Резюмируя вышесказанное, можно сделать заключение о том, что, к сожалению, сегодня мы не можем однозначно ответить на многие вопросы, касающиеся возможности использования различных средств для изменения естественного течения ИЗСД. Можно высказать надежду, что в ближайшие годы станет ясно, какой из препаратов более эффективен и надежен, какие сочетания препаратов целесообразны и доступны, какие алгоритмы лечения и профилактики необходимо использовать при ИЗСД и в группах высокого риска его развития.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Горелышева В. А., Смирнова О. М., Дедов И. И.* // Мед.-фармацевт. вестн. — 1996. — № 4—5. — С. 47—54.
2. *Кураева Т. Л.* // Пробл. эндокринол. — 1991. — Т. 37, № 1. — С. 63—67.
3. *Смирнова О. М.* Клинические, иммуногенетические, гормонально-метаболические аспекты впервые выявленного инсулинзависимого сахарного диабета: Дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1995.
4. *Agner T., Damm P., Binder C.* // Diabetes Care. — 1987. — Vol. 10. — P. 164—169.
5. *Andreani D., Mario U. D., Pozzilli P.* // Diabet. Metab. Rev. — 1991. — Vol. 7. — P. 61—77.
6. *Baker L., Kaye R., Root A. W.* // J. Pediat. — 1967. — Vol. 71. — P. 825—831.
7. *Boitard C. H.* // Diabetologia. — 1992. — Vol. 35. — P. 1101—1112.
8. *Bonora E., Coscelli C., Butturini U.* // Acta diabetol. lat. — 1984. — Vol. 21. — P. 375—383.
9. Canadian-European Randomized Clinical Trial Group // Diabetes. — 1988. — Vol. 37. — P. 1574—1582.
10. *Cook D., Taborsky G.* // Diabetes Mellitus. Theory and Practice / Eds H. Rifkin, D. Porte. — New York, 1990. — P. 92—95.
11. *Drell D. W., Notkins A. L.* // Diabetologia. — 1987. — Vol. 30. — P. 132—143.
12. *Eisenbarth G. S.* // New Engl. J. Med. — 1989. — Vol. 314. — P. 1360—1368.
13. *Elliott R. B., Bibby N. J., Reddy S.* // International Workshop on Immunology of Diabetes, 19-th: Proceedings / Eds E. Shafir, P. Vardy. — Jerusalem, 1990. — P. 34.
14. *Feutren G., Papoz L., Assan R.* et al. // Lancet. — 1986. — Vol. 2. — P. 119—123.
15. *Fukuda M., Tanaka Y., Tanaka A.* et al. // Diabetes. — 1988. — Vol. 37. — P. 81—87.
16. *Inone Y., Tanigawa K., Tamura K.* et al. // Diabetologia. — 1992. — Vol. 35, Suppl. 1. — P. A115.
17. *Knip M., Sakkinen A., Huttunen N.* et al. // Acta paediat. scand. — 1982. — Vol. 71. — P. 901—908.
18. *Knip M., Ilonen J., Mustonen A., Akerblom H. K.* // Diabetologia. — 1986. — Vol. 29. — P. 347—351.
19. *Kolb H.* // Diabet. Metab. Rev. — 1987. — Vol. 3. — P. 751—778.
20. *Kolb H., Dannehl K., Gruneclee D.* et al. // Diabetologia. — 1988. — Vol. 31. — P. 189—194.
21. *Kolb H., Burkard V., Appels M.* // J. Autoimmun. — 1990. — Vol. 3. — P. 1—4.
22. *Kolb H., Kolb-Bachofen V.* // Diabetologia. — 1992. — Vol. 35. — P. 796—797.
23. *Lampeter F.* // Diabete et Metab. — 1993. — Vol. 19. — P. 105—109.
24. *Lazarow A.* // Anat. Rec. — 1947. — Vol. 97. — P. 353—358.
25. *Madsbad S., Bottazzo G. F., Cudworth A. G.* et al. // Diabetologia. — 1980. — Vol. 18. — P. 45—47.
26. *Madsbad S.* // Ibid. — 1983. — Vol. 24. — P. 141—147.
27. *Martin S., Schernthaner G., Nerup J.* et al. // Ibid. — 1991. — Vol. 34. — P. 429—434.
28. *Nakajama H., Fujino-Kurihara H., Hanafusa T.* et al. // Biomed. Res. — 1985. — Vol. 6. — P. 185—189.
29. *Nomicos I. N., Prowse S. J., Carotenuto P.* // Diabetes. — 1986. — Vol. 35. — P. 1302—1304.
30. *Okamoto H.* // Bioessays. — 1985. — Vol. 2. — P. 15—21.
31. *Petersen J. S., Dyrberg T., Karlsen A. E.* et al. // Diabetes. — 1994. — Vol. 43. — P. 1291—1296.
32. *Pinkney J. H., Bingney P. J., Sawtel P. A.* et al. // Diabetologia. — 1994. — Vol. 37. — P. 70—74.
33. *Pipeleers D., Ling Z.* // Diabet. Metab. Rev. — 1992. — Vol. 8. — P. 209—227.
34. *Pozzilli P., Singapore A., Andreani D.* // Diabetologia. — 1992. — Vol. 35. — P. 1093—1095.
35. *Schiffrin A., Suissa S., Poussier P.* et al. // Diabetes. — 1988. — Vol. 37. — P. 920—925.
36. *Shah S. C., Malone J. I., Simpson N. E.* // New Engl. J. Med. — 1989. — Vol. 320. — P. 550—554.
37. *Shehaden N., Karnieli E., Bruchim I.* et al. // International Immunology and Diabetes Workshop, 13-th. — Mont-villargenne, France, 1994.
38. *Sochett E. B., Daneman D., Clarson C., Ehrlich R. M.* // Diabetologia. — 1987. — Vol. 30. — P. 453—459.
39. *Sudre Y., Marechaud R., Rossi F.* et al. // Rev. Med. Int. — 1984. — Vol. 5. — P. 206—211.
40. *Uchigata Y., Yamamoto H., Nagai H.* et al. // Diabetes. — 1983. — Vol. 32. — P. 316—318.
41. *Wallesteen M., Dahlquist G., Persson B.* et al. // Diabetologia. — 1988. — Vol. 31. — P. 664—669.
42. *Yonemura Y., Takashima T., Miwa K.* et al. // Diabetes. — 1984. — Vol. 33. — P. 401—404.

Поступила 02.04.99

© И. Е. КОВАЛЕВ, Е. И. РУМЯНЦЕВА, 2000

УДК 615.31:547.963.4]:616.379-008.64-06

И. Е. Ковалев, Е. И. Румянцева

СИСТЕМА ЦИТОХРОМА Р-450 И САХАРНЫЙ ДИАБЕТ

Институт биотехнологии (дир. — проф. Р. Г. Василов), Эндокринологический научный центр (дир. — акад. РАМН И. И. Дедов) РАМН, Москва

Все живые существа от микроба до человека наделены гемсодержащими энзимами, относящимися к суперсемейству цитохрома Р-450. В состав этого суперсемейства, как теперь установлено, входит более 300 изоформ, способных катализировать по крайней мере 60 типов энзиматических реакций с сотнями тысяч химических структур [39]. Это суперсемейство цитохрома Р-450 эволюционно очень древнее и, по имеющимся расчетам, существует в живой природе более 3,5 млрд лет [39].

Цитохром Р-450 был открыт в процессе поиска и изучения энзимов, обеспечивающих стероидогенез. В 1957 г. было обнаружено, что окись углерода (CO) ингибирует С-21-стероидгидроксилазу в микросомах надпочечников [50]. Это дало основание предположить, что данный энзим содержит гем. В 1958 г. установили, что пигмент, связывающий CO в микросомальной фракции, обладает необычным дифференциальным спектром поглощения при длине волны 450 нм [19, 27]. Отсюда и появилось в 1964 г. название "цитохром Р-450", после того как было установлено, что CO-связывающий пигмент является гемопротеином [40, 41].

Сейчас известно, что цитохромом Р-450 снабжены все ядросодержащие клетки животных.

Основные функции цитохрома Р-450 следующие: биосинтез веществ—регуляторов различных важнейших физиологических процессов, в том числе

стероидных гормонов; катаболизм разнообразных химических соединений (как ксенобиотиков, так и эндогенных) и их выведение из организма.

Наиболее известной функцией цитохромов Р-450 является превращение путем окисления жирорастворимых (липофильных) веществ в более полярные (водорастворимые) метаболиты, которые могут быстро выводиться из организма. Однако в настоящее время показано, что энзимы системы цитохрома Р-450 играют важнейшую роль в оксидативном, пероксидативном и редуктивном метаболизме множества эндогенных химических веществ, в том числе таких, как стероиды, желчные кислоты, жирные кислоты, простагландины, лейкотриены, биогенные амины [39].

Системы цитохрома Р-450, включающие в себя в качестве необходимых функциональных компонентов редуктазы, локализованы в митохондриях и в эндоплазматическом ретикулуме клеток животных и человека.

Эволюционно более древняя митохондриальная система цитохрома Р-450 отличается от микросомальной своими редуцирующими компонентами, поставляющими электроны из NADPH к молекуле цитохрома Р-450 для катализа монооксигеназных реакций. Митохондриальные цитохромы Р-450 встроены во внутреннюю мембрану и получают электроны из NADPH через 2 последовательно действующих энзима — NADPH-цитохром Р-450-редуктазу и адренодоксин — протеин, связанный с негемовым железом. Эта электронтранспортная редуцирующая система митохондрий животных сходна с той, которая имеется у бактерий [20]. Такое сходство служит важным аргументом в обосновании известной гипотезы симбиотического бактериального происхождения митохондрий клеток эукариотов [13]. В пользу бактериального симбиотического происхождения митохондрий свидетельствует и то, что гем, являющийся главной составной частью молекулы цитохрома Р-450, как известно, синтезируется в митохондриях. Следует отметить, что индукторы цитохрома Р-450 барбитураты и алкоголь индуцируют в митохондриях синтез β-аминолевуленатсинтазы (ALA-S) — скорость лимитирующего энзима в биосинтезе гема [14, 33].

Сначала митохондриальный цитохром Р-450 обнаружили в коре надпочечников, а затем и в различных органах животных. Теперь ясно, что все стероидогенные органы и некоторые нестероидогенные органы, включая печень и почки, содержит цитохромы Р-450 в митохондриях и что митохондриальные цитохромы Р-450 отличаются от микросомальных в тех же самых клетках.

В клетках коры надпочечников имеются 4 изоформы цитохрома Р-450 (Р-450(scc), Р-450(С21), Р-450 (17α) и Р-450(11β)), участвующие в биосинтезе различных стероидных гормонов [35].

Митохондриальные цитохромы Р-450, осуществляющие метаболизм стероидов, витамина D_3, отличаются, кроме прочего, от многих микросомальных типов цитохрома Р-450 еще и тем, что не имеют значительной монооксигеназной активности в отношении ксенобиотиков. Однако митохондриальные цитохромы Р-450, обладающие способностью метаболизировать ксенобиотики, также обнаружены [38].

Реакционный цикл, осуществляемый цитохромом Р-450, начинается с того, что его субстрат (эндогенное вещество или ксенобиотик) связывается с активным центром цитохрома Р-450 и вызывает определенные изменения в структуре гема цитохрома Р-450, которые можно изучать спектральным методом (с помощью определения дифференциальных спектров абсорбции).

Многие вещества связываются непосредственно с гидрофобным пептидным активным центром энзима (их называют субстратами), а другие взаимодействуют с гемом активного центра, локализованным около пептидного активного центра (их именуют лигандами). И те и другие окисляются в результате взаимодействия с цитохромом Р-450.

Процесс микросомального окисления как эндогенных, так и экзогенных химических веществ начинается со связывания химического соединения с активным центром цитохрома Р-450 (рис. 1).

Цитохром Р-450-зависимая биотрансформация жирорастворимых соединений в более полярные (водорастворимые) метаболиты способствует их экскреции с мочой или желчью. Кроме того, микросомальное окисление, как правило, дополняется конъюгированием гидроксилированных цитохромом Р-450 соединений с такими эндогенными веществами, как глюкуроновая кислота, глицин и др., которые значительно повышают водорастворимость и скорость выведения из организма метаболизируемого эндогенного или экзогенного вещества.

Биохимическая система цитохрома Р-450 занимает центральное место в гормональной системе. Предельно убедительным и четким доказательством этого утверждения являются данные о синтезе

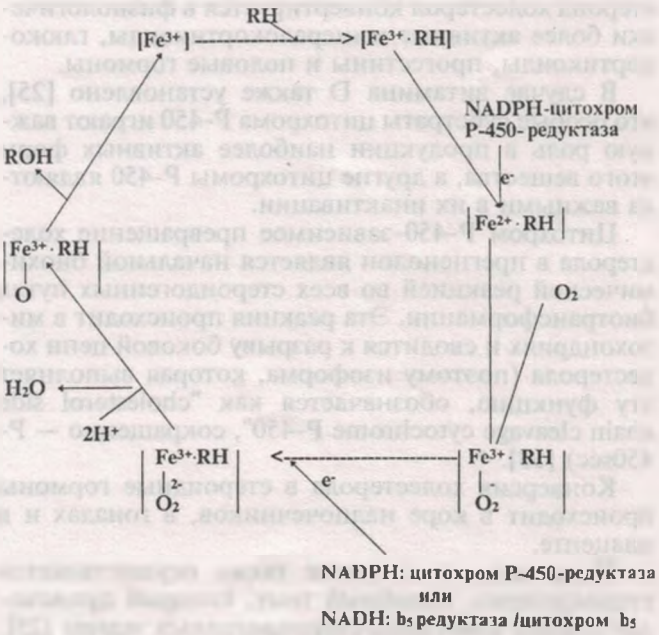

Рис. 1. Реакционный цикл цитохрома Р-450 при окислении (гидроксилировании) вещества-субстрата, связывающегося с активным центром гемсодержащей молекулы цитохрома Р-450 [37].

Окисленная форма цитохрома Р-450 (феррицитохром) представлена как Fe^{3+}, а восстановленная (ферроцитохром) — как Fe^{2+}.

RH — химическое соединение, являющееся субстратом цитохрома Р-450; *ROH* — продукт окисления (гидроксилирования) этого субстрата.

После окисления того или иного вещества (присоединения к нему одного атома кислорода — монооксигеназная реакция) цитохром Р-450 освобождается от него и готов окислять другие молекулы.

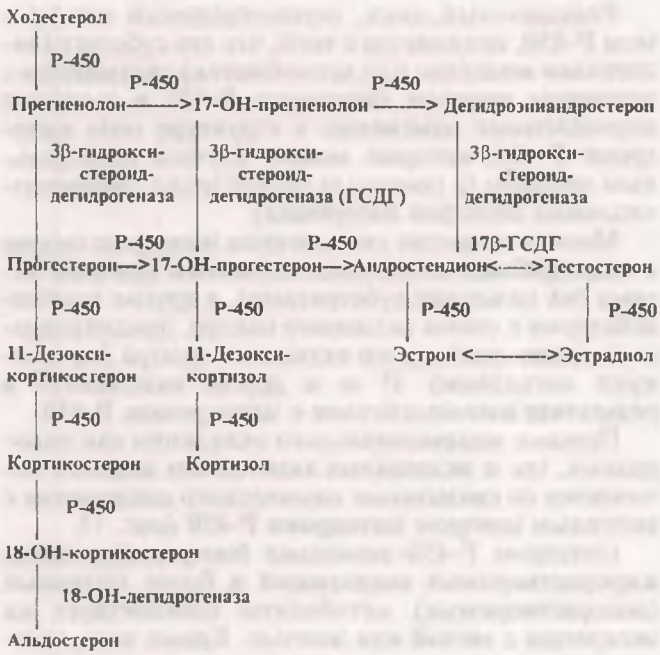

Рис. 2. Главные пути стероидогенеза [31].

и метаболизме стероидов у животных и человека, представленные на рис. 2.

В отличие от микросомального окисления ксенобиотиков и эндогенных веществ, при котором субстраты цитохрома P-450 превращаются, как правило, в менее активные и более быстро выводимые из организма, при митохондриальном окислении эндогенные субстраты приобретают важную биологическую активность. Так, менее активный стероид холестерол конвертируется в физиологически более активные минералокортикоиды, глюкокортикоиды, прогестины и половые гормоны.

В случае витамина D также установлено [25], что особые субстраты цитохрома P-450 играют важную роль в продукции наиболее активных форм этого вещества, а другие цитохромы P-450 являются важными в их инактивации.

Цитохром P-450-зависимое превращение холестерола в прегненолон является начальной биохимической реакцией во всех стероидогенных путях биотрансформации. Эта реакция происходит в митохондриях и сводится к разрыву боковой цепи холестерола (поэтому изоформа, которая выполняет эту функцию, обозначается как "cholesterol side chain cleavage cytochrome P-450", сокращенно — P-450scc) [53].

Конверсия холестерола в стероидные гормоны происходит в коре надпочечников, в гонадах и в плаценте.

Полагают, что в мозге также осуществляется стероидогенез, подобный тому, который происходит в более известных стероидогенных тканях [25].

Продукция эстрогенов также наблюдается в жировой ткани, определенные стероидогенные процессы идут и в других тканях (например, в сетчатке глаза и в желудке). Полагают, что имеются и другие, пока еще не открытые места продукции стероидных гормонов.

Установлено, что существует особая "диабетическая (алкогольная)" изоформа цитохрома P-450 (CYP2E1).

Общеизвестно, что самые разнообразные химические соединения при введении в организм могут индуцировать различные изоформы цитохрома P-450 [5, 39]. Однако индукция определенных изоформ развивается и вследствие внутренних причин, в частности при диабете [5, 26].

В ряде исследований уже давно обнаружена индукция уникальной изоформы цитохрома P-450 при экспериментальном диабете [26, 45, 46, 48, 49].

Еще в 1982 г. было показано [49], что при экспериментальном диабете (у генетически гипергликемических мышей [x(ob/ob и db/db] и у мышей, у которых диабет вызывали введениями стрептозотоцина) наблюдается индукция системы цитохрома P-450 печени с повышением соответствующей метаболической активности печени. При этом оказалось, что индуцирующим систему цитохрома P-450 печени фактором является не сам по себе повышенный уровень глюкозы в крови, а именно диабетическое состояние. При использовании мышей определенных линий, характеризующихся спонтанной гипергликемией, сдвигов в системе цитохрома P-450, характерных для экспериментального диабета, не было. Однако у тех же мышей, у которых с помощью стрептозотоцина вызывали разрушение клеток поджелудочной железы, наблюдалась индукция цитохрома P-450 в печени. Уровень сахара у мышей этих двух групп оказался одинаковым. Было высказано предположение, что именно снижение уровня инсулина является фактором индукции цитохрома P-450 в печени [49].

В экспериментах, как правило, гипоинсулиновый диабет у крыс вызывают аллоксаном или стрептозотоцином. Оказалось, что при вызванном таким образом диабете увеличиваются общее количество цитохрома P-450 в печени и скорость метаболизма субстратов II типа. В то же время метаболизм субстратов I типа не изменялся и даже мог снижаться [45, 46].

Чрезвычайно важно то, что описанные выше изменения скорости метаболизма в системе цитохрома P-450 при диабете были обратимыми при терапии диабета инсулином.

На основании этого факта был сделан вывод о том, что указанные выше сдвиги в функции системы цитохрома P-450 обусловлены не непосредственно аллоксаном или стрептозотоцином, разрушающими клетки поджелудочной железы, продуцирующие инсулин, а диабетом как таковым. Аналоги стрептозотоцина, не обладающие способностью индуцировать диабет, не вызывали такого сдвига в системе цитохрома P-450 печени, как при диабете.

Необходимо особо отметить, что инсулинзависимая изоформа цитохрома P-450 микросом печени является идентичной той, которая индуцируется этанолом. В 1982 г. из печени кроликов была выделена в чистом виде особая изоформа цитохрома P-450, содержание которой индуцировалось этанолом. Ее назвали "этанолиндуцибельный цитохром P-450" (CYP2E1) [22, 23, 28, 29]. Этот энзим не только активен в окислении этанола, но, более того, он является главной молекулярной основой микросомального окисления этанола. Кроме того, эта изоформа P-450 является в такой же степени эффективной монооксигеназой, биотраснформирующей ацетон и ацетол [29]. Эти данные не только имеют прямое отношение к проблеме диабета, но и показывают важную роль системы цитохрома P-450 в поддер-

жании химического гомеостаза при указанном заболевании. Мы полагаем, что именно ацетон (кетоновые тела) является причиной индукции CYP2E1. Соответствующий энзим был в последующем найден в печени крыс и людей. Далее, этанолиндуцибельный CYP2E1 обнаружили в различных тканях, включая мозг, почки, желудочно-кишечный тракт, кожу и легкие [23]. Подсчитано, что концентрация CYP2E1 в гепатоцитах определенных зон печени весьма высока — 0,1 мМ.

Таким образом, при хронических введениях этанола и при диабете происходит увеличение уровня одной и той же особой изоформы цитохрома P-450 (CYP2E1) в печени [56, 57] и в изолированных гепатоцитах [56]. При этом увеличивается в клетках содержание CYP2E1 mRNA [24].

Показано, что ацетальдегид способен индуцировать "внеплановый" синтез ДНК в гепатоцитах [58].

Не исключено, что этанолиндуцированная (диабетиндуцированная) изоформа CYP2E1 имеет отношение к регуляции биоэнергетических процессов (поскольку CYP2E1 участвует в метаболизме этанола и ацетальдегида [22, 23, 32]. Как известно в организме вырабатывается эндогенный этанол [43]. Он присутствует в различных тканях животных и в сыворотке крови человека и животных в достаточно низких концентрациях (0,1—1 мг%, 0,02-0,2 мМ).

Этанол в организме, как известно, превращается в ацетальдегид, последний же является эндогенным регулятором окислительного фосфорилирования [3, 4, 6]. Ферменты реагируют на очень малые концентрации ацетальдегида, активность которого как регулятора сопоставима с воздействиями эндогенных гормональных веществ. Этанол и ацетальдегид имеют совершенно различные химические свойства. Ацетальдегид "легко" реагирует с аминогруппами, карбоксильными группами и SH-группами, но это свойство ограничивает свободное поступление ацетальдегида в клетку, особенно в митохондрии. В отличие от ацетальдегида этанол — химически малоактивное вещество, легко проникающее в любые отделы клетки, для него не существует забарьерных органов. Поэтому полагают, что этанол — это транспортная форма ацетальдегида, т. е. своеобразное его депо [1].

Как известно, барбитураты — индукторы системы цитохрома P-450 — также индуцируют синтез β-аминолевуленатсинтазы (ALA-S) — скорость лимитирующего энзима в биосинтезе гема в митохондриях [54]. Аналогичное действие оказывает и алкоголь [55], а гем является позитивным регулятором транскрипции генов цитохрома P-450 [12].

Хроническое введение этанола повышает активность NADPH-цитохром P-450-редуктазы — важнейшего компонента системы цитохрома P-450 [7].

Интересно, что содержание крыс в среде, содержащей 95% кислорода, в течение 60 ч приводит к 4-кратному увеличению содержания CYP2R1 в печени и легких животных [59]. Однако механизм этой индукции неясен.

При исследовании влияния инсулина на цитохром P-450-редуктазу в культуре гепатоцитов установлен очень важный факт: инсулин повышает сохранение редуктазной активности и содержание протеина NADPH-цитохром P-450-редуктазы в течение 48 ч культивирования клеток [61], т. е. инсулин препятствует деградации указанного энзима в данных экспериментальных условиях.

Активность различных изоформ цитохрома P-450 при диабете рассмотрена в ряде недавних публикаций [62, 63]. Совершенно очевидно, что неконтролируемый инсулинзависимый диабет не только сопровождается дефективным метаболизмом углеводов, который выражается в гипергликемии, гиперлипидемии и гиперкетонемии, но и ассоциируется с гормональной перестройкой, включающей уменьшение циркулирующего тестостерона, тиреоидного гормона и гормона роста (GH) плазмы [47, 51, 52].

Эти гормоны либо прямо, либо опосредованно регулируют многие печеночные цитохром P-450-энзимы.

Таким образом, диабетическое состояние ассоциируется с глубокими изменениями в системе печеночных цитохромов P-450.

Диета играет важную роль в выраженности этанолзависимой индукции "диабетической (алкогольной)" изоформы цитохрома P-450. Так, показано, что этанол в комбинации с низкоуглеводной диетой может вызывать 10-кратное увеличение (индукцию) CYP2E1 в почках, но на содержание CYP2E1 в мозге это не отражается [22]. Комбинация высокой дозы углеводов с этанолом вызывает меньшую индукцию энзима, чем комбинация с ненасыщенными жирными кислотами.

Кроме того, жир в отсутствие этанола важен для эффективной индукции CYP2E1. Так, чем больше жира, тем больше индукция CYP2E1 [64, 65].

Замещение кукурузного масла в диете на линоленовую кислоту вызывает сходное увеличение уровня CYP2E1 (примерно в 3 раза) по сравнению с диетой с кукурузным маслом [65]. Это означает, что жир в диете может усиливать экспрессию CYP2E1 в печени. Механизм этого увеличения неизвестен, но, как полагают [23], это может быть обусловлено активацией транскрипции CYP2E1 гена жиром и особенно линоленовой кислотой.

Линоленовая кислота, так же как арахидоновая кислота, относится к ненасыщенным жирным кислотам (т. е. имеющим двойные связи). Ненасыщенные жирные кислоты, как известно, участвуют в реакциях присоединения по двойным связям.

Оксидативный метаболизм жирных кислот в норме происходит в митохондриях (или в пероксисомах) [42].

В настоящее время исследования роли CYP2E1 в течении заболевания сахарным диабетом уже с успехом проводятся в клинике. Так, в 1990 г. Song и соавт. [57], используя лимфоциты от больных диабетом, установили, что CYP2E1 индуцируется не только в экспериментальных условиях у животных, но и у больных диабетом людей, причем выраженность индукции CYP2E1 коррелирует с тяжестью заболевания и, в частности, с таким его показателем, как интенсивность гликозилирования (в последнее время употребляется термин "гликирование"), т. е. с количеством гемоглобина, модифицированного ковалентным связыванием с глюкозой.

Авторы показали, что мониторинг CYP2E1 в лимфоцитах может быть важным клиническим тестом выраженности патологического процесса при диабете.

Существуют возрастные и половые различия в активности CYP2E1. Показано, что ген CYP2E1 является неактивным в пренатальном периоде, но ак-

тивируется при рождении. Механизм этой генетической активации пока не известен [23], но исследования этого механизма проводятся [60].

Учитывая важность информации о состоянии системы цитохрома Р-450 при диабете у детей, следует привести данные об экспериментах с новорожденными и растущими животными. Вскоре после рождения появляются различные изоформы цитохрома Р-450 в печени (CYP1A2H, CYP2A1, CYP2B1, CYP2B2, CYP2E1, CYP3A1, CYP3A2), но затем, к 30-му дню их содержание резко снижается. Однако в пубертатном периоде развивается индукция других (пубертатных) форм CYP [63].

Надо полагать, что диабетические изменения в количестве изоформ CYP и активности системы цитохрома Р-450 у детей могут существенно отличаться от показателей взрослых людей.

Показано, что система цитохрома Р-450 реагирует на диабетическое состояние у самцов и самок неодинаково. Значительное увеличение содержания CYP2E1, CYP1A2, CYP2A1 и CYP2B1 при выраженном снижении уровня CYP2C11 наблюдалось в печени самцов с диабетом [11, 17]. Введение инсулина крысам с диабетом восстанавливало эти уровни активности цитохромов Р-450 и нормализовало метаболический профиль. Некоторые из этих сдвигов в содержании цитохрома Р-450, как кажется авторам, были обусловлены изменением секреции гормона роста и уменьшением рецепторов для гормона роста на мембране печеночных клеток [15, 16].

Возникает вопрос — возможна ли фармакологическая регуляция активности изоформы CYP2E1 при сахарном диабете?

Мы полагаем, что проблема фармакологической коррекции некоторых проявлений диабетической патологии путем модуляции активности CYP2E1 и(или) других изоформ энзима является чрезвычайно актуальной и принципиально новой. Имеется достаточно оснований для уверенности в том, что фармакологическая регуляция функции этой изоформы, а через нее и патологических процессов, сопровождающих данное заболевание, вполне возможна. Субстраты и регуляторы диабетической изоформы CYP2E1 известны.

Одна из фирм ("XenoTech LLC") [44] предлагает с экспериментальной целью в качестве субстратов и модуляторов CYP2E1 соответствующие вещества. Мы дополнили данные этой фирмы сведениями из других источников и представляем их в таблице.

Рецептор или другой фактор, определяющий индукцию CYP2E1, пока не найден [35]. Полагают, что определенный вклад в активацию ферментативной функции CYP2E1 вносят посттрансдукционные процессы: связывающиеся с CYP2E1 субстраты усиливают стабилизацию и задержку деградации белка этого энзима самим своим связыванием с ним [23].

О том, что фармакологическая коррекция диабетической патологии путем воздействия на систему цитохрома Р-450 возможна, свидетельствуют данные, показывающие, что индукция цитохрома Р-450 сопровождается изменением биохимической системы, осуществляющей синтез и метаболизм глюкозы и гликогена. Так, показано, что известный индуктор цитохрома Р-450 фенобарбитал одновременно с индукцией монооксигеназной активности изменяет и гликометаболизм в организме — увеличивает содержание гликогена в мозге и одновременно снижает уровни глюкозо-6-фосфата и глюкозы [64].

Субстраты, ингибиторы и индукторы "диабетической (алкогольной)" изоформы CYP2E1 энзима цитохрома Р-450, предлагаемые для исследования с исследовательской целью [44]

1. Субстраты изоформы CYP2E1: ацетаминофен (Acetaminophen), алкоголи (alcohols), анилин (aniline), бензол (benzene), кофеин (caffeine), хлорзоксазон (chlorzoxazone), дапсон (dapsone), энфлуран (enflurane), галогенизированные алканы (halogenated alkanes), изофуран (isofurane), метилформамид (methylformamide), р-нитрофенол (p-nitrophenol), нитрозамины (nitrosamines), стирен (styrene), теофиллин (theophylline), ацетон (aceton) и ацетол (acetol) [29].

2. Ингибиторы изоформы CYP2E1: 3-амино-1,2,4-триазол (3-amino-1,2,4-triazole), диэтилтиокарбамат (diethyldithiocarbamate), дигидрокапсаицин (dihydrocapsaicin), диметилсульфоксид (dimethylsulfoxide), дисульфирам (disulfiram), фенетилизоцианат (phenethyl isothiocyanate), 4-метлипразол (4-methlipraziole). Тиоэфир диаллил сульфид (Thioether diallyl sulfide) является мощным и специфическим ингибитором экспрессии CYP2E1 [37], он алкилирует протеин и ковалентно связывается с ним через ароматическую серу.

3. Индукторы изоформы CYP2E1: этанол, эфир, ацетон [29], бензол, диметилсульфоксид, изониазид, производные имидазола [21, 23, 34, 36]. Этанол вместе с бедной углеводами диетой может вызывать десятикратную индукцию CYP2E1 в печени [24] и даже в почках.

Важно отметить, что индукция CYP2E1 при диабете является адаптивной реакцией организма, направленной на уменьшение (путем окисления) содержания кетоновых тел. Выраженность индукции цитохрома Р-450 в печени и в других тканях (например, в лимфоцитах) соответствует выраженности патологического процесса, соотносится с увеличенной концентрацией кетоновых тел (β-оксимасляной кислоты, ацетоуксусной кислоты и ацетона [10, 11]). Доказано (см. таблицу), что ацетон является субстратом CYP2E1 и индуктором "диабетической" изоформы CYP2E1.

Следовательно, цитохром Р-450 может играть важнейшую роль в биотрансформации кетоновых тел при диабете и уменьшении опасного для организма кетоза, сопровождающегося, как известно, освобождением ионов водорода и закислением крови.

В связи с новыми данными о метаболизме кетоновых тел в системе цитохрома Р-450 следует внести существенные коррективы в метаболические схемы, представленные в известных руководствах по биохимии. Следует отметить, что альдегиды (в том числе и ацетальдегид) являются потенциально реакционноспособными веществами и могут образовывать ковалентную связь с ароматическими аминами, образуя анилы (шиффовы основания). Подобной активностью обладает и глюкоза при диабете. Не исключено, что общим механизмом индукции диабетической (она же называется и алкогольной) изоформы CYP2E1 кетоновыми телами, как и алкоголем через его производное — ацетальдегид является их потенциальная реакционная способность, ведущая к ковалентному связыванию с белками и другими NH_2-содержащими эндогенными веществами.

Изложенные выше данные являются в основном экспериментальными. Широкие клинические исследования зависимости выраженности патологических процессов от состояния системы CYP2E1 пока не проводились. Не было и попыток воздей-

ствия на процесс диабета при помощи модуляторов CYP2E1. Тем не менее исследования в этой области необходимы. Они могут выявить новые возможности коррекции диабетзависимых процессов, например диабетических ангиопатий, и создать теоретическую основу для развития новой области фармакологии.

В 1996 г. на основании определенных экспериментальных исследований впервые было высказано предположение о возможности использования мурамилпептидов, являющихся иммуностимуляторами (в частности, нового высокоэффективного иммуностимулятора глюкозилмурамилпептида — ГМДП), в качестве регуляторов активности системы цитохрома Р-450 и корректоров определенных биохимических и функциональных расстройств при сахарном диабете [2].

ГМДП, как оказалось [2, 30], является субстратом цитохрома Р-450, связывающимся с его активным центром, и уникальным индуктором его активности. Доза, индуцирующая систему цитохрома Р-450 печени, является крайне малой — 0,001 мг/кг массы животного (при чрезвычайно низкой токсичности — $ЛД_{50}$ у мышей при внутрибрюшинном введении 7 г/кг).

У ГМДП выявлены уникальные детоксицирующие свойства, описанные в работе [2] и в патенте [9]. При предварительном введении мышам ГМДП животные становились устойчивыми к токсическому действию этанола и ацетальдегида. Это тестирование проводили через 1 сут после окончания инъекций ГМДП (т. е. самого ГМДП в организме к этому времени уже не было, но сохранялась индукция цитохрома Р-450 в печени). Следует особо отметить, что индуцирующая доза классического индуктора фенобарбитала (50—80 мг/кг) на несколько порядков выше, чем у ГМДП. На основании этого был сделан вывод о том, что ГМДП действует на систему цитохрома Р-450 организма не как большинство общеизвестных ксенобиотиков-индукторов, а как сигнальная регуляторная эндогенная молекула [2]. Несмотря на то что мурамилпептиды, разновидностью которых является ГМДП, имеют микробное происхождение, они постоянно поступают в организм как продукты сапрофитных бактерий желудочно-кишечного тракта и по сути дела, являются условно-эндогенными пептидными регуляторами функций макроорганизма [8]. Мурамилпептиды, кроме иммуностимулирующей активности, обладают широким спектром адаптивной активности [2, 30].

Важно отметить, что некоторые больные диабетом, сопровождающимся нейропатией и ретинопатией, имеют и дисфункцию клеток ретикулоэндотелиальной системы [18]. Высказано предположение о том, что, поскольку ГМДП является иммуностимулятором (в частности, стимулятором функции ретикулоэндотелиальной системы), то он может быть корректором диабетзависимой патологии сосудов (диабетической ангиопатии) [2].

Кроме того, нам впервые показано, что ГМДП способен в одних и тех же условиях не только индуцировать ослабление токсического действия алкоголя, в окислении которого участвует наряду с алкогольдегидрогеназой и CYP2E1-изоформа цитохрома Р-450, но и потенцировать гипогликемическую активность инсулина. Кроме того, ГМДП способен активировать в целом детоксицирующую функцию печени, в частности усиливать метаболизм билирубина в печени [10]. Это показано при обследовании 200 соответствующих больных. Кроме того, ГМДП уменьшает уровень мочевины и креатинина у больных [9]. Недавно на основе ГМДП в России создан новый иммуностимулирующий лекарственный препарат "Ликопид", который уже широко используется в медицинской практике.

Не исключено, что лекарственный препарат "Ликопид" после соответствующих клинических испытаний может найти применение в качестве иммуностимулирующего, детоксицирующего и потенцирующего активность инсулина лекарственного средства у больных сахарным диабетом.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бурбенская Н. М., Ротенберг Ю. С.* // Всесоюзный симпозиум: Метаболическая регуляция физиологических состояний. — Пущино, 1984. — С. 42.
2. *Ковалев И. Е., Шипулина Н. В.* // Хим.-фарм журн. — 1996. — Т. 30, № 12. — С. 3—11.
3. *Комиссарова И. А., Ротенберг Ю. С., Гуднова Ю. В., Магалиф А. Ю* // Изв. АН СССР. Сер. биол. — 1983. — № 2. — С. 260—267.
4. *Комиссарова И. А., Ротенберг Ю. С., Мастеропуло А. П.* // Обзорная информация. Медицина и здравоохранение: Сер. Терапия. — М., 1986. — Вып. 6.
5. *Мишин В. М., Ляхович В. В.* Множественные формы цитохрома Р-450. — Новосибирск, 1985.
6. *Нечипоренко С. П., Ротенберг Ю. С.* // ВИНИТИ. Итоги науки и техники. Сер. Токсикология. — 1981. — Т. 12. — С. 117—156.
7. *Хлопушина Т. Г., Кампов-Полевой А. Б., Лысенкова Е. М.* и др. // Бюл. экспер. биол. — 1986. — № 4. — С. 425—426.
8. *Adam A., Lederer E.* // Med. Res. Rev. — 1984. — Vol. 4. — P. 111—152.
9. *Aston R., Kovalev I. E.* Internat. Patent Classification: A61 K37/02. Internat. Publ. Number: WO93/16713, 2 September 1993.
10. *Barnett C. R., Rudd S., Flatt P. R., Ioannides C.* // Biochem. Pharmacol. — 1993. — Vol. 45. — P. 313—319.
11. *Bellward G. D., Chang T., Rodrigues I.* et al. // Mol. Pharmacol. — 1988. — Vol. 33. — P. 140—143.
12. *Bhat G. J., Padmanaban G.* // Arch. Biochem. — 1988. — Vol. 264. — P. 584—590.
13. *De Duve C., Wattiaux R.* // Ann. Rev. Physiol. — 1966. — Vol. 28. — P. 435—492.
14. *De Matteis F.* // Hemes and Hemoprotein / Eds F. De Matteis, W. N. Aldrige. — New York, 1978. — P. 201—237.
15. *Donahue B. S., Morgan E. T.* // Drug Metab. Disposit. — 1990. — Vol. 18. — P. 519—526.
16. *Donahue B. S., Skottner L. A., Morgan E. T.* // Endocrinology. — 1991. — Vol. 28. — P. 2065—2066.
17. *Dong Z. G., Hong J. Y., Ma Q. A.* et al. // Arch. Biochem. — 1988. — Vol. 263. — P. 29—35.
18. *Drivas G., Wardle N.* // Metabolism. — 1978. — Vol. 27. — P. 1533—1538.
19. *Garfinkel D.* // Arch. Biochem. — 1958. — Vol. 71. — P. 493.
20. *Hodgson E.* // Drug Metab. Rev. — 1979. — Vol. 10, N 1. — P. 15—33.
21. *Ingelman-Sundberg M., Edvardsson A.-L., Johansson I.* // Microsomes, Drug Oxidations, and Drug Toxicity / Eds R. Sato, R. Kato. — Tokyo, 1982. — P. 187—194.
22. *Ingelman-Sundberg M., Hagbjork A.-J.* // Xenobiotica. — 1982. — Vol. 13. — P. 673—686.
23. *Ingelman-Sundberg M., Johansson I., Elasson E.* // International Conference on Biochemistry and Biophysics of Cytochrome P-450, 7-th: Proceedings / Eds A. I. Archakov, G. I. Bachmanova. — Moscow, 1992. — P. 345—351.
24. *Johansson I., Ekstrem G., Scholte B.* et al. // Biochemistry. — 1988. — Vol. 27. — P. 1925—1932.
25. *Kadawa N., Waterman M. R.* // Cytochrome P-450: Structure, Mechanism, and Biochemistry / Ed. P. R. Ortiz de Montellano. — 2-nd Ed. — New York, 1979. — P. 419—441.
26. *Kato R.* // Xenobiotica. — 1977. — Vol. 7. — P. 25—92.
27. *Klingenberg M.* // Arch. Biochem. — 1958. — Vol. 75. — P. 576.
28. *Koop D. R., Morgan E. T., Tarr G. E., Coon M. J.* // J. biol. Chem. — 1982. — Vol. 257. — P. 8472—8480.

29. *Koop D. R., Cassaza J. P.* // Ibid. — 1985. — Vol. 260. — P. 13607—13612.
30. *Kovalev I. E., Shipulina N. V.* // North American ISSX Meeting, 7-th: Proceedings. — San Diego, 1996. — Vol. 10. — P. 186.
31. *Lang M., Batzl-Hartmann Ch., Furet P.* et al. // Perspectives in Medical Chemistry / Eds B. Testa et al. — Basel, 1994. — P. 89.
32. *Ma Q., Dannan G. A., Guengerich F. P., Yaung C. S.* // Biochem. Pharmacol. — 1989. — Vol. 38. — P. 3179—3184.
33. *Marks G.* Hemes and Hemoproteins / Eds F. De Matteis, W. N. Aldrige. — New York, 1978. — P. 201—237.
34. *Maurel P.* // Induction of Drug Metabolising Enzymes: 14-th European Workshop on Drug Metabolism. — Paris, 1994. — P. 47.
35. *Morohashi K., Honda S., Hashimoto T., Omura T.* // International Conference on Biochemistry and Biophysics of Cytochrome P-450, 7-th: Proceedings / Eds A. I. Archakov, G. I. Bachmanova. — Moscow, 1992. — P. 352—357.
36. *Murray F. T., Orth J., Gunsalus G.* et al. // Int. J. Androl. — 1981. — Vol. 4. — P. 265—280.
37. *Murray M., Reidy F. G.* // Pharmacol. Rev. — 1990. — Vol. 42. — P. 85—101.
38. *Narianjan B. G., Raza H., Shaying R. M.* et al. // J. biol. Chem. — 1988. — Vol. 263. — P. 575—580.
39. *Nelson D. R., Kamataki T., Waxman D. J.* et al. // DNA and Cell Biol. — 1993. — Vol. 12, N 1. — P. 1—51.
40. *Omura T., Sato R.* // J. biol. Chem. — 1964. — Vol. 239. — P. 2370.
41. *Omura T., Sato R.* // Ibid. — P. 2379.
42. *Omura T.* // Cytochrome P-450 / Eds J. B. B. Schenkman, H. Greim. — Berlin, 1993. — P. 61—69.
43. *Ostrovsky Yu. M., Bunkovsky A. A., Pronko P. S., Shishkin S. M.* // Alcoholism. — 1954. — Vol. 8, N 2. — P. 329.
44. *Parkinson A.* // Reference Guide to Substrates, Inhibitors and Inducers of the Major Human Liver Cytochrome P-450 Enzymes Involved in Xenobiotic Transformation. — Kansas City, 1996.
45. *Past M. R., Cook D. E.* // Biochem. Pharmacol. — 1980. — Vol. 29. — P. 2499—2503.
46. *Past M. R., Cook D. E.* // Ibid. — 1982. — Vol. 31. — P. 3329—3334.
47. *Ram P. A., Waxman D. J.* // J. biol. Chem. — 1990. — Vol. 265. — P. 19223—19229.
48. *Rouer E., Leroux J.-P.* // Biochem. Pharmacol. — 1980. — Vol. 29. — P. 1959—1962.
49. *Rouer E., Mabu J.-L., Coolumelli S.* et al. // Biochemie. — 1982. — Vol. 64. — P. 961—967.
50. *Ryan K. G., Engel L. L.* // J. biol. Chem. — 1957. — Vol. 225. — P. 103.
51. *Saltiel A. L.* // Diabetes Care. — 1990. — Vol. 13. — P. 244—256.
52. *Sasamura H., Nagata K., Yamazoe Y.* et al. // Mol. cell. Endocrinol. — 1990. — Vol. 68. — P. 53—60.
53. *Simpson E. R.* // Ibid. — 1979. — Vol. 13. — P. 213—227.
54. *Sinclair J., Cornell N. W., Zaitlin L., Hansch C.* // Biochem. Pharmacol. — 1986. — Vol. 35. — P. 707—710.
55. *Sinclair J., McCaffrey J., Sinclair P. R.* et al. // Arch. Biochem. — 1991. — Vol. 284. — P. 360—365.
56. *Song B. J., Matsunaga T., Hardwick J. P.* et al. // Mol. Endocrinol. — 1987. — Vol. 1. — P. 542—547.
57. *Song B. J., Veech R. L., Saenger P. J.* // Clin. Endocrinol. Metab. — 1990. — Vol. 71. — P. 1036—1040.
58. *Stevens G., Rank K.* // Environm. Mol. Mutagen. — 1991. — Vol. 17, Suppl. 19. — P. 71.
59. *Tindberg N., Ingelman-Sundberg M.* // Biochemistry. — 1989. — Vol. 28. — P. 4499—4504.
60. *Umeno T., Gonzalez F. J.* // Mol. Cell. Biol. — 1990. — Vol. 10. — P. 4495—4505.
61. *Van der Hoeven Th., Galivan J.* // Biochim. Biophys. Acta. — 1987. — Vol. 931. — P. 59—67.
62. *Waxman D. J., Morrissey J. J., LeBlanc G. A.* // Endocrinology. — 1989. — Vol. 124. — P. 2954—2966.
63. *Wolf C. R.* // European Workshop on Drug Metabolism, 14-th. — Paris, 1994. — P. 30.
64. *Yamazoe Y., Murayama N., Shimada M.* et al. // Arch. Biochem. — 1989. — Vol. 268. — P. 567—575.
65. *Yanaura S., Kakkuno K., Nakao K., Tagashira E.* // Jap. J. Pharmacol. — 1983. — Vol. 33, N 2. — P. 395—402.

Поступила 14.01.99

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2000

УДК 616.441-006-092:577.21(048.8)

И. И. Дедов, Е. А. Трошина, Н. В. Мазурина, Г. А. Герасимов, П. В. Юшков, Л. Д. Шаталова, Г. Ф. Александрова

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ НОВООБРАЗОВАНИЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Профилактика, диагностика и лечение новообразований щитовидной железы представляют собой одну из самых актуальных проблем современной клинической эндокринологии. Это связано как с постоянным совершенствованием методов диагностики новообразований щитовидной железы, так и с наличием множества нерешенных вопросов их патогенеза, а кроме того, и с онкологической настороженностью врачей [2—4].

Согласно Международной гистологической классификации опухолей (ВОЗ, 1989 г.), структура новообразований щитовидной железы включает в себя

1. Эпителиальные опухоли
   А. Доброкачественные
      1. Фолликулярная аденома (эмбриональная аденома, микрофолликулярная аденома, фетальная аденома)
      2. Папиллярная цистаденома
      3. Варианты: оксифильноклеточная аденома (из клеток Гюртле—Ашкенази), светлоклеточная аденома, функционирующая аденома (болезнь Пламмера) и др.
   Б. Злокачественные
      1. Папиллярный рак
      2. Фолликулярный рак
      3. С-клеточный (медуллярный) рак
      4. Недифференцированный (анапластический) рак
      5. Прочие
2. Неэпителиальные опухоли
   А. Доброкачественные
   Б. Злокачественные
3. Смешанные опухоли
4. Вторичные опухоли
5. Неклассифицируемые опухоли
6. Опухолеподобные поражения

Краткие сведения о морфологической диагностике новообразований щитовидной железы

Гистологическое исследование является решающим в диагностике опухолевых поражений щитовидной железы, и классификация, основанная на морфологическом строении новообразований, позволяет наиболее рационально систематизировать получаемые данные.

Доброкачественные опухоли

Аденомы щитовидной железы — доброкачественные опухоли, отграниченные от тиреоидной