

Информативность циклазной системы в оценке тканевой инсулинорезистентности у больных сахарным диабетом

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

Резюме. Приведены данные общепринятых индексов для определения инсулинорезистентности с активностью циклазной системы. Определены эритроцитарные внутриклеточные активности циклического аденозин-3',5'-монофосфата к циклическому гуанозин-3',5'-монофосфату и основные показатели углеводного обмена у пациентов с сахарным диабетом 1 и 2 типов до и после проведения стандартного инсулинотолерантного теста. Выявлена корреляционная взаимосвязь между динамикой соотношения циклического аденозин-3',5'-монофосфата к циклическому гуанозин-3',5'-монофосфату и индексами *homeostatic model assessment* и *quantitative insulin sensitivity check index* у пациентов с сахарным диабетом 2 типа в ходе инсулинотолерантного теста. Обнаружено одностороннее снижение коэффициента соотношения циклического аденозин-3',5'-монофосфата к циклическому гуанозин-3',5'-монофосфату и индекса *quantitative insulin sensitivity check index* у пациентов с сахарным диабетом 2 при инсулинотолерантном тесте в соотношении 1:3. Коэффициент соотношения циклического аденозин-3',5'-монофосфата к циклическому гуанозин-3',5'-монофосфату предложено использовать в качестве дополнительного лабораторного параметра для оценки степени инсулинорезистентности у пациентов с сахарным диабетом 2 типа.

Ключевые слова: сахарный диабет, циклические нуклеотиды, инсулинорезистентность, инсулинотолерантный тест, циклический аденозин-3',5'-монофосфат, циклический гуанозин-3',5'-монофосфат.

Введение. Гормоны, нейромедиаторы и другие агонисты способны быстро активировать внутриклеточные процессы. Агонисты взаимодействуют с рецепторами на наружной стороне клеточной мембраны, далее сигнал передается в клетку путем активации синтеза вторичных посредников. Последние включают циклический аденозин-3',5'-монофосфат (цАМФ), циклический гуанозин-3',5'-монофосфат (цГМФ), фосфоинозитиды, ионы кальция и водорода, метаболиты ретиноевой и арахидоновой кислот, закись азота и другие химические соединения биогенного происхождения. Для множества разнообразных пептидных гормонов, биогенных аминов, лекарственных средств и токсинов цАМФ действует в качестве внутриклеточного вторичного медиатора [6, 7]. Он является универсальным посредником передачи внутриклеточного сигнала с внешней стороны клеточной мембраны к эффекторным системам клетки, действие которых вызывает генерализованную реакцию клетки на воздействие внешнего биологически-активного вещества, например гормона. Синтез цАМФ осуществляется из аденозинтрифосфата при посредстве фермента аденилатциклазы. Затем цАМФ стимулирует второй фермент, протеинкиназу, которая фосфорилирует ряд других белков. Последние обычно являются ферментами существующими в активной и неактивной формах, в зависимости от того, подверглись они фосфорилированию или нет [7]. В 60-х годах

XXI века было обнаружено, что в некоторых тканях в качестве посредника передачи сигнала выступает цГМФ [8]. Позже был открыт фермент гуанилатциклаза, участвующий в синтезе цГМФ. Гуанилатциклаза не постоянно связана с мембраной и активируется через другой посредник – ионы кальция, в силу чего может считаться третичным посредником передачи сигнала. Концентрация цГМФ в клетках примерно в 100 раз меньше концентрации цАМФ. Эффекты, вызываемые цГМФ в клетках часто противоположны цАМФ. В функции цГМФ входит активация G-киназы и фосфодиэстеразы, гидролизующей цАМФ [7, 8]. Повышенное содержание цАМФ в клетках приводит к фосфорилированию клеточных мембран и увеличению в цитоплазме концентрации Ca^{++} , активирующего 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) [6].

Цель исследования. Изучить активность циклазной системы в эритроцитах больных сахарным диабетом (СД) в ходе инсулинотолерантного теста и сопоставить полученные результаты с существующими методиками определения степени инсулинорезистентности тканей.

Материалы и методы. Обследовано 64 пациента с СД. Тип СД определялся на основании клинических критериев, предложенных комитетом экспертов Всемирной организации здравоохранения [1, 2]. Больных сахарным диабетом 1 типа (СД1) было 24 (13 мужчин и 11 женщин), в возрасте от 17 до 42 лет, средний возраст – 29,5±12,5 лет с нормальной массой тела 71±4,5 кг, длительность заболевания варьировала от 10 до 25 лет. Больных сахарным диабетом 2 типа (СД2) было 40 (25 мужчин и 15 женщин), в возрасте от 45 до 58 лет, средний возраст 51,5±6,5 лет, длительность заболевания варьировала от 10 до 16 лет. Группу контроля составили 12 здоровых мужчин, находящихся в клинике на диспансерном обследовании, в возрасте от 30 до 44 лет, средний возраст 37±7 лет. Обследование проводилось через 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 лицам проводился стандартный инсулинтolerантный тест (ИТТ). Утром натощак до введения лечебной дозы инсулина или получения таблетированных препаратов участникам исследования проводилось внутривенное капельное введение инсулина короткого действия в 200 мл физиологического раствора в дозе: больным СД – 0,2 ед/кг, 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 пациенты 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 и иммунореактивного инсулина (ИРИ) 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 хорошая.

Концентрация глюкозы и ИРИ в крови определялась общепринятыми методами. Концентрации цАМФ, цГМФ и гормонов определяли радиоиммунологическим методом с использованием коммерческих наборов реактивов.

После выделения эритроцитарной взвеси производился подсчет клеток на гематологическом анализаторе «Coulter LH500» фирмы «Beckman Coulter» (Соединенные Штаты Америки), затем клетки разрушались, а взвесь замораживалась при температуре –20°С для последующего определения концентрации нуклеотидов радиоиммунологическим методом. Расчет содержания нуклеотидов производился на 10⁹ клеток.

Расчет индексов инсулинорезистентности НОМА – homeostatic model assessment и QUICKI – quantitative insulin sensitivity check index производился стандартным методом на основании полученных данных уровня глюкозы и ИРИ [10, 12]. Статистическую обработку результатов проводили с применением пакета прикладных программ EXCEL-2010 и Statistica 7.1, достоверность между полученными показателями в сравниваемых подгруппах оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента и непараметрического *U*-критерия Уилкоксона – Манна – Уитни.

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

Концентрация глюкозы после добавления экзогенного инсулина снизилась во всех группах, однако снижение в группе больных СД2 типа было примерно на треть меньше, чем в двух других группах, что подтверждает основной принцип состояния инсулинорезистентности в том, что для достижения того же уровня утилизации глюкозы тканями организма требуется увеличенная доза инсулина [1].

Таблица 1

Динамика лабораторных показателей в группах до и после инсулинтolerантного теста

Показатель	Группа					
	здоровые		СД1		СД2	
	I	II	I	II	I	II
Глюкоза, ммоль/л	4,9±0,1	3,3±0,2* (-33%)	10,9±0,6**	7,6±0,6* (-30%)	8,6±0,5**	6,7±0,6* (-22%)
ИРИ, мкЕд/мл	12,1±1,5	19,0±1,6* (+57)	15,5±1,8	29,3±4,5* (+89)	19,8±2,2**	175,9±14,7* (+888%)
цАМФ, пмоль/109лейк.	0,66±0,1	1,59±0,2* (+140%)	0,73±0,1	1,23±0,2* (+69%)	1,32±0,2**	0,69±0,1* (-47)
цГМФ, пмоль/109лейк.	0,42±0,1	0,26±0,1	0,3±0,1	0,29±0,1	0,27±0,1	0,39±0,1

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

У всех обследуемых после введения экзогенного инсулина закономерно возрос ИРИ (интегральный показатель экзогенного и эндогенного инсулина). В группе здоровых и больных СД1 увеличение данного показателя составило 57 и 89% соответственно. В группе больных СД2 этот показатель вырос почти 9-кратно (888%).

Существует мнение, что такой рост возможен у пациентов с СД2 типа по причине сниженной активности печеночной инсулиназы [8, 13]. Вместе с тем, значительный рост ИРИ в группе больных СД2 может быть следствием стимуляции экзогенным инсулином выброса больших запасов эндогенного инсулина из бета-клеток поджелудочной железы [4, 9].

Прирост концентрации цАМФ был наибольшим в группе здоровых лиц (140%), в группе СД1 уровень цАМФ увеличился в меньшей степени (69%). Кроме того, у больных СД2 в ходе теста наблюдалась противоположная динамика содержания цАМФ, которое снизилось на 47% ($p < 0,05$).

Величины индексов инсулинорезистентности НОМА, QUICKI и коэффициент цАМФ/цГМФ до и после инсулинтolerантного теста представлены в таблице 2.

В ходе ИТТ в группе больных СД 2 типа индекс QUICKI снизился на 20%, а индекс НОМА вырос в 6,9 раз, подтверждая этим нарастание степени инсулинорезистентности. Однонаправленное снижение коэффициента цАМФ/цГМФ на 63% с индексом QUICKI на 20% отражает нарастание инсулинорезистентности. Все это позволяет предложить новый клинико-лабораторный критерий оценки тканевой ИР у больных СД 2 типа, которым является однонаправленное снижение коэффициента цАМФ/цГМФ с индексом QUICKI в соотношении 3:1.

Таким образом, тканевую ИР можно использовать для изучения внутриклеточных метаболических процессов, возникающих в организме обследуемых под влиянием экзогенного инсулина, оценки показателей внутриклеточного метаболиз-

ма, состояния клеточных мембран и нейрогормональной регуляции.

Выводы

У больных СД2 в ходе инсулинтolerантного теста соотношение цАМФ/цГМФ и индекс QUICKI, снижаются в соотношении 3:1, а НОМА индекс возрастает. У пациентов с СД1 проведение данного теста приводит к увеличению коэффициента цАМФ/цГМФ, а показатели инсулинорезистентности существенно не изменяются.

У больных СД2 отрицательная динамика коэффициента цАМФ/цГМФ под влиянием введения экзогенного инсулина может использоваться в качестве дополнительного критерия оценки инсулинорезистентности тканей.

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. Росс. 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. Росс. воен.-мед. акад. – 2010. – № 1 (29). – С. 86–89.
7. Перцева, М.Н. Гипотеза о ключевой координирующей роли аденилатциклазного сигнального механизма и цАМФ в регуляторном действии пептидов инсулинового суперсемейства на фундаментальные клеточные процессы: клеточный рост, апоптоз, метаболизм / М.Н. Перцева // Журн. эвол. биохим. физиол. – 2000. – № 36. – С. 492–503.
8. Федоров, Н.А. Циклический гуанозинмонофосфат: метаболизм и его биологическая роль / Н.А. Федоров // Успехи современной биологии. – 1996. – № 4 (82). – С. 96–98.
9. Филимонова, Т.Н. Циклические нуклеотиды полиморфноядерных лейкоцитов периферической крови при хронических заболеваниях печени: автореф. дисс. ... канд-та мед. наук / Т.Н. Филимонова. – Ставрополь: СГМедА, 1998. – 20 с.
10. Abbasi, F. Evaluation of fasting plasma insulin concentration as an estimate of insulin action in nondiabetic individuals: comparison with the homeostasis model assessment of insulin resistance (НОМА-IR) / F. Abbasi, Q.D. Okeke, G.M. Reaven // Acta diabetologica. – 2013. – Vol. 50, № 2. – P. 0940–5429.
11. 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.
12. Katz, A. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans / A.

Таблица 2

Индексы НОМА, QUICKI, коэффициент цАМФ/цГМФ до и после инсулинтolerантного теста

Показатель		Здоровые	Больные СД1	Больные СД2
НОМА, ед	A	2,64	7,51	7,57
	B	2,8	9,9	52,38*
QUICKI, ед	A	0,33	0,29	0,29
	B	0,33	0,28	0,23*
цАМФ/цГМФ, ед	A	1,57	2,43	4,89
	B	6,12	4,45*	1,77*

Примечание: А – исходное состояние; В – после ИТТ; * – различия при сравнении с исходными значениями в группе, $p < 0,05$.

- Katz [et al.] // The journal of clinical endocrinology & metabolism – 2000. – Vol. 85, № 7 – P. 2402–2410.
13. 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.
14. Sarafidis, P.A. Validity and reproducibility of HOMA-IR, 1/HOMA-IR, QUICKI and McAuley's indices in patients with hypertension and type II diabetes / P. A. Sarafidis [et al.] // J hum hypertens. – 2007. – Vol. 21 (9). – P. 709–716.

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

Information value of cyclase system in evaluation of insulin resistance in diabetes mellitus patients

Abstract. *In this trial we compared commonly used insulin resistance indexes with cyclase system activity. Intracellular erythrocyte concentration of cyclic adenosine monophosphate and cyclic guanosine monophosphate and basic carbohydrate metabolic parameters were determined in diabetes type 1 and 2 patients before and after standard insulin tolerance test. Results revealed correlation of cyclic adenosine monophosphate to cyclic guanosine monophosphate ratio with homeostatic model assessment and quantitative insulin sensitivity check indexes in diabetes type 2 patients after standard insulin tolerance test. It was determined that cyclic adenosine monophosphate to cyclic guanosine monophosphate ratio decreased unilaterally with quantitative insulin sensitivity check index in 3 to 1 relationship. It can be suggested to use cyclic adenosine monophosphate to cyclic guanosine monophosphate ratio as an additional laboratory parameter for insulin resistance evaluation in diabetes type 2 patients.*

Key words: *diabetes mellitus, cyclic nucleotides, insulin resistance, insulin tolerance test, cyclic adenosine-3',5'-monophosphate, cyclic guanosine-3',5'-monophosphate.*

Контактный телефон: +7 (911) 199 1011; e-mail: simovmak@mail.ru