

УДК 616-053.9

ОБЩИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПРИ СОЧЕТАНИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ВЕНОЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ И САХАРНОГО ДИАБЕТА ВТОРОГО ТИПА В ПОЖИЛОМ ВОЗРАСТЕ

Шамараева И.В.

Белгородский государственный университет

Сочетание нескольких хронических заболеваний у пожилых людей составляет проблему гериатрической практики. С целью разработки путей коррекции сочетанной патологии целесообразно изучать состояние нейроиммуноэндокринной системы при различных заболеваниях. В работе проведено исследование молекулярных патологических механизмов при сочетании хронической венозной недостаточности и сахарного диабета второго типа в пожилом возрасте. Исследование подтвердило необходимость учитывать вероятную полиморбидность патологии при разработке программ реабилитации больных пожилого возраста, при практическом прогнозировании и оценке эффективности лечения. Наибольший эффект при этом может быть достигнут при использовании нескольких показателей маркеров иммунного воспаления.

Ключевые слова: молекулярные исследования, полиморбидность, пожилые люди

GENERAL MOLECULAR PATHOLOGICAL MECHANISMS IN THE COMBINATION OF CHRONIC VENOUS INSUFFICIENCY AND TYPE 2 DIABETES MELLITUS IN THE ELDERLY

Shamaraeva I. V.

Belgorod State University

The combination of several chronic diseases in the elderly is a problem of geriatric practice. In order to develop ways to correct the combined pathology, it is advisable to study the state of the neuroimmunoendocrine system in various diseases. The study of molecular pathological mechanisms in the combination of chronic venous insufficiency and type 2 diabetes mellitus in the elderly is carried out. The study confirmed the need to take into account the probable polymorbidity of pathology in the development of rehabilitation programs for elderly patients, in the practical prediction and evaluation of the effectiveness of treatment. The greatest effect in this case can be achieved by using several indicators of markers of immune inflammation

Key words: molecular analysis, polymorbidity, elderly people

Введение. В условиях постарения населения сердечно-сосудистые заболевания являются ведущей причиной смертности населения, составляя 57% от общей смертности. Хроническая венозная недостаточность нижних конечностей (ХВН) является самой распространенной патологией сосудистой системы. В возрастной группе 55-64 года это заболевание находят у 56% человек, у 75% пациентов заболевание сопровождается отеком, у 20% пациентов в возрасте старше 70 лет отмечаются трофические нарушения [Onida S. et al., 2015]. Серьезными проблемами гериатрической практики является полиморбидность. Для пациентов пожилого возраста с ХВН характерно наличие сопутствующего атеросклеротического поражения сосудов, ишемической болезни сердца, артериальной

гипертонии, сахарного диабета, ассоциированного с болезнями глаз и почек [Проццаев К.И., Ильницкий А.Н., 2008].

Цель исследования. Исследовать состояние нейроиммуноэндокринной системы при ХВН и сочетанной патологии ХВН с СД (сахарным диабетом) 2 типа.

Материалы и методы.

В исследование было включено 190 человек пожилого и среднего возраста. Все люди, включенные в исследование, были разделены на несколько групп:

1. Практически здоровые люди (n=64):

1.1. практически здоровые люди среднего возраста (n=31, возраст от 40 до 49 лет, средний возраст 45,2±2,3 года, мужчин – 15 чел., женщин - 16 чел.); 1.2. практически здоровые люди пожилого возраста (n=33, возраст от 60 до 69 лет, средний возраст 64,7±2,2 года, мужчин – 15 чел., женщин - 18 чел.).

2. Пациенты, страдающие ХВН (n=62):

2.1. пациенты среднего возраста, страдающие ХВН: (n=30, возраст от 40 до 49 лет, средний возраст 44,8±2,8 года, мужчин – 13 чел., женщин - 17 чел.); 2.2. пациенты пожилого возраста, страдающие ХВН (n=32, возраст от 60 до 69 лет, средний возраст 64,4±2,4 года, мужчин – 15 чел., женщин - 17 чел.).

Все пациенты в этой группе страдали ХВН класса С2 - С3 (классификация СЕАР, 1994).

3. Пациенты, страдающие ХВН и сахарным диабетом (СД) 2 типа (n=64):

3.1. пациенты среднего возраста, страдающие ХВН и СД 2 типа (n=32) (возраст от 40 до 49 лет, средний возраст 45,2±2,1 года, мужчин – 15 чел., женщин - 17 чел.); 3.2. пациенты среднего возраста, страдающие ХВН и СД 2 типа (n=32, возраст от 60 до 69 лет, средний возраст 65,2±2,2 года, мужчин – 14 чел., женщин - 18 чел.).

Все пациенты в этой группе страдали ХВН класса С2 - С3 (классификация СЕАР, 1994) и СД II типа легкой и средней степени тяжести. ХВН класса С2-С3 диагностировали с использованием клинического и инструментального методов обследования.

Клиническое обследование включало выявление жалоб, анамнез, осмотр определение индекса массы тела, общий анализ крови, общий анализ мочи. В качестве инструментального метода использовали ультразвуковую диагностику в В-режиме, доплеровское исследование. У каждого пациента было получено согласие на проведение данных исследований. Сахарный диабет 2 типа диагностировали по рекомендациями ВОЗ «Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia» (2006).

Исследование выполнялось по двум направлениям:

Первое направление. Исследование цитокинового профиля при ХВН, сочетании ХВН

и СД 2 типа у пациентов разного возраста: изучение содержания в сыворотке крови фактора некроза опухоли альфа (TNF- α), интерлейкинов (IL) IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10.

Второе направление. Исследование в сыворотке крови уровня иммунореактивного инсулина (ИРИ), глюкозы, МДА.

Определение в сыворотке крови уровня цитокинов

Для определения роли нейроиммуноэндокринной системы в развитии ХВН и эффективности проводимой комплексной терапии у больных ХВН и практически здоровых людей из контрольной группы в утреннее время натощак производили забор крови пункционным методом из локтевой вены с помощью широкой иглы в пластиковые пробирки, из которой готовили сыворотку. Полученный субстрат помещали в пробирки типа Eppendorf и хранили при температуре -20 °С до момента проведения анализа. Уровень цитокинов (TNF- α , IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием реактивов ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск на планшетном спектрофотометре Thermo Scientific Multiskan Go.

Биохимические исследования

Содержание глюкозы и ИРИ определяли в сыворотке крови, взятой из локтевой вены в утреннее время натощак (производили забор крови пункционным методом с помощью широкой иглы в пластиковые пробирки, из которой готовили сыворотку). Концентрацию глюкозы в сыворотке крови определяли ферментативным методом на основе глюкозооксидазной реакции с использованием наборов реактивов «Fluitest® GLU» фирмы BioCon (Германия). Содержание ИРИ в сыворотке крови определяли радиоиммунным методом с использованием набора реактивов «рио-ИНС-ПГ-1251» «ХОП ИБОХ НАНБ» (г. Минск, Беларусь) на сцинтилляционном счетчике «WALLAC 1470 WIZARD TM FACIT E 560» (Финляндия). Уровень ПОЛ оценивали по содержанию в свежеприготовленной сыворотке крови МДА. В основе метода лежит реакция между МДА и тиобарбитуровой кислотой, которая при высокой температуре и кислом значении pH протекает с образованием окрашенного триметинового комплекса, содержащего одну молекулу МДА и две молекулы тиобарбитуровой кислоты. Максимум поглощения комплекса приходится на 532 нм. По оптической плотности образующихся продуктов судили о содержании МДА.

Статистическая обработка результатов

Статистическую обработку материала выполняли на персональном компьютере в статистических программных пакетах Microsoft Excel, Statistica 6.0. При статистическом анализе материала выполняли расчет интенсивных и экстенсивных показателей средних величин, определяли достоверность различий средних и относительных величин по t-критерию Стьюдента. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждения.

По данным исследования было установлено, что уровень TNF- α в сыворотке крови существенно зависит от наличия ХВН и сопутствующего СД2. Достоверно показано ($p < 0,05$), что увеличение этого показателя при ХВН по сравнению с группой контроля не превышает исходный уровень более чем в 1,5 раза и не зависит от возрастной группы пациента. Уровень TNF- α в сыворотке крови у пожилых людей, страдающих ХВН, составил $109,0 \pm 4,5$ пг/мл против $105,6 \pm 4,4$ пг/мл у людей среднего возраста ($p > 0,05$), при сочетании ХВН СД 2 типа – соответственно $154,0 \pm 5,9$ пг/мл и $135,0 \pm 5,5$ пг/мл ($p < 0,05$) соответственно (рис. 1).

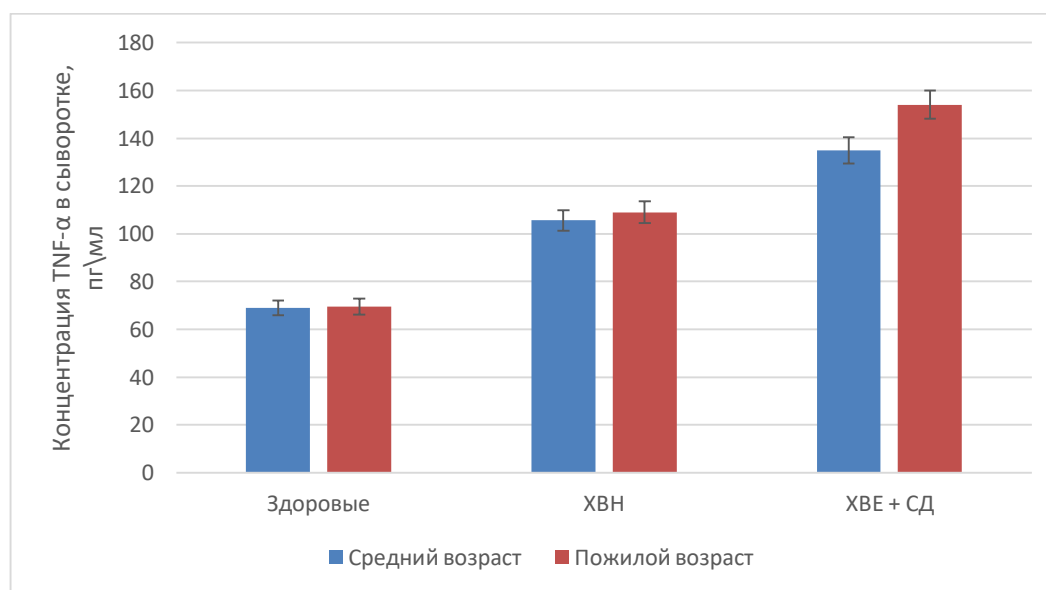


Рисунок 1. Зависимость уровня TNF- α в сыворотке крови больных ХВН от возраста и сопутствующего СД 2 типа.

Достоверно установлено, что концентрация IL-1 β в сыворотке крови примерно в 1,5 раза превосходит контрольный уровень у здоровых людей пожилого возраста и примерно на треть выше у людей среднего возраста по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Уровень IL-1 β в сыворотке крови при увеличении полиморбидности за счет присоединения СД 2 типа достоверно ($p < 0,05$) увеличивается по сравнению с пациентами, страдающими только ХВН. Существенно, что как у здоровых людей, так и у пациентов с ХВН и ХВН + СД2 типа уровень этой сигнальной молекулы практически не отличается у людей среднего и пожилого возраста при сравнении показателей в соответствующих группах ($p > 0,05$). Так, уровень IL-1 β в сыворотке крови у пожилых людей, страдающих ХВН, составил $290,4 \pm 29,4$ пг/мл против $189,2 \pm 22,3$ пг/мл у относительно здоровых людей ($p < 0,05$), при переходе к ХВН + СД 2 типа – $394,8 \pm 36,6$ пг/мл ($p < 0,05$); у людей среднего возраста – $240,5 \pm 25,5$ пг/мл и $185,0 \pm 22,0$ пг/мл и $350,0 \pm 32,2$ пг/мл соответственно ($p < 0,05$). Отсутствие достоверных различий в концентрации IL-1 β в сыворотке крови у людей среднего и пожилого возраста не позволяет

рассматривать этот показатель как фактор различий в активации провоспалительной системы в ходе старения организма. В тоже время, можно полагать, что концентрация IL-1 β , как одного из ключевых агентов иммунного воспаления, при ХВН и сочетании ХВН с СД 2 типа может служить дополнительным индикатором хронического воспалительного процесса.

При изучении цитокинового профиля сыворотки крови людей пожилого возраста, которые страдают ХВН, установлено что уровень IL-4 достоверно отличается от контрольных значений в группе сравнения. Содержание IL-4 в сыворотке крови у здоровых людей среднего возраста составило 7,8 \pm 1,3 пг/мл. Нарастание полиморбидности приводит к достоверному ($p < 0,05$) нарастанию степени интерлейкинемии по показателю IL-4. Так, у больных среднего возраста с ХВН уровень IL-4 в сыворотке крови составил 14,3 \pm 1,7 пг/мл, у больных с ХВН и СД 2 типа уровень этой молекулы в сыворотке крови составил 20,6 \pm 1,9 пг/мл.

Дальнейшее нарастание полиморбидности приводило к достоверному ($p < 0,05$) нарастанию степени интерлейкинемии по показателю IL-4. У больных пожилого возраста с ХВН и СД 2 типа уровень этой молекулы в сыворотке крови составил 15,5 \pm 1,6 пг/мл. Важно отметить, что достоверно более низкий уровень ($p < 0,05$) IL-4 в сыворотке крови у людей пожилого возраста в сравнении с людьми среднего возраста наблюдался во всех изученных случаях (как при монопатологии ХВН, так и при полиморбидной патологии).

При исследовании цитокинового профиля сыворотки крови людей пожилого возраста, которые страдают ХВН, установлено что уровень IL-6 существенно зависит от стадии заболевания. Концентрация IL-6 в сыворотке крови у здоровых людей среднего возраста составила 6,7 \pm 1,2 пг/мл. При изолированном течении ХВН не происходило достоверного увеличения содержания данной сигнальной молекулы в сыворотке крови, показатель составил 7,3 \pm 1,3 пг/мл ($p > 0,05$ по сравнению со здоровыми людьми среднего возраста). Дальнейшее же нарастание полиморбидности приводило к достоверному ($p < 0,05$) нарастанию степени интерлейкинемии по показателю IL-6. Так, у больных среднего возраста с ХВН и СД 2 типа уровень этой молекулы в сыворотке крови составил 12,5 \pm 1,8 пг/мл. Содержание IL-6 в сыворотке крови у здоровых людей пожилого возраста составило 6,8 \pm 1,2 пг/мл. При изолированном течении ХВН имело место достоверное увеличение содержания данной сигнальной молекулы в сыворотке крови до 9,8 \pm 1,4 пг/мл ($p < 0,05$ по сравнению со здоровыми пожилыми людьми). Дальнейшее нарастание полиморбидности приводило к достоверному ($p < 0,05$) нарастанию степени интерлейкинемии по показателю IL-6. У больных пожилого возраста с ХВН и ИБС уровень этой молекулы в сыворотке крови составил 17,3 \pm 2,0 пг/мл. При этом достоверные отличия в сравнении со средним возрастом наблюдались только при ХВН и СД 2 типа ($p < 0,05$). В случае монопатологии ХВН отличия

были недостоверными ($p > 0,05$). Характерно, что значимые различия в уровне IL-6 проявляются только при сочетании ХВН+СД 2 типа. Этот факт прямо указывает на взаимосвязь между возрастом (средним или пожилым) и характером влияния полиморбидности на уровень цитокина. Такая динамика изменения концентрации IL-6 в сыворотке, по-видимому, отражает дуализм регулирующего влияния этого медиатора на иммунное воспаление при ХВН: с одной стороны – подавление, с другой – активация. Учитывая существенные значимые ($p < 0,05$) различия в уровне IL-6 в сыворотке крови, цитокинэмию по IL-6 возможно использовать как дополнительный маркер иммунного воспаления при ХВН.

При исследовании цитокинового профиля сыворотки крови людей пожилого возраста, которые страдают ХВН, установлено, что уровень IL-8 существенно зависит от наличия сопутствующего СД 2 типа. Содержание IL-8 в сыворотке крови у здоровых людей пожилого возраста составило $5,1 \pm 0,6$ пг/мл. Этот показатель достоверно ($p < 0,05$) выше, чем у людей среднего возраста. При изолированном течении ХВН имело место достоверное увеличение содержания данной сигнальной молекулы в сыворотке крови до $9,6 \pm 1,3$ пг/мл ($p < 0,05$ по сравнению со здоровыми пожилыми людьми). Дальнейшее нарастание полиморбидности приводило к достоверному ($p < 0,05$) нарастанию степени интерлейкинэмии по показателю IL-8. У больных пожилого возраста с ХВН и СД 2 типа уровень этой молекулы в сыворотке крови составил $16,7 \pm 1,7$ пг/мл. Важно отметить, что достоверно более высокий уровень ($p < 0,05$) IL-8 в сыворотке крови у людей пожилого возраста в сравнении с людьми среднего возраста наблюдался во всех изученных случаях (как при монопатологии ХВН, так и при полиморбидной патологии). Учитывая существенные значимые ($p < 0,05$) различия в уровне IL-8 в сыворотке крови, цитокинэмию по IL-8 возможно использовать как дополнительный маркер ХВН и ХВН в сочетании с СД 2 типа (табл. 1).

Таблица 1

*Зависимость уровня IL-8 в сыворотке крови больных ХВН
 пожилого и среднего возраста от степени полиморбидности*

Исследуемый показатель	Возраст	Уровень сигнальных молекул в сыворотке крови		
		здоровые	ХВН	ХВН + СД
IL-8, пг/мл	Средний	$3,7 \pm 0,5$	$6,2 \pm 1,0^*$	$10,8 \pm 1,5^{*,\#}$
	Пожилый	$5,1 \pm 0,6$	$9,6 \pm 1,3^*$	$16,7 \pm 1,7^{*,\#}$

* $p < 0,05$ по сравнению со здоровыми людьми;

[#] $p > 0,05$ по сравнению с пациентами с ХВН.

При исследовании цитокинового профиля сыворотки крови людей пожилого и среднего возраста, которые страдают ХВН, установлено, что уровень IL-10 существенно зависит от наличия сопутствующего СД 2 типа. Так, в сыворотке крови у здоровых людей среднего возраста он составил $2,1 \pm 0,4$ пг/мл. Нарастание полиморбидности приводит к достоверному ($p < 0,05$) нарастанию степени интерлейкинемии по показателю IL-10. Так, у больных среднего возраста с ХВН уровень IL-10 в сыворотке крови составил $6,3 \pm 1,1$ пг/мл, у больных с ХВН и СД 2 типа уровень этой молекулы в сыворотке крови составил $9,7 \pm 1,4$ пг/мл.

Содержание IL-10 в сыворотке крови у здоровых людей пожилого возраста составило $1,4 \pm 0,2$ пг/мл. Этот показатель достоверно ($p < 0,05$) ниже, чем у людей среднего возраста. При изолированном течении ХВН имело место достоверное увеличение содержания данной сигнальной молекулы в сыворотке крови до $3,4 \pm 1,0$ пг/мл ($p < 0,05$ по сравнению со здоровыми пожилыми людьми). Дальнейшее нарастание полиморбидности приводило к достоверному ($p < 0,05$) нарастанию степени интерлейкинемии по показателю IL-10. У больных пожилого возраста с ХВН и СД 2 типа уровень этой молекулы в сыворотке крови составил $7,0 \pm 1,2$ пг/мл.

Существенно, что достоверно более низкий уровень ($p < 0,05$) IL-10 в сыворотке крови у людей пожилого возраста по сравнению с людьми среднего возраста наблюдался во всех изученных случаях (как при монопатологии ХВН, так и при полиморбидной патологии). Очевидно, что экспрессия IL-10 при ХВН недостаточна и не позволяет в достаточной мере ингибировать сверхпродукцию TNF- α и, таким образом, вызвать торможение процессов воспаления эндотелия сосудов нижних конечностей.

Дальнейшее нарастание полиморбидности приводило к достоверному ($p < 0,05$) нарастанию степени интерлейкинемии по показателю IL-10. У больных пожилого возраста с ХВН и СД 2 типа уровень этой молекулы в сыворотке крови составил $9,6 \pm 1,3$ пг/мл. Важно отметить, что достоверно более низкий уровень ($p < 0,05$) IL-10 в сыворотке крови у людей пожилого возраста по сравнению с людьми среднего возраста наблюдался во всех изученных случаях (как при монопатологии ХВН, так и при полиморбидной патологии).

Исследование уровня глюкозы в сыворотке крови людей пожилого и среднего возраста с диагнозом ХВН показало отсутствие существенных различий, однако присоединение СД 2 типа приводит к достоверному увеличению этого показателя (табл. 2).

Таблица 2

Зависимость уровня глюкозы в сыворотке крови больных ХВН пожилого и среднего возраста от степени полиморбидности

Исследуемый	Возраст	Уровень сигнальных молекул в сыворотке крови
-------------	---------	--

показатель		здоровые	ХВН	ХВН + СД
Глюкоза, ммоль/л	Средний	4,5±0,4	4,7±0,5*	9,9±0,7 [#]
	Пожилой	4,4±0,4 ^o	4,6±0,5*, ^o	9,7±0,7 ^{#, o}

* p>0,05 по сравнению со здоровыми людьми;

[#]p<0,05 по сравнению с пациентами с ХВН;

^op>0,05 по сравнению с пациентами среднего возраста.

Установлено, что уровень МДА в сыворотке крови людей пожилого и среднего возраста с диагнозом ХВН существенно не отличается, однако присоединение СД 2 типа приводит к достоверному увеличению этого показателя (табл. 3).

Таблица 3

Зависимость уровня МДА в сыворотке крови больных ХВН пожилого и среднего возраста от степени полиморбидности

Исследуемый показатель	Возраст	Уровень сигнальных молекул в сыворотке крови		
		здоровые	ХВН	ХВН + СД
МДА, мкМ/л	Средний	1,60±0,15	1,80±0,16*	2,60±0,22 [#]
	Пожилой	1,79±0,16 ^o	1,96±0,17*, ^o	2,75±0,23 ^{#, o}

* p>0,05 по сравнению со здоровыми людьми;

[#]p<0,05 по сравнению с пациентами с ХВН;

^op>0,05 по сравнению с пациентами среднего возраста.

Таким образом, исследование показало, что при разработке программ реабилитации больных пожилого возраста с диагнозом ХВН необходимо учитывать вероятную полиморбидность патологии. При практическом прогнозировании и оценке эффективности лечения ХВН и ХВН в сочетании с СД 2 типа у больных пожилого возраста целесообразно использовать дополнительные маркеры – концентрацию цитокинов в сыворотке крови. Наибольший эффект может быть достигнут при использовании нескольких показателей. Полученные экспериментальные данные могут быть экстраполированы в практическое здравоохранение, а также в экспериментальную медицину с целью дальнейшего изучения патогенеза ХВН.

Список использованных источников и литературы:

1. Патрухин А.П. Плейотропные эффекты комплексной терапии в коррекции полиморбидных состояний у людей пожилого возраста / А.П. Патрухин, И.А. Павлова и др. // Актуальные вопросы геронтологии и гериатрии: научн. конф. молодых ученых с междунар. участием, посв. памяти акад. В.В. Фролькиса, 25 января 2013 г., г. Киев: тез. докл. / ГУ «Институт геронтологии имени Д.Ф. Чеботарева НАМН Украины. - К., 2013.

2. Проццаев К.И. Молекулярная диагностика тяжести, прогноза течения и эффективности фармакотерапии при полиморбидной соматической патологии в пожилом возрасте / К.И. Проццаев, Т.В. Кветная, А.Н. Ильницкий и др. // Фармакология, фармацевтическая технология и фармакотерапия в обеспечении активного долголетия: I Международ. науч.-практ. конф., 4-5 апреля 2013 г., г. Киев: тез. докл. / Геронтологический журнал им. В.Ф. Купревича. - 2013. - Т. 4, № 1-2, С. 37-38.

3. Проццаев К.И. Статус противовоспалительной системы организма при биофлавоноидной терапии хронической венозной недостаточности у людей пожилого возраста / К.И. Проццаев, В.И. Бессарабов, Н.П. Здерко, и др. // Технологические и биофармацевтические аспекты создания лекарственных препаратов разной направленности действия: материалы II Международ. науч.-пр. интернет-конф. , 12-13 ноября 2015 г., г. Харьков. – Х.: Изд-во НФаУ, 2015. – С. 368-369.

4. Шамараева И.В. Компьютерный прогноз возможных плеiotропных эффектов препарата мофф диосмин + гесперидин методами виртуальной хемогеномики / И.В. Шамараева, И.П. Пономарева, К.И. Проццаев, В.И. Бессарабов // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 4.