

логичен гену  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -АТФазы 7, которая осуществляет обмен ионов натрия и водорода. Ген LOC257039 гомологичен гену S17, кодирующему рибосомный белок субъединицы 40S рибосом, ген LOC285328 гомологичен гену GM2, кодирующему один из компонентов комплекса, расщепляющего ганглиозиды. Все эти гены, в первую очередь ген  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -АТФазы 7, могут рассматриваться в качестве генов-кандидатов, определяющих развитие ДН.

Среди ряда моделей, объясняющих роль и взаимодействие генетических и метаболических факторов в развитии сосудистых осложнений, в частности ДН, на наш взгляд, наиболее правомочен "смешанный" вариант, предполагающий, что некоторые гены, в том числе, возможно, один "главный", могут интерферировать с метаболическими факторами риска и инициировать ДН, тогда как другие гены больше влияют на скорость ее развития. Опираясь на наши данные [3] и результаты геномного поиска, проведенного в США [18], можно предположить, что в области q21—q25 хромосомы 3 находится именно "главный" ген. Следует отметить, что положительные результаты, полученные разными методами на 2 неродственных популяциях, значительно увеличивают вероятность того, что этот "главный" ген находится именно в данном районе хромосомы 3.

## Выводы

1. Полученные в настоящей работе данные показывают, что гены АРОЕ и АРОВ, продукты которых играют центральную роль в метаболизме липидов, вовлечены в патогенез ДН у русских, больных СД типа 1, проживающих в Москве.

2. Носители аллеля E3 и генотипа E3/E3 полиморфного маркера E2/E3/E4 гена АРОЕ имеют повышенный риск развития ДН. Носители аллеля I и генотипа II полиморфного маркера I/D гена АРОВ имеют повышенный риск развития ДН, в то время как носители аллеля D, напротив, имеют пониженный риск развития ДН.

3. В хромосомной области 3q21—q25 обнаружена ассоциация с ДН группы полиморфных микросателлитов. Наиболее сильная ассоциация обнаружена для маркера D3S1550. Значительно более вы-

сокий риск развития ДН имели носители аллеля 12 (OR = 4,85) и генотипа 12/14 (OR = 6,25).

4. По всей видимости, в хромосомной области 3q21—q25 находится "главный" ген, инициирующий развитие ДН, тогда как другие гены, ассоциированные с ДН, в большей мере влияют на скорость ее прогрессии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Горашко Н. М., Шестакова М. В., Чистяков Д. А. и др. // Сахарный диабет. — 2002. — № 1. — С. 38—42.
2. Носиков В. В. // Молекул. биол. — 2004. — Т. 38. — С. 150—164.
3. Савостьянов К. В., Чистяков Д. А., Шестакова М. В. и др. // Молекул. биол. — 2002. — Т. 36. — С. 1015—1020.
4. Araki S., Moczulski D. K., Hanna L. et al. // Diabetes. — 2000. — Vol. 49. — P. 2190—2195.
5. Araki S.-I., Koya D., Makiishi T. et al. // Diabetes Care. — 2003. — Vol. 26. — P. 2416—2420.
6. Boerwinkle E., Chan L. // Nucl. Acids Res. — 1989. — Vol. 17. — P. 4003.
7. Brown M. S., Goldstein J. L. // Science. — 1986. — Vol. 232. — P. 34—47.
8. Budowle B., Baechtel F. S. // Appl. Electrophor. — 1990. — Vol. 1. — P. 181—187.
9. Chiodini B. D., Barlera S., Franzosi M. G. et al. // Atherosclerosis. — 2003. — Vol. 167. — P. 355—366.
10. Chowdhury T. A., Dyer P. H., Kumar S. et al. // Diabetes. — 1998. — Vol. 47. — P. 278—280.
11. Eto M., Horita K., Morikawa A. et al. // Clin. Genet. — 1995. — Vol. 48. — P. 288—292.
12. Hadjadj S., Gallois J., Simard G. et al. // Nephrol. Dial. Transplant. — 2000. — Vol. 15. — P. 1971—1976.
13. Hixson J. E., Vernier D. T. // J. Lipid Res. — 1990. — Vol. 31. — P. 545—548.
14. Hutchon D. J. R. [http: Calculator for confidence intervals for odds ratio unmatched case control study](http://calculatorforconfidenceintervalsforoddsratio unmatched case control study).
15. Johns M. B., Paulus-Thomas J. E. // Anal. Biochem. — 1989. — Vol. 180. — P. 276—278.
16. Kimura H., Suzuki J., Gejyo F. // Am. J. Kidney Dis. — 1998. — Vol. 31. — P. 666—673.
17. Miettinen T. A. // Ann. Med. — 1991. — Vol. 23. — P. 181—186.
18. Moczulski D. K., Rogus J. J., Antonellis A. et al. // Diabetes. — 1998. — Vol. 47. — P. 1164—1169.
19. Olofsson S.-O., Bjursell G., Boström K. et al. // Atherosclerosis. — 1987. — Vol. 68. — P. 1—17.
20. Scherbak N. S. // Med. Genet. — 2001. — Vol. 2. — P. 8.
21. Tarnow L., Stehouwer C. D., Emeis J. J. et al. // Nephrol. Dial. Transplant. — 2000. — Vol. 15. — P. 625—630.
22. Ukkola O., Kervinen K., Salvela P. I. et al. // Atherosclerosis. — 1993. — Vol. 101. — P. 9—15.
23. Werle E., Fiehn W., Hasslacher C. // Diabetes Care. — 1998. — Vol. 21. — P. 994—998.

Поступила 08.09.04

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2005

УДК 616.833-02:616.379-008.641-092-085.356

М. И. Балаболкин, В. М. Креминская, Е. М. Клебанова

## РОЛЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ПАТОГЕНЕЗЕ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИИ И ВОЗМОЖНОСТЬ ЕГО КОРРЕКЦИИ ПРЕПАРАТАМИ $\alpha$ -ЛИПОВОЙ КИСЛОТЫ

Институт диабета ЭНЦ РАМН, Москва, кафедра эндокринологии и диабетологии ФППО ММА им. И. М. Сеченова

Исследованиями последних лет установлена четкая корреляционная зависимость между гипергликемией и степенью выраженности окислительного стресса, наличие которого сопровождается ак-

тивированием процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), в том числе липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), ингибированием синтеза эндотелиального оксида азота, увеличением синте-

за провоспалительных адгезивных молекул — сосудисто-клеточной адгезивной молекулы 1 (VCAM-1) и внутриклеточной адгезивной молекулы 1 (ICAM-1), гиперреактивностью гладкомышечных клеток сосудов (СМВС) к сосудосуживающим стимулам, способствуя развитию изменений сосудистой стенки и сосудистых осложнений диабета, включая диабетическую нейропатию [4]. Окислительный стресс является неотъемлемой частью метаболических нарушений, инициирующих перечисленные механизмы развития поздних сосудистых осложнений сахарного диабета.

Кислород, с одной стороны, является необходимым элементом для поддержания жизни любого организма и нормального обмена веществ, а с другой — может быть источником свободных радикалов, избыточное образование которых происходит в условиях окислительного стресса, приводя к повреждению клеток, тканей, органов и систем организма.

Свободные радикалы могут возникать в организме в избыточном количестве вследствие радиоактивного и ультрафиолетового облучения, курения, избыточного потребления жиров и углеводов при недостаточном их расходе, при гиподинамии с ее низким уровнем биологического ферментативного окисления, сопровождающимся снижением восстановления пиридиннуклеотидов, а также под воздействием электромагнитного поля, различных внешних химических веществ, загрязнения воздуха, гипероксии и др. Избыточное количество свободных радикалов наблюдается при снижении поступления биоантиоксидантов, таких как токоферол, аскорбиновая кислота, флавоноиды, и уменьшении активности антиоксидантных ферментов, что встречается при врожденных энзимопатиях антиоксидантных систем или в нормальных условиях у лиц пожилого возраста. Установлено, что с увеличением возраста активность ферментов антиоксидантной системы снижается. Кроме того, свободные радикалы или супероксиды образуются с участием клеточных оксидазных систем, ксантиноксидазы и НАД/НАДФ-оксидазы в организме при обмене веществ, в процессе которого происходит их генерация. Различные ксенобиотики, в том числе алкоголь, в процессе их окисления в цитохром Р-450-опосредованном комплексе также генерирует повышенное их количество.

Избыточное количество свободных радикалов образуется в процессе воспалительных реакций как следствие участия в этих процессах компонентов комплемента и цитокинов, таких как фактор некроза опухолей  $\alpha$  (ФНО $\alpha$ ), интерлейкины (ИЛ) 1- $\beta$  и 2. Окислительный стресс или дыхательный взрыв фагоцитов может быть спровоцирован различными хемотаксическими факторами, в частности компонентами комплемента. Нарушение метаболизма глюкозы, гипергликемия, повышение аутоокисления глюкозы и ее участие в процессах гликирования белков сопровождается повышенным образованием свободных радикалов. Более подробно о роли и участии свободных радикалов в патогенезе сосудистых осложнений диабета было ранее доложено нами в соответствующих публикациях [2, 5].

Окислительный стресс — это нарушение в организме баланса между прооксидантами и системой антиоксидантной защиты, который в различной степени выраженности сопровождается дефицитом инсулина или инсулинорезистентностью, являющиеся одним из обязательных компонентов патогенеза сосудистых осложнений диабета.

Установлено, что окислительный стресс при сахарном диабете может быть следствием нескольких механизмов: а) повышенного образования реактивных оксидантов, образующихся при окислении как самих углеводов, так и углеводов, комплексирующихся с различными белками, а также в результате аутоокисления жирных кислот в триглицеридах, фосфолипидах и эфирах холестерина; б) снижения активности антиоксидантной системы в организме, которая представлена глутатионом, глутатионпероксидазой, каталазой, супероксиддисмутазой, витаминами К, Е и С и другими антиоксидантами (таурин, каротен, мочевиная кислота и убиквинол); в) нарушения ферментов полиолового обмена глюкозы, митохондриального окисления, обмена простагландинов и лейкотриенов и снижением активности глиоксалазы; г) нарушения концентрации или обмена глутатиона и ионов некоторых металлов.

Кроме того, ишемия, гипоксия и псевдогипоксия тканей, наблюдаемая при сахарном диабете, являются дополнительными факторами, способствующими повышенному образованию реактивных оксидантов в различных органах и тканях.

Свободнорадикальное окисление липидов является неотъемлемой частью многих жизненно важных процессов организма на всех уровнях: от регуляции активности внутриклеточных ферментов до регуляции сердечно-сосудистой системы, внешнего дыхания, нервной регуляции сократительной функции желудка, капилляров, апоптоза и участия в экспрессии различных генов, ответственных за синтез белков, необходимых для обеспечения нормальных физиологических процессов и участвующих в развитии патологических структур различных тканей организма. Свободные радикалы участвуют в переносе электрона флавиновыми элементами, обновлении состава липидов биомембран, окислительном фосфорилировании в митохондриях, митогенезе, проведении нервного импульса и др. Продуктами ПОЛ являются предшественники простагландинов и их производных — тромбоксанов и простациклина. Постоянно протекающие в клеточных мембранах реакции пероксидации способствуют обновлению их липидного состава и поддержанию соответствующей активности всех липидзависимых мембранно-связанных ферментов, к которым относятся практически все ферментные системы организма. ПОЛ, таким образом, является необходимым участником поддержания структурного гомеостаза организма [6]. Для поддержания ПОЛ на определенном оптимальном уровне в организме оперирует несколько компонентов антиоксидантной системы организма, различающихся по своим свойствам. Этими компонентами являются различные антиоксиданты, которые представлены следующими группами соединений: а) ферменты: супероксиддисмутазы, катала-

за, глутатионпероксидаза, глутатионтрансфераза, селензависимый глутатион, тиоредоксингидропероксидаза, метионинсульфоксидредуктаза, пероксиддисмутаза; б) фитонутриенты: витамины С и А, семейство токоферолов (4 соединения токоферолов —  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - и  $\delta$ -токоферолы и 4 соединения токотриенолов), каротины (около 500 соединений), флавоноиды и полифенолы (около 4000—5000 соединений), селен и различные микроэлементы; в) тиоктовая, или липоевая, кислота и ее восстановленная форма липоат (в восстановлении липоевой кислоты участвует несколько ферментов — глутатионредуктаза, тиоредоксинредуктаза и липамиддегидрогеназа); г) секвестранты металлов: альбумин, трансферрин, ферритин, гемопексин; д) другие антиоксиданты: билирубин, глутатион, таурин, убихинон (убиквинол, убифенол), ураты.

В организме постоянное количество витамина Е поддерживается сложной системой, которая включает в себя 3 синхронно работающих цикла: цикл витамина Е, цикл витамина С и тиоловый (тиоктовый) цикл. Витамин Е ( $\alpha$ -токоферол) "гасит" свободные радикалы окисленных полуненасыщенных жирных кислот, являясь "ловушкой радикалов", т. е. перехватывает свободный электрон, образуя хроманоксильный или феноксильный радикал витамина Е. Образовавшийся феноксильный или хроманоксильный радикал витамина Е представляет собой потенциальную угрозу для возможного нового окисления полиненасыщенных жирных кислот. Инактивация или рециклирование (регенерация) витамина Е осуществляются двумя путями: путем взаимодействия 2 феноксильных радикалов и взаимодействием с аскорбиновой кислотой (аскорбатом) и образованием радикалов аскорбата и полностью окисленной формы витамина С — дегидроаскорбата. Восстановление радикалов аскорбата и дегидроаскорбата, т. е. регенерация в аскорбиновую кислоту, осуществляется в митохондриях при участии митохондриальной НАДН-цитохром  $b_5$ -редуктазы или митохондриальной НАДН-семидегидроаскорбатредуктазы, а в цитозоле клетки — при участии цитозольной НАДФН-дегидроаскорбатредуктазы или цитозольной глутатиондегидроаскорбатредуктазы.

Указанная регенерация радикалов аскорбата в аскорбиновую кислоту происходит при обязательном участии тиолового цикла или цикла  $\alpha$ -липоевой кислоты.  $\alpha$ -Липоевая кислота является уникальным соединением, так как ее восстановительный потенциал (-320 мВ) даже ниже по сравнению с таковым глутатиона (-280 мВ). Восстановленная форма  $\alpha$ -липоевой кислоты способна без ферментов принимать участие в регенерации витамина С в организме, который, как указано выше, является эссенциальным для генерации витамина Е.

Доказательством участия липоевой кислоты в регенерации витамина Е является работа М. Podda и соавт. [26], которые показали, что мыши, получающие пищу, лишенную витамина Е, быстро теряли в массе и погибали. При добавлении в пищу липоевой кислоты из расчета 1,65 г/кг животные сохраняли нормальную двигательную активность, не отмечалось снижения массы тела и других признаков недостаточности витамина Е.

Восстановленная  $\alpha$ -липоевая кислота переводит (рециклирует) радикалы аскорбата в аскорбиновую кислоту. Помимо этого,  $\alpha$ -липоевая кислота может взаимодействовать с другими соединениями, восстанавливая пул антиоксидантов в организме. С ее участием осуществляется регенерация окисленных тиоредоксина, глутатиона дисульфида, дегидроаскорбата. Наличие в организме такой системы, как токоферол—аскорбиновая кислота—тиоктовая кислота, обеспечивает ступенчатую диссипацию (рассеивание) высокой энергии, выделяющейся при восстановлении  $O_2$  или рекомбинации перекисных радикалов, и создает возможность более гибкой регуляции и надежного гомеостаза окислительно-восстановительных процессов.

В поддержании антиоксидантного состояния клетки наряду с ферментами и указанными соединениями активное участие принимает убихинон или убиквиквинол, который является коферментом  $Q_{10}$ . Его восстановленная форма — убифенол ( $QH_2$ ) — является активным антиоксидантом. Липоевая кислота необходима для генерации в мембранах клеток полувосстановленной формы убихинона — убисемихинона. Восстановление убисемихинона до убифенола или убихинона  $Q_{10}$  происходит в митохондриальной цепи переноса электронов.

Следовательно, липоевая кислота необходима для нормального функционирования цикла витамина Е, цикла витамина С и генерации убихинона  $Q_{10}$ , являющихся одними из основных звеньев системы антиоксидантной защиты организма. Именно этими свойствами липоевой кислоты можно объяснить ее наличие в составе клеточной мембраны, цитоплазме и внеклеточной жидкости (см. таблицу).

Перечисленные соединения, оказывающие антиоксидантное действие, в неодинаковом количестве содержатся в субклеточных фракциях клеток различных тканей организма. Так, в клеточных мембранах содержатся  $\alpha$ -токоферол, убихиноны,  $\alpha$ -липоевая (тиоктовая) кислота. В цитоплазме локализируются глутатион, супероксиддисмутаза, пероксиддисмутаза, ферритин, витамин С,  $\alpha$ -липоевая (тиоктовая) кислота, а во внеклеточной жидкости — супероксиддисмутаза, витамин С, трансферрин, лактоферрин,  $\alpha$ -липоевая (тиоктовая) кислота.

#### Распределение важнейших природных антиоксидантов в организме

Клеточные мембраны	$\alpha$ -Токоферол
	Убихиноны
Внеклеточная жидкость	$\alpha$ -Липоевая (тиоктовая) кислота
	Супероксиддисмутаза
	Витамин С
	Трансферрин
Цитоплазма	Лактоферрин
	$\alpha$ -Липоевая (тиоктовая) кислота
	Витамин С
	Глутатион
	Супероксиддисмутаза
	Пероксиддисмутаза
	Ферритин
	$\alpha$ -Липоевая (тиоктовая) кислота

В развитии поздних осложнений сахарного диабета участвует несколько механизмов, включая образование свободных радикалов. Увеличение количества конечных продуктов гликозилирования, повышение уровня свободных радикалов при истощении или недостаточности системы антиоксидантной защиты, повышение активности полиолового пути метаболизма глюкозы и изменение синтеза простаноидов способствуют развитию нерегулируемого окислительного стресса, который через активирование транскрипционного фактора Nf-kB непосредственно изменяет функцию многих генов, ответственных за синтез белков, являющихся компонентами клеточной сосудистой стенки и других тканей организма.

Свободные радикалы независимо от механизма и источника их образования активируют транскрипционный фактор Nf-kB, ускоряют апоптоз и повышают образование окисленных ЛПНП.

Транскрипционный фактор Nf-kB играет важную роль и отвечает за многие реакции, суммарным действием которых является тромбогенная трансформация эндотелия сосудистой стенки. Фактор Nf-kB является своеобразным связывающим и обязательным мостиком или своеобразным первичным регулятором ответа на окислительный стресс, что сопровождается экспрессией различных генов, контролируемых синтезом различных белков. Фактор Nf-kB опосредует высвобождение ФНО $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$ , которые в свою очередь участвуют во многих процессах, приводящих, помимо изменений в сосудистой стенке, к дефициту секреции и действия инсулина и нарушению функции периферического нерва. Помимо активирования фактора Nf-kB при повышении уровня окислительного стресса, наблюдается изменение и других сигнальных путей, таких как p38 MAPK, NH $_2$ -терминальные Jun-киназы (JNK/SAPK), протеинкиназа C и конечные продукты гликозилирования — рецепторы к ним.

Влияние гипергликемии на повышение скорости и количества образования митохондриального супероксида опосредуется через активирование образования фактора Nf-kB [25]. Более того, эти же исследователи показали, что блокирование влияния гипергликемии на митохондриальное образование реактивных радикальных соединений кислорода (ROS) с помощью карбонилцианид-м-хлорфенилгидразона (CCCP), повышенной экспрессии белка, разобщающего окислительное фосфорилирование (UCP1), или Mn-супероксиддисмутазы (SOD2) сопровождается угнетением активности образования таких соединений, как Nf-kB, протеинкиназа C и конечные продукты гликозилирования.

Приведенные факторы показывают, что влияние гипергликемии и окислительного стресса на механизмы, участвующие в патогенезе сосудистых осложнений диабета, опосредуется через активирование транскрипционного фактора Nf-kB. Значение и роль фактора Nf-kB в механизмах патогенеза многих патологических процессов организма (диабет, атеросклероз, хронические воспалительные заболевания, иммунный ответ, апоптоз и др.) стали более понятными благодаря исследованиям по-

следних лет. Помимо гипергликемии и свободно-радикальных соединений кислорода, активирование Nf-kB наблюдается также под влиянием повышенного уровня неэтерифицированных жирных кислот, ИЛ-1, ФНО $\alpha$ , повреждения ДНК, ультрафиолетового облучения, различных провоспалительных цитокинов, p38 MAPK, вирусной инфекции, комплексования конечных продуктов гликозилирования (КПГ) с соответствующими рецепторами.

Одной из основных, если не главных задач лечения сахарного диабета является борьба с окислительным стрессом и его производным карбонильным стрессом. Поэтому особое значение в лечении диабета имеет достаточное и своевременное применение антиоксидантных веществ (витамины E, A, C и липоевая кислота). Если антиоксидантная значимость витаминов E и C известна, и эти препараты достаточно широко применяют в клинической практике, то значимость липоевой кислоты как антиоксидантного соединения до последнего времени недооценивали.

Как уже отмечалось, нормальная функция цикла витаминов E и C возможна лишь при достаточном количестве в организме тиоктовой кислоты. Более того, установлено, что после взаимодействия инсулина со своим рецептором для трансдукции биологического действия инсулина наличие  $\alpha$ -липоевой кислоты обязательно. Она принимает обязательное участие на уровне субстрата инсулинового рецептора 1 в активации киназ и образовании p85 и p110 (белки сигнальных путей действия инсулина) и последующей активации фосфатидилинозитол-3-киназного пути.

Наряду с этим тиоктовая ( $\alpha$ -липоевая) кислота замедляет или даже останавливает конверсию вещества Амадори в реактивные карбонильные интермедиаты, которые являются агрессивными продуктами конечного гликозилирования. Дальнейшая судьба реактивных карбонильных интермедиатов двоякая. При участии периферических ферментов — редуказ (2-оксоальдегидредуктазы или альдегидредуктазы) эти интермедиаты превращаются в неактивные соединения, причем это действие редуказ усиливается в присутствии тиоктовой ( $\alpha$ -липоевой) кислоты. Именно этим механизмом и объясняется известный эффект тиоктовой кислоты как своеобразного "чистильщика" свободных радикалов.

*Диабетическая нейропатия* является одним из самых частых сосудистых осложнений сахарного диабета. Вопросы классификации диабетической нейропатии, клинического течения и механизмы ее патогенеза были рассмотрены нами в предыдущих сообщениях [3].

*Лечение диабетической нейропатии комплексное.* Основным условием снижения скорости прогрессирования поздних осложнений сахарного диабета, включая нейропатию, является достижение у больных сахарным диабетом адекватной компенсации углеводного обмена и поддержание нормогликемии на протяжении длительного времени. Одним из обязательных компонентов комплексной терапии диабетической нейропатии является применение антиоксидантной терапии, которую по праву

можно отнести к патогенетической, так как роль участия свободных радикалов кислорода в патогенезе сахарного диабета и его осложнений в настоящее время уже ни у кого не вызывает сомнений. Современная антиоксидантная терапия представлена различными препаратами (препараты  $\alpha$ -липоевой кислоты,  $\alpha$ -токоферола, витамина С, селена и др.), которые широко применяют для лечения не только сахарного диабета, но и других системных заболеваний.

Механизм и степень выраженности антиоксидантного действия различных соединений зависят от того, в какой среде или структуре они реализуют свой антиоксидантный эффект. Так, витамин С обладает наибольшей растворимостью в полярных растворителях и реализует свой антиоксидантный эффект в плазме, межклеточной жидкости и на внеклеточном уровне. Некоторые исследователи причисляют его к представителям первой линии обороны от "агрессивных" реактивных соединений, обладающих высокой окислительной активностью. Плазматический слой клеточной мембраны, состоящий из фосфолипидов, может быть "защищен" от реактивных соединений соединениями второй линии обороны, к которым относятся жирорастворимые антиоксиданты — витамины Е и А. Что касается защиты внутриклеточных структур, то она должна осуществляться соединениями, которые могут растворяться как в воде, так и в жирах, поскольку они сначала должны проникнуть через клеточную мембрану и лишь затем растворяться в цитозоле. К таким веществам относят липоевую кислоту, считая, что она представляет собой третью линию антиоксидантной защиты. Это представление о 3 линиях антиоксидантной защиты и участии в их функционировании перечисленных витаминов очень схематично. Липоевая кислота, как указывалось выше, представлена во всех 3 средах: внеклеточной жидкости, мембране и цитозоле клетки. Более того, синтез соединений, обладающих антиоксидантными свойствами, может осуществляться не только внутри клеток, но и в митохондриях, а система антиоксидантной защиты представлена несколькими десятками соединений, которые в зависимости от их количества могут обладать не только антиоксидантными, но и прооксидантными свойствами.

Природные антиоксиданты, содержащиеся в продуктах питания, представлены многочисленной группой витаминов (витамины С, Е, А), а также флавоноидами, микроэлементами (коантиоксидантами) и другими соединениями. Такие микроэлементы, как Fe, Zn, Cu, Se, Co, Cr, Mo и I, являются жизненно необходимыми (эссенциальными), при отсутствии или недостатке которых нарушаются процессы роста и развития организма. Ко второй группе относятся Li, Br, Si, Va, Ni, Mn, В и F, которые принято называть условно-эссенциальными, так как их недостаток в организме проявляется различными нарушениями, но степень их выраженности значительно ниже по сравнению с клиническими признаками, развивающимися при недостатке эссенциальных микроэлементов. Среди эссенциальных микроэлементов наиболее выраженными антиоксидантными свойствами обладает

селен (Se); у остальных микроэлементов, включая Zn, эти свойства выражены в меньшей степени.

*Тиоктовую ( $\alpha$ -липоевую) кислоту* (1,2-дителиолан-3-пентаноивую кислоту) более 40 лет используют для лечения диабетической нейропатии. Тиоктовая кислота представлена в качестве кофактора во многоферментных комплексах и митохондриальных ферментах, которые катализируют окислительное декарбоксилирование пирувата,  $\alpha$ -кетоглутарата и других разветвленных  $\alpha$ -кетокислот. Имеются достаточные доказательства возможности синтеза  $\alpha$ -липоевой кислоты в митохондриях из октановой кислоты и соединений, содержащих серу. У человека не описано заболеваний, обусловленных недостаточностью липоевой кислоты. Как показали исследования, уровень липоевой кислоты в сыворотке крови снижен при некоторых заболеваниях (нейродермит, цирроз печени, псориаз, атеросклероз), а также при различных типах полинейропатии и сахарном диабете [32].

Молекула тиоктовой кислоты содержит дителиоловое кольцо в окисленной форме, наличие которого обеспечивает образование дигидролипоевой кислоты, которая, как и аскорбиновая кислота, способствует трансформации витамина Е в восстановленную форму. Этим объясняется свойство липоевой кислоты предупреждать развитие симптомов недостаточности витаминов С и Е. Восстановленная форма  $\alpha$ -липоевой кислоты является сильным редуцтантом и восстановителем регенерирующих окисленных антиоксидантов, таких как аскорбат, глутатион, коэнзим Q<sub>10</sub> и витамин Е. Дигидролипоевая кислота может восстанавливать все эти антиоксиданты и участвует в процессах регенерации нескольких ферментов, включая липоамидредуктазу, глутатионредуктазу, тиоредоксинредуктазу, а также способствует регенерации убихинона (коэнзима Q<sub>10</sub>) в плазматических мембранах.

Изучена биодоступность рацемической липоевой кислоты. Скорость T<sub>max</sub> абсорбции составляет 0,5—1 ч пропорционально принятой дозе между 50 и 600 мг. Концентрация липоевой кислоты в крови одинакова при внутривенном введении ее R- или L-формы. Однако при пероральном приеме рацемической формы липоевой кислоты достоверно выше была концентрация R-липоевой кислоты под кривой и C<sub>max</sub> по сравнению с ее S-формой. R-липоевая кислота усиливает синтез АТФ в работающей мышце сердца крысы, тогда как ее S-форма оставляет интактным указанный механизм образования АТФ. Установлено также, что липоевая кислота растворима в воде и жирах, но лучше абсорбируется при приеме ее внутрь в виде водных растворов по сравнению с галеновыми препаратами. Прием пищи уменьшает биодоступность липоевой кислоты, поэтому принимать препараты липоевой кислоты необходимо за 30 мин до приема пищи. Липоевая кислота метаболизируется в печени, легко абсорбируется из кишечника, транспортируется в клетки и восстанавливается до дигидролипоевой кислоты [29].

В материалах, опубликованных в 1999 г. [13], показано, что изотоп тиоктовой кислоты при введении животным накапливается в нервной ткани

при многократном приеме внутрь без предварительного внутривенного его введения. При этом концентрация препарата в крови была в 10 раз выше той, которая фиксировалась после однократной пероральной дозы. Более того, концентрация в нервной ткани превышала пиковый уровень тиоктацида в плазме крови. Полученные данные показали быструю абсорбцию тиоктовой кислоты из желудочно-кишечного тракта; при терапевтических концентрациях препарата имеется линейная кинетика; биодоступность препарата практически не изменяется при ухудшении перистальтики желудочно-кишечного тракта, в том числе при гастропарезе, который обычно встречается у больных сахарным диабетом; отсутствует взаимодействие с пероральными сахароснижающими препаратами.

Наряду с положительными эффектами было выявлено несколько нежелательных кинетических характеристик, которые позволяют классифицировать тиоктовую кислоту как препарат с "критической" биодоступностью. Об этом свидетельствуют следующие показатели: выраженный эффект первого прохождения через печень, во время которого более чем 70% абсорбированной в кишечнике субстанции метаболизируется; прием тиоктовой кислоты внутрь сочетается со значительной индивидуальной вариабельностью (уровень препарата в плазме различается не только у 2 больных, получивших одну и ту же дозу препарата, но и у одного и того же больного после приема одинаковой дозы, принятой в разное время; при этом уровень препарата в плазме крови может отличаться на 30%); значительное взаимодействие препарата с пищей; биодоступность тиоктовой кислоты может снижаться на 25% при приеме препарата с пищей.

Исходя из этих данных, был разработан препарат Thiostacid® 600 HR (в России этот препарат зарегистрирован как тиоктацид 600 БВ, или тиоктацид быстрого высвобождения), который быстро абсорбируется в желудочно-кишечном тракте, и у всех больных сохраняется постоянная абсорбция. Клинические исследования, в том числе ORPIL Study (см. ниже) показали, что новая лекарственная форма тиоктацида 600 HR или тиоктацида 600 БВ при приеме внутрь в суточной дозе 1800 мг дает такое же содержание препарата в нервной ткани, как это имеет место после 3-недельной инфузионной терапии с последующим приемом тиоктацида по 600 мг в день.

Липоевая кислота и ее лекарственная форма тиоктацид являются мощными природными антиоксидантами, причем редуцированная форма липоата оказывает более выраженное антиоксидантное действие по сравнению с ее окисленной формой. Так, липоевая кислота "инактивирует" пероксид водорода, синглетный кислород, гидроксильный радикал, нитрикоксидный радикал, гипохлорную кислоту, пероксинитрит и проявляет интактность в отношении пероксильного и супероксидного радикала, тогда как дигидролипоевая кислота "инактивирует" все перечисленные соединения, за исключением синглетного кислорода. Липоевая кислота является идеальным антиоксидантом. Основной формой липоевой кислоты, которая взаимодействует со свободными радикалами, является дигид-

ролипоевая кислота, хотя и окисленная форма липоевой кислоты также способна инактивировать свободные радикалы. Это универсальный "чистильщик" свободных радикалов, который осуществляет свое действие как в клеточной мембране, так и в клеточной цитоплазме, а наличие выраженного антиоксидантного эффекта обусловлено наличием в ее молекуле 2 тиоловых групп и способностью связывать молекулы радикалов и ионов металлов, входящих в состав ферментов — катализаторов окисления, и тем самым снижать ПОЛ.

Помимо того, что сама липоевая кислота является великолепным антиоксидантом, ее применение как *in vivo*, так и *in vitro* сопровождается повышением синтеза глутатиона, который в свою очередь также относится к важным водорастворимым эндогенным антиоксидантам [10, 20]. При этом, как показано *in vitro*, липоевая кислота поглощается клетками, подвергается восстановлению до дигидролипоевой кислоты, затем поступает в инкубационную среду, где восстанавливает цистин до цистеина. Клетки поглощают цистеин почти в 10 раз быстрее, чем цистин. Таким образом, для биосинтеза глутатиона под влиянием липоевой кислоты необходимо наличие цистеина. Глутатион участвует во многих физиологических процессах, включая детоксикацию ксенобиотиков, модулирование трансдукции биологического сигнала различных гормонов, метаболизм простагландинов и регуляцию иммунного ответа. Изучение сравнительного антиоксидантного действия  $\alpha$ -липоевой кислоты (600 мг/день) и  $\alpha$ -токоферола (400 МЕ/день) или их комбинации в течение более 2 мес на показатели окислительного стресса в организме практически здоровых лиц показало [22], что прием только липоевой кислоты сопровождается достоверным снижением содержания белка карбониллов (на 24%;  $p < 0,0003$ ), экскреции с мочой изопростанов (на 22%;  $p < 0,02$ ) и окисления ЛПНП (на 46%;  $p < 0,05$ ), тогда как на фоне приема  $\alpha$ -токоферола не отмечено влияния на окисление белков (содержание карбониллов в плазме не изменилось), но достоверно снизились экскреция  $F_2$ -изопростанов (на 26%;  $p = 0,0005$ ) и окисляемость ЛПНП (на 61%;  $p = 0,003$ ). Дополнительный прием липоевой кислоты при лечении  $\alpha$ -токоферолом не повлиял на показатели окислительного стресса по сравнению с показателями, полученными на фоне приема  $\alpha$ -токоферола. Полученные данные показывают, что  $\alpha$ -липоевая кислота обладает значительными антиоксидантными свойствами, что проявляется снижением окисления ЛПНП и экскреции  $F_2$ -изопростанов с мочой.

Тиоктовая кислота занимает важное место в обеспечении энергетического обмена в организме. Она функционирует как коэнзим мультиэнзимных комплексов митохондрий, в том числе дегидразы пировиноградной кислоты — фермента, который катализирует преобразование пировиноградной кислоты в ацетил-КоА ("активный ацетат") с образованием НАДН. Образующийся в цитоплазме клеток при участии  $\alpha$ -липоевой кислоты коэнзим А (КоА) ускоряет перенос ацетата и жирных кислот из цитозоля в матрикс митохондрий, где происходит их окисление. В митохондриях тиоктовая ки-

слота способствует трансформации молочной кислоты в пировиноградную, препятствуя развитию метаболического ацидоза и жировой дистрофии печени. При этом  $\beta$ -дегидраза кетоглутарата, фермента цитратного цикла, катализирует преобразование  $\beta$ -кетоглутарата в сукцинил-КоА с образованием НАДН, а также дегидразы аминокислот, имеющих разветвленные цепи. Во всех перечисленных случаях  $\alpha$ -липоевая кислота связана через  $\alpha$ -аминовую группу остатка лизина с центральным компонентом ацилтрансферазы. Эти механизмы способствуют окислению глюкозы, улучшают процессы образования энергии и энергетический обмен.

У больных сахарным диабетом типа 2 дальнейшее повышение уровня гликемии в условиях глюкозотолерантного теста сопровождается снижением окисления глюкозы, сочетающимся с увеличением образования лактата и пирувата, что свидетельствует о недостаточности пируватдегидрогеназного комплекса [19]. Как отмечалось выше, липоевая кислота является кофактором пируватдегидрогеназного комплекса,  $\alpha$ -кетоглутарата и дегидрогеназы  $\alpha$ -кетокислот. При сахарном диабете имеется "скрытая" или "субклиническая" недостаточность указанных ферментов, которая выявляется при пероральном или внутривенном глюкозотолерантном тесте, а также при различных стрессовых ситуациях, сопровождающихся гипергликемией. При сахарном диабете скорость образования лактата в условиях глюкозотолерантного теста более выражена у больных с избыточной массой тела по сравнению с больными, имеющими нормальную массу тела. Данные, полученные T. Konrad и соавт. [19], указывают на то, что у больных сахарным диабетом типа 2 снижение окисления глюкозы происходит на фоне увеличения окисления жира, что не может быть объяснено наличием ожирения. Этот дефект невозможно исправить повышением уровня инсулина в крови. Назначение липоевой кислоты в таких ситуациях сопровождается снижением уровня лактата и пирувата в сыворотке крови и улучшением эффективности использования глюкозы у больных сахарным диабетом типа 2 как с избыточной, так и с нормальной массой тела.

Кроме того, липоевая кислота улучшает утилизацию глюкозы периферическими тканями, что подтверждается усилением транспорта глюкозы в мышцу и повышением синтеза гликогена как *in vitro*, так и *in vivo*. Тиоктовая кислота уменьшает инсулиновую резистентность в культуре мышечных клеток L6, в адипоцитах 3T3-L1, что сопровождается активированием ГЛЮТ-1 и фосфатидилинозитол-3-киназы, приводя к транслокации ГЛЮТ-4 из внутриклеточного пространства на мембрану клеток [12]. Как показали исследования R. Streeter и соавт. [33], внутриперитонеальное введение стереоизомеров липоевой кислоты (R- и S-формы липоевой кислоты) в различной степени влияет на метаболизм глюкозы у крыс Zucker с ожирением. Так, при остром введении R-липоевой кислоты инсулинопосредованный транспорт глюкозы увеличился на 64%, тогда как введение S-липоевой кислоты не влияло на транспорт глюкозы. Хроническое введение R-липоевой кислоты сопровождалось снижением содержания инсулина, но не влия-

ло на уровень неэтерифицированных жирных кислот в плазме крови. Более того, введение R-липоевой кислоты улучшало инсулинстимулированный синтез гликогена и окисление глюкозы. При хроническом введении R-липоевой кислоты количество ГЛЮТ-4 (основного глюкозного транспортера в тканях-мишенях) не изменялось, тогда как при введении S-липоевой кислоты их количество снижалось. Исследования V. Saengsirisuwan и соавт. [31] по изучению механизма сахароснижающего действия R-липоевой кислоты показали, что увеличение поглощения глюкозы скелетными мышцами крыс Zucker под влиянием липоевой кислоты (терапия проводилась в течение 6 нед) практически такое же, как под влиянием 6-недельных физических упражнений (26–32%) или инсулина (29–30%). У животных, получавших только R-липоевую кислоту, на 19% снижался глюкозо-инсулиновый индекс (показатель увеличения чувствительности к инсулину), и эти показатели уменьшались на 44–48% при комбинации физической нагрузки и терапии липоевой кислотой. Улучшение инсулинопосредованного транспорта глюкозы под влиянием R-липоевой кислоты сочеталось со снижением уровня карбонильных белков (индекс окислительного стресса), а такое же улучшение транспорта глюкозы, наблюдаемое под влиянием физической нагрузки, сочеталось как со снижением содержания карбонильных белков, так и с увеличением уровня белка ГЛЮТ-4. Однако не выявлено взаимодействия между влиянием физической нагрузки и R-липоевой кислоты на уровень ГЛЮТ-4 и содержание карбонильных белков. Эти данные свидетельствуют о том, что физическая нагрузка и R-липоевая кислота оказывают дополняющее или адиктивное действие (не сочетающееся с влиянием на регуляцию ГЛЮТ-4) на улучшение чувствительности к инсулину в инсулинрезистентных скелетных мышцах крыс Zucker с ожирением. Клеточные механизмы действия липоевой кислоты на транспорт глюкозы в мышцах, видимо, ограничиваются только сигнальными факторами, уникально активирующими лишь транспорт глюкозы, не влияя при этом на другие механизмы и сигнальные пути, вовлеченные в синтез белка и его деградацию [34]. Определенным подтверждением предполагаемого механизма действия липоевой кислоты на поглощение глюкозы мышцами могут служить данные R. Eason и соавт. [8], которые показали, что липоевая кислота повышает поглощение глюкозы в четырехглавой мышце мышей *ob/ob* приблизительно на 300% без добавления инсулина и улучшает ответ на инсулин в инсулинрезистентных скелетных мышцах.

Такое эффективное влияние  $\alpha$ -липоевой кислоты на углеводный обмен, с нашей точки зрения, можно объяснить исследованиями D. Konrad и соавт. [18], которые с помощью методик на культуре 3T3-L1 адипоцитов и L6 миоцитов показали, что антигипергликемический эффект  $\alpha$ -липоевой кислоты обусловлен стимуляцией поглощения глюкозы непосредственным влиянием как на активирование, так и на транслокацию ГЛЮТ-4.

Имеется несколько опубликованных клинических работ, посвященных изучению влияния липоевой кислоты на поглощение глюкозы перифе-

рическими тканями у больных сахарным диабетом. Так, после внутривенного введения рацемической смеси липоевой кислоты в дозе 1000 мг у больных сахарным диабетом типа 2 наблюдалось статистически достоверное улучшение инсулинстимулированного распределения глюкозы в организме, подтвержденное применением клэмп-метода [15]. Инфузии липоевой кислоты по 500 мг ежедневно в течение 10 дней 20 больным сахарным диабетом типа 2 также показали достоверное улучшение утилизации глюкозы периферическими тканями [16]. Проведенное многоцентровое плацебо-контролируемое исследование по изучению влияния пероральной терапии липоевой кислотой (длительность терапии 4 нед) больных сахарным диабетом типа 2 на течение заболевания показало, что на фоне проводимого лечения отмечалось улучшение компенсации углеводного обмена и повышение чувствительности к инсулину [17]. Применение липоевой кислоты в суточной дозе 1200 мг также в течение 4 нед сопровождалось не только статистически достоверным (на 27%) улучшением компенсации углеводного обмена у больных СД типа 2 с нормальной или избыточной массой тела, но и одновременным снижением у них концентрации лактата и пирувата в сыворотке крови.

Наряду с этим тиоктовая кислота оказывает гипопролиферативное действие, которое обусловлено ее влиянием на перенос ацильных групп жирных кислот в реакции окисления, при котором в процесс окислительного декарбоксилирования пировиноградная и кетоглутаровая кислоты превращаются в ацетил-КоА и сукцинил-КоА и двуокись углерода. В этом процессе окисленная форма  $\alpha$ -липоевой кислоты переходит в восстановленную, затем описанный цикл повторяется. Благодаря своим антиоксидантным свойствам тиоктовая кислота ликвидирует (уничтожает) избыток свободных радикалов в организме, восстанавливает функцию митохондрий и улучшает утилизацию глюкозы периферическими тканями. Этими механизмами обеспечивается снижение образования конечных продуктов гликозилирования и улучшение обменных процессов в тканях, в том числе в нервной системе. Выше отмечалось, что тиоктовая кислота легко проходит клеточные мембраны, хорошо растворяется как в полярных, так и в неполярных средах, что и обеспечивает ее присутствие в межклеточной жидкости, мембранах и цитозоле клеток.

Следует остановиться еще на одном аспекте влияния липоевой кислоты не только на углеводный обмен, но и на патогенез сосудистых осложнений диабета. Многолетние исследования как в эксперименте, так и в клинике показали, что хроническая гипергликемия и глюкозотоксичность участвуют в патогенезе сосудистых осложнений диабета посредством влияния на 3 звена их патогенеза: активирование изоформ протеинкиназы С, полиолового пути обмена глюкозы и повышение скорости образования КПП. Наряду с этими тремя повреждающими факторами в патогенезе диабета и его осложнений большое значение отводили окислительному стрессу и повышенному образованию в организме свободных радикалов кислорода. Профилактика сосудистых осложнений диабета до на-

стоящего времени базируется на разработке лекарственных препаратов и других технологий, позволяющих ликвидировать хроническую гипергликемию, а вместе с этим и все другие сопряженные с ней процессы, участвующие в развитии сосудистых осложнений.

М. Morcos и соавт. [24] провели важное исследование продолжительностью 18 мес по изучению влияния  $\alpha$ -липоевой кислоты на прогрессирующие повреждения эндотелиальных клеток и нефропатию у 84 больных сахарным диабетом. Контрольная группа (больные не получали  $\alpha$ -липоевую кислоту) была представлена 49 больными (34 больных с диабетом типа 1 и 15 — с диабетом типа 2). 35 больным (20 больных с сахарным диабетом типа 1 и 15 — типа 2) проводили терапию  $\alpha$ -липоевой кислотой в суточной дозе 600 мг. В течение всего периода наблюдения у больных обеих групп поддерживали стабильное состояние углеводного обмена. Через 18 мес наблюдения содержание тромбомодулина в плазме крови увеличилось с  $35,9 \pm 9,5$  до  $39,7 \pm 9,9$  нг/л ( $p < 0,01$ ), а экскреция альбумина с мочой — с  $21,2 \pm 29,5$  до  $36,9 \pm 60,6$  нг/л ( $p < 0,05$ ). У больных, получавших лечение  $\alpha$ -липоевой кислотой, концентрация тромбомодулина в плазме крови снизилась с  $37,5 \pm 16,2$  до  $30,0 \pm 14,5$  нг/л ( $p < 0,01$ ), а экскреция альбумина с мочой на фоне терапии не изменилась. Результаты проведенного исследования подтверждают, что окислительному стрессу принадлежит центральное место в патогенезе диабетической нефропатии, а применением антиоксидантов возможно замедлить прогрессирование диабета и его поздних осложнений.

Исследования последних 3 лет позволяют по-новому оценить возможность профилактики сосудистых осложнений диабета. Так, Т. Nishikawa и соавт. [25] показали, что нормализацией образования митохондриального супероксид-аниона блокируются три основных механизма, участвующих в развитии сосудистых осложнений. Значение нормализации образования митохондриального супероксид-аниона, которое повышено при сахарном диабете, было блестяще продемонстрировано в недавней работе А. Midaoui и соавт. [23]. Эти исследователи показали, что хроническое назначение глюкозы крысам сопровождается повышением АД на 29%, увеличением гликемии на 30%, повышением инсулинемии на 286% и увеличением индекса инсулинорезистентности на 408% при одновременном увеличении образования супероксид-аниона в митохондриях сердечной мышцы и повышении на 63% содержания КПП в аорте. Назначение липоевой кислоты в диете таких крыс полностью предупреждает увеличение АД, содержания КПП в аорте и образование супероксид-аниона в сердечных митохондриях. На фоне приема липоевой кислоты у животных снижались уровень инсулина в плазме крови и индекс инсулиновой резистентности. Эта работа интересна в двух аспектах. Установлено, что  $\alpha$ -липоевая кислота не только является антиоксидантом, но и дает антигипергликемический, антигипертензивный эффект и, нормализуя образование митохондриального супероксид-аниона, блокирует образование ПКГ, снижает инсулинорезистентность и, вероятнее всего, предупреждает раз-

витие сосудистых осложнений диабета. Экспериментальное исследование А. Midaoui и соавт. [23] и клинические наблюдения М. Morcos и соавт. [24] показывают, что окислительный стресс, видимо, является центральным звеном патогенеза диабета и его поздних осложнений, а применение  $\alpha$ -липоевой кислоты можно расценивать как патогенетическую терапию.

Исследования *in vitro* показывают, что липоевая и дигидролипоевая кислоты ингибируют активирование фактора NF- $\kappa$ B, вызванное форболовыми эфирами, пероксидным водородом или ФНО $\alpha$ . Липоевая кислота в клинически релевантных дозах (от 50 до 250 мкг/М) подавляет дозозависимую экспрессию адгезивных молекул ICAM-1 и VCAM-1 [28]. Такое действие липоевой кислоты может давать профилактический и терапевтический эффект при использовании в клинике для профилактики сосудистых и воспалительных заболеваний, вызванных избытком ПКГ и свободных радикалов, что постоянно имеет место при сахарном диабете. Об этом свидетельствуют данные М. Hofmann и соавт. [14], которые показали, что 3-дневное введение липоевой кислоты в дозе 600 мг снижает показатели окислительного стресса и уменьшает степень активации фактора NF- $\kappa$ B, что свидетельствует о возможности ее применения для нормализации функции эндотелия, дисфункция которого постоянно имеется у больных сахарным диабетом. Более того,  $\alpha$ -липоевая кислота угнетает экспрессию молекул адгезии в эндотелиальных клетках аорты человека и адгезию моноцитов посредством ингибирования I $\kappa$ B/NF- $\kappa$ B-сигнальных путей [35]. Исходя из этого, можно предположить,  $\alpha$ -липоевая кислота может также влиять на экспрессию многих NF- $\kappa$ B-зависимых провоспалительных генов, к которым относятся ИЛ-1, ИЛ-5, ФНО $\alpha$ , в различных клетках, таких как лимфоидные клетки, моноциты и эндотелиальные клетки.

Следует отметить пионерскую работу Т. Heitzer и соавт. [11], которые впервые показали, что терапевтические дозы липоевой кислоты (0,2 мМ) улучшают эндотелийзависимую и NO-опосредованную вазодилатацию у больных сахарным диабетом. Для получения такого же эффекта с помощью аскорбиновой кислоты необходимо применить суперфизиологические (1 и 10 мМ) ее концентрации. Полученные данные подтверждают, что свободные радикалы ответственны за развитие дисфункции эндотелия, наблюдаемой у больных диабетом, а терапевтическое применение липоевой кислоты уменьшает или ликвидирует имеющуюся сниженную биодоступность оксида азота.

Суммируя приведенные выше данные, можно отметить, что  $\alpha$ -липоевая кислота оказывает влияние на организм, включая нервную систему, посредством нескольких механизмов, приводя к защите ДНК от повреждения ее синглетным кислородом как посредством увеличения концентрации внутриклеточного глутатиона, так и генерацией других антиоксидантов — аскорбата и витамина Е; улучшению нарушенного эндоневрального кровотока; восстановлению дефицита глутатиона в нервах; снижению концентрации конъюгированных диенов, образовавшихся в процессе ПОЛ; восста-

новлению аксонального транспорта с повышением скорости проведения возбуждения по нервам; улучшению дисфункции эндотелия и восстановлению NO-зависимой вазодилатации сосудов; ингибированию активности фактора транскрипции (NF- $\kappa$ B) в условиях повышенного тонуса симпатической нервной системы (характерного проявления диабетической автономной нейропатии); повышению хелаторного эффекта многих микроэлементов, участвующих в метаболизме нервного волокна; проведении нервного импульса, обмене микроэлементов (магния, железа, селена, меди, цинка и др.), механизмах развития и состояния окислительного стресса; снижению скорости гликозилирования матричных белков эндотелия у больных сахарным диабетом, улучшая функцию *vasa nervorum* и эндоневральную перфузию, снижая тем самым ишемию нервных волокон; восстановлению или улучшению температурной; вибрационной, болевой чувствительности и коррекции дисфункции автономной нервной системы; улучшению функции жизненно важных органов (печени, почек, сердечно-сосудистой системы и др.).

Тиоктовая кислота играет важную роль в профилактике диабетической нейропатии. Это действие, как представлено выше, опосредуется многими механизмами, в частности ее влиянием на дисфункцию эндотелия. Наряду с этим тиоктовая кислота предохраняет нервные волокна от продуктов окислительного стресса, улучшает трофическую функцию нервной системы, что проявляется восстановлением содержания нейропептидов (нейропептида Y и вещества P) в спинно-мозговой жидкости, улучшает эндоневральное поглощение глюкозы и повышает активность ферментов антиоксидантной защиты, таких как супероксиддисмутазы и супероксидкаталазы, а также улучшает микроциркуляцию [9] у больных с периферической диабетической нейропатией. Более того, парентеральное введение  $\alpha$ -липоевой кислоты больным сахарным диабетом типа 2 сопровождается улучшением инсулининдуцированной утилизации глюкозы и снижением степени инсулиновой резистентности [16].

Тиоктовая ( $\alpha$ -липоевая) кислота широко применяется в лечении диабета и его поздних осложнений, в том числе при нейропатии. В России зарегистрированы и имеются в продаже следующие препараты  $\alpha$ -липоевой кислоты: тиоктацид, берлитион, эспа-липон и тиогама.

Первым широкомасштабным исследованием по изучению эффективности препарата  $\alpha$ -липоевой кислоты было плацебо-контролируемое двойное слепое исследование ALADIN (Alpha-Lipoic Acid in Diabetic Neuropathy), в котором участвовали 328 больных из 38 центров [36]. Препарат  $\alpha$ -липоевой кислоты (тиоктацид) назначали в виде инфузий в 3 дозах (100, 600 мг и 1200 мг). В исследование были включены больные, страдающие сахарным диабетом типа 2 с клиническими симптомами симметричной дистальной нейропатии (снижение сухожильных рефлексов, тепловой, вибрационной и тактильной чувствительности, при наличии хотя бы одного характерного симптома на стопах — жжение, парестезии, онемение), которые затем были рандомизированы на 4 группы. Больные первых

3 групп получали указанные дозы тиоктацида (100, 600 и 1200 мг), а 4-й группы — плацебо. Терапия тиоктацидом в течение 3 нед сопровождалась выраженным уменьшением клинических проявлений нейропатии. Начиная с 5-го дня у больных, получавших препарат в дозе 600 мг, наблюдалось значительное улучшение состояния (уменьшение боли, жжения, парестезии и чувства онемения) по сравнению с больными, получающими плацебо. Подобный эффект отмечен у больных всех 3 групп, но наиболее выраженным он был в группе получавших по 600 мг тиоктацида. Эффект приема тиоктацида в дозе 100 мг не отличался от плацебо. Наибольшее число лиц, положительно ответивших на терапию тиоктацидом (успех лечения 82,5%), было в группе больных, получавших терапию тиоктацидом в дозе 600 мг. В группе больных, получавших препарат в дозе 1200 мг, увеличивалось число таких побочных эффектов, как головная боль, тошнота и рвота. Частота побочных эффектов составляла 32,6% при дозе препарата 1200 мг, 18,2% — 600 мг, 13,5% — 100 мг и 20,7% — на фоне приема плацебо. Исходя из результатов проведенных исследований, видно, что оптимальная эффективность лечения достигается при парентеральном введении тиоктацида в дозе 600 мг, а побочные эффекты при этом встречаются с такой же частотой, что и в группе больных, получавших плацебо. Однако в исследовании ALADIN оценку эффективности терапии проводили только по количеству симптомов без объективного тестирования функции нервов, что требовало проведения дальнейших исследований.

Основной целью последующего исследования — ALADIN II [27] была оценка влияния длительного (в течение 2 лет) применения тиоктацида на течение клинических проявлений нейропатии и динамику электрофизиологических показателей нейропатии у 65 больных сахарным диабетом типов 1 и 2. После рандомизации больные получали тиоктацид по 600 мг (1-я группа;  $n = 27$ ), 1200 мг (2-я группа;  $n = 18$ ) и плацебо (3-я группа;  $n = 20$ ). Первичное обследование больных не выявило различия в показателях функции периферических нервов. После 2 лет лечения в группе больных, получавших тиоктацид в суточной дозе 1200 мг, скорость проведения сенсорных импульсов по малоберцовому нерву возросла на  $3,8 \pm 4,4$  м/с, у больных, получавших 600 мг тиоктацида, — на  $3,0 \pm 3,0$  м/с, а у больных, получавших плацебо, снизилась на  $0,1 \pm 4,8$  м/с; скорость проведения по двигательному большеберцовому нерву увеличилась на  $1,2 \pm 3,8$  м/с; снизилась на  $0,3 \pm 5,2$  и  $1,5 \pm 2,9$  м/с соответственно. Переносимость тиоктацида в дозах 600 и 1200 мг была хорошей или очень хорошей у 89 и 94% соответственно, в группе лиц, получавших плацебо, все пациенты хорошо переносили лечение. Частота побочных эффектов у больных, принимавших тиоктацид и плацебо, была практически одинаковой. Метаболические показатели на фоне приема препарата и плацебо оставались относительно стабильными на протяжении всего исследования. Ни по одному из оцениваемых лабораторных показателей значимых различий между группами не выявлено. Несмотря на большую разницу в результа-

тах, полученных в различных центрах, данные электрофизиологических исследований показали достоверное улучшение у больных, получавших терапию тиоктацидом, по сравнению с группой плацебо. В этом исследовании была продемонстрирована возможность достижения хорошего терапевтического эффекта при пероральной терапии тиоктацидом без предварительного парентерального введения тиоктацида в течение нескольких недель.

Влияние более высоких доз тиоктацида (1800 мг) на течение диабетической нейропатии было изучено в исследовании ALADIN III, в котором участвовало 509 больных сахарным диабетом типа 2 с симптомами сенсорной полинейропатии [38]. Это плацебо-контролируемое исследование, в котором больные методом случайной выборки были разделены на 3 группы: в 1-ю группу было включено 167 больных, которым в течение 3 нед внутривенно вводили 600 мг тиоктацида (триметамоловой соли тиоктовой кислоты). Далее больные получали тиоктацид перорально в течение 3 нед в суточной дозе 1800 мг (по 600 мг 3 раза в день) в течение 6 мес; 2-я группа была представлена 174 пациентами, которым, как и больным 1-й группы, вначале внутривенно вводили 600 мг тиоктацида в течение 3 нед, а затем, в течение последующих 6 мес — плацебо; 3-я группа была представлена 168 больными, которые в течение первых 3 нед получали плацебо внутривенно, а затем в течение 6 мес — перорально 3 раза в день.

Исследование показало, что терапия тиоктацидом в дозе 600 мг внутривенно в течение 3 нед сопровождается достоверным улучшением показателей по шкале нейропатических расстройств (NDS), основной на оценке объективных показателей функции периферических нервов. После первых 3 нед лечения общий балл по шкале нейропатических расстройств (Neuropathy impairment score — NIS), включающей в себя оценку рефлекторной дуги, вибрационной и температурной чувствительности пальцев, у пациентов 1-й и 2-й групп снижался в большей степени, чем в группе больных, получавших плацебо. Так, общий балл по NIS через 19 дней лечения в 1-й группе больных снизился на  $4,34 \pm 0,35$ , тогда как в группе больных, получавших внутривенно и внутрь плацебо, — на  $3,49 \pm 0,58$  балла ( $p = 0,02$ ). Через 7 мес после начала лечения у больных 1-й группы показатель NIS снизился на  $5,82 \pm 0,73$  балла, 2-й — на  $5,76 \pm 0,69$  балла и 3-й — на  $4,37 \pm 0,83$  балла. Таким образом, терапия тиоктацидом по 600 мг внутривенно в течение 3 нед и далее по 600 мг per os в течение 6 мес достоверно приводила к улучшению объективных проявлений нейропатии по сравнению с группой больных, получавших плацебо. Однако практически не отмечалось влияния на течение субъективных проявлений диабетической нейропатии, что было обусловлено отсутствием количественной оценки изменений, регистрируемых в различных центрах. Этот недостаток был учтен в исследовании ORPIL (Oral Pilot study), целью которого была оценка эффективности и безопасности высоких доз тиоктацида (1800 мг в день per os в течение 3 нед) при лечении диабетической нейропатии у 24 больных [30]. Следует подчеркнуть, что особен-

ность данного исследования состояла в том, что для лечения больных была использована новая лекарственная форма тиоктацида — Thiocastid® 600 HR, при применении которого по 1 таблетке 3 раза в день достигается такая же биодоступность, как при внутривенной инфузии такой же дозы. Результаты исследования ORPIL показали, что положительный эффект тиоктацида в дозе 600 мг при перентеральном его введении адекватен эффекту при пероральном приеме препарата в суточной дозе 1800 мг в течение 3 нед. Проведенная терапия высокими дозами тиоктацида сопровождалась достоверным улучшением как объективных, так и субъективных симптомов диабетической нейропатии по сравнению с группой больных, получавших плацебо.

В обзоре, посвященном обсуждению всех исследований (15 клинических испытаний, включая 5 рандомизированных двойных слепых плацебо-контролируемых исследований: ALADIN, ALADIN II, ALADIN III, ORPIL, DEKAN), проведенных в Германии по лечению диабетической полинейропатии, D. Ziegler и соавт. [39] представили следующие клинические и практически важные выводы: 1) внутривенная терапия тиоктацидом по 600 мг в течение 3 нед снижает степень выраженности всех основных симптомов диабетической нейропатии. Такой же эффект достигается применением внутрь 1800 мг тиоктацида HR; 2) достигнутое улучшение касается улучшения нейропатического дефицита; 3) терапия тиоктацидом в течение 4–7 мес способствует снижению выраженности нейропатического дефицита и кардиальной автономной нейропатии; 4) данные свидетельствуют о возможности улучшения в течение длительного времени проводимости нервного импульса по чувствительным и двигательным нервам нижних конечностей.

Продолжением исследований по изучению влияния тиоктацида на течение диабетической сенсорной полинейропатии было многоцентровое двойное слепое исследование, получившее название Sydney [21]. Больные со стабильным течением сахарного диабета, имевшие умеренно выраженную II стадию диабетической сенсорной нейропатии, были рандомизированы на 2 группы. Больным 1-й группы ( $n = 60$ ) проводили терапию внутривенными ежедневными (5 инфузий в неделю) инфузиями по 600 мг  $\alpha$ -липоевой кислоты (тиоктацида) в течение 3 нед, а больным 2-й группы ( $n = 60$ ) — по той же схеме проводили терапию плацебо. Оценку эффективности неврологических симптомов проводили по шкале TSS. У больных, получавших терапию тиоктацидом, отмечено быстрое и значительное улучшение симптомов диабетической полинейропатии (нейропатических сенсорных симптомов): у 80% при обследовании общепринятыми методами и у 66,7% при обследовании неврологическими методами (рефлексы, скорость проведения возбуждения по нервам и др.). У больных, получавших плацебо, улучшение выявлено в 8,3 и 1,7% случаев соответственно ( $p < 0,001$ ).

Под влиянием внутривенных инфузий тиоктацида или трометамоловой соли тиоктовой кислоты у больных сахарным диабетом типа 2 с диабетической полинейропатией И. А. Строков и соавт. [7]

наблюдали достоверное увеличение скорости распространения возбуждения по чувствительным нервам, тогда как по волокнам двигательных нервов достоверных изменений в скорости распространения возбуждения не получено. Наряду с этим у больных, получавших терапию тиоктацидом, отмечено достоверное снижение уровня маломолекулярного диальдегида в плазме крови, тогда как у больных, получавших плацебо, эти показатели остались без изменений.

Отмечено положительное влияние  $\alpha$ -липоевой кислоты не только на течение диабетической полинейропатии, но и на кардиальную автономную нейропатию, что подтверждено исследованием DEKAN (Deutsche Kardiale Autonome Neuropathy), в котором участвовало 73 больных сахарным диабетом типа 2 в сочетании с кардиальной автономной нейропатией [37], из которых 39 получали тиоктацид по 200 мг 4 раза в день и 34 — плацебо. Терапию тиоктацидом в суточной дозе 800 мг или плацебо проводили в течение 4 мес. Изменения в течении кардиальной автономной нейропатии выявляли мониторингом чувствительных показателей, включая определение вариабельности сердечного ритма. Другие изучаемые показатели, такие как уровень гликозилированного гемоглобина, АД, частота пульса и др., практически не изменялись в период наблюдения.

Терапия  $\alpha$ -липоевой кислотой сопровождалась статистически достоверным снижением клинических проявлений кардиальной автономной нейропатии (с 24,1 до 17,2%), тогда как в группе плацебо частота клинических проявлений кардиальной автономной нейропатии увеличивалась на 3,6%, что, вероятно, является следствием усиления утилизации глюкозы в нервных структурах, обеспечивающих работу сердца.

Клиническое применение тиоктацида и других препаратов тиоктовой кислоты (берлитион, эспалипон, тиогамма) показывает, что у больных сахарным диабетом на фоне их применения наблюдается достоверное уменьшение клинических проявлений нейропатии. Положительное влияние тиоктацида на течение диабетической полинейропатии отмечено и нами [1] при его применении в дозе 600 мг внутривенно в течение 3 нед с последующим продолжением его приема per os в суточной дозе 600–1200 мг еще в течение 3–4 мес.

Таким образом, препараты тиоктовой ( $\alpha$ -липоевой) кислоты должны занять соответствующее место в комплексной терапии сахарного диабета и его сосудистых осложнений.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Балаболкин М. И., Хасанова Э. Р., Мкртумян А. М., Кремминская В. М. // Клин. фармакол. и тер. — 1998. — Т. 7, № 2. — С. 78–82.
2. Балаболкин М. И., Клебанова Е. М. // Пробл. эндокринологии. — 2000. — Т. 46, № 6. — С. 29–34.
3. Балаболкин М. И., Кремминская В. М. // Журн. неврол. и психиатр. — 2000. — № 10. — С. 57–64.
4. Балаболкин М. И., Клебанова Е. М., Кремминская В. М. // Кардиология. — 2000. — № 10. — С. 74–87.
5. Балаболкин М. И. // Мед. кафедра. — 2004. — № 1 (9). — С. 48–57.
6. Барсель В. А., Щедрина И. С., Вахляев В. Д. и др. // Кардиология. — 1998. — № 5. — С. 18–20.

7. Строчков И. А., Яхно Н. Н., Аметов А. С. и др. // Новые лекарства и новости фармакотер. — 1999. — № 5. — С. 37—40.
8. Eason R. C., Archer H. E., Akhtar S., Bailey C. J. // Diabet. Obes. Metab. — 2002. — Vol. 4. — P. 29—35.
9. Haak E., Usadel K. H., Kusterer K. et al. // Exp. Clin. Endocrinol. Diabet. — 2000. — Vol. 108. — P. 168—174.
10. Han D., Handelman G., Marcocci L. et al. // Biofactors. — 1997. — Vol. 6. — P. 321—325.
11. Heitzer T., Finckh B., Albers S. et al. // Free Rad. Biol. Med. — 2001. — Vol. 31. — P. 53—61.
12. Henrikson E. J., Jacob S., Streeper R. S. et al. // Life Sci. — 1997. — Vol. 61. — P. 805—812.
13. Hermann R. // Münch. med. Wschr. — 1999. — Bd 141. — S. 1—5.
14. Hofmann M. A., Schiekofer S., Kanitz M. et al. // Diabetologia. — 1999. — Vol. 42. — P. 222—232.
15. Jacob S., Henriksen E. J., Schiemann A. L. et al. // Arzneimittelforschung. — 1995. — Bd 45. — S. 872—877.
16. Jacob S., Henriksen E. J., Tritschler H. J. et al. // Exp. Clin. Endocrinol. Diabet. — 1996. — Vol. 104. — P. 284—288.
17. Jacob S., Ruus P., Hermann R. et al. // Free Rad. Biol. Med. — 1999. — Vol. 27. — P. 309—314.
18. Konrad D., Somwar R., Sweeney G. et al. // Diabetes. — 2001. — Vol. 50. — P. 1464—1471.
19. Konrad T., Vicini P., Kusterer K. et al. // Diabetes Care. — 1999. — Vol. 22. — P. 280—285.
20. Kozlov A. V., Gille L., Stanick K., Nohl H. // Arch. Biochem. — 1999. — Vol. 363. — P. 148—153.
21. Low P. A., Dyck P. J., Ziegler D. et al. // Diabetologia. — 2002. — Vol. 45. — Suppl. 2. — P. 334.
22. Marangon K., Devaraj S., Tirosh O. et al. // Free Rad. Biol. Med. — 1999. — Vol. 27. — P. 1114—1121.
23. Midaoui A. E., Elimadi A., Wu L. et al. // Am. J. Hypertens. — 2003. — Vol. 16. — P. 173—179.
24. Morcos M., Borcea V., Isermann B. et al. // Diabet. Res. Clin. Pract. — 2001. — Vol. 52. — P. 175—183.
25. Nishikawa T., Edelstein D., Du X. L. et al. // Nature. — 2000. — Vol. 404. — P. 787—790.
26. Podda M., Tritschler H. J., Ulrich H., Packer L. // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1994. — Vol. 204. — P. 98—104.
27. Reljanovic M., Reichel G., Lobisch M. et al. // Free Rad. Res. — 1999. — Vol. 31. — P. 171—179.
28. Roy S., Sen C. K., Kobuchi H., Packer L. // Free Rad. Biol. Med. — 1998. — Vol. 25. — P. 229—233.
29. Roy S., Sen C. K., Tritschler H. J., Packer L. // Biochem. Pharmacol. — 1997. — Vol. 53. — P. 393—399.
30. Ruhnau K. J., Meissner H. P., Finn J. R. et al. // Diabet. Med. — 1999. — Vol. 16. — P. 1040—1043.
31. Saengsirisuwan V., Kinnick T. R., Schmit M. B., Henriksen E. J. // J. Appl. Physiol. — 2001. — Vol. 91. — P. 145—153.
32. Shigeta Y., Hiraizumi G., Wada M. et al. // J. Vitaminol. — 1961. — Vol. 7. — P. 47—52.
33. Streeper R. S., Henriksen E. J., Jacob S. et al. // Am. J. Physiol. — 1997. — Vol. 273. — P. D185—D194.
34. Weinstein R. B., Tritschler H. S., Henriksen E. J. // Free Rad. Biol. Med. — 2001. — Vol. 30. — P. 383—388.
35. Zhang W.-J., Frei B. // FASEB J. — 2001. — Vol. 15. — P. 2423—2432.
36. Ziegler D., Hanefeld M., Ruhnau K. J. et al. // Diabetologia. — 1995. — Vol. 38. — P. 1425—1433.
37. Ziegler D., Schatz H., Conrad F. et al. // Diabetes Care. — 1997. — Vol. 20. — P. 369—373.
38. Ziegler D., Hanefeld M., Ruhnau K. J. et al. // Diabetes Care. — 1999. — Vol. 22. — P. 1296—1301.
39. Ziegler D., Reljanovic M., Mehnert H., Gries F. A. // Exp. Clin. Endocrinol. Diabet. — 1999. — Vol. 107. — P. 421—430.

Поступила 04.10.04

© А. Л. ДАВИДОВ, Л. Ю. БАРАНОВА, 2005

УДК 616.379-008.64-07:616.127-076.4-091.8

А. Л. Давыдов, Л. Ю. Баранова

## ОСОБЕННОСТИ ГИСТО- И УЛЬТРАСТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ МИОКАРДА И СТЕНКИ СОСУДОВ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ ТИПА 2

Московский государственный медико-стоматологический университет

Изучены гисто- и ультраструктурные особенности поражения миокарда и сосудов у 27 больных (15 мужчин и 12 женщин), страдающих СД типа 2, ИБС и облитерирующим атеросклерозом сосудов нижних конечностей. Исследовали прижизненные эндомикардиальные биоптаты, интраоперационные биоптаты артерий голени, взятые в пределах здоровых тканей во время операции ампутации конечности, и участки неинфарктных зон миокарда левого желудочка, полученные на аутопсии у 32 умерших от осложненного атеросклероза.

Было установлено, что нарушение ультраструктурной организации миокарда при СД типа 2 в первую очередь касается структур, ответственных за энергетический и пластический обмен в кардиомиоцитах. При этом наиболее выраженные функциональные изменения связаны с диастолической функцией сердца. Морфологическая картина повреждения эндотелиоцитов, рабочих клеток миокарда и ультраструктурная организация микрососудов у больных СД типа 2 имела прямую зависимость от выраженности гормонально-метаболических нарушений, особенно гиперинсулинемии и гипергликемии. Выявленные нами изменения в системе микроциркуляции при СД типа 2 были настолько значительными, что наличие стенозов коронарных артерий уже не усугубляло характерных изменений архитектоники и функции кардиомиоцитов.

**Ключевые слова:** диабетическое сердце, диабетическая кардиомиопатия, морфология миокарда, эндокардиальные биоптаты, биоптаты артерий голени, гипергликемия, гиперинсулинемия, кардиомиоцит, апоптоз, фенестрированные капилляры.

*The histo- and ultrastructural characteristics of myocardial and vascular lesions were studied in 27 patients (15 males and 12 females) with type 2 diabetes mellitus (DM), coronary heart disease (CHD), and atherosclerosis obliterans of lower extremity vessels. The life-time endomyocardial biopsy specimens, intraoperative leg arterial biopsy specimens taken from intact tissues during leg amputation and non-infarction areas of the left ventricular myocardium, autopsically taken from 32 patients who had died from complications due to atherosclerosis were examined. Myocardial ultrastructural derangement in type 2 DM was found to primarily affect the structures responsible for the energy and plastic metabolism in the cardiomyocytes. Moreover, the most pronounced functional changes were associated with cardiac diastolic function. The morphological pattern of damage to endotheliocytes, working cells of the myocardium and the ultrastructural organization of microvessels in patients with type 2 DM are directly related to the severity of hormone metabolic disorders, hyperinsulinemia and hyperglycemia in particular. The changes found in the microcirculatory system in type 2 DM were pronounced to the extent that the presence of coronary artery stenoses aggravated the typical changes in the architectonics and cardiomyocytic functions no longer.*

**Key words:** diabetic heart, diabetic cardiomyopathy, myocardial morphology, endocardial biopsy specimens, leg arterial biopsy specimens, hyperglycemia, hyperinsulinemia, cardiomyocyte, apoptosis, fenestrated capillaries.