

ФУНКЦИЯ ЭНДОГЕННЫХ ЗАЩИТНЫХ СИСТЕМ У БОЛЬНЫХ ИНСУЛИНЗАВИСИМЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ И ПОЛИНЕЙРОПАТИЕЙ: ВЛИЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ ТЕРАПИИ

Бутахонов Ф. Т

Камалова Н. Л

Ибрагимова Г.Ш

Андижанский Государственный Медицинский Институт, Узбекистан

<https://doi.org/10.5281/zenodo.7311415>

Аннотация. *α-липоевая кислота является очень эффективным антиоксидантом для лечения и профилактики диабетической невропатии. Целью настоящего исследования была оценка функции оксида азота (NO) и белки стресса (HSP72) при инсулинозависимом диабете, осложненном полиневропатией, и возможный вклад этих систем в терапевтические эффекты α-липоевой кислоты. Содержание нитритов и нитратов в плазме крови у больных сахарным диабетом было почти в 2 раза ниже нормы. Лечение α-липоевой кислотой полностью нормализовало содержание в плазме этих стабильных метаболитов NO. У большинства пациентов также был низкий уровень HSP72. Положительные клинические эффекты α-липоевой кислоты сопровождалась нормализацией синтеза HSP72. Таким образом, активация защитные системы NO и HSP участвуют в терапевтическом действии α-липоевой кислоты у больных сахарным диабетом (сахарный диабет I типа) с полиневропатией.*

Ключевые слова: сахарный диабет; диабетическая полиневропатия; α-липоевая кислота; антиоксидант; оксид азота; белки стресса.

FUNCTION OF ENDOGENOUS IMMUNE SYSTEMS IN PATIENTS WITH INSULIN-DEPENDENT DIABETES AND POLYNEUROPATHY: EFFECT OF ANTIOXIDANT THERAPY

Abstract. *α-lipoic acid is a very effective antioxidant for the treatment and prevention of diabetic neuropathy. The aim of this study was to evaluate the function of nitric oxide (NO) and stress proteins (HSP72) in insulin-dependent diabetes complicated by polyneuropathy and the contribution of these systems to the therapeutic effects of α-lipoic acid. In patients with diabetes, the amount of nitrite and nitrate in the blood plasma was almost 2 times lower than the norm. Treatment with α-lipoic acid completely normalized the plasma levels of these stable metabolites. Many patients also had low levels of hsp72. The positive clinical effect of α-lipoic acid was accompanied by the normalization of the synthesis of hsp72. Thus, the activation of no and HSP defense systems is involved in the therapeutic effect of α-lipoic acid in patients with diabetes mellitus (type 1 diabetes mellitus) with polyneuropathy is enough.*

Key words: diabetes; diabetic polyneuropathy; α-lipoic acid; antioxidant; nitrogen oxide; stress proteins.

Окислительный стресс, связанный с перепроизводством свободных радикалов, играет важную роль в развитии осложнений диабета, включая диабетическую невропатию (ДН) [3,5]. Дефицит систем антиоксидантной защиты у пациентов с сахарным диабетом (СД) повышает уязвимость клеток к окислительному повреждению [3]. Поэтому антиоксиданты, улавливающие свободные радикалы, успешно применяются для лечения и профилактики ДН. α-липоевая кислота (α-ЛК), липофильная ловушка свободных

радикалов [2], является очень эффективным антиоксидантом. Однако не все ингибиторы свободнорадикального окисления столь эффективны, как α -ЛК [14], что позволяет предположить, что молекулярные механизмы действия α -ЛК включают не только его антирадикальную активность. При рассмотрении возможных мишеней для препаратов с широким спектром защитных свойств следует учитывать, что помимо повреждения клеток, опосредованного свободными радикалами, СД характеризуется сложной дисфункцией эндогенных защитных систем и апоптозом. Оксид азота (NO) относится к наиболее универсальным защитным системам и играет важную роль в регуляции различных процессов в организме. Экспериментальные и клинические исследования подтвердили роль нарушенного метаболизма NO в развитии осложнений диабета [13].

Поскольку NO является короткоживущей молекулой, его защитные свойства связаны не только с его прямыми эффектами, но и с активируемыми NO эндогенными защитными системами. В частности, NO-зависимое повышение устойчивости к окислительному стрессу и апоптозу можно объяснить усиленным синтезом белков стресса HSP72 [11,12]. Накапливаются доказательства того, что эти белки играют защитную роль при СД [8]. В свете этого особый интерес представляет анализ взаимодействий между NO и стрессовыми белками.

Целью настоящего исследования было оценить состояние системы NO/HSP72 при инсулинозависимом СД с полиневропатией и ее вклад в терапевтический эффект α -ЛК.

Материалы и методы

В исследование были включены 16 пациентов (7 мужчин и 9 женщин, 16-50 лет, средний возраст $32,3 \pm 2,1$) с компенсированным СД (средний уровень HbA1c $9,10 \pm 0,25\%$). Тяжесть СД составила $7,0 \pm 0,7$ и $8,0 \pm 0,5$ шкалы СДН соответственно [2]. В дополнение к клиническому обследованию функция периферических нервов была проверена с помощью электромиографии. Контрольную группу составили 10 здоровых добровольцев (2 мужчины и 8 женщин, 25-31 год, средний возраст $27,6 \pm 1,1$).

Только у пациентов с СД без гиперлипидемии, артериальной В исследование были включены гипертония и воспалительные заболевания. За четыре дня до сдачи анализов крови пациенты придерживались диеты, исключающей пищу, возможно, содержащую нитриты или нитраты. Интенсивные физические упражнения и лекарственные препараты, кроме инсулина, также были исключены.

Пациенты были обследованы до начала лечения, после 20-дневного периода внутривенных вливаний и после завершения курса (40 дней).

α -ЛК (тиоктацид, Asta Medica) вводили внутривенно в течение 30 мин в дозе 600 мг в 200 мл физиологического раствора. Капельницу поставили в 11.00 утра, через 2 часа после первого завтрака. Курс внутривенного введения длился 3 недели с инфузиями только в рабочие дни, в то время как в выходные пациенты получали Таблетки тиоктацида (600 мг, за 30 мин до завтрака). В течение следующих 20 дней (21-40 дней) пациенты получали 600 мг тиоктацида ежедневно утром.

Выработку NO оценивали путем измерения общей концентрации нитритов и нитратов в плазме крови. Образцы крови центрифугировали при 3000g в течение 15 мин без охлаждения и депротеинизировали ZnSO₄ (1:20 в/в, 300 г/литр). Нитраты надосадочной жидкости восстанавливали до нитритов с помощью реакторов-нитризаторов в 0,5 мл

NH₄ OH-буфер (рН 9,0), концентрацию нитритов в аликвотах плазмы определяли спектрофотометрически при 540 нм с использованием реакции Грисса.

Содержание HSP72 в лейкоцитах периферической крови здоровых добровольцев и больных сахарным диабетом определяли методом вестерн-блот-анализа. После лизиса клеток в буфере, содержащем 1% Nonidet P-40, 150 мм NaCl, 10 мм ЭДТА и 100 мм Трис-HCl (рН 8,0) и электрофореза в 12% ПААГ, белки были переношены на мембрану в соответствии с инструкциями BIORAD, и мембрану инкубировали с моноклональными антителами к HSP72 (SPA-810, Stree Gen Biotechnologies), разведенный 1:1000 (15 ч), а затем антителами мышиной сыворотки, конъюгированными с пероксидазой хрена (NA-931, BIO-RAD). Антитела визуализировали с помощью диаминобензидина.

Данные были проанализированы статистически с использованием t-критерия Стьюдента и точного вероятностного критерия Фишера.

Результаты

Лечение α -ЛК значительно уменьшало как клинические, так и электрофизиологические проявления полиневропатии (баллы TSS/DMN и показатели ЭМГ).

До начала лечения общая концентрация нитритов и нитратов в плазме крови у пациентов была почти в 2 раза ниже, чем у здоровых добровольцев. После внутривенного курса концентрация стабильных метаболитов NO в плазме крови вернулась к норме и оставалась на том же уровне после перорального лечения тиоктацидом. Девять из 16 пациентов имели чрезвычайно низкие уровни HSP72 (рис. 2, верхний и нижний ряды). Другими словами, СД сопровождался значительным ингибированием синтеза HSP72 в клетках крови. Положительный клинический эффект α -ЛК сопровождался нормализацией синтеза HSP72. У 6 пациентов содержание HSP72 увеличилось до нормы после внутривенного курса и оставалось на этом уровне на протяжении всего лечения. У 7 пациентов исходные показатели HSP72 находились в пределах нормы и не изменялись во время лечения. У 3 пациентов с исходно низкими уровнями HSP72 положительных эффектов отмечено не было.

Вывод. Таким образом, у большинства пациентов изначально были низкие уровни метаболитов NO в плазме крови и содержание HSP в клетках крови. Лечение α -ЛК значительно увеличило долю пациентов с нормальными уровнями NO и HSP. Следовательно, терапевтический эффект α -ЛК у пациентов с СД с полиневропатией опосредован активацией эндогенных систем NO и HSP. Основным выводом этого исследования является то, что положительный эффект α -ЛК при диабетической невропатии сопровождается выраженным улучшением функционирования системы NO/HSP. Было интересно обсудить возможные механизмы и последствия активированного синтеза NO и HSP для развития диабетической невропатии и сахарного диабета.

REFERENCES

1. И. Ю. Малышев и Е. Б. Манухина, Биохимия, 63, № 7, 992-1006 (1998).
2. И. А. Строков, Н. А. Козлова, Ю. В. Мозолевский и др., Ж. Невропатол. Психиатр., 99, № 6, 18-22 (1999).
3. Антиоксиданты в лечении диабета, ред. Л. Пэкер и соавт., N. Y. (2000).

4. М. С. Битар, Т. Фарук, Б. Джон и др., Хирургия, 125, 594-601 (1999).
5. Н. Э. Камерон и М. А. Коттер, Диабет, 46, Дополнение 2, S31-S37 (1997).
6. С. Диммлер и А. М. Зейхер, Оксид азота, Том 1, стр. 275-281 (1997).
7. Д. Л. Файнштейн, Э. Галеа, Д. Акино и др., Дж. Биол. Химия, 271, 17724-17732 (1996).
8. Д. П. Фунда, М. Л. Хартофт-Нильсен, А. Каас и др., APMIS, 106, 1009-1016 (1998).
9. А. Джек, М. А. Коттер и Н.Э. Камерон, Диабет, 41, A54 (1998).
10. М. Хамаиси, А. Рудич, Р. Поташник, Х. Дж. Тричлер и др., Метаболизм, 48, 504-510 (1999).
11. Д. С. Латчман, Int. J. Mol. Med., 2, 375-381 (1998).
12. И. Ю. Малышев, Е. Б. Манухина, В. Д. Микоян и др., Февральский выпуск, 370, 159-162 (1995).
13. Дж. Марин и М. А. Родригес-Мартинес, Фармакол. Тер., 75, 111-134 (1997).
14. А. М. Палмер, К. Р. Томас, Н. Гопол и др., Диабетология, 41, 148-156 (1998).
15. У. Шеррер и К. Сартори, Eur. J. Эндокринолог., 142, 315-323 (2000).
16. У. Шеррер и К. Сартори, Eur. J. Эндокринолог., 142, 315-323 (2000).
17. (2000).