

Η συσσώρευση των αιμοπεταλίων, τα επίπεδα του ινωδογόνου και του παράγοντα von Willebrand στον διαβήτη τύπου II

Περίληψη

Γ. Σκαραγκάς
Ε. Ρεπαντά
Κ. Ζαφειρίου
Δ. Κουγιουμτζόγλου
Γ. Τζατζάγου
Ν. Παπάζογλου

Με σκοπό τη μελέτη της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων, των επιπέδων του ινωδογόνου και του παράγοντα von Willebrand (vWF) στο διαβήτη τύπου II, μελετήσαμε τους παραπάνω παράγοντες σε 65 διαβητικούς τύπου II χωρίς διαβητική αγγειοπάθεια, 65 διαβητικούς τύπου II με διαβητική μακροαγγειοπάθεια και σε 60 υγιείς που αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου. Η συσσώρευση των αιμοπεταλίων εκτιμήθηκε με τη βοήθεια του Platelet Aggregation Profiler PAP-4 και βρέθηκαν $1,5 \pm 0,25$ για την ομάδα των υγιών (πρώτη ομάδα), $0,80 \pm 0,28$ για την ομάδα των διαβητικών χωρίς αγγειοπάθεια (δεύτερη ομάδα) και $0,69 \pm 0,23$ για την ομάδα των διαβητικών με μακροαγγειοπάθεια (τρίτη ομάδα). Τα επίπεδα του ινωδογόνου προσδιορίστηκαν με τη βοήθεια του αυτόματου μηχανήματος Coag-amate XC-Plus και ήταν $270 \pm 34,5$ για την πρώτη ομάδα, $355 \pm 37,4$ για τη δεύτερη ομάδα και $480 \pm 37,6$ (mg/dl) για τη τρίτη ομάδα. Τα επίπεδα του αντιγονικού παράγοντα vW μετρήθηκαν με τη μέθοδο Elisa και βρέθηκαν 105 ± 15 (%) για την πρώτη ομάδα, 115 ± 22 (%) για τη δεύτερη ομάδα και 170 ± 28 (%) για τη τρίτη ομάδα. Στους διαβητικούς ασθενείς τύπου II βρέθηκαν αυξημένα επίπεδα ινωδογόνου και παράγοντα von Willebrand, τα οποία μαζί με την αυξημένη συσσώρευση των αιμοπεταλίων (αποτέλεσμα των αυξημένων συγκολλητικών πρωτεϊνών), δημιουργούν μία κατάσταση υπερπηκτικότητας στο ΣΔ που συμβάλλει προφανώς στη παθογένεια της διαβητικής μακροαγγειοπάθειας.

Παθολογική Κλινική &
Αιματολογικό Εργαστήριο
Α΄ Γενικού Νοσοκομείου
«Άγιος Παύλος» Θεσσαλονίκη
(συγκρότημα Φράγκων)

Ο σακχαρώδης διαβήτης (ΣΔ) σχετίζεται κύρια με αγγειακές επιπλοκές, το πλαίσιο της παθογένειας των οποίων αποτελεί αντικείμενο έρευνας εδώ και πολλά χρόνια. Έχει προταθεί, ότι καταστάσεις υπερπηκτικότητας δυνατόν να συνεισφέρουν στο επίπεδο της αγγειακής βλάβης. Η δημιουργία αθηρώματος αρχίζει με την προσκόλληση αιμοπεταλίων στο υπενδοθήλιο, με τη βοήθεια συγκολλητικών πρωτεϊνών. Ο παράγον vW είναι απαραίτητος για την προσκόλληση και την συσσώρευση των αιμοπεταλίων¹. Συντίθεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων και τα μεγακαρουκύτταρα, συνυπάρχει και στα αιμοπετάλια, ενώ τα αυξημένα επίπεδά του μπορούν να θεωρηθούν ως ένδειξη

βλάβης του ενδοθηλιακού κυττάρου²⁻⁴. Ο vWF έχει στο μεγαλομόριό του πολλές πλευρές σύνδεσης με πλασματικούς και μη παράγοντες. Λειτουργεί ως γέφυρα ανάμεσα στα αιμοπετάλια και στο τοίχωμα των αγγείων με τη βοήθεια ειδικών υποδοχέων. Σε συνθήκες υψηλού βαθμού διατημητικής δύναμης, ο vWF συμμετέχει στην προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο υπενδοθήλιο και στο κολλαγόνο. Επίσης συμμετέχει στη σύνδεση των αιμοπεταλίων μεταξύ τους.

Το ινωδογόνο είναι μια πολυσύνθετη γλυκοπρωτεΐνη με μεγάλο μοριακό βάρος. Η ενοχοποίησή του στη νόσο των αγγείων προκύπτει από τις πολλαπλές ιδιότητες του μορίου του που αφορούν στον πηκτικό μηχανισμό ως κεντρικής πηκτικής πρωτεΐνης, στην αύξηση της γλοιότητας του αίματος, στο σχηματισμό δικτύου, στη συσσώρευση και προσκόλληση αιμοπεταλίων και ερυθρών και στην ινωδόλυση. Μετά τη αναγνώριση του ινωδογόνου ως ανεξάρτητου παράγοντα κινδύνου, εκτός των κλασικών παραγόντων για το έμφραγμα του μυοκαρδίου, όπως προέκυψε από τη μελέτη Northwick Park Heart Study⁵. Πολλές προοπτικές μελέτες έδειξαν ότι τα υψηλά επίπεδα ινωδογόνου αποτελούν παράγοντα κινδύνου στην καρδιακή νόσο⁶⁻¹⁰ και στη νόσο των αγγείων του εγκεφάλου^{6,11} και σχετίζεται έντονα με τη θνητότητα των νοσημάτων αυτών¹²⁻⁴¹. Υπάρχουν δε παράλληλες αναφορές, ότι υψηλές συγκεντρώσεις ινωδογόνου αυξάνουν τον κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου σε διαβητικούς¹⁵⁻¹⁷.

Η μελέτη μας αυτή σχεδιάστηκε και πραγματοποιήθηκε για να εκτιμηθούν και να συσχετισθούν τα επίπεδα του ινωδογόνου και του αντιγονικού παράγοντα vW (vWF_{Ag}) σε διαβητικούς ασθενείς τύπου II, μαζί με τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων, όπως αυτή μετρήθηκε μετά από διέγερσή τους με διφωσφορική αδενοσίνη (ADP).

Υλικό και μέθοδοι

Μελετήθηκαν 65 διαβητικοί τύποι II (30 άνδρες και 35 γυναίκες) ηλικίας $59 \pm 10,5$ ετών χωρίς διαβητική αγγειοπάθεια (μικροαγγειοπάθεια, μακροαγγειοπάθεια), 65 διαβητικοί τύπου II (30 άνδρες και 35 γυναίκες) ηλικίας $65 \pm 11,6$ ετών με διαβητική μακροαγγειοπάθεια και 60 υγείς (30 άνδρες και 30 γυναίκες) ηλικίας 60 ± 11 ετών που αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου. Ο έλεγχος της διαβητικής μικροαγγειοπάθειας έγινε με εξέταση του βυθού με Non-Mydriatic Retinal Ca-

mera CR4-45 NM (διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια), εκτίμηση της λευκωματινουρίας (διαβητική νεφροπάθεια) και με κλινική εξέταση και νευροφυσιολογική μελέτη (διαβητική νευροπάθεια). Ο έλεγχος της μακροαγγειοπάθειας έγινε με τη βοήθεια του ιστορικού (στηθάγχης, εμφράγματος μυοκαρδίου, αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου, διαλλείπουσας χωλότητας), της κλινικής εξέτασης και του εργαστηριακού ελέγχου (ΗΚΓ, test κόπωσης, υπερηχοκαρδιογραφικός έλεγχος και υπερηχογραφικός έλεγχος καρωτίδος και αγγείων κάτω άκρων).

Η συσσώρευση των αιμοπεταλίων εκτιμήθηκε με τη βοήθεια ειδικού μηχανήματος του Platelet Aggregation Profiles, PAP-4, μετά από διέγερση των αιμοπεταλίων με ADP (τα αποτελέσματα δόθηκαν με την έννοια του AC50, δηλαδή ο ουδός συγκέντρωσης του ADP για την συσσώρευση καθορίστηκε ως η μικρότερη συγκέντρωση ADP που προκάλεσε αύξηση 50% στη διέλευση του φωτός εντός 3 λεπτών). Τα επίπεδα του vWF_{Ag} μετρήθηκαν με Sandwich Elisa και του ινωδογόνου με χρονομετρική μέθοδο με τη βοήθεια αυτόματου μηχανήματος Coag-Amate XC-Plus. Μετρήθηκαν επίσης τα επίπεδα της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης A1 (χρωματογραφική μέθοδος ανταλλαγής ιόντων σε στήλες, Helena Glyco Hb Quick Column) και υπολογίστηκε ο δείκτης σωματικού βάρους (BMI). Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη βοήθεια του στατιστικού πακέτου STSC (Statgraphics).

Αποτελέσματα

Τα αποτελέσματα των επιπέδων του ινωδογόνου, του vWF_{Ag} και της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων φαίνονται στον πίνακα 1. Τα επίπεδα του ινωδογόνου ήταν στατιστικώς σημαντικά αυξημένα ($p < 0,001$) στους διαβητικούς ασθενείς και των δύο ομάδων σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, αλλά και μεταξύ τους. Το ίδιο βρέθηκε να ισχύει και για τον vWF_{Ag} με σημαντικότερη αύξηση στην ομάδα των διαβητικών με μακροαγγειοπάθεια. Η συσσώρευση των αιμοπεταλίων με ADP βρέθηκε αυξημένη στις ομάδες των διαβητικών και θεωρείται περίπου αναμενόμενη μετά τα ευρήματα από το ινωδογόνο και τον vWF_{Ag}. Βρέθηκε μια ιδιαίτερα έντονη συσχέτιση μεταξύ των ατόμων που εμφάνιζαν υψηλά επίπεδα ινωδογόνου και της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων ($r = 0,6$, $p < 0,001$).

Πίνακας 1. Αποτελέσματα

Ομάδα	Συσσώρευση	Ινωδογόνο	vWFAg
Πρώτη A = 30 Γ = 30	1,5 ± 0,25	270 ± 34,5	105 ± 15%
Δεύτερη A = 30 Γ = 35	0,8 ± 0,28	355 ± 37,4	115 ± 22%
Τρίτη A = 30 Γ = 35	0,69 ± 0,23	480 ± 37,6	170 ± 28%

Συζήτηση

Πρόσφατες και παλαιότερες μελέτες έδειξαν, ότι στον σακχαρώδη διαβήτη υπάρχει μια κατάσταση υπερπηκτικότητας. Τα ευρήματα από τη μελέτη μας δείχνουν ότι τα επίπεδα τόσο του ινωδογόνου όσο και του vWFAg ήταν αυξημένα στους διαβητικούς και ιδιαίτερα στην ομάδα των διαβητικών με μακροαγγειοπάθεια. Είναι γεγονός ότι τα αυξημένα επίπεδα του παράγοντα VII και του ινωδογόνου παρεμβαίνουν ενοχοποιητικά στην όλη φυσική ιστορία της βλάβης της στεφανιαίας νόσου⁷, ενώ από μόνα τους τα αυξημένα επίπεδα του ινωδογόνου θεωρούνται ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου της στεφανιαίας νόσου. Η συσσώρευση των αιμοπεταλίων βρέθηκε αυξημένη στον σακχαρώδη διαβήτη, γεγονός που προσδιορίζει μια αυξημένη ετοιμότητα του αιμοπεταλίου προς την κατεύθυνση της θρόμβωσης ή της συμμετοχής τους στην έναρξη και συνέχιση της αθηρωματικής βλάβης. Οι επιβεβαιωτικές ερμηνείες της αυξημένης συσσώρευσης των αιμοπεταλίων, που δόθηκαν μέχρι τώρα, αφορούσαν στην λειτουργική υπερδραστηριότητά τους που είναι αποτέλεσμα της ενεργοποίησης της κυκλοοξυγενάσης¹⁸⁻²¹. Η διευκρίνιση της συμμετοχής του ινωδογόνου στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων, με τη βοήθεια ειδικών διεγερτών όπως το ADP, της θρομβίνης και της αδρεναλίνης, έκανε κατανοητό τον σημαντικό του ρόλο. Οι διεγέρτες αυτοί αποκαλύπτουν υποδοχείς σύνδεσης του ινωδογόνου που βρίσκονται στο σύμπλεγμα GrIIb-IIIa. Αν δε σκεφθούμε, ότι ανά αιμοπετάλιο υπάρχει δυνατότητα σύνδεσης 44.000 μορίων ινωδογόνου, αντιλαμβάνεται κανείς τη λειτουργική ετοιμότητα του αιμοπεταλίου στο σακχαρώδη διαβήτη με τα αυξημένα επίπεδα ινωδογόνου.

Μελέτες έχουν δείξει ότι υπάρχουν διαταραχές των αιμοστατικών παραμέτρων πριν από την αγγειακή νόσο²². Από τη φυσιολογία είναι γνωστό ότι οι παραμικρές ποσότητες vWF ευνοούν την αλληλεπίδραση σύνδεσης των αιμοπεταλίων μεταξύ τους και με το αγγειακό ενδοθήλιο. Γίνεται λοιπόν κατανοητή η σημασία των αυξημένων επιπέδων του vWF στη παθογένεια της αγγειακής βλάβης.

Το ινωδογόνο αποτελεί πρωτεΐνη οξείας φάσεως. Έχει δε βρεθεί αυξημένο στο ΣΔ σε διαβητικούς με αγγειοπάθεια όσο και χωρίς²³. Επειδή τα αυξημένα επίπεδα ινωδογόνου μπορεί να οφείλονται σε διαβητική μικροαγγειοπάθεια²⁴, σε διαταραχές του μεταβολισμού των λιπιδίων, στο κάπνισμα και σε γενετικούς παράγοντες²⁵, υπάρχει ανάγκη προσεκτικών προοπτικών μελετών, που θα ξεκαθαρίσουν αν τα υψηλά επίπεδα του ινωδογόνου στον ΣΔ αποτελούν αμιγή συνέπεια της αντίδρασης πρωτεΐνης οξείας φάσεως. Τα αυξημένα επίπεδα ινωδογόνου ευθύνονται και για την αυξημένη ευαισθησία των αιμοπεταλίων στο ADP, όπως φάνηκε από την εργασία μας, αλλά και από άλλες εργασίες^{26,27} και με οδό ανεξάρτητο των προσταγλανδινών²⁸.

Πρόσφατες εργασίες προσφέρουν βάσιμα επιχειρήματα, για το ότι η υπεργλυκαιμία και η ινσουλινοαντίσταση οδηγούν σε αυξημένη παραγωγή ινωδογόνου, υποδηλώνοντας ότι τελικά τα υψηλά επίπεδα ινωδογόνου στο πλάσμα αποτελούν ένα παράγοντα κινδύνου για καρδιοαγγειακή νόσο, επειδή αυτό αντανακλά μια αυξημένη δημιουργία θρομβίνης και ως εκ τούτου υπάρχει μια μεγαλύτερη πιθανότητα να συμβεί ένα θρομβωτικό γεγονός²⁹.

Το ινωδογόνο και ο vWF συμβάλλουν με τις δράσεις τους στη βλάβη του αγγειακού ενδοθηλίου, εξαιτίας της επίδρασής του στη λειτουργία των αιμοπεταλίων, στην πήξη και στη γλοιότητα του αίματος. Από εδώ προκύπτει και η σημασία των αυξημένων επιπέδων των παραγόντων αυτών που βρέθηκαν στους διαβητικούς τύπου II.

Summary

Skaragkas G, Repanta E, Zaphiriou K, Kouyoumtzoglou D, Tzatzagou G, Papazoglou N. Platelet aggregation, fibrinogen and von Willebrand factor in type II diabetes mellitus. Hellen Diabetol Chron 1998; 2: 140-143.

Diabetes mellitus is associated with vascu-

lar complications. The vWF is required for the attachment of platelets to the subendothelium has a key role in platelet aggregation. Fibrinogen is required for platelet aggregation and also is major blood glycoprotein that plays an essential role in haemostasis and maintenance of blood viscosity. Platelet aggregation, fibrinogen and vWF of our study were significantly increased in diabetics patients type II with and without clinically evidence vascular disease.

Βιβλιογραφία

1. Bent-Hansen L, Deckert Y. Metabolism of albumin and fibrinogen in type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetes Res* 1988; 7: 159-64.
2. Greaves M, Preston FE. Haemostatic abnormalities in diabetics. In: Garrett RJ (ed). *Diabetes and heart disease*. Elsevier. Amsterdam 1984; 2: 47-84.
3. Greaves M, Pickering C, Knight G, et al. Changes in the factor VIII complex in diabetic ketoacidosis: evidence of endothelial cell damage. *Diabetologia* 1987; 30: 160-5.
4. van de Loo J. Circulating factors of the haemostatic systems as indicators of increased or reduced coronary risk. *Br J Haematol* 1995; 91: 777-82.
5. Meade JW, North ERS, Chkrabarti T, et al. Haemostatic function and cardiovascular death: early results of a prospective study. *Lancet* 1980; i: 1050-4.
6. Wilhelmsen L, Svardsudd K, Korsan-Bengsten K, et al. Fibrinogen as a risk factor for stroke and myocardial infarction. *N Engl J Med* 1984; 311: 501-4.
7. Meade JW, Mellows S, Brozovic M, et al. Haemostatic function and ischemic heart disease: principal results of the Northwick Park heart study. *Lancet* 1986; 2: 533-7.
8. Kannel WB, Wolf PA, Castelli WP, et al. Fibrinogen and risk of cardiovascular disease: the Framingham study. *JAMA* 1987; 258: 1183-6.
9. Baleisen L, Schulte H, Assmann G, et al. Coagulation factors and the progress of coronary heart disease. *Lancet* 1987; i: 462.
10. Yarnell JW, Baker JA, Sneenam PM. Fibrinogen, viscosity and white blood cell count are major risk factors for ischemic heart disease. *Circulation* 1991; 83: 836-44.
11. Qizilbash N, Jones L, Warlow C, et al. Fibrinogen and lipid concentrations as risk factors for transient ischemic attacks and minor ischemic strokes. *Br Med J* 1991; 303: 605-9.
12. Born GVR. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature* 1962; 194: 927-9.
13. Cattaneo M, Mannucci PM. Predictive value of coagulation tests in arterial thrombosis. *Ric Clin Lab* 1988; 18: 1-7.
14. Christe M, Delley A, Marbet G-A, et al. Fibrinogen, factor VIII related antigen, antithrombin III and alpha2-antiplasmin in peripheral arterial disease. *Thromb Haemost* 1984; 52: 240-2.
15. Criste M, Gattlen P, Frinisch J, et al. The contact phase of blood coagulation in diabetes mellitus and in patients with vasculopathy. *Thromb Haemost* 1984; 52: 221-3.
16. Kannel WB, D'Agostino RB, Wilson PW, et al. Diabetes, fibrinogen and risk of cardiovascular disease: the Framingham experience. *Am Heart J* 1990; 120: 672-6.
17. Ganda OP, Arkin CH. Hyperfibrinogenemia. An important risk factor for vascular complications in diabetes. *Diabetes Care* 1992; 15: 1245-50.
18. Jaluska PV, Lurie D, Colwell JA. Increased synthesis of prostaglandin E-like material by platelets from patients with diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1977; 297: 1306-10.
19. Chase HP, Willisms RL, Dupont J. Increased prostaglandin synthesis in childhood diabetes mellitus. *Journal of Pediatrics* 1979; 94: 185-9.
20. Stuart MJ, Etrad H, Graeber JE, et al. Increased synthesis of prostaglandin endoperoxides and platelet hyperfunction in infants of mothers with diabetes mellitus. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1979; 94: 12-7.
21. Halushka PV, Rogers RC, Loadholt CB, Colwell JA. Increased platelet thromboxane synthesis in diabetes mellitus. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1981; 97: 87-96.
22. Myreng Y, Ayrnes I, Hjrmann I, et al. Von Willebrand factor and cardiovascular risk. *Thromb Res* 1985; 41: 867-71.
23. Σκαρλακάς Γ, Ρεπαντά Ε, Ζαφειρίου Κ, Σποροπούλου Ε, Παπάζογλου Ν, Χατσάρας Δ, Γότσης Ν. Η αύξηση του ινωδογόνου του πλάσματος παράγων κινδύνου στη διαβητική μικροαγγειοπάθεια. *Ελληνικά Διαβητολογικά Χρονικά* 1993; 6: 128-33.
24. Silveira AMW, Yamamoto T, Adamsson L, et al. Application of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to von Willebrand factor (vWF) and its derivatives. *Thromb Res* 1986; 43: 91-102.
25. Smith EB. Fibrinogen, fibrin and fibrin degradation products in relation to atherosclerosis. *Clin Haematol* 1986; 15: 355-60.
26. Christe M, Fritschi J, Lammler B, et al. Fibrinogen, coagulation and fibrinolysis parameters in diabetes mellitus and in patients with vasculopathy. *Thromb Haemost* 1984; 42: 138-43.
27. Davi G, Rini GB, Averna M, Novo S, et al. Thromboxane A2 formation and non-platelet sensitivity to prostacyclin in insulin-dependent and insulin-independent diabetics. *Thromb Res* 1982; 26: 359-70.
28. DiMinno G, Siver MJ, Cerbone AM, et al. Increased binding of fibrinogen to platelets in diabetes: the role of prostaglandin and thromboxane. *Blood* 1985; 65: 156-62.
29. Ceriello A. Fibrinogen and diabetes mellitus: is it time for intervention trials? *Diabetologia* 1997; 40: 731-4.

Ευχαριστίες

Οι συγγραφείς θεωρούν υποχρέωση τους να ευχαριστήσουν την κα Λαζαρίδου Χριστίνα, τεχνολόγο παρασκευάστρια για την εργαστηριακή βοήθεια κατά την εκπόνηση αυτής της μελέτης.