

ВЛИЯНИЕ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ НА ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ ГЛЮКОЗЫ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

© Дрыгин А.Н.

Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет. 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2

Реферат. Исследованы влияния стимуляторов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и однократной реинфузии фотомодифицированной аутокрови (ФМК) на лабораторные показатели свободно радикального окисления (СРО), активность основных ферментов гликолиза и пентозного цикла в эритроцитах, содержание глюкозы в сыворотке крови у больных сахарным диабетом (СД). Показано, что физиологическое действие ФМК обусловлено стимуляцией ПОЛ, изменяющего свойства клеточных мембран. Характер действия ФМК зависит от исходного состояния процессов ПОЛ, у больных СД второго типа (СД 2) активность ПОЛ значительно ниже при сравнении с СД первого типа (СД 1). Использование ФМК возможно в комплексном лечении больных СД 2 как фактора, активизирующего процессы внутриклеточного метаболизма, улучшающего утилизацию глюкозы тканями. Относительным противопоказанием к применению ФМК является СД 1, так как дополнительная стимуляция процессов ПОЛ может вызывать снижение активности внутриклеточных ферментных систем, участвовавших в метаболизме глюкозы.

Ключевые слова: сахарный диабет, тканевая инсулинорезистентность, перекисное окисление липидов, фосфофруктокиназа, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, глюкоза, реинфузия фотомодифицированной аутокрови.

THE EFFECT OF LIPID PEROXIDATION PROCESS INITIATION ON THE PARAMETERS OF INTRACELLULAR GLUCOSE METABOLISM IN THE PATIENTS SUFFERING FROM DIABETES MELLITUS

© Drygin A.N.

St. Petersburg State Pediatric Medical University. 2, Litovskaya St., St. Petersburg, 194100, Russia

Summary. The effects of lipid peroxidation (LP) stimulants and single reinfusion of photomodified autoblood (PMB) on the laboratory parameters of free radical oxidation (FRO), key enzyme activity of glycolysis and pentose cycle in erythrocytes, blood serum glucose level in the patients suffering from diabetes mellitus (DM) are studied. It has been shown that the physiological effect of PMB is determined by LP stimulation changing the properties of the cell membranes, and the effect nature depends on the initial condition of LP processes in the erythrocytes of the patients suffering from DM. It is possible to use PMB in the complex treatment of the patients suffering from DM of the 2nd type as a factor activating the intracellular metabolism processes and improving glucose utilization in the tissues. DM of the 1st type is a relative contraindication for using PMB because the additional stimulation of LP processes may cause lowering of the activity of the intracellular enzyme systems involved in glucose metabolism.

Key words: Diabetes mellitus, tissue insulin resistance, lipid peroxidation, phosphofructokinase, glucose 6-phosphate dehydrogenase, glucose, reinfusion of photomodified autoblood.

ВВЕДЕНИЕ

В научной литературе имеется обширный материал об использовании ФМК при лечении целого ряда заболеваний: сепсиса, гнойно-некротических заболеваний, острой и тяжелой пневмонии, хронических неспецифических заболеваний легких, вирусных инфекций, ишемической болезни сердца, облитерирующего атеросклероза, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки,

анемии и других болезней [3, 6]. При этом авторы связывают положительный эффект данной процедуры с влиянием на различные стороны обменных процессов, происходящих в клетке и в организме в целом.

Ряд работ, посвященных изучению влияния ФМК на мембраны эритроцитов [3, 4, 6, 8], свидетельствует о частичной деструкции под влиянием волн оптического диапазона гликокаликса – внешнего примембранного

слоя, что обуславливает снижение прочности эритроцитов, их деформацию, повышение проницаемости мембран для газов, повышение активности транспортных ферментных систем, обеспечивающих перенос калия против градиентов электрохимического потенциала, экспрессию мембранных антигенов. Генерализованное воздействие ультрафиолетового облучения (УФО) на клеточные мембраны связывают с хорошо известной способностью ультрафиолетовых лучей повышать активность процессов СРО. Известно, что добавление в культуру клеток антиоксидантов предотвращает изменение клеточных мембран под влиянием ультрафиолетовых лучей [3, 4, 6]. В других исследованиях установлено, что ФМК способствует усилению ПОЛ клеточных мембран. После периода активации ПОЛ значительно возрастает активность антиоксидантной системы (АОС) [2, 4, 7, 10].

С этой точки зрения представляется важной информация о состоянии процессов ПОЛ и АОС в мембранах клеточных структур у больных СД. Сведения по этому вопросу противоречивы, вероятно, по следующим причинам:

- а) не во всех работах проводилась комплексная оценка систем ПОЛ и АОС, а выводы делались на основании оценки лишь одного исследуемого показателя;
- б) не всегда выделялись патогенетические разнородные типы СД;
- в) в некоторых исследованиях не учитывались фазы декомпенсации и компенсации углеводного метаболизма.

Тем не менее, преобладающей точкой зрения является представление о том, что для больных СД 1 характерно повышение активности ПОЛ и снижение антиоксидантной защиты с нарастанием этих нарушений по мере декомпенсации заболевания. У больных СД 2 эти изменения менее выражены и обусловлены развитием осложнений диабета и наличием сопутствующих заболеваний. Возможно, различия в состоянии ПОЛ и АОС у больных СД 1 и СД 2 могут быть объяснены различной степенью недостаточности эндогенного инсулина, который участвует в метаболизме липидных перекисей, способствуя их утилизации [1, 5, 9]. Кроме того, в научных источниках недостаточно представлены сведения и о состоянии внутриклеточных ферментов, участвующих в метаболизме глюкозы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовали 76 больных СД средней тяжести в фазе субкомпенсации заболевания. У 24

больных (15 мужчин и 9 женщин) был СД1, у 52 (38 мужчин и 14 женщин) – СД 2. Тип СД определяли на основании комплекса клинических критериев, а также показателей иммунореактивного инсулина (ИРИ) и С-пептида в плазме крови, определенных радиоиммунологическим методом. С целью получения достоверных результатов обследованию подвергались больные с отчетливыми клиническими проявлениями, определяющими тип СД. В контрольной группе было 17 доноров (9 мужчин и 8 женщин).

Сеансы ФМК проводили однократно в утренние часы натощак по общепринятой методике [6]. Перечень методов лабораторного исследования включал в себя определение концентрации глюкозы в сыворотке крови, числа инсулинсодержащих эритроцитов (ИСЭ), содержания ключевых ферментов пентозного цикла и гликолиза в эритроцитарной тест-системе – фосфофруктокиназы (ФФК) и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ).

С учетом современных представлений о роли ПОЛ в модификации клеточных мембран оценивали степень перекисного гемолиза эритроцитов (ПГЭ), уровень накопления диеновых конъюгатов (ДК), а также состояние внутриклеточной антиоксидантной системы по уровню восстановленного глутатиона (ВГ).

Экспериментальное исследование было предпринято для подтверждения рабочей гипотезы о ведущей роли активации системы ПОЛ, возникающей под влиянием ультрафиолетовых лучей в эритроцитарно-метаболической тест-системе *in vitro*. Активация системы ПОЛ в интактных эритроцитах *in vitro* проводилась путем добавления в эритроцитарную тест-систему двухвалентного железа (Fe^{+2}), аскорбата и витамина D_2 по известной методике [6].

Для определения степени утилизации глюкозы клетками крови в эритроцитарной тест-системе создавалась концентрация глюкозы, сопоставимая со средними величинами ее концентрации в плазме у соответствующих категорий больных и лиц контроля.

Статистическую обработку результатов проводили с применением пакета 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

Принимая в качестве рабочей гипотезы способность ультрафиолетовых лучей иници-

Таблица 1

Влияние стимуляторов процессов ПОЛ на некоторые клиничко-лабораторные показатели (M±m)

Показатель	Группа	Фактор, действующий на взвесь эритроцитов				
		Интактная среда	Fe ⁺² , аскор-бат, D ₂	Fe ⁺² , аскор-бат, D ₂ , инсулин	Ультрафиолетовое облучение	Инсулин
Перекисный гемолиз эритроцитов, ед. опт. плотн.	Контроль	0,032± 0,009	0,072± 0,010*	0,057± 0,012	0,067± 0,011*	0,040± 0,003
	СД-1	0,065± 0,011**	0,134± 0,013*	0,087± 0,009	0,159± 0,014*	0,052± 0,013
	СД-2	0,030± 0,005	0,054± 0,011*	0,078± 0,013*	0,052± 0,009*	0,043± 0,012*
Диеновые конъюгаты, ммоль/л	Контроль	5,5±1,7	9,2±1,2*	8,7±1,3	9,4±1,3*	6,0±1,8
	СД-1	13,9± 1,1**	26,8± 1,7*	14,3± 2,2	23,1± 1,4*	14,1± 0,9
	СД-2	4,3±1,1	11,4± 1,3*	9,2± 1,8*	9,0± 1,2*	3,9±1,2
Восстановленный глутатион, ME/10 ⁹ эритроцитов	Контроль	98,3± 2,6	96,9± 3,1	99,4± 2,8	96,9± 3,1	110,0± 1,9*
	СД-1	107,7± 2,3**	78,9± 2,4	89,2± 2,1*	79,4± 2,3*	112,1± 2,2
	СД-2	82,4± 6,5	101,3± 5,7	90,7± 5,6	104,2± 6,3	73,6± 5,4

Здесь и в табл. 2: * при сравнении с исходными значениями, p<0,05; ** при сравнении исходных показателей у больных СД и контрольной группы, p<0,05.

ировать процессы ПОЛ в клеточных мембранах как основной механизм действия ФМК на организм человека, мы сочли целесообразным провести моделирование этого действия и оценить влияние стимуляторов процессов ПОЛ на некоторые клиничко-лабораторные показатели, отражающие состояние углеводного метаболизма в эритроцитах периферической крови больных СД1 и СД2 *in vitro* и сравнить происходящие изменения с действием на клетки основного регулятора углеводного обмена – инсулина.

Изменения показателей ПОЛ в эритроцитах у больных СД 1 и СД 2 *in vitro* под влиянием Fe⁺² в сочетании с аскорбатом и витамином D₂, ФМК и инсулина представлена в таблице 1.

Как следует из табл. 1, в исходном состоянии показатели активности ПОЛ в эритроцитах больных СД 1 достоверно выше по сравнению со здоровыми и больными СД 2.

При этом ФМК оказывало на эритроциты влияние, сходное с действием аскорбата, Fe⁺² и витамина D₂, стимулируя ПОЛ, причем в максимальной степени эти процессы были выражены у больных СД 1. Содержание ВГ в эритроцитах больных СД в интактном состоянии разнонаправлено отличалось от нормальных показателей: — у больных СД1 превышало значения контрольной группы, — у больных СД2 — напротив, было ниже нормы. Инициация ПОЛ также неоднозначно влияла на этот показатель.

У больных СД 1 уровень ВГ в эритроцитах имел тенденцию к снижению, а у больных СД2 – к нарастанию. Существенных изменений исследуемых показателей под влиянием инсулина не выявлено. Лишь в эритроцитах

лиц контрольной группы нарастало содержание ВГ. Важно отметить, что инсулин, внесенный в реакционную смесь совместно с аскорбатом железа, тормозил влияние последнего, вероятно оказывая антиоксидантное действие. Подобного протекторного эффекта не наблюдалось у больных СД 2. Результаты влияния стимуляторов ПОЛ и инсулина на активность ключевых ферментов гликолиза и пентозного цикла в эритроцитах, количество ИСЭ и уровня глюкозы в реакционной смеси у больных СД представлены в табл. 2.

Согласно полученным результатам, активность как ФФК, так и Г-6-ФДГ эритроцитов снижена при обоих типах СД, однако в большей степени эти изменения выражены у больных СД 2. Под влиянием инициации ПОЛ наблюдалась разнонаправленная динамика исследуемых показателей у больных с разными типами СД. У больных СД 2 активность ферментов повышалась, а у больных СД 1 напротив — снижалась в еще большей степени.

Под влиянием инсулина отмечалась тенденция к повышению активности исследуемых ферментов у больных СД 1, а у больных СД 2 существенных изменений не отмечалось. Количество ИСЭ под влиянием активации ПОЛ у больных СД 2 имело тенденцию к повышению, а у больных СД 1 – к снижению. Концентрация глюкозы в реакционной смеси на фоне повышения активности ПОЛ достоверно снижалась в 2 раза у больных СД 2 и не менялась у больных СД 1. Под влиянием инсулина уровень глюкозы в тест-системе снижался как у здоровых в группе контроля, так и у больных СД. При этом не отмечалось существенных измене-

Таблица 2

Влияние стимуляторов ПОЛ на активность ключевых ферментов гликолиза (M±m)

Показатель	Группа	Факторы, действующие на взвесь эритроцитов				
		Интактная среда	Fe ²⁺ , аскорбат, D ₂	Fe ²⁺ , аскорбат, D ₂ , инсулин	Ультрафиолетовое облучение	Инсулин
ФФК, МЕ/109 эритроцитов	Контроль	0,260± 0,012	0,232± 0,017	0,310± 0,009	0,270± 0,012	0,240± 0,008
	СД-1	0,169± 0,022**	0,128± 0,012	0,149± 0,013	0,141± 0,017	0,189± 0,011
	СД-2	0,131± 0,009**	0,194± 0,02*	0,191± 0,013*	0,240± 0,008*	0,069± 0,007
Г-6-ФДГ, МЕ/109 эритроцитов	Контроль	258,2± 14,4	248± 12,7	223,6± 8,2	242± 16,4	249,1± 11,6
	СД-1	237,5± 23,4	112,7± 18,4*	202,5± 21,5	117,8± 20,1*	268,4± 14,3
	СД-2	164,2± 22,4**	284± 21,1*	218± 18,9	288,9± 14,1*	156± 20,7
ИСЭ, %	Контроль	628±37	631±24	617±21	634±27	610±20
	СД-1	602±24	560±38	610±25	566±27	629±32
	СД-2	557±29	634±34	594±27	648±31	562±24
Глюкоза, ммоль/л	Контроль	4,4±0,4	3,9±0,6	4,1±0,5	4,0±0,7	2,5±0,9
	СД-1	10,5± 0,8**	10,6± 1,3	8,2±0,9	10,4±1,8	5,8±1,6*
	СД-2	9,8± 0,7**	4,8± 0,2*	6,4±0,9*	4,4±0,3*	5,9±0,9

ний активности внутри эритроцитарных ферментных систем.

Таким образом, инициация процессов ПОЛ как аскорбатом железа, так и ультрафиолетовыми лучами в эритроцитарно-метаболической тест-системе обуславливает идентичные изменения активности ферментных систем, числа ИСЭ и содержания глюкозы в эритроцитарной взвеси, что подтверждает точку зрения о ведущей роли способности электромагнитных волн оптического диапазона стимулировать активность ПОЛ в реализации их многопланового действия на биологические системы.

Обращает внимание, с одной стороны, – разнонаправленность изменений активности ферментов, содержания ИСЭ под влиянием перекисидации у больных СД, с другой стороны, – параллелизм изменений этих показателей и концентрации глюкозы у больных СД в каждой из групп. Логично предположить, что под влиянием инициации ПОЛ в эритроцитах больных СД 2 с исходно нормальным состоянием СРО происходит повышение активности внутриклеточных ферментных систем, участвующих в метаболизме глюкозы, снижение тканевой инсулинорезистентности и повышение утилизации глюкозы клетками.

У больных СД 1 с низким уровнем эндогенного инсулина имеет место исходно повышенная активность ПОЛ в эритроцитарных мембранах. При этом дополнительная инициация ПОЛ различными агентами, в том числе ФМК, является чрезмерной и приводит не к повышению, а, напротив, — к снижению активности ключевых ферментов внутриклеточного метаболизма глюкозы.

ВЫВОДЫ

1. В результате проведения ФМК у больных СД 1 и СД 2 выявлены достоверные различия в показателях ПОЛ, активности ключевых ферментов гликолиза и пентозного цикла в эритроцитах периферической крови.
2. Инициация процессов ПОЛ, а также ФМК приводит к уменьшению активности ФФК и Г-6-ФДГ в эритроцитах больных СД 1 и к достоверному их повышению у больных СД 2.
3. Реинфузия ФМК больным СД 2 приводит к снижению тканевой инсулинорезистентности и улучшению утилизации глюкозы клетками.
4. У больных СД 1 проведение ФМК чрезмерно повышает исходно высокий **уровень** ПОЛ, снижает активность ключевых ферментов **гликолиза** и пентозного цикла, ухудшает утилизацию глюкозы клетками.

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. 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.
3. Изменение свойств мембраны эритроцитов при облучении крови УФ лучами / А.Е. Громов [и др.] // Механизмы влияния облученной ультрафиолетовыми лучами крови на организм человека и животных. Л.: Наука. 1985. С. 202–207.
4. Пастушенков, В.Л. Клинико-лабораторные подходы к дифференциальной диагностике сахарно-

- го диабета 1 и 2 типов / В.Л. Пастушенков, А.Н. Дрыгин, С.Б. Шустов // *Вестн. Рос. Воен. Мед. Акад.* 2010. № 1(29). С. 28–31.
5. Творогова, М.Г. Инсулинорезистентность и методы её диагностики / М.Г. Творогова, К.Н. Яськова, И.Е. Чазова // *Лабораторная медицина.* 2003. № 6. С. 48–52.
 6. Ультрафиолетовое облучение аутокрови в комплексном лечении больных сахарным диабетом / А.Л. Раков [и др.] // *Клиническая медицина.* 1991. Т. 8. С. 95–99.
 7. A role of glutathione peroxidase in protecting pancreatic β -cells against oxidative stress in a model of glucose toxicity / Y.Tanaka [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2002. V. 99. P. 12363–12368.
 8. Oxidative stress-activated are signaling pathways mediators of insulin resistance and β -cell dysfunction / J.L. Evans [et al.] // *Diabetes.* 2003. V. 52. P. 1–8.
 9. Relationship between insulin resistance and accumulation of coronary risk factors / H. Ohnishi [et al.] // *Diabetes Obes Metab.* 2002. № 4. P. 388–393.
 10. Role of reactive oxygen species in the progression of type 2 diabetes and atherosclerosis / H. Kaneto [et al.] // *Endocrine Journal.* 2008. V. 55, № 4. P. 235–252.