлет-анализа осцилляций активных и пассивных факторов регуляции микрокровотока. Полученные результаты обрабатывали с помощью методов вариационной статистики и считали достоверными при значении $p < 0,05$.

Результаты

Более выраженные изменения со стороны функции эндотелия установлены у больных с СД 2-го типа. Они выражались в достоверном снижении содержания NO и повышении концентрации эндотелина-1 в сыворотке крови (табл. 1). Это можно объяснить длительным течением болезни у пациентов со 2-м типом СД (в среднем $11,8 \pm 1,3$ года) по сравнению с СД 1-го типа (в среднем $4,6 \pm 0,9$ года) и наличием длительной гипергликемии, которая вызывает повреждение эндотелия. Определенную роль в развитии ЭД играет также и возрастной фактор. У больных с СД 2-го типа средний возраст составил $65,5 \pm 3,8$ года, а у пациентов с заболеванием 1-го типа — $48,4 \pm 1,6$ года.

Кроме того, установлена зависимость ЭД от уровня гликемии. Так, у пациентов с компенсированным СД концентрация NO составила $21,82 \pm 1,74$ мкмоль/л, а эндотелина-1 — $4,62 \pm 0,35$ пг/мл; при субкомпенсации — $18,94 \pm 1,38$ мкмоль/л и $5,17 \pm 0,32$ пг/мл, при декомпенсации — $15,46 \pm 1,02$ мкмоль/л и $8,02 \pm 0,84$ пг/мл, соответственно. Это указывает на повреждающее действие гипергликемии на эндотелий.

Анализ исследуемых показателей в зависимости от патогенетической формы поражения показал, что уровень NO у больных с НФ был ниже контрольных величин на 21,7% ($21,48 \pm 1,25$ мкмоль/л), а у пациентов с ИФ — на 39,4% ($16,65 \pm 0,92$ мкмоль/л). Содержание эндотелина-1, наоборот, возрастало на 63,2% ($6,48 \pm 0,82$ пг/мл) при НФ и на 132,7% ($9,24 \pm 1,36$ пг/мл) — у больных с ИФ СДС.

Степень выраженности ЭД у больных СДС зависела также и от глубины поражения (табл. 2).

Анализ полученных данных позволяет сделать вывод, что ЭД нарастает с тяжестью развития патологического процесса и гнойно-некротических поражений тканей. Это можно объяснить тем, что эндотоксины, выделяемые микроорганизмами, действуя на эндотелий, вызывают развитие его дисфункции — нарушение барьерных свойств и основных регулируемых функций.

Таблица 1. Показатели эндотелиальной дисфункции у больных с синдромом диабетической стопы в зависимости от типа сахарного диабета (СД)

Показатели	Контроль (n = 10)	СД 1-го типа (n = 13)	СД 2-го типа (n = 59)
NO, мкмоль/л	$27,46 \pm 1,35$	$20,36 \pm 1,38$ $p < 0,01$	$17,42 \pm 1,49$ $p < 0,001$
Эндотелин-1, пг/мл	$3,97 \pm 0,28$	$6,39 \pm 0,36$ $p < 0,001$	$9,27 \pm 1,16$ $p < 0,001$

Примечание. p — достоверность различий между контрольной группой и больными с сахарным диабетом.

Поврежденный эндотелий, не образуя достаточного количества NO и синтезируя избыточное количество вазоконстрикторов, начинает активно продуцировать провоспалительные цитокины и молекулы клеточной адгезии. Это вызывает стойкий спазм периферических сосудов и тромбозы с выраженными нарушениями микроциркуляции, что подтверждается данными лазерной доплеровской флоуметрии.

При ИФ поражения у больных отмечалась общая тенденция к снижению показателей микроциркуляции нижних конечностей, которая в определенной степени отражала нарушения магистрального кровотока (табл. 3).

Анализ приведенных результатов позволяет констатировать, что у больных с ИФ СДС имеет место снижение показателей постоянной составляющей кровообращения M и переменной составляющей микроциркуляции σ , что указывает на снижение функционирования механизмов активного и пассивного контроля микроциркуляции, отражая тяжесть ишемии конечностей.

Вместе с тем отмечено снижение показателя Kv, что наряду со снижением M и σ указывает на нарушение активности эндотелиальной секреции, нейро- и миогенного механизма регуляции.

При анализе амплитудно-частотного спектра колебаний перфузии активных и пассивных факторов и их вклада в регуляцию микроциркуляции установили, что эндотелиальные колебания при ИФ СДС растут с увеличением степени ишемии тканей и значительно превышают контрольные величины ($p < 0,05$). Это указывает на развитие ЭД с увеличением секреции эндотелием вазоактивных веществ, которые влияют на модуляцию мышечного тонуса и регулируют преимущественно прекапиллярное звено (артерии, артериолы, прекапилляры). Наряду с этим отмечается снижение функционального вклада эндотелия в модуляцию кровотока и в общий уровень тканевой перфузии.

Проведение окклюзионной пробы, отражающей функциональные резервы микроциркуляции, реализуемых за счет синтеза NO эндотелием, продемонстрировало снижение резервного капиллярного кровотока (РКК). Так, если у пациентов со I–II степенью артериальной недостаточности РКК составил $214,18 \pm 25,48$ и $181,61 \pm 21,87\%$, соответственно, то у больных с III–IV степенью РКК снижался до $131,25 \pm 17,86$ и $102,29 \pm 18,32\%$, соответственно, при норме $230,12 \pm 18,92\%$. Также зарегистрировано снижение показателей восстановления перфузии тканей. Эндотелиальные колебания в постокклюзионном периоде растут с увеличением степени ишемии тканей и значительно превышают контрольные величины ($p < 0,001$). Это указывает на парадоксальную реакцию и сохранение ЭД с увеличением секреции эндотелием вазоактивных веществ, которые влияют на модуляцию мышечного тонуса, усиливая периферический спазм микроциркуляторного русла. Наряду с этим отмечается снижение функционального вклада эндотелия в модуляцию кровотока и в общий уровень тканевой перфузии.

У больных с НФ поражения отмечено снижение общих показателей микроциркуляции нижних конечностей, которая была более выражена в условиях развития отека тканей (наличие воспалительного процесса, или нейропатического отека тканей на фоне нейропатии) (табл. 4).

Анализ полученных данных позволил сделать вывод, что у пациентов с НФ СДС без отека тканей стопы нарушения микроциркуляции незначительны и не доходят до критических отметок. Показатели постоянной составляющей кровообращения M и переменной составляющей микроциркуляции σ были несколько ниже таковых в контрольной группе, хотя эта разница не была достоверной ($p < 0,5$). Это в определенной степени характеризует изменения функционирования активного и пассивного контроля микроциркуляции. Снижение Kv также не достигло статистической достоверности, хотя указывает на

Таблица 2. Показатели эндотелиальной дисфункции у больных с синдромом диабетической стопы в зависимости от степени поражения

Показатели	Контроль (n=10)	Степень поражения (по Меггит–Вагнеру)			
		I ст. (n=8)	II ст. (n=12)	III ст. (n=31)	IV ст. (n=21)
NO, мкмоль/л	$27,46 \pm 1,35$	$23,36 \pm 1,68 p < 0,1$	$21,62 \pm 1,48 p < 0,05$	$17,18 \pm 1,35 p < 0,001$	$13,25 \pm 1,73 p < 0,001$
Эндотелин-1, пг/мл	$3,97 \pm 0,28$	$4,61 \pm 0,46 p < 0,2$	$5,13 \pm 0,48 p < 0,05$	$7,84 \pm 0,67 p < 0,001$	$9,67 \pm 0,38 p < 0,001$

Примечание. p — достоверность различий между контрольной группой и больными с СДС в зависимости от степени поражения.

Таблица 3. Показатели лазерной доплеровской флоуметрии с ишемической формой синдрома диабетической стопы

Показатели	Контроль (n=20)	Степень ишемии			
		I ст. (n=27)	II ст. (n=39)	III ст. (n=38)	IV ст. (n=14)
M пф.од.	$1,73 \pm 0,28$	$1,68 \pm 0,19 p < 0,5$	$1,58 \pm 0,18 p < 0,5$	$1,21 \pm 0,15 p < 0,05$	$0,78 \pm 0,09 p < 0,01$
σ пф.од.	$0,65 \pm 0,15$	$0,61 \pm 0,11 p < 0,5$	$0,56 \pm 0,12 p < 0,5$	$0,41 \pm 0,12 p < 0,05$	$0,25 \pm 0,01 p < 0,02$
Kv, %	$42,60 \pm 3,85$	$36,31 \pm 3,76 p < 0,5$	$35,44 \pm 4,02 p < 0,5$	$33,88 \pm 3,79 p < 0,05$	$32,05 \pm 3,18 p < 0,05$

Примечание. p — достоверность различий между контрольной группой и пациентами в зависимости от степени ишемии нижних конечностей; M — величина среднего потока крови, или среднеарифметический показатель микроциркуляции; σ — среднее колебание перфузии тканей относительно среднего значения потока крови; Kv — коэффициент вариации (соотношение величин M и σ).

Таблица 4. Показатели лазерной доплеровской флоуметрии у больных с нейропатической формой синдрома диабетической стопы

Показатели	Контроль (n=20)	Нейропатическая форма синдрома диабетической стопы	
		Без отека тканей (n=24)	При наличии отека тканей (n=48)
M пф.од.	$1,73 \pm 0,28$	$1,62 \pm 0,16 p < 0,5$	$2,95 \pm 0,46 p < 0,02$
σ пф.од.	$0,65 \pm 0,15$	$0,59 \pm 0,08 p < 0,5$	$0,43 \pm 0,06 p < 0,001$
Kv %	$42,60 \pm 3,85$	$38,46 \pm 2,58 p < 0,2$	$32,64 \pm 2,18 p < 0,02$

Примечание. p — достоверность различий между контрольной группой и пациентами в зависимости от выраженности отека тканей; M — величина среднего потока крови, или среднеарифметический показатель микроциркуляции; σ — среднее колебание перфузии тканей относительно среднего значения потока крови; Kv — коэффициент вариации (соотношение величин M и σ).

снижение активности эндотелиальной секреции и нарушения эндотелийзависимой вазодилатации.

У пациентов с выраженным отеком тканей нижних конечностей микроциркуляторные нарушения имели более выраженный характер. Отмечено достоверное увеличение показателя M ($p < 0,02$), что указывает на застойные явления. Это можно объяснить развитием т.н. аутосимпатэтомии сосудов нижних конечностей за счет периферической нейропатии, следствием которой является нарушение регуляции тонуса сосудистого русла, или же наличием воспалительного процесса.

Вместе с тем имело место снижение переменной составляющей σ ($p < 0,001$), вызванное уменьшением интенсивности активных механизмов контроля микроциркуляции, и показателя K_v , что указывает на снижение уровня эндотелиальной секреции.

При НФ отмечается дисфункция эндотелия с увеличением секреции последним вазоактивных веществ. Об этом свидетельствует рост эндотелиальных колебаний, более выраженных у пациентов с отеком ткани. Это можно объяснить более глубокими обменными нарушениями, которые влияют на функциональную активность эндотелия. Наряду с этим установлено некоторое снижение функционального вклада эндотелия в модуляцию кровотока и в общий уровень перфузии ткани, что может быть связано с морфологическими изменениями сосудов.

Проведение окклюзионной пробы у данной группы больных продемонстрировало снижение РКК в среднем на $176,48 \pm 21,63\%$ и снижение изучаемых показателей в период восстановления кровотока.

Обсуждение

Анализ полученных данных позволяет сделать вывод, что у больных с СДС имеет место выраженная дисфункция эндотелия, степень которой нарастает с тяжестью развития

патологического процесса и гнойно-некротических поражений тканей. Это объясняется тем, что гипергликемия, а также эндотоксины, выделяемые микроорганизмами, нарушают барьерные свойства эндотелия и его основные регулирующие функции. Поврежденный эндотелий не образует достаточного количества NO, синтезируя избыточное количество вазоконстрикторов. Это вызывает стойкий спазм периферических сосудов и тромбозы с выраженными нарушениями микроциркуляции, что подтверждается данными лазерной доплеровской флоуметрии. Такие нарушения периферической гемодинамики нижних конечностей у больных с сахарным диабетом способствуют изменениям трофики тканей, возникновению и пролонгации гнойно-некротических процессов.

Заключение

У больных СДС отмечается дисфункция эндотелия, степень выраженности которой зависит от типа СД, уровня гликемии и патогенетической формы поражения. Эндотелиальная дисфункция проявляется снижением секреции вазодилататоров (NO) и повышенным синтезом вазоконстрикторов (эндотелина-1), что приводит к нарушению периферической гемодинамики. Характерным для изменения микроциркуляции является резкое нарушение эндотелийзависимого механизма регуляции с перераспределением крови в сторону нутритивного кровообращения. Наряду с этим наблюдается значительное снижение резервных возможностей капиллярного русла в ответ на окклюзионную пробу и восстановление кровотока в период реактивной гиперемии.

Эндотелиальная дисфункция и нарушения микроциркуляции с перераспределением в сторону нутритивного кровотока способствуют развитию гнойно-некротических поражений и нарушению репаративных процессов у больных СДС. Это требует соответствующей корригирующей терапии в комплексном патогенетическом лечении СДС.

110

REFERENCES

1. Bashkirova Yu.V. *Byull. SO RAMN – Bulletin of SB RAMS*. 2008; 6(134): 182–186.
2. Bregovskii V.B., Karpova I.A., Alekseeva E.S. *Sakharnyi diabet – Diabetes*. 2011; 3: 49–52.
3. Zarembo V.S., Mis'kiv A.V. *Nauk. Visnik Uzhgorods'kogo universitetu. Seriya «Meditsina» – Bulletin of Uzhgorod University. Medicine*. 2011; 40: 204–207.
4. Yarek-Martynova I.R., Shestakova M.V. *Sakharnyi diabet – Diabetes*. 2004; 2: 48–52.
5. Lutai M.I. *Ukr. kardiolog. zhurn – Ukrainian journal of cardiology*. 2004; 1: 22–34.
6. Petrishchev H.H. *Omskii nauchnyi vestnik – Omsk scientific bulletin*. 2005; 1(13): 20–22.
7. Balabolkin M.I., Kreminskaya V.M., Klebanova E.M. *Kardiologiya - Cardiology*. 2004; 7: 90–97.
8. Petukhov V.A., Savel'ev B.C. *Khirurgiya - Surgery*. 2008; 1: 3–11.

FOR CORRESPONDENCE

Gerasimchuk Petr Aleksandrovich, PhD, professor of the Department of General and Operative Surgery with topographic anatomy I.Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University.

Address: 1, Voli Square, Ternopol, Ukraine, 46001; **tel.:** +380 (352) 52-44-92, **e-mail:** pavlyshyn.av@gmail.com

Pavlyshin Andrei Vladimirovich, MD, surgeon of Clinical Hospital «Medivit»

Address: 8A, Tekstil'naya Street, Ternopol, Ukraine, 46010; **tel.:** +380 (637) 40-00-04, **e-mail:** pavlyshyn.av@gmail.com

Vlasenko Vadim Grigorovich, postgraduate of the Department of General and Operative Surgery with topographic anatomy I.Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University.

Address: 1, Voli Square, Ternopol, Ukraine, 46001; **tel.:** +380 (352) 52-44-92, **e-mail:** teren30@ukr.net

Kisil' Pavel Vasil'evich, postgraduate of the Department of General and Operative Surgery with topographic anatomy I.Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University.

Address: 1, Voli Square, Ternopol, Ukraine, 46001; **tel.:** +380 (352) 52-44-92, **e-mail:** kisyl@ukr.net