

Επίπεδα προθρομβινικού κλάσματος 1+2 (F_{1+2}) σε διαβητικούς ασθενείς τύπου 1 με μικρολευκωματινουρία

Περίληψη

Ε. Ρεπαντά
Γ. Σκαραγκάς
Σ. Γκουτκίδου
Η. Ιωαννίδης
Α. Γκάντζαρου
Ν. Παπάζογλου
Ε. Γεωργακοπούλου

Σκοπός της εργασίας ήταν η μέτρηση των επιπέδων F_{1+2} σε διαβητικούς τύπου 1 με μικρολευκωματινουρία, ελέγχοντας έτσι τον βαθμό ενεργοποίησης του πηκτικού μηχανισμού. Στη μελέτη συμμετείχαν 20 διαβητικοί τύπου 1,10 με μικρολευκωματινουρία (6 άνδρες, 4 γυναίκες) και 10 χωρίς μικρολευκωματινουρία (5 άνδρες, 5 γυναίκες) χωρίς ιστορικό λοιμώξης, υπέρτασης, νεφρικής νόσου ή λήψης φαρμάκων πλην ινσουλίνης, στους οποίους μετρήθηκαν η λευκωματίνη των ούρων, η HbA_1 και τα επίπεδα F_{1+2} . Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα επίπεδα του προθρομβινικού κλάσματος για την ομάδα των διαβητικών με μικρολευκωματινουρία ήταν 1.29 ± 0.13 nM ενώ για την ομάδα των διαβητικών χωρίς λευκωματινουρία ήταν 0.68 ± 0.08 nM ($p < 0.01$). Συμπερασματικά, τα επίπεδα του προθρομβινικού κλάσματος είναι αυξημένα στους διαβητικούς με μικρολευκωματινουρία, γεγονός που υποδηλώνει ότι η μικρολευκωματινουρία σχετίζεται με μία προθρομβωτική κατάσταση.

Η μικρολευκωματινουρία, η οποία εκφράζει την αρχική φάση της διαβητικής νεφροπάθειας, σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακής νοσηρότητας και θνητότητας^{1,2}. Οι μηχανισμοί αυτής της συσχέτισης δεν έχουν πλήρως διευκρινισθεί, ενώ παράγοντες που συμβάλλουν στην αθηρωματική βλάβη όπως η υπέρταση και οι διαταραχές των λιπιδίων από μόνοι τους δεν μπορούν να ερμηνεύσουν το γεγονός. Η βλάβη του αγγειακού ενδοθηλίου εμφανίζεται να έχει κεντρική σημασία στην παθογένεια της αθηρωμάτωσης και δυνατόν να αποτελεί εναρκτήριο γεγονός³. Εξάλλου η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία αποτελεί χαρακτηριστικό της διαβητικής νεφροπάθειας ακόμη και κατά τη διάρκεια της υποκλινικής φάσης. Η απόδειξη γιαυτό περιλαμβάνει την παρατήρηση ότι ο βαθμός της διατριχοειδικής διαφυγής της λευκωματίνης είναι αυξημένος⁴, και η αγγειοσυσταλτική απάντηση είναι αμβλεία σε διαβητικούς με λευκωματινουρία⁵. Προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι στον διαβήτη τύπου 1 εκείνοι που ανέπτυξαν κλινική πρωτεϊνουρία είχαν αυξημένο κίνδυνο πρώιμης καρδιαγγειακής επιπλοκής^{6,7}.

Η μελέτη πολλών παραμέτρων της αιμόστασης και της ινωδολύσης (παράγων V, VII von Willebrand, tPA, PAI, ινωδογό-

νο κ.ά.) τα τελευταία χρόνια έδειξε να σχετίζονται οι παράγοντες αυτοί με μία θρομβωτική διάθεση⁸⁻¹⁰ χωρίς όμως να γνωρίζουμε πολλά για την λειτουργία της αιμόστασης στους διαβητικούς ασθενείς τύπου I με μικρολευκωματινουρία¹¹.

Το F₁₊₂ κλάσμα προέρχεται από την δράση της προθρομβινάσης (ενζυμικό σύμπλεγμα που σχηματίζεται από τον Χα, τον Va, ιόντα ασβεστίου και φωσφολιπίδια) στο μόριο της προθρομβίνης, το οποίο και υδρολύει σε δύο πλευρές στη θέση arg274 και στην arg323. Από την υδρόλυση αυτή προκύπτουν τρεις πολυπεπτιδικές αλυσίδες το F1,2 κλάσμα της προθρομβίνης και οι δύο α και β αλυσίδες της θρομβίνης. Οι τελευταίες συνδέονται με δισουλφιδικό δεσμό και σχηματίζουν την α-θρομβίνη. Στο πεπτιδίο F1,2 δρα από μόνη της η θρομβίνη στη θέση 156 και το υδρολύει παράγοντας δύο χωριστά κλάσματα F1 και F2. Το κλάσμα F1+2 μπορεί να μετρηθεί και έτσι ενέχει την έννοια του ποσοτικού προσδιορισμού των παραγώγων της πρόωρης ενεργοποίησης της πήξης δηλαδή της in vivo ενεργοποίησης της πήξης του πλάσματος¹²⁻¹⁴. Σκοπός της εργασίας αυτής είναι η σύγκριση της ενεργοποίησης της πήξης του πλάσματος σε διαβητικούς τύπου I με και χωρίς λευκωματινουρία.

Υλικό και μέθοδοι

Μελετήθηκαν 20 διαβητικοί ασθενείς τύπου I,10 με μικρολευκωματινουρία (6 άνδρες, 4 γυναίκες) και 10 χωρίς λευκωματινουρία (5 άνδρες, 5 γυναίκες), χωρίς ιστορικό λοίμωξης, υπέρτασης, νεφρικής νόσου ή λήψης φαρμάκων πλην ινσουλίνης, με φυσιολογικά δείγματα ούρων, αρνητικές καλλιέργειες ούρων, φυσιολογικές τιμές

κρεατινίνης, χρόνου προθρομβίνης και χρόνου μερικής θρομβολαστίνης. Χρησιμοποιήθηκαν τα κριτήρια αυτά για να αποκλειστούν αιτίες εκτός του διαβήτη για την απέκκριση λευκωματινίνης και να αποφυχθεί οποιαδήποτε δράση φαρμάκου στην αιμόσταση. Τα κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά των δύο ομάδων φαίνονται στον πίνακα 1.

Οι ασθενείς θεωρούντο χωρίς λευκωματινουρία όταν ο βαθμός απέκκρισης λευκωματινίνης (AER) ήταν μικρότερος του 20 μg/min και με μικρολευκωματινουρία όταν ήταν 20-200 μg/min σε 3 ολονύκτιες συλλογές ούρων. Η αρτηριακή πίεση εκτιμήθηκε με σφυγμομανόμετρο τυχαίου μηδενός σε δύο μετρήσεις σε κατάσταση ηρεμίας. Η HbA_{1c} μετρήθηκε με φωτομετρική μέθοδο ανταλλαγής ιόντων σε στήλες (Helena Glyco Hb Quick Column), το προθρομβινικό κλάσμα F₁₊₂ μετρήθηκε με ανοσοενζυμική μέθοδο (Eenzynost F₁₊₂, Behringwerke AG) σε δείγματα αίματος χωρίς φλεβική στάση και όπου απερρίπτοντο τα πρώτα 5 ml και το ινωδογόνο μετρήθηκε με χρονομετρική μέθοδο με τη βοήθεια μηχανήματος Coag-Amate XC-Plus). Για την στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία t-student's test.

Αποτελέσματα

Τα εργαστηριακά ευρήματα των ασθενών φαίνονται στον πίνακα 1. Η μέση τιμή των επιπέδων F₁₊₂ στους διαβητικούς με μικρολευκωματινουρία ήταν υψηλότερη από αυτή των διαβητικών χωρίς μικρολευκωματινουρία ($\bar{x} = 1.29 \pm 0.13$ vs $\bar{x} = 0.68 \pm 0.08$, $p < 0.01$).

Πίνακας 1. Κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά ασθενών και ομάδας ελέγχου

	Με λευκωματινουρία	Χωρίς λευκωματινουρία
Ηλικία (έτη)	31.5 ± 3	32.4 ± 3
Φύλο (Α/Γ)	6/4	5/5
BMI (Kg/m ²)	23 ± 1	22.4 ± 0.8
Διάρκεια διαβήτη (έτη)	17 ± 1	16 ± 1
HbA _{1c} (%)	7.8 ± 0.4	7.7 ± 0.5
Συστολική πίεση (mmHg)	127 ± 6	120 ± 4
Διαστολική πίεση (mmHg)	80 ± 3	76 ± 3
AER (μg/min)	52.5 ± 6.6	4.4 ± 0.4
Τριγλυκερίδια (mg%)	183 ± 6	118 ± 3
Ινωδογόνο (g/L)	3.65 ± 0.3	2.8 ± 0.14

Συζήτηση

Όπως αναφέρθηκε το κάσμα F_{1+2} προέρχεται από την διάσπαση της προθρομβίνης και παριστά την *in vivo* ενεργοποίηση του πηκτικού μηχανισμού. Τα επίπεδα του βρέθηκαν σαφώς αυξημένα στους διαβητικούς με μικρολευκωματινουρία υποδηλώνοντας έτσι μία ενεργοποίηση της θρομβίνης στους μικρολευκωματινουργικούς ασθενείς. Θα μπορούσε λοιπόν να θεωρηθεί η μικρολευκωματινουρία ένας δείκτης μιας υπερπηκτικής κατάστασης, εάν αυτό βέβαια επιβεβαιωθεί σε ένα πολύ μεγάλο δείγμα ασθενών με διαβήτη τύπου 1. Θα μπορούσε λοιπόν τα ευρήματα αυτά για ένα προθρομβωτικό στάδιο να αποτελούσαν ένα κριτικό μηχανισμό ο οποίος να συνδέει την μικρολευκωματινουρία με τον κίνδυνο για αθηρωμάτωση.

Ο παθοφυσιολογικός μηχανισμός που συνδέει την μικρολευκωματινουρία με την αυξημένη πηκτική δραστηριότητα πρέπει να διευκρινισθεί. Μία σοβαρή υπόθεση που μπορεί να αντέξει σε κριτική είναι αυτή των λιπιδίων. Τα τριγλυκερίδια συνεισφέρουν με την παρουσία τους στη δημιουργία φωσφολιπιδικής επιφάνειας που μπορεί να συμμετέχει στην ενεργοποίηση της ενδογενούς οδού της πήξεως¹⁵. Το γεγονός αυτό υποστηρίζεται από εργασίες που δείχνουν ότι μείωση των τριγλυκεριδίων με χορήγηση γκεφιμπροζίλης μειώνουν και τα επίπεδα του F_{1+2} ¹⁶. Έχει δε βρεθεί ότι το F_{1+2} διεγείρει την παραγωγή από το ήπαρ βιταμινο-Κ εξαρτώμενων παραγόντων¹⁷. Αυτή η δράση θα μπορούσε να συμβάλλει στις διαταραχές της αιμόστασης που αναφέρονται στους μικρολευκωματινουργικούς ασθενείς.

Τα ευρήματά μας συμφωνούν με αυτά της βιβλιογραφίας^{15,18} και οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η μικρολευκωματινουρία σχετίζεται με ένα προθρομβωτικό στάδιο με μηχανισμό που πρέπει να μελετηθεί σε μεγαλύτερες επιδημιολογικές μελέτες αφού αντιστοιχα υπάρχει συσχέτιση αυξημένου καρδιαγγειακού κινδύνου και των ασθενών με μικρολευκωματινουρία.

Summary

Repanta H, Skaragkas G, Goutkidou S, Ioannidis H, Gkantzarou A, Papazoglou N, Georgakopoulou H. Prothrombin fragment 1+2 levels in type 1 diabetic patients with microalbuminuria. *Hellen Diabetol Chron* 2000; 1: 55-58.

With purpose to compare the activation of plasma coagulation in IDDM patients with and without microalbuminuria, we studied 20 IDDM patients (10 with and 10 without microalbuminuria) and we measured the prothrombin fragment 1+2 levels. Mean F_{1+2} was significantly higher in micro- than in normoalbuminuria patients (1.29 ± 0.13 nM vs 0.68 ± 0.08 nM, $p < 0.01$). In conclusion our study suggest that microalbuminuria is associated with a prethrombotic state. The role of haemostatic activation in respect to the increased cardiovascular mortality of microalbuminuric patients deserves further epidemiological investigations.

Βιβλιογραφία

1. Deckert T, Kofoed-Enevoldsen A, Borch-Johnsen K, et al. Microalbuminuria. Implications for micro- and macrovascular disease. *Diabetes Care* 1992; 9: 1181-91.
2. Deckert T, Feldt-Rasmussen B, Borch-Johnsen T, et al. Albuminuria reflects widespread vascular damage: the Steno hypothesis. *Diabetologia* 1989; 2: 219-26.
3. Παπάζογλου Ν, Σκαραγκάς Γ, Μανέζ Χ, και συν. Ο παράγων von Willebrand (vWF) σε διαβητικούς τύπου 1 στα πλαίσια της Eurodiab IDDM complications study. *Ελληνικά Διαβητολογικά Χρονικά* 1999; 12: 90-94.
4. Feldt-Rasmussen B. Increased transcappillary escape rate of albumin in type (insulin-dependent) diabetic patients with microalbuminuria. *Diabetologia* 1996; 29: 282-6.
5. Elliot TG, Cockerolt JR, Groop PH, et al. Inhibition of nitric oxide synthesis in forearm vasculature of insulin-dependent diabetic patients: blunted vasoconstriction in patients with microalbuminuria. *Clin Sci* 1993; 845: 687-93.
6. Borch-Johnsen K, Kragh Andersen P, Deckert T. The effect of proteinuria on relative mortality in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1985; 28: 590-6.
7. Krolewski AS, Warram JH, Christlieb AR, et al. The changing natural history of nephropathy in type 1 diabetes. *Am J Med* 1985; 78: 785-94.
8. Meade TW, Chakrabarti R, Haines AP, et al. Haemostasis function and cardiovascular death: early results of prospective study. *Lancet* 1980; 1: 1050-3.
9. Yarnell JW, Sweetnam PM, Elwood PC, et al. Haemostasis factors and ischemic heart disease. The Caerphilly Study. *Br Heart J* 1985; 53: 483-7.
10. Baker IA, Eastham R, Elwood PC, et al. Haemostasis factors associated with ischaemic heart disease in men aged 45 to 64 years. *Br Heart J* 1982; 47: 490-4.
11. Jensen T, Bjerre-Knudsen J, Feldt-Rasmussen B, et al. Features of endothelial dysfunction in early diabetic nephropathy. *Lancet* 1989; 1: 461-3.

12. *Mannucci PM, Giangrande PLF.* Detection of the prethrombotic state due to procoagulant imbalance. *Eur J Haematol* 1992; 48: 65-9.
13. *Furie B, Furie B.* Molecular and cellular biology of blood coagulation. *N Engl J Med* 1992; 326: 800-6.
14. *Wilkes HC, Meade TW, Barzegar S, et al.* Gemfibrozil reduces plasma prothrombin fragment F₁₊₂ concentration, a marker of coagulability in patients with coronary heart disease. *Tromb Haemost* 1992; 67: 503-6.
15. *Mitropoulos KA, Martin JC, Reeves BEA, et al.* The activation of the contact phase of coagulation by physiologic surfaces in plasma: the effect of large negatively charged liposomal vesicles. *Blood* 1989; 73: 1525-33.
16. *Cerrullo A, Giacomello R, Colautto A, et al.* Increased prothrombin fragment 1+2 in type I diabetic patients. *Haemostasis* 1992; 22: 50-1.
17. *Mitropoulos KA, Esnouf MP.* The prothrombin activation peptide regulates synthesis of the vitamin K-dependent proteins in rabbit. *Thromb Res* 1990; 57: 541-59.
18. *Gruden G, Bazzan M, Stella S, et al.* Microalbuminuria in insulin-dependent diabetes is associated with high levels of prothrombin fragment 1+2. *Thromb Res* 1993; 72: 541-6.

Λέξεις κλειδιά:

Διαβήτης τύπου 1,
Μικρολευκωματινουρία,
Προθρομβινικό κλάσμα 1+2

Key words:

Diabetes type 1
Microalbuminuria,
Prothrombin fragment 1+2