

УДК 616-005

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-3-120-128

СИМАНЕНКОВА А. В.¹, МАКАРОВА М. Н.¹, ВАСИНА Л. В.^{1,2},
БУТОМО М. И.¹, ШЛЯХТО Е. В.^{1,2}, ВЛАСОВ Т. Д.^{1,2}

Допплерография микроциркуляторного русла как способ оценки эндотелиопротективных свойств лекарственных препаратов у больных сахарным диабетом 2-го типа

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Акkuratова, д. 2

e-mail: annasimanenkova@mail.ru

Статья поступила в редакцию 26.05.18; принята к печати 23.06.18

Резюме

Цель – выявить наиболее точный способ оценки эндотелиопротективного действия препаратов.

Материал и методы. У пациентов с СД 2-го типа на терапии метформином (МЕТ) (группа 1) или МЕТ и лираглутидом (ЛИР) (группа 2) оценивались эндотелин-1 (Э) крови и ацетилхолин-индуцированная эндотелийзависимая вазодилатация (ЭЗВ) в течение 9 месяцев.

Результаты. В группе 1 Э был исходно в норме и снижался только при улучшении гликемии, в группе 2 – повышен и снижался независимо от динамики гликемии. В обеих группах Э достиг нормы через 6 месяцев. ЭЗВ была нарушена исходно в группах 1 и 2 и нормализовалась только в группе 2 через 9 месяцев.

Выводы. ЛИР улучшает функцию эндотелия, независимо от гликемии. Допплерография обладает большей точностью в оценке эндотелиопротективных свойств препаратов, чем циркулирующие маркеры.

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа, эндотелиальная дисфункция, доплерография, эндотелийзависимая вазодилатация, лираглутид

Для цитирования: Симанenkova А. В., Макарова М. Н., Васина Л. В., Бутомо М. И., Шляхто Е. В., Власов Т. Д. Допплерография микроциркуляторного русла как способ оценки эндотелиопротективных свойств лекарственных препаратов у больных сахарным диабетом 2-го типа. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2018;17(3):120–128. Doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-3-120-128

UDC 616-005

DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-3-120-128

SIMANENKOVA A. V.¹, MAKAROVA M. N.¹, VASINA L. V.^{1,2},
BUTOMO M. I.¹, SHLYAKHTO E. V.^{1,2}, VLASOV T. D.^{1,2}

Microcirculatory dopplerography as a method to evaluate drugs endothelial protective properties in type 2 diabetic patients

¹ Pavlov University, Russia, Saint-Petersburg

197022, Russia, Saint Petersburg, L'va Tolstogo street, 6-8

² Federal State Budgetary Institution «Almazov National Medical Research Centre» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Russia, Saint-Petersburg

197341, Russia, Saint Petersburg, Akkuratova street, 2

e-mail: annasimanenkova@mail.ru

Received 26.05.18; accepted 23.06.18

Summary

Objective – to identify the most accurate way of drugs endothelial protective properties evaluation.

Material and methods. Blood endothelin-1 (E) and acetylcholine-induced endothelial dependent vasodilation (EDV) were measured for 9 months in type 2 diabetic patients receiving either metformin (MET) (group 1) or MET and liraglutide (LIR) (group 2).

Results. E was normal in group 1 at baseline and decreased only with glycaemia decline, in group 2 it was primarily increased

and declined independently on glycaemia dynamics. In both groups E normalized in 6 months. EDV was impaired primarily in groups 1 and 2 and normalized only in group 2 in 9 months.

Conclusions. LIR improves endothelial function, independently on glycaemia. Dopplerography is more accurate in drugs endothelial protective effects evaluation than circulating markers.

Keywords: type 2 diabetes mellitus, endothelial dysfunction, dopplerography, endothelial dependent vasodilation, liraglutide

For citation: Simanenkova A. V., Makarova M. N., Vasina L. V., Butomo M. I., Shlyakhto E. V., Vlasov T. D. Microcirculatory dopplerography as a method to evaluate drugs endothelial protective properties in type 2 diabetic patients. *Regional hemodynamics and microcirculation*. 2018;17(3):120–128. Doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-3-120-128

Введение

Сахарный диабет (СД) 2-го типа остается одной из важнейших проблем здравоохранения. По данным Атласа Международной диабетической федерации 2017 г., в мире насчитывается до 425 млн больных СД, а в России – более 8 млн [8].

Особую проблему представляют собой осложнения данного заболевания, такие как нейропатия, нефропатия, ретинопатия, хроническое нарушение мозгового кровообращения. В основе всех этих осложнений СД лежит эндотелиальная дисфункция. Коррекция эндотелиальной дисфункции у данной когорты больных могла бы стать эффективным способом первичной и вторичной профилактики указанных патологий. Поэтому поиск препаратов, имеющих, помимо положительного влияния на углеводный обмен, дополнительное эндотелиопротективное действие, является весьма перспективным.

Однако в настоящий момент не существует единого общепринятого способа оценки влияния препаратов на функцию эндотелия, который был бы высокоинформативным, легко воспроизводимым и мог бы применяться в клинической практике.

В последние годы появляются единичные работы, описывающие эндотелиопротективный эффект препаратов из класса агонистов рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1), однако данные исследования являются преимущественно экспериментальными. Так, N. Li и др. показали, что повреждение эндотелиоцитов пупочной вены при инкубации с пальмитиновой кислотой уменьшается под действием агониста рецепторов ГПП-1 лираглутида (ЛИР). В частности, отмечается снижение уровня интерлейкина-6, который нарастает в присутствии пальмитиновой кислоты. Кроме того, введение ЛИР приводит к усилению фосфорилирования эндотелиальной NO-синтазы и нарастанию высвобождения оксида азота (NO) [4]. H. Liu и др. на примере такой же культуры эндотелиоцитов пупочной вены показали, что в условиях гипергликемии ЛИР уменьшает гиперпродукцию ингибитора активатора плазминогена-1, а также мРНК молекулы межклеточной адгезии-1 (ICAM-1) и молекулы сосудистой клеточной адгезии-1 (VCAM-1), равно как и экспрессию самих указанных белков, что является доказательством наличия у препарата эндотелиопротективного действия [13].

Нами был продемонстрирован защитный эффект ЛИР в отношении вазомоторной функции эндотелия у пациентов с СД 2-го типа, заключающийся в не зависимости от гликемии снижении уровня эндотелина-1 [5] и в улучшении формы кривой эндотелийзависимой вазодилатации [4]. В то же время, мы не прово-

дили сравнительный анализ чувствительности указанных методик исследования функции эндотелия.

Целью исследования стал выбор наиболее приемлемого способа изучения эндотелиопротективных свойств лекарственных препаратов в клинической практике посредством комплексной оценки защитного действия ЛИР в отношении эндотелия у пациентов с СД 2-го типа.

Материал и методы исследования

Критерии включения и исключения. В исследование были включены пациенты с СД 2-го типа 45–75 лет (n=64) с неудовлетворительным контролем гликемии (гликированный гемоглобин (HbA1C) от 7,5 до 9,0 %) на фоне монотерапии метформином (МЕТ). Все пациенты получали эффективную антигипертензивную и гиполипидемическую терапию в течение не менее 3 месяцев до начала наблюдения. В исследование не были включены больные с какими-либо сопутствующими патологиями, кроме гипертонической болезни и дислипидемии. Пациенты с ишемической болезнью сердца, в том числе безболевого ишемией миокарда, исключались из исследования. Для верификации отсутствия данного заболевания всем пациентам выполнялся тредмил-тест.

Дизайн исследования. На момент включения в исследование все пациенты были объединены в общую группу. В течение 3 месяцев производилась титрация дозы МЕТ либо до достижения удовлетворительного контроля гликемии, либо до максимальной дозы (3000 мг/сут.). Те пациенты, которые достигли удовлетворительного контроля гликемии (HbA1C менее 7,5 %), были включены в группу 1 (терапия МЕТ была продолжена в течение еще 6 месяцев). Больные, не достигшие эуликемии (уровень HbA1C более 7,5 %) на монотерапии МЕТ, были включены в группу 2 – у них к терапии МЕТ был добавлен ЛИР (Виктоза, «Ново Нордиск», Дания) на последующие 6 месяцев. Целевым был выбран уровень HbA1C менее 7,5 %, в соответствии с «Алгоритмами специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом» (2017), так как 26 пациентов (40,6 %) относились к пожилому возрасту и указанный показатель HbA1C является для них целевым [1].

Клинико-лабораторные характеристики пациентов будущих групп 1 и 2 приведены в табл. 1.

Через 6 и 9 месяцев от начала исследования проводилось повторное определение HbA1C.

При достижении уровня HbA1C менее 7,5 % или в случае наличия положительной динамики в отношении гликемического профиля (снижение HbA1C на 0,5 % и более за прошедшие 3 месяца) пациенты продолжали участие в исследовании. При ухудше-

Характеристика пациентов будущих групп 1 и 2 (исходно)

Characteristics of patients from future groups 1 and 2 (baseline)

<i>Клинические характеристики</i>			
Характеристика	Группа 1, n (%)	Группа 2, n (%)	Достоверность различий, p
Возраст, лет	56,0 (49,25; 66,0)	57,0 (54,75; 63,25)	0,430
Пол:			0,044
мужской	14 (50)	5 (20,8)	
женский	14 (50)	19 (79,2)	
Масса тела, кг	88,0 (74,0; 118,0)	103,0 (73,5; 140,5)	0,527
<i>Анамнестические характеристики</i>			
Длительность анамнеза СД, лет	1,75 (0,0; 5,25)	10,0 (8,0; 15,0)	0,000
Длительность анамнеза ГБ, лет	10,0 (2,0; 20,75)	10,0 (2,0; 26,0)	0,819
Наследственность по СД:			0,021
отягощена	6 (21,4)	13 (54,2)	
не отягощена	22 (78,6)	11 (45,8)	
Наследственность по ССЗ:			0,391
отягощена	16 (57,1)	17 (70,8)	
не отягощена	12 (42,9)	7 (29,2)	
Курение:			1,000
да	6 (21,4)	6 (25,0)	
нет	22 (78,6)	18 (75,0)	
<i>Сопутствующая терапия</i>			
иАПФ	14 (50,0)	10 (41,7)	0,762
Сартаны	7 (25,0)	8 (33,3)	0,532
Диуретики	9 (32,1)	11 (45,8)	0,363
Блокаторы кальциевых каналов	12 (42,9)	9 (37,5)	0,771
Статины	12 (42,9)	12 (50)	0,556
<i>Лабораторные характеристики</i>			
Гликированный гемоглобин, %	8,4 (7,5; 9,0)	7,8 (7,54; 8,7)	0,471

Примечание: СД – сахарный диабет; ГБ – гипертоническая болезнь; ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания; иАПФ – ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента.

нии контроля гликемии пациенты прекращали свое участие в исследовании, производилась коррекция сахароснижающей терапии.

Исходно, через 3, 6 и 9 месяцев от начала проекта выполнялся анализ крови на эндотелин-1, а также исследовалась ацетилхолин(АХ)-индуцированная эндотелийзависимая вазодилатация. Концентрация эндотелина-1 (big endothelin-1) определялась в цитратной плазме при помощи иммуноферментного анализа (ИФА) (ELISA kit, *Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co KG*, Австрия). Определение эндотелийзависимой вазодилатации осуществлялось при помощи доплерографической оценки линейной скорости кровотока в микроциркуляторном русле предплечья в одной и той же точке с использованием прибора «Минимакс-Допплер-К», модель НБ (Россия) посредством датчика с частотой излучения 25 МГц, позволяющего измерять кровотоки в ткани до глубины 0,5 см. Перед проведением процедуры пациенты в течение 30 мин находились в помещении с температурой воздуха 24–25 °С в состоянии по-

кой. Проводилось исследование исходной скорости кровотока, затем выполнялся ионофорез 0,3 %-го раствора АХ с помощью прибора «ПоТок» («Каскад-ФТО», Россия). Сила тока составляла 0,9 мА, время экспозиции – 1 мин. После выполнения ионофореза АХ в течение 8 мин ежеминутно измерялась линейная скорость кровотока, которая определялась в процентах, по сравнению с исходной скоростью. Оценивалось время начала и окончания реакции, амплитуда (максимальная линейная скорость кровотока) реакции и время ее достижения, а также площадь под кривой (Area Under Curve – AUC) «время-линейная скорость кровотока», мин·%.

Статистический анализ. Статистическая обработка данных проводилась при помощи программного пакета «IBM SPSS Statistics-22» (IBM, США) и «Statistica-10» (Statsoft, США). Значимость различий между группами оценивалась с помощью непараметрического критерия Крускала – Уоллеса и Манна – Уитни для независимых выборок, с применением непараметрического дисперсионного анализа (апо-

стериорное попарное сравнение групп при помощи критерия Данна). Значимость различий внутри одной группы оценивалась с помощью непараметрических критериев Фридмана и Вилкоксона для зависимых переменных с введением поправки Бонферрони с false discovery rate (FDR). Все показатели представлены в виде «медиана (25 %; 75 %)». Значения P меньше 0,05 рассматривались как значимые.

Соблюдение этических требований. Протокол исследования был одобрен Этическим комитетом Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова. До включения в исследование от всех участников было получено письменное информированное согласие.

Результаты исследования и их обсуждение

Оценка гликемического профиля. Исходно в исследование были включены 64 пациента, 27 мужчин и 37 женщин, однако 12 пациентов прекратили участие в исследовании по собственному желанию; таким образом, в окончательный анализ были включены данные, полученные от 52 пациентов.

Через 3 месяца титрации дозы МЕТ 28 пациентов достигли уровня HbA1C менее 7,5 % (6,75 (6,3; 7,2) %) и были включены в группу 1. 24 человека через 3 месяца наблюдения имели HbA1C более 7,5 % (8,2 (7,68; 8,68) %) и были включены в группу 2 – к терапии МЕТ был добавлен ЛИР.

Через 6 месяцев от начала проекта у пациентов группы 1 сохранялся удовлетворительный контроль гликемии, HbA1C составлял 6,89 (6,45; 7,5) %. В группе 2 через 6 месяцев, на фоне добавления к терапии ЛИР, в целом наблюдалось улучшение гликемического профиля ($p=0,093$), HbA1C составил 7,9 (7,65; 8,4) %. У 1 пациентки наблюдалась отрицательная динамика: произошло нарастание уровня HbA1C с 7,4 до 8,4 %. Эта пациентка прекратила дальнейшее участие в исследовании.

Через 9 месяцев в группе 1 в целом сохранялся удовлетворительный контроль гликемии, и уровень HbA1C составлял 6,95 (6,5; 7,75) %. При этом у 25 пациентов HbA1C по-прежнему не превышал установленного целевого уровня 7,5 % (6,7 (6,2; 7,0) %). У 3 пациентов наблюдалось ухудшение гликемического профиля, что отражалось в нарастании концентрации HbA1C с 7,5 (6,3; 7,5) до 8,2 (7,6; 8,7) % ($p=0,1$).

В группе 2 через 9 месяцев 18 человек имели положительную динамику на фоне комбинированной терапии МЕТ+ЛИР, уровень HbA1C составил 7,35 (6,43; 7,75) % ($p=0,080$, по сравнению с предыдущим

измерением). Однако у 5 пациентов наблюдалась отрицательная динамика. У них концентрация HbA1C через 9 месяцев составляла 8,1 (7,75; 8,6) % ($p=0,042$, по сравнению с предыдущим показателем).

Оценка эндотелина-1. Исходно концентрация эндотелина-1 находилась в референсном интервале в группе 1 и была выше нормы в группе 2. При этом уровень эндотелина-1 был достоверно выше в группе 2, по сравнению с таковым в группе 1.

Через 3 месяца уровень эндотелина-1 в группе 1 по-прежнему оставался в пределах нормальных значений. Через 6 и 9 месяцев в группе 1 в целом данный показатель не претерпевал достоверных изменений. В то же время, через 9 месяцев у 3 больных группы 1, имевших ухудшение гликемического профиля, наблюдалось достоверное нарастание концентрации эндотелина-1.

У пациентов группы 2 через 3 месяца, на фоне некоторого улучшения контроля гликемии, произошло снижение уровня эндотелина-1, показатель достиг нормы и оставался в ее пределах в течение последующего времени исследования. Необходимо отметить, что через 9 месяцев концентрация эндотелина-1 не различалась, как у пациентов группы 2, имевших стойко удовлетворительный контроль гликемии, так и у 5 больных, у которых отмечалось ухудшение показателей углеводного обмена (табл. 2).

Оценка АХ-индуцированной эндотелийзависимой вазодилатации. Тремя ведущими факторами, вызывающими эндотелиальную вазодилатацию и регулируемыми тонус артериол и капилляров, являются оксид азота, простаглицин (простагландин- I_2 – PGI $_2$) и эндотелиальный гиперполяризующий фактор (ЭГФ) [9, 18, 19]. NO является ключевым регулятором потокзависимой вазодилатации, преимущественно на уровне артерий крупного калибра. Кроме того, эндотелиоциты вырабатывают PGI $_2$ из метаболитов, образующихся в результате действия циклооксигеназы (ЦОГ). PGI $_2$ проникает через мембраны эндотелиоцитов и активирует аденилатциклазу гладкомышечных клеток и протеинкиназу А, что приводит к расслаблению гладкой мускулатуры сосудов. В отличие от хорошо изученных механизмов действия NO и PGI $_2$, компоненты, составляющие ЭГФ, и механизмы их влияния исследованы не так полно. Большинство авторов сходятся во мнении, что ЭГФ представлен эпоксиэйкозатриеновыми кислотами (ЭЭТ) – четырьмя производными метаболита цитохром-Р450-эпоксигеназы, электрическими контактами через клеточные щелевые соединения (gap junctions), ионами калия эндотелиального происхож-

Таблица 2

Динамика концентрации эндотелина-1, пмоль/л

Table 2

Dynamics of endothelin-1 concentration, pmol/L

Группа	Исходно	3 месяца	6 месяцев	9 месяцев	
				«+»-динамика	«-»-динамика
1	0,74 (0,28; 1,23)	0,62 (0,3; 1,4)	0,29 (0,2; 0,91)	0,25 (0,18; 0,8)	0,32 (0,18; 0,49)**
2	2,14 (0,73; 3,23)*	0,49 (0,14; 1,07) **	0,38 (0,22; 0,7)	0,32 (0,11; 1,04)	0,19 (0,13; 0,76)*

Примечание: * – $p<0,05$ между группами 1 и 2; ** – $p<0,05$ по сравнению с предыдущим измерением.

дения, сульфидом водорода и пероксидом водорода эндотелиального происхождения [15].

Известно, что ЭГФ реализует вазодилатацию преимущественно на уровне резистивных артерий мелкого калибра [12].

В нашем исследовании исходно как у пациентов группы 1, так и у пациентов группы 2, имело место нарушение ответа на АХ, по сравнению со здоровыми людьми. Это отражалось, прежде всего, в уменьшении площади под кривой «время-скорость кровотока», причем наблюдалось уменьшение площади как под первой фазой кривой ответа на АХ (AUC_1), так и под второй фазой кривой (AUC_2). Ранее нами было показано, что AUC_1 обусловлена преимущественно влиянием NO, а AUC_2 характеризует, прежде всего, активность ЭГФ [2, 3].

При этом AUC_1 и $AUC_{\text{общ}}$ не различались в группах 1 и 2. В то же время, AUC_2 в группе 2 была достоверно больше таковой в группе 1, что позволяет предположить менее значительное угнетение активности ЭГФ в группе 2, которое было достоверным при сравнении с контрольной группой. Патогенез описанных изменений требует дальнейшего изучения. С целью выявления причин большей исходной активности ЭГФ в группе 2 был выполнен поиск возможной корреляционной связи между AUC_2 и ключевыми клинико-лабораторными ха-

рактеристиками, такими как исходный уровень HbA1C, длительность анамнеза СД и ГБ, возраст. Была обнаружена отрицательная корреляционная связь между AUC_2 и исходным уровнем HbA1C ($r=-0,417$, $p=0,022$), что соотносится с данными о том, что HbA1C в группе 2 был ниже, чем в группе 1, статистически незначимо. Следовательно, можно предполагать, что активность ЭГФ является параметром, наиболее чувствительным к колебаниям гликемии и уровню контроля гликемии на момент обследования.

Данные различных авторов о нарушении активности и/или биодоступности NO и ЭГФ в условиях инсулинорезистентности и СД противоречивы.

По мнению ряда авторов, в условиях инсулинорезистентности NO-зависимая вазодилатация нарушается прежде всего, в то время как ЭГФ-зависимая вазодилатация долго не снижается и даже способна нарастать – вероятно, в рамках компенсаторной реакции [12].

S. M. Chadderdon et al. [6] изучили изменения в капиллярах скелетной мускулатуры на модели инсулинорезистентности у приматов, вызванной ожирением, развивающимся при применении высокожировой диеты с большим содержанием фруктозы. Авторы наблюдали прогрессивное снижение биодоступности NO и одновременное нарастание базального и стимулированного введением глюкозы объема капиллярного

Таблица 3

Показатели эндотелий-зависимой вазодилатации в группах 1 и 2 в течение всего времени наблюдения

Table 3

Endothelial-dependent vasodilation parameters in groups 1 and 2 during all observation period

		$T_{\text{нач}}^{\text{мин}}$	$T_{\text{оконч}}^{\text{мин}}$	$T_{\text{макс}}^{\text{мин}}$	A, % от исходной	AUC_1 , мин·%	AUC_2 , мин·%	$AUC_{\text{общ}}$, мин·%
Норма		1 (1; 1)	7,5 (6; 8)	4 (3; 4)	270,0 (248,0; 298,0)	746,50 (555,23; 800,70)	395,30 (199,70; 967,71)	1071,87 (810,30; 511,17)
Исходно	группа 1	1 (1; 3)	6 (4; 7)	3 (1,5; 4)	150,07 (130,59; 170,52)#	206,99 (75,04; 445,14) #	132,32 (0; 195,65) #	326,27 (95,84; 622,54) #
	группа 2	1 (1; 1)	7 (5; 8)	4 (2; 5)	150,2 (140,1; 225,0)#	240,1 (174,7; 327,9) #	225,1 (112,6; 331,7) *#	562,4 (225,1; 638,0) #
3 месяца	группа 1	1 (1; 3)	6 (5; 7)	3,5 (2,0; 5,0)	150,07 (120,09; 200,0)#	237,9 (120,09; 407,53) #	100,1 (55,92; 199,7) #	399,43 (172,85; 662,91) #
	группа 2	1 (1; 1)	6 (5; 8)	3,0 (2,0; 3,0)	150,1 (144,7; 200,0) #	305,11 (216,94; 466,64) #	133,27 (61,19; 215,06) #	533,08 (366,45; 641,79) #
6 месяцев	группа 1	1 (1; 2)	7 (5; 8)	3 (2; 4)	140,06 (133,16; 150,09)#	230,62 (100,0; 336,22) #	141,11 (53,02; 225,14) #	309,93 (225,1; 561,1) #
	группа 2	1 (1; 1)	7 (7; 8)	3,5 (3; 4)	215,1 (182,74; 235,26)*#	449,64 (374,35; 550,28) *#	263,73 (197,15; 413,62) *#	751,46 (643,01; 827,24)*#
9 месяцев	группа 1	1 (1; 3)	6 (4; 7)	3 (3; 4)	181,04 (142,45; 304,23)#	222,15 (178,77; 259,62) #	146,62 (0; 259,62)#	422,48 (178,77; 572,51)#
	группа 2	1 (1; 1)	7,5 (6; 8)	3,5 (3; 4)	302,21 (216,76; 404,1)*\$	693,35 (483,01; 808,2) *\$	455,5 (204; 704,3)*\$	893,2 (769,4; 1512)*\$

Примечание: * – $p < 0,05$ между группами 1 и 2; \$ – $p < 0,05$ по сравнению с предыдущим измерением; # – $p < 0,05$ по сравнению с нормой. $T_{\text{нач}}$ – время начала нарастания линейной скорости кровотока; $T_{\text{оконч}}$ – время достижения исходной линейной скорости кровотока; $T_{\text{макс}}$ – время достижения максимальной амплитуды линейной скорости кровотока; A – амплитуда реакции на АХ; AUC_1 – площадь под первой фазой кривой «время-линейная скорость кровотока» (1–4 мин); AUC_2 – площадь под второй фазой кривой «время-линейная скорость кровотока» (4–8 мин); $AUC_{\text{общ}}$ – общая площадь под кривой «время-линейная скорость кровотока» (1–8 мин).

кровотока, что сопровождалось усилением активности липоксигеназы и эйкозаноидов – дериватов цитохром-Р450-эпоксигеназы. Вероятно, описанные изменения связаны с тем, что NO снижает активность ЭГФ за счет ингибции цитохром-Р450-эпоксигеназы и миоэндотелиальных межклеточных контактов, в условиях же снижения биодоступности NO активность ЭГФ может реализоваться полноценно [7, 12]. В то же время, через 2 года высокожировой диеты с повышенным содержанием фруктозы наблюдалось резкое снижение компенсаторной вазодилатации посредством эйкозаноидов, приводившее к значимому падению объема кровотока в микроциркуляторном русле скелетных мышц, что сочеталось с резким нарастанием проявлений инсулинорезистентности. Таким образом, нарастание кровотока, вызванное функционированием ЭГФ, в качестве компенсаторного механизма имеет место лишь на ранних стадиях развития инсулинорезистентности и угнетается со временем на фоне нарастания последней. В то же время, требуются дальнейшие исследования с целью изучения первичности инсулинорезистентности или нарушений в микроциркуляторном русле в отношении механизмов прогрессирования патологического процесса.

Ряд авторов, напротив, показали преимущественное снижение активности и/или биодоступности ЭГФ. В исследованиях, проведенных на животных моделях, таких как содержание на диете с фруктозой, генетические модели ожирения и слабой степени выраженности АГ у крыс Zucker, было продемонстрировано, что реакция эндотелия через посредство ЭГФ ослаблена, в то время как NO-опосредованная реакция не нарушена или нарушена крайне незначительно [10, 11, 16, 17, 20].

В проведенном нами исследовании амплитуда реакции на АХ в обеих группах была достоверно ниже таковой в группе здоровых лиц и не отличалась между группами 1 и 2.

Не было выявлено достоверных различий во времени начала реакции эндотелийзависимой вазодилатации после ионофореза АХ, во времени окончания реакции, а также во времени достижения максимальной амплитуды ответа на АХ между группами 1 и 2, а также по сравнению с контрольной группой. Ука-

занные параметры не претерпевали статистически значимых изменений в течение всего времени наблюдения (на 3, 6 и 9 месяцах исследования).

Все указанные выше показатели приведены в табл. 3.

Через 3 месяца монотерапии МЕТ ни в группе 1, ни в группе 2 не наблюдалось достоверной динамики показателей эндотелийзависимой вазодилатации, несмотря на то, что у пациентов группы 1 был достигнут удовлетворительный контроль гликемии.

Значения $AUC_{общ}$ в группах 1 и 2 достоверно не росли, по сравнению с исходными показателями. Примечательно, что через 3 месяца не выявлялось достоверных различий в AUC_1 и в AUC_2 между группами 1 и 2, при этом данные параметры были значимо ниже нормальных. Возможно, это связано с постепенным снижением AUC_2 в группе 2 на фоне сохранявшегося неудовлетворительного контроля гликемии, несмотря на то, что указанное снижение не было статистически достоверным.

Амплитуда ответа на АХ не претерпевала достоверных изменений в группах 1 и 2 и не различалась между группами, будучи достоверно ниже нормальной (табл. 3).

Через 6 месяцев в группе 1 сохранялся стойко удовлетворительный контроль гликемии, что, однако, не сопровождалось улучшением показателей эндотелийзависимой вазодилатации. Не наблюдалось достоверного нарастания $AUC_{общей}$, AUC_1 и AUC_2 . Амплитуда реакции на АХ не претерпевала достоверных изменений, по сравнению с предыдущим измерением, и была ниже нормального показателя.

При этом в группе 2, на фоне добавления к терапии ЛИР, наблюдалось значимое улучшение ответа на АХ. Так, AUC_1 имела тенденцию к нарастанию, по сравнению с предыдущим измерением ($p=0,09$), AUC_2 же и $AUC_{общ}$ достоверно увеличились, по сравнению с таковыми через 3 месяца, однако не достигли показателей, характерных для здоровых лиц. Аналогично, амплитуда линейной скорости кровотока после ионофореза АХ в группе 2 достоверно увеличилась, по сравнению с таковой через 3 месяца, однако также не достигла нормы (табл. 3).

Таблица 4

Показатели эндотелий-зависимой вазодилатации в группе 1 через 9 месяцев

Table 4

Endothelial-dependent vasodilation parameters in group 1 in 9 months

Группа	$T_{нач}$, мин	$T_{оконч}$, мин	$T_{макс}$, мин	A, % от исходной	AUC_1 , мин·%	AUC_2 , мин·%	$AUC_{общ}$, мин·%
1 «+»	1 (1,0; 1,5)	6,5 (6,0; 7,5)	3,5 (3,0; 4,5)	161,75 (136,13; 242,63)	240,76 (203,54; 259,62)	259,62 (122,17; 331,75)	519,24 (325,71; 572,51)
1 «-»	2 (1,0; 3,0)	4,0 (4,0; 7,0)	3 (3;3)	207,02 (150,07; 357,54)	178,77 (75,04;471,07)	0,0 (0,0; 171,06)	178,77 (75,04;642,13)
Уровень значимости, p	0,081	0,081	0,14	0,142	0,394	0,026	0,178

Примечание: группа 1 «+» – пациенты группы 1 с удовлетворительным контролем гликемии; группа 1 «-» – пациенты группы 1 с ухудшением контроля гликемии.

Показатели эндотелий-зависимой вазодилатации в группе 2 через 9 месяцев

Table 5

Endothelial-dependent vasodilation parameters in group 2 in 9 months

Группа	T _{нач} , мин	T _{оконч} , мин	T _{макс} , мин	A, % от исходной	AUC ₁ , мин·%	AUC ₂ , мин·%	AUC _{общ} , мин·%
группа 2 «+»	1 (1; 1,75)	7,5 (5,5; 8,0)	3,5 (3,0; 4,0)	346,37 (229,55; 409,87)	736,53 (555,23; 819,74)	509,73 (164,68; 744,71)	1180,87 (808,38; 1541,37)
группа 2 «-»	1 (1; 1)	7,0 (6,0; 8,0)	3,5 (3,0; 5,5)	265,87 (203,49; 726,72)	576,89 (299,94; 1688,75)	371,30 (192,30; 979,74)	821,32 (702,73; 2584,86)
Уровень значимости, p	0,442	1,0	0,721	0,721	0,442	1,0	0,234

Примечание: группа 2 «+» – пациенты группы 2 с удовлетворительным контролем гликемии; группа 2 «-» – пациенты группы 2 с ухудшением контроля гликемии.

Через 9 месяцев в группе 1 по-прежнему не наблюдалось значимой динамики показателей эндотелийзависимой вазодилатации. AUC₁, AUC₂ и AUC_{общ} не возрастали, по сравнению с предыдущим измерением, и оставались достоверно ниже значений, характерных для здоровых лиц. Амплитуда линейной скорости кровотока не увеличилась по сравнению с предыдущим измерением (табл. 3).

При этом важно отметить, что пациенты группы 1, имевшие стойко удовлетворительный контроль гликемии в течение всего времени наблюдения, не имели достоверной динамики показателей эндотелийзависимой вазодилатации на фоне монотерапии MET. В то же время, у больных, имевших ухудшение гликемического профиля через 9 месяцев терапии MET, площадь под второй фазой кривой ответа на АХ (AUC₂) была достоверно меньше таковой у больных, имевших эугликемию, что, вероятно, отражает закономерное прогрессивное ухудшение функции эндотелия и снижение активности ЭГФ в условиях ухудшения гликемического профиля. Эти данные согласуются с выявленным нами уменьшением AUC₂ в группе 2 через 3 месяца терапии MET, в условиях нецелевых показателей гликемии. AUC₁, отражающая, прежде всего, активность NO, и AUC_{общ} достоверно не отличались у пациентов группы 1 с удовлетворительным и неудовлетворительным контролем гликемии. Возможно, ЭГФ является более чувствительным в отношении колебания гликемии компонентом вазомоторной функции эндотелия, чем NO. Примечательно, что на фоне ухудшения гликемического профиля в группе 1 имела место тенденция к укорочению времени реакции на АХ. Так, начало нарастания линейной скорости кровотока у этих больных наблюдалось на 2,0-й (1,0; 3,0) мин, возвращение скорости кровотока к исходному показателю – на 4,0-й (4,0; 7,0) мин (табл. 4).

Полученные данные позволяют предположить, что улучшение контроля гликемии и длительное сохранение эугликемии не приводят к восстановлению функциональных вазомоторных показателей эндотелия, а лишь предотвращают закономерное прогрессирование данных нарушений. MET не обладает самостоятельным эндотелиопротективным действием, ре-

ализуя свои защитные эффекты лишь посредством влияния на гликемический профиль.

У пациентов группы 2 через 9 месяцев (6 месяцев комбинированной терапии MET+ЛИР) наблюдалось улучшение показателей эндотелийзависимой вазодилатации, что отражалось в прогрессивном нарастании AUC₁, AUC₂ и AUC_{общ}, а также амплитуды линейной скорости кровотока. Все указанные показатели достигли таковых, характерных для здоровых лиц, через 9 месяцев (табл. 3).

При этом нормализация указанных параметров в группе 2 имела место на фоне как эугликемии, так и ухудшения гликемического профиля. Не было выявлено достоверных различий ни в амплитуде эндотелийзависимой вазодилатации, ни в показателях AUC, ни в продолжительности ответа на АХ, между пациентами группы 2 с удовлетворительным и неудовлетворительным контролем гликемии (табл. 5).

Полученные нами результаты оценки концентрации эндотелина-1, а также определения АХ-индуцированной эндотелийзависимой вазодилатации указывают на наличие у ЛИР самостоятельного защитного действия в отношении вазомоторной функции эндотелия, не связанного с влиянием препарата на углеводный обмен.

Как указывалось выше, медиана концентрации эндотелина-1 достигла нормы в обеих группах уже через 3 месяца наблюдения, при этом значения 75% и максимальные показатели еще выходили за пределы референсного интервала. К 6-му месяцу наблюдения данные параметры также вошли в границы нормы.

В то же время, амплитуда эндотелийзависимой вазодилатации и общая площадь под кривой «время-линейная скорость кровотока» через 6 месяцев не претерпевали достоверной динамики в группе 1 и выросли, но не достигли нормы в группе 2, что отражает более медленное восстановление функциональных показателей вазомоторной функции эндотелия, которыми являются доплерографические параметры. Амплитуда реакции на АХ и AUC достигли референсного интервала в группе 2 через 9 месяцев и не достигли его вовсе в группе 1 (рисунок).

Следовательно, такой общедоступный и неинвазивный метод оценки вазомоторной функции эндо-

теля, как высокочастотная ультразвуковая доплерография сосудов микроциркуляторного русла с применением ионофореза АХ, позволяет выявить сохраняющиеся нарушения даже тогда, когда лабораторные маркеры указывают на нормализацию состояния эндотелия. Именно нормализация доплерографических параметров, вероятно, может служить индикатором полноценного восстановления функции эндотелия сосудов.

Допплерографическое исследование линейной скорости кровотока может применяться в широкой клинической практике для оценки эффективности применяемой сахароснижающей терапии в отношении защиты эндотелия, что, в свою очередь, может лечь в основу первичной и вторичной профилактики осложнений СД, одним из ключевых звеньев в патогенезе которых является дисфункция эндотелия. Кроме того, данный неинвазивный метод может использоваться для изучения состояния вазомоторной функции эндотелия и при выявлении нарушений последней, может служить основой включения в терапию препаратов, обладающих плейотропными эндотелиопротективными свойствами.

Выводы

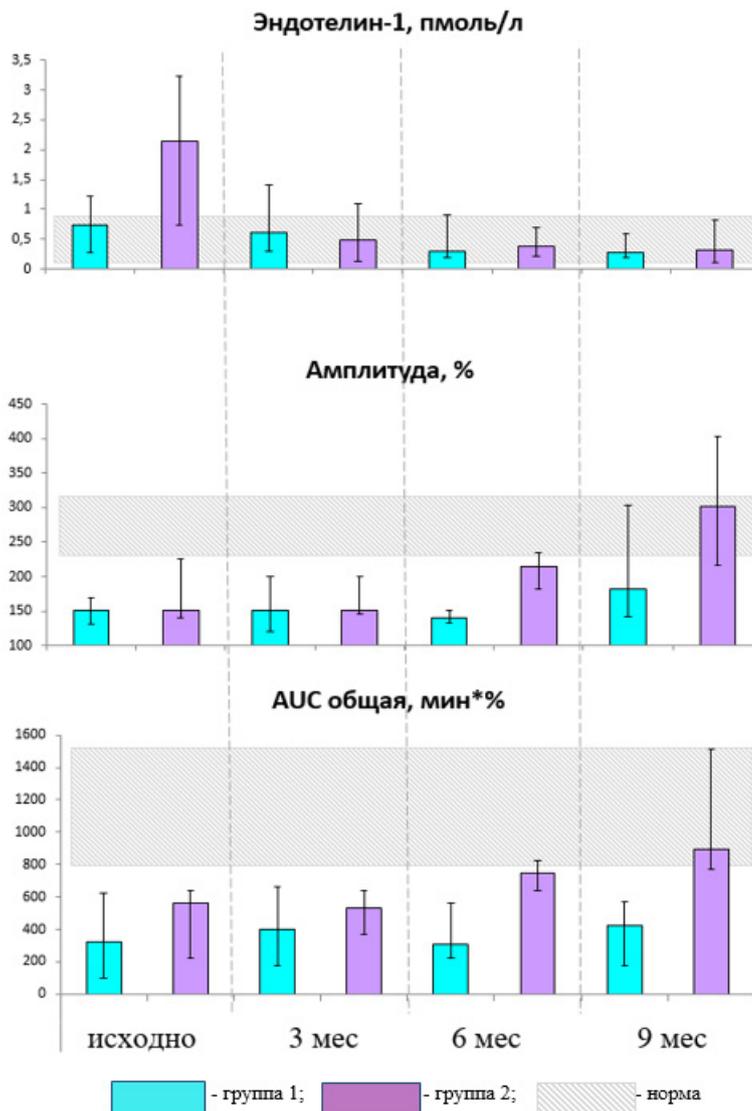
Агонист рецепторов ГПП-1 ЛИР обладает защитным действием в отношении эндотелия сосудов, которое реализуется вне зависимости от влияния препарата на углеводный обмен. Допплерография микроциркуляторного русла является более эффективным методом оценки вазомоторной функции эндотелия при СД 2-го типа, чем определение концентрации циркулирующих маркеров эндотелиальной дисфункции, и может использоваться в широкой клинической практике, в том числе для изучения эндотелиопротективных свойств лекарственных препаратов.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов./The authors declare no conflict of interest.

Литература / References

1. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом / под ред. И. И. Дедова, М. В. Шестаковой, А. Ю. Майорова. 8-й вып. // Сахар. диабет. – 2017. – № 20 (1S). – С. 1–112. [Algoritmy spetsializirovannoi pomoshchi bol'nym sakharnym diabetom. Diabetes mellitus. 2017;20(1S):1–112 (In Russ.)]. Doi: 10.14341/DM20171S8.
2. Малахова З. Л., Васина Е. Ю., Власов Т. Д. Эндотелий-зависимая вазодилатация сосудов кожи здорового человека: оксид азота или гиперполярирующий фактор? // Росс. физиолог. журн. им. И. М. Сеченова. – 2017. – Т. 103. – № 8. – С. 930–939. [Malakhova ZL, Vasina EYu, Vlasov TD. Endothelium-dependent vasodilation of the skin of a healthy man: nitrogen oxide or hyperpolarizing factor? Neuroscience and behavioral physiology. 2017;103(8):930–939 (In Russ.)].
3. Малахова З. Л., Васина Е. Ю., Воробьев Е. А. и др. Неинвазивный метод исследования эндотелиального гипер-



Динамика уровня эндотелина-1 и доплерографических показателей в группах 1 и 2 в течение всего периода наблюдения
Dynamics of endothelin-1 level and doppler parameters in groups 1 and 2 during all the observation period

поляризирующего фактора в клинике // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2013. – Т. 12. – № 4 (48). – С. 70–74. [Malakhova ZL, Vasina EYu, Vorobiev EA i dr. Non-invasive method of assessment of endothelium-derived hyperpolarizing factor in human. Regional hemodynamics and microcirculation. 2013;12:4(48):70–74 (In Russ.)].

4. Симаненкова А. В., Макарова М. Н., Бутомо М. И. и др. Эндотелиопротективный эффект лираглутида у больных сахарным диабетом 2-го типа // Артериальная гипертензия. – 2018. – Т. 24. – № 1. – С. 81–92. [Simanenkova AV, Makarova MN, Butomo MI i dr. Endothelial protective effect of liraglutide in type 2 diabetes mellitus. Arterial Hypertension. 2018;24(1):81–92 (In Russ.)]. Doi: 10.18705/1607-419X-2018-24-1-81-92.

5. Симаненкова А. В., Макарова М. Н., Васина Л. В. и др. Агонист рецептора глюкагоноподобного пептида-1 уменьшает дисфункцию эндотелия у больных сахарным диабетом 2-го типа // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2018. – Т. 17. – № 2. – С. 59–65. [Simanenkova AV, Makarova MN, Vasina LV i dr. Glucagon-like peptide-1 receptor agonist diminishes endothelial dysfunction in type 2 diabetic patients. Regional hemodynamics and microcirculation. 2018;17(2):59–65 (In Russ.)].

6. Chadderdon SM, Belcik JT, Bader L et al. Temporal changes in skeletal muscle capillary responses and endothelial-derived vasodilators in obesity-related insulin resistance. *Diabetes* 2016;65:2249–2257. Doi: 10.2337/db15-1574.

7. Godo S, Sawada A, Saito H et al. Disruption of physiological balance between nitric oxide and endothelium-dependent hyperpolarization impairs cardiovascular homeostasis in mice.

8. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2016;36:97–107. Doi: 10.1161/ATVBAHA.115.306499. ID# Diabetes Atlas. 8th ed. 2017. URL: <http://www.diabetesatlas.org/across-the-globe.html>.

9. Jia G, Sowers JR. Endothelial dysfunction potentially interacts with impaired glucose metabolism to increase cardiovascular risk. *Hypertension* 2014;64:1192–11931. Doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.04348.

10. Kagota S, Yamaguchi Y, Nakamura K et al. Altered endothelium-dependent responsiveness in the aortas and renal arteries of Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats, a model of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Gen Pharmacol*. 2000;34:201–209. Doi: 10.1016/S0306-3623(00)00061-6.

11. Katakam PV, Ujhelyi MR, Miller AW. EDHF-mediated relaxation is impaired in fructose-fed rats. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1999;34:461–467.

12. Kobuchi S, Miura K, Iwao H et al. Nitric oxide modulation of endothelium-derived hyperpolarizing factor in agonist-induced depressor responses in anesthetized rats. *Eur J Pharmacol* 2015;762:26–34. Doi: 10.1016/j.ejphar.2015.04.053.

13. Li N, Zhao Y, Yue Y et al. Liraglutide ameliorates palmitate-induced endothelial dysfunction through activating AMPK and reversing leptin resistance. *Biochem Biophys Res Commun*. 2016 Sep 9;478(1):46–52. Doi: 10.1016/j.bbrc.2016.07.095.

14. Liu H, Dear AE, Knudsen LB et al. A long-acting glucagon-like peptide-1 analogue attenuates induction of plasminogen activator inhibitor type-1 and vascular adhesion molecules. *J Endocrinol*. 2009 Apr;201(1):59–66. Doi: 10.1677/JOE-08-0468.

15. Mattace Raso G, Pirozzi C, d'Emmanuele di Villa Bianca R, et al. Palmitoylethanolamide treatment reduces blood pressure in spontaneously hypertensive rats: involvement of cytochrome p450-derived eicosanoids and renin angiotensin system. *PLoS One* 2015;10:e0123602. Doi: 10.1371/journal.pone.0123602.

16. Miller AW, Katakam PV, Ujhelyi MR. Impaired endothelium-mediated relaxation in coronary arteries from insulin-resistant rats. *J Vasc Res*. 1999;36:385–392.

17. Minami A, Ishimura N, Harada N et al. Exercise training improves acetylcholine-induced endothelium-dependent hyperpolarization in type 2 diabetic rats, Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. *Atherosclerosis*. 2002;162:85–92.

18. Sowers JR. Diabetes mellitus and vascular disease. *Hypertension* 2013;61: 943–947. Doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.00612.

19. Vincent MA, Clerk LH, Lindner JR et al. Microvascular recruitment is an early insulin effect that regulates skeletal muscle glucose uptake in vivo. *Diabetes*. 2004;53:1418–1423. Doi: 10.2337/diabetes.53.6.1418.

20. Wu X, Mäkynen H, Kähönen M et al. Mesenteric arterial function in vitro in three models of experimental hypertension. *J Hypertens*. 1996;14:365–372.

Информация об авторах

Симаненкова Анна Владимировна – аспирант, ассистент кафедры терапии факультетской с курсом эндокринологии, кардиологии и функциональной диагностики с клиникой ПСПбГМУ им. И. П. Павлова, e-mail: annasimanenkova@mail.ru.

Макарова Марианна Николаевна – клинический ординатор по специальности «Эндокринология» кафедры терапии факультетской с курсом эндокринологии, кардиологии и функциональной диагностики с клиникой ПСПбГМУ им. И. П. Павлова, e-mail: mari-an.inspiration@gmail.com.

Васина Любовь Васильевна – доктор медицинских наук, заведующая кафедрой биологической химии Научно-образовательного института биомедицины, старший научный сотрудник НИО микроциркуляции и метаболизма миокарда НМИЦ им. В. А. Алмазова, Санкт-Петербург, e-mail: lubov.vasina@gmail.com.

Бутомо Мария Игоревна – кандидат медицинских наук, заведующая отделением функциональной диагностики клиники НИИ сердечно-сосудистых заболеваний клиники научно-клинического исследовательского центра ПСПбГМУ им. И. П. Павлова, e-mail: mbuto-mo@mail.ru.

Шляхто Евгений Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой терапии факультетской с курсом эндокринологии, кардиологии и функциональной диагностики с клиникой ПСПбГМУ им. И. П. Павлова, генеральный директор НМИЦ им. В. А. Алмазова, Санкт-Петербург, e-mail: eshlyakhto@spmu.rssi.ru.

Власов Тимур Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патофизиологии с курсом клинической патофизиологии ПСПбГМУ им. И. П. Павлова, ведущий научный сотрудник НИО микроциркуляции и метаболизма миокарда НМИЦ им. В. А. Алмазова, Санкт-Петербург, e-mail: tvlasov@yandex.ru.

Authors information

Simanenkova Anna V. – MD, PhD student, assistant of faculty therapy department of Pavlov First Saint-Petersburg State medical university, e-mail: annasimanenkova@mail.ru.

Makarova Marianna N. – MD, clinical resident in endocrinology of faculty therapy department of Pavlov First Saint-Petersburg State medical university, e-mail: marian.inspiration@gmail.com.

Vasina Lubov V. – MD, PhD, head of the department of biological chemistry of Pavlov First Saint-Petersburg State medical university, senior researcher of the Laboratory of Myocardial Metabolism of Almazov National Medical Research Centre, Saint-Petersburg, e-mail: lubov.vasina@gmail.com.

Butomo Maria I. – MD, PhD, head of the department of functional diagnostics of the Research Institute of Cardiovascular diseases clinic of Pavlov First Saint-Petersburg State medical university, e-mail: mbutomo@mail.ru.

Shlyakhto Evgeny V. – MD, PhD, professor, academician of Russian Academy of Sciences, head of faculty therapy department of Pavlov First Saint-Petersburg State medical university, director general of Almazov National Medical Research Centre, Saint-Petersburg, e-mail: eshlyakhto@spmu.rssi.ru.

Vlasov Timur D. – MD, PhD, head of the department of pathophysiology with the course of clinical pathophysiology of Pavlov First Saint-Petersburg State medical university, leading researcher of the Laboratory of Myocardial Metabolism of Almazov National Medical Research Centre, Saint-Petersburg, e-mail: tvlasov@yandex.ru.