

УДК (616.379-008.64:616-005.1)-085.27

## ВЗАИМОСВЯЗЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА И ГЕМОСТАЗА ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ ТИПА 2: ВОЗМОЖНОСТИ АНТИОКСИДАНТНОЙ ТЕРАПИИ

**О.В. Занозина, Н.Н. Боровков, М.И. Балаболкин**, кафедра госпитальной терапии,  
ГОВ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия Росздрава»,  
кафедра эндокринологии, Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова

В работе выявлена прямая взаимосвязь между продуктами ПОЛ, активностью антиоксидантных ферментов и основными показателями плазменного и тромбоцитарно-сосудистого звеньев гемостаза. Показано, что под влиянием терапии Мексидолом мы можем получить ограничение окислительного стресса у больных СД типа 2 и нормализацию гемостаза.

In this work the straight correlation between products of oxidative stress, activity of enzymes and the main markers plasma and thrombocyte-vascular chains of haemostasis. It was shown to be able to obtain the limitation of oxidative stress under Mexidol treating.

**Актуальность.** Сахарный диабет типа 2 (СД) по современным представлениям характеризуется повышенным окислительным стрессом (ОС) и гиперкоагуляцией [2,4-6,8-10, 15,17-21]. К настоящему времени уточнена роль декомпенсации углеводного обмена в развитии нарушений гемостаза [2,4,8,9]. Суммируя данное литературы, можно утверждать, что в развитии сосудистых нарушений при СД типа 2, в свою очередь, наряду с метаболическими нарушениями, играют роль и изменения в системах гемокоагуляции и фибринолиза с участием свободно-радикально-опосредованного стресса [13,17]. Однако сведения о нарушении тромбоцитарно-сосудистого и плазменного звеньев гемостаза при компенсации сахарного диабета типа 2 остаются разноречивыми, несмотря на то, что данная проблема активно обсуждается более 20 лет [8,9, 19]. Остаётся также неясным, может ли ОС воздействовать на отдельные показатели системы коагуляции [14].

В последнее время всё увереннее звучат утверждения, что коагуляция и нарушение фибринолиза оказываются более важными детерминантами наличия сосудистых осложнений диабета, чем другие клинические факторы (включая уровень гликемии), и что интенсивный контроль уровня глюкозы в крови у пациентов с сахарным диабетом типа 2 должен дополняться коррекцией коагуляционных сдвигов [21], и что на эту роль определённно могут претендовать антиоксиданты [2].

**Цель исследования:** уточнить зависимость гемореологических нарушений у больных СД типа 2 от наличия компенсации и длительности сахарного диабета, взаимосвязь этих нарушений с различными составляющими ОС, а также оценить влияние антиоксидантной терапии (в частности, мексидола) на выраженность имеющихся гемореологических нарушений.

### Материалы и методы

Обследованы 133 пациента с СД типа 2 (у 29 из них – компенсированный диабет, у 104 – декомпенсированный). Возраст больных находился в диапазоне от 42 до 69 лет, длительность заболевания составляла от 1 года до 14 лет. Гликированный гемоглобин колебался от 5,8 до 12,6%.

Пациенты подразделены на группы с учётом компенсации и длительности заболевания. Контрольную группу составили 20 человек, не страдающих СД, сопоставимые по полу и возрасту с исследуемыми.

56 пациентам была проведена терапия мексидолом (200 мг в вену капельно № 10). Отечественный антиоксидант нового поколения Мексидол (соль эмоксипина и янтарной кислоты – 2-этил-6-метил-3-ксипиридин сукцинат) – вещество коктейльного типа, с комбинацией мембранопротекторной и антиоксидантной активности. Установлено, что все эффекты реализуются, по крайней мере, на двух уровнях – нейрональном и сосудистом. Мексидол является ингибитором перекисного окисления липидов, пептидов, повышает активность антиоксидантных ферментов, в частности, супероксиддисмутазы, а также содержание полярных фракций липидов (фосфотидилсерина и фосфотидилинозитола), модулирует активность мембрансвязывающих ферментов: фосфодиэстеразы, аденилатциклазы, альдозоредуктазы, стабилизирует биологические мембраны. Препарат увеличивает концентрацию восстановленной формы глутатиона, предупреждает снижение активности глутатионзависимых ферментов. Отмечено позитивное влияние Мексидола на состояние мембранных структур: уменьшение вязкости и увеличение текучести липидного бислоя мембраны [3,7].

До и после лечения больным проводилось общеклиническое обследование.

Состояние прооксидантной системы оценивали по уровню хемилюминесцентной активности (Imax) (Кузьмина Е.И., 1983), молекулярных продуктов ПОЛ: диеновых конъюгатов (ДК), триеновых конъюгатов (ТК) на спектрофотометре «СФ-26» фирмы «ЛОМО» (Ленинград), оснований Шиффа (ОШ) (Fletcher, 1973) на флюориметре «АСО-1».

Состояние антиоксидантной системы оценивали по общей антиоксидантной активности (S) (AOA=1/S) (Кузьмина Е.И., 1983).

Состояние ферментативной антиоксидантной системы оценивали по активности: супероксиддисмутазы (СОД)



(Nishirimi, 1972), каталазы (Aebi, 1970), глутатионпероксидазы (Гаврилова А.Р., Хмара Н.Ф., 1986).

Степень эндогенной интоксикации определяли по уровню веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНСММ) (Малахова М.Я., 1995). Определялись также маркёры воспаления: С-реактивный белок методом латекс-агглютинации (пр-во ООО «Ольвекс Диагностикум»).

Показатели тромбоцитарно-сосудистого гемостаза изучали с помощью двухканального анализатора агрегации модели 230 LA НПФ БИОЛА, предназначенного для исследования агрегации тромбоцитов как традиционным, так и модифицированным методом, основанном на оценке среднего размера агрегатов тромбоцитов в реальном времени (Габбасов З.А. и соавт., 1989). В качестве индукторов агрегации использовали разные концентрации АДФ (5,2 и 0,5 мкМ) фирмы «SIGMA».

Исследования плазменного звена гемостаза проводили с помощью унифицированных методов, характеризующих процесс гемокоагуляции как в целом, так и его отдельных фаз.

Обработка данных проводилась на персональном компьютере с использованием прикладных программ Microsoft Excel и Statistica – 6,0. Результаты представлены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  – среднее арифметическое,  $m$  – стандартное отклонение. Достоверность различий средних определялась по t-критерию Стьюдента. Две выборки считались принадлежащими к разным генеральным совокупностям при  $p < 0,05$ . Взаимосвязь параметров оценивалась методом корреляционного анализа с вычислением парных коэффициентов корреляции Пирсона (Гланц Стентон, 1999). Взаимосвязь между параметрами считалась высоко линейной, если коэффициент корреляции ( $r$ ) лежал в диапазоне 0,7 и выше, заметной – 0,7-0,5, умеренной – 0,5-0,31 и при  $r$  менее 0,3 считалось, что линейную зависимость между параметрами найти не удалось.

### Результаты

Установлено, что у больных сахарным диабетом типа 2 даже при компенсации сахарного диабета имеет место повышение степени и скорости образования агрегатов с различными индукторами по сравнению с показателями контрольной группы. У лиц с декомпенсированным сахарным диабетом показатели ещё более возрастали (таблица 1).

**Таблица 1. Показатели и тромбоцитарно-сосудистого гемостаза у больных сахарным диабетом в зависимости от компенсации сахарного диабета типа 2**

Показатели	Контрольная группа n=20	Компенсированный СД типа 2 n=29	Декомпенсированный СД типа 2 n=104
РКФМ	4,52±0,74	7,34±1,25**	8,34±1,79
SL АДФ 5мкМ	31,56±0,59	38,56±2,17**	43,72±3,08*
SL АДФ 2мкМ	11,7±0,71	30,28±2,96**	34,87±1,26*
SL АДФ 0,5мкМ	3,06±0,68	7,87±0,41**	10,44±1,65*
LT АДФ 5мкМ	21,43±0,54	37,44±3,15**	41,51±3,77
LT АДФ 2мкМ	11,54±0,67	24,16±3,10**	28,90±1,09
LT АДФ 0,5мкМ	4,17±0,67	4,87±0,32	6,54±0,72*

SL – степень агрегации тромбоцитов; LT – скорость агрегации тромбоцитов; \*\* – различие между контрольной группой и компенсированным СД типа 2,  $p < 0,05$ ; \* – различие между группой больных с компенсированным и декомпенсированным СД типа 2,  $p < 0,05$ .

Длительность сахарного диабета и его тяжесть также влияли на некоторые показатели плазменного (коагуляционного) гемостаза. Однако фибринолитическая активность плазмы крови у больных СД типа 2 не зависела от компенсации и длительности заболевания, хотя и достоверно отличалась от контрольной группы. Дисфункцию фибринолитической системы при СД типа 2 объясняют высоким уровнем антигена тканевого активатора плазминогена (ТАП) и его ингибиторов, главным образом, ингибитора ТАП-1, прямо коррелирующего с концентрацией инсулина в крови [20]. По нашим данным, уровень антитромбина III у больных с компенсированным сахарным диабетом значимо отличался от такового показателя у больных с декомпенсированным сахарным диабетом ( $p < 0,05$ ). Уровень фибриногена также отличался в группах исследования по степени компенсации ( $p < 0,05$ ) и длительности заболевания ( $p < 0,05$ ), что отчётливо видно из таблицы 2.

**Таблица 2. Показатели плазменного (коагуляционного) гемостаза у больных сахарным диабетом в зависимости от компенсации сахарного диабета типа 2**

Группы больных/показатели	Фибринолитическая активность	Фибриноген	Антитромбин III
СД компенсированный, длительность до 10 лет, n=12	215,83±26,01**	3,05±0,39**	111,00±6,12**
СД компенсированный, длительность более 10 лет, n=16	213,12±25,23**	3,31±0,29**	111,31±6,44**
СД декомпенсированный, длительность до 10 лет, n=48	219,79±32,19*	2,79±0,61*	94,65±6,27*
СД декомпенсированный, длительность более 10 лет, n=23	215,65±29,52*	3,04±0,32*	88,34±5,53*
Контрольная группа, n=18	197,50±12,65	2,35±0,20	113,4±10,57

\*\* – различие между контрольной группой и компенсированным СД типа 2,  $p < 0,05$ ; \* – различие между группой больных с компенсированным и декомпенсированным СД типа 2,  $p < 0,05$ .

Полученные данные согласуются с данными и других авторов [2, 9] в том, что при прогрессировании ухудшения углеводного обмена и развитии сосудистых осложнений наблюдается снижение активности антикоагулянтных факторов (АТ III), что способствует смещению баланса в сторону развития прокоагулянтного состояния с повышением риска сердечно-сосудистых катастроф [20].

Нами изучены корреляционные зависимости фибринолитической активности плазмы крови, антитромбина III, фибриногена от показателей перекисного окисления липидов и состояния антиоксидантной защиты. Найдено, что между фибринолитической активностью и процессами перекисного окисления липидов существует линейная взаимосвязь, причём с СОД – связь умеренная, с ГП – высоколинейная, а с показателем общей антиоксидантной активности – заметная, что, с одной стороны, подтверждает наличие взаимосвязи между этими составляющими, а с другой стороны – свидетельствует о преимущественной заинтересованности ферментативной

антиоксидантной защиты в коррекции фибринолитической активности плазмы у больных сахарным диабетом типа 2. Выявленная линейная зависимость между уровнем эндогенной интоксикации и фибринолитической активностью ещё раз свидетельствует о роли свободнорадикального окисления в угнетении фибринолиза у больных СД типа 2.

Уровень фибриногена, по нашим данным, высоко коррелирует с уровнем оснований Шиффа и выраженной эндогенной интоксикацией, что также подтверждает значение свободнорадикального окисления в развитии сосудистых осложнений у больных СД типа 2. Кроме того, наши данные согласуются с литературными данными, что надёжным предиктором уровня фибриногена является общая антиоксидантная активность [14].

Бесспорна связь АТ III с уровнем перекисаации липидов и активности антиоксидантной защиты. Отмечена значимая прямая корреляция АТ III с антиоксидантными ферментами каталазой и глутатионпероксидазой (таблица 3).

**Таблица 3. Корреляционные зависимости некоторых показателей плазменного гемостаза, процессов перекисаации липидов, активности антиоксидантных систем у больных СД типа 2**

Показатель	СОД	КАТ	ГП	ДК	ТК	ОШ	I max	S	ВМСММ
фибринолит. акт-ть	-0,550	-0,227	-0,871	0,367	0,485	0,05	0,324	-0,335	0,405
фибриноген	-0,081	-0,527	-0,159	0,134	0,18	0,53	Н.д.	-0,7	0,81
АТ III	0,177	0,49	0,627	-0,41	-0,322	-0,34	-0,387	0,169	-0,01
РКФМ	-0,318	-0,037	-0,201	0,246	0,251	0,09	-0,17	-0,17	-0,25

**СОД** – супероксиддисмутаза, **КАТ** – каталаза, **ГП** – глутатионпероксидаза, **ТК** – триеновые конъюгаты, **ОШ** – основания Шиффа, **S** – светосумма, **I max** – интенсивность перекисного окисления липидов, **АТ III** – антитромбин III, **РКФМ** – растворимые комплексы фибрин мономеров.

По нашим данным, липидный профиль и показатели ПОЛ достоверно различались при компенсированном и декомпенсированном СД типа 2. Однако при компенсированном СД по сравнению с контролем достоверно различны лишь уровни триглицеридов, ЛПОНП, ЛПВП, промежуточных продуктов ПОЛ, С-реактивного белка (таблица 4).

Пациенты получали десятидневный курс Мексидола – 200 мг в вену капельно, ежедневно, на 100 мл физиологического раствора натрия хлорида. Под влиянием данной терапии достоверно отмечено повышение активности антиоксидантных ферментов и ограничение свободнорадикального окислительного стресса (таблица 5).

Под влиянием терапии у пациентов с СД типа 2 достоверно снижался уровень растворимых фибрин мономеров, уровень фибриногена (таблица 6).

**Таблица 5. Динамика продуктов ПОЛ и активности антиоксидантных ферментов и неферментативных систем под влиянием Мексидола**

Препарат Мексидол	СОД	КАТ	ГП	ДК	ТК	ОШ	S	I max	интоксикация
До лечения	99,97±27,79	65,27±9,76	24,25±2,0	0,48±0,05	0,12±0,01	85,51±9,54	0,36±0,02	1,88±0,32	10,43±2,07
После лечения	158,22±21,6	73,20±6,23	25,24±1,51	0,45±0,03	0,11±0,01	82,66±9,11	0,40±0,02	1,82±0,33	9,92±0,98
	*	*	*				*		

\* – достоверность различий, p<0,05.

**Таблица 4. Лабораторная характеристика больных, включённых в исследование, в зависимости от степени компенсации сахарного диабета**

Показатели	Контрольная группа n=18	Компенсированный СД, n=29	Декомпенсированный СД, n=104
Общий холестерин, ммоль/л	4,65±0,36	4,22±0,20	5,34±0,60*
Триглицериды, ммоль/л	1,39±0,17	1,72±0,1**	1,98±0,008*
ЛПОНП ммоль/л	0,55±0,14	0,64±0,04**	0,72±0,04*
ЛПВП ммоль/л	1,23±0,06	1,11±0,008**	1,02±0,009*
СОД, ед. активности	184,13±7,19	169,14±12,64	104,18±16,05*
КАТ, ед. активности	86,53±11,6	82,15±9,11	64,78±7,14*
ГП, ед. активности	31,28±2,00	28,4±2,01	22,5±1,76*
ДК, ед.оп.пл./ОЛ	0,34±0,002	0,42±0,03**	0,61±0,07*
ТК, ед.оп.пл./ОЛ	0,08±0,004	0,11±0,008**	0,14±0,009*
ОШ, ед.оп.пл./ОЛ	79,86±12,14	84,4±6,19	91,52±10,15
С-реактивный белок, % больных	0	12**	49*

\* – достоверность различий в группах компенсированного и декомпенсированного сахарного диабета типа 2, p<0,05; \*\* – достоверность различий в группах компенсированного сахарного диабета типа 2 и контрольной группы, p<0,05.

**Таблица 6. Влияние МЕКСИДОЛА на некоторые показатели плазменного гемостаза у больных сахарным диабетом типа 2**

Показатель	Фибриноген	РКФМ
До лечения	3,41±0,67	7,67±1,41
После лечения	3,12±0,52*	4,94±0,98*

\* – достоверность различий, p<0,05.

Одновременно уменьшалась скорость и степень агрегации, что подчёркивало дезагрегационные свойства данного препарата (таблица 7).

**Таблица 7. Динамика изменений скорости и степени агрегации тромбоцитов у больных сахарным диабетом типа 2 под влиянием МЕКСИДОЛА**

Показатели	Степень агрегации	Время агрегации	Скорость агрегации
% к первоначальному	- 46,3%	-21,7%	-38,4%



### Выводы

1. При компенсированном СД типа 2 имеет место повышение спонтанной и индуцированной агрегации тромбоцитов, активация плазменного (коагуляционного) звена гемостаза.
2. Найдена прямая взаимосвязь между продуктами ПОЛ, активностью антиоксидантных ферментов и основными показателями плазменного и тромбоцитарно-сосудистого гемостаза.
3. Под влиянием терапии Мексидолом мы можем получить ограничение окислительного стресса у больных СД типа 2 и нормализацию плазменного и тромбоцитарно-сосудистого гемостаза.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Антонова К.В., Недосугова Л.В., Балаболкин М.И., Коновалова Г.Г., Лисина М.О., Ланкин В.З. Влияние компенсации углеводного обмена на свободнорадикальное окисление липопротеидов низкой плотности и активность ферментативной антиоксидантной системы при сахарном диабете типа 2. Проблемы эндокринологии 2003; 49; 2: 51-54.
2. Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., Креминская В.М. Лечение сахарного диабета и его осложнений (руководство для врачей). М: Медицина; 2005. 511.
3. Воронина Т.А., Смирнов Л.Д., Дюмаев К.М. Актуальные направления применения антиоксиданта мексидола. Сборник трудов национальной научно-практической конференции с международным участием «Свободные радикалы, антиоксиданты и болезни человека». Смоленск, Россия, 19-22 сентября 2001. с. 191-193.
4. Лютова Л.В. и соавт. Состояние системы гемокоагуляции и фибринолиза у больных СД 2-го типа. Тромбоз, гемостаз и реология 2002; 2.
5. Лютова Л.В., Алексеева Р.И., Карабасова М.А., Мещерякова В.А., Шарафетдинов Х.Х., Андреев Г.В. Состояние систем гемокоагуляции и фибринолиза у больных сахарным диабетом 2-го типа. Тромбоз, гемостаз и реология 2002; 2 (10).
6. Панкратова М.А., Пирожков С.В., Балаболкин М.И., Литвицкий П.Ф. Окислительный стресс у больных сахарным диабетом типа 2 с различной длительностью заболевания и разной степенью компенсации углеводного обмена. Сахарный диабет 2006; 2: 12-15.
7. Поварова О.В., Каленикова Е.И., Городецкая Е.И., Медведев О.С.

Антиоксиданты как нейропротекторы при ишемическом инсульте. Экспериментальная и клиническая фармакология 2003; 66; 3: 69-73.

8. Северина А.С., Шестакова М.В. Нарушение системы гемостаза у больных сахарным диабетом. Сахарный диабет 2004; 1: 62-67.
9. Северина А.С., Чиркова Л.Д., Шестакова М.В. Состояние про- и антикоагулянтных систем при «предиабете» и сахарном диабете 2-го типа. Сахарный диабет 2006; 2: 17-22.
10. Северина А.С. Роль эндотелиальных и плазменных факторов свёртывания крови, факторов ангиогенеза в развитии сосудистых осложнений при сахарном диабете типа 2. Автореф. диссертации канд. мед наук. Москва; 2006. с. 19.
11. Юданова Л.С., Старосельская Л.К., Альтшулер М.Ю. Изменение сосудистой стенки, инсулинового спектра и системного гемостаза у больных сахарным диабетом 2-го типа и возможности их коррекции. Тер. Архив. 1998; 6: 20-23.
12. Akkus I et al. Leukocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and serum and leukocyte vitamin C levels of patients with type II diabetes mellitus. Clinica Chimica Acta 1996; 244: 221-227.
13. Baynes J.W., Thorpe S.R. The role of oxidative stress in diabetic complications. Curr.Opin. Endocrinol 1996; 30: 277-284.
14. Ceriello A, Bortolotti N., Pirisi M. et al. Diabetes Care 1997; 20: 1589-1593.
15. Evans J. L., Goldfine I.D., Maddux B. A., Grodsky G.M. Oxidative Stress and Stress-Activated Signaling Pathways: A Unifying Hypothesis of type 2 Diabetes. Endocrine Reviews 23 (5): 599-622/ 2002.
16. Memisogullari R., Taysi S., Bakan E., Capoglu I. Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus. Cell Biochem. Funct. 2003; 21: 291-296.
17. P. Rosen, P.P. Nawroth, G.King, W. Moller, H.-J.Tritschler, L.Packer. The role of oxidative stress in the onset and progression of diabetes and its complications: a summary of a Congress Series sponsored by UNESCO-MCBN, The American Diabetes Association and the German Diabetes Society. - Diabetes.Metab.Res. Rev. 2001; 17; 3: 189-212.
18. Testa R., Bonfigli A. R., Peiri C. et al. A significant relationship between plasminogen type-1 a lipoprotein (a) in non-insulin-dependent diabetes mellitus without complications. Int. J. Clin. Lab.Rws., 1998; 28 (3): 187-191.
19. Vericel E., Januel C et al. Diabetic Patients Without Vascular Complications Display Enhanced Basal Platelet Activation and Decreased Antioxidant Status Diabetes, vol. 53, april 2004: 1046-1051.
20. Winocour P. D., Bryszewska M., Watula C. Reduced membrane fluidity in platelets from diabetic patients. Diabetes, 1990; 39: 241-244.
21. Yamada T., Sato A., Nishimori T. et al. Diabetes Res. Clin. Pract. 2000; 49: 23-31.