

to P64—69kD antigenic complex. Characteristic features of cellular immunity of patients with newly-detected diabetes were disclosed. Counts of B lymphocytes and Dr-T lymphocytes were increased in all patients. A relationship was

revealed between immunoregulatory Th/Ts index and clinical features of insulin-dependent diabetes. Autoantibodies to p64—68 kD antigenic complex were detected in 63-88 % of patients with newly detected insulin-dependent diabetes.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1994
УДК 615.31:547.495.2].015.4.07

М. А. Максумова, И. А. Собенин, М. И. Балаболкин, А. Н. Орехов

АТЕРОГЕННЫЙ ЭФФЕКТ САХАРОПОНИЖАЮЩИХ ПРЕПАРАТОВ ГРУППЫ СУЛЬФОНИЛМОЧЕВИНЫ И ЕГО УСТРАНЕНИЕ С ПОМОЩЬЮ ПАПАВЕРИНА ХЛОРИДА

Эндокринологический научный центр (дир.— член-корр. РАМН И. И. Дедов) РАМН, Кардиологический научный центр (дир.— акад. Е. И. Чазов) РАМН, Москва

В 70-х годах Университетская группа по изучению диабета (UGDP, США) сообщила о возрастании смертности от сердечно-сосудистых заболеваний при лечении больных сахарным диабетом толбутамидом [27]. В ряде последующих работ эти данные не были подтверждены [12, 18, 24], в то же время результаты UGDP стимулировали исследования возможного сердечно-сосудистого эффекта препаратов сульфонилмочевины [11, 14, 19].

Недавно нами были получены предварительные данные о способностях препаратов сульфонилмочевины второй генерации в моделях *in vitro* и *in vivo* вызывать накопление внутриклеточного холестерина в культивируемых перитонеальных макрофагах мышей [4]. Следующим этапом нашей работы явилась попытка устранения атерогенного эффекта, вызванного сульфонилмочевойной.

С этой целью был выбран папаверин, так как антиатерогенное действие этого средства было недавно выявлено в экспериментах (показана способность папаверина устранять атерогенный эффект β -адреноблокаторов) [1].

Материалы и методы

Для оценки влияния препаратов сульфонилмочевины и папаверина на атерогенность сывороток крови были обследованы 9 больных сахарным диабетом II типа: 6 женщин и 3 мужчин в возрасте от 41 года до 52 лет. Средний уровень холестерина составлял $6,1 \pm 0,8$ ммоль/л, триглицеридов — $2,1 \pm 0,7$ ммоль/л, гликемия натощак — $8,7 \pm 1,8$ ммоль/л. Длительность заболевания от 2 мес до 10 лет.

В исследовании были использованы препараты глипизид («Farmitalia Carlo Erbo», Милан, Италия) — минидиаб, глибенкламида («VEB Arzneimittelwerk», Дрезден, Германия) — манинил, гликлазида (лаборатория Сервье, Франция) — предиап и папаверина (Ташкентский химико-фармацевтический завод).

Трое больных получали манинил, трое — минидиаб и трое — предиап. Венозную кровь для исследования брали непосредственно перед приемом препарата, а также через 2 и 4 ч после приема гликлазида (80 мг) или глипизид (5 мг) и через 4 и 6 ч после приема глибенкламида (5 мг). На следующий день больной принимал тот же препарат сульфонилмочевины в той же дозе и папаверин (40 мг). Кровь брали в те же часы. Для получения сыворотки кровь инкубировали в течение 1 ч при комнатной температуре и центрифугировали в течение 15 мин при 1500 об/мин.

Перитонеальные макрофаги мышей получали от животных линии BALB/c по методу О. Adams. Выделенные клетки суспендировали в среде 199, содержащей 10 % эмбриональную телячью сыворотку (ЭТС), 2 ммоль/л глутамина, 100 ЕД/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 2,5 мкг/мл фунгизона (все реактивы фирмы «Gibco», Великобритания). Клетки инкубировали при 37 °С в течение 3 ч в CO₂-инкубаторе.

Атерогенный эффект сывороток крови больных определяли по накоплению внутриклеточного холестерина при инкубации перитонеальных макрофагов в среде 199, содержащей 10 % исследуемой сыворотки крови больных в течение 3 ч. Контрольные клетки инкубировали в среде 199 с 10 % ЭТС без добавления сывороток крови.

Непосредственное влияние препаратов на содержание внутриклеточного холестерина определяли при инкубации клеток в течение 3 ч в среде 199, содержащей 10 % ЭТС, а также препараты в указанных в таблице концентрациях.

Содержание внутриклеточного холестерина определяли ферментативным методом с помощью наборов фирмы «Boehringer Mannheim», Германия. Содержание клеточного белка измеряли по методу Lowry [21]. Достоверность различий определяли с помощью двустороннего теста Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

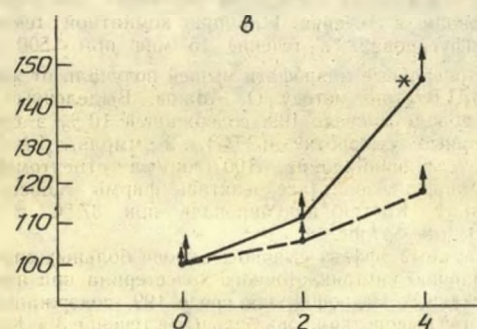
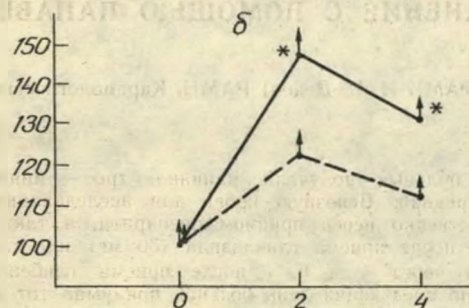
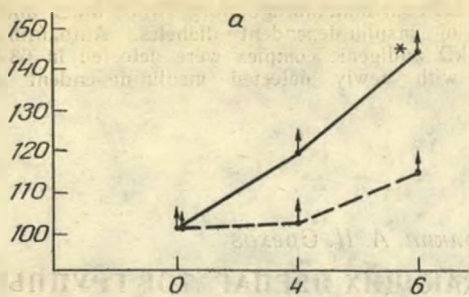
Глибенкламид, глипизид и гликлазид *in vitro* в концентрации 10^{-4} моль/л вызывали 1,5-кратное повышение содержания холестерина в культивируемых перитонеальных макрофагах мышей. Папаверин в концентрациях 10^{-4} — 10^{-8} моль/л не влиял на уровень внутриклеточного холестерина (см. таблицу).

Добавление папаверина в культуральную среду, содержащую 10^{-4} моль/л глибенкламида, глипи-

Влияние препаратов сульфонилмочевины (СМ) и их комбинации с папаверином на содержание холестерина в культуре клеток

Препарат СМ	Контроль	СМ, 10^{-4} моль/л	СМ (в 10^{-4} ммоль/л) + папаверин в концентрации (в моль/л)				
			10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
Глибенкламид	100±6	148±6*	123±6**	103±6**	116±1**	135±3*	140±4*
Глипизид	100±5	146±3*	119±9**	103±11**	116±5**	124±3**	145±6*
Гликлазид	100±10	150±10*	120±7**	111±7**	130±8**	140±7*	145±7*

Примечание. Накопление холестерина в клетках, культивированное в среде 199 с 10 % ЭТС без добавления препаратов, принято за 100 %. Одна звездочка — достоверное накопление холестерина в клетках, $p < 0,05$, две — достоверное снижение атерогенного эффекта СМ, $p < 0,05$.



Влияние папаверина на фоне приема глибенкламида (а), глипизиды (б) и гликлазида (в) на атерогенность, индуцированную препаратами сульфонилмочевины.

Сплошная линия — препарат сульфонилмочевины; пунктирная — препарат сульфонилмочевины + папаверин (1 таблетка, 40 мг). Звездочка — достоверное повышение атерогенности, $p < 0,05$. По оси ординат — атерогенность (в % от исходной); по оси абсцисс — время (в ч).

зида или гликлазида, приводило к достоверному снижению атерогенного действия препаратов сульфонилмочевины. Этот эффект наблюдался при концентрациях папаверина 10^{-4} , 10^{-5} и 10^{-6} моль/л и отсутствовал при более низких концентрациях (см. таблицу). Максимальное снижение атерогенного действия препаратов сульфонилмочевины наблюдалось при концентрации папаверина 10^{-5} моль/л (практически полное его устранение).

Данные об антиатерогенном действии папаверина были подтверждены в экспериментах *in vivo*. Сыворотки крови 3 больных исходно не давали атерогенный эффект, у других 6 больных сыворотки крови обладали умеренно выраженными атерогенными свойствами (накопление внутриклеточного холестерина составило до 32 %). Низкий уровень атерогенного потенциала можно объяснить тем, что данное исследование было проведено у больных, недавно заболевших сахарным диабетом.

На рисунке представлены данные о влиянии папаверина на атерогенный потенциал сыворотки крови, индуцированный приемом препаратов сульфонилмочевины. Папаверин значительно снизил атерогенность, индуцированную приемом препара-

тов сульфонилмочевины (манинилом, минидиабом и предиабом). Необходимо отметить, что папаверин (1 таблетка, 40 мг) снизил атерогенный эффект препаратов сульфонилмочевины в среднем на 60 %, но не устранил его полностью.

В сообщениях UGDP была выдвинута гипотеза, что производные сульфонилмочевины могут отчасти увеличивать смертность от сердечно-сосудистых заболеваний у больных сахарным диабетом [27]. Хотя был исследован только один препарат из класса сульфонилмочевины — толбутамид, это предположение может касаться и других препаратов данной группы ввиду их сходной химической структуры и характера действия [15]. Впоследствии выводы UGDP подверглись существенной критике, поскольку дальнейшие исследования не обнаружили превалирования смертности от сердечно-сосудистой патологии при применении сульфонилмочевины по сравнению с другими методами лечения [2, 3, 9, 12, 18, 24, 25]. Это побудило многих авторов изучить возможный сердечно-сосудистый эффект производных сульфонилмочевины [11, 14, 17, 19, 20, 23]. Имеются данные, что препараты сульфонилмочевины приводят к повышению артериального давления [8, 28] и увеличивают сократительную деятельность миокарда у многих видов животных [6, 13]. Положительный инотропный эффект толбутамида и других препаратов из группы сульфонилмочевины был продемонстрирован *in vitro* [19]. Инотропные эффекты увеличивают потребление кислорода миокардом [10] и способствуют расширению зоны экспериментального инфаркта миокарда [22].

Е. Негман и соавт. [16] обнаружили, что толбутамид увеличивает токсичность сердечных гликозидов. Это явление может отчасти объяснить увеличение смертности от сердечно-сосудистой патологии у больных диабетом [26]. При приеме сульфонилмочевины обнаружено ухудшение трофики миокарда [5]. Другими авторами [7] показано увеличение в 2 раза частоты инфаркта миокарда при лечении сульфонилмочевинной по сравнению с лечением только диетой.

Окончательного мнения о влиянии препаратов сульфонилмочевины на развитие атеросклероза при сахарном диабете нет. Раннее влияние сульфонилмочевины на содержание холестерина в культивируемых клетках не исследовалось. Нами в предыдущей работе показано атерогенное действие препаратов сульфонилмочевины в культуре перитонеальных макрофагов мышей [4]. Механизм такого атерогенного действия остается неясным. Возможно, он является рецепторопосредованным, и взаимодействие сульфонилмочевины и/или его активных метаболитов с культивируемыми клетками приводит к существенным изменениям в регуляции липидного гомеостаза на клеточном уровне.

Недавно было показано, что папаверин может устранять атерогенный эффект некоторых лекарственных препаратов, например β -адреноблокаторов [1]. В настоящей работе мы попытались устранить с помощью папаверина атерогенный эффект сульфонилмочевины.

Если после приема глибенкламида, глипизиды и гликлазида наблюдался рост атерогенности сывороток крови, то в результате одновременного

приема препаратов сульфонилмочевины и папаверина этот эффект значительно уменьшался. Сходные данные получены *in vitro*. Механизм наблюдавшегося антиатерогенного действия папаверина не имеет достаточного теоретического и экспериментального обоснования. Можно предположить, что антиатерогенный эффект папаверина опосредуется через изменения в содержании цАМФ или ионизированного кальция в клетках, но эти предположения нуждаются в подтверждении.

Вывод

Атерогенный эффект препаратов сульфонилмочевины второго поколения глибенкламида, глипизиды и гликлазида снижается с помощью папаверина как *in vitro*, так и *in vivo*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андрианова И. В. Изменения структуры и химического состава внутренней оболочки аорты кролика при механическом повреждении в условиях нормолипидемии, гиперхолестеринемии и при введении некоторых фармакологических препаратов: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— М., 1991.
2. Балян С. А., Боровик С. Н., Черкасов И. А. // Пробл. эндокринологии.— 1976.— № 6.— С. 14.
3. Баранов В. Г., Гаспарян Э. Г. // Там же.— 1983.— № 1.— С. 3—7.
4. Конгресс молодых ученых по клинической медицине: Тезисы докладов.— Киев, 1992.
5. Хандиян А. Г. Влияние противодиабетических препаратов на коронарное кровообращение и трофику миокарда у больных сахарным диабетом: Дис. ... канд. мед. наук.— Ереван, 1988.
6. Boyle D., Bhatic S. R., Tradden D. R. et al. // Lancet.— 1972.— Vol. 1.— P. 338.
7. Brown J. D. // Diabetes.— 1974.— Vol. 23, Suppl. 1.— P. 366.
8. Christlieb A. R. // J. Cardiol.— 1973.— Vol. 32.— P. 592—606.
9. Constam G. R. // Diabetologia.— 1971.— Vol. 7.— P. 237—239.
10. Covell J. W., Braunwald E., Ross J., Sonnenblick E. H. // J. clin. Invest.— 1966.— Vol. 45.— P. 1529—1535.
11. Curtis G. P., Setchell I., Zuckhesi B. R. // J. Pharmacol. exp. Ther.— 1975.— Vol. 194.— P. 264—273.
12. Drury M. J., Timoney F. J. // Acta diabetol. lat.— 1972.— Vol. 9.— P. 645—650.
13. Graham T. P., Covell J. W., Sonnenblick E. H. // J. clin. Invest.— 1968.— Vol. 47.— P. 375.

14. Gross M. F., Shanheimer R. G., Stone D. B., Brown R. J. // Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.).— 1973.— Vol. 142.— P. 861—866.
15. Hadden D. R., Weader J. A. // Lancet.— 1972.— Vol. 1.— P. 335.
16. Herman E. H., Krop S., Jordan W. // Pharmacology.— 1982.— Vol. 24.— P. 111—117.
17. Joung J. L., Burr I. M., Perry I. M. et al. // Amer. Heart J.— 1975.— Vol. 89.— P. 189—194.
18. Kilo C., Miller J. Ph., Williamson J. R. // J. A. M. A.— 1980.— Vol. 243.— P. 450—457.
19. Lasseter K. C., Levey G. S., Palmer R. F. et al. // J. clin. Invest.— 1972.— Vol. 51.— P. 2429—2434.
20. Levey G. S., Lasseter K. C., Palmer R. F. // Ann. Rev. Med.— 1974.— Vol. 25.— P. 69—74.
21. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. // J. biol. Chem.— 1951.— Vol. 193.— P. 265.
22. Maroko P. R., Burton F. et al. // Circulation.— 1971.— Vol. 43.— P. 67.
23. Melander A., Lebovitz H. E. et al. // Diabet. Care.— 1990.— Vol. 13, Suppl. 3.— P. 18—25.
24. Paasikivi J. // Acta diabetol. lat.— 1971.— Vol. 8, Suppl. 1.— P. 437.
25. Pogatsa G., Dubecz E. // Diabetologia.— 1977.— Vol. 13.— P. 515—519.
26. Pogatsa G., Koltai M. Z., Bolkanyi J. et al. // Acta physiol. hung.— 1988.— Vol. 71, N 2.— P. 243—250.
27. The University Group Diabetes Program // Diabetes.— 1970.— Vol. 19, Suppl. 2.— P. 789—815.
28. Wales I. K., Grant A. M., Walff E. W. // J. Pharmacol. exp. Ther.— 1971.— Vol. 178.— P. 130—140.

Поступила 29.04.93

M. A. Maxumova, I. A. Sobenin, M. I. Balabolkin, A. N. Orekhov — ATHEROGENIC EFFECT OF SUGAR-REDUCING SULFONYLUREA DRUGS AND ITS ELIMINATION BY PAPAVERIN

Summary. Effects of oral sugar-reducing sulfonylurea drugs, glybenclamide, glipizide, and glyclaside, on intracellular cholesterol level of murine peritoneal macrophages were studied, as were papaverin effects on atherogenicity induced by sulfonylurea derivatives. Direct effect of sulfonylurea preparations and of blood sera from patients with type II diabetes on atherogenic potential after the said drugs intake were studied in cell cultures. All the drugs mentioned increased intracellular cholesterol level by 1.5 times both *in vitro* and *in vivo*. Papaverin, if administered simultaneously with sulfonylurea drugs, markedly reduced atherogenic potential induced by these drugs. Addition of papaverin to culture medium containing 10^{-4} mole/liter of sulfonylurea drugs resulted in a reliable reduction of their atherogenic effect, the maximal effect being observed at papaverin concentration 10^{-5} mole/liter. Hence, papaverin is capable of eliminating an unfavorable atherogenic effect of sulfonylurea drugs.

© И. И. СЫСОВЕВА, И. И. ДЕДОВ, 1994

УДК 616.453-008.61-07:[616.831.41+616.432+616.45]-008.6

И. И. Сысоева, И. И. Дедов

ДОФАМИНЕРГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-НАДПОЧЕЧНИКОВОЙ СИСТЕМЫ ПРИ БОЛЕЗНИ ИЦЕНКО — КУШИНГА

Эндокринологический научный центр (дир. — член-корр. РАМН И. И. Дедов) РАМН, Москва

Трактовка вопросов, относящихся к патогенетическим механизмам болезни Иценко — Кушинга, претерпела уже не одно изменение. Но несмотря на достаточное количество экспериментальных и клинических работ, представления о происхождении заболевания до сих пор во многом являются дискуссионными. В первую очередь это касается оценки роли дофаминергической системы в регуляции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси. На выраженное истощение до-

фаминергических нервных путей при болезни Иценко — Кушинга указывают многие авторы [1, 2, 4]. Это обосновывает с целью уточнения патогенеза заболевания применение функциональных проб с препаратами, оказывающими влияние на обмен биогенных аминов.

Целью настоящего исследования явилось изучение особенностей действия на активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы у больных болезнью Иценко — Кушинга в