

Л.А. Могильницька

## ВМІСТ ФІБРОНЕКТИНУ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2-ГО ТИПУ ТА ОЖИРІННЯ

*Хмельницька обласна лікарня, Хмельницький*

### ВСТУП

Ураження судин – мікро- та макроангіопатії є основною причиною інвалідизації та смерті хворих на цукровий діабет [5]. Ендотеліальна дисфункція – ранній і важливий етап розвитку діабетичних ангіопатій [19]. Функціональний стан ендотелію характеризується, з одного боку, ендотелій-залежною релаксацією, з іншого – вмістом ендотеліальних вазоактивних чинників у сироватці крові. Концентрація циркулюючого клітинного фібрoneктину може бути одним із маркерів ендотеліальної активації.

Фібрoneктин – це глікопротеїн, що міститься у плазмі, екстрацелюлярному матриксі, на поверхні клітин. Він сприяє взаємодіям "клітина-клітина", "клітина-екстрацелюлярний матрикс", бере участь у формуванні та реконструкції тканин [8]. Різні функціонально активні ділянки молекули фібрoneктину кодуються одним геном, а різницю у первинній структурі обумовлено альтернативним сплайсингом первинної м-РНК [9]. Більшість плазмовеого фібрoneктину синтезується у печінці і не має екстрадоменового сегмента. Фібрoneктин субендотеліального шару та матриксу сполучної тканини продукується локально ендотеліальними, гладеньком'язовими клітинами та фібробластами і часто містить структурний екстрадомен типу 3 – ED-A [20]. Зазвичай 1-2% загального фібрoneктину плазми – це клітинний фібрoneктин.

Підвищення рівня фібрoneктину спостерігається за ревматоїдного артриту, колагенозів, еклампсії, гострої травми, сепсису, тромбозу, тромбоцитопенічної пурпури [7, 12, 16, 17]. Ці спостереження вказують на те, що внутрішньоклітинне накопичення клітинного фібрoneктину відображає ураження кровеносних судин. Ураження судинної стінки з характерними змінами ендотеліального екстрацелюлярного матриксу відбуваються також і за цукрового діабету. Накопичення протеїнів у субендотеліальному матриксі у хворих на цукровий діабет на мікропрепаратах мають вигляд скупчень Шифф-позитив-

них речовин, що містять ламінін, колаген IV типу, фібрoneктин [3]. Отже, вміст фібрoneктину в плазмі крові може відображати зміни матриксу та ураження судинної стінки у хворих на цукровий діабет.

Метою нашого дослідження було вивчення вмісту фібрoneктину в сироватці крові хворих на цукровий діабет 2-го типу з різною масою тіла та осіб з ожирінням.

### МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ

Обстежено 108 осіб, серед них 64 хворих на цукровий діабет 2-го типу, яких розподілили на такі групи: 32 пацієнти з ожирінням і 32 – з нормальною масою тіла, 44 особи без цукрового діабету, серед них 22 особи з нормальною масою тіла та 22 особи з ожирінням.

Діагноз цукрового діабету 2-го типу встановлювали згідно з критеріями ВООЗ (1999). Пацієнтам з ожирінням із метою виключення цукрового діабету та порушення толерантності до глюкози проводили стандартний тест толерантності до глюкози. Для встановлення діагнозу ожиріння визначали індекс маси тіла (ІМТ) та окружність талії. Ожиріння діагностували за ІМТ > 30 кг/м<sup>2</sup>. Окружність талії в осіб ожирінням складала > 80 см у жінок і > 94 см у чоловіків, що було підставою для встановлення діагнозу ожиріння центрального типу [2].

До дослідження не включали пацієнтів, які отримували препарати, здатні впливати на функціональний стан ендотелію, а саме: гіполіпідемічні засоби, інгібітори ангіотензинперетворюючого ферменту, блокатори рецепторів до ангіотензину II, блокатори кальцієвих каналів, нітрати, гормональні контрацептивні засоби, препарати замісної гормональної терапії.

Глікемію визначали натще безпосередньо у тих зразках венозної крові, які використовували для подальших досліджень. Також досліджували рівень глікованого гемоглобіну та ліпідний спектр крові. Дані наведено у таблиці 1.

Визначення рівня фібрoneктину здійснюва-

Клініко-лабораторна характеристика обстежених

Показник	Хворі на цукровий діабет з ожирінням	Пацієнти з ожирінням	Хворі на цукровий діабет із нормальною масою тіла	Особи з нормальною масою тіла
n	32	22	32	22
Вік, роки	52,56±7,66	51,31±5,42	53,25±5,52	50,81±6,80
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	36,51±3,75	36,38±3,49	23,1±2,41	22,73±1,85
Глікемія натще, ммоль/л	9,71±2,25	4,6±0,89	9,61±2,83	4,65±0,80
Глікований гемоглобін, %	9,9±1,72	5,74±0,34	9,41±2,29	5,25±0,44
Загальний холестерин, ммоль/л	6,61±1,66	6,13±1,69	6,3±1,61	3,83±0,66
Ліпопротеїни високої щільності, ммоль/л	0,98±0,15	0,99±0,11	1,08±0,20	1,4±0,2
Ліпопротеїни низької щільності, ммоль/л	3,7±0,8	3,5±0,4	3,2±0,8	2,3±0,2
Тригліцериди, ммоль/л	2,75±0,81	2,36±0,57	2,34±0,79	1,66±0,30

лі імуноферментним методом із використанням сорбційних колонок Amprer (Amersham Lifesilence) та тест-систем Amersham pharmacia biotech (Велика Британія). Дослідження проводили на площковому ELISA-аналізаторі Stat Fax-303 Plus (США).

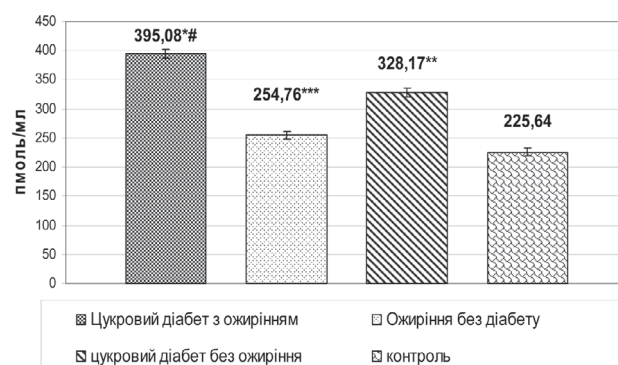
Статистичну обробку даних виконували методами варіаційної та описової статистики за допомогою стандартного пакета статистичного розрахунку даних програми Microsoft Excel 2003. Вірогідність відмінностей визначали за критерієм t Стюдента. Різницю вважали вірогідною за  $p < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Вміст фібрoneктину в сироватці крові хворих на цукровий діабет 2-го типу з ожирінням складав  $395,1 \pm 44,1$  пмоль/мл, у сироватці крові хворих на цукровий діабет із нормальною масою тіла –  $328,17 \pm 39,82$  пмоль/мл. У групі осіб з ожирінням без цукрового діабету сироватковий рівень фібрoneктину склав  $254,76 \pm 34,7$  пмоль/мл, в осіб без цукрового діабету з нормальною масою тіла –  $225,64 \pm 33,93$  пмоль/мл.

Отже, найвищим рівень фібрoneктину виявився у групі хворих на цукровий діабет 2-го типу з ожирінням, найнижчим – у групі осіб без цукрового діабету з нормальною масою тіла, різниця у даному показнику між цими групами

склала 55,07% і була статистично вірогідною ( $p < 0,05$ ). Рівень фібрoneктину в сироватці крові хворих на цукровий діабет 2-го типу з нормальною масою тіла був вірогідно більшим на 45,43% за такий в осіб із нормальною масою тіла без цукрового діабету ( $p < 0,05$ ; рис. 1).



**Рис. 1.** Вміст фібрoneктину в сироватці крові хворих на цукровий діабет 2-го типу та осіб з ожирінням. Вірогідна різниця: \* – між групами хворих на цукровий діабет з ожирінням та пацієнтами з ожирінням без діабету; \*\* – між групою хворих на цукровий діабет із нормальною масою тіла та групою контролю; # – між групами хворих на цукровий діабет з ожирінням і хворих на цукровий діабет із нормальною масою тіла; \*\*\* – між групами пацієнтів з ожирінням без діабету та контрольною.

Отже, вміст фібрoneктину був вірогідно більшим у групах хворих на цукровий діабет як з ожирінням, так і з нормальною масою тіла порівняно з відповідними групами осіб без діабету. Тобто, цукровий діабет 2-го типу супроводжується підвищенням вмісту фібрoneктину в сироватці крові.

Можна зробити припущення, що у підвищенні вмісту фібрoneктину певну роль відіграє гіперглікемія, що підтвердилося даними кореляційного аналізу. Виявлено статистично вірогідний прямий кореляційний зв'язок між глікемією натще, рівнем глікованого гемоглобіну та вмістом фібрoneктину в сироватці крові. У групі хворих на цукровий діабет з ожирінням коефіцієнти кореляції для цих показників склали  $r=0,408$  і  $r=0,4$  відповідно ( $p<0,05$ ). У групі осіб з ожирінням без цукрового діабету кореляційного зв'язку між вказаними показниками не встановлено.

Для групи хворих на цукровий діабет із нормальною масою тіла теж знайдено вірогідний прямий кореляційний зв'язок між глікемією натще, рівнем глікованого гемоглобіну на момент обстеження та вмістом фібрoneктину в сироватці крові:  $r=0,60$  і  $r=0,72$  відповідно ( $p<0,05$ ). У групі осіб із нормальною масою тіла без цукрового діабету кореляційного зв'язку між рівнем глікованого гемоглобіну та вмістом фібрoneктину не виявлено.

Також відзначено вірогідно більший вміст фібрoneктину в сироватці крові пацієнтів з ожирінням без цукрового діабету порівняно з особами з нормальною масою тіла без цукрового діабету на 12,9% ( $p<0,05$ ). Для хворих на цукровий діабет 2-го типу виявлено статистично більший на 20,38% рівень фібрoneктину у пацієнтів з ожирінням порівняно з хворими з нормальною масою тіла ( $p<0,05$ ).

Отже, виявлено вірогідно більший рівень фібрoneктину в групах людей з ожирінням як із цукровим діабетом, так і без нього, порівняно з відповідними групами з нормальною масою тіла. Це вказує на те, що ожиріння також викликає підвищення рівня фібрoneктину незалежно від наявності або відсутності цукрового діабету.

Це припущення було підтверджено даними кореляційного аналізу: виявлено статистично вірогідний прямий кореляційний зв'язок між вмістом фібрoneктину в сироватці крові та індексом маси тіла. У групі хворих на цукровий діабет з ожирінням коефіцієнт кореляції склав  $r=0,58$  ( $p<0,05$ ), для пацієнтів з ожирінням без

цукрового діабету –  $r=0,57$  ( $p<0,05$ ). У групі осіб із нормальною масою тіла без діабету, а також в групі хворих на цукровий діабет із нормальною масою тіла кореляційного зв'язку між вказаними показниками не спостерігалось.

Підвищення рівня фібрoneктину в сироватці крові хворих на цукровий діабет 2-го типу з ожирінням і нормальною масою тіла, а також пацієнтів з ожирінням без діабету може бути пов'язано з дисліпідемією, що її було виявлено у цих групах. Це також підтверджено результатами кореляційного аналізу.

Виявлено вірогідний прямий кореляційний зв'язок між рівнями загального холестерину, тригліцеридів і вмістом фібрoneктину в сироватці крові. У групі хворих на цукровий діабет 2-го типу з ожирінням коефіцієнти кореляції склали  $r=0,49$  і  $r=0,57$  відповідно ( $p<0,05$ ), у групі пацієнтів з ожирінням без цукрового діабету –  $r=0,59$  і  $r=0,71$  відповідно ( $p<0,05$ ), у групі хворих на цукровий діабет 2-го типу з нормальною масою тіла –  $r=0,62$  і  $r=0,46$  відповідно ( $p<0,05$ ).

Знайдено також вірогідний зворотний кореляційний зв'язок між рівнем ліпопротеїнів високої щільності та вмістом фібрoneктину в сироватці крові. У групі хворих на цукровий діабет 2-го типу з ожирінням коефіцієнт кореляції склав  $r=-0,53$  ( $p<0,05$ ), у групі пацієнтів з ожирінням без цукрового діабету –  $r=-0,31$  ( $p<0,05$ ), у групі хворих на цукровий діабет 2-го типу з нормальною масою тіла –  $r=-0,63$  ( $p<0,05$ ).

Отже, виявлені кореляційні зв'язки між глікемією натще, рівнем глікованого гемоглобіну, індексом маси тіла, показниками ліпідного спектра та вмістом фібрoneктину в сироватці крові доводять вплив гіперглікемії, ожиріння та дисліпідемії на підвищення рівня фібрoneктину у хворих на цукровий діабет 2-го типу з різною масою тіла та в осіб з ожирінням без діабету, що у свою чергу відображає розвиток ендотеліальної дисфункції на тлі цих патологічних станів.

У фізіологічних умовах основними компонентами ендотеліального білкового матриксу є мембранні протеїни, такі як колаген IV типу, ламінін. Також виявляється значна кількість фібрoneктину, але без структурних доменів ED-A та ED-B [8]. Після експериментального видалення ендотелію судин спостерігається швидке (24-48 год.) підвищення експресії мРНК фібрoneктину та ED-A-, ED-B-позитивних його ізоформ. Ця експресія зберігається також після відновлення ендотелію [4]. Такі зміни експресії ED-A,

ED-B-варіантів фібрoneктину регулюються альтернативним сплайсингом і пояснюють її підвищення за різних патологічних станів [11]. Отже, підвищення рівня фібрoneктину в сироватці крові хворих на цукровий діабет із різною масою тіла може пояснюватися порушенням цілісності ендотелію.

З іншого боку, відомо, що за цукрового діабету відбувається підвищення вмісту різних матричних протеїнів [3]. Дрібні артерії містять більше фібрoneктину та ламініну. За діабетичної ретинопатії спостерігається підвищення синтезу ED-A фібрoneктину та незначна пасивна акумуляція вже наявного в екстрацелюлярному матриксі фібрoneктину [14, 15]. Поляризація фібрoneктину та утворення його нерозчинних форм в екстрацелюлярному матриксі унеможлиблює його подальший вихід у кровоносне русло. Хоча апікальна та базальна стимуляція через трансформацію чинника росту бета 1 підвищує синтез фібрoneктину, секреторна відповідь залежить від поверхні, де проходить ця стимуляція. Апікальна секреція фібрoneктину та експресія мРНК підвищуються лише після апікальної стимуляції [13]. Порушення поляризації за цукрового діабету можуть викликати підвищення рівня фібрoneктину в сироватці крові, що і було виявлено у даному дослідженні.

Наразі відомо декілька маркерів мікроангіопатії за цукрового діабету: мікроальбумінурія, підвищення рівня чинника Віллебранда, адгезійних молекул, порушення ендотелій-залежної вазодилатації. Проте ці маркери не є специфічними для діабетичної мікроангіопатії, адже виявляються також на тлі атеросклерозу без цукрового діабету. Роль цих чинників як предикторів смерті від кардіоваскулярної патології є обмеженою.

Є свідчення, що рівень фібрoneктину значно більший у хворих на цукровий діабет, ніж в осіб із вираженим атеросклерозом [10]. Це може вказувати на додаткові патофізіологічні механізми ендотеліальної активації. Адже підвищення рівня фібрoneктину спостерігається на тлі таких неатеросклеротичних судинних уражень, як васкуліти, еклампсія, гостра травма, сепсис, тромбоцитопенічна пурпура. Отже, підвищення рівня фібрoneктину може вказувати на спільні з цими станами патофізіологічні механізми активації ендотеліальних клітин, що не властиві атеросклеротичному процесу без діабету.

В основі додаткового механізму ендотеліальної активації може лежати такий патологічний стан, як інсулінорезистентність, що є компонентом цукрового діабету 2-го типу, але не завжди присутня за атеросклерозу, хоча і сприяє останньому. Інсулінорезистентність також відзначається у більшості осіб з ожирінням навіть без діагностованого цукрового діабету 2-го типу [1].

За нашими даними, рівень фібрoneктину був більшим у хворих на цукровий діабет 2-го типу з ожирінням порівняно з хворими на цукровий діабет 2-го типу з нормальною масою тіла. У пацієнтів з ожирінням без цукрового діабету вміст фібрoneктину був більшим, ніж в осіб із нормальною масою тіла без діабету. Отримані результати, а також дані кореляційного аналізу, що виявили зв'язок між рівнем фібрoneктину в сироватці крові та індексом маси тіла, можуть підтверджувати роль ожиріння в активації ендотеліальних клітин, розвитку ендотеліальної дисфункції та атеросклерозу.

Отже, можна вважати, що вміст фібрoneктину є маркером ендотеліальної дисфункції, специфічним для інсулінорезистентних станів, таких як цукровий діабет та ожиріння.

## ВИСНОВКИ

1. Цукровий діабет 2-го типу супроводжується підвищенням рівня фібрoneктину в сироватці крові в осіб як з ожирінням, так і з нормальною масою тіла.
2. Кореляційний зв'язок між вмістом фібрoneктину в сироватці крові та глікемією і рівнем глікованого гемоглобіну свідчить про участь гіперглікемії у посиленій продукції фібрoneктину за цукрового діабету 2-го типу.
3. Рівень фібрoneктину в сироватці крові більший у пацієнтів з ожирінням, хворих на цукровий діабет і без діабету, порівняно з цим показником в осіб із нормальною масою тіла, а підвищення вмісту фібрoneктину в сироватці крові пов'язано з індексом маси тіла.
4. Кореляційний зв'язок між вмістом фібрoneктину в сироватці крові та показниками ліпідного спектра крові свідчить про участь дисліпідемії у посиленні продукції фібрoneктину у хворих на цукровий діабет 2-го типу незалежно від маси тіла, а також у пацієнтів з ожирінням без діабету.
5. Рівень фібрoneктину може бути маркером ендотеліальної активації за цукрового діабету 2-го типу та ожиріння.

## ЛІТЕРАТУРА

1. *Лысенко В.А., Маньковский Б.Н.* Содержание инсулина в плазме крови и чувствительность к нему тканей у больных с впервые выявленным сахарным диабетом 2 типа // *Врачебное дело.* – 2000. – №6. – С. 46-49.
2. *Alberti K.G., Zimmet P., Shaw J.* The metabolic syndrome: a new worldwide definition // *Lancet.* – 2011. – Vol. 366. – P. 1059-1062.
3. *Andresen J.L., Rasmussen L., Ledet T.* Diabetic macroangiopathy and atherosclerosis // *Diabetes.* – 2006. – Vol. 45, suppl. 1. – P. 91-94.
4. *Bauters C., Marotte F., Hamon M. et al.* Accumulation of fetal fibronectin mRNAs after balloon denudation of rabbit arteries // *Circulation* – 2005. – Vol. 92. – P. 904-911.
5. *Caballero A.E., Arora S., Saouaf R. et al.* Microvascular and macrovascular reactivity is reduced in subjects at risk for type 2 diabetes // *Diabetes.* – 2010. – Vol. 48. – P. 1856-1862.
6. *Fijnheer R., Frijns C.J., Korteweg J. et al.* The origin of P-selectin as a circulating plasma protein // *Thromb. Haemost.* – 2007. – Vol. 77. – P. 1081-1085.
7. *Friedman S.A., de Groot C., Taylor R., Golditch B., Roberts J.M.* Plasma cellular fibronectin as a measure of endothelial involvement in preeclampsia and intrauterine growth retardation // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2010. – Vol. 170. – P. 838-841.
8. *Hynes R.O.* Fibronectins // *Sci. Am.* – 2006. – Vol. 254. – P. 42-51.
9. *Hynes R.O.* Molecular biology of fibronectin // *Ann. Rev. Cell. Biol.* – 2005. – Vol. 1. – P. 67-90.
10. *Kanters S.D., Banga J.D., Algra A., et al.* Plasma Levels of Cellular Fibronectin in Diabetes // *Diabetes Care.* – 2011. – Vol. 24. – P. 323-327.
11. *Kornblihtt A.R., Pesce C.G., Alonso C.R. et al.* The fibronectin gene as a model for splicing and transcription studies // *FASEB J.* – 2011. – Vol. 10. – P. 248-257.
12. *Peters J.H., Sporn L.A., Ginsberg M.H., Wagner D.D.* // Human endothelial cells synthesize, process, and secrete fibronectin molecules bearing an alternatively spliced type II homology (ED1) // *Blood.* – 2010. – Vol. 75. – P. 1801-1808.
13. *Peters J.H., Maunder R.J., Woolf A.D., Cochrane C.G., Ginsberg M.H.* Elevated plasma levels of ED1 ("cellular") fibronectin in patients with vascular injury // *J. Lab. Clin. Med.* – 2007. – Vol. 113. – P. 586-597.
14. *Peters D.M.P., Mosher D.F.* Localization of cell surface sites involved in fibronectin fibrillogenesis // *J. Cell. Biol.* – 2006. – Vol. 104. – P. 121-130.
15. *Spirin K.S., Saghizadeh M., Lewin S.L. et al.* Basement membrane and growth factor gene expression in normal and diabetic human retinas // *Curr. Eye. Res.* – 2007. – Vol. 18. – P. 490-499.
16. *Van der Plas R.M., Schiphorst M.E., Huizinga E.G. et al.* Von Willebrand factor proteolysis is deficient in classis, but not in bone marrow transplantation-associated, thrombotic thrombocytopenic purpura // *Blood.* – 2007. – Vol. 93. – P. 3798-3802.
17. *Voskuyl A.E., Emeis J.J., Hazes J.M.W. et al.* Levels of circulating cellular fibronectin are increased in patients with rheumatoid vasculitis // *Clin. Exp. Rheumatol.* – 2007. – Vol. 16. – P. 429-434.
18. *Wang A., Cohen D.S., Palmer E., Sheppard D.* Polarized regulation of fibronectin secretion and alternative splicing by transforming growth factor // *J. Biol. Chem.* – 2011. – Vol. 266. – P. 15598-15601.
19. *Williams S.B., Cusco J.A., Roddy M.A., Johnstone M.T.* Impaired nitric oxide-mediated vasodilatation in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2006. – Vol. 27. – P. 567-574.
20. *Yamada K., Kennedy D.W.* Fibroblast cellular and plasma fibronectin are similar but not identical // *J. Cell. Biol.* – 2007. – Vol. 80. – P. 492-498.

## РЕЗЮМЕ

**Содержание фибронектина в сыворотке крови при сахарном диабете 2-го типа и ожирении**  
**Л.А. Могильницкая**

Микро- и макроангиопатии – основная причина инвалидности и смерти при сахарном диабете. Эндотелиальная дисфункция – ранний и важный шаг в развитии диабетических ангиопатий. Содержание циркулирующего фибронектина может быть одним из маркеров эндотелиальной активации. Целью исследования было изучение содержания фибронектина в сыворотке крови больных сахарным диабетом 2-го типа с разной массой тела. Выявлено повышение содержания фибронектина в сыворотке крови больных сахарным диабетом 2-го типа с разной массой тела и у больных с ожирением без диабета, что может быть маркером эндотелиальной дисфункции при указанных патологических состояниях.

**Ключевые слова:** фибронектин, эндотелиальная дисфункция, сахарный диабет 2-го типа, ожирение.

## SUMMARY

**Serum level of fibronectin in type 2 diabetes mellitus and obesity**

**L. Mogilynytska**

Macro- and microvascular disease is the main cause of disability and death in diabetes. Endothelial dysfunction is considered an early and important step in the development of arterial disease. Circulating cellular fibronectin may be another useful marker of endothelial activation. The aim of study was to investigate serum level of fibronectin in patients with type 2 diabetes with different body mass and obesity. We found an increase of serum level of fibronectin in obese and non-obese diabetic patients and non-diabetic patients with obesity. Revealed changes may be a marker of endothelial dysfunction in diabetes and obesity.

**Key words:** fibronectin, endothelial dysfunction, type 2 diabetes mellitus, obesity.

Дата надходження до редакції 15.11.2012 р.