

Επίπεδα β-θρομβοσφαιρίνης (β-TG) και αιμοπεταλιακού παράγοντα 4 (PF-4) σε IDDM με διαβητική νεφροπάθεια

Περίληψη

Γ. Σκαραγκάς
Ε. Ρεπαντά
Σ. Γκουτκίδου
Θ. Μπούσιου
Δ. Κουγιουμτζόγλου
Β. Ιωάννου
Κ. Ζαχαριουδάκη
Ν. Παπάζογλου

Σκοπός της εργασίας είναι η μέτρηση των επιπέδων της β-TG και του PF-4 σε ινσουλινοεξαρτώμενους διαβητικούς ασθενείς με διαβητική νεφροπάθεια (ΔΝΦ) για να εκτιμηθεί το μέγεθος της συμμετοχής της υπερδραστηριότητας των αιμοπεταλίων ως παράγοντα καρδιαγγειακού κινδύνου. Επιλέγησαν 50 ινσουλινοεξαρτώμενοι διαβητικοί ασθενείς, 20 χωρίς μικρολευκωματινουρία (12 άνδρες, 8 γυναίκες) (ομάδα Α), 20 με μικρολευκωματινουρία (13 άνδρες, 7 γυναίκες) (ομάδα Β) και 10 με μακρολευκωματινουρία (6 άνδρες, 4 γυναίκες) (ομάδα Γ) και 20 υγιείς (11 άνδρες, 9 γυναίκες) (ομάδα Δ). Μετρήθηκαν τα επίπεδα της β-TG (Asserachrom β-TG), του PF-4 (Asserachrom PF-4) και εκτιμήθηκε η HbA_{1c} (χρωματογραφική μέθοδος ανταλλαγής ιόντων σε στήλες) και η λευκωματινή των ούρων (νεφελομετρική μέθοδος). Τα επίπεδα της β-TG (IU/ml) ήταν για την ομάδα Α: $22,6 \pm 1,2$, Ομάδα Β: $24,2 \pm 1,1$, Ομάδα Γ: $96,8 \pm 2,1$ και για την ομάδα Δ: $22,8 \pm 1,4$. Τα επίπεδα του PF-4 (IU/ml) ήταν για την ομάδα Α: $2,36 \pm 0,2$, για την ομάδα Β: $2,41 \pm 0,1$, για την ομάδα Γ: $4,8 \pm 0,4$ και για την ομάδα Δ: $2,4 \pm 0,2$. Παρατηρείται μία στατιστικώς σημαντική διαφορά στην αύξηση των επιπέδων της β-TG και του PF-4 στην ομάδα των διαβητικών με μακρολευκωματινουρία. Υπάρχει υπερδραστηριότητα των αιμοπεταλίων σε βαθμό στατιστικώς σημαντικό στην ομάδα των διαβητικών με μακρολευκωματινουρία ενώ απουσιάζει στην ομάδα των διαβητικών με ή χωρίς μικρολευκωματινουρία.

Παθολογική Κλινική
και Αιματολογικό Εργαστήριο
Πρώτου Γενικού
Νοσοκομείου Θεσσαλονίκης
«Ο ΑΓΙΟΣ ΠΑΥΛΟΣ»
(Συγκρότημα Φράγκων)

Ο έντονος συσχετισμός ανάμεσα στους ινσουλινοεξαρτώμενους διαβητικούς ασθενείς με μικρολευκωματινουρία και των παραγόντων κινδύνου για εμφάνιση μακροαγγειοπάθειας δημιούργησε εύλογα τον προβληματισμό αν η σχέση αυτή θα μπορούσε να αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την υψηλή θνητότητα των ασθενών αυτών από το καρδιαγγειακό σύστημα¹⁻⁴. Όσον αφορά στο σκέλος των αιμοπεταλίων έχουν αναφερθεί διαταραχές στην λειτουργικότητά τους στον σακχαρώδη διαβήτη⁵⁻⁸ όπως και αυξημένη συσσωρεύσή τους σε ασθενείς με IDDM και μακροαγγειοπάθεια⁹. Όμως οι περισσότερες μελέτες αφορούν στην λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων in vitro και ελάχιστες in vivo.

Η β -TG θεωρείται ένας πολύ καλός δείκτης της in vivo αντίδρασης απελευθέρωσης μετά από διέγερση των αιμοπεταλίων¹⁰. Είναι μία ειδική πρωτεΐνη των α -κοκκίων των αιμοπεταλίων με μικρή συγγένεια προς την ηπαρίνη, αναστέλλει την παραγωγή προστακυκλίνης από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και έχει ισχυρή χημειοτακτική δράση για τους ινοβλάστες^{11,12}.

Ο PF-4 είναι παράγων των α -κοκκίων και λειτουργικά εξουδετερώνει την αντιπηκτική δράση της ηπαρίνης με την οποία συνδέεται με μεγάλη συγγένεια. Στα αιμοπετάλια υπάρχουν πλεονάζουσες μεγάλης χημικής συγγένειας για τον PF-4 με αποτέλεσμα η σύνδεσή του με αυτές να αυξάνει την συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Ο PF-4 δρα χημειοστατικά για τα ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα και ινοβλάστες^{13,14}.

Για να εκτιμήσουμε λοιπόν την πιθανότητα ότι η δυσλειτουργία των αιμοπεταλίων μπορεί να συμμετέχει στον αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο που εμφανίζουν ασθενείς με διαβήτη τύπου 1 και μικρολευκωματινουρία σχεδιάσαμε αυτή την εργασία με επιλεγμένους διαβητικούς και διαφορετικό στάδιο λευκωματινουρίας.

Υλικό και μέθοδοι

Επιλέγησαν 50 IDDM διαβητικοί, 20 χωρίς μικρολευκωματινουρία (12 άνδρες, 8 γυναίκες μέσης ηλικίας $32,6 \pm 2,5$ έτη, BMI $22,6 \pm 1,6$ Kg/m² μέσης διάρκειας νόσου $12,2 \pm 1,2$ έτη και μέσης τιμής HbA_{1c} $7,6 \pm 0,4\%$) (ομάδα Α), 20 με

μικρολευκωματινουρία (13 άνδρες, 7 γυναίκες ηλικίας $33,5 \pm 2,8$ έτη, BMI $23,0 \pm 1,5$ Kg/m², διάρκειας νόσου $13,5 \pm 1,4$ έτη και HbA_{1c} $7,8 \pm 0,5\%$) (ομάδα Β), 10 με μακρολευκωματινουρία (6 άνδρες, 4 γυναίκες ηλικίας $35,4 \pm 3,5$ έτη, BMI $23,2 \pm 2,1$ Kg/m², διάρκειας νόσου $13,9 \pm 1,4$ έτη και HbA_{1c} $8,1 \pm 0,5\%$) (ομάδα Γ) και 20 υγιή άτομα που αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου (11 άνδρες, 9 γυναίκες ηλικίας $33,1 \pm 1,8$ έτη και BMI $22,5 \pm 1,5$ Kg/m²) (ομάδα Δ), (Πίν. 1). Οι διαβητικοί ήταν ελεύθεροι ιστορικού οξείας ή χρόνιας λοίμωξης υπέρτασης, νεφρικής νόσου, λήψης φαρμάκων εκτός ινσουλίνης με φυσιολογικές τιμές κρεατινίνης και φυσιολογικά δείγματα ούρων.

Η λευκωματινική των ούρων εκτιμήθηκε με νεφρομετρική μέθοδο (μικρολευκωματινουρία: λευκωματινική ούρων = 30-300 mg/24ωρο, μακρολευκωματινουρία: λευκωματινική ούρων > 300 mg/24ωρο), η HbA_{1c} με χρωματογραφική μέθοδο ανταλλαγής ιόντων σε στήλης, η β -TG και ο PF-4 με ανοσοενζυμική μέθοδο ELISA (Enzyme Immunoassay of β -Thromboglobulin, Asserachrom β -Tg) και (Enzyme Immunoassay of platelet Factor 4 Asserachrom PF4)^{15,16}.

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με τη χρήση του στατιστικού πακέτου STSC (Statgraphics) των Steel και Torrie.

Αποτελέσματα

Όπως φαίνεται στον πίνακα 2, τα επίπεδα

Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά ομάδων

Ομάδες	n	α/γ	Ηλικία	BMI	Διάρκεια	HbA _{1c}	Λευκωματινή
A	20	12/8	32,6 ± 2,5	22,6 ± 1,6	12,2 ± 1,2	7,6 ± 0,4	φυσ
B	20	13/7	33,5 ± 2,8	23,0 ± 1,5	13,5 ± 1,4	7,8 ± 0,5	μ
Γ	10	6/4	35,4 ± 3,5	23,2 ± 1,7	13,9 ± 1,4	8,1 ± 0,5	M
Δ	20	11/9	33,1 ± 1,8	22,5 ± 1,5			

Πίνακας 2. Επίπεδα β -TG και PF-4.

	A	B	Γ	Δ
β -TG	22,6 ± 1,2	24,2 ± 1,1	96,8 ± 2,1	22,8 ± 1,4
PF-4	2,36 ± 0,2	2,41 ± 0,1	4,80 ± 0,4	2,40 ± 0,2

της β-TG (IU/ml) ήταν για την ομάδα Α: $22,6 \pm 1,2$, για την ομάδα Β: $24,2 \pm 1,1$, για την ομάδα Γ: $96,8 \pm 2,1$ και για την ομάδα Δ: $22,8 \pm 1,4$. Τα επίπεδα του PF-4 (IU/ml) ήταν για την ομάδα Α: $2,36 \pm 0,2$, για την ομάδα Β: $2,41 \pm 0,1$, για την ομάδα Γ: $4,8 \pm 0,4$ και για την ομάδα Δ: $2,4 \pm 0,2$. Παρατηρείται δηλαδή μία στατιστικώς σημαντική διαφορά ($p < 0,001$) στην αύξηση των επιπέδων της β-TG και του PF-4 στην ομάδα των διαβητικών με μακρολευκωματινουρία σε σχέση με τις άλλες ομάδες των διαβητικών και την ομάδα ελέγχου.

Συζήτηση

Ο ρόλος της συμμετοχής των αιμοπεταλίων στην παθογένεια της μακροαγγειοπάθειας *in vivo* δεν έχει μελετηθεί επαρκώς ιδίως στους διαβητικούς τύπου 1 σε σχέση με την παρουσία ή απουσία μικρολευκωματινουρίας^{1-3,17,18}. Η β-TG και ο PF-4 αποτελούν πολύ καλούς δείκτες των διεγερμένων αιμοπεταλίων.

Τα αποτελέματά μας έδειξαν έντονα αυξημένα επίπεδα για τους δύο αυτούς παράγοντες των αιμοπεταλίων μόνο για την ομάδα των διαβητικών με μακρολευκωματινουρία.

Υπάρχουν λίγες προηγούμενες μελέτες σε διαβητικούς με μακρολευκωματινουρία που δείχνουν αυξημένη συσσώρευση και υπερδραστηριότητα των αιμοπεταλίων^{19,20}. Τα δικά μας ευρήματα είναι σύμφωνα με αυτά των Gruden και συν.²¹.

Έχουν βρεθεί αυξημένα επίπεδα β-TG και PF-4 σε διαβητικούς χωρίς διαβητική αγγειοπάθεια^{22,23}. Σε παρόμοιες μελέτες βασίστηκε η άποψη ότι η υπερδραστηριότητα των αιμοπεταλίων είναι πρωτογενής και όχι δευτερογενής συνέπεια της αγγειακής βλάβης. Η ερμηνεία των διαφορετικών αυτών αποτελεσμάτων μπορεί να δοθεί ίσως από το γεγονός ότι το υλικό των διαβητικών δεν είναι ομοιογενές και δεν ελήφθησαν υπ' όψιν άλλοι παράγοντες (λευκωματινουρία, τύπος διαβήτη, λιπίδια κ.ά.).

Η συγκεκριμένη αυτή διαταραχή των αιμοπεταλίων που εκφράζει μία υπερδραστηριότητα τους υποδηλώνει και τον συμμετοχικό τους ρόλο στο σκέλος της μακροαγγειοπάθειας των διαβητικών²¹ και βέβαια αφορά συγκεκριμένα τους διαβητικούς με αληθή νεφροπάθεια. Υπάρχει μία βιβλιογραφική αναφορά που δίνει αυξημένα επίπεδα β-TG και στην ομάδα των διαβητικών με μικρολευκωματινουρία¹⁹.

Συμπερασματικά τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν μία έντονη υπερδραστηριότητα των αιμοπεταλίων στην ομάδα των διαβητικών με μακρολευκωματινουρία, η οποία απουσιάζει από την ομάδα των διαβητικών με μικρολευκωματινουρία.

Summary

Skaragkas C, Repanta H, Gutkidou S, Bousiou Th, Kougioumtzoglou D, Ioannou B, Zaharioudaki K, Papazoglou N. Plasma beta-thromboglobulin and platelet factor 4 in IDDM with diabetic nephropathy. Hellen Diabetol Chron 1996; 2: 138-141.

Microalbuminuria in diabetic patients is associated with an increased cardiovascular risk. To evaluate the possibility that platelet dysfunction contribute in this risk in IDDM diabetic patients with or without nephropathy, we measured β-TG and PF-4 in 50 diabetics type 1 (20 without microalbuminuria, 20 with microalbuminuria, 10 with macroalbuminuria) and in 20 non-diabetics healthy subjects. β-TG values (IU/ml) were $22,6 \pm 1,2$ in normoalbuminuric patients, $24,2 \pm 1,1$ in microalbuminuric patients, $96,8 \pm 2,1$ in macroalbuminuric patients and $22,8 \pm 1,4$ in control subjects. PF-4 values (IU/ml) were $2,36 \pm 0,2$ in normoalbuminuric patients, $2,41 \pm 0,1$ in microalbuminuric patients, $4,80 \pm 0,4$ in macroalbuminuric patients and $2,4 \pm 0,2$ in control subjects. Our data support that there is platelet hyperactivation in IDDM diabetic patients with overt nephropathy.

Βιβλιογραφία

1. Deckert T, Kofoed-Enevoldsen A, Borch-Jonsen K, et al. Implications for micro- and macrovascular disease. *Diabetes Care* 1992; 9: 1181-1191.
2. Jensen T, Stender S, Deckert T. Abnormalities in plasma concentrations of lipoproteins and fibrinogen in type 1 (insulin-dependent) diabetic patients with increased urinary albumine excretion. *Diabetologia* 1988; 31: 142-145.
3. Massent-J, Elliott TG, Jarrett RJ, et al. The prognostic significance of microalbuminuria in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus: a 23-year follow-up study. *Kidney Int* 1992; 41: 936-939.
4. Borch-Johnsen K, Kreiner S. Proteinuria: a predictor of cardiovascular mortality in insulin-dependent diabetes mellitus. *Br Med J* 1987; 294: 1651-1654.
5. Zahavi J, Zahavi M. Enhanced platelet release, shorten-

- ed platelet survival time and increased platelet aggregation and plasma thromboxane B₂ in chronic obstructive arterial disease. *Thrombosis and haemostasis* 1985; 53: 105-109.
6. *Mustard JF, Packham MA*. Platelets and diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1977; 297: 1345-1347.
 7. *Winocour P*. Platelet abnormalities in diabetes mellitus. *Diabetes* 1992; 41 (suppl 2): 26-31.
 8. *Σκαρτσάκης Γ, Παπάζογλου Ν*. Η λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων και οι αλληλεπιδράσεις πλάσματος-αιμοπεταλίων στον σακχαρώδη διαβήτη και στην αθηρωμάτωση. *Ελληνικά Διαβητολογικά Χρονικά* 1992; 5: 109-118.
 9. *Dallinger KJC, Jennings PE, Toop MJ, et al*. Platelet aggregation and coagulation factors in insulin-dependent diabetics with and without microangiopathy. *Diabetic Med* 1987; 4: 44-48.
 10. *Kaplan KL, Owen J*. Plasma levels of beta-thromboglobulin and platelet factor 4 as indices of platelet activation in vivo. *Blood* 1981; 57: 199-202.
 11. *Μακρής Π*. β-θρομβογλοβουλίνη. Στο *Αιμόσταση-Φυσιολογία* 1994; 114.
 12. *Paulus JM, Aster RH*. Clinical evaluation of thrombokinetics. In *Williams WJ, Beutler E, Erslev AJ, Lichtman MA*. Hematology. International Edition 1991; 1260-1266.
 13. *Μακρής Π*. Αιμοπεταλιακός παράγων 4. Στο *Αιμόσταση-Φυσιολογία* 1994; 113.
 14. *Files JC, Malpass TW, Yee KE, et al*. Studies of Human platelet a-granule release in vivo. *Blood* 1981; 10: 186-194.
 15. *Kerry PJ, Curtis AD*. Standardization of β-thromboglobulin (β-TG) and factor 4(PF4): a collaborative study to establish international standards for β-TG and PF4. *Thromb Haemostasis* 1985; 53: 51-55.
 16. *Berruyer M, Ville D, Ferench P, et al*. Dosage immunoenzymologique de la β-thromboglobuline et du facteur plaquettaire 4: corrélation avec un dosage radioimmunologique. *Inf Sci Biol* 1987; 13: 187-194.
 17. *Packham MA, Mustard JF*. The role of platelets in the development and complication of atherosclerosis. *Sem Hematol* 1986; 23: 8-26.
 18. *Jensen T, Bjerre-Knudsen T, Feldt-Rasmussen B, et al*. Features of endothelial dysfunction in early diabetic nephropathy *lanct* 1989; 1: 461-463.
 19. *Valdorf-Hansen F, Jensen T, Borch-Johnsen K, et al*. Cardiovascular risk factors in type I (insulin-dependent) diabetic patients with and without proteinuria. *Acta Med Scand* 1987; 22: 439.
 20. *O'Donnell MJ, Le Guen CA, Lauwson N*. Platelet behavior and haemostatic variables in type I (insulin-dependent) diabetic patients with and without albuminuria. *Diabetic Med* 1991; 8: 624-628.
 21. *Gruden G, Cavallo Perin P, Romagnoli R, et al*. Plasma beta-thromboglobulin and factor 4 not increased in insulin-dependent diabetic patients with microalbuminuria. *Acta Diabetol* 1994; 31: 130-132.
 22. *Ιωαννίδου-Παπαγιαννάκη ΚΒ, Χαράλαμπίδου-Βρανίτσα Σ, Κλωνιζάκης Ι, Κονκούρης Α*. Λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων στους διαβητικούς με ή χωρίς αγγειακές αλλοιώσεις. *Γαληνός* 1988; 30: 467-372.
 23. *Ek I, Thunell S, Blomback M*. Enhanced in vivo platelet activation in diabetes mellitus. *Scand J Haematol* 1982; 29: 185-191.
 24. *Burrows AW, Chavin SI, Hockaday TDR*. Plasma thromboglobulin concentrations in diabetes mellitus. *Lancet* 1978; 1: 235-237.

Λέξεις κλειδιά:

Διαβήτης τύπου 1
 Λευκωματινουρία
 Αιμοπετάλια
 β-θρομβοσφαιρίνη
 Αιμοπεταλιακός παράγων 4

Key words:

Insuline-dependent diabetes
 Albuminuria
 Platelets
 β-thromboglobulin
 Platelet factor 4