

# Окислительный стресс: особенности при сахарном диабете-источники образования, характеристика составляющих, патогенетические механизмы токсичности (обзор)

Занозина О. В. — к.м.н., ассистент кафедры госпитальной терапии ГОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия», главный эндокринолог города Н. Новгород

## Oxidizing stress: features at diabetes mellitus-sources of education, description of constituents, nosotropic mechanisms of toxicness (review)

Zanozina O. V.

### Резюме

Статья содержит обзор литературы за последние 15 лет по окислительному стрессу, в частности, у больных сахарным диабетом. Акцентированы особенности свободно-радикального окисления при данной патологии, а именно конкретизированы источники повышенной генерации свободных радикалов, включающие не только шесть путей изменённого метаболизма глюкозы, но и последствия гиперинсулинемии, а также нарушения содержания и функциональной активности антиоксидантов в связи гликозилированием. Кроме того, подчеркнута взаимосвязь генерации свободных радикалов с карбонильным стрессом, гликозилированием, что можно расценивать как синдром взаимного отягощения. Приведены различные точки зрения на составляющие окислительного стресса при сахарном диабете типа 2.

**Ключевые слова:** свободные радикалы, окислительный стресс, карбонильный стресс, гликозилирование, антиоксиданты, сахарный диабет.

### Resume

The article contains the review of literature for the last 15 years on oxidizing stress, in particular, for patients by diabetes mellitus. The features of oxidization are accented at this pathology, the sources of enhanceable generation of free radikalov, including not only six ways of the changed metabolism of glucose but also consequences of hyperinsulinemia, and also violations of maintenance and functional activity of antioxidants in connection of glycosilation. In addition, intercommunication of generation of free radicals is underline with karbonile stress, glycosilation, that can be considered as a syndrome of the mutual burdening. The different points of view on the constituents of oxidizing stress are resulted at diabetes mellitus of type 2.

**Keywords:** free radicals, oxidizing stress, karbonil stress, glycosilation, antioxidants, diabetes mellitus

«Окислительный стресс и в результате тканевые повреждения являются самыми первыми маркерами хронических заболеваний и клеточной смерти» [1]. Окислительный стресс развивается при наличии серьёзного дисбаланса продукции свободных радикалов и ослабления антиоксидантной защиты, что приводит к деструкции на клеточном, тканевом и организменном уровнях [2-5].

Свободные радикалы входят в комплекс причин происхождения различных заболеваний. Hannan D. и Эммануэль Н. М. (1974) первые разработчики теории участия свободных радикалов в процессе старения. [6]. Наиболее часто обсуждавшимися последствиями патологической активности свободных радикалов в организме человека гипертония, старческое слабоумие, амилоидоз, возрастное снижение иммунитета, остеоартрит, старческая молекулярная дегенерация, болезнь Паркинсона, лучевая болезнь, воспалительные процессы, ишемия, болезни пече-

ни, поджелудочной железы и почек, детская пеллагра и диабет [7], нейродегенеративные нарушения [8] и, конечно, сахарный диабет [9]. По выражению М.И. Балаболкина [9], это дало основание говорить о том, что в настоящее время формируется новая область науки – свободно-радикальная медицина и биология.

При сахарном диабете «...окислительный стресс представляет собой это нарушение в организме баланса между прооксидантами и системой антиоксидантной защиты, который в различной степени выраженности сопровождает дефицит инсулина или инсулинорезистентность, являющиеся одним из обязательных компонентов патогенеза сосудистых осложнений диабета [9]

Все свободные радикалы разделяются на 3 большие группы: радикалы реактивного кислорода (ROS), радикалы реактивного азота (RNS), радикалы реактивного хлора (RCS). Наибольшее их количество относится к соединениям реактивного кислорода. Активные формы кислорода (АФК) имеют очень короткий период жизни: супероксидный анион-радикал кислорода и алкоксильный -10-6с, гидроксильный радикал-10-9 с, пероксильный 10-12с [10].

Супероксидный анион является первым продуктом активации молекулы кислорода и родоначальником всех АФК in vivo [11]. сравнительно малоактивен. Гидроперекисный радикал (HO<sub>2</sub><sup>•</sup>) обладает более выраженной

Ответственный за ведение переписки -

Занозина Ольга Владимировна

603022 г. Н. Новгород,

ул. Пушкина, 11А – 61

тел: +7- 960-172-77-85

факс: 8-831-438-93-83

e-mail: zwx2@mail.ru

повреждающей способности, чем супероксидный анион радикал. Основным повреждающим агентом в клетке является гидроксил – радикал (ОН<sup>•</sup>) [12-13], который может разрывать любую С-Н и С-С связь [14-15]. Образование ОН<sup>•</sup> отмечено в реакциях окисления арахидоновой кислоты, в реакции Хабера – Вейса, при микросомальном окислении, в реакциях с флавиновыми ферментами и коэнзимом Q, однако основным источником ОН<sup>•</sup> в большинстве биологических систем служит реакция Фентона с участием металлов переменной валентности, главным образом железа [16]. Перекись водорода (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) не имеет непарных электронов и не является свободным радикалом. Это соединение может образовываться в клетке непосредственно из кислорода путём его двухэлектронного восстановления ксантиноксидазой и флавиновыми оксидазами, а также в результате дисмутации супероксиданион-радикала (спонтанной или ферментативной) [10,17]

Суть токсичности перекиси водорода состоит в том, что при взаимодействии с супероксидным анион-радикалом или в присутствии ионов железа (Fe<sup>++</sup>) перекись водорода способна быстро распадаться с образованием гидроксильного радикала [ 5,9]:

$$H_2O_2 + Fe^{++} = HO^{\bullet} + OH^- + Fe^{+++} \text{ (реакция Фентона)}$$

$$H_2O_2 + O_2^{\bullet-} + Fe^{++} = HO^{\bullet} + OH^- + O_2 \text{ (реакция Хабера-Вейса)}$$

К реактивным радикальным соединениям азота относятся монооксид азота ( NO<sup>•</sup>), диоксид азота(NO 2<sup>•</sup>). К реактивным нерадикальным формам азота относятся азотистая кислота (HNO<sub>2</sub>), нитрозильный катион (NO<sup>+</sup>), нитроксильный анион ( NO<sup>-</sup>), тетроксид диазота ( N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>), триоксид диазота( N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), пероксинитрит (ONOO<sup>-</sup> ), нитрилкатион ( NO<sub>2</sub><sup>+</sup>), алкил-пероксинитриты ( ROONO).К реактивным радикальным соединениям хлора относится атомный хлор ( Cl<sup>•</sup>), к реактивным нерадикальным соединениям хлора- гипохлорная кислота( HOCl), хлор ( Cl<sub>2</sub>), нитрил хлорида ( NO<sub>2</sub>Cl) [9].

АФК хотя и оказывают выраженный эндотоксический эффект, однако основу токсического действия кислородных радикалов составляет сопряжённая реакция супероксидного анион-радикала с оксидом азота, результатом которой является образование пероксинитрита (Johnson M.L. et al.,1998): NO+O<sub>2</sub><sup>-</sup> =ONOO<sup>-</sup> [17]. Это важный момент в механизме передачи сигнала в тканях. Скорость взаимодействия NO с O<sub>2</sub><sup>-</sup> в 3 раза выше, чем взаимодействие NO с супероксиддисмутазой (СОД), в связи с чем NO успешно конкурирует с СОД за супероксидный радикал [9,17] Пероксинитрит обладает гораздо большей реакционной способностью, чем оксид азота или супероксидный анион-радикал[17]. Он участвует во многих химических реакциях в биологических системах, в том числе нитровании остатков тирозина в белках, инициации перекисного окисления липидов, инактивации аконитаз, подавлении транспорта электронов в митохондриях и в окислении биологических тиолов. Пероксинитрит является сильным ДНК-расщепляющим агентом, в итоге возникает апоптоз[17].

АФК постоянно образуются в ходе нормального ме-

таболизма в клетках аэробных организмов в результате их жизнедеятельности. Основные источники АФК в организме следующие : во-первых, окислительные реакции, или основные, происходящие в митохондриальной цепи переноса электронов и сопряжённый с образованием АТФ. Есть данные, что до 5-10% образовавшихся в митохондриях АФК способны вызывать свободнорадикальные реакции на липидах мембраны [5]. В этом процессе кислород в конечном итоге восстанавливается четырьмя электронами до воды. Однако в процессе химических реакций происходит одноэлектронное восстановление кислорода вследствие « утечки» электронов с начальных и средних участков митохондриальной цепи переноса электронов, при чём образовавшийся O<sub>2</sub><sup>-</sup> далее восстанавливается до H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, при разложении которой возникает ОН<sup>•</sup>. [5]

Во-вторых, это окислительные реакции, реализующиеся преимущественно в системе микросомального окисления, содержащей цитохром Р-450. В этом случае отсутствует полное восстановление кислорода до воды и образуются активные формы кислорода: супероксидный анион-радикал, перекись водорода, гидроксильный радикал. [9,10].

В-третьих, токсичные супероксиданион-радикалы генерируются также при фагоцитозе [3-6]. Установлено, что при воспалении фагоцитами и Т-киллерами активно продуцируются средние участки митохондриальной цепи переноса электронов, при чём образовавшиеся O<sub>2</sub><sup>-</sup>, HOCl, NO, обладают выраженным бактерицидным и противоопухолевым действием.[9]

В-четвёртых, при аутоокислении гемоглобина в метгемоглобин ( в норме 3% ежедневно) происходит образование супероксиданион - радикала [5].

В-пятых, при аутоокислении эндогенных катехоламинов, флавинов, хинонов и тиолов образуется супероксиданион-радикал [5].

В-шестых, образование свободных радикалов происходит в ксантиноксидазной реакции, в частности, при ишемии тканей [5].

В-седьмых, при взаимодействии металлов переменной валентности (железо, медь, магний, марганец) с молекулярным кислородом образуются АФК [5]

Замыкает список эндогенных источников АФК образование синглетного кислорода, который характеризуется тем, что молекула кислорода, получив дополнительную энергию, в частности, при дисмутации супероксиданион-радикалов, или при распаде гидроперекисей липидов, взаимодействует с биологическими субстратами в 1500 раз активнее триплетного кислорода [5]. Побочными продуктами важнейших метаболических реакций с участием молекулярного кислорода и являются АФК, которые взаимодействуют с нерадикальными соединениями и образуют новые свободные радикалы. Вследствие этого оттого происходит окислительная модификация биополимеров: белков, липидов, нуклеиновых кислот, углеводов.[3,5,9]

АФК участвуют в синтезе простагландинов, лейкотриенов, тромбоксанов, метаболизме белков, липидов, нуклеиновых кислот, гликозаминогликанов, регуляции проницаемости плазматической мембраны клеток и

функции транспортеров и рецепторной передачи сигнала [3,9,14,15]. АФК, взаимодействуя ковалентно, модифицируют протенны, меняя их конформацию (пространственную форму), повышают чувствительность к действию протеолитических ферментов, осуществляя их физиологическую денатурацию [18].

Исследованиями последних лет доказано, что ОС блокирует синтез белка и нуклеиновых кислот, подавляет гликолиз, способствует разобщению окислительного фосфорилирования, ингибирует активность некоторых ферментов, нарушает функцию тканей. Указанные изменения возникают тогда, когда антиоксидантная система не способна нейтрализовать токсическое действие свободных радикалов [9].

Система антиоксидантной защиты представлена специализированными ферментативными системами (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза, глутатионтрансфераза, гемосодержащие пероксидазы) и неферментативными соединениями различной химической природы (хелаты металлов- трансферрин, церулоплазмин, ингибирующие фазу инициации ПОЛ: «улавливатели» свободных радикалов- аскорбат, витамин Е, восстановленный глутатион, коэнзим Q, мочевиная кислота, билирубин.) и др., прерывающие распространение процесса ПОЛ [3,5,9,10]

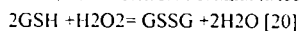
Супероксидный радикал в норме удаляется системой антиоксидантной защиты: в митохондриях – с помощью фермента СОД конвертируется в  $H_2O_2$ , затем расщепляется до  $H_2O$  и  $O_2$  глутатионпероксидазой (в митохондриях) или диффундирует в цитоплазму, где детоксифицируется каталазой в пероксисомах. [19] В присутствии металлов (Fe, Cu)  $H_2O_2$  может разлагаться с образованием высоко-реактивного гидроксил-радикала ( реакция Фентона) [3,9,20].

Ферментативные антиоксиданты являются высоко-специфичными. Супероксиддисмутазы - семейство металлоферментов с различной внутриклеточной локализацией и гетерогенностью. СОД катализируют реакцию дисмутации супероксидного радикала с образованием перекиси водорода и молекулярного кислорода со скоростью в 10 000 раз выше, чем спонтанная дисмутация в физиологических условиях [20]. Существует 2 изоформы этого фермента- марганецсодержащая и медь-цинксодержащая. Последняя содержится в высоких концентрациях в островках поджелудочной железы, что, вероятно, обеспечивает гомеостаз, марганецсодержащая форма содержится в митохондриях [9,19-21].

Вторым ферментом, ускоряющим нейтрализацию  $H_2O_2$  до воды, кислорода, является каталаза. Каталаза относится к ферментам, которые наиболее длительно сохраняют свою высокую активность, локализуется внутриклеточно, а во внеклеточных жидкостях быстро теряет свою активность. Каталаза менее активна в отношении перекиси водорода, чем глутатионпероксидаза, и неактивна в отношении липопероксидов, однако при окислительном стрессе начинает играть важную роль в разложении перекиси водорода [19,22]

Глутатионпероксидаза обнаруживается в цитозоле и митохондриях, осуществляет разложение  $H_2O_2$  посред-

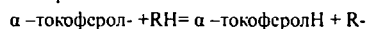
ством окисления глутатиона (GSH) даже с большей эффективностью, чем каталаза. Реакция имеет следующий вид:



Глутатион является ключевым внутриклеточным антиоксидантом и участвует в биохимических превращениях витаминов С, Е., липовой кислоты, убихинона, в регуляции тиосульфидного равновесия и синтеза нуклеиновых кислот, в сохранении оптимального состояния и функций биологических мембран, в обмене эйкозаноидов- простагландинов и лейкотриенов. Глутатион выступает в качестве резерва цистина в клетке, принимает участие в регуляции синтеза белков теплового шока; принимает участие в реализации механизмов программируемой клеточной гибели [20]

Глутатион способствует перестройке дикарбонильных производных в гидроксикислоты, в частности, метилглиоксид в лактат, проявляя функцию детоксикации хотя это и не является антиоксидантным эффектом глутатиона. [23].

Если образование гидроксил иона всё же произошло, и индуцировано перекисное окисление, образовавшиеся липидные радикалы могут быть обезврежены при взаимодействии с природным антиоксидантом витамином Е- $\alpha$ -токоферол, и тогда вместо чрезвычайно реакционно-способных липидных радикалов образуется малоактивный радикал - феноксильный радикал витамина Е. При взаимодействии с жирными кислотами вновь идёт инициация образования радикалов



Таким образом,  $\alpha$ -токоферол является как антиоксидантом, так и прооксидантом, может поддерживать процессы ПОЛ в организме на определённом стационарном уровне [2-5].

Фенольные антиоксиданты обладают ограниченной эффективностью, поскольку образующиеся с их участием липопероксидазы крайне нестойки, и могут разлагаться с образованием вторичных алкильных радикалов, инициирующих зарождение новых цепных реакций.

Следующая линия защиты - активация фосфолипазы А2 и липопероксидаз - GSH- пероксидазы и глутатион-S- трансферазы, что тормозит механизм разветвления цепи окисления.



Неселеновые глутатион-S-трансферазы способны осуществлять прямое восстановление окисленных ацилов мембранных ФХ при протекании нормальных метаболических процессов, тогда как при патологических состояниях, в условиях накопления продуктов фосфолипазного гидролиза - свободных ПНЖК, основная роль в детоксикации мембранных LOOH принадлежит селеновым глутатион-S-трансферазам. [24-26]

Восстановление образовавшихся форм антиоксидантов - феноксильного радикала  $\alpha$ -токоферол и окисленного глутатиона GSSG происходит с участием аскорбиновой кислоты, с образованием радикалов аскорбата и дегидроаскорбата, которые могут себя вести аналогично радикалам  $\alpha$ -токоферола.

Таким образом, Альфа-токоферол, так же, как и

Аскорбиновая кислота, и в-каротин являются минорными захватчиками АФК (активных форм кислорода), но, вероятно, *in vivo* они и эту функцию не исполняют: так как на 1500 молекул АЖК в ЛПНП приходится только 4-5 молекул альфа-токоферола-захватчика АФК и такая защита вряд ли может быть существенной. К тому же аскорбиновая кислота, альфа-токоферол и в-каротин, как и АЖК, являются экзогенными участниками метаболизма и в силу этого вряд ли принимают серьезное участие в курировании окислительного стресса [18].

Альфа-липоевая кислота играет уникальную, единственную в своем роде роль в антиоксидантной защите. Альфа-липоевая кислота имеет редокс-потенциал -320 мВ, который ниже, чем у системы глутатиона (-280 мВ) (Packer L.,...) Следовательно, при уменьшении липоевая кислота может регенерировать глутатион [9] а также уменьшает переход цистеина в цистин, что также важно для антиоксидантной защиты.

Среди всего перечня антиоксидантов и захватчиков АФК олеиновая ЖК единственная является одновременно как активным антиоксидантом, так и активным захватчиком АФК [18].

В условиях гипергликемии и подавления активности ферментов гликолиза, глюкоза окисляется по альтернативным путям, включая полиольный путь, гексозаминовый путь, путь неферментативного гликозилирования, в результате чего и генерируются свободные радикалы [27] Было подтверждено, что источниками образования свободных радикалов при СД являются шесть путей метаболизма глюкозы:

Во-первых, активируется аутоокисление глюкозы и её метаболитических интермедиатов (глюкозо-6 фосфата и фруктозо-6-фосфата) [27-31], в результате чего образуются реактивные дикарбонильные сахара - метилглиоксаль и 3-дезоксиглюкозон, запускающие процесс неферментативного, или аутоокислительного гликозилирования белков с образованием активных форм кислорода [32], ведущий к апоптозу клетки [33,34], что подтверждает причинно-следственную связь окислительного и карбонильного стресса [23].

Во-вторых, происходит гликозилирование протенов и накопление конечных продуктов гликирования [9,27,28,35] Другие белки модифицируются под гликозилированием, включая ЛПНП, коллаген, в том числе имеет место чрезмерное гликозилирование пути альбумин=альбумин [31,36-37].

В-третьих, активация обмена сорбитола или полиольного пути метаболизма глюкозы приводит не только к генерации свободных радикалов, но и к снижению активности восстановленного глутатиона.

В-четвёртых, в результате утилизации глюкозы по гексозаминовому пути образуется конечный продукт-уридинфосфат-N-ацетилгликозамин, который может участвовать в гликировании белков по остаткам серина и треонина, что коррелирует в инсулинорезистентностью а также с продуцированием активных форм кислорода [38].

В-пятых, при подавлении гликолиза, одновременно накапливаются триозофосфаты, которые могут превра-

щаться в  $\alpha$ -глицерофосфат-предшественник диацилглицерола с последующей активацией протеинкиназы С. Кроме того, накопление триозофосфатов также приводит к образованию карбонильных соединений, участвующих в окислительной модификации белков, липидов, ДНК [39].

В - шестых, имеет место повышение процессов окислительного фосфорилирования.

Необходимо отметить, что при СД имеет место чрезмерная продукция супероксида митохондриальными клетками [40], цитохромом р450 (Hannon-Fletcher M.P. et al.2001), ксантиноксидазой (Desco M. C.,2002), РКС-зависимой активацией НАДН/НАДФН оксидазой [41]

Ишемия, гипоксия и псевдогипоксия тканей, наблюдаемые при СД, являются дополнительными факторами, способствующими повышенному образованию реактивных оксидантов в различных органах и тканях [9].

В механизмах повышения окислительного стресса при сахарном диабете участвует и гиперинсулинемия, которая активирует симпатическую нервную систему. Результатом этого является увеличение катехоламин-вызванного образования свободных радикалов как непосредственно, так и через повышение продукции НЭЖК. Это усиливает неблагоприятные эффекты гипергликемии [9,20].

Одновременно, имеет место истощения антиоксидантов [9,28,42,43,44]. Генерация глутатиона задерживается в присутствии высокого уровня глюкозы (28). Снижение уровня глутатиона является одной из причин снижения активности NO при СД (45)

Также было показано, что активация ферментов полиольного пути окисления глюкозы сопровождается падением содержания уровня восстановленного глутатиона диальдегида [39], а также активности глутатиона.

Вследствие нарушения концентрации ионов некоторых металлов и гликозилирования изменяется активность СОД. Немаловажно истощение ЛПВП или гликирование их, что значительно изменяет их функцию [46].

Таким образом, основные причины повышения активности окислительного стресса при СД типа 2 можно представить на следующем образом (рис.1)

Карбонильные интермедиаты (глиоксаль, метилглиоксаль, 3-дезоксиглюкозон) обеспечивают окислительное гликирование белков, формируя КПНГ, которые, в свою очередь, могут быть источниками активных форм кислорода [23]

Липидная пероксидация и неферментативное гликозилирование включают аналогичные реакции и промежуточные продукты и, вероятно, могут усиливать друг друга. Свободные радикалы, образующиеся при аутоокислении глюкозы или продукты гликозилирования могут инициировать пероксидацию липидов в липопротенновых частицах [23]

Связывание КПНГ с рецепторами на клеточной мембране может приводить к генерации прооксидантного состояния в клетках эндотелия, характеризующего активацией пострецепторного сигнала, генерацией внутриклеточных супероксидрадикалов и активацией экспрессии генов [20,47]

Рецепторы для продуктов гликозилирования найд-

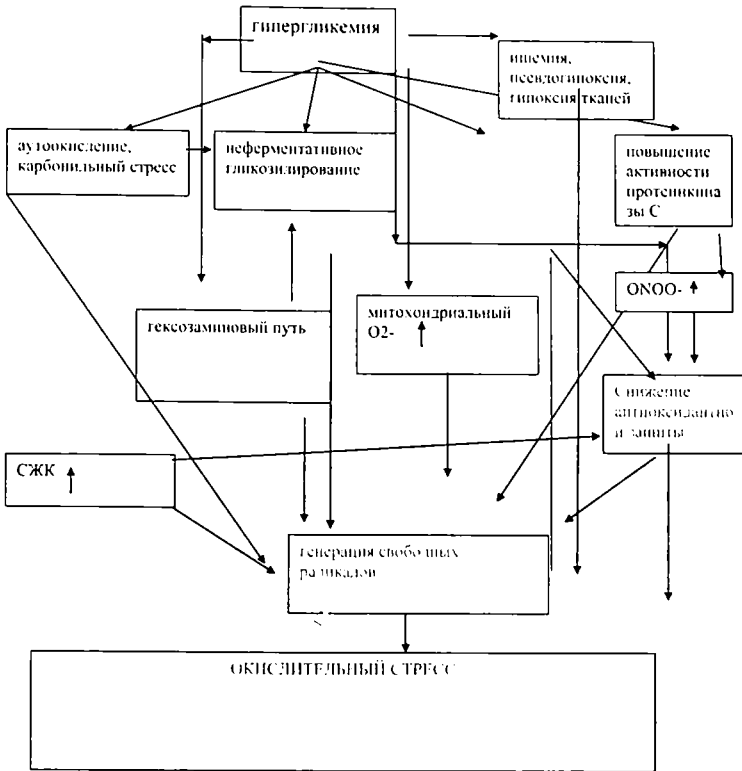


Рисунок 1. Основные пути образования свободных радикалов при сахарном диабете типа 2.

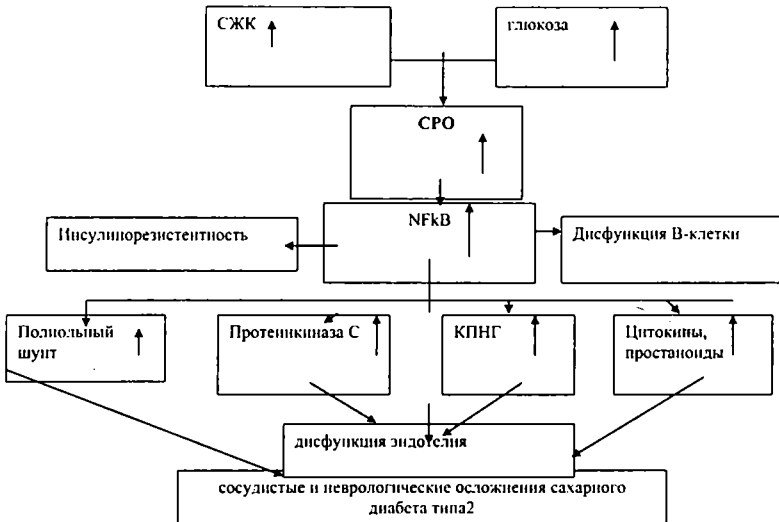


Рисунок 2. Потенциальная взаимосвязь свободно-радикального окисления и основных механизмов развития осложнений при сахарном диабете.

СРО - свободнорадикальное окисление

СЖК - свободные жирные кислоты

NFkB - ядерный фактор транскрипции

КПНГ- конечные продукты неферментативного гликозилирования

ны на макрофагах, эндотелиальных клетках и такие рецепторы называются рецепторы конечных продуктов неферментативного гликозилирования (рКПНГ). Через взаимодействие КПНГ с рКПНГ следует череда внутриклеточных модификаций, что может быть значимо в развитии атеросклероза [48]: при этом усиливается продукция молекул адгезии, которые являются начальной ступенью в повреждении сосудов [49]. В добавлении к этому, инкубация эндотелиальных клеток со специфическими КПНГ приводит к внутриклеточной генерации пероксида водорода через НАДРН оксидазе – опосредованный механизм [49]. КПНГ-опосредованная индукция ОС также запускает каскад внутриклеточных сигнальных систем, вовлекая p21 и MAP киназу, приводящим к транскрипции фактора активации [50].

Свободные радикалы активизируют ядерный фактор транскрипции (NFκB), в итоге активизируется полиольный путь, диацилглицерол и протеинкиназа C, неферментативное гликозилирование, выброс цитокинов [9,20,28,38,42,48]

Фактор NFκB является своеобразным мостом между метаболическими и сосудистыми нарушениями. Он опосредует выделение цитокинов, которые, в свою очередь, приводят к эндотелиальной дисфункции, а также к дефициту секреции и действия инсулина. Свободные радикалы через фактор NFκB активизируют как стресс – чувствительные механизмы развития инсулинорезистентности, так и уменьшения синтеза инсулина [20], особенно на первой стадии глюкозо – индуцированной секреции инсулина [51]. Усиление ПОЛ провоцирует дальнейшие разрывы в структуре митохондриального белка фратаксина в β – клетках поджелудочной железы, что приводит к прогрессированию заболевания [51] Свободные радикалы увеличивают число мутаций в митохондриальной ДНК, имеющей ограниченные возможности к репарации (Maechler P. et al., 2001). [52]

Необходимо учесть, что возрастом накапливаются точечные мутации в митохондриальной ДНК (Michikawa Y. et al., 1999). Сахарный диабет характеризуется гликолипотоксичностью, которая вызывает дисфункцию митохондрий и избыточное образование свободных радикалов (Maechler P. et al., 2001), которые вызывают апоптоз клеток [52]

Окислительный стресс через ядерный фактор транскрипции активизируют протеинкиназу C эта активация объясняет многие сосудистые нарушения, в.ч. изменения сосудистой проницаемости, факторов роста [53], экстрацеллюлярных компонентов матрикса [51], апоптоз [54]. Многие авторы указывают на роль протеинкиназы C развитии эндотелиальной дисфункции [9,23], а также в активации экспрессии гена сосудистого эндотелиального фактора роста (СЭФР), который оказывает влияние на сосудистую проницаемость и ангиогенез [55] через РКС-зависимые пути NFκB, p38MAPK и стресс-активированные протеинкиназы (SAPK) [56], что способствует развитию микро и макроангиопатий. Повышением активности РКС можно объяснить активацию адгезии тромбоцитов к сосудистой стенке, дифференцировку в макрофага и ускоренному развитию атероматоза [23], а также к утолщению базаль-

ной мембраны.

Исследования показывают, что КПНГ со специфическими рецепторами не только увеличивает разрушение модифицированных протенинов, но и стимулируют сигнальные пути [51,57], что приводит к изменению эндотелиозависимой вазодилатации, увеличению прокоагуляционной активности, индукции молекул адгезии, увеличению вазоконстрикции [58], то есть имеет место дисфункция эндотелия. Гликирование антиоксидантных ферментов усиливает продукцию свободных радикалов и ещё более усугубляет выраженность окислительного стресса. Наличие гликирования существенно изменяет скорость модифицирования ЛПНП, а, значит, и прогрессирование атеросклероза. КПНГ способствуют нарушения структуры лизина и аргинина, а, значит, и нарушению синтеза оксида азота.

Следовательно, механизмы, лежащие в основе развития как самого сахарного диабета, так и его осложнений, одни и те же, значит, корректируя их, возможно остановить прогрессирование заболевания и профилактировать осложнения (рис.2)

Как уже было показано, для сахарного диабета характерен замкнутый порочный круг образования свободных радикалов и разорвать этот круг возможно только с помощью антиоксидантов.

Было показано [16, 28], что активация свободно-радикального окисления наблюдается как при впервые выявленном СД типа 2, так и при длительном течении. Высокий уровень СРО есть уже на доклинических стадиях [3].

Некоторые авторы говорят о выраженности свободнорадикального окисления в зависимости от выраженности микрососудистых осложнений [51]. Cahill G.F., Eitzwiller D.D., Freinkel N., (1976) показали, что при наличии ангиопатий у пациентов СД типа 2 уровень продуктов реакции с тиобарбитуровой кислотой был на 91% выше, чем в контрольной группе. Без ангиопатий не наблюдалось повышения перекисей [23]

Общепринято, что при декомпенсации СД типа 2 выраженность окислительного стресса максимальна [16,40,42,59-66] У больных с сахарным диабетом в стадии декомпенсации содержание диеновых конъюгатов в эритроцитах на 37%, а в плазме – на 27% превышает их уровень у здоровых [16] Другие авторы сообщали о значительной активации процессов свободно-радикального окисления (на 153%) в плазме крови и эритроцитах у больных СД типа 2 [67]

По данным Недосуговой Л. В. и соавт.(2006) при декомпенсации сахарного диабета типа 2 содержание окси ЛПНП в плазме крови в 25 раз превышает уровень в контроле и более чем в 3 раза у больных ИБС с гиперхолестеринемией, не страдающих сахарным диабетом. [23]

Достижение компенсации углеводного обмена сопровождается достоверным снижением содержания липогидропероксидов (на 31 %) и МДА ( на 47%) в ЛПНП плазмы крови и существенным увеличением активности антиоксидантных ферментов ( СОД более чем в 2 раза, ГП на 32%). [23]

Согласно данным Ляйфер А. И. и др. (1993), при СД компенсация обменных процессов не нормализует реакции

ПОЛ. Но благоприятно влияет на систему противоперкисной защиты [61] Это поддерживается и другими авторами: только нормализация гликемии не устраняет полностью проявления ОС: у компенсированных пациентов показатели ОС превышают эти значения у здоровых лиц [ 23,61,62]

Существование сложной 3-х уровневой антиоксидантной защиты в нормальных условиях сводит до минимума опасность свободно-радикальной агрессии [23]. Тем не менее, было показано, что снижение активности СОД более чем на 50 % приводит к неуправляемому свободно-радикальному окислению и гибели клетки [68].

Не существует единой точки зрения на содержание антиоксидантов у больных сахарным диабетом.

Антиоксидантная защита у диабетических пациентов неадекватна и уровень антиоксидантов часто снижен [69]. Уровень вит С меньше, чем у пациентов без диабета это дало основание считать что при ОС требуется повышенный уровень Вит С [69]. Уровень витамина С также снижен у пациентов с заболеванием периферических сосудов и витамин С должен обязательно присутствовать в терапии таких больных[70]. С другой стороны, Pasaoglu H., Sancak B., Bukan N. (2004) заметили, что нет корреляции между ПОЛ и активностью антиоксидантов (СОД, глутатион – пероксидазы, вит. С) и гликированным гемоглобином, и уровнем глюкозы. [71]

Позднее было показано, что различная склонность (чувствительность) пациентов с СД к микро и макрососудистым осложнениям может быть прямо связана с эндогенным антиоксидантным статусом [42]. И это свидетельствует о том, что повышенная потребность в эндогенных антиоксидантах в процессе ОС приводит к истощению эндогенного антиоксидантного статуса [42]

Между этническими группами существуют различия в антиоксидантной защите: эндотелиальные повреждения и осложнения более выражены в индо-азиатской популяции по сравнению с европейцами [43]

Уменьшение антиоксидантной ёмкости плазмы представлено в больших исследовательских работах, и именно этот показатель авторы считают наиболее существенным в характеристике окислительного стресса у больных сахарным диабетом типа 2 [16].

Salonen et al. (1995) нашли отклонение в плазме уровня токоферола после начала СД типа2 [72]. Thornally et al. (1996) сообщали об уменьшении эндогенных антиоксидантов ( глутатиона) в эритроцитах у больных СД, что авторы объяснили как результат увеличенной продукции свободных радикалов у диабетических больных [73].

Rösen P. et al. ( 1999г) представили данные о том, что дефицит токоферола есть у пожилых больных, и особенно у больных диабетом [74].

По мнению одних авторов, значимых различий по СОД в группе исследования и в контрольной группе не найдено [75]. Другие исследователи нашли, что активность СОД хоть мало, но снижена ( $p>0,05$ ) [71]. Профессор Смирнова О. М. и Никонова Т. В., (2003), доказали, что активность супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы в эритроцитах у больных сахарным диабетом соответственно в 1,4 и 1,33 раза ниже, чем у здоровых.

[16]. Недавно проведённые исследования подтверждают тот факт, что у пациентов СД типа 2 наблюдается значительное снижение СОД (на 45,7%), при сохранной активности КАТ, что может сопровождаться у больных недостаточной дисмутацией супероксидного анион-радикала, участвующего в образовании других АФК и инициирующей реакций СРО, приводящих в дальнейшем к выраженному окислительному стрессу. При достижении компенсации наблюдалось частичное восстановление активности СОД (на 39,9%) и каталазы – ( на 24,1 %).

К противоположному выводу пришла третья группа учёных: у больных СД 2 типа находят повышение активности СОД и снижение КАТ, однако после 3-х месяцев лечения соотношение меняется [65]

Процентное содержание в эритроцитах больных сахарным диабетом низкоактивной гликированной формы CuZnSOD было выше, чем в контроле [23].

По данным Bhuayan K.C., Bhuwan D.K.(1978) у пациентов, страдающих СД типа 2 инсулинотребной формы, не было обнаружено изменений в активности каталазы в эритроцитах [23]

По данным других авторов, у больных СД 2 типа отмечается активация ПОЛ, имеют место изменения антиоксидантной защиты, что выражается в угнетении активности большинства ферментов АОЗ ( восстановленный глутатион, каталаза), тенденция к снижению сульфгидрильных групп белков, глутатионпероксидазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. ) Одновременно с этим обнаружен достоверно более высокий уровень глутатионредуктазы, что авторы расценили как компенсаторную реакцию в ответ на активацию процессов ПОЛ. В исследовании Bono a et al (1987) выявлено повышение активности глутатионпероксидазы в эритроцитах больных СД 2, а в работе Cahil G. F., Etzviler D.D. et Freinkel N (1976) получены данные о снижении этого фермента, хотя статистически значимых изменений уровня глутатионпероксидазы не наблюдалось [23]. Таким образом, данные об активности антиоксидантных ферментов в доступной литературе весьма противоречивы, что требует дальнейших исследований.

В заключении следует ещё раз подчеркнуть, что окислительный стресс при сахарном диабете представляет из себя замкнутый порочный круг в связи с увеличением источников образования свободных радикалов, потенцирования механизма их токсического действия и изменения активности антиоксидантной системы, ведущих к повреждению тканей.

«Одной из основных, если не главных, задач лечения сахарного диабета является борьба с окислительным стрессом и его производным- карбонильным стрессом» так определил основное направление свободнорадикальной медицины в диабетологии проф. М. И. Балаболкин [9]. Большую значимость в этой борьбе будут иметь вещества, которые не только нормализуют гипергликемию, но и ограничивают образование свободных радикалов, одновременно блокируя основные патогенетические пути развития и прогрессирования заболевания и повышая активность антиоксидантной системы. ■

## Литература:

1. Baynes J.W., Thorpe S.R. The role of oxidative stress in diabetic complications. *Curr Opin Endocrinol* 1996; 30: 277-284.
2. АLEXИНА С.П., ЩЕРБАТЮК Т.Г. Озонотерапия: клинические и экспериментальные аспекты. Н.Новгород: Изд-во Литера; 2003; 240с.
3. Балаболкин М. И. Роль гликирования белков, окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений при сахарном диабете. *Сахарный диабет* 2002; 4: 5-16.
4. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньшикова Е.Б. Окислительный стресс. Биохимические и патофизиологические аспекты. М: ИК Наука/Интерпериодика; 2001; 343 с.
5. Конторщикова К.Н. Перекисное окисление липидов в норме и патологии. Н.Новгород; 2000; 23 с.
6. Щербатюк Т. Г. Свободнорадикальные процессы и их коррекция у животных с экспериментальными опухолями. Автореф. дис. ...докт. биол. наук. Н.Новгород; 2003.
7. Дюмаев К. М., Воронина Т. А., Смирнов Л. Д. Антиоксиданты в профилактике и терапии патологий. М: издательство института биомедицинской химии РАН; 1995; 271с.
8. Mesocci P. et al. Oxidative damage to DNA in lymphocytes from AD patients. *Neurology* 1998; 51(4): 1014-1017.
9. Балаболкин М. И., Клебанова Е. М., Креминская В. М. Лечение сахарного диабета и его осложнений: руководство для врачей. М: Медицина; 2005; 512 с.
10. Фадеева Н. И. Влияние состояния антиоксидантной защиты на частоту развития и течение диабетической ангиопатии. Дис. ... канд. мед. наук М; 2000.
11. Зитдинова Г.К., Будников В. М., Погорельцев В. И. Оценка интегральной антиоксидантной емкости плазмы крови по ее реакции с супероксидным анион-радикалом. *Клиническая лабораторная диагностика* 2005; 6: 12-15.
12. Болдырев А. А. Окислительный стресс и мозг. Соросовский образовательный журнал 2001; 4 (7): 21-28.
13. Болевич С. Б. Бронхиальная астма и свободнорадикальные процессы: патогенетические, клинические и терапевтические аспекты. М: Медицина; 2006; 243 с.
14. Владимиров Ю. А. Свободные радикалы в биологических системах. Соросовский образовательный журнал 2000; 6(12): 13-19.
15. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука; 1972; 252 с.
16. Смирнова О. М., Никонова Т.В. Свободно - радикальное окисление и антиоксидантная защита при сахарном диабете: пособие для врачей. Под редакцией И. И. Дедова. М: Медицина; 2003; 40с.
17. Голиков, П. П. Оксид азота в клинике неотложных заболеваний. М: Медпрактика; 2004; 179с.
18. Титов В. Н., Лисицын Д. М. Регуляция перекисного окисления in vivo как этапа воспаления. Оленюва кислота, захватчики активных форм кислорода и антиоксиданты. *Клиническая лабораторная диагностика* 2005; 6: 3-12.
19. Саенко Ю.В., Шутов А. М. Роль оксидативного стресса в патологии сердечно-сосудистой системы у больных с заболеванием почек. Сообщение I. Патофизиологи оксидативного стресса. *Нефрологи и диализ* 2004; 1( 6): 47-53.
20. 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* 2002; 23 (5): 599-622.
21. Арутюн и А. В., Дубинина Е. Е., Зыбина Н. Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма. СПб: Фолиант; 2000; 104 с.
22. Mates J., Perez-Gomez C., Nunez de Castro. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem* 1999; 32: 595-603.
23. Недосугова, Л. В. Окислительный стресс при сахарном диабете типа 2 и возможности его медикаментозной коррекции. Дис. ...докт. мед. наук. М; 2006.
24. Свободные радикалы, антиоксиданты и болезни человека. Сборник трудов национальной науч.- практ. конф. с международным участием. 2001 19-22 сент. - бр. Смоленск; 2001.
25. Ланкин В. З., Тихазе А. К., Беленков Ю. Н. Свободнорадикальные процессы в норме и при патологических состояниях: пособие для врачей. Издание второе, исправленное и дополненное. М: РКНПК МЗ РФ; 2001; 78с.
26. Ланкин В. З., Тихазе А. К., Беленков Ю. Н. Антиоксиданты в комплексной терапии атеросклероза: pro et contra: пособие для врачей. М: Медпрактика; 2006; 40с.
27. Балаболкин М. И., Клебанова Е. М., Креминская В. М. Применение убихинона (коэнзима Q) в терапии сахарного диабета и его сосудистых осложнений. *Сахарный диабет* 2007; 4: 37-42.
28. Baynes J.W. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 1991; 40: 405-412.
29. Wolf P.A. Prevention of Stroke. *Lancet* 1998; 352: 15-18.
30. Wolff S.P. Diabetes mellitus and free radicals. *Br. Med Bull* 1993; 49: 642-652.
31. Wolff S.P., Jiang Z.Y., Hundt J.V. Protein glycation and oxidative stress in diabetes mellitus and ageing. *Free Radic Biol Med* 1991; 10: 339-352.
32. Phillips S., Thornalley P. The formation of methylglyoxal from triose phosphates. Investigation using a specific assay for methylglyoxal. *Eur J Biochem* 1993; 212: 104-105.
33. Che W., Asahi M., Takahashi M., Kaneto H., Okado A., Higashiyama S., Taniguchi N. Selective induction of heparin-binding epidermal growth factor by methylglyoxal and 3-deoxyglucosone in rat smooth muscle cells: the involvement of reactive oxygen species formation methylglyoxal and a possible implication for atherogenesis in diabetes. *J Biol Chem* 1997; 272: 18453-18459.
34. Okado A., Kawasaki Y., Hasuike Y., Takahashi M., Teshiva T., Fujii J., Taniguchi N. Induction of apoptosis cell death by methylglyoxal and 3-deoxyglucosone in macrophage-derived cell lines. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 225: 219-224.
35. Ceriello A. Hyperglycaemia: the bridge between non-enzymatic glycation and oxidative stress in the pathogenesis of diabetic complication. *Diabetes Nutr Metab* 1999; 1 2: 42-46.
36. Bourdon E., Loreau N., Blache D. Glucose and free radicals impair the antioxidant properties of serum albumin. *FASEB J* 1999; 13: 233-244.
37. Kaneto H., Kajimoto Y., Miyagawa J., Matsuoka T., Fujitani Y., Umayahara Y., Hanafusa T., Matsuzawa Y., Yamasaki Y., Hori M. Beneficial effects of antioxidants in diabetes: possible protection of pancreatic  $\alpha$ -cells against glucose toxicity. *Diabetes* 19-99; 48: 2398-2406.
38. Ahmed N., Thornalley P.J. Роль конечных продук-



- тов гликированы в патогенезе осложнений сахарного диабета. РМЖ.-2009.
39. Ланкин В.З., Тихазе А. К., Кумскова Е. М. Особенности модификации липопротеинов низкой плотности в развитии атеросклероза и сахарного диабета типа 2. Кардиологический вестник 2008; 3(1).
  40. Brownlee, M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. Nature 2001; 414: 813-820.
  41. Inoguchi T, Li P., Umeda F et al. High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C-dependent activation of NAD(P)H oxidase in cultured vascular cells. Diabetes 2000; 49: 1939-1945.
  42. Giugliano D., Ceriello A., Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complication. Diabetes Care 1996; 19: 257 - 267.
  43. Wen Y, Sahni A, Rea C., Zhang X., Khokher M.A., Singh B.M. Differential antioxidant status among Indo-Asians compared with Caucasians with and without diabetes. Diabetes Care 2000; 22: 254-255.
  44. Uptitchard J.E., Sutherland W.H., Mann J.I. Effect of supplementation with tomato juice, vitamin E, and vitamin C on LDL oxidation and products of inflammatory activity in type 2 diabetes Diabetes Care 2000; 23: 733-738.
  45. Jacob S., Ruus P., Hermann R., Tritschler H.J., Maerker E., Renn W., Augustin H.J. Oral administration of RAC-lipoic acid modulates insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes mellitus: a placebo-controlled pilot trial. Free Radic Biol Med 1999; 27: 309-314.
  46. Ren S., Shen G. X. Impact of antioxidants and HDL on glycated LDL- induced generation of fibrinolytic regulators from vascular endothelial cells. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2000; 20: 1688-1693.
  47. Bierhaus A., Chevion S., Chevion M. et al. Advanced glycation end products ( AGEs) induced activation of NF- $\kappa$ B is suppressed by alpha-lipoic acid in cultured endothelial cells. Diabetes 1997; 46: 1481-1490.
  48. Chappey O., Dosquet C., Wautier M.P., Wautier J.L., Advanced glycation end products, oxidant stress and vascular lesions. Eur J Clin Invest 1997; 27: 97-108.
  49. Wautier J.L., Wautier M.P. Blood cells and vascular cell interactions in diabetes. Clin Hemorheol Microcirc 2001; 25: 49-53.
  50. Lander H.M., Tauras J.M., Ogiste J.S., Hori O., Moss R.A., Schmidt A.M. Activation of the receptor for advanced glycation end products triggers a p21(ras)-dependent metogen-activated protein kinase pathway regulated by oxidant stress. J Biol Chem 1997; 272: 17810-17814.
  51. Rusen P., Nawroth P.P., King G., Muller W., Tritschler H.-J. Packer L. 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.
  52. Assal J. P. et al. Митохондриальная дисфункция и сахарный диабет. Международный журнал « Метаболизм» 2005; 6(42): 36.
  53. Touyz, R.M., Schiffrin E. Growth factors mediate intracellular signaling in vascular smooth muscle cells through protein kinase C-linked pathway. Hypertension 1997; 30: 1440-1447.
  54. Li P-F, Maasch C., Haller H., Diatz R., von Harsdorf R. Requirement for protein kinase C in reactive oxygen species-induced apoptosis of vascular smooth muscle cells. Circulation 1999; 100: 967-973.
  55. Williams B., Gallacher B., Patel H., Orme C. Glucose-induced protein kinase C activation regulates vascular permeability factor mRNA expression and peptide production by human vascular smooth muscle cells in vitro. Diabetes 1997; 46: 1497-1503.
  56. Chandel N.S., Trzyna W.C., McClintock D.S., Schumacker P.T. Role of oxidants in NF- $\kappa$ B activation and TNF-gene transcription induced by hypoxia and endotoxin. J Immunol 2000; 165: 1013-1021.
  57. Bierhaus A., Chevion S., Chevion M. et al. Advanced glycation end products ( AGEs) induced activation of NF- $\kappa$ B is suppressed by alpha-lipoic acid in cultured endothelial cells. Diabetes 1997; 46: 1481-1490.
  58. Jenkins J. Alicia, Best D., James, Klein I., Richard, Lyons J. Timothy. Lipoproteins, glycoxidation and diabetic angiopathy. Diabetes Metab Res Rev 2004; 20: 349-368.
  59. Бондарь И. А., Климонтов В. В. Антиоксиданты в лечении и профилактике сахарного диабета. Сахарный диабет 2001; 1: 47 - 52.
  60. Бондарь И.А., Климонтов В. В., Поршеников И. А. Оксид азота и диабетические ангиопатии. Сахарный диабет 1999; 4 : 11-14.
  61. Л ийфер А.И., Солун М. Н. Система перекисного окисления липидов-антиоксидантная защита и роль ее нарушений в патогенезе сахарного диабета и ангиопатий. Проблемы эндокринологии 1993;1: 57-59.
  62. Недосугова, Л.В. Окислительный стресс при сахарном диабете типа 2 и возможности его медикаментозной коррекции. Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М; 2006.
  63. Никифоров О.Н., Сазонова О.В., Суханова Л.Я., Крыжова Л.Г., Галенко В.А. Перекисное окисление липидов и состояние ние системы антиоксидантной защиты у больных инсулинзависимым сахарным диабетом. Проблемы эндокринологии 1997; 43(5): 16-18.
  64. 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.
  65. Aydin A., Orhan H., Sayal A., Ozata M., Sahin G., Isimer A. Oxidative stress and nitric oxide related parameters in type II diabetes mellitus: effects of glycemic control. Clinical Biochemistry 2001; 34: 65-70.
  66. Ceriello A. Oxidative stress and glycemic regulation. Metabolism 2000; 49(12): 27-29.
  67. Bast A., Haenen G.R.M.M., Doelman C.J.A. Oxidants and antioxidants: State of the art. Amer J Med 1991; 91: 2-13.
  68. McVeigh G.E., Brennan G.M., Johnston G.D., McDermott B.J., McGrath L.T., Henry W.R., Andrews J.W., Hayes J.P. Impaired endothelium-dependent and independent vasodilatation in patients with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. Diabetologia 1992; 35: 771-776.
  69. Will J.C., Byers T. Does diabetes mellitus increase the requirement for vitamin C? Nutr Rev 1996; 54: 193-202.
  70. MacRurey S.M., Muir M., Hume R. Seasonal and climatic variation in cholesterol and vitamin C: effect of vitamin C supplementation. Scott Med J 1992; 37: 49-52.
  71. Pasaoglu H. Sancak B., Bukan N. Lipid peroxidation and resistance to oxidation in patients with type 2 diabetes mellitus. Tohoku J Exp Med 2004; 203: 211-218.
  72. Salonen J. T., Nyyssonen K., Tuomainen T.P. et al. Increased risk of non-insulin dependent diabetes mellitus at low plasma vitamin E concentration: a four year follow up study in men. Br Med J 1995; 311: 1124-1127.
  73. Thornalley P., McLean A.C., Lo T.W., Benn J., Sonksen P.H. Negative association between erythrocytes, reduced glutathione concentration and diabetic complication. Clin Sci 1996; 91: 572-582.
  74. Rusen P., Toeller M. Vitamin E in diabetes: increased oxidative stress and its prevention as a strategy to prevent vascular complication? Int Vit Nutr Res 1999; 69: 206-213.
  75. 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.