

Член-корреспондент НАН Украины Э. В. Луговской, Д. А. Ефимов,
П. Г. Гриценко, И. Н. Колесникова, Н. Э. Луговская,
Л. М. Литвинова, Е. П. Костюченко,
академик НАН Украины А. С. Ефимов,
академик НАН Украины С. В. Комисаренко

Растворимый фибрин и D-димер как молекулярные маркеры сосудистых осложнений у больных сахарным диабетом

Показано, що при цукровому діабеті 1 й 2 типу підвищується вміст розчинного фібрину та D-димеру в плазмі крові — найважливіших молекулярних маркерів активації системи зсідання крові. Збільшення концентрації цих маркерів позитивно корелює зі ступенем тяжкості судинних ускладнень у хворих з цією патологією. В групі хворих з початковими функціональними судинними ускладненнями виявлено достовірно збільшення розчинного фібрину в 5,5 раза, а D-димеру — в 2,1 раза в порівнянні з контрольною групою здорових донорів. У групі хворих з ускладненнями середньої тяжкості розчинний фибрин збільшувався в 12,5 раза, а D-димер — в 3,0 раза. У групі з важкими ускладненнями розчинний фибрин був збільшений у 43,2 раза, а D-димер — в 6,6 раза. Таким чином, кількісний вміст розчинного фібрину та D-димеру в плазмі крові є важливим діагностичним показником судинних ускладнень при цукровому діабеті.

Сахарный диабет — одна из главных проблем современной эндокринологии. В настоящее время нет достаточно эффективных методов диагностики сосудистых осложнений при сахарном диабете. Данные литературы свидетельствуют о том, что сахарный диабет сопровождается активационной системой свертывания крови и повышением риска сердечно-сосудистых заболеваний [1, 2]. Важнейшими молекулярными маркерами активации системы свертывания крови являются растворимый фибрин и D-димер, концентрационное соотношение которых в плазме крови имеет большое значение при диагностике угрозы тромбообразования [3].

При активации системы свертывания крови образуется фермент тромбин, который превращает фибриноген в фибрин дезАА, способный к спонтанной полимеризации. Вначале формируются растворимые комплексы фибрина с фибриногеном, а затем растворимые олигомеры фибрина различной длины, на концах которых находятся молекулы фибриногена [3]. Такие комплексы и олигомеры и представляют собой растворимый фибрин. Далее олигомеры удлиняются до протофибрил, которые после достижения критической длины латерально ассоциируют с образованием фибрилл. Последние ветвятся и в конечном счете формируют трехмерную сеть фибрина, которая является каркасом любого тромба. Параллельно с активацией фибриногена тромбин активирует фактор XIII, стабилизирующий фибрин путем формирования межмолекулярных ковалентных связей между периферическими D-доменами соседних молекул [4]. Уже на уровне олигомеров растворимого фибрина происходит активация плазминогена до активного плазмина, который последовательно рас-

щепляет полимерный фибрин с образованием конечных продуктов Е-фрагмента и D-димера [5].

В настоящее время очень мало данных о содержании растворимого фибрина и D-димера в плазме крови при сахарном диабете. Увеличение их концентрации при указанной патологии показано в статьях [6, 7]. Нашей задачей было исследование количественного содержания растворимого фибрина и D-димера в плазме крови больных сахарным диабетом 1 и 2 типов с сосудистыми осложнениями разной степени.

С этой целью было обследовано 59 больных сахарным диабетом 1 и 2 типов, которых распределили на три группы:

I группа состоит из 25 пациентов без осложнений или с функциональными обратимыми нарушениями в виде диабетических ангионейропатий. Это больные 1 типа сахарного диабета с длительностью заболевания не более 5–7 лет. В клинике из осложнений в основном превалируют ангионейропатии нижних конечностей, без органической патологии со стороны почек и глаз и при отсутствии атеросклероза коронарных, церебральных или периферических сосудов.

II группа — из 22 пациентов с осложнениями средней тяжести. Это больные преимущественно 2 типа сахарного диабета в возрасте 40 лет и старше с длительностью основного заболевания от 10 лет и более как с различными микроангиопатиями (ретинопатия и нефропатия), так и с макроангиопатиями. Однако, в отличие от III группы больных с тяжелыми осложнениями, эти поражения с помощью лечения возможно компенсировать и стабилизировать.

III группа — из 12 пациентов с тяжелыми осложнениями сахарного диабета 1 и 2 типов. Длительность диабета у всех обследованных пациентов превышает 15–20 и более лет. У всех без исключения пациентов выявлены тяжелые органические изменения сосудов. У большинства больных выявлена тяжелая ретинопатия со снижением или потерей зрения, нефропатия с гипертензией или почечной недостаточностью.

Контрольную группу составляли 18 здоровых доноров в возрасте 23–50 лет. Кровь для исследования (3 мл) брали из локтевой вены натощак. В качестве антикоагулянта использовали 3,8% водный раствор цитрата натрия с контрикалом в концентрации 200 ед./мл. Кровь смешивали с антикоагулянтом в объемном соотношении 9 : 1 и сразу же центрифугировали при 1500 g в течение 10 мин. Полученную плазму помещали в пробирки и замораживали при -70°C . Количественное определение растворимого фибрина и D-димера в плазме крови проводили с помощью иммуноферментных методов, разработанных в Институте биохимии им. А.В. Палладина НАН Украины и описанных ранее [8, 9]. Полученные результаты обрабатывали методом Вилкоксона–Манна–Уитни с использованием непараметрического критерия U [10].

Результаты исследований представлены в табл. 1. Было найдено, что уже в I группе пациентов с начальными функциональными сосудистыми осложнениями выявлено достоверное увеличение концентрации растворимого фибрина в плазме крови в 5,5 раза по сравнению с контрольной группой, а D-димера — в 2,1 раза. Еще более выраженные изменения наблюдались во II группе обследуемых с сосудистыми осложнениями средней тяжести: растворимый фибрин увеличивался в 12,5 раз по сравнению с контрольной группой, а D-димер — в 3,0 раза. В III группе пациентов растворимый фибрин увеличен в 43,2 раза по сравнению с контрольной группой, а D-димер — в 6,6 раза.

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что при сахарном диабете 1 и 2 типов происходит активация системы свертывания крови, которая проявляется в увеличении

Таблица 1. Средние значения концентрации растворимого фибрина и D-димера в плазме крови здоровых доноров и больных сахарным диабетом с разной степенью сосудистых осложнений

Группа <i>n</i> обследованных пациентов	Растворимый фибрин, мкг/мл	P_U	D-димер, нг/мл	P_U
Доноры, <i>n</i> =18	0,282	—	26,744	—
I, <i>n</i> =25	1,560	< 0,01	55,888	< 0,05
II, <i>n</i> =22	3,527	< 0,001	80,300	< 0,001
III, <i>n</i> =12	12,180	< 0,001	177,425	< 0,001

Примечание. P_U — сравнение с контрольной группой (доноры); непараметрический критерий U , используемый в методе Вилкоксона–Манна–Уитни.

количественного содержания растворимого фибрина и D-димера в плазме крови. Повышение концентрации молекулярных маркеров положительно коррелирует со степенью тяжести сосудистых осложнений у обследованных пациентов с данной патологией.

Таким образом, количественное содержание растворимого фибрина и D-димера в плазме крови может быть важным диагностическим показателем сосудистых поражений при сахарном диабете, которые приводят к развитию сердечно-сосудистых заболеваний, ангионейропатий, ретинопатий, нефропатий и других осложнений [11].

1. Томашевська О. Я., Дзись Є. І., Філіпюк А. Л. Особливості стану системи гемостазу у пацієнтів з метаболічним синдромом // Кровообіг та гемостаз. – 2006. – № 4. – С. 44–48.
2. Амосова Е. Н., Ткаченко Л. А., Клунік М. А. Диабет, предиабет и сердечно-сосудистые заболевания: рекомендации Европейского общества кардиологов и Европейской ассоциации по изучению диабета // Серце і судини. – 2009. – № 1. – С. 27–47.
3. Луговской Э. В., Гриценко П. Г., Луговская Н. Э., Колесникова И. Н., Комисаренко С. В. Молекулярный состав растворимого фибрина и продуктов расщепления фибрина. Методы их количественного определения // Трансфузиология и гематология. – 2006. – № 5. – С. 39–43.
4. Lorand L. Factor XIII: structure, activation, and interactions with fibrinogen and fibrin // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2001. – **936**. – P. 291–311.
5. Gaffney P. J. Fibrin degradation products. A review of structures found *in vitro* and *in vivo* // Ibid. – 2001. – **936**. – P. 594–610.
6. Nwose E. U., Richards R. S., Jelinek H. F., Kerr P. G. D-dimer identifies stages in the progression of diabetes mellitus from family history of diabetes to cardiovascular complications // Pathology. – 2007. – **39**, No 2. – P. 252–257.
7. Tsianos E. B., Stathakis N. E. Soluble fibrin complexes and fibrinogen heterogeneity in diabetes mellitus // Thromb. Haemost. – 1980. – **44**, No 3. – P. 130–134.
8. Луговской Э. В., Колесникова И. Н., Луговская Н. Э. и др. Растворимый фибрин и D-димер при нормально протекающей беременности и при угрозе ее прерывания // Укр. биохим. журн. – 2006. – **78**, № 4. – С. 120–129.
9. Lugovskoy E. V., Gritsenko P. G., Kolesnikova I. N. et al. A neoantigenic determinant in coiled coil region of human fibrin β -chain // Thromb. Res. – 2009. – **123**, No 5. – P. 765–770.
10. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – Киев: Морион, 2001. – 408 с.
11. Єфімов Д. А. Вплив мікрохвильової резонансної терапії на глікозилювання білків крові хворих на діабетичну нефропатію // Ліки України. – 2004. – **12**, № 89. – С. 105–106.

Институт биохимии им. А. В. Палладина

НАН Украины, Киев

Институт эндокринологии и обмена веществ

им. В. П. Комисаренко АМН Украины, Киев

Поступило в редакцию 14.04.2009

Corresponding Member of the NAS of Ukraine **E. V. Lugovskoy, D. A. Efimov, P. G. Gritsenko, I. N. Kolesnikova, N. E. Lugovskaya, L. M. Litvinova, E. P. Kostyuchenko**, Academician of the NAS of Ukraine **A. S. Efimov**, Academician of the NAS of Ukraine **S. V. Komisarenko**

Soluble fibrin and D-dimer as molecular markers of blood vessels complications at diabetes mellitus

It has been shown that concentrations of soluble fibrin and D-dimer increase in blood plasma of patients with type 1 and 2 diabetes mellitus testifying to the activation of the blood coagulation system. The concentration increase of these molecular markers has positive correlation with the degree of blood vessels complications in patients suffering from diabetes mellitus. We have found that the soluble fibrin concentration increased 5.5 times and D-dimer — 2.1 times in the group of patients with initial functional blood vessel complications as compared to control group. In the group of patients with medium vessel complications, the soluble fibrin concentration was 12.5 times higher and D-dimer — 3.0 times higher. Soluble fibrin increased 43.2 times and D-dimer — 6.6 times in the group of patients with the heavy blood heavy complications. Thus, soluble fibrin and D-dimer concentrations in blood plasma of patients suffering with diabetes mellitus are important diagnostic markers of blood heavy complications.