

# 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 получено 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-гидроксиноненалу и малоновому диальдегиду — МДА) или при автоокислении глюкозы в условиях гипергликемии (подобные глиоксалу, метилглиоксалу и 3-деоксиглюкозону) [15, 16]. Эти  $\alpha$ -оксоальдегиды являются чрезвычайно активными соединениями, способными гликировать различные белки, включая апопротеины ЛПНП [7]. Поскольку модификация ЛПНП, индуцируемая неферментным гликозилированием,

может повышать их атерогенность, 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 сульфонилмочевинны (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±m) |                    |                                       |             |                                             |             |
|----------------------------------------------------|--------------------|---------------------------------------|-------------|---------------------------------------------|-------------|
| Показатель                                         | Контрольная группа | Пациенты на ПСМ (n=30)<br>м/ж – 15/15 |             | Пациенты на Глюкофаже (n=40)<br>м/ж – 16/24 |             |
|                                                    |                    | декомпенсация                         | компенсация | декомпенсация                               | компенсация |
| Возраст, лет                                       | 56,3±1,8           | 56,9±9,9                              |             | 56,2±8,5                                    |             |
| ИМТ, кг/м <sup>2</sup>                             | 26,9±0,4           | 29,7±3,4                              |             | 33,3±6,3                                    |             |
| Длительность СД, лет                               | -                  | 5,5±0,64                              |             | 0-0,5                                       |             |
| Нб А1с, %                                          | 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, ммоль/л                              | 0,9±0,042          | 2,4±0,22                              | 2,0±0,31*   | 2,4±0,22                                    | 1,9±0,20*   |
| ЛПВП, ммоль/л                                      | 2,8±0,11           | 1,05±0,04                             | 1,07±0,08   | 0,88±0,04                                   | 0,91±0,05   |
| ЛПНП ммоль/л<br>(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±m) |                                           |                           |                                    |                                  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| Исследуемые параметры                                                                                                | Декомпенсированные пациенты на ПСМ (n=30) | Компенсация на ПСМ (n=30) | Декомпенсированные пациенты (n=40) | Компенсация на метформине (n=40) |
| НбА1с, %                                                                                                             | 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, т, 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;

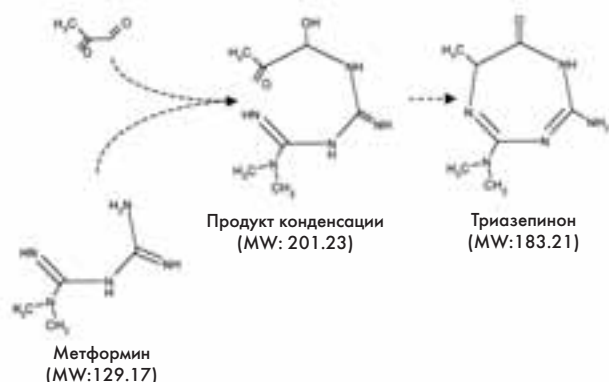
° p > 0,1; °° p > 0,01 – достоверность исходных различий между сравниваемыми группами;

• 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 (НбА1с), содержание первичных (липогидропероксиды) и вторичных (МДА) продуктов свободнорадикального окисления липидов в ЛПНП, а также активность ключевых антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутаза и глутатионпероксидаза) в эритроцитах. Уровень НбА1с 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<sup>2+</sup>-ксиленолоранжа [4]. Окисление ЛПНП инициировали при 37° введением 30 мкмоль CuSO<sub>4</sub>, 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-супероксиддисмутаза 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.

Метилглиоксаль (MW:72.06)



Реакция метформина с метилглиоксальем: синтез триазепинона.  
(По P. Beisswenger // 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 исследованных 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  $\text{Cu}^{2+}$ -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. Ruggiero-Lopez [18] продемонстрировали способность метформина связывать  $\alpha$ -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 экскретируется 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 метилглиоксала [8], инициирующей 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 Р. 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. Доборджинидзе 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. Glycooxidation 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 methylglyoxal from triose phosphates. Investigation using a specific assay for methylglyoxal. // Eur J Biochem,1993,212,101-105.
16. Richard JP. Mechanism for formation of methylglyoxal 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. 1), 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.