

Характеристика изменений показателей циклазной системы и гормональной регуляции углеводного обмена у больных сахарным диабетом 1 и 2 типов

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Резюме. Изучены внутриклеточная активность циклазной системы и изменения гормональной регуляции углеводного обмена у пациентов с сахарным диабетом 1 и 2 типов до и после проведения инсулинотолерантного теста. Выявлено достоверное увеличение соотношения циклического аденозинмонофосфата к циклическому гуанозинмонофосфату у больных сахарным диабетом 1 типа и здоровых лиц. У больных сахарным диабетом 2 типа на фоне исходно высокого значения коэффициента наблюдалось его достоверное снижение в основном за счёт разнонаправленного изменения концентрации циклического аденозинмонофосфата. В ходе выполнения инсулинотолерантного теста у больных сахарным диабетом 2 типа по сравнению с больными сахарным диабетом 1 типа и здоровыми пациентами выявлена высокая степень нарастания концентрации иммунореактивного инсулина, сочетающаяся с необычной реакцией лейкоцитарных циклических нуклеотидов из-за достоверного снижения концентрации циклического аденозинмонофосфата. Клинико-лабораторными критериями тканевой инсулинорезистентности при сахарном диабете 2 типа предложено считать высокую степень нарастания инсулина и выраженное уменьшение коэффициента соотношения циклического аденозинмонофосфата к циклическому гуанозинмонофосфату в ходе инсулинотолерантного теста.

Ключевые слова: сахарный диабет, циклические нуклеотиды, инсулинорезистентность, инсулинотолерантный тест, циклический 3', 5'-аденозинмонофосфат, циклический 3', 5'-гуанозинмонофосфат.

Введение. Большинство нуклеотидов являются моноэфирами ортофосфорной кислоты, однако известны и диэфиры нуклеотидов, в которых этерифицированы два гидроксильных остатка. К ним относятся циклические нуклеотиды (ЦН). Наиболее изучены ЦН, фосфорный остаток которых связан с углеродными атомами рибозы в 3'–5'-х положениях, образуя кольцо. Циклический 3', 5'-аденозинмонофосфат (цАМФ) и циклический 3', 5'-гуанозинмонофосфат (цГМФ) относятся к универсальным регуляторам метаболических процессов в живых клетках. Концентрация ЦН в клетке поддерживается путем регуляции соотношения активностей циклаз (аденилатциклазы и гуанилатциклазы) и гидролизующих ЦН фосфодиэстераз. Концентрация цАМФ и цГМФ в клетках очень мала и измеряется пикомолями. Характерно, что многие биохимические эффекты цАМФ прямо противоположны эффектам цГМФ. Антагонистические отношения ЦН появляются чаще всего в сложных системах, когда для регуляции внутриклеточных процессов требуется разновременная модификация многих белков, осуществляемая согласованным действием попеременно активируемых цАМФ- и цГМФ-зависимых протеинкиназ [3, 6].

Повышенное содержание цАМФ в клетках приводит к фосфорилированию клеточных мембран и увеличению в цитоплазме концентрации Ca^{2+} , активизирующего фосфодиэстеразу. В результате этого ускоряется гидролиз цАМФ и синтез цГМФ. Образование цАМФ ускоряется адреналином, а цГМФ – ацетилхолином,

поэтому принято считать, что цАМФ стимулирует в основном процессы распада (катаболизма), а цГМФ – процессы синтеза (анаболизма).

Следует отметить, что сродство ЦН к цАМФ- и цГМФ-зависимых протеинкиназ в 100–1000 раз больше, чем у фосфодиэстераз. Этим объясняется метаболический механизм контроля за максимальной степенью повышения концентрации ЦН в клетках [3, 6–8].

Цель исследования. Изучить активность циклазной системы в лейкоцитах больных сахарным диабетом (СД) и сопоставить полученные результаты с динамикой концентраций гормонов глюкагона, соматотропного гормона (СТГ) и кортизола в периферической крови в ходе проведения инсулинотолерантного теста (ИТТ).

Материалы и методы. Обследовано 52 пациента с СД. Тип СД определялся на основании клинических критериев, предложенных комитетом экспертов Всемирной организации здравоохранения [1, 2]. Больных с СД1 было 29 (19 мужчин и 10 женщин) в возрасте от 17 до 46 лет, средний возраст – $31,5 \pm 14,5$ лет с нормальной массой тела $72 \pm 4,5$ кг, длительность заболевания варьировала от 10 до 24 лет. Больных с СД2 было 23 (20 мужчин и 3 женщины), в возрасте от 20 до 67 лет, средний возраст $54,7 \pm 12,3$ лет, 9 из них имели алиментарно-конституциональное ожирение I–II степени, длительность заболевания варьировала

от 10 до 18 лет. Группу контроля составили 19 здоровых мужчин, находящихся в клинике на диспансерном обследовании, в возрасте от 31 до 59 лет, средний возраст 45 ± 14 лет. Обследование проводилось через 1 неделю пребывания больных и лиц контрольной группы в условиях стационара. За 2 суток до обследования все препараты, за исключением инсулина, нитратов и гипотензивных средств, отменялись.

Обследуемым больным утром натощак до введения лечебной дозы инсулина и получения таблетированных препаратов проводилось внутривенное капельное введение простого инсулина в 200 мл физиологического раствора в дозе: больным СД – 0,2 ед/кг, а лицам контрольной группы – 0,1 ед/кг в течение 90 мин. Взятие крови для исследования производилось до и сразу после ИТТ. После взятия последнего образца крови с целью профилактики гипогликемии больным внутривенно вводилось 20 мл 40% раствора глюкозы, после чего больные завтракали. Перед завтраком больным с СД1 вводилась обычная утренняя доза инсулина за вычетом количества инсулина, введенного при ИТТ. В ходе пробы через каждые 30 мин определялась концентрация глюкозы в крови, производился контроль артериального давления, электрокардиографическое исследование. При достижении уровня глюкозы в крови 3,5 ммоль/л или появлении субъективных клинических признаков легкой гипогликемии проба прекращалась. Переносимость ИТТ больными была хорошей.

Концентрация глюкозы и количества инсулинсодержащих эритроцитов (ИСЭ) в крови определялась общепринятым методом. Взятие крови для определения содержания лейкоцитарных ЦН, концентрации иммунореактивного инсулина (ИРИ) и С-пептида в плазме производилось с помощью вакуумных систем «Vacuette Greiner» с этилендиаминтетрауксусной кислотой. Концентрацию цАМФ, цГМФ и гормонов определяли радиоиммунологическим методом на приборе «Clinic Gamma 1272 LKB» (Соединенные Штаты Америки – США).

После выделения лейкоцитарной взвеси производился подсчет лейкоцитов на гематологическом анализаторе «Coulter LH500» фирмы «Beckman Coulter» (США), после чего клетки разрушались, а взвесь замораживалась при температуре 20°C для последующего определения концентрации нуклеотидов радиоиммунологическим методом.

Расчет содержания нуклеотидов производился на 109 клеток. Для определения концентрации ИРИ, С-пептида, цАМФ и цГМФ использовались коммерческие наборы реактивов фирм «Amersham», «Biodata», «Internationale-CIS», «Behringwerke AG» (Австрия).

Статистическую обработку результатов проводили с применением пакета прикладных программ EXCEL-95 и Statistica 7.1, достоверность между полученными показателями в сравниваемых подгруппах оценивали с помощью t-критерия Стьюдента и непараметрического U-критерия Вилкоксона – Манна – Уитни.

Результаты и их обсуждение. Результаты клиничко-лабораторных исследований больных СД при проведении ИТТ приведены в таблице 1.

Степени снижения концентрации глюкозы в обеих группах больных СД существенно не отличались. Концентрация С-пептида закономерно снижалась у всех обследуемых под влиянием инфузии инсулина, что, возможно, свидетельствует о снижении инкреторной функции β-клеток. Лишь у больных СД1 с исходно низкой остаточной функцией β-клеток концентрация С-пептида практически не менялась. Исходный уровень ИРИ в группе больных СД1 является интегральным показателем, зависящим как от секреции эндогенного инсулина, так и от концентрации экзогенного инсулина, поступающего в кровь в процессе лечения.

Принято считать, что как уровень ИРИ, так и содержание в крови С-пептида отражают функциональную активность β-клеточного аппарата поджелудочной железы [4, 9, 10]. Между тем, у больных СД2 концентра-

Таблица 1

Динамика лабораторных показателей у больных СД при проведении ИТТ

Показатель	Группа обследуемых					
	здоровые		СД1		СД2	
	I	II	I	II	I	II
Глюкоза, ммоль/л	4,9±0,1	3,3±0,2*	10,9±0,6**	7,6±0,6*	8,6±0,5**	6,7±0,6*
ИСЭ, ед.	628±37	610±20	602±24	629±32	557±29**	562±24
ИРИ, мкЕд/мл	12,1±1,5	19,0±1,6*	15,5±1,8	29,3±4,5*	19,8±2,2**	175,9±14,7*
С-пептид, нг/мл	1,9±0,2	1,3±0,2	0,7±0,1	0,6±0,1	1,3±0,2	0,9±0,1*
цАМФ, пмоль/109лейк.	0,7±0,1	1,6±0,2* (+128%)	0,8±0,1	1,2±0,2* (+50%)	1,4±0,2**	0,7±0,1* (-50%)
цГМФ, пмоль/109лейк.	0,4±0,1	0,3±0,1 (-33%)	0,3±0,1	0,3±0,1 (0)	0,3±0,1	0,5±0,1 (+66%)
цАМФ/цГМФ, ед.	1,57	6,12 (+290%)	2,43	4,45 (+83%)	4,89	1,40 (-72%)

Примечание: I – исходные значения; II – показатели после ИТТ; * – при сравнении с исходными значениями после ИТТ в группе; ** – при сравнении с исходными значениями здоровых людей, $p < 0,05$.

ция ИРИ в крови была достоверно выше, а С-пептида – ниже на 32% контрольных значений.

Выявленное противоречие может быть объяснено известным фактом снижения активности печеночной инсулиназы у больных СД2 [7, 10]. Нельзя исключить также возможность повышения концентрации циркулирующего инсулина вследствие снижения его утилизации тканями в результате характерной для этой категории больных тканевой инсулинорезистентности (ТИР) [1, 5, 8]. Увеличение концентрации ИРИ после ИТТ происходило, по-видимому, за счет внутривенного введения простого инсулина. Если у здоровых людей и больных СД1 концентрация ИРИ увеличивалась в 1,5–2 раза, то у больных СД2 – в 8–10 раз, что является свидетельством тканевой инсулинорезистентности, которая считается основным патобиохимическим фактором в нарушениях углеводного обмена у данной категории больных [1, 5, 8].

Исходное содержание цАМФ в лейкоцитах больных СД1 имело лишь тенденцию к повышению, а у больных СД2 уровень цАМФ был выше нормы в 2 раза при сравнении с контролем.

ИТТ вызывал достоверное повышение цАМФ в лейкоцитах здоровых, больных СД1, а у пациентов, страдающих СД2, направленность реакции была противоположной – уровень цАМФ снизился по сравнению с базальным, достигая значений нормы. Содержание лейкоцитарного цГМФ у больных, страдающих СД 1 и 2 типов, было несколько ниже нормы. Под влиянием ИТТ уровень цГМФ у здоровых, больных СД1 имел тенденцию к снижению, а у больных СД2 он повышался по сравнению с исходными значениями.

Метаболическая ситуация в клетке в значительной степени определяется соотношением содержащихся в ней цАМФ и цГМФ. Коэффициент цАМФ/цГМФ у больных СД2 до ИТТ был значительно выше, чем в других группах обследуемых. ИТТ обуславливал неодинаковую направленность изменения этого коэффициента: у здоровых, больных СД1 он повышался, а у больных СД2 – снижался по сравнению с исходными значениями.

Количество ИСЭ в ходе инсулиновой нагрузки достоверно не изменялось ни в одной группе обследуемых, однако необходимо отметить достоверно низкий исходный уровень ИСЭ у больных СД2 по отношению к исходному уровню здоровых.

В таблице 2 представлены колебания концентраций гормонов в венозной крови у больных СД 1 и 2 типов и группы контроля в результате ИТТ.

Установлено, что наиболее выраженная разнонаправленная динамика наблюдалась в значениях концентрации глюкагона. У больных с СД1 и у здоровых лиц уровень глюкагона увеличивался, а у пациентов с СД2, напротив, снижался. Концентрация кортизола у пациентов с СД2 практически не изменялась (+1%), у больных СД1 увеличилась на 10%. Нужно отметить, что направление изменения концентрации кортизола в обеих группах пациентов было противоположным группе контроля (–14%). Динамика СТГ была положительной во всех группах, но прирост концентрации был наибольшим у пациентов с СД2 (+97%) и наименьшим с СД1 (+37%).

Новизна исследования заключается в динамической оценке показателей внутриклеточного метаболизма, состоянии клеточных мембран и нейрогормональной регуляции под влиянием одного из основных физиологических регуляторов метаболизма – инсулина. Использование этого приема позволило выявить различия в обмене ЦН у больных СД 1 и 2 типов, предложить новый диагностический маркер для оценки степени ТИР. Кроме того, предложен дифференциально-диагностический тест, позволяющий в сложных случаях определить тип СД по динамике содержания лейкоцитарных ЦН в ходе ИТТ.

Выводы

1. У больных СД1 и здоровых лиц соотношение цАМФ и цГМФ под влиянием ИТТ повышается, а у больных СД2 исходно повышенный по сравнению с нормой коэффициент цАМФ/цГМФ, напротив, снижается в основном за счет изменения содержания цАМФ.

2. Достоверное повышение концентрации ИРИ в ходе ИТТ у больных СД2 по сравнению с больными СД1 и здоровыми лицами, сочетающееся с разнонаправленной реакцией циклазной системы, свидетельствует о ведущей роли особенностей внутриклеточного обмена в формировании ТИР у этой категории больных.

3. Степень нарастания инсулинемии и выраженное уменьшение коэффициента цАМФ/цГМФ в ходе ИТТ

Таблица 2

Динамика концентрации гормонов в венозной крови у здоровых и больных 1 и 2 типами СД в ходе ИТТ, абс. (%)

Показатель	Группа обследуемых					
	Здоровые		СД1 тип		СД 2 тип	
	I	II	I	II	I	II
Глюкагон, пг/мл	96,6±9,3	119,2±17,3 (+24)	151,9±18,5	158,6±15,4 (+4,4)	157,8±22,79	146,2±23,0 (-8)
СТГ, нг/мл	0,78±0,18	1,36±0,34 (+74)	2,74±0,519	3,76±0,54 (+37)	0,97±0,17	1,92±0,36 (+97)
Кортизол, пг/мл	445,7±47,6	390,3±20,5 (-14)	360,9±17,8	399,4±28,1 (+10)	386,5±34,6	389,5±34,6 (+0,7)

Примечание: I – исходные значения; II – показатели после ИТТ.

у больных СД2 могут служить лабораторными критериями ТИР.

Литература

1. Алишева, Е.К. Методы диагностики инсулинорезистентности / Е.К. Алишева, Е.И. Красильникова, Е.В. Шляхто // Артериальная гипертензия. – 2002. – № 1. – С. 29–34.
2. Балаболкин, М.И. Новая классификация, критерии диагностики и компенсации сахарного диабета / М.И. Балаболкин, Е.М. Клебанова, В.М. Креминская // Эндокринология. – 2000. – Т. 2, № 5. – С. 33–36.
3. Васильев, В.Ю. Циклический аденозинмонофосфат – биологическая роль и механизм действия / В.Ю. Васильев, Н.Н. Гуляев, Е.С. Северин // Журн. Всесоюз. хим. общ-ва им. Д.И. Менделеева. – 1995. – № 3 (20). – С. 41–45.
4. Выдрыч, А.Н. Состояние некоторых звеньев эндокринной системы у мужчин с диабетической нефропатией / А.Н. Выдрыч, С.Б. Шустов // Вестн. Рос. воен.-мед. акад. – 2008. – № 1 (21). – С. 12–15.
5. Дрыгин, А.Н. Влияние инициации процессов перекисного окисления липидов на клинико-лабораторные показатели внутриклеточного метаболизма глюкозы у больных сахарным диабетом / А.Н. Дрыгин, В.Л. Пастушенков, С.Б. Шустов // Мед.-биол. и соц.-психол. пробл. безопасности в чрезв. ситуациях. – 2010. – № 1. – С. 67–71.
6. Дрыгин, А.Н. Клинико-лабораторные подходы к дифференциальной диагностике сахарного диабета 1 и 2 типов / А.Н. Дрыгин, С.Б. Шустов, В.Л. Пастушенков // Вестн. Рос. воен.-мед. акад. – 2010. – № 1 (29). – С. 86–89.
7. Федоров, Н.А. Циклический гуанозинмонофосфат: метаболизм и его биологическая роль / Н.А. Федоров // Усп. соврем. биол. – 1996. – № 4 (82). – С. 96–98.
8. Филимонова, Т.Н. Циклические нуклеотиды полиморфноядерных лейкоцитов периферической крови при хронических заболеваниях печени: автореф. дисс. ... канд. мед. наук / Т.Н. Филимонова. – Ставрополь: СГМедА, 1998. – 20 с.
9. Kaneto, H. Role of reactive oxygen species in the progression of type 2 diabetes and atherosclerosis / H. Kaneto, Y. Nakatani, T. Miyatsuka // Endocrine Journal. – 2008. – Vol. 55, № 4. – P. 235–252.
10. Evans, J.L. Oxidative stress-activated are signaling pathways mediators of insulin resistance and β -cell dysfunction / J.L. Evans [et al.] // Diabetes. – 2003. – № 52. – P. 1–8.

R.V. Maximov, A.N. Drygin, S.B. Shustov

Key changes of cyclase system and glucose hormonal regulation in patients suffering from diabetes mellitus type 1 and 2

Abstract. We studied intracellular activity cyclase system and changes in the hormonal regulation of carbohydrate metabolism in patients with diabetes mellitus type 1 and 2 before and after insulin tolerance test. A significant increase in the ratio of cyclic adenosine monophosphate to cyclic guanosine monophosphate in patients with type 1 diabetes and in healthy individuals was proved. In patients with type 2 diabetes at baseline on the background of the high values of the observed significant reduction in its mainly due to multi-directional changes in the concentration of cyclic adenosine monophosphate. In the course of insulin tolerance test in patients with type 2 diabetes compared to patients with type 1 diabetes and healthy patients we revealed higher degree of increase of concentration of immunoreactive insulin, combined with an unusual reaction of leukocyte cyclic nucleotide concentrations due to significant reduction in cyclic adenosine monophosphate. Clinical and laboratory criteria of tissue insulin resistance in type 2 diabetes suggested as a high degree of increase insulin and marked decrease in the ratio of cyclic adenosine monophosphate to cyclic guanosine monophosphate in insulin tolerance test.

Key words: diabetes mellitus, cyclic nucleotides, insulin resistance, insulin tolerance test, cyclic adenosine monophosphate, cyclic guanosine monophosphate.

Контактный телефон: +7-911-199-10-11; e-mail: simovmak@mail.ru