

Л.Л. Вавілова, Т.А. Крячок, Т.В. Талаєва

Моделювання інсулінорезистентності та комплексу супутніх метаболічних порушень за допомогою дексаметазону

В експериментальному дослідженні, що було проведено на 12 кролях, визначалась можливість відтворення комплексу факторів синдрому інсулінорезистентності при відсутності ожиріння як ініціюючого фактора за допомогою підшкірного введення синтетичного глюкокортикоїда дексаметазона з розрахунку 15 мкг/кг протягом 8 тиж. Показано прогресуюче зниження чутливості до інсуліну, про що говорило зменшення реакції на підшкірне його введення на 82 % в кінці експерименту, зростання на 200 % вмісту глікозильованого гемоглобіну. Ці зміни поєднувались із збільшенням вмісту тригліцеридів у крові на 67 %, загального холестерину на 109 %, вільних жирних кислот на 176 %. Паралельно збільшувалася вираженість системного запалення з підвищенням вмісту С-реактивного протеїну у крові в 12,5 раза та активності ангіотензинперетворювального ферменту на 215 %. Ці зрушення відмічались без змін маси тіла, що свідчило про можливість розвитку інсулінорезистентності внаслідок первинних порушень внутрішньоклітинного обміну ліпідів при відсутності системного ожиріння, яке сприяє зниженню чутливості до інсуліну, проте не є його безпосередньою причиною.

Ключові слова: інсулінорезистентність, ожиріння, системне запалення, метаболізм, глюкокортикоїди.

ВСТУП

Інсулінорезистентність (ІР) це – зниження здатності інсуліну посилювати захоплення глюкози клітинами периферичних тканин, зменшувати глюконеогенез у печінці та знижувати вміст глюкози в крові [14–17]. Проте ІР не обмежується порушеннями вуглеводного гомеостазу, а поєднується зі значними змінами обміну ліпідів типу атерогенної дисліпідемії і призводить до розвитку метаболічного синдрому, цукрового діабету 2-го типу, атеросклерозу та ішемічної хвороби серця (ІХС) [3, 8]. Визначається це тим, що інсулін відноситься до числа метаболічних регуляторів широкого спектра дії. Не менш вагомим є участь інсуліну в регуляції обміну ліпідів і ліпопротеїнів, і тому ІР вірогідно поєднується із гіперліпідемією, ожирінням, тра-

© Л.Л. Вавілова, Т.А. Крячок, Т.В. Талаєва

диційними і нетрадиційними факторами ризику ІХС [4]. Останнім часом ці явища набули надзвичайного поширення, і темпи їх розповсюдження продовжують зростати в епідемічному масштабі, що примусило розглядати проблеми боротьби з ІР і пов'язаних з нею кардіометаболічних порушень як найважливіший принцип попередження розповсюдження ІХС і її тяжких наслідків – інфаркту міокарда, інсульту, раптової серцевої смерті. Водночас сучасні уявлення про причини розвитку ІР досить суперечливі. ІР, як правило, поєднується із ожирінням, тому багато дослідників розглядають надлишкову масу тіла як безпосередню причину зниження чутливості до інсуліну клітин інсулінозалежних тканин – міоцитів, гепатоцитів, кардіоміоцитів [13]. Накопичення жирової тканини асоціюється зі зниженням системної чутливості до інсулі-

ну, а зменшення маси тіла супроводжується її відновленням. Так, у пацієнтів без цукрового діабету в широкому спектрі індекса маси тіла, показано, що чутливість до інсуліну і інтенсивність стимульованого ним захоплення глюкози негативно корелювали з усіма показниками ожиріння, вмістом жирової тканини, тригліцеридів (ТГ), і вільних жирних кислот у плазмі крові [7, 19].

Проте дані фундаментальних досліджень свідчать про те, що ІР виникає не лише при ожирінні, але й при ліподистрофії і навіть повній відсутності жирової тканини. Детермінантою розвитку ІР у цих умовах є гіперліпідемія з посиленою інфільтрацією тканин вільними жирними кислотами. Однак збільшення внутрішньоклітинної концентрації вільних жирних кислот з проявами їх ліпотоксичної дії може відмічатись і при відсутності гіперліпідемії як наслідок пригнічення активності ферментів, які зумовлюють β -окиснення ліпідів [11]. У скелетних м'язах це спостерігається при зниженій фізичній активності, при надлишковому надходженні глюкози, при дії глюкокортикоїдів у високій концентрації. Метою нашого дослідження було визначення, якою мірою первинні порушення внутрішньоклітинного обміну ліпідів, викликані застосуванням дексаметазону, можуть спричинити розвиток ІР і пов'язаних з нею системних проатерогенних порушень обміну ліпідів і ліпопротеїнів крові.

МЕТОДИКА

Дослідження проводили на 12 кролях породи шиншила масою 2,5–3,0 кг, яких утримували на стандартній дієті віварію і яким застосовували синтетичний глюкокортикоїд дексаметазон із розрахунку 15 мкг/кг протягом 8 тиж. Забір крові здійснювали у вихідному стані, через 2, 4, 6 і 8 тиж вранці натще. В крові досліджували вміст ліпідів (холестерину – ХС, ТГ і вільних жирних кислот), спектр ліпопротеїнів крові. Наявність і вираженість системного запалення

оцінювали за вмістом у крові С-реактивного протеїну (СРП). Чутливість до інсуліну визначали за допомогою підшкірного інсулінового тесту за змінами концентрації в крові глюкози та ТГ через 60 хв після введення інсуліну, а також за вмістом у крові глюкози та глікозильованого гемоглобіну. Біохімічні дослідження вмісту ліпідів, глюкози крові, СРП визначали з використанням реагентів фірми “Cormay” (Польща) та “BioSystems” (Іспанія) на напівавтоматичних біохімічних аналізаторах “Cormay Plus” та BioSystems BTS-330. Активність ангіотензинперетворювального ферменту у плазмі крові досліджували експрес-методом із використанням субстрату ФАПГГ (“Sigma”, США), тріс(оксиметил)-амінометан, хлорид натрію, ЕДТА (“Мерк”, Німеччина). Досліди проводили з дотриманням вимог Страсбурзької Конвенції щодо використання хребетних тварин в експерименті. Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою критерію t Стьюдента (пакет статистичної обробки Microsoft Excell). Використані методичні підходи детально описані в опублікованій раніше праці [1].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У кролів застосування дексаметазону супроводжувалося зменшенням реакції на підшкірне введення інсуліну за вмістом глюкози крові. У вихідному стані ця реакція через 60 хв сягала 50 %, тоді як уже в кінці 2-го тижня вона становила 35 %, що свідчило про зниження системної чутливості до інсуліну на 30 % ($P < 0,01$). Чутливість гепатоцитів до інсуліну, яку оцінювали за змінами вмісту ТГ у крові через 60 хв після його введення, в кінці 2-го тижня була практично відсутня. Вміст глюкози вірогідно не змінювався (від $6,31 \pm 0,34$ до $6,65$ ммоль/л $\pm 0,51$ ммоль/л), а глікозильованого гемоглобіну збільшився на 114 % ($P < 0,001$; рис. 1).

Слід відмітити, що дія дексаметазону спричинювала розвиток усього комплексу

системних порушень, які розглядаються як прояви „синдрому ІР”: виникнення атерогенної дисліпідемії у вигляді збільшення вмісту в крові ТГ на 32 % ($P<0,05$), вільних жирних кислот – на 116 % ($P<0,001$), загального ХС – на 82 % ($P<0,01$). Відношення вмісту ТГ до ХС ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ) збільшилося відносно вихідного рівня на 88 % ($P<0,01$), що розглядається як один із вірогідних ознак наявності ІР. Порушення обміну ліпідів асоціювалися з розвитком системного запалення, і вміст СРП у крові збільшився на 135 % ($P<0,001$). Фактором, що поєднував розвиток ІР, метаболічних порушень і системного запалення, було підвищення активності ангіотензинперетворювального ферменту на 46 % ($P<0,01$; рис. 2).

Вираженість відмічених порушень збільшувалася під час проведення експерименту. Системна чутливість до інсуліну в кінці 8-го тижня сягала лише 18 % від нормальної, і вміст глюкози в крові через 60 хв після введення інсуліну зменшився на 9 %. Практично повністю була відсутня чутливість гепатоцитів до інсуліну, і вміст ТГ у крові не змінився через 60 хв після його введення. Вміст у крові глікозильованого гемоглобіну в кінці 8-го тижня підвищився на 200 % ($P<0,001$; див. рис.

1). При цьому вміст глюкози вірогідно не змінився і становив $7,07\pm 0,65$ ммоль/л, що свідчило про компенсований характер порушень її метаболізму.

Більш вираженими були в кінці дослідження зміни, характерні для ІР. Вміст ТГ у крові збільшився на 67 % відносно вихідного значення (до $1,20$ ммоль/л $\pm 0,10$ ммоль/л, $P<0,01$), вміст загального ХС – на 109 % (до $2,49$ ммоль/л $\pm 0,23$ ммоль/л, $P<0,001$), вміст вільних жирних кислот – на 176 % (до $0,47$ ммоль/л $\pm 0,03$ ммоль/л, $P<0,001$). Співвідношення ТГ/ХС ЛПВЩ у цей час було підвищеним на 174 %. Паралельно посилювалися вираженість системного запалення з підвищенням вмісту СРП в 12,5 раза (до $12,70$ мг/л $\pm 1,41$ мг/л, $P<0,001$) та активності ангіотензинперетворювального ферменту на 215 % (до $56,6$ мккат/л $\pm 4,88$ мккат/л, $P<0,001$; див. рис. 2).

Питання про патогенез ІР набуло особливого значення після того, як стало зрозумілим, що порушення чутливості до інсуліну є провідним фактором розвитку комплексу метаболічних і функціональних порушень, які об'єднуються поняттям „метаболічний синдром” і лежать в основі патогенезу атеросклерозу, ІХС і цукрового діабету 2-го типу [8, 14]. Літературні дані останніх років свідчать про те, що можливість попе-

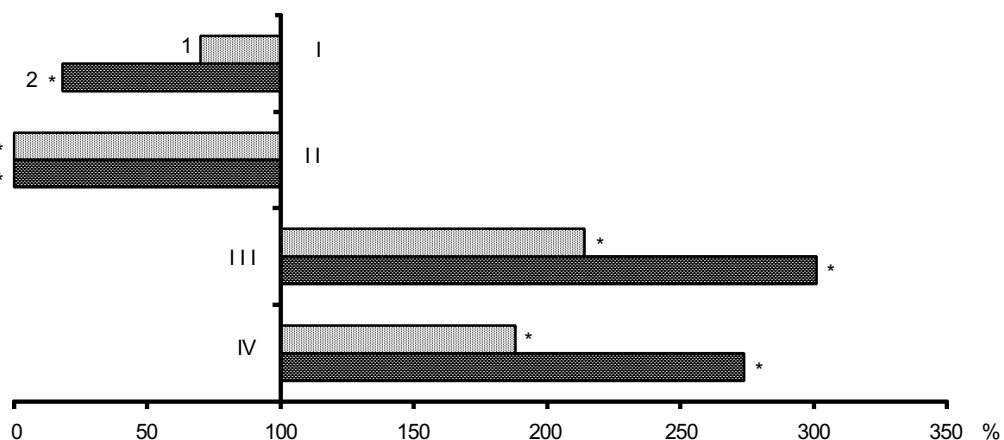


Рис.1. Зміни показників (у відсотках до вихідних значень) чутливості до інсуліну в кролів через 2 (1) та 8 (2) тиж при застосуванні дексаметазону: I – вміст глюкози через 60 хв після підшкірного введення інсуліну, II – вміст тригліцеридів через 60 хв після підшкірного введення інсуліну, III – вміст у крові глікозильованого гемоглобіну, IV – співвідношення тригліцеридів /холестерину ліпопротеїдів високої щільності. * $P<0,05$ порівняно з вихідними значеннями

редження поширення цих захворювань в епідемічному масштабі може забезпечити втручання в їх патогенез лише на початкових етапах розвитку. Це означає, що визначення причин розвитку ІР, її найбільш вірогідних ознак і можливість корекції на ранніх стадіях набуває вагомого значення в сучасній профілактичній і клінічній кардіології.

Відомо, що ІР, зазвичай, поєднується і надмірною масою тіла, а утримання тварин на жировій дієті призводить як до ожиріння, так і до розвитку ІР. Цей підхід до діагностики ІР має свої практичні переваги у зв'язку з тим, що дає змогу її здійснювати, особливо при проведенні популяційних обстежень, із застосуванням простих методів типу визначення індексу маси тіла.

Крім того, дані деяких клінічних досліджень вказують на те, що ІР може розвиватися і незалежно від ожиріння, і тому багато осіб з вже наявною ІР або підвищеним ризиком її розвитку може залишитися без своєчасного медичного втручання. У зв'язку з цим важливим є визначення механізмів розвитку ІР та її найбільш ранніх і вірогідних проявів.

Результати проведеного дослідження свідчать про те, що в основі розвитку ІР

лежать безпосередні внутрішньоклітинні порушення обміну ліпідів, а системні метаболічні та функціональні порушення можуть бути не лише їх причиною, а й наслідком. Дексаметазон як глюкокортикоїд здатний викликати пригнічення в-окиснення ліпідів і накопичення токсичних проміжних продуктів їх метаболізму. Його застосування призводило не лише до розвитку ІР, як системної, так і ІР гепатоцитів, але й до виникнення порушень метаболізму ліпідів та глюкози, до зростання активності системного запалення, тобто до комплексу факторів, які лежать в основі патогенезу атеросклерозу, ІХС і цукрового діабету 2-го типу. Встановлено, що в цих умовах чутливість до інсуліну різко пригнічувалася, супроводжуючись дворазовим збільшенням вмісту глюкози в плазмі крові. Цей ефект виникав при відсутності вісцерального ожиріння та гіперліпідемії, проте на тлі підвищення інтрамітоцелюлярного вмісту ліпідів на 30 %. Вважають, що цей ефект значною мірою є наслідком зменшення продукції оксиду азоту і супроводжується навіть підвищенням артеріального тиску. Відомо, що система оксиду азоту відіграє головну роль у регуляції чутливості

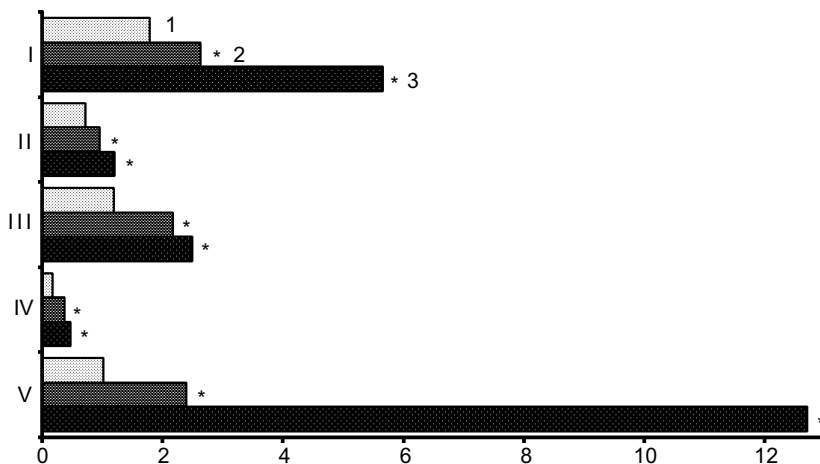


Рис.2. Зміни показників (в абсолютних величинах) метаболізму ліпідів, активності системного запалення у кролів на 2-му (2) та 8-му (3) тижнях при застосуванні дексаметазону у порівнянні з їх вихідним значенням (1): I – активність ангіотензинперетворювального ферменту (x 10 мккат/л), вміст тригліцеридів (II) та холестерину (III) у крові (ммоль/л), IV – вміст вільних жирних кислот (ммоль/л), V – вміст С-реактивного протеїну (мг/л). * P<0,05 порівняно з вихідними значеннями

периферичних тканин до інсуліну, і у мишей з видаленим геном синтетази оксиду азоту відмічається швидкий розвиток ІР [18]. Здатність глюкокортикоїдів пригнічувати системну чутливість до інсуліну здебільшого зумовлена посиленою продукцією тканинного інгібітора активатора плазміногена (РАІ-1), який є одним із найважливіших факторів патогенезу ожиріння та ІР [9, 12]. Встановлено, що пригнічення його синтезу сприяє підвищенню чутливості до інсуліну, зменшенню маси тіла, вираженості гіперглікемії та гіпертригліцеридемії [5].

Розвиток ІР при ожирінні або утриманні тварин на дієті, збагаченій ліпідами, також залежить від пригнічення клітинного β -окиснення ліпідів. Встановлено, що дієта, яка містить такі насичені жирні кислоти, як пальмітинова або збагачена n-6 лінолієва кислоти, суттєво зменшує інтенсивність β -окиснення ліпідів у поєднанні із посиленням внутрішньоклітинним утворенням ТГ і зниженням чутливості до інсуліну [2]. Водночас поліненасичені жирні кислоти типу ейкозопентаєнової сприяють збільшенню активності β -окиснення і підвищенню чутливості до інсуліну навіть в умовах ожиріння [10].

Наші результати свідчать про те, що ІР може розвиватися не лише при ожирінні, але і при периферичних метаболічних порушеннях, і в цьому разі системні її прояви, і навіть ожиріння мають вторинний характер і виникають на віддалених етапах розвитку процесу.

ВИСНОВКИ

1. ІР може виникати первинно без попередньої наявності ожиріння або гіперліпідемії і призводити до системних метаболічних і функціональних порушень проатерогенного характеру.

2. Застосування дексаметазону, який здатний викликати пригнічення β -окиснення ліпідів, накопичення токсичних проміжних продуктів їх метаболізму, призводило не лише до розвитку ІР як системної, так і ІР гепатоцитів, але й до виник-

нення порушень метаболізму ліпідів і глюкози, до підвищення активності запалення, тобто до комплексу факторів, які лежать в основі патогенезу атеросклерозу, ІХС і цукрового діабету 2-го типу.

Л.Л.Вавилова, Т.А.Крячок, Т.В.Талаєва

МОДЕЛИРОВАНИЕ ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ И КОМПЛЕКСА СОПУТСТВУЮЩИХ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ С ПОМОЩЬЮ ДЕКСАМЕТАЗОНА

В экспериментальном исследовании, проведенном на 12 кролях, определялась возможность воспроизведения комплекса факторов синдрома инсулинорезистентности в отсутствие ожирения как инициирующего фактора путем подкожного введения синтетического глюкокортикоида дексаметазона из расчета 15 мкг/кг на протяжении 8 нед. Полученные результаты свидетельствуют о прогрессирующем в динамике исследования снижении чувствительности к инсулину, о чем говорило уменьшение реакции на подкожное его введение на 82 % в конце эксперимента, возрастание на 200 % содержания гликозилированного гемоглобина. Эти изменения сочетались с увеличением содержания триглицеридов в крови на 67 %, общего холестерина на 109 %, свободных жирных кислот на 176 %. Параллельно увеличилась выраженность системного воспаления с повышением содержания С-реактивного протеина в крови в 12,5 раз и активности ангиотензин-превращающего фермента на 215 %. Эти сдвиги отмечались без изменений массы тела, что свидетельствовало о возможности развития инсулинорезистентности в результате первичных нарушений внутриклеточного обмена липидов в отсутствие системного ожирения, которое способствует снижению чувствительности к инсулину, но не является его непосредственной причиной.

Ключевые слова: инсулинорезистентность, ожирение, системное воспаление, метаболизм, глюкокортикоиды

L.L.Vavilova, T.A.Krjachok, T.V.Talaieva

MODELLING OF INSULIN RESISTANCE AND ACCOMPANYING METABOLIC DISTURBANCES WITH DEXAMETAZONE

In experiment carried out on 12 rabbits, the possibility of reproduction of insulin resistance syndrome components in the absence of obesity as initiating factor was assessed. The experimental rabbits were subjected to subcutaneous injections of synthetic glucocorticoid dexametazone during 8 weeks in the dose 15 mkg/kg. The obtained data showed a progressive decline in insulin sensitivity in the course of the experiment, and at the end of the 8-th week the reaction to subcutaneous insulin

injection decreased by 82%, the content of glycosylated hemoglobin increased by 200%. These changes were accompanied by increased Tg content in blood by 67%, the contents of total cholesterol and free fatty acids were increased by 109% and 176%, respectively. The C-reactive protein content in blood increased 12,5 times, indicating intensification of systemic inflammation, and the activity of angiotensin-converting enzyme increased by 215%. These changes were noted in the absence of body weight shifts indicating on the possibility of insulin resistance development as the result of primary disturbances in intracellular lipid metabolism in the absence of systemic obesity, which promotes the development of insulin resistance but does not trigger it.

Key words: insulin resistance, obesity, systemic inflammation, metabolism, glucocorticoids.

National Scientific Center "N.D. Strazhesko Institute Cardiology", Ukrainian Academy of Medical Sciences, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Таласва Т.В., Ларіонов О.П., Крячок Т.В. та ін. Характер та механізми порушень обміну ліпопротеїнів при відтворенні системного запалення в умовах експерименту // Укр. кардіол. журн. – 2006, № 4. – С.63–70.
2. Aas V., Rokling-Andersen M.H., Kase E.T. et al. Eicosapentaenoic acid (20:5 n-3) increases fatty acid and glucose uptake in cultured human skeletal muscle cells // J. Lipid Res. – 2006. – 47. – P.366–374.
3. Caglyan E., Blaschke F., Takata Y. et al. Metabolic syndrome-interdependence of the cardiovascular and metabolic pathways // Curr.Opin.Pharmacol. – 2005. – 5. – P.135–142.
4. Cefalu W.T. Insulin resistance and cardiometabolic risk. – In: Atlas of cardiometabolic risk / Ed.by W.T.Cefal, Ch.P. Cannon. – New-York. – London: Informa Healthcare, 2007. – P.27–37.
5. Crandall D.L., Quinet E.M.; El Ayachi S. et al. Modulation of adipose tissue development by pharmacological inhibition of PAI-1 // *Arterioscler. Thromb. Vascular. Biol.* – 2006. – 26. – P.2209–2218.
6. Fried S.K., Bunkin D.A., Greenberg A.S. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid // *J.Clin. Endocrinol. and Metabol.* – 1998. – 83. – P.847–850.
7. Gan S.K., Krikeos A.D., Poynten A.M. et al. Insulin action, regional fat, and myocyte lipid; altered relationships with increased adiposity // *Obes.Res.* – 2003. – 11. – P.1295–1305.
8. Gray R.S., Fabsitz R.R., Cowan L.D. et al. Risk factor clustering in the insulin resistance syndrome. The Strong Heart Study // *Amer. J.Epidemiol.* – 1998. – 148. – P.869–878.
9. Halleux C.M., Declerck P.J., Tran S.L. et al. Hormonal control of plasminogen activator inhibitor-1 gene expression and production in human adipose tissue: stimulation by glucocorticoids and inhibition by catecholamines // *J. Clin. Endocrinol. And Metabol.* – 1999. – 84. – P.4097–4105.
10. Itoh M., Suganami T., Satoh N. et al. Increased adiponectin secretion by highly purified eicosapentaenoic acid in rodent models of obesity and human obese subjects // *Arterioscler. Thromb. Vascular. Biol.* – 2007. – 27. – P.1918–1927.
11. Korach-André M., Gao J., Gounarides J. S. et al. Relationship between visceral adiposity and intramyocellular lipid content in two rat models of insulin resistance // *Amer. J.Physiol. Endocrinol. and Metabol.* – 2005. – 288. – P. E106–E116.
12. Morange P.E., Aubert J., Peiretti F. et al. Glucocorticoids and insulin promote plasminogen activator inhibitor 1 production by human adipose tissue // *Diabetes.* – 1999. – 48. – P.890–895.
13. Rahmouni K., Mark A.L., Haynes W.G., Sigmund C.D. Adipose depot-specific modulation of angiotensinogen gene expression in diet-induced obesity // *Amer. J. Physiol. Endocrinol. and Metabol.* – 2004. – 286. – P. E891–E895.
14. Reaven G.M. Compensatory hyperinsulinemia and the development of an atherogenic lipoprotein profile: The price paid to maintain glucose homeostasis in insulin-resistant individuals // *Endocrinol.Metab.Clin.North. – Amer.* – 2005. – 34. – P.49–62.
15. Reaven G.M. The metabolic syndrome: requiescat in pace // *Clin.Chem.* – 2005. – 51. – P.931–938.
16. Reaven G. All obese individuals are not created equal: insulin resistance is the major determinant of cardiovascular disease in overweight/obese individuals // *Diabetes Vascular. Dis. Res.* – 2005. – 2. – P.105–112.
17. Reaven G.M. The metabolic syndrome: is this diagnosis necessary? // *Amer. J.Clin. Nutr.* – 2006. – 83, №6. – P.1237–1247.
18. Shankar R.R., Wu Y., Shen H.Q. et al. Mice with gene disruption of both endothelial and neuronal nitric oxide synthase exhibit insulin resistance // *Diabetes.* – 2000. – 49. – P.684–687.
19. Tomlinson J.W., Finney J., Hughes B.A. et al. Reduced glucocorticoid production rate, decreased 5 β -reductase activity, and adipose tissue insulin sensitization after weight loss // *Ibid.* – 2008. – 57. – P.1536–1543.