

Уровень стабильных метаболитов оксида азота в крови при метаболическом синдроме и сахарном диабете

З.М. Шамансурова

НИИ Эндокринологии МЗ РУз, Ташкент
(директор — профессор С.И. Исмаилов)

Цель. Изучить уровень стабильных метаболитов оксида азота (СМОА) — нитритов и нитратов крови, и их взаимосвязь с показателями биохимии крови при сахарном диабете 1 и 2 типов (СД1 и СД2), а также метаболическим синдроме (МС).

Материалы и методы. У 61 пациента с СД, 12 — с ожирением, 8 — с нарушенной толерантностью к глюкозе (НТГ) и 12 здоровых лиц обследовали уровень гликемии натощак, через 2 часа после нагрузки, гликированного гемоглобина HbA_{1c} , спектр липидов крови, инсулин, С-пептид крови, активность сиапидазы эритроцитов (АСЭ), уровень СМОА, рассчитывали индекс инсулинорезистентности НОМА.

Результаты. Постпрандиальная гликемия была повышена у пациентов с СД1, СД2, с НТГ. Инсулин и С-пептид крови были снижены в группе СД1 и СД2 и повышены при НТГ. Индекс НОМА был повышен в группе лиц с НТГ, СД2. Уровень СМОА оказался сниженным во всех группах (особенно у лиц с СД и диабетической нефропатией) и отрицательно коррелировал с липидами крови ОХ, ТГ, ЛПНП. АСЭ была повышена во всех группах пациентов с СД и МС.

Заключение. СМОА как показатель дисфункции эндотелия имеет диагностическую значимость, начиная с ранних стадий нарушения углеводного обмена.

Ключевые слова: сахарный диабет 1 и 2 типа, оксид азота, эндотелиальная дисфункция, метаболический синдром

Blood levels of stable nitric oxide metabolites in metabolic syndrome and diabetes mellitus

Z.M. Shamansurova

Institute of Endocrinology, Tashkent

Aim. To measure stable metabolites of nitric oxide (SMNO), i.e. nitrites and nitrates, and compare the results with other biochemical characteristics of blood in patients with type 1 and 2 diabetes mellitus (DM1 and DM2) or metabolic syndrome (MS).

Materials and methods. The following parameters were measured in 61 patients with DM, 12 with obesity, 8 with impaired glucose tolerance (IGT), and 12 healthy subjects: blood glucose level (fasting and 2 hr postprandially), HbA_{1c} , insulin, C-peptide, SMNO, lipid spectrum, erythrocyte sialidase activity (ESA), and insulin resistance index (HOMA).

Results: Postprandial glycemia was elevated in DM1, DM2, and IGT patients, HOMA in those with DM2 and IGT, ESA in all DM and MS patients. SMNO level was reduced in all groups especially in patients with DM and diabetic nephropathy. It negatively correlated with total cholesterol, TG, LDL, and ESA.

Conclusion. Blood SMNO level as an indicator of endothelial dysfunction is of high diagnostic value starting from the early stages of impaired carbohydrate metabolism.

Key words: type 1 and 2 diabetes mellitus, nitric oxide, endothelial dysfunction, metabolic syndrome

Исследованиями последних десятилетий показано, что эндотелий сосудов является эндокринным органом, регулирующим не только тонус сосудов, но и уровень липидов крови, процессы свертывания, микроциркуляции, адаптационные механизмы воспаления, иммунный ответ [1, 2, 3, 4, 5, 6]. Окись азота, или эндотелиальный релаксирующий фактор, является одним из основных продуктов эндотелия сосудов. Роль нарушения функциональной активности эндотелия в основе патогенеза развития осложнений сахарного диабета (СД) показана во многих исследованиях [7, 8]. Как известно, этиология и патогенез СД1 и СД2 отличаются, СД2 рассматривается как последний этап метаболического синдрома [9, 10], в состав которого включают ряд заболеваний, таких как ожирение, нарушение толерантности к глюкозе (НТГ), синдром поликистозных яичников (СПКЯ), артериальная гипертензия, ИБС, атеросклероз [10]. Однако многие проявления тканевого повреждения, в том числе и дисфункция эндотелия (ДЭ), регистрируются при обоих типах СД. Изучение уровня стабильных метаболитов оксида азота (СМОА) — нитритов и нитратов крови как показателя ДЭ при 1 и 2 типе СД и метаболическом синдроме (МС), взаимосвязь СМОА с другими биохимическими показателями представляет интерес в нашем исследовании.

Материалы и методы

Исследование проведено у 17 пациентов с ожирением, 61 больного СД, у 8 лиц с нарушенной толерантностью к глюкозе (НТГ) в возрасте от 18 до 64 лет, находившихся на стационарном и амбулаторном лечении в НИИ Эндокринологии МЗ РУз. Группу контроля составили 12 здоровых лиц аналогичного возраста. Диагностика сахарного диабета и НТГ проводилась согласно критериям ВОЗ 2002 г. [11], ожирение определялось по уровню индекса массы тела (ИМТ). У обследованных лиц рассчитывали ИМТ по формуле: вес в кг/рост в кв. м. Всем обследованным определяли гликемию глюкозо-оксидазным методом с помощью наборов «БиоЛаТест» (Чехия) уровень HbA_{1c} — колориметрическим тиобарбитуровым методом [12, 13]; уровень нитритов и нитратов плазмы крови определяли согласно [13–15] с пересчетом результатов по стандартной кривой нитрита и нитрата натрия; спектр липидов крови определяли полуколичественным методом с помощью тест-полосок Ла-Рош Диагностикс [13]; активность сиапидазы эритроцитов (АСЭ) определяли резорциновым методом согласно [13, 16]; уровень ИРИ, С-пептида крови определяли с помощью радиоиммунных наборов «ИММУНОТЕХ» (Чехия); индекс инсулинорезистентности НОМА рассчитывали по общепринятой формуле, предложенной Matthews

Таблица 1

Клиническая характеристика и биохимические показатели обследованных лиц					
Обследуемые группы	Здоровые лица	Ожирение	НТГ	СД1	СД2
Количество	12	17	8	30	31
Возраст, лет	32,88±1,2	46,26±2,4*	49,92±3,5*	31,32±1,8	54,76±4,7*
ИМТ, кг/м ²	23,1±2,6	35,25±2,1*	34,58±2,3*	21,89±2,1	23,98±1,9
Гликемия натощак, ммоль/л	4,62±0,46	4,53±0,32	4,9±0,29	10,11±0,45*	9,11±0,53*
Гликемия через 2 ч. после нагрузки, ммоль/л	5,21±0,3	5,027±0,32	8,83±0,47*	14,52±0,5**	13,9±0,46**
HbA _{1c} %	4,47±0,3	5,94±0,3*	6,98±0,4*	8,16±0,32**	8,08±0,5*
ИРИ, мЕД/мл	10,06±0,52	29,18±0,64*	40,75±0,74*	12,844±1,86	11,31±0,9
С-пептид, нг/мл	662,88±33,56	1233±122*	959,43±46*	243,17±31,2*	484,559±33*
НОМА, абс. ед.	2,052±0,1	5,7±0,28*	8,9±0,07*	—	3,89±0,5*
Общий холестерин, ммоль/л	4,08±0,14	5,18±0,21*	5,75±0,16*	5,12±0,2*	6,29±0,23*
Триглицериды, ммоль/л	0,96±0,032	2,42±0,04*	1,09±0,037*	2,64±0,04**	2,246±0,05*
ЛПВП, ммоль/л	1,48±0,045	0,93±0,04*	1,07±0,04*	0,86±0,03*	0,81±0,04*
ЛПНП, ммоль/л	1,58±0,14	3,08±0,2*	3,03±0,2*	3,97±0,3**	4,03±0,4*
β-ЛП, ммоль/л	0,373±0,017	0,51±0,02*	0,45±0,02*	0,69±0,03*	0,748±0,05*
Коэффициент атерогенности, ед.	1,75±0,09	4,569±0,1*	4,37±0,1*	4,95±0,2*	6,76±0,12*
Активность салидазы эритроцитов, мкгсалик-т/мл/час	8,81±0,53	42,72±5,3*	48,06±5,1*	117,48±11,21*	128,16±9,08*
Уровень СМОА, мг нитритов и нитратов/мл	48±2,4	33,8±2,7*	32,1±2,3*	25,4±2,1*	24,8±1,9*

Примечание: *при $p < 0,05$ по отношению к показателям здоровых лиц.

и соавт.: (ИРИ натощак)×(гликемия натощак)/22,5. Пациенты распределены на группы с СД1, СД2, ожирением, НТГ, согласно [17], последние две группы в тексте определены как метаболический синдром. Статистическая обработка данных проведена с помощью пакета программ Excel методом вариационной статистики с вычислением $M \pm m$ и определением достоверности по критерию Стьюдента при $p < 0,05$, а также расчета корреляции по [18].

Результаты и их обсуждение

Клиническая характеристика обследованных лиц и биохимические показатели приведены в таблице 1. Различия в возрасте у лиц с ожирением, НТГ, СД2 по сравнению с группами здоровых лиц и СД1 связаны со временем манифестации этих заболеваний. ИМТ был достоверно повышен в группе лиц с ожирением и НТГ по сравнению с группой здоровых лиц в 1,52 и 1,5 раза соответственно. Гликемия натощак была достоверно высокой в группе больных СД1 и СД2, а гликемия через 2 часа после нагрузки повышалась и у лиц с НТГ (в 1,69 раз), в то время как уровень HbA_{1c} был повышенным при СД1 и СД2, у лиц с НТГ (в 1,56 раз) и у лиц с ожирением (в 1,329 раз) по сравнению с группой здоровых лиц. Уровень ИРИ и С-пептида натощак был достоверно повышен у лиц с ожирением и НТГ, а у больных СД1 и СД2 их уровень был сниженным, что указывает на наличие недостаточности функциональной активности β-клеток у этих лиц и согласуется с данными литературы [19]. Индекс НОМА был повышен в группе лиц с ожирением, НТГ, СД2 и свидетельствовал о наличии инсулинорезистентности у этих лиц.

Сравнительный анализ результатов показал, что у больных с нарастанием тяжести нарушений углеводного обмена нарастает величина индекса НОМА, снижается уровень С-пептида в крови, а также постепенно снижается уровень СМОА, что свидетельствует о взаимосвязи этих нарушений, отражающих различные стороны единого патологического процесса.

Уровни ОХ, ТГ, ЛПНП и коэффициент атерогенности были достоверно высокими, а уровень ЛПВП был достоверно снижен во всех группах по сравнению с показателями здоровых лиц, что указывает на присутствие выраженной дислипидемии и высокого риска атеросклероза.

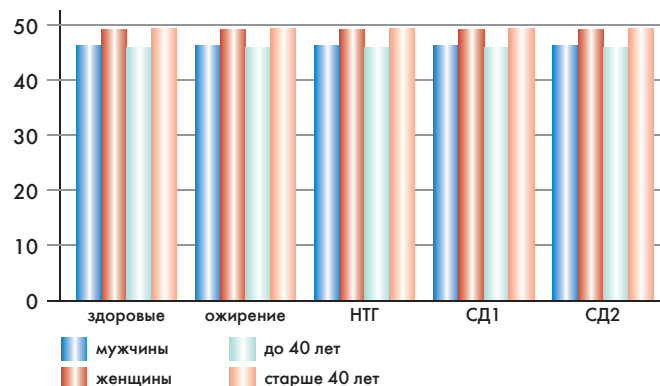


Рис. 1. Уровень СМОА в зависимости от пола и возраста обследуемых лиц (в мг нитритов и нитратов в мл)

Результаты показали достоверное снижение уровня СМОА крови у больных СД1 (в 1,89 раз) и СД2 (в 1,93 раз), у лиц с ожирением (в 1,42 раз), НТГ (в 1,49 раза) по сравнению со здоровыми лицами (табл. 1), что указывает на дефицит оксида азота и дисфункцию эндотелия у этих лиц и согласуется с данными литературы [7, 15].

Анализ уровня СМОА в зависимости от пола (мужчины, женщины) и возраста (до 40 лет, старше 40 лет) обследуемых лиц не выявил достоверных различий (рис. 1), что указывает на ведущую роль метаболических нарушений в развитии ДЭ.

Для выяснения связи СМОА с гликемией проведен корреляционный анализ, результаты которого показали наличие высокой корреляционной связи при СД1 ($r = -0,76$), более выраженной при декомпенсации; при СД2 эта связь была недостоверной, что, на наш взгляд, связано с различием патогенеза и манифестации факторов ДЭ при СД1 и СД2: при СД2 эти факторы присутствуют еще на стадии метаболического синдрома. Полученные нами данные согласуются с данными литературы [9, 20].

Анализ результатов выявил корреляцию между показателями СМОА и липидов ОХ, βЛП, ТГ у больных СД2 ($r = -0,54$, $r = -0,46$, $r = -0,4$), при ожирении ($r = -0,32$, $r = -0,4$, $r = -0,48$), НТГ ($r = -0,5$, $r = -0,42$, $r = -0,44$ соответственно), что свидетельствует о тесной взаимосвязи гиперлипидемии и ДЭ. При этом отрицательная корреляция наблюдается

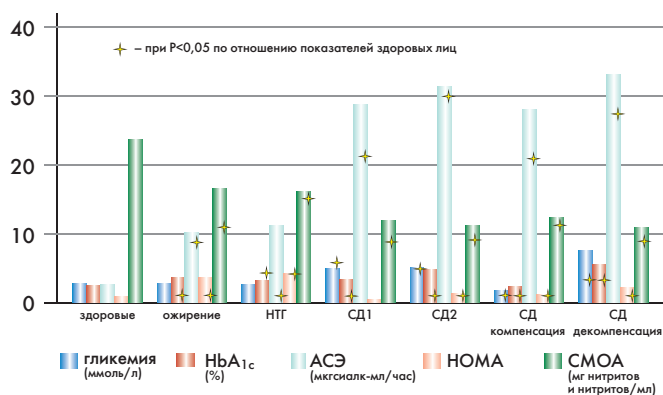


Рис. 2. Уровень гликемии HbA_{1c}, ACЭ, НОМА, СМОА у обследованных лиц

на всех этапах метаболического синдрома — у лиц с ожирением, НТГ, СД2.

Сиалидаза — нейраминидаза, гидролитический фермент, отщепляющий концевые производные сиаловых кислот сложных белковых и липидных молекул в основном на поверхности клеток. Показано нарушение активности фермента при многих заболеваниях [21, 22, 23, 24]. Активность фермента зависит от многих факторов, в том числе и pH крови, который при СД изменяется в кислую сторону из-за метаболического ацидоза, гипоксии в результате относительного и/или абсолютного дефицита инсулина [23, 24].

Как показано многими авторами, содержание сиаловых кислот отражается на структурно-функциональном состоянии плазматических мембран клеток [17, 21, 22, 25]. ACЭ была повышенной у всех обследуемых лиц, что указывает на выраженные структурно-функциональные нарушения на поверхности мембраны клеток и согласуется с данными литературы и предыдущими результатами [4, 5]. Повышение ACЭ на ранних этапах метаболического синдрома, при ожирении, НТГ показано многими авторами [23, 26].

Сравнительный анализ результатов позволил установить, что уровень гликемии, HbA_{1c}, ACЭ, НОМА были достоверно повышены у больных СД (рис. 2), а уровень СМОА был достоверно низким в группах пациентов с ожирением, НТГ, СД1 и СД2 по сравнению с таковыми у здоровых лиц. Изменение этих показателей нарастало у обследованных лиц в зависимости от тяжести метаболических нарушений.

Исследование этих показателей при СД в зависимости от степени компенсации показало, что уровень СМОА в плазме крови был снижен у всех больных, более выражено — при декомпенсации диабета. Низкий уровень СМОА у больных

СД при компенсации свидетельствует о присутствии ДЭ даже при компенсации диабета и согласуется с высокой активностью сиалидазы эритроцитов.

СМОА — конечные метаболиты оксида азота, являющиеся продуктом эндотелия сосудов. Снижение его уровня показано при многих патологических состояниях [1, 25]. Синтез оксида азота регулируется многими факторами, такими как гипоксия, ишемия, гиперлипидемия, перикисное окисление липидов (ПОЛ), гипергликемия [2, 7, 8, 25]. Зависимость показателей уровня СМОА от ACЭ еще на ранних стадиях — при ожирении, НТГ, СД — свидетельствует о взаимосвязи ДЭ со степенью структурно-функциональных нарушений на поверхности мембран клеток, показывает их диагностическую значимость при ожирении, НТГ, когда еще нет явной гипергликемии, что согласуется с данными литературы [3, 22, 26].

Результаты показали взаимосвязь повышения ACЭ и снижения уровня СМОА на ранних этапах метаболического синдрома — при ожирении, НТГ, где наряду с гиперлипидемией, усилением ПОЛ присутствует и инсулинорезистентность, которая, по данным ряда авторов, является фактором ДЭ [22]. Взаимосвязь этих показателей можно объяснить, с одной стороны, общностью факторов регуляции, таких как гиперлипидемия, усиление ПОЛ, метаболический ацидоз, гипоксия, ишемия, а также инсулинорезистентность; а с другой стороны, эти показатели являются отражением функциональных и структурных нарушений клеток тканей [3, 5, 7, 17, 21, 22, 23, 24, 25] — в нашем случае эндотелия сосудов и мембран эритроцитов.

Исследование поглощения глюкозы, ACЭ и уровня СМОА у больных СД1 и СД2 с ДН показали их зависимость от наличия и тяжести поражения почек (рис. 3). Несмотря на различия этиологии СД1 и СД2, наблюдается схожесть изменений ПГЭ, ACЭ, СМОА и их согласованность в зависимости от наличия и тяжести осложнений диабета при обоих типах заболевания.

Результаты авторов [9] показали, что развитие макро- и микроангиопатий у больных СД2 происходит задолго до манифестации и постановки диагноза СД, а при СД1 — только после манифестации заболевания, уже в присутствии гипергликемии. Сопоставление этих данных с результатами ПГЭ, ACЭ, СМОА позволяет выявить различия значимости их определения при СД1 и СД2 последовательностью проявления показателей повреждения ткани, а также ДЭ, рассматриваемой как один из ведущих факторов развития осложнений диабета.

Сведения литературы и собственные данные позволяют полагать, что ДЭ различается при СД1 и СД2 по времени и факторам. Кроме того, ДЭ принимает участие в развитии тканевого повреждения и осложнений диабета, которые при СД2 часто регистрируются до постановки диагноза, а при СД1 — только после явной гипергликемии [9, 15, 26]. Вышеприведенные данные показывают необходимость раннего выявления этих повреждений и проведения мер по профилактике развития и прогрессирования их у лиц с ожирением, НТГ.

Выводы

1. Уровень СМОА снижен при ожирении и НТГ, СД1 и СД2, имеет взаимосвязь с гликемией, наличием и тяжестью ДН, уровнем липидов крови, индексом НОМА, не имеет зависимости от возраста и пола обследуемых лиц.

2. Уровень СМОА имеет зависимость от ACЭ, отражая разные стороны повреждения тканей, имеет диагностическое значение еще на ранних стадиях развития как метаболического синдрома — при ожирении и НТГ, так и СД.

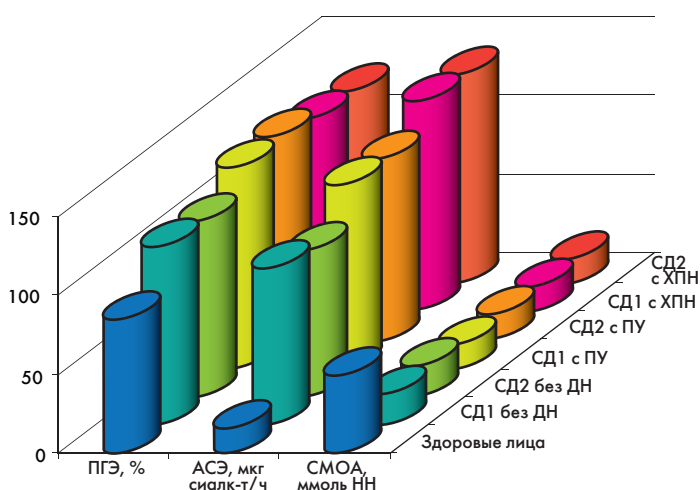


Рис. 3. Зависимость ПГЭ, ACЭ, СМОА от наличия и тяжести ДН при СД1 и СД2

Литература

1. Аляви А.Л., Розиходжаева Г.А. Дисфункция эндотелия: патогенез, возможности коррекции у больных ишемической болезнью сердца пожилого и старческого возраста. Руководство для врачей. Ташкент, 2005, 68 с.
2. Blann A.D., Woywodt A., Bertolini F., Bull T.M., Buyon J.P., Clancy R.M. et al. Circulating endothelial cells. Biomarker of vascular disease // *Thromb Haemost* 2005; 93: P. 228–235.
3. Bhagat K., Vallance P. Effects of cytokines on nitric oxide pathways in human vasculature. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 1999. 8 :P. 89–96.
4. Lusher T.F., Barton M. Biology of the endothelium // *Clin. Cardiol*, 1997; 10 (suppl 11), II - 3-II-10.
5. Maeda H., Akaike T., Yoshida M., Sato K., Noguchi Y. (1995) in *The Role of Nitric Oxide in Physiology and Pathophysiology* (Koprowski H., and Maeda H., eds.) Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, P. 37–50.
6. Vane J.R., Anggard E.E., Battling R.M. Regulatory functions of the vascular endothelium // *New England Journal of Medicine*, 1990: 323: P. 27–36.
7. Hink Ulrich, Huige Li, Hanke Mollnau, Mathias Oelze, Edi Matheis, Mark Hartmann, Mikhail Skatchkov, Friedrich Thaiss, Rolf A. K. Stahl, Ascan Warnholtz, Thomas Meinertz, Kathy Griendling, David G. Harrison, Ulrich Forstermann, Thomas Munzel. Mechanisms Underlying Endothelial Dysfunction in Diabetes Mellitus // *Circulation Research*. 2001;88:e14.
8. Mather Kieren J., Mirzamohammadi Bahram, Lteif Amale, Steinberg Helmut O., Baron Alain D. Endothelin Contributes to Basal Vascular Tone and Endothelial Dysfunction in Human Obesity and Type 2 Diabetes // *Diabetes*, 2002, 51: P. 3517–3523.
9. Акбаров З.С., Шамансурова З.М., Алиханова Н.М., Каюмова Д., Ахмедова М.Х. Метаболический синдром - как ранний этап развития сахарного диабета // *Проблемы биологии и медицины* 2005, 2, С. 30–33.
10. Alberti G., Zimmet P., Shaw J. Metabolic syndrome – a new world wide definition // *Diab. Met.* 2006, N23, P. 469–480.
11. WHO Technical reports series. Diabetes Mellitus: definition, classification, treatment. Geneva, Switherland, 2002.
12. Данилова Л.А., Лопатина Н.И. Колориметрический метод определения гликозилированных гемоглобинов. // *Лаб.дело.* – 1986. – N5. – С. 281–285.
13. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник. / Под ред. Меньшикова В.В. - М. : Медицина, 1987, 368 с.
14. Алексеев В.Н. Курс качественного химического полумикроанализа. М.: Гохсхимиздат, 1962. – 584 с.
15. Moshage H., Kok B., Huizenga J.R., Jansen P.L.M. (1995) Nitrite and nitrate determinations in plasma: a critical evaluation // *Clin. Chem.* 41, P. 892–896.
16. Shamansurova Z.M., Ergashova M.J., Akbarov Z.S. Erythrocyte sialidase activity increase in patients with diabetes mellitus // *Diabetes Nutr Metab.* 1998;11: P. 257–259.
17. Aminoff D., Bell W.C., Fulton I., Ingebrightsen N. Effect of sialidase on the viability of erythrocytes in circulation // *Am. J. Haematol.* 1976;1: P. 419–432.
18. Мерков А.М., Поляков Л.Е. Санитарная статистика (пособие для врачей). - Л.: Медицина, 1974, 384 с.
19. Porte D.Jr., Kahn S.E. Beta-Cell Dysfunction and Failure in Type 2 Diabetes: Potential Mechanisms // *Diabetes*. 2001;50(suppl 1): S160–S163.
20. Zavaroni I., Platti P.M., Monti L.D., Gasparini P., Barilli L.A., Massironi P., Ardigo D., Valsecchi G., Delsignore R., Reaven G.M. Plasma nitric oxide concentrations are elevated in insulin-resistant healthy subjects // *Metabolism*, 2000 49: P. 959–961.
21. Crook M.A., Picup J.C., Lumb P.J., Georgino F., Webb D.J., Fuller J.H. The Eurodiab Complications Study. Relationship Between plasma sialic acid concentration and microvascular and macrovascular complications in type I Diabetes // *Diabetes Care*, 2001, 24: P. 316–322.
22. Meuillet E.J., Kroes R., Yamamoto Hirotaka, Warner Thomas G., Ferrari Jeffry, Mania-Farnell Barbara, George David, Rebbaa Abdelhadi, Moskal Joseph R. and Bremer2 Eric G. Sialidase Gene Transfection Enhances Epidermal Growth Factor Receptor Activity in an Epidermoid Carcinoma Cell Line, A43. // *Cancer Research* 59, P. 234–240, January 1, 1999.
23. Salhanick A.I., Amatruda J.M. Role of sialic acid in insulin action and the insulin resistance of diabetes mellitus // *Am J Physiol.* 1988; 255: P. 173–179.
24. Schauer R. Chemistry, metabolism and biological functions of sialic acid // *Adv Carbohydr Chem Biochem.* 1982;40: P. 131–143.
25. Jancik J., Schauer R. Sialic acid a determinant of the life-time of rabbit erythrocytes // *Hoppe Seylers Z Physiol Chem.* 1974; P. 335: P. 395–401.
26. Krebs J.D., Browning L.M., Cooke J.H., O'Connell M.A., Mishra G.D., Jebb S.A.; MRC Human Nutrition Research, Cambridge, United Kingdom. Elevated sialic acid predicts features of the metabolic syndrome // *EASD* 2002, P. 41.
27. Lash J.M., Nase G.P., and Bohlen H.G. Acute hyperglycemia depresses arteriolar NO formation in skeletal muscle // *Am J. Physiol Heart Circ Physiol*, 1999, 277: P. 1513–1520.

Шамансурова Зулайхо Муралимжановна

старший научный сотрудник НИИ Эндокринологии МЗ РУз, Ташкент
E-mail: shamansurova@yahoo.com