

## ◆ КЛИНИЧЕСКАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2003

УДК 616.379-008.64-085.252.349]-008.9-074

К. В. Антонова, Л. В. Недосугова, М. И. Балаболкин, Г. Г. Коновалова, М. О. Лисина, В. З. Ланкин

**ВЛИЯНИЕ КОМПЕНСАЦИИ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА НА СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПОПРОТЕИДОВ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ И АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ ТИПА 2**

ММА им. И. М. Сеченова, НИИ кардиологии им. А. Л. Мясникова Российского кардиологического научно-производственного комплекса Минздрава РФ, Москва

Окислительный стресс играет важную роль в возникновении и прогрессировании ряда тяжелых болезней, включая патологию сердечно-сосудистой и бронхолегочной системы, нейродегенеративные заболевания, злокачественный рост, болезни, связанные с действием неблагоприятных факторов окружающей среды, и др. [1, 4]. В последние годы в литературе также активно обсуждается участие свободнорадикальных процессов в патогенезе сахарного диабета (СД) и его осложнений [13, 17].

Для больных СД типа 2 характерно четырехкратное повышение риска летальности от острой сердечно-сосудистой недостаточности (инфаркты, инсульты) по сравнению с общей популяцией [11, 20, 25], что обусловлено ускоренным прогрессированием атеросклероза у этих больных. По современным представлениям, это связано с активацией свободнорадикального окисления липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) в плазме крови, вследствие чего эти частицы претерпевают окислительную модификацию и усиленно поглощаются моноцитами—макрофагами, которые превращаются в пенистые клетки, что способствует предатерогенной липидной инфильтрации стенки сосуда [26, 28]. Основным фактором, вызывающим атерогенную модификацию ЛПНП *in vivo*, являются различные альдегиды, в том числе малоновый диальдегид (МДА), в большом количестве образующиеся при окислительной деструкции липидных гидропероксидов, а также при автоокислении глюкозы и образовании конечных продуктов гликозилирования у больных диабетом с хронической гипергликемией [7]. Поскольку окислительная модификация ЛПНП, индуцируемая неферментным гликозилированием, резко повышает их атерогенность, т. е. способность проникать в интиму сосудов и захватываться макрофагами с образованием пенистых клеток, не является неожиданным существование определенной взаимосвязи между скоростью прогрессирования атеросклероза и уровнем гипергликемии при СВ [15]. Исходя из этого, вполне оправданы попытки ограничить интенсивность свободнорадикального окисления при диабете за счет компенсации углеводного обмена, что подтверждают результаты исследования UKPDS [24]. Вместе с тем при комплексной терапии диабета логичным представляется также использование пре-

паратов, обладающих антиоксидантной активностью, которые, ограничивая интенсивность свободнорадикальных процессов, могут подавлять манифестирование атеросклероза вне зависимости от степени компенсации углеводного обмена.

Исходя из вышесказанного, целью настоящей работы явилось изучение влияния компенсации углеводного обмена на свободнорадикальное окисление ЛПНП у больных СД типа 2 на фоне применения различных препаратов сульфонилмочевины, обладающих выраженной гипогликемической активностью: гликлазида (Диабетона), который, по имеющимся данным, кроме сахаропонижающей, обладает и антиоксидантной активностью [18], и глибенкламида (Манинила), являющегося самым активным сахаропонижающим средством среди препаратов этой группы.

**Материалы и методы**

Под нашим наблюдением находилось 30 пациентов (15 мужчин и 15 женщин), страдающих СД типа 2. В зависимости от получаемой терапии больные были распределены на 2 группы, сопоставимые по индексу массы тела, возрасту, длительности заболевания и степени компенсации углеводного обмена. В 1-ю группу ( $n = 15$ ) вошли больные, получавшие на момент включения в исследование Диабетон в суточной дозе от 80 до 240 мг, во 2-ю ( $n = 15$ ) — больные, получавшие на момент включения в исследование Манинил (1,75/3,5 мг) в суточной дозе от 3,5 до 10,5 мг. Одновременно обследовали группу из 10 практически здоровых лиц (без признаков гиперлипидемии и гипергликемии). Клиническая характеристика пациентов представлена в табл. 1.

Перед началом исследования и через 2 мес после достижения удовлетворительной компенсации углеводного обмена в соответствии с критериями European Diabetes Police Group (1998) в крови пациентов определяли уровень гликированного гемоглобина ( $HbA_{1c}$ ), первичных и вторичных продуктов свободнорадикального окисления ненасыщенных липидов ЛПНП, активность ключевых антиоксидантных ферментов, а также показатели липидного обмена.

Клиническая характеристика исследуемых групп ( $M \pm m$ )

Показатель	Доноры	Декомпенсация		Компенсация	
		1-я группа	2-я группа	1-я группа	2-я группа
Возраст, годы	56,3 ± 1,8	58,3 ± 2,4	55,4 ± 1,6	—	—
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	26,9 ± 0,4	29,85 ± 1,03	29,16 ± 0,82	—	—
Длительность СД, годы	—	5,5 ± 0,64	5,5 ± 1,01	—	—
HbA <sub>1c</sub> , %	5,5 ± 0,1	8,14 ± 0,35	8,1 ± 0,575	7,192 ± 0,201*	7,01 ± 0,298*
ХС, мг%	185,1 ± 3,9	230,5 ± 12,7	270,3 ± 19,9	231,4 ± 13,2	238,9 ± 14,7
Триглицериды, мг%	83,6 ± 3,7	239,5 ± 32,7	191,5 ± 19,5	176,8 ± 27,4*	170,2 ± 17,7
ХС ЛПВП, мг%	110,2 ± 4,2	41,5 ± 3,6	35,5 ± 1,4	41,4 ± 2,9	41,2 ± 3,3
ХС ЛПОНП, мг%	—	40,23 ± 4,48	36,92 ± 3,57	36,3 ± 4,8	32,2 ± 2,2
ХС ЛПНП, мг%	61,2 ± 2,2	135,2 ± 15,8	172,3 ± 18,2	159 ± 13,2	169,5 ± 11,7

Примечание. ИМТ — индекс массы тела; ХС — холестерин, ЛПВП — липопротеиды высокой плотности; ЛПОНП — липопротеиды очень низкой плотности. \* —  $p < 0,05$  по сравнению с фазой декомпенсации.

Уровень HbA<sub>1c</sub> определяли на приборе DCA 2000 Analiser ("Bayer") методом латексного ингибирования иммуоагглютинации с помощью Hb A<sub>1c</sub> Reagent Kit.

Для выделения ЛПНП у больных натощак брали венозную кровь в присутствии 1 мг/мл ЭДТА в качестве антикоагулянта и антиоксиданта. Плазму подвергали двукратному центрифугированию в градиенте плотности NaBr в течение 2 ч при 42 000 об/мин в угловом роторе 50Ti при 4°C рефрижераторной ультрацентрифуге Beckman L-8 согласно работе [23], а затем подвергали диализу при 4°C в течение 16 ч. Искользованный метод ввиду кратковременности процедуры центрифугирования позволяет избежать окисления нативных ЛПНП в процессе выделения [22], что неизбежно происходит при получении ЛПНП стандартными методами [14]. В образцах ЛПНП, выделенных описанным методом [23], не выявлено загрязнений другими фракциями липопротеидов или белками плазмы по данным электрофореза, причем по размеру частиц и составу липидов эти ЛПНП были идентичны выделенным по классическому методу [14]. Содержание белка в ЛПНП определяли по методу Лоури. Уровень липидных гидропероксидов в ЛПНП измеряли специфичным модифицированным методом, при котором липогидропероксидазы окисляли ионы Fe<sup>2+</sup>, после чего содержание Fe<sup>3+</sup> до и после восстановления органических гидропероксидов трифенилфосфином количественно определяли с помощью цветной реакции с ксиленолоранжем [16]. Содержание вторичного продукта свободнорадикального окисления липидов — МДА — в ЛПНП определяли по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой при 532 нм на спектрофотометре Hitachi-557 [2].

Для определения активности антиоксидантных ферментов — супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионпероксидазы (ГП) — образцы цельной крови (0,1 мл) смешивали в соотношении 1 : 9 с гипотоническим 5 мМ К, Na-фосфатным буфером pH 7,4, после гемолиза быстро замораживали и хранили до определения активности ферментов не более 1 мес при -20°C. Активность СОД в эритроцитах определяли на спектрофотометре Hitachi-220А после осаждения гема смесью этанол : хлороформ (3 : 5),

используя систему ксантин—ксантиноксидаза для генерирования супероксидного анион-радикала [5]. За единицу активности СОД принимали количество фермента, необходимое для 50% ингибирования реакции восстановления нитротетразолия синего в условиях определения. Активность ГП в лизатах эритроцитов определяли на химическом анализаторе Labsystems Oy FP-900 (Финляндия) в сопряженной глутатионредуктазной системе по окислению NADPH, используя гидроперекись трет-бутила в качестве субстрата [3, 19]. За единицу активности ГП принимали количество фермента, необходимое для окисления 1 мкмоль восстановленного глутатиона в условиях определения.

Содержание общего холестерина, холестерина липопротеидов высокой плотности и триглицеридов в плазме крови определяли с помощью энзиматического метода на химическом анализаторе Kone Progress с использованием тест-наборов фирмы "Boehringer", содержание холестерина ЛПНП и липопротеидов очень низкой плотности рассчитывали, исходя из этих показателей.

## Результаты и их обсуждение

Как видно из табл. 1, к началу исследования все больные находились в состоянии декомпенсации углеводного и липидного обмена, не отмечалось достоверного различия в уровне HbA<sub>1c</sub> между больными 1-й и 2-й групп, по показателям липидного обмена обе группы также были сопоставимы. Удовлетворительной компенсации углеводного обмена у больных обеих групп удалось добиться в среднем через 2 мес с помощью коррекции диетотерапии, физической нагрузки и подбора оптимальных доз сахарпонижающей терапии. В 1-й группе у 4 (27%) пациентов компенсации углеводного обмена добились путем терапии Диабетоном МВ в суточной дозе 60—120 мг, у 9 (60%) критериев компенсации достигли с помощью дополнительного к Диабетону приема метформина в суточной дозе 850—1000 мг, 2 (13%) пациента были переведены на комбинацию Диабетона с фоновой ночной инсулинотерапией в дозе 0,15 ЕД/кг.

Во 2-й группе у 5 (33,3%) человек компенсации углеводного обмена достигли путем коррекции до-

Таблица 2

Влияние компенсации углеводного обмена на показатели окислительного стресса у больных СД типа 2

Показатель	1-я группа		2-я группа	
	декомпенсация	компенсация	декомпенсация	компенсация
HbA <sub>1c</sub> , %	8,1 ± 0,35	7,2 ± 0,20*	8,1 ± 0,58	7,0 ± 0,30*
СОД, ЕД/г гемоглобина	4125 ± 232	9482 ± 331**	4450 ± 23	9248 ± 480**
ГП, ЕД/г гемоглобина	3,7 ± 0,19	4,2 ± 0,29	4,5 ± 0,25	6,6 ± 0,40**
МДА в ЛПНП, нмоль/мг белка	8,3 ± 1,42	5,2 ± 0,83*	10,1 ± 1,24	4,9 ± 0,84**
Гидроперекиси в ЛПНП, мкмоль/мг белка	182 ± 24,7	146 ± 89,4	216 ± 30,4	130 ± 24,4*

Примечание. \* —  $p < 0,01$ ; \*\* —  $p < 0,001$  по сравнению с исходным уровнем.

зы Манинила, остальные 10 (66,7%) пациентов были переведены на прием Глибомета (комбинированный препарат, содержащий 2,5 мг глибенкламида и 400 мг метформина в 1 таблетке) в суточной дозе от 2 до 4 таблеток.

Достижение компенсации углеводного обмена характеризовалось достоверным ( $p < 0,05$  в 1-й группе и  $p < 0,01$  во 2-й группе) снижением уровня Hb A<sub>1c</sub> (см. табл. 1), при этом отмечалась и тенденция ( $p < 0,1$ ) к снижению гипертриглицеридемии. В то же время достоверной разницы в оцениваемых показателях липидного и углеводного обмена между 1-й и 2-й группами не отмечено.

Компенсация углеводного обмена в обеих группах сопровождалась достоверным повышением активности СОД в эритроцитах, тогда как достоверное повышение активности ГП было выявлено только в группе больных, получавших Манинил (табл. 2).

При сравнении степени окисленности ЛПНП плазмы крови на фоне достижения компенсации углеводного обмена не было выявлено достоверного изменения уровня липогидроперексидов у больных 1-й группы, тогда как уровень МДА в этих частицах был достоверно ниже. В то же время во 2-й группе на фоне приема Манинила отмечалось достоверное ( $p < 0,001$ ) снижение уровня как липогидроперексидов, так и МДА (см. табл. 2). Возможно, этот факт обусловлен несколько более выраженным снижением уровня Hb A<sub>1c</sub> в этой группе (7,0 ± 0,3% против 7,2 ± 0,3% на фоне приема Диабетона), что может свидетельствовать о снижении процессов неферментного гликозилирования и подтверждает роль этих процессов в механизмах окислительного модифицирования липопротеидов.

По современным представлениям, свободные радикалы, генерируемые при автоокислении глюкозы, могут запускать окисление ЛПНП или способствовать образованию липогидроперексидов в этих частицах, особенно при гипергликемии [6, 9–12, 27]. С другой стороны, усиленная липопероксидация может способствовать образованию конечных продуктов гликозилирования [8, 10]. Таким образом, повышенное образование конечных продуктов гликозилирования может усиливаться вследствие индукции свободнорадикальных реакций в ненасыщенных липидах ЛПНП у больных СД. Следовательно, однонаправленное действие усиленного гликозилирования и свободноради-

кального окисления ЛПНП при диабете способствует активации молекулярных механизмов образования атеросклеротической бляшки, поскольку ЛПНП, модифицированные вследствие как их окисления, так и гликозилирования, в равной степени опознаются скэвенджер-рецепторами макрофагов и аккумулируются в них с образованием пенных клеток [21, 24, 25, 27]. На основании этого становится понятным, что скорость прогрессирования атеросклероза при СД напрямую зависит от уровня гипергликемии, причем атерогенность конечных продуктов неферментного гликозилирования может быть снижена за счет эффективной и длительной компенсации углеводного обмена.

## Выводы

1. Компенсация углеводного обмена у больных СД типа 2, приводя к уменьшению образования конечных продуктов неферментного гликозилирования, подавляет также и атерогенную липопероксидацию ЛПНП, способствуя снижению прогрессирования атеросклероза.

2. Несмотря на то что повышение активности ферментативных систем антиоксидантной защиты и снижение проявлений окислительного стресса напрямую коррелировало со степенью компенсации углеводного обмена, нами не выявлено преимуществ того или иного исследуемого сахарпонижающего препарата в воздействии на эти процессы.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Зенков Н. К., Ланкин В. З., Меньшикова Е. Б. Окислительный стресс. Биохимические и патофизиологические аспекты. — М., 2001.
2. Ланкин В. З., Гуревич С. М., Бурлакова Е. Б. // Биантиокислители. — М., 1975. — С. 73–78.
3. Ланкин В. З., Гуревич С. М. // Докл. АН СССР. — 1976. — Т. 226, № 3. — С. 705–708.
4. Ланкин В. З., Тихазе А. К., Беленков Ю. Н. Свободнорадикальные процессы в норме и при патологических состояниях: Пособие для врачей. — М., 2001.
5. Beauchamp C., Fridovich I. // Anal. Biochem. — 1971. — Vol. 44. — P. 276–287.
6. Dunn J. A., Patric J. S., Thorpe S. R. et al. // Biochemistry. — 1989. — Vol. 28. — P. 9464–9468.
7. Esaterebauer H., Schaur R. J., Zollner H. // Free Radic. Biol. Med. — 1991. — Vol. 11. — P. 81–128.
8. Hicks M., Delbridge L., Yue D. K. et al. // Arch. Biochem. — 1989. — Vol. 268. — P. 249–254.
9. Hunt J. V., Smith C. C. T., Wolff S. P. // Diabetes. — 1990. — Vol. 39. — P. 1420–1424.
10. Hunt J. V., Bottoms M. A., Clare K. et al. // Biochem. J. — 1994. — Vol. 300. — P. 243–249.

11. Kannel W B., McGee D L. // J. A. M. A. — 1979. — Vol. 241. — P. 2035—2038.
12. Kawamura M., Heinecke J. W., Chait A. // J. Clin. Invest. — 1994. — Vol. 94. — P. 771—778.
13. Laight D. W., Carrier M. J., Anggard E. E. // Cardiovasc. Res. — 2000. — Vol. 47. — P. 457—464.
14. Lindgren F. T. // Analysis of Lipids and Lipoproteins. — New York, 1975. — P. 204—224.
15. Mullarkey C. J., Edelstein D., Brownlee M. // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1990. — Vol. 173. — P. 932—939.
16. Nourooz-Zadeh J., Tajaddini-Sarmadi J., Wolff S. R. // Anal. Biochem. — 1994. — Vol. 220. — P. 403—409.
17. Oberley L. M. // Free Radic. Biol. Med. — 1988. — Vol. 5. — P. 113—124.
18. O'Brien R. S., Luo M. // Diabetes. — 1996. — Vol. 45 — Suppl. 1. — P. 36—39.
19. Paglia D. E., Valentine W. N. // J. Lab. Clin. Med. — 1967. — Vol. 70. — P. 158—167.
20. Ruderman N. B., Haudmschild C. // Prog. Cardiovasc. Dis. — 1984. — Vol. 26. — P. 373—412.
21. Schidt A. M., Mora R., Cao R. et al. // J. Biol. Chem. — 1994. — Vol. 269. — P. 9882—9888.
22. Szczeklik A., Gruglewski R. J., Domagala B. et al. // Prostaglandins. — 1981. — Vol. 22. — P. 795—807.
23. Tertov V. V., Kaplun V. V., Dvoryantsev S. N. et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1995. — Vol. 214. — P. 608—613.
24. UKPDS: Intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS33) // Lancet. — 1998. — Vol. 352. — P. 837—853.
25. WHO Study Group: Diabetes Mellitus. World Health Organ. Techn. Ser. — 1985. — Vol. 727. — P. 1—113.
26. Witztum J. L., Steinberg D. // J. Clin. Invest. — 1991. — Vol. 88. — P. 1785—1792.
27. Wolff S. P., Bascal Z. A., Hunt J. V. // The Maillard Reaction in Aging, Diabetes and Nutrition / Eds J. W. Baynes, V. M. Monnier. — New York, 1989. — P. 259—278.
28. Yla-Herttuala S. // Drugs Today. — 1994. — Vol. 30. — P. 507—514.

Поступила 26.11.02

## ◆ РЕЦЕНЗИЯ

© С. А. ДОГАДИН, 2003  
УДК 616.45-008.64(049.32)

И. И. Дедов, В. В. Фадеев, Г. А. Мельниченко. **Недостаточность надпочечников.** — М., 2002. — 320 с.

Интенсивное развитие экспериментальной эндокринологии, разработка новых методов инструментальной и лабораторной диагностики требуют от практического врача постоянного совершенствования своих знаний, ориентированности в новых диагностических возможностях, умения правильно использовать их и интерпретировать полученные сведения. С другой стороны, практическому врачу порой очень трудно разобраться в информационном потоке новейших сведений, найти необходимое в текущей периодической литературе. Поэтому основными источниками получаемых знаний у специалистов до сих пор являются учебные пособия и монографии. К настоящему времени выпущен ряд прекрасных учебников по эндокринологии. Почти все они стали настольными книгами врачей-практиков. Учебные пособия дают основы знаний. Однако в практической работе у эндокринолога возникают вопросы, ответы на которые можно найти только в монографической литературе. Поэтому выпуск каждой новой монографии специалисты ожидают с большим интересом. В связи с этим нам хотелось бы обратить внимание на выход в свет новой книги "Недостаточность надпочечников", авторами которой являются акад. РАМН И. И. Дедов, канд. мед. наук В. В. Фадеев и проф. Г. А. Мельниченко. Эта книга дает представление о современном состоянии проблемы гипокортицизма. Несмотря на то что недостаточность надпочечников является относительно редкой патологией, в практике эндокринолога это заболевание имеет очень большое значение. Поэтому монография является весьма актуальной.

В монографии 10 глав. Каждая глава структурирована, имеет разделы в виде подглав и список всей цитируемой в ней литературы.

В 1-й главе представлена история изучения надпочечников. Авторами тщательно прослежены все важные вехи истории открытия, изучения морфологии, физиологии, патологии надпочечников. Большая часть главы посвящена Томасу Аддисону, его творческому пути, его исторической роли в исследовании этих желез. Примечателен заканчивающий главу библиографический указатель всех оригинальных работ (первоисточников), оставших след в истории изучения надпочечников.

Во 2-й главе содержатся сведения об анатомии надпочечников и гормонах, вырабатываемых этими эндокринными железами. Рассмотрены классическая схема биосинтеза кортикостероидов, транспорт, механизм действия и метаболизм стероидных гормонов. Показан патогенез псевдогиперальдостеронизма, обуславливающий артериальную гипертензию и гипокалиемию при эндогенном или экзогенном гиперкортицизме. Более

подробно представлены характеристика глюкокортикоидов, минералокортикоидов, андрогенов и регуляция их биосинтеза.

В 3-й главе дано определение недостаточности надпочечников, рассмотрена классификация гипокортицизма. Авторы подчеркивают, что недостаточная секреция гормонов коры надпочечников может быть обусловлена нарушением функции одного или нескольких звеньев гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и это характеризуется как первичная, вторичная и третичная недостаточность. При этом наиболее частым вариантом, как указывают авторы, является вторичная недостаточность надпочечников по причине широкого использования в клинической медицине глюкокортикоидов. Однако основную лечебную тактику при этом определяет активность основного заболевания, а не развитие недостаточности надпочечников. Поэтому в практике эндокринолога наибольшее значение имеет первичная хроническая недостаточность надпочечников, которой в основном и посвящены все последующие главы.

Большой интерес вызывает 4-я глава, самая большая по объему, посвященная этиологии первичного гипокортицизма. Авторы на основании данных литературы и собственных наблюдений обращают внимание на произошедший закономерный патоморфоз болезни Аддисона в XX веке, заключающийся в смене этиологической причины — туберкулезного поражения на аутоиммунную деструкцию коры надпочечников. По данным авторов, туберкулез как причина поражения надпочечников в этиологической структуре первичного гипокортицизма составляет 10%, а аутоиммунные поражения — 80%. Рассмотрено влияние противотуберкулезных препаратов, назначаемых при туберкулезе надпочечников, на компенсацию недостаточности надпочечников. Представленная авторами литература свидетельствует о необратимости изменений в коре надпочечников при туберкулезе.

Подробно обобщены сведения литературы и представлены собственные данные об аутоиммунном генезе деструкции коры надпочечников. Приведена характеристика антител к ферментам надпочечникового стероидогенеза, рассмотрена значимость определения разных групп антител в диагностике изолированной недостаточности надпочечников и недостаточности надпочечников как проявления аутоиммунных полигландулярных синдромов. Примечатательно заключение авторов о наблюдающемся в настоящее время новом этапе патоморфоза первичной недостаточности надпочечников, характеризующемся постепенным переходом последней в разряд аутоиммунных полигландулярных синдромов. Этим синдромам в книге уделено большое внимание.

Впервые в отечественной литературе, адресованной эндокринологам, рассматривается аденолейкодистрофия как этиологическая причина первичной недостаточности надпочечни-