

## КЛИНИКА И ФАРМАКОТЕРАПИЯ

### НОВЫЕ СТРАТЕГИИ АНГИОПРОТЕКТИВНОЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА И АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

Аметов А.С., Демидова Т.Ю., Косых С.А.

Кафедра эндокринологии и диабетологии РМАПО МЗ РФ, Москва, Россия

#### Резюме

*У 30 больных сахарным диабетом 2 типа, ассоциированным с мягкой и умеренной формами артериальной гипертензии, в течение 16 недель оценивалась гипотензивная и противоишемическая эффективность нового кардиоселективного β-блокатора третьего поколения небиволола (небилет) с NO-модулирующей активностью и его влияние на состояние эндогенных протекторных систем (NO, белков теплового шока HSP 70) в дозах 2,5-5-10 мг/сут. По результатам исследования на фоне 16 недель монотерапии небивололом отмечались достоверные гипотензивный и противоишемический эффекты препарата, увеличение секреции оксида азота эндотелием сосудов и, как следствие, увеличение синтеза белков теплового шока HSP 70.*

**Ключевые слова:** небиволол, сахарный диабет 2 типа, оксид азота, белки теплового шока HSP 70.

Артериальная гипертензия (АГ) встречается примерно у 80% больных сахарным диабетом (СД) 2 типа. Наличие АГ увеличивает риск сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности у данной группы больных в 2-3 раза по сравнению с пациентами без диабета [1].

В изучении патогенеза артериальной гипертензии основное внимание исследователей традиционно обращено на изучение повреждающих факторов, таких как ангиотензин-2, эндотелин, свободные радикалы и др. Однако в последние годы сформировалось новое перспективное направление фундаментальных исследований, основанное на изучении эндогенных цитопротекторных механизмов, в частности, системы оксида азота (NO) – стресс-белков семейства HSP70.

Оксид азота, вследствие своих ауто- и паракринных функций, является универсальным ангиопротективным веществом, который регулирует периферическое сопротивление, АД и распределение кровотока в сосудистой сети. Помимо механизма, опосредованного активацией растворимой цГМФ, NO также регулирует базальный тонус системных, коронарных и легочных сосудов за счет ингибирования синтеза эндотелиального констрикторного фактора эндотелина-1 и ограничения высвобождения норадреналина из симпатических нервных окончаний [2, 3, 4, 5]. NO оказывает прямое отрицательное инотропное действие на сократимость миокарда, а также регулирует реакцию кардиомиоцитов на адренергические стимулы [6,7]. NO тормозит пролиферацию гладкомышечных клеток, за счет чего оказывает антиатеросклеротическое действие, поскольку замедляет образование неоинтимы и утолщение стенок сосудов при гиперхолестеринемии [8]. NO обладает противовоспалительными свойствами, связанными с его способ-

ностью ингибировать синтез и экспрессию цитокинов и молекул адгезии, которые привлекают моноциты к эндотелиальной поверхности и облегчают их проникновение в сосудистую стенку, инициируя атеросклеротический процесс. NO тормозит агрегацию и адгезию тромбоцитов [9]. Наконец, NO влияет на активность эндогенных защитных систем – простагландинов, антиоксидантов и белков теплового шока семейства HSP70.

В организме NO синтезируется из L-аргинина тремя основными изоформами NO-синтазы: двумя конститутивными – нейрональной (nNOS) и эндотелиальной (eNOS) и одной индуцибельной (iNOS). Конститутивные изоформы синтезируют NO в сравнительно небольших количествах в течение нескольких секунд после поступления стимула [2]. Наиболее важными физиологическими стимулами, активирующими конститутивные NOS, являются изменения концентрации внутриклеточного кальция, кислорода и напряжения сдвига, т.е. смещения крови по отношению к эндотелиальным клеткам. В отличие от конститутивных изоформ iNOS не присутствует постоянно в клетках, а синтезируется при патологических состояниях, продуцируя NO в течение длительного времени в количествах, в тысячи раз превышающих продукцию NO в норме. В норме основная роль в регуляции сердечно-сосудистой системы, принадлежит eNOS.

В биологических системах NO представляет собой очень нестабильное соединение. В клеточных структурах NO быстро превращается в ион нитрита ( $\text{NO}_2^-$ ), но в присутствии гемового  $\text{Fe}^{2+}$  и некоторых других переходных металлов  $\text{NO}_2^-$  превращается в более стабильный ион нитрата ( $\text{NO}_3^-$ ). В условиях организма в качестве метаболитов NO преобладают нит-

раты. Суммарная оценка нитратов и нитритов (после их восстановления до нитратов) является общепринятым методом оценки общего синтеза NO в биологических средах [2]. Поскольку NO является «короткоживущей» молекулой, многие защитные свойства NO связаны не только с прямым его действием, но и с NO-активируемыми эндогенными протекторными системами, в частности – с NO-зависимой активацией синтеза стресс-белков семейства HSP70.

HSP70 представляет собой важное звено клеточной системы репарации, действие которой направлено на защиту процессов биосинтеза и структурной целостности белков в поврежденной клетке. Защитное действие HSP70 реализуется их способностью диссоциировать аномальные белок-белковые агрегаты, облегчать ренатурацию денатурированных белков, ограничивать продукцию NO и препятствовать передаче апоптотического сигнала с экстраклеточных рецепторов и митохондрий [10].

При исследовании цитопротективной роли HSP в процессе повреждения сердечно-сосудистой системы, наиболее ранние работы принадлежат Currie R.W. в ходе которых были получены данные, свидетельствующие об увеличении синтеза HSP 70 при ишемическом или тепловом повреждении сердца [11]. В своих последующих работах Currie R.W. показал, что сердца предварительно «прогретых» крыс, в которых происходила заблаговременная индукция синтеза HSP 70, обладают повышенной устойчивостью к ишемическим и реперфузионным повреждениям [12]. Затем аналогичные данные были получены при ишемическом preconditionировании сердца, которое снижало размер области инфаркта при последующем тепловом шоке и защищало от тяжелой ишемии [13,14]. Кроме того, была выявлена корреляция между количеством накопленного HSP 70 и устойчивостью ткани к повреждению. Heads R.J. и соавт. в своих исследованиях продемонстрировали, что кардиомиобласты H9c2, первичная культура кардиомиоцитов и эндотелиальные клетки, трансфицированные постоянно экспрессирующимся геном HSP 70, обладали большей устойчивостью к повреждающим воздействиям, чем обычные клетки [15].

Данные исследований последних лет показали, что оценка состояния системы NO-HSP70 является весьма информативным критерием прогноза инфаркта миокарда [16] и осложнений сахарного диабета [17]. Кроме того, оказалось, что изменение активности этой эндогенной системы может отражать эффективность проводимого лечения и может быть использована для подбора адекватной лекарственной терапии [17].

Целью исследования было оценить ангиопротективные возможности нового кардиоселективного β-

блокатора третьего поколения небиволола (небилет) с NO-модулирующей активностью у больных СД 2 типа, ассоциированного с артериальной гипертензией.

### Материал и методы

В исследование были включены 30 больных (5 мужчин и 25 женщин) СД 2 типа и АГ, средний возраст – 62,97 лет. Длительность СД –  $9,27 \pm 1,54$  лет. Длительность АГ –  $16,57 \pm 1,99$  лет. 24 пациента имели сопутствующую ИБС: стенокардию напряжения I-II функционального класса.

Критериями исключения являлись: тяжелая неконтролируемая артериальная гипертензия (АД > 200/110 мм.рт.ст.), тяжелые заболевания печени, острое нарушение мозгового кровообращения, острый инфаркт миокарда, перенесенные в течение последних 6 месяцев, нестабильная стенокардия, некомпенсированная сердечная недостаточность, наличие терминальных стадий микрососудистых осложнений СД.

Все пациенты, включенные в исследование, имели избыточную массу тела или ожирение (ИМТ –  $35,53 \pm 5,42$  кг/м<sup>2</sup>). Средний уровень систолического АД (сАД офисного) составлял  $171 \pm 2,27$  мм.рт.ст., диастолического АД (дАД офисного) –  $95,83 \pm 0,9$  мм.рт.ст.

Для выявления и оценки степени выраженности ишемии миокарда и уровня АД использовали суточное мониторирование ЭКГ (по методу Холтера) и АД (аппарат Кардиотехника-4000АД – ИНКАРТ, Санкт-Петербург). За эпизоды ишемии миокарда принимались периоды депрессии сегмента ST по ишемическому типу (снижение на 0,1 мВ и более, длительностью не менее 1 минуты). Суточное мониторирование артериального давления (СМАД) проводили по стандартной методике в течение 24-26 часов [18]. Анализировали следующие показатели: средние дневные (д) и ночные (н) значения систолического и диастолического артериального давления, их вариабельность (стандартное отклонение от средней величины), суточный индекс САД и ДАД (разница между средним дневным АД и средним ночным АД, отнесенная к среднему дневному АД и выраженная в процентах), индекс времени дневной и ночной систолической и диастолической гипертензии (процент измерения АД, превышающих 140/90 мм рт.ст. в период бодрствования и 120/80 мм рт.ст. в период сна). Результаты считали достоверными, если при автоматической обработке было исключено не более 20 % измерений.

В зависимости от величины суточного индекса выделяли следующие группы больных: «dipper» (СИ составляет 10-22%), «non-dipper» (СИ менее 10%), «over-dipper» (СИ более 22%), «night-peaker» (СИ имеет отрицательное значение).

Верхними границами нормы вариабельности считали САДд – 15,7 мм рт.ст., ДАДд – 13,1 мм рт.ст., САДн – 15 мм рт.ст., ДАДн – 12,7 мм рт.ст. Вариабельность считали повышенной, если она превышала хотя бы одно из указанных значений.

Концентрацию глюкозы в капиллярной крови определяли глюкозооксидазным методом. Уровень гликозилированного гемоглобина (HbA1c) определяли методом жидкостной катионообменной хроматографии под низким давлением на автоматическом анализаторе «Diasat» фирмы «Bio – Rad» (США). Для коррекции гипергликемии пациенты принимали пероральные сахароснижающие препараты из группы сульфаниламидов или комбинации сульфаниламидов и бигуанидов. Дозы ПССП корректировались на старте и оставались неизменными в течение всего исследования при отсутствии гипогликемических реакций.

Липиды крови (общий холестерин (ОХ), триглицериды (ТГ), ЛПВП) определялись прямым методом. Уровень ЛПНП и ЛПОНП определяли по формуле Фридвальда: ЛПОНП = ТГ/2,2; ЛПНП = ОХ-ЛПВП-ЛПОНП.

Интенсивность свободно-радикального окисления липидов определяли по уровню малонового диальдегида (МДА) в плазме. Исследование проводили спектрофлуорометрическим методом на приборе «Spectrofluorometer-320». Уровень МДА рассчитывали в нмоль на мг белка (метод Лоури).

Всем больным для оценки наличия, распространенности и степени патологических изменений в магистральных сосудах и сердце проводилось дуплексное сканирование сонных артерий в 8 основных сегментах: общая сонная артерия, ее бифуркация, наружная, внутренняя сонные артерии (с обеих сторон).

NO-продуцирующую функцию эндотелия (активность eNOS) косвенно оценивали посредством использования стандартной, предложенной D.Celermajer et al. [19] методики. Методика основана на повышении активности eNOS, вследствие изменения напряжения сдвига на эндотелии в результате механического воздействия. Стимулом, вызывающим эндотелий-зависимую дилатацию (ЭЗВД) плечевой артерии, являлось временное прекращение кровотока в конечности. Повышение синтеза NO активированной eNOS приводит к вазодилатации. Кроме того, производилось измерение изменений диаметра плечевой артерии в стандартных точках (через 30, 60, 90 секунд после декомпрессии) в периоде реактивной гиперемии (время максимальной вазодилатации) с помощью ультразвуковых сканеров высокого разрешения. В своей работе мы использовали аппарат “Aspen” (Acuson, USA), датчик 3,25 МГц. В качестве модели, на которой производили измерения, использовали плечевую артерию. Нормальной считали реакцию плечевой артерии, при которой увеличение ее диаметра в период реактивной гиперемии приближалось к 10% от исходного уровня (более 8,5%).

ремии приближалось к 10% от исходного уровня (более 8,5%).

С целью оценки общего уровня оксида азота мы определяли суммарное содержание стабильных метаболитов NO – нитритов и нитратов – в плазме спектрофотометрическим методом с использованием реакции Грисса, после стандартной 4-х дневной подготовки пациента.

Содержание HSP 70 в лейкоцитах периферической крови определяли методом вестерн-блот-анализа. Электрофорез проводили в 12% ПААГ, электроэлюцию белков на мембрану – в соответствии с инструкцией фирмы «BIO-RAD». Мембрану последовательно инкубировали с моноклональными антителами против HSP 70 (SPA-810, «СтрессГенБиотехнологиз») в разведении 1:1000 в течение 15 часов и со вторыми антителами против мышинной сыворотки, конъюгированными с пероксидазой хрена (NA-931, «BIO-RAD»). Визуализацию антител осуществляли с помощью диаминобензидина.

Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась с применением программы Excel (7,0) в соответствии с правилами вариационной статистики. Для сравнения данных использовали парный t-тест Стьюдента. Достоверными считали значения при  $p < 0,05$ .

Исследование являлось открытым, последовательным, с титрованием дозы. Перед включением в исследование все больные получали необходимые сведения по самоконтролю гликемии, АД, режиму питания и физических нагрузок – «обучение в школе контроля диабета». За 14 дней до включения в исследование на добровольной основе пациентам отменялись гипотензивные препараты. После выполнения предусмотренных протоколом исследований все больные получали небиволол (небилет, фирма «Берлин Хеми – Менарини Фарма ГмбХ», Германия). Начальная доза небиволола составляла 2,5 мг/сут с последующим увеличением до 5 мг/сут при необходимости (до достижения целевого гипотензивного эффекта). Продолжительность терапии составила 16 недель.

На контрольных визитах (1 раз в месяц) проводился комплексный клинический осмотр больных с определением АД, ЧСС, веса, объема талии и бедер, уровня гликемии натощак, фиксировались возможные гипогликемии, а также любые побочные медицинские события и изменения в сопутствующей медикаментозной терапии. Уровень HbA1c, липиды крови, нитриты плазмы, дуплексное сканирование сосудов определяли 2 раза – на первом и последнем визитах.

#### Результаты исследования

По стратификации сердечно-сосудистого риска отобранные в исследование пациенты характеризовались высокой (20% больных) и очень высокой (80% больных) степенью риска развития сердечно-сосуди-

Таблица 1

Усредненные показатели АД по данным СМАД после лечения небивололом (небилет)

	Результаты		Разность средних величин	Вероятность ошибки (p)
	до лечения	после		
<b>Дневные:</b>				
САД среднее (мм.рт.ст.)	158 ± 12,96	134,6 ± 9,7	23,4	< 0,001*
ДАД среднее (мм.рт.ст.)	95,83 ± 4,89	86,1 ± 4,6	9,73	< 0,001*
Пульсовое АД (мм.рт.ст.)	62,17 ± 8,93	48,5 ± 7,15	13,67	< 0,001*
Вариабельность САД (%)	19,52 ± 8,46	16,71 ± 6,06	2,81	> 0,05
Вариабельность ДАД (%)	10,77 ± 5,55	9,75 ± 5,35	1,02	> 0,05
Индекс времени САД (%)	82,4 ± 10,3	63 ± 7,1	19,4	< 0,001*
Индекс времени ДАД (%)	67,5 ± 7,7	48,9 ± 10,2	18,6	< 0,001*
<b>Ночные</b>				
САД среднее (мм.рт.ст.)	146 ± 8,35	124,8 ± 5,71	21,2	< 0,001*
ДАД среднее (мм.рт.ст.)	87,5 ± 6,86	78,6 ± 7,3	8,9	< 0,001*
Пульсовое АД (мм.рт.ст.)	58,5 ± 7,61	46,2 ± 6,51	12,3	< 0,001*
Вариабельность САД (%)	16,58 ± 7,21	11,12 ± 5,65	5,46	< 0,001*
Вариабельность ДАД (%)	8,26 ± 6,45	7,4 ± 4,89	0,86	> 0,05
Индекс времени САД (%)	79,3 ± 6,1	52,7 ± 8,3	26,6	< 0,001*
Индекс времени ДАД (%)	89,1 ± 8,8	71,4 ± 6,9	17,7	< 0,001*

**Примечание:** \* – статистически достоверные изменения.

дистых осложнений. У больных имела место гиперхолестеринемия – исходный уровень холестерина (ОХ) составлял  $5,62 \pm 0,24$  ммоль/л, гипертриглицеридемия –  $2,78 \pm 0,27$  ммоль/л. Уровень холестерина липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) соответствовал нижней границе нормы  $0,9 \pm 0,04$  ммоль/л. Отмечалось увеличение уровня холестерина липопротеидов низкой плотности (ЛПНП)  $3,56 \pm 0,23$  ммоль/л и липопротеидов очень низкой плотности (ЛПНОП)  $1,21 \pm 0,05$  ммоль/л.

По данным дуплексного сканирования сонных артерий утолщение слоя интима-медиа имели 37% (11 больных), стенозы от 20% до 50% по диаметру – 50% (15 больных), стенозы более 50% – 13% (4 больных). Полученные данные свидетельствуют о наличии выраженных атеросклеротических изменений сосудистой стенки у обследованной группы больных.

Согласно данным исходного суточного мониторирования ЭКГ, безболевые эпизоды ишемической депрессии сегмента ST имели место у 14 пациентов (47% от общего числа лиц, прошедших курс терапии небивололом). В среднем количество эпизодов депрессии сегмента ST за сутки составило  $4,43 \pm 0,5$ , выраженностью  $0,179 \pm 0,01$  мВ, средней суммарной длительностью  $20 \pm 2,95$  минут.

Результаты суточного мониторирования артериального давления (СМАД) представлены в табл. 1.

Согласно результатам СМАД, исходный средний уровень артериального давления у отобранной группы больных соответствовал 2 степени артериальной гипертензии.

Отмечалось повышение таких независимых маркеров сердечно-сосудистых осложнений как пуль-

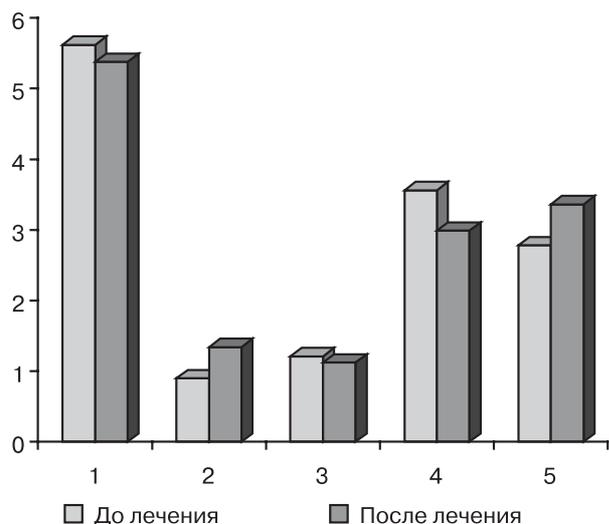
совое АД и вариабельность сАД в дневные и ночные часы.

В зависимости от величины суточного индекса, были выделены следующие группы больных: «dipper» 7 человек (СИ составляет 10–22%), «non-dipper» – 17 человек (СИ менее 10%), «over-dipper» – 3 пациентов (СИ более 22%), «night-peaker» – 3 человека (СИ имеет отрицательное значение). Важно отметить, что недостаточное снижение АД в ночные часы в настоящее время является хорошо документированным фактором риска развития сердечно-сосудистых и цереброваскулярных осложнений.

Все пациенты, включенные в исследование, исходно имели высокую активность процесса свободно-радикального окисления липидов (ПОЛ), о чем свидетельствует уровень малонового диальдегида (МДА), показатель которого составил  $0,78077 \pm 0,2$  нмоль/мг белка, что значительно превышает аналогичный показатель в контрольной группе.

У всей группы больных, участвующих в исследовании, были выявлены грубые нарушения NO-продуцирующей функции эндотелия. Больные характеризовались недостаточной или даже парадоксальной реакцией эндотелия в период реактивной гиперемии при проведении манжеточной пробы с использованием ультразвука высокого разрешения. Прирост диаметра плечевой артерии составлял 2,2%, что в 4 раза меньше, чем у лиц того же возраста без факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний.

Суммарный уровень нитритов и нитратов плазмы составлял  $11,83 \pm 5$  МкМ, что в 3 раза меньше, чем у лиц того же возраста без факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний.



1 – ОХ, 2 – ЛПВП, 3 – ЛПОНП, 4 – ЛПНП, 5 – ТГ

**Рис. 1.** Динамика показателей липидного обмена на фоне 16 недель терапии небивололом.

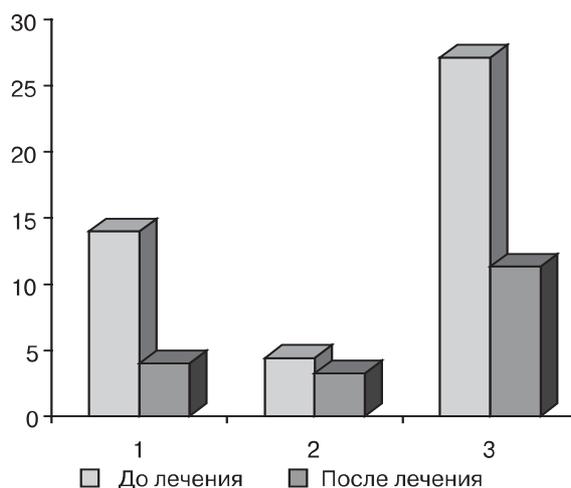
Уровень HSP 70 до начала терапии составлял  $0,242 \pm 0,28$  нг Hsp/ мг белка, что значительно ниже аналогичного показателя в контрольной группе.

Из 30 пациентов, начавших лечение небивололом, полный курс (16 недель) прошли 29 (94%) пациентов. Отмечен один случай развития аллергической реакции в виде кожной сыпи. В ходе исследования отмечалась хорошая переносимость препарата и высокая приверженность пациентов к лечению. Масса тела и ИМТ существенно не изменялись. Отмечалось достоверное уменьшение уровня гликемии натощак  $6,56 \pm 0,21$  ммоль/л,  $\Delta 0,84$ ;  $p < 0,05$  и уровня гликозилированного гемоглобина  $7,39 \pm 0,29$  %,  $\Delta 1,88$ ;  $p < 0,001$ . В ходе исследования не было зафиксировано ни одного случая гипогликемии.

Произошло достоверное улучшение показателей липидного обмена. Достоверно повысился холестерин ЛПВП –  $1,34 \pm 0,46$  ммоль/л ( $\Delta 0,44$ ;  $p < 0,001$ ). Нормализовался уровень ЛПНП –  $2,99 \pm 1,63$  ммоль/л ( $\Delta 0,57$ ;  $p > 0,05$ ) (рис 1).

На фоне 16 недель терапии небивололом, по данным холтеровского мониторирования ЭКГ, отмечался достоверный потивоишемический эффект препарата. Безболевые эпизоды ишемической депрессии сегмента ST имели место у 4 пациентов (у 13% больных при изначальном значении этого показателя 47%). Достоверно уменьшилось среднее количество эпизодов депрессии сегмента ST за сутки, которое составило  $3,25 \pm 0,18$  эпизода ( $\Delta 1,18$ ;  $p < 0,05$ ) и их суммарная длительность –  $11,33 \pm 2,9$  минут ( $\Delta 15,82$ ;  $p < 0,001$ ) (рис 2).

У всей группы больных, включенных в исследование, через 16 недель терапии небивололом отмечался выраженный гипотензивный эффект препарата. Достижение целевых цифр давления наблюдалось у 24

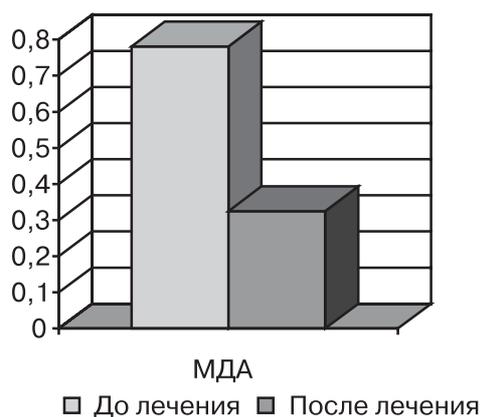


**Рис. 2.** Динамика показателей холтеровского мониторирования ЭКГ на фоне 16 недель терапии небивололом.

**Примечание:** 1 – количество пациентов с эпизодами безболевой ишемии миокарда; 2 – количество эпизодов депрессии сегмента ST; 3 – суммарная продолжительность эпизодов депрессии сегмента ST (минуты).

человек (80%). Средний уровень сАД (офисного) составил  $134,75 \pm 8,56$  мм рт.ст. ( $\Delta 37,25$ ;  $p < 0,001$ ), дАД (офисного)  $79,82 \pm 4,89$  мм рт.ст. ( $\Delta 16,01$ ;  $p < 0,001$ ). По данным СМАД у исследуемой группы пациентов произошла нормализация средних величин сАД и дАД в дневное и ночное время. У 15 больных (64%) целевые цифры АД были достигнуты уже на 8-9 неделе терапии. Важно отметить высокую гипотензивную эффективность препарата как в отношении систолического, так и в отношении диастолического АД, вследствие сочетания  $\beta$ -блокирующих и прямых вазодилатирующих свойств препарата. Кроме того, в результате лечения уменьшилась степень нагрузки давлением – достоверно уменьшился индекс времени сАД и дАД в дневные и ночные часы (табл. 1). Также отмечалось достоверное уменьшение вариабельности сАД в ночные часы, показатель которой стал соответствовать норме –  $11,12 \pm 5,65$  ( $\Delta 5,46$ ;  $p < 0,001$ ). На фоне терапии нормализовались показатели пульсового давления в дневные –  $48,5 \pm 7,15$  мм рт.ст. ( $\Delta 13,67$ ;  $p < 0,001$ ) и ночные часы  $46,2 \pm 6,51$  мм рт.ст. ( $\Delta 12,3$ ;  $p < 0,001$ ), что свидетельствует в пользу улучшения эластических свойств стенки крупных сосудов.

Терапия небивололом благоприятно повлияла и на показатели суточного ритма АД, нарушение которого у больных с СД 2 типа ассоциируется с более чем 20-кратным увеличением риска сердечно-сосудистой смерти по сравнению с пациентами с сохраненным суточным ритмом. Увеличилось число пациентов в группе «dipper» – количество больных с нормальной величиной суточного индекса стало составлять 12 человек, уменьшилось число пациентов в группе с пре-



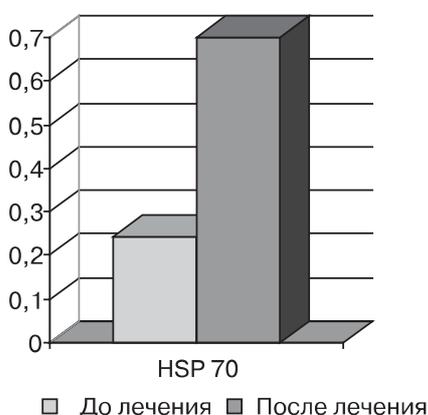
**Рис. 3.** Динамика уровня МДА на фоне 16 недель терапии небивололом.

имущественно ночным повышением АД («night-peak» – 2 человека), не было зафиксировано ни одного случая чрезмерного снижения АД («over-dipper»), количество пациентов в группе «non-dipper» стало составлять 14 человек.

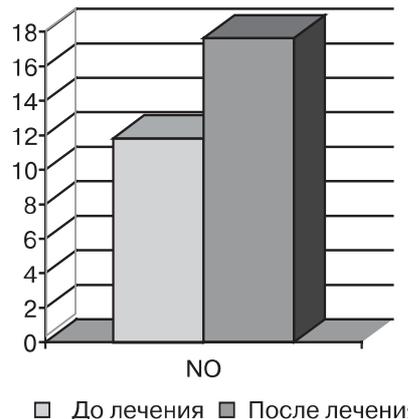
У 7% (2 больных) гипотензивный эффект препарата проявился на дозе 2,5 мг, у 66% (20 больных) – на дозе 5 мг, у 27% (8 больных) потребовалось увеличение дозы препарата до 10 мг. Полученные данные свидетельствуют о высокой эффективности монотерапии препарата в средних терапевтических дозах. На фоне терапии наблюдалось физиологическое уменьшение ЧСС –  $62 \pm 4,79$  уд/мин.

Через 16 недель терапии небивололом отмечалось достоверное уменьшение выраженности свободно – радикального окисления липидов – уровень МДА составил  $0,32468 \pm 0,13$ ,  $p < 0,001$  (рис. 3).

Наблюдалась тенденция к увеличению процента прироста диаметра плечевой артерии, который стал составлять 2,6% ( $\Delta 0,17$ ;  $p > 0,5$ ), что свидетельствует об улучшении NO-продуцирующей способности эндотелия на фоне терапии небивололом. Отсутствие дос-



**Рис. 5.** Динамика изменения уровня белков теплового шока (HSP 70) на фоне 16 недель терапии небивололом.



**Рис. 4.** Динамика изменения уровня оксида азота (NO) на фоне 16 недель терапии небивололом.

товерности в полученных результатах связано с изначально выраженными атеросклеротическими изменениями сосудистой стенки у обследованной группы больных (см. данные дуплексного сканирования сонных артерий).

Отмечалось достоверное увеличение уровня нитритов плазмы  $17,63 \pm 4,97$  МкМ ( $\Delta 5,8$ ;  $p < 0,001$ ) (рис. 4) и белков теплового шока HSP 70 –  $0,7 \pm 0,62$  нг HSP/мкг белка ( $\Delta 0,46$ ;  $p < 0,001$ ) (рис. 5), что также является свидетельством улучшения NO-продуцирующей способности эндотелия и значимого повышения защитных свойств клетки к явлениям окислительного стресса и гипоксии.

### Обсуждение

Полученные данные показали высокую антигипертензивную и противоишемическую эффективность 16-недельного применения нового кардиоселективного  $\beta$ -блокатора небиволола (небилет) в группе пациентов с СД 2 типа и артериальной гипертензией. Вышеперечисленные эффекты небиволола связаны, помимо  $\beta$ -блокирующих свойств препарата, с его способностью к эндотелий-зависимой вазодилатации вследствие улучшения NO-продуцирующей функции эндотелия. На фоне терапии небивололом произошло достоверное уменьшение количества и суммарной длительности эпизодов безболевого ишемии миокарда. Достижение целевых цифр АД наблюдалось у 80% больных. Кроме того, СМАД позволило нам выявить некоторые важные особенности гипотензивного действия небиволола: достоверно уменьшилась вариабельность сАД, которая является независимым кардиоваскулярным фактором риска, уменьшился индекс времени, и, что особенно важно, произошло улучшение показателей суточного профиля АД, нарушение которого у больных с СД 2 типа ассоциируется с более чем 20-кратным увеличением риска сердечно-сосудистой смерти по сравнению с пациентами с сохранным суточным ритмом.

Следует отметить метаболическую безопасность препарата, что особенно важно при лечении пациентов с сахарным диабетом 2 типа и метаболическим синдромом. Полученные данные свидетельствуют, что через 16 недель терапии произошло достоверное улучшение показателей углеводного и липидного обменов, что совпадает с данными Van Nueten L. et al, которые обнаружили достоверное снижение уровней общего холестерина плазмы и ЛПНП после 12 недель терапии небивололом [24].

Помимо уменьшения влияния гемодинамического и метаболического факторов развития и прогрессирования специфических ангиопатий, использование небиволола приводило к повышению устойчивости гладкомышечных клеток сосудов, эндотелиальных клеток, кардиомиоцитов и др. к гипоксии и ишемическим повреждениям, а также негативным последствиям оксидативного стресса (в силу своего воздействия на L-аргинин/NO систему). Полученные в работе данные подтверждают цитопротективные свойства небиволола, что имеет особое значение для пациентов с СД 2 типа и высокой и очень высокой степенью риска развития сердечно-сосудистых осложнений. При СД нарушение метаболизма глюкозы ведет к неферментативному гликозилированию белков и образованию конечных продуктов гликозилирования, которые считаются важнейшими медиаторами поздних диабетических осложнений. Связывание этих продуктов с соответствующими рецепторами вызывает активацию свободно-радикальных процессов в эндотелиальных и гладкомышечных клетках сосудов, нейронах, макрофагах и других клетках (т.е., происходит активация оксидативного стресса). Оксидативный стресс является инициирующим фактором, ведущим к дисфункции эндотелия и, как следствие, дефициту NO при СД. Кислородные свободные радикалы активируют ядерный фактор транскрипции (NFκB), который индуцирует экспрессию ряда белков, вызывающих нарушение гомеостаза в сосудах и повреждение эндотелия, в частности, молекулы адгезии лейкоцитов, эндотелина-1, цитокинов и тканевого фактора. При этом эндотелиальные клетки могут погибать в результате апоптоза [17]. Позже эти нарушения проявляются в виде сосудистых осложнений СД.

Считается, что в условиях хронической гипергликемии нарушения эндотелиальной функции и вазодилатации связаны преимущественно с ослаблением синтеза высвобождения и/или эффектов эндотелиального NO. Свободные радикалы способны прямо разрушать NO; кроме того ПОЛ мембраны приводит к повреждению структуры эндотелия и нарушению его NO-продуцирующей функции [17]. Подтверждением вышесказанному служат полученные в ходе нашего исследования данные – низкий уровень метабо-

литов оксида азота, парадоксальная реакция плечевой артерии в пробе с реактивной гиперемией на фоне высокой активности ПОЛ. Снижение реакции гладкой мускулатуры на NO может происходить в результате подавления активности гуанилатциклазы, усиления метаболизма цГМФ, ингибирования Na/K-АТФазы. Наконец, при СД в эндотелии развивается дефицит субстрата NO-синтазы L-аргинина, и его восполнение частично нормализует синтез эндотелиального NO. Нарушения тонуса сосудов характерные для СД могут быть и результатом усиления продукции эндотелиальных констрикторных факторов – эндотелина-1, тромбоксана A2, простагландина F2a, что также способствует развитию абсолютного или относительного дефицита NO, необходимого для нормальной регуляции сосудистого тонуса. Ослабление NO-зависимых вазодилаторных реакций у больных СД приводит к патологическому повышению сосудистого тонуса, усиленному тромбообразованию, повышению проницаемости сосудистой стенки [23]. Нормализация активности NO-синтазы или компенсация дефицита NO может задерживать развитие ангиопатий.

Система стресс-белков HSP является универсальным и мощным механизмом защиты клеток от повреждений различного генеза. Так, в частности HSP70 представляет собой важное звено клеточной системы репараций, действие которой направлено на защиту процессов биосинтеза и структурной целостности белков в поврежденной клетке. Подобные свойства HSP70 обусловлены их способностью дезагрегировать агрегаты из денатурированных белков, антиоксидантными свойствами и способностью прерывать процессы апоптоза. Кроме того, HSP70, как и NO, могут снижать активацию фактора NFκB.

В настоящее время большое внимание привлекают возможности использования этих белков для предупреждения и лечения различных заболеваний. Имеются данные о том, что при СД способность клеток к накоплению HSP снижена. В то же время, установлено, что устойчивость клеток к диабетическим поражениям прямо зависит от генетически детерминированной способности организма активировать синтез HSP70. В связи с этим, предпринимаются медикаментозные попытки компенсировать недостаточный синтез эндогенных HSP при некоторых заболеваниях, включая СД.

Так, небиволол, обладая способностью увеличивать синтез NO эндотелиальными клетками сосудов, компенсируя его дефицит, наблюдающийся при СД, а также увеличивая синтез и накопление HSP70 в клетках, на фоне выраженного гипотензивного эффекта обеспечивает пациентам защиту от ишемических повреждений миокарда, гипертонических и диабетических ангиопатий, долгосрочный контроль артери-

ального давления. Кроме того, небиволол способствует глобальной защите организма от повреждающего действия свободных радикалов, благодаря способности NO индуцировать синтез антиоксидантных ферментов. В целом, полученные результаты могут послужить основой для разработки новых подходов к лечению микро- и макроангиопатий при СД 2 типа и АГ за счет направленного действия на системы генерации NO и синтеза HSP70.

### Выводы

1. Через 16 недель терапии кардиоселективным β-блокатором третьего поколения небивололом (небилетом) с NO-модулирующей активностью в группе больных СД 2 типа и артериальной гипертензией наблюдался достоверный противоишемический эффект препарата, который выражался в уменьшении количества и суммарной длительности эпизодов ишемии миокарда.

2. На фоне 16-недельной терапии небивололом у 80% пациентов СД 2 типа и АГ были достигнуты це-

левые цифры АД, а у 64% больных целевые цифры АД были достигнуты уже на 8-9 неделе терапии.

3. Через 16 недель терапии небивололом наблюдалось достоверное уменьшение уровня гликемии, HbA1c, повышение холестерина ЛПВП, нормализация уровня холестерина ЛПНП у исследуемой группы больных. Полученные данные свидетельствуют не только о метаболической безопасности препарата, но и о выраженном положительном влиянии небиволола на важнейшие показатели углеводного и липидного обменов.

4. 16 недель терапии небивололом привели к улучшению NO-продуцирующей функции эндотелия сосудов, уменьшению выраженности оксидативного стресса и снижению повреждающей роли свободно-радикальных реакций.

5. На фоне 16 недель терапии небивололом отмечалось достоверное увеличение синтеза стресс-белков HSP70, что свидетельствует о повышении устойчивости клеток к ишемии, гипоксии и процессам апоптоза.

### Литература

1. Карпов Ю. А.// РМЖ. - 2001. - том 9. - №24
2. Манухина Е.Б., Лямина Н.П., Долотовская П.В. и др.// Кардиология. - 2002. - №11.
3. Lozano G., Pagliaro P., Gattullo D. et al.// Clin Exp Pharmacol Physiol. - 1994. - Vol.21. - P. 783-789.
4. Levin E.R.// N. Eng. J. Med. - 1995. - Vol.323. - P. 356-363.
5. Schwarz P., Diem R., Dun N.J., Forstermann U.// Circulat Res. - 1995. - Vol.77 - P. 841-848.
6. Lewis M.J., Shah A.M.// Endothelium. -1994. - Vol.1 - P.237-243.
7. Welch G., Loscalzo J.// J. Cardiovasc. Surg.. -1994. - Vol.9 - P.361-371.
8. Jeremy J.Y., Rowe D., Emsley A.M. et al.// Cardiovasc. Res. -1999. - Vol.43 - P.580-594.
9. Демина Л. М. Значение окислительного метаболизма лейкоцитов крови -2000.
10. Малышев И. Ю., Манухина Е. Б.// Биохимия. -1998. -Т.63. - Вып.7. - С.992-1006.
11. Currie R.W., and M. Karmazyn// J. Mol. Cell. Cardiol. 1990. - Vol. 22. - P.631-636.
12. Currie R.W., R.M. Tanguay, J.G. Kingma// Circulation. 1993. - Vol. 87. - P.963-971.
13. Donnelly T.J., R.E. Sievers, F.L.J. Vissern et al.// Circulation. 1992. - Vol. 85. - P. 769-778.
14. Marber M.S., Latchman D.S., Walker J.M. et al.//Circulation. 1993. - Vol. 88. - P. 1264-1272.
15. Heads R.J., Latchman D.S., Yellon D.M.// J. Mol. Cell. Cardiol. - 1995. - Vol. 27. - P.2133-2148.
16. Драпкина О.М., Задорожная О.О., Ивашкин В.Т. и др.// Клиническая медицина. -2000. - №3. - С. 19-23.
17. Строчков И.А., Манухина Е.Б., Бахтина Л.Ю. и др.// Бюл. экпер. биол. и мед. - 2000. - т.130. - С. 437-441.
18. Кобалава Ж.Д., Терещенко С.Н., Калинин А.Л. Суточное мониторирование артериального давления: методические аспекты и клиническое значение / М.,1997.
19. Celermajer D.S., Sorensen K.E., Gooch V.M. et. all.// Lancet. -1992. - Vol. 340. - P. 1111-1115.
20. Funda D. P., Hartoft-Neilsen M. L., Kaos A. et al.// APMIS. - 1998. - Vol. 106. - P. 1009-1016.
21. Latchman D. S.// Int. J. Mol. Med. - 1998. - Vol.2. - P. 375-381.
22. Malyshev I. Yu., Manukhina E. B., Mikiyan V. D. et al.// FEBS Lett. - 1995. - Vol. 370. - P. 159-162.
23. Marin J., Rodriguez-Martinez M. A.// Pharmacol Ther. - 1997. - Vol. 75. - P. 111-134.
24. Van Nueten L., Lacourciere Y., Vyssoulis J. et al.// Amer. J. Therapeutics. - 1998. - Vol. 5. - P. 237-243.

### Abstract

*In 30 patients with Type 2 diabetes mellitus (DM) and mild to moderate arterial hypertension (AH), hypotensive, anti-ischemic efficacy, and influence on endogenous protective systems (NO, heat shock proteins HSP 70) of a new, third-generation, cardio-selective NO-modulating beta blocker nebivolol (nebilet) were studied. For 16 weeks, participants received nebivolol as monotherapy (2.5-5-10 mg/d). Significant hypotensive, anti-ischemic effects of nebivolol, as well as increased endothelial NO secretion and HSP 70 synthesis, were demonstrated.*

**Keywords:** Nebivolol, Type 2 diabetes mellitus, NO, heat shock proteins HSP 70.

*Поступила 13/11-2004*