

УДК 577.1:616.379-008.64

## РОЛЬ КАЛЛИКРЕИН-КИНИНОВОЙ И РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ СИСТЕМ КРОВИ В РАЗВИТИИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2-го ТИПА

© 2011 г. Е.А. Чернозубова, З.И. Микашинович

Ростовский государственный медицинский университет,  
пер. Нахичеванский, 29, г. Ростов-на-Дону, 344022,  
[okt@rostgmu.ru](mailto:okt@rostgmu.ru)

Rostov State Medical University,  
29 Nakhichevanskiy Lane, Rostov-on-Don, 344022,  
[okt@rostgmu.ru](mailto:okt@rostgmu.ru)

Изучена взаимосвязь между активностью калликреин-кининовой и ренин-ангиотензиновой системами крови и повреждением эндотелия у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа. Определяли показатели калликреин-кининовой и ренин-ангиотензиновой систем крови (активность калликреина,  $\alpha_1$ -протеиназного ингибитора,  $\alpha_2$ -макроглобулина, общую аргинин-эстеразную активность, активность ангиотензин-превращающего фермента, содержание прекалликреина) у 36 пациентов с сахарным диабетом 2-го типа и у 38 пациентов с сахарным диабетом 2-го типа, осложненном артериальной гипертензией до и после окклюзионной пробы. Установлено, что нарушение эндотелийзависимой вазодилатации сопровождалось дисбалансом про- и антипротеолитических систем крови.

**Ключевые слова:** калликреин-кининовая система, ренин-ангиотензиновая система, эндотелиальная дисфункция, сахарный диабет 2-го типа.

The research goal is to study the connection between activity of kallikrein-kinin and renin-angiotensin systems of blood and endothelium damage in patients with diabetes mellitus type 2. There were determined some parameters of kallikrein-kinin and renin-angiotensin systems of blood (activity kallikrein,  $\alpha_1$ -proteinase inhibitor and  $\alpha_2$  macroglobulin, total arginine-esterase activity, activity angiotensin-converting enzyme, concentration of prekallikrein) at 36 patients with diabetes mellitus type 2 and 38 patients with diabetes mellitus type 2 complicated by an arterial hypertension before and after occlusive test. It was found that the disorder of the endothelium-dependent vasodilation was accompanied by an imbalance between pro- and antiproteolytic systems of blood.

**Keywords:** kallikrein-kinin system, renin-angiotensin system, endothelial dysfunction, diabetes mellitus type 2.

Эндотелий сосудов играет значительную роль в поддержании «сосудистого здоровья» и в патогенезе различных заболеваний [1]. Состояние эндотелия является интегральным индексом нагрузки сосудистой стенки факторами риска атеросклероза, развития сердечно-сосудистой патологии [2]. Эндотелиальная дисфункция (ЭД), будучи системной патологией, связана с нарушением микроструктуры и секреторной функции эндотелиальных клеток – одной из наиболее значимых тканевых систем сосудистого русла. Свои эффекты эндотелий реализует посредством выделения вазоактивных веществ: вазодилататоров (оксид азота, простациклин, брадикинин) и вазоконстрикторов (эндотелин, свободные радикалы кислорода, тромбоксан  $A_2$ , ангиотензин II) [3]. В регуляции гемостаза, тонуса сосудов, кровяного давления принимают участие важнейшие протеолитические системы крови: калликреин-кининовая (ККС) и ренин-ангиотензиновая (РАС), регулирующие синтез и деградацию брадикинина и ангиотензина II [4–6].

Среди больных сахарным диабетом частота артериальной гипертензии (АГ) и сопряженных с ней сердечно-сосудистых заболеваний, по данным различных авторов, составляет 9,5 – 55 %, а в общей популяции – 1,6 – 4,1. У 80 % больных сахарным диабетом 2-го типа (СД2) повышение артериального давления предшествует манифестации гипергликемии [7]. Нарушение каких метаболических путей, протеолитических и медиаторных каскадов приводит к развитию дисфункции эндотелия не ясно. Актуален поиск и изучение информативных маркеров развития сосудистых осложнений СД2 и разработка алгоритмов их диагностики.

Цель исследования – изучение роли ключевых протеолитических систем крови – калликреин-кининовой и ренин-ангиотензиновой – в развитии дисфункции эндотелия при СД2 и его осложнениях.

### Материал и методы исследования

Все пациенты были разделены на две клинические группы: 1-я – больные СД2 ( $n = 38$ ) со средним возрастом  $49,0 \pm 1,9$  лет в состоянии субкомпенсации углеводного обмена; 2-я – 36 больных СД2, осложненным АГ, со средним возрастом  $46,1 \pm 0,9$  лет. Контролем служили практически здоровые добровольцы ( $n = 30$ ), сопоставимые по возрасту и полу с больными клинических групп.

«Золотым стандартом» определения состояния эндотелия является проба с реактивной гиперемией, при которой по степени изменения диаметра плечевой артерии и скорости кровотока в условиях проведения окклюзионной пробы оценивают состояние эндотелийзависимой вазодилатации (ЭЗВД) [8].

До и после окклюзионной пробы в сыворотке крови определяли основные показатели ККС: активность калликреина (К) (КФ 3.4.21.8) и содержание прекалликреина (ПК) после отделения от других сериновых протеиназ с помощью ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-сефадексе А-50 по скорости гидролиза N-бензоил-L-аргинин этилового эфира (БАЭЭ), ингибиторную активность  $\alpha_1$ -протеиназного ингибитора

( $\alpha_1$ -ПИ) и  $\alpha_2$ -макроглобулина ( $\alpha_2$ -МГ) унифицированным энзиматическим методом, суммарной активности сериновых протеиназ по отношению к БАЭЭ [9, 10], активности кининазы II (ангиотензинпревращающего фермента КФ 3.4.15.1) с использованием в качестве субстрата фурилакрилоилфенилаланил-глицилглицина (ФАПГ) [11].

Обработку полученных данных проводили общепринятыми методами медицинской статистики с использованием U-критерия Манна–Уитни с применением пакета прикладных программ Statistica 6.1. Статистически достоверными считали отличия, соответствующие оценке ошибки вероятности  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

В физиологических условиях дилатационные факторы и факторы констрикции находятся в состоянии динамического равновесия. В контрольной группе не отмечено признаков нарушения функций эндотелия, а реакция сосудов на временное ограничение кровотока выражалась в увеличении более чем на 10 % диаметра плечевой артерии относительно исходного уровня. В ответ на механическое воздействие на сосуд в контрольной группе в сыворотке крови превалировали дилатационные факторы, что подтверждается увеличением на 29,02 % ( $p < 0,05$ ) активности калликреина при одновременном снижении на 21,43 % ( $p < 0,05$ ) активности его специфического ингибитора –  $\alpha_2$ -МГ, а также снижением активности ключевого фермента регулирующего давление – кининазы II (АПФ) на 30,04 % ( $p < 0,05$ ). Остальные показатели ККС после окклюзионной пробы не изменялись.

Суть эндотелиальной дисфункции можно определить как дисбаланс вазодилатационных и вазоконстрикторных факторов, обеспечивающих тонус сосудов. Следует отметить, что существуют противоположные точки зрения о первичности эндотелиальной дисфункции при СД2.

По результатам окклюзионной пробы нами показано, что у 58,1 % больных первой клинической группы отсутствуют признаки дисфункции эндотелия. Проведенные исследования показали, что у больных СД2 без ЭД активность калликреина в сыворотке крови на 79,2 % ( $p_a < 0,05$ ) превышала таковую в контрольной группе, при этом содержание его профермента – прекалликреина снижалось на 35,1 % ( $p_a < 0,05$ ). Активность АПФ, суммарная активность трипсиноподобных протеиназ (БАЭЭ-эстеразная активность), ингибиторная активность  $\alpha_1$ -протеиназного ингибитора и  $\alpha_2$ -макроглобулина не отличались от таковых в контрольной группе.

У 41,9 % больных первой группы отмечено развитие эндотелиальной дисфункции, связанное с увеличением активности калликреина и АПФ на 47,4 ( $p_b < 0,05$ ) и 100,9 % ( $p_b < 0,05$ ) по сравнению с больными СД2 без ЭД. Остальные показатели ККС у больных СД2 не зависели от развития ЭД и не отличались от таковых у больных СД2 без ЭД. Таким образом, развитие дисфункции эндотелия при СД2 определяется, по-видимому, интенсивностью образования и инактивации брадикинина и ангиотензина II.

У больных второй группы дисфункция эндотелия отсутствовала только у 16,7 %. У пациентов СД2, осложненным развитием артериальной гипертонии без признаков дисфункции эндотелия, отмечено увеличение активности калликреина на 31,6 % ( $p_a < 0,05$ ) на фоне снижения содержания ПК на 35,4 % ( $p_a < 0,05$ ) по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе. Необходимо отметить, что развитие макрососудистых осложнений при СД2 при сохранении сосудодвигательной функции эндотелия в норме не связано с активностью РАС, так как активность АПФ у этих больных не отличается от таковой в контрольной группе.

У 83,7 % больных второй группы с нарушением эндотелийзависимой вазодилатации отмечено резкое (на 180,2 % ( $p_a < 0,05$ ) раза) увеличение активности калликреина при истощении запасов прекалликреина, содержание которого снижено на 14,9 % ( $p_a < 0,05$ ) по сравнению с контролем. О нарушении протеиназно-ингибиторного баланса в крови при развитии эндотелиальной дисфункции у больных второй группы свидетельствует снижение общей активности сериновых протеиназ на 12,7 % ( $p_a < 0,05$ ) и ингибиторной активности  $\alpha_2$ -МГ на 26,2 % ( $p_a < 0,05$ ) по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе. Обращает на себя внимание увеличение активности АПФ на 57,6 % ( $p_a < 0,05$ ).

Нарушение эндотелийзависимой вазодилатации при сочетании СД2 и артериальной гипертонии у больных сопровождалось увеличением в сыворотке крови активности калликреина и АПФ на 22,5 ( $p_b < 0,05$ ) и 70,4 % ( $p_b < 0,05$ ) по сравнению с аналогичными показателями у больных этой клинической группы без ЭД. Остальные показатели ККС у больных второй группы не изменялись при присоединении ЭД.

Таким образом, увеличение активности АПФ, массивный калликреиногенез у больных с макрососудистыми осложнениями СД2 при развитии дисфункции эндотелия не ограничены повышением ингибиторного потенциала ККС, что приводит к истощению адаптивного потенциала ККС и РАС, дефициту вазодилатирующих факторов и нарушению сосудодвигательной функции эндотелия.

Вазоактивные системы крови – ККС и РАС играют ведущую роль в реализации молекулярных механизмов гомеостаза при патологических состояниях разного генеза [9, 10]. Несомненный интерес представляет анализ резервных возможностей ККС и РАС на основе определения основных показателей этих систем с до и после окклюзионной пробы, что позволит оценить адаптивные возможности ведущих протеолитических систем крови и установить роль отдельных показателей в развитии эндотелиальной дисфункции.

После окклюзионной пробы у больных первой и второй групп без дисфункции эндотелия активность калликреина увеличилась на 21,27 ( $p_c < 0,05$ ) и 14,7 % ( $p_c < 0,05$ ), содержание его профермента не изменилось. Активность АПФ в сыворотке крови у больных обеих клинических групп после окклюзии также не изменялась. Обращает на себя внимание снижение и протеолитического и ингибиторного потенциала ККС крови после механического воздействия на сосуд у больных обеих групп. У больных первой и второй групп без эндотелиальной дисфункции БАЭЭ-

эстеразная активность крови снизилась на 10,3 % ( $p_c < 0,05$ ) и 6,0 ( $p_c < 0,05$ ), активность  $\alpha_2$ -МГ – на 36,0 ( $p_c < 0,05$ ) и 29,7 % ( $p_c < 0,05$ ), а активность  $\alpha_1$ -ПИ – 42,4 ( $p_c < 0,05$ ) и 33,7 % ( $p_c < 0,05$ ) по сравнению с аналогичными показателями до окклюзии.

Противоположная динамика изменения изучаемых показателей ККС и РАС при развитии эндотелиальной дисфункции отмечена у больных обеих клинических групп. У больных первой и второй групп при нарушении эндотелийзависимой вазодилатации после окклюзионной пробы отмечено снижение активности калликреина 38,7 ( $p_c < 0,05$ ) и 42,7 % ( $p_c < 0,05$ ) и АПФ на 89,6 ( $p_c < 0,05$ ) и 68,1 % ( $p_c < 0,05$ ). Об истощении адаптивного потенциала ККС при развитии дисфункции эндотелия свидетельствует снижение содержания прекалликреина после функциональной пробы у больных первой и второй групп на 18,8 ( $p_c < 0,05$ ) и 15,6 % ( $p_c < 0,05$ ). Снижение активности протеолитических ферментов ККС и РАС в крови больных с эндотелиальной дисфункцией во всех группах в ответ на окклюзионную пробу усугублялось увеличением ингибиторного потенциала крови. Ингибиторная активность  $\alpha_1$ -ПИ увеличилась в первой группе на 51,2 % ( $p_c < 0,05$ ) и на 81,3 ( $p_c < 0,001$ ) во второй, активность  $\alpha_2$ -МГ увеличилась на 57,1 ( $p_c < 0,05$ ) и 67,7 % ( $p_c < 0,05$ ). Суммарная активность трипсиноподобных протеиназ крови у пациентов обеих групп после окклюзионной пробы увеличилась на 10,1 ( $p_c < 0,05$ ) и 14,4 % ( $p_c < 0,05$ ). Одновременное снижение активности калликреина, истощение его «запасов» и повышение ингибиторного потенциала ККС ограничивает активное кининообразование в ответ на окклюзию и, как следствие, является одной из причин прогрессирующего ухудшения эндотелийзависимого расслабления сосудов, особенно при сочетании СД2 и артериальной гипертонии.

Резюмируя изложенное, необходимо отметить, что развитие макрососудистых осложнений при СД2 связано, по-видимому, с истощением адаптивного потенциала ККС и РАС крови. Однако неясно, является ли дисбаланс протеиназ и ингибиторов этих протеолитических систем крови иницирующим фактором или следствием эндотелиального стресса при СД2 и при сочетании его с артериальной гипертонией. Несомненно, что массивный калликреиногенез при СД2 является предпосылкой развития макрососудистых осложнений, а маркером повреждения эндотелия у обследованных больных может служить снижение активности АПФ и калликреина, содержания прекалликреина и увеличение ингибиторного потенциала крови после окклюзионной пробы. Именно уровень прекалликреина после механической деформации сосуда выступает маркером типа реагирования протеолитических систем крови в ответ на окклюзию. Увеличение содержания прекалликреина в сыворотке крови после окклюзии свидетельствует о сохранении адаптивного потенциала ККС при механической деформации сосуда, снижение, напротив, является предиктором нарушения баланса вазодилатационных и вазоконстрикторных факторов, продуцируемых эндотелием, в пользу последних.

Таким образом, нарушение ключевых протеолитических систем крови – калликреин-кининовой и ренин-ангиотензиновой – играет ведущую роль в ремо-

делировании сосудов при СД2 [6, 12, 13]. Формирование гипертензивных состояний при СД2 связано с нарушением механизмов эндотелийзависимой вазодилатации и дезадаптацией ККС и РАС крови.

#### Литература

1. Дисфункция эндотелия, артериальная гипертония: терапевтические возможности / В.С. Задионченко [и др.] // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2003. Т. 2, № 2. С. 79–90.
2. Небиеридзе Д.В., Оганов Р.Г. Дисфункция эндотелия как фактор риска атеросклероза, клиническое значение ее коррекции // Там же. № 3. С. 86–89.
3. Воробьева Е.Н., Шумахер Г.И., Осипова И.В. Роль дисфункции эндотелия в патогенезе атеросклероза // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2006. Т. 5, № 6. С. 129–136.
4. The prothrombotic paradox of hypertension: role of the renin-angiotensin and kallikrein-kinin systems / A.W. Dielis [et al.] // Hypertension. 2005. Vol. 46, № 6. P. 1236–1242.
5. Shen B., El-Dahr S.S. Cross-talk of the renin-angiotensin and kallikrein-kinin systems // Biol. Chem. 2006. Vol. 387, № 2. P. 145–150.
6. Yoshida H., Ura N. Role of kallikrein-kinin system in blood pressure regulation // Nippon. Rinsho. 2006. Vol. 64, № 5. P. 89–93.
7. Артериальная гипертензия у больных сахарным диабетом. Генетические аспекты и особенности терапии / М.И. Балаболкин [и др.]. М., 2003. 68 с.
8. Балахонова Т.В., Погорелова О.А., Алиджанова Х.Г. Неинвазивное определение функции эндотелия у больных гипертонической болезнью в сочетании с гиперхолестеринемией // Терапевтический архив. 1998. № 4. С. 15–19.
9. Пасхина Т.С., Кринская А.В. Упрощенный метод определения калликреиногена и калликреина в сыворотке (плазме) крови человека в норме и при некоторых патологических состояниях // Вопросы мед. химии. 1974. Т. 20, № 6. С. 660–663.
10. Нартикова В.Ф., Пасхина Т.С. Унифицированный метод определения активности  $\alpha_1$ -антитрипсина и  $\alpha_2$ -макроглобулина в сыворотке (плазме) крови человека // Вопросы мед. химии. 1979. Т. 25, № 4. С. 494–502.
11. Голиков П.П., Николаева Н.Ю. Экспресс-метод определения активности ангиотензинпревращающего фермента в сыворотке крови // Клини. лаб. диагностика. 1998. № 1. С. 11–13.
12. Carretero O.A. Vascular remodeling and the kallikrein-kinin system // J. Clin. Invest. 2005. Vol. 115, № 3. P. 780–787.
13. Schmaier A.H. The plasma kallikrein-kinin system: its evolution from contact activation // J. Thromb. Haemost. 2007. Vol. 5, № 12. P. 2323–2329.

Поступила в редакцию

20 июля 2010 г.