

УДК 616.378-008.64; 616.61-009

**НЕКОТОРЫЕ МЕХАНИЗМЫ КОРРИГИРУЮЩЕГО ВЛИЯНИЯ
ЭНДОГЕННЫХ АНТИОКСИДАНТОВ НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ
И ГЕМОДИНАМИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ**

Дзугкоев С.Г., Дзугкоева Ф.С.

*УРАН Институт биомедицинских исследований ВНЦ РАН и Правительства РСО – Аляния,
Владикавказ, e-mail: elena_takoeva@mail.ru*

Одним из патогенетических механизмов развития сосудистых осложнений сахарного диабета является изменение функции эндотелия, т.е. эндотелиальная дисфункция, в развитии которой центральное место занимает перекисное окисление липидов (ПОЛ) и продуцируемый ферментативным путем NO из L-аргинина с участием фермента L-арг-NO-синтазы (eNOS) (КФ 1.14.13.19) и обусловленное нарушением накопления ц.3,5-ГМФ в результате стимуляции оксидом азота растворимой гуанилатциклазы. Введение эндогенных антиоксидантов – коэнзима Q 10 и L-карнитина приводило к угнетению интенсивности перекисного окисления липидов, возростала активность супероксиддисмутазы при одновременном снижении активности каталазы и церулоплазмينا. Эти позитивные изменения между про- и антиоксидантными системами сопровождались повышением концентрации суммарных метаболитов оксида азота и микроциркуляторной гемодинамики – перфузии, т.е. жидкостного обмена.

Ключевые слова: сахарный диабет, перекисное окисление липидов, антиокислительная система, оксид азота, гемодинамика, антиоксиданты

**SOME MECHANISMS OF THERAPEUTIC INFLUENCE OF ENDOGENOUS
ANTIOXIDANTS ON METABOLIC AND HEMODYNAMIC INFRINGEMENTS
AT EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS**

Dzugkoyev S.G., Dzugkoyeva F.S.

*ERAS Institute of Biomedical Research of RAS VSC and Government of RNO-Alania Vladikavkaz,
e-mail: elena_takoeva@mail.ru*

One of the pathogenetic mechanisms of development of vascular complications in diabetes mellitus is the change of function of an endothelium, i.e. – endothelial dysfunction. In its development the central place borrows lipid peroxidation (LPO) and NO, which is produced with participation of enzyme L-arg-NO-synthetase (eNOS) (CE 1.14.13.19) from L-arginin and caused by infringement of accumulation of c.3,5-GMP as a result of stimulation of soluble guanylat-cyclase by nitric oxide. The introduction of endogenous antioxidants – coenzyme Q 10 and L-carnitine led to oppression of intensity of lipids peroxidation, activity of superoxide-dismutase increased at simultaneous decrease in activity of catalase and hepatocuprein. These positive changes between pro-and antioxidant systems were accompanied by increase of concentration of total metabolites of nitric oxide and microcirculation hemodynamics – perfusion, i.e. a liquid exchange.

Keywords: diabetes mellitus, lipid peroxidation, antioxidizing system, nitric oxide, hemodynamic, antioxidants

Сахарному диабету свойственно генерализованное поражение всех звеньев системы кровообращения, проявляющееся в дегенеративные изменениях мелких артерий, вен, капилляров и именуемое микроангиопатией, а также поражение крупных и средних артериальных сосудов – макроангиопатии [1, 5]. Диабетические ангиопатии формируются на фоне усиленной липопероксидации, которая считается значимым патогенетическим механизмом локальных нарушений микрогемодинамики и атеросклеротического поражения магистральных артерий [2, 3]. Сосудистые осложнения сахарного диабета в клинике и эксперименте реализуются путем развития и прогрессирования эндотелиальной дисфункции, в патогенезе которой центральное место занимают ПОЛ, нарушение продукции NO и преобладающее вазоконстрикторное влияние на сосуды в результате угнетения растворимой ГЦ и образования ц.3,5-ГМФ [7].

Все вышеизложенное позволило предположить, что необходимой составляющей патогенетической терапии является испытание эндогенных протекторных систем, обладающих способностью индуцировать продукцию оксида азота (NO) и ингибировать свободно-радикальное окисление [4, 6].

Цель исследования. Изучить состояние биохимических маркеров эндотелиальной дисфункции и характер гемодинамических изменений под влиянием антиоксидантов и гипознергетических веществ при экспериментальном сахарном диабете (ЭСД).

Материал и методы исследования

Исследование проведено на крысах-самцах линии Вистар одной возрастной группы, массой 220–250 г: интактных и с аллоксановым диабетом. Развитие диабета контролировали по уровню глюкозы крови, который определяли глюкозооксидазным методом, а концентрацию гликированного гемоглобина определяли колориметрически, используя тест-наборы фирмы «БиоХимМак». Животных бра-

ли в опыт по окончании остротоксического периода действия аллоксана, т.е. спустя 14 дней с момента развития ЭСД.

В эксперименте определяли интенсивность ПОЛ в мембранах эритроцитов, по концентрации конечного продукта – малонового диальдегида (МДА). О состоянии антиоксидантной системы судили по активности каталазы, супероксиддисмутазы и концентрации церулоплазмينا в сыворотке крови. Содержание в плазме крови стабильных суммарных конечных метаболитов оксида азота (NO^{2-} , NO^{3-} , NOx) определяли, используя реактив Грисса. Макро- и микрогемодинамику исследовали ультразвуковым доплерографом у наркотизированных животных в 6 точках локации: брюшная аорта (БА), нижняя полая вена (НПВ), почечная артерия (ПАпр, ПАлев), микроциркуляторное звено. В каждой точке локации определяли М (средняя скорость, см/с), S (систолическая скорость, см/с), D (диастолическая скорость, см/с), Pi (пульсовой индекс, см/с) GD (градиент давления, мм.рт.ст) и рассчитывали RI (реографический индекс, у.ед).

Крысы были разбиты на следующие группы: контрольная группа – крысы с ЭСД без лечения; крысы с ЭСД + убихинон композитум, (коэнзим Q_{10}) в дозе 0,11 мкл/100 г веса животного в течение 30 дней; крысы с ЭСД, получавшие в течение 30 дней L-карнитин в дозе 25 мг/100 г веса. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Microsoft Excel 2003. Результаты представлены в виде среднего значения (Mean) и ошибки среднего (SEM). Статистическую достоверность различий между двумя группами животных проверяли с помощью t-критерия Стьюдента. Уровнем статистической значимости считали $p < 0,05$. Исследования проводили до и после лечения.

Результаты исследования и их обсуждение

Данные показали, что у крыс с экспериментальным сахарным диабетом на фоне развивающейся гипергликемии повышалось содержание гликированного гемоглобина (HbA1c) с $5,3 \pm 0,81\%$ до $8,6 \pm 0,71\%$ ($p < 0,001$). Нарушение обмена глюкозы сопровождалось статистически достоверным повышением концентрации МДА в мембранах эритроцитов, снижением активности СОД, возрастанием активности каталазы и концентрации церулоплазмينا, то есть развитием окислительного стресса. В этих условиях у крыс с СД концентрация суммарных метаболитов NO в плазме крови оказалась более низкой, чем у контрольных животных. Эти изменения сопровождалось повышением сосудистого тонуса и нарушениями микроциркуляции, о чем свидетельствовали реографические показатели, характеризующиеся более высокими значениями индекса Гослинга, повышением плотности сосудистой стенки (PI), индекса Пурсело (RI) отражающий общее периферическое сосудистое сопротивление (ОПСС) у животных с экспериментальным сахарным диабетом. Снижение средней (M) и систолической (S) скорости кровото-

ка в сосудах микроциркуляторного русла отражало уменьшение скорости тканевого обмена (перфузии) и относились к ранним проявлениям сосудистых осложнений. В соответствии с нашими данными снижение средней скорости кровотока, повышение PI и RI сопровождалось понижением содержания суммарных метаболитов NO в крови при ЭСД (табл. 1).

Для коррекции избыточного процесса ПОЛ, нарушений системы антиоксидантной защиты, сниженной концентрации оксида азота и гемодинамических изменений экспериментальным животным вводили соответственно убихинон-коэнзим Q_{10} и L-карнитин. Результаты свидетельствуют о существенном снижении концентрации МДА в крови под влиянием убихинона-коэнзима Q_{10} и L-карнитина. При сравнительном анализе результатов ингибирования ПОЛ наиболее эффективным оказался препарат, содержащий Q_{10} . Анализ данных состояния АОС показал, что достоверно возросла активность СОД в эритроцитах, а повышенные данные каталазы и церулоплазмينا достоверно снизились, хотя активность каталазы по сравнению с контролем осталась повышенной, как проявление клеточной компенсаторной реакции. На фоне лечения в 2-х группах экспериментальных крыс с сахарным диабетом статистически достоверно повысилась концентрация оксида азота в сыворотке крови. При сравнении результатов, полученных под влиянием убихинона-коэнзима Q_{10} и L-карнитина обнаружилось, что наиболее высокая концентрация NO, достигшая исходных контрольных значений, произошла на фоне убихинона-коэнзима Q_{10} .

Коррекция дисфункции эндотелия на фоне лечения в 2-х группах исследованных животных сопровождалась улучшением микроциркуляторной гемодинамики, что проявлялось повышением средней и систолической скоростей кровотока, снижением упруго-эластических свойств сосудов микроциркуляторного (плотности сосудистой стенки) и периферического сосудистого сопротивления. Эти гемодинамические изменения свидетельствуют о повышении процессов перфузии, обусловленном снижением сосудистого сопротивления – реографический индекс и повышением средней и систолической скоростей кровотока. При сравнительном анализе полученных данных наиболее эффективным оказался убихинон-композитум Q_{10} (см. табл. 1).

Проведен корреляционный анализ для выяснения эффективности действия антиоксидантов на процессы ПОЛ и ферменты АОЗ. Представленные данные во всех

3-х группах исследованных животных показали наличие прямой сильной корреляционной связи между концентрацией МДА и активностью каталазы ($r = +0,57, p < 0,001$) и церулоплазмينا ($r = +0,52, p < 0,001$) и обратной связи между уровнем снижения концентрации МДА и повышением

активности СОД в плазме крови ($r = -0,54, p < 0,001$). Одновременно происходило повышение концентрации NO и корреляционный анализ показал наличие отрицательной сильной связи соответственно под влиянием убихинона-коэнзима Q₁₀ и L-карнитина ($r = -0,59; r = -0,60; p < 0,001$).

Таблица 1

Динамика изменения показателей микрогемодинамики в норме при экспериментальном сахарном диабете и на фоне корригирующей терапии

Точка локализации	M	S	D	PI	GD	RI
	Средняя скорость кровотока	Систолическая скорость кровотока	Диастолическая скорость кровотока	Индекс Гослинга	Градиент давления	Реографический индекс
см/с					мм.рт.ст.	у.ед.
Контроль						
Перфузия	2,518	11,338	6,335	7,668	0,042	1,490
	± 0,076	± 0,264	± 0,168	± 0,250	± 0,001	± 0,036
На фоне экспериментального сахарного диабета						
Перфузия	2,137	10,48	6,25	9,504	0,04	1,572
	± 0,064	± 0,165	± 0,220	± 0,231	± 0,001	± 0,030
На фоне корригирующей терапии с убихинон-коэнзимом q₁₀						
Перфузия	2,49 ²²²²⁾	11,24 ²²²⁾	6,31	7,89 ²²²²⁾	0,041	1,50 ²⁾
	± 0,049	± 0,14	± 0,18	± 0,29	± 0,002	± 0,02
На фоне корригирующей терапии с L-карнитином						
Перфузия	2,25	10,78	5,84	9,85 ¹¹¹¹⁾	0,04	0,45 ¹¹¹¹⁾ ²²²²⁾
	± 0,15	± 0,17	± 0,23	± 0,12	± 0,001	± 0,02

Примечания:
¹¹¹¹⁾ – $p < 0,001$; ¹¹¹⁾ – $p < 0,01$; ¹¹⁾ – $p < 0,02$; ¹⁾ – $p < 0,05$ достоверность относительно контроля;
²²²²⁾ – $p < 0,001$; ²²²⁾ – $p < 0,01$; ²²⁾ – $p < 0,02$; ²⁾ – $p < 0,05$ достоверность относительно экспериментального сахарного диабета.

Таблица 2

Изменение биохимических показателей крови на фоне корригирующей терапии при ЭСД

Показатели	Контроль	ЭСД	ЭСД+ убихинон-коэнзим Q ₁₀	ЭСД+L-карнитин
МДА (нмоль/мл) в эритроцитах	6,87 ± 0,45	8,65 ± 0,47 ¹¹¹⁾	4,192 ± 0,072 ¹⁾ ²²²²⁾	4,28 ± 0,28 ¹¹¹¹⁾ ²²²²⁾
Активность СОД (ед) в сыворотке	2,55 ± 0,46	1,45 ± 0,044 ²²⁾	2,092 ± 0,0794 ²²²²⁾	1,942 ± 0,031 ²²²²⁾
Активность каталазы (мкат/л) в сыворотке	225,56 ± 29,09	345,327 ± 3,316 ¹¹¹¹⁾	329,5 ± 4,8 ¹¹¹⁾ ²²²⁾	302,63 ± 1,237 ¹¹¹¹⁾ ²²²²⁾
Церулоплазмин мг/мл	338,667 ± 10,428	376,6 ± 7,291 ¹¹¹⁾	285,791 ± 4,311 ¹¹¹¹⁾ ²²²²⁾	274,744 ± 3,560 ¹¹¹¹⁾ ²²²²⁾
NOx, мкМ	51,069 ± 0,531	32,54 ± 1,425 ¹¹¹¹⁾	51,594 ± 1,8126 ²²²²⁾	39,72 ± 1,268 ¹¹¹¹⁾ ²²²⁾

Примечания:
¹¹¹¹⁾ – $p < 0,001$; ¹¹¹⁾ – $p < 0,01$; ¹¹⁾ – $p < 0,02$; ¹⁾ – $p < 0,05$ достоверность относительно контроля;
²²²²⁾ – $p < 0,001$; ²²²⁾ – $p < 0,01$; ²²⁾ – $p < 0,02$; ²⁾ – $p < 0,05$ достоверность относительно экспериментального сахарного диабета.

Выводы

Таким образом, восстановление функции эндотелия вследствие угнетения интенсивности липопероксидации, возрастания активности ферментов антиокислительной системы и повышения концентрации суммарных метаболитов NO приводило к улучшению гемодинамических показателей, под влиянием препаратов: убихинон-коэнзима Q₁₀ и L-карнитин. Наиболее эффективным оказался убихинон-коэнзим Q₁₀.

Список литературы

1. Аметов А.С., Демидова Т.Ю., Косых С.А. Синтез оксида азота в эндотелии сосудов у больных СД 2-го типа // Клиническая медицина. – 2005. – №28. – С. 62–68.
2. Балаболкин М.И. Роль окислительного стресса в патогенезе диабетической нейропатии и возможность его коррекции препаратами α-липовой кислоты // Проблемы эндокринологии. – 2005. – №3. – С. 22–33.
3. Волчегорский И.А. Влияние эмоксипина, реамберина и мексидола на нейропатическую симптоматику и систо-

лическую функцию миокарда левого желудочка у больных сахарным диабетом с синдромом диабетической стопы // Терапевтический архив. – 2005. – №10. – С. 10–15.

4. Строков И.А., Лаврова И.Н., Моргоева Ф.Э. Антиоксидантная терапия полиневропатии и ретинопатии у больных СД 2-го типа // Мед.Инфа. – 2007. – С. 1–9.

5. Шестакова М.В., Сунцов Ю.И., Дедов И.И. Диабетическая нефропатия: состояние проблемы в мире и России // Сахарный диабет. – 2001. – №3 (12). – С. 2–6.

6. Fchedre KT, Huang RQ, Dibas Aetal // Invest ophthalmol. – 2008. – Vis.Sci, 49(11). – P. 4993–5002.

7. West IC. Radicals and oxidative stress in diabetes. Diabet Med. – 2000. – №17. – P. 171–80.

Рецензенты:

Брин В.Б., д.м.н., профессор, зав. кафедрой нормальной физиологии ГОУ ВПО СОГМА Росздрава, г. Владикавказ;

Джиоев И.Г., д.м.н., профессор, заведующий ЦНИЛ ГОУ ВПО СОГМА Росздрава, г. Владикавказ.

Работа поступила в редакцию 11.11.2011.