Возможные механизмы антиатеросклеротического эффекта Глюкофажа (Метформина)

Л.В. Недосугова

Кафедра эндокринологии ФППОв ММА им. И.М. Сеченова

В современной клинической диабетологии метформин переживает «второе рождение» благодаря уникальным результатам, полученным в исследовании UKPDS [20]. Именно в группе пациентов, получавших Глюкофаж (метформин производства компании Никомед), было получение снижение смертности, связанной с диабетом, на 42%, смертности от инфарктов – на 39% и от инсультов – на 41%. Основной причиной смерти больных сахарным диабетом (СД) 2 типа являются заболевания сердечно-сосудистой системы [12, 23]. Смертность от сердечно-сосудистых заболеваний больных СД 2 типа в 3 раза выше, чем среди населения в целом [13, 22]. При этом в 80% случаев причиной смерти является атеросклеротическое поражение коронарных, церебральных и периферических сосудов [14]. В целом от заболеваний, обусловленных атеросклерозом, умирает больше больных диабетом, чем от всех других причин вместе взятых [1]. Важную роль в прогрессировании атеросклеротических поражений сосудов при диабете может играть активация процессов свободнорадикального окисления, в частности, образование окисленных липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) в плазме крови, что может сопровождаться модификацией этих частиц и их усиленным поглощением моноцитами-макрофагами, которые трансформируются в пенистые клетки, участвующие в предатерогенной липидной инфильтрации стенки сосуда [5, 6].

Основным фактором, вызывающим атерогенную модификацию ЛПНП in vivo, являются карбонильные соединения – альдегиды, образующиеся при свободнорадикальном окислении липидов (подобные 4-гидроксиноненалю и малоновому диальдегиду – МДА) или при автоокислении глюкозы в условиях гипергликемии (подобные глиоксалю, метилглиоксалю и 3-деоксиглюкозону) [15, 16]. Эти α-оксоальдегиды являются чрезвычайно активными соединениями, способными гликировать различные белки, включая апопротеины ЛПНП [7]. Поскольку модификация ЛПНП, индуцируемая неферментным гликозилированием, может повышать их атерогеннность, т.е. способность проникать в интиму сосудов и захватываться макрофагами с образованием пенистых клеток, понятно существование определенной взаимосвязи между скоростью прогрессирования атеросклероза и уровнем гипергликемии при сахарном диабете [13]. Исходя из этого, вполне оправданы попытки ограничить интенсивность свободнорадикального окисления при диабете за счет компенсации углеводного обмена, что подтверждают результаты исследования UKPDS [21].

Ранее нами было показано, что у больных СД 2 типа, имеющих уровень общего холестерина плазмы даже ниже, чем у пациентов с гиперхолестеринемией (ГХС), выраженность окислительного стресса, определяемого по содержанию окисленных липопротеидов, в 4–5 раз превышает таковую у пациентов с ИБС и ГХС [2]. В настоящем исследовании мы предприняли попытку сравнить влияние различных видов сахароснижающей терапии на выраженность окислительного стресса при СД 2 типа.

Объект и методы исследования

В исследование было включено 70 пациентов, страдающих СД 2 типа, из них 40 человек с впервые выявленным сахарным диабетом не получали на момент включения никакой сахароснижающей терапии, остальные 30 пациентов с длительностью диабета более 5 лет получали на момент включения в исследование препараты сульфонилмочевины (ПСМ) (манинил – 15 человек и диабетон – 15 человек). Клиническая характеристика пациентов приведена в табл. 1. Все пациенты на момент начала исследования находились в состоянии декомпенсации углеводного обмена. Компенсации углеводного обмена у пациентов с впервые выявленным сахарным диабетом достигали с помощью метформина (Глюкофаж в суточной дозе 1500–2500 мг). У пациентов с длительностью диабета более 5 лет компенсации добивались путем коррекции дозы ПСМ либо комбинацией последних с метформином в суточной дозе 500–1000 мг.

Таблица 1

Клиническая характеристика исследуемых групп (M±м)					
Показатель	Контрольная группа	Пациенты на ПСМ (n=30) м/ж – 15/15		Пациенты на Глюкофаже (n=40) м/ж – 16/24)	
		декомпенсация	компенсация	декомппенсация	компенсация
Возраст, лет	56,3±1,8	56,9±9,9		56,2±8,5	
ИМТ, кг/м^2	26,9±0,4	29,7±3,4		33,3±6,3	
Длительность СД, лет	-	5,5±0,64		0-0,5	
Hb A1c, %	5,5±0,1	8,1±0,3	7,1±0,2**	8,4±0,3	6,7±0,2**
Холестерин, ммоль/л	4,8±0,1	6,5±0,31	5,9±0,34*	6,8±0,26	5,4±0,19**
Триглицериды, моль/л	0,9±0,042	2,4±0,22	2,0±0,31*	2,4±0,22	1,9±0,20*
ЛПВП, моль/л	2,8±0,11	1,05±0,04	1,07±0,08	0,88±0,04	0,91±0,05
ЛПНП моль/л (ХсЛПОНП,+ Хс ЛПНП)	2,2±0,06	5,5±0,32	4,8±0,39*	5,9±0,39	4,5±0,19**

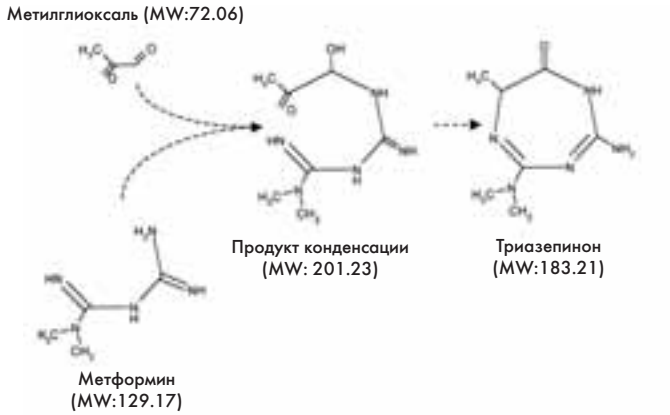
* p< 0,05 , ** p<0,001 по сравнению с исходными значениями.

Таблица 2

Влияние компенсации углеводного обмена на показатели окислительного стресса у больных сахарным диабетом 2 типа (M±м)				
Исследуемые параметры	Декомпенсированные пациенты на ПСМ (n=30)	Компенсация на ПСМ (n=30)	Декомпенсированные пациенты (n=40)	Компенсация на метформине (n=40)
HbA1c, %	8,1±0,03	7,1±0,18**	8,4±0,33°	6,7±0,15**, •
СОД, Ед/г гемоглобина	4288±162	9665±459**	4629±1373°	17309±774**,••
ГП, Ед/г гемоглобина	4,1±0,17	5,4±0,33**	1,90±0,17	2,48±0,15**,••
МДА в ЛПНП, нмоль/мг белка	9,5±0,90	5,0±0,58**	6,03±0,73°°	3,18±0.34**,••
Гидроперекиси в ЛПНП, мкмоль/мг белка	199±19,5	138±16,6*	190,1±22,61°	25,87±3,66**,••
Лаг-фаза, τ, мин	17±2,0	21±1,4	9,0±1,6	39,0±4,7**,••

* p<0,01; ** p<0,001 – по сравнению с исходным;
° p >0,1 ; °° p > 0,01 – достоверность исходных различий между сравниваемыми группами;
• p > 0,05 •• p < 0,001 – достоверность разных между сравниваемыми группами при достижении компенсации.

Перед началом исследования и через 2 мес после достижения удовлетворительной компенсации углеводного обмена в соответствии с критериями European Diabetes Police Group (1998) в крови пациентов определяли уровень гликированного гемоглобина (HbA1c), содержание первичных (липогидропероксиды) и вторичных (МДА) продуктов свободнорадикального окисления липидов в ЛПНП, а также активность ключевых антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы) в эритроцитах. Уровень HbA1c определяли на анализаторе Bayer DCA-2000. ЛПНП из плазмы пациентов выделяли, как описано ранее [3]. Уровень липидных гидропероксидов в ЛПНП измеряли специфичным модифицированным методом с использованием Fe^{2+}-ксиленолоранжа [4]. Окисление ЛПНП инициировали при 37° введением 30 мкмоль $CuSO_4$, после чего через фиксированные интервалы времени измеряли накопление липогидропероксидов при 233 нм на спектрофотометре Hitachi 220A. По результатам исследований строили кинетические кривые окисления ЛПНП, из которых определяли продолжительность лаг-фазы (период индукции окисления, пропорциональный уровню антиоксидантов в ЛПНП) [3]. Содержание вторичных продуктов свободнорадикального окисления липидов (МДА) определяли по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой [3] Активность эритроцитарной Cu,Zn-супероксиддисмутазы и активность Se-содержащей глутатионпероксидазы эритроцитов определяли как описано ранее [3]. Все использованные реагенты были получены от фирмы Sigma. Статистическую обработку данных проводили на персональном компьютере с использованием специального статистического пакета SPSS версии 9.0 (SPSS inc., США). Для определения достоверности различий между сравниваемыми группами использовался t-критерий Стьюдента. При анализе парных изменений (сравнение результатов до и после лечения) применялся парный критерий Стьюдента. Различия считали достоверными при p<0,05. Все средние значения в таблицах представлены в виде M±SD.



Реакция метформина с метилглиоксалем: синтез триазепинона. (По P. Beissswenger// Diabetes Metab. 2003, 29: 6S95- 6S103)

Результаты и обсуждение

При достижении компенсации углеводного обмена в крови больных СД 2 типа обеих групп было выявлено достоверное снижение уровня гликированного гемоглобина (табл. 2). Одновременно у больных исследованых групп было обнаружено существенное уменьшение содержания как первичных (липопероксиды), так и вторичных (МДА) продуктов свободнорадикального окисления в ЛПНП плазмы крови (см. табл. 2), а также увеличение активности ключевых антиоксидантных ферментов, ответственных за утилизацию активных форм кислорода (увеличение активности супероксиддисмутазы) и липопероксидов (увеличение активности глутатионпероксидазы) в эритроцитах больных СД 2 типа после достижения компенсации углеводного обмена (см. табл. 2). Таким образом, компенсация углеводного обмена у больных СД 2 типа сопровождается очевидным снижением выраженности проявлений окислительного стресса (см. табл. 2), что подтверждает теоретические предпосылки нашей работы.

По степени достигнутой компенсации группа пациентов с вновь выявленным диабетом, получавших метформин, не отличалась значимо от пациентов, компенсированных на фоне приема препаратов сульфонилмочевины, с длительностью заболевания более 5 лет. Однако при одинаковой степени компенсации углеводного обмена по снижению уровней липопероксидов плазмы крови эти группы пациентов различались в 5 раз ($p<0,001$), несмотря на то, что исходное содержание окси-ЛПНП было практически одинаково (см. табл. 2), а выраженность гипер- и дислипидемии как до начала терапии, так и при достижении компенсации углеводного обмена достоверно не различалась (см. табл. 1). При этом продолжительность лаг-фазы Cu^{2+}-индуцируемого свободнорадикального окисления ЛПНП, изолированных из плазмы крови больных СД 2 типа, получавших метформин, возросла почти в 4,5 раза (см. табл. 2)., тогда как в группе пациентов, принимавших ПСМ, не было выявлено достоверных изменений. Столь явный положительный эффект компенсации углеводного обмена на интенсивность свободнорадикальных процессов в крови пациентов, получавших метформин, не может быть объяснен только различиями в длительности течения диабета. По нашему мнению, очевидно позитивное влияние метформина не только как эффективного антигипергликемического средства, но и как активного ангиопротектора, препятствующего развитию диабетических ангиопатий [9,18,20]. По данным UKPDS [20], при интенсивном лечении метформином у пациентов с СД 2 типа происходило 40–50% снижение коронарных событий по сравнению с пациентами, получавшими ПСМ или инсулинотерапию в интенсивном режиме, при адекватном улучшении гликемического контроля. Логично предположить, что метформин оказывает ангиопротекторный эффект независимо от его сахароснижающих свойств. Подтверждением этого можно считать многочисленные экспериментальные и клинические исследования, показавшие, что метформин может ингибировать процессы гликирования независимо от антигипергликемического эффекта. В частности, P. Beisswenger [9] и D. Rugguiero-Lopez [18] продемонстрировали способность метформина связывать α-оксалоальдегиды – метилглиоксаль (MG) и глиоксаль (G), образующиеся при автоокислении глюкозы и, как уже упоминалось, активно инициирующие процессы неферментного гликирования. В исследовании in vitro было показано, что в условиях, близких к физиологическим, метформин непосредственно реагирует с MG и G, образуя стабильный продукт – триазепинон (TZP), который эскретируется с мочой (см. рисунок). Было показано, что у пациентов, получающих метформин, происходит значительное снижение содержания MG в плазме [9] и повышенное выделение TZP с мочой [17], коррелирующее с дозой препарата.

Альтернативным объяснением снижения уровня окси-ЛПНП при применении метформина, разумеется, может быть снижение активности процессов свободнорадикального окисления при компенсации углеводного обмена, что ведет к повышению активности глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназы [10] и сопровождается снижением продукции метилглиоксаля [8], инициирующем окислительную модификацию ЛПНП. Однако в

нашем исследовании при сравнимых показателях компенсации углеводного обмена мы получили 5-кратное снижение первичных (окси-ЛПНП) и вторичных (МДА) продуктов перекисного окисления липидов на фоне применения метформина по сравнению с ПСМ. Таким образом, наши результаты подтверждают данные P. Biesswenger и D. Ruggiero-Lopez о независимости ангиопротекторного и ингибирующего неферментное гликирование эффекта метформина от его антигипергликемического действия и свидетельствуют о значительно большем влиянии Глюкофажа на выраженность окислительного стресса по сравнению с ПСМ даже при идентичном уровне гликемического контроля.

Таким образом, ниши исследования показали, что достижение компенсации углеводного обмена с помощью Глюкофажа сопровождается более значимым снижением окси-ЛПНП и МДА в липопротеидах плазмы по сравнению с применением ПСМ при сопоставимом уровне гликемического контроля.

Снижение окислительной модификации ЛПНП на фоне Глюкофажа свидетельствует об антиатерогенном эффекте препарата, не связанном с его антигипергликемической активностью.

Литература

1. Доборджгинидзе Л.М., Грацианский Н.А. Роль статинов в коррекции диабетической дислипидемии. // Сах. диабет.-2001.-№2.-с.41-47.
2. Ланкин В.З., Лисина М.О., Арзамасцева Н.Е., Коновалова Г.Г., Недосугова Л.В., Каминный А.И., Тихазе А.К., Агеев Ф.Т., Кухарчук В.В., Ю.Н.Беленков Окислительный стресс при атеросклерозе и диабете. //Бюлл. эксп. биол. и мед. 2005, т.140,№1, с.41-43
3. Коновалова Г.Г., Ланкин В.З., Тихазе А.К. и др. Комплекс витаминов-антиоксидантов защищает липопротеиды низкой плотности плазмы крови от свободно-радикального окисления и повышает активность антиоксидантных ферментов в эритроцитах больных ИБС. // Бюлл.экспер.биол.мед. 2003, т.136, №8, с. 163-166
4. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Беленков Ю.Н. Свободнорадикальные процессы в норме и при патологических состояниях (пособие для врачей), М., РКНПК МЗ РФ, 2001, 78 с.
5. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Беленков Ю. Н.- Свободнорадикальные процессы при заболеваниях сердечно-сосудистой системы. // Кардиология, 2000, т. 40,№7, с. 48-61.
6. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Беленков Ю. Н.- Антиоксиданты в комплексной терапии: pro et contra. // Кардиология, 2004, т.44,№2, с. 72-81.
7. Baynes JW, Thorpe SR. Glycoxidation and lipoxidation in atherogenesis. Free Radic Biol Med 2000, 28,1708-1716.
8. Beisswenger P, Howell S, Smith K, Szwergold B. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase activity as an independent modifier of methylglyoxal levels in diabetes. //Biochim Biophys Acta, 2003, 1637, 98-106.
9. Beisswenger P, Howell S, Touchette A, Lai S, Szwergold B. Metformin reduces systemic methylglyoxal levels in type 2 diabetes. //Diabetes, 1999, 48, 198-202.
10. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. // Nature, 2001, 414, 813-20.
11. Fore W.W. Noninsulin-dependent diabetes mellitus. The prevention of complications. // Med. Clin. North Am.-1995.-V.79.-N2.-P.287-298
12. Garber A.J. Vascular disease and lipids in diabetes. // Med. Clin. North Am.-1998.-V.82.-N4.-P.931-948.
13. Mullarkey C.J., Edelstein D., Brownlee M. // Biochem. Biophys. Res. Commun's, 1990, v.173, 932-939.
14. O'Brien R.C., Luo M. The effects of gliclazide and other sulfonylureas on low-density lipoprotein oxidation in vitro. // Methabolism.-1997.-V.46.-N 12.-Suppl 1.-P.22-25.
15. Phillips S,Thornalley P. The formation of methylglyo[al from triose phosphates. Investigation using a specific assay for metylglyoxal. // Eur J Biochem,1993,212,101-105.
16. Richard JP. Mechanism for formation of metylglyoxal from triosephosphates. //BIochem Soc Trans, 1993, 21, 549-553.
17. Ruggiero-Lopez D, Howell SK, Szwergold BS, Wiernsperger N, Beisswenger PJ. Metformin reduces methylglyoxal levels by formation of a stable condensation product (Triazepinone) [Abstract). // Diabetes, 2000, 49 (suppl. I), A124.
18. Ruggiero-Lopez D, Lecomte M, Moinet G, Patereau G, Lagarde M, Wiernsperger N. Reaction of metformin with dicarbonyl compounds, possible implication in the inhibition of advanced glycation end product formation. //Biochem Pharmacol, 1999, 58, 1765-73.
19. Tanaka Y, Iwamoto H, Onuma T, R. K. Inhibitory effect of metformin on formation of advanced glycation end products. //Curr Ther Res, 1997, 58, 693-7.
20. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). //Lancet, 1998, 352, 854-65.
21. UKPDS: Intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes(UKPDS33). //Lancet , 1998, v.352, 837-853.
22. Uusitupa M., Niskanen L.K., Siitonen O. Ten year cardiovascular mortality in relation to risk factors and abnormalities in lipoprotein composition in type II diabetic and non-diabetic subjects. // Diabetologia. 1993, V.36, p.1175.
23. Yoshino G.; Hirano T.; Kazumi T. Dyslipidemia in diabetes mellitus. // Diabetes Res. Clin. Pract. 1996., V.33, p.1-14.