

Лептин у женщин, больных сахарным диабетом 2 типа, не получающих лекарственную сахароснижающую терапию

А.В. Древаль, И.В. Мисникова, И.В. Триголосова

ГУ Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва
директор – член-корр. РАМН, профессор, д.м.н. Г.А. Оноприенко

Резюме. Проведено исследование особенностей секреции лептина плазмы натощак (ЛПН) и на фоне внутривенного теста толерантности к глюкозе (ВТТГ) у 32 женщин, больных сахарным диабетом 2 типа (СД2), не получающих лекарственную сахароснижающую терапию. Возраст обследуемых составил 57,5[50,0;62,5] лет, индекс массы тела – 32,7[29,1;37,1] кг/м². Материалы и методы. Внутривенно болюсно вводился 40% раствор глюкозы (из расчета 0,75 г глюкозы на килограмм массы тела). Уровень инсулина определялся натощак через 2, 70 и 120 минут после введения глюкозы. Уровень лептина определяли натощак и через 120 минут после введения глюкозы. Уровень медианы ЛПН составил 21,1[13,6;39,0] нг/мл. Между ЛПН и HOMA-R, а также между ЛПН и инсулином плазмы натощак (ИПН) выявлена положительная корреляционная зависимость ($r=0,5$, $p<0,05$). У больных с умеренной декомпенсацией СД2 медиана ЛПН в два раза превышала медиану ЛПН больных с выраженной декомпенсацией СД2: (28,0[16,8;47,5] и 12,6[9,2;14,3] нг/мл соответственно, ($p<0,05$)). Через два часа после болюсного внутривенного введения глюкозы произошло снижение лептина на 11%. Наибольшее снижение лептина произошло в группе больных с умеренной декомпенсацией СД2, где отмечалась наибольшая площадь под инсулинемической кривой. Между степенью снижения лептина и процентом увеличения инсулина на 70 минуте ВТТГ была выявлена положительная корреляционная зависимость ($r=0,5$, $p<0,05$). Между снижением лептина в ВТТГ и ЛПВП выявлена отрицательная корреляционная зависимость ($r=-0,4$, $p<0,02$). *Ключевые слова:* сахарный диабет 2 типа, лептин, инсулин, ВТТГ.

Resume. The aim of this study was to investigate the effect of acute hyperinsulinemia to fasting leptin level (fL) secretion and leptin secretion during intravenous glucose tolerance test (IVGTT). *Methods.* 32 T2DM women without antidiabetic drugs were studied. Median age of participants was 57,5[50,0;62,5] years, median body mass index (BMI) was 32,7[29,1;37,1]. Glucose intravenous bolus solution (40%) was dosing (0,75 g/kg BM). Insulin level was investigated in fasting state (FI), 2 min, 70 min and 120 min after glucose loading. Leptin was investigated in fasting (FL) and 120 min after glucose loading. *Results.* FL level was 21,1[13,6;39,0] ng/ml. Relationships between FL and HOMA-R, and between FL and FI were enough strong ($r=0,5$, $p<0,05$). FL in the patient with moderate diabetes control was twice as much compared to FL in patients with poor diabetes control: (28,0[16,8;47,5] v.s. 12,6[9,2;14,3] ng/ml, ($p<0,05$)). We found a significant decrease in leptin level at 120 min IVGTT (11% from FL, ($p<0,05$)). The most reduction of leptin level was in moderate diabetes control group, which had the overall area under insulin curve. We discovered a correlation between percentage of leptin reduction and insulin increase on 70 minute of IVGTT ($r=0,5$, $p<0,05$). Inverse correlation was found between percent of leptin reduction in IVGTT and high density lipoprotein level ($r=-0,4$, $p<0,02$). *Conclusion.* FL in moderate diabetes control group was two times higher compared to poor diabetes control group. Leptin level after glucose loading was decreased compared with FL. *Key words:* type 2 diabetes mellitus, leptin, insulin, IVGTT.

Введение

Жировую ткань в настоящее время принято рассматривать как отдельный орган, являющийся местом синтеза различных гормонов и биологически активных пептидов, таких как лептин, адипонектин и многие другие, большинство из которых влияют на патогенетические механизмы развития сахарного диабета 2 типа (СД2) [1, 14].

В частности, лептин снижает аппетит, подавляя секрецию в гипоталамусе нейропептида Y, стимулирующего чувство голода [17]. Инсулин и глюкоза стимулируют экспрессию м-РНК лептина в адипоцитах, вследствие чего уровень лептина повышается. Важнейшим свойством лептина является его антистеатогенный эффект, препятствующий эктопиче-

скому – вне жировой ткани – накоплению липидов, индуцирующих инсулинорезистентность (ИР) [19]. Особый интерес представляет постпрандиальная секреция лептина, которая влияет на чувство насыщения, окисление СЖК и элиминацию глюкозы мышечной и жировой тканями [3, 18].

Особенности секреции лептина у женщин, больных СД2, а также изменение секреции лептина после внутривенного введения глюкозы изучены недостаточно, что и явилось целью нашего исследования.

Материалы и методы

Исследование проведено на базе Московского областного научно-исследовательского клиниче-

Таблица 1

Общая характеристика обследуемой группы	
Параметры	Значение
Количество больных	32
Средний возраст, лет	57,5[50;62,5]
ЛПН, нг/мл	21,1[13,6;39,0]
ЛП2, нг/мл	18,9[11,8;31,8]
ИМТ, кг/м ²	32,7[29,1;37,1]
ОТ, см	105[99;110]
ОТ / ОБ	0,91[0,87;0,95]
ИПН, пмоль/л	73,5[37,0;34,5]
HbA _{1c} , %	6,8[6,2;7,6]
ГПН, ммоль/л	7,7[6,5;9,8]
k-индекс, л/мин.	1,5[1,1;1,7]
H-индекс, ммоль/л	5,4[4,6;7,2]
НОМА-ИР	3,6[1,6;6,3]
ОХ, ммоль/л	5,9[5,4;6,5]
ЛПНП, ммоль/л	4,0[2,8;4,6]
ЛПВП, ммоль/л	1,0[0,0;1,1]
ТГ, ммоль/л	2,2[1,6;3,2]

* медиана [интерквартильный интервал]

ского института им. М.Ф. Владимирского (МО-НИКИ). В нем приняли участие 32 женщины с СД2, ранее не получавшие сахароснижающую терапию. Общая характеристика обследуемой группы представлена в таблице 1. Медиана возраста больных составила 57,5[50;62,5] лет. В исследовании принимали участие больные с длительностью СД2 не более шести лет, причем у 28 из 32 обследованных больных он был выявлен впервые. В исследование не включались больные, ранее получавшие сахароснижающую терапию, имевшие хроническую почечную недостаточность, повышение уровня печеночных трансаминаз более чем в два раза. Исключены лица, принимавшие глюкокортикоиды менее чем за три месяца до включения в исследование.

У больных производился сбор жалоб и анамнеза, физикальный осмотр.

Впервые выявленный СД2 был установлен на основании повышения глюкозы плазмы натощак (ГПН): более 7 ммоль/л не менее чем в двух повторных исследованиях. Если ГПН была в пределах 6,1–7,0 ммоль/л, то обследуемому назначался пероральный тест толерантности к глюкозе для дифференциальной диагностики НТГ, НГН и СД2. При уровне гликемии в венозной плазме через два часа после нагрузки глюкозой более 11,1 ммоль/л диагностировали сахарный диабет.

Глюкоза плазмы крови исследовалась с помощью биохимического анализатора Hitachi 912 (Hoffmann-La Roche Ltd/Roche Diagnostics GmbH).

Анализ на гликированный гемоглобин (HbA_{1c}) проводили методом жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на анализаторе гликозилированного гемоглобина DS5 Glycomat (фирма Drew Scientific, Нидерланды).

Инсулин и С-пептид определяли РИА-методом с помощью тест-систем Immunotech RIA (Чехия).

Таблица 2

Уровни лептина натощак в зависимости от возраста, ИМТ, НОМА				
Показатели		n	ЛПН, нг/мл	P (между группами)
Возраст	<55	14	27,9[16,1-42,3]	0,1
	>55	18	17,1[10,3-7,2]	
ИМТ, кг/м ²	<30	10	11,8[7,7-23,4]	0,002
	>30	22	27,9[16,4-44,4]	
НОМА	<2,7	10	11,7[7,8-16,2]	0,0001
	>2,7	22	29,9[19,4-45,7]	

Индекс НОМА-IR (homeostasis model assessment – insulin resistance) рассчитывали по формуле:

$$\text{НОМА-IR} = (\text{ИПН} \times \text{ГПН}) / 22,5,$$

где ИПН – инсулин плазмы натощак (мкЕд/мл); для перевода пмоль/л в мкЕд/мл использовали формулу пмоль/л / 6,945;

ГПН – глюкоза плазмы натощак (ммоль/л).

Лептин измеряли методом планшетного двухслойного иммуноферментного анализа (сэндвич-ИФА). Тест-система – набор для измерения лептина производства фирмы DRG Instruments GmbH (Германия).

Определение уровня общего холестерина (ОХ), липопротеидов высокой (ЛПВП) / низкой плотности (ЛПНП), триглицеридов (ТГ) оценивали с помощью биохимического анализатора Hitachi 912 (Hoffmann-La Roche Ltd/Roche Diagnostics GmbH, Швейцария-Германия).

Внутривенный тест толерантности к глюкозе (ВТТГ) проводили путем внутривенного болюсного введения раствора 40%-ной глюкозы (из расчета 0,75 г глюкозы на килограмм массы тела) с последующим забором крови для определения уровней глюкозы. Схема забора крови: -20, -10, 0 (точка введения глюкозы), 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 14, 19, 22, 24, 27, 30, 40, 50, 70, 90, 120, 150, 180 минута. В каждой точке определяли глюкозу в условиях биохимической лаборатории. В последующем производили математический анализ результатов с определением показателя скорости элиминации глюкозы из крови (k-индекс) и показателя продукции глюкозы печенью (H-индекс) [2].

ВТТГ проводили всем больным и в нем определяли С-пептид и инсулин натощак через 70 и 120 минут после внутривенного введения глюкозы, уровень лептина в плазме натощак и через 120 минут после внутривенного введения глюкозы.

Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась при помощи программ SPSS, версия 13.4 для Windows. Результаты представлены в виде медианы и интерквартильного интервала. Для сравнения парных количественных показателей использовался критерий Вилкоксона. Для сравнения непарных показателей использовался тест Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при p<0,05 (95%-й уровень значимости). Для изучения взаимосвязи между количественными показателями применялся метод корреляции Спирмена.

Таблица 3

Уровни инсулина, глюкозы и лептина в зависимости от значения HbA_{1c}

Показатели	HbA _{1c} <7% (1)	HbA _{1c} 7%-8,5% (2)	HbA _{1c} >8,5% (3)
ЛПН, нг/мл	23,9[13,7-39] ^{*1-3}	28,0[16,8-47,5] ^{*2-3}	12,6[9,2-14,3]
Снижение ЛП2, %	8,4[0,2-17,6] ^{*1-2}	22,8[17,9-32,0]	10,4[-0,5-25,2]
ГПН, ммоль/л	7,1[6,3-9,7] ^{*1-3}	7,6[7,3-7,7] ^{*2-3}	12,3[8,7-15,0]
ГП2, ммоль/л	6,8[6,0-9,5] ^{*1-3}	8,1[7,3-9,5]	11,1[8,9-13,3]
ИПН, пмоль/л	74,5[37,0-140]	87,5[37,3-126,0]	47,5[11,5-68,5]
Увеличение ИП2, %	73,6[-5,4-10,7]	34,5[-11,7-713,8]	-12,3[-99,5-61,9]
Увеличение ИП70, %	101,4[59,1-233,3]	151,5[36,6-596,7]	79,4[-46,1-195,2]
Увеличение ИП120, %	33,6[18,9-125,2]	37,9[7,4-301,2]	29,5[-43,6-130,9]
S площадь под инсулинемической кривой	14750[11602-29690] ^{*1-3}	21425[9832-36776]	7930[4730-0265]
НОМА	3,3[1,6-5,7]	4,6[1,6-7,0]	3,8[1,4-10,7]

ИП2 – инсулин плазмы через две минуты после внутривенного введения глюкозы;
 ИП70 – инсулин плазмы через 70 минут после внутривенного введения глюкозы;
 ИП120 – инсулин плазмы через 120 минут после внутривенного введения глюкозы;
 ГП2 – глюкоза плазмы через 120 минут после внутривенного введения глюкозы.

Результаты и обсуждение

Медиана концентрации лептина плазмы натощак (ЛПН) в обследуемой группе находилась в пределах лабораторной нормы (1,1-27,6 нг/мл) и составила 21,1[13,6;39,0] нг/мл.

Между уровнем ЛПН и возрастом наблюдалась отрицательная корреляционная зависимость ($r=-0,3$, $p<0,04$), которая объясняется снижением с возрастом у женщин уровня эстрогенов, стимулирующих продукцию лептина [6, 15].

Между уровнем ЛПН и ИМТ отмечалась положительная корреляционная зависимость ($r=0,7$, $p<0,0001$). Соответственно, у больных с ИМТ>30 медиана ЛПН была почти в два раза выше, чем у больных с ИМТ менее 30 ($p<0,05$) (табл. 2). Полученные результаты совпадают с многочисленными литературными данными, отражающими прямую зависимость между жировой массой тела и продукцией лептина [4, 8, 13, 15].

Между уровнем ЛПН и уровнем инсулина плазмы натощак (ИПН) и ЛПН и индексом НОМА-IR выявлена положительная корреляционная зависимость ($r=0,5$, $p<0,001$), что указывает на определенное участие лептина в механизмах развития ИР, и это неоднократно подтверждалось данными других исследований [8, 13, 16].

В зависимости от уровня HbA_{1c}, обследованные больные были разбиты на три группы (табл. 3). Если у больных уровень HbA_{1c} был в пределах 7-8,5%, медиана ЛПН была более чем в два раза выше по сравнению с больными, у которых уровень HbA_{1c} превышал 8,5%: 28,0[16,8-47,5] и 12,6[9,2-14,3] нг/мл соответственно ($p<0,05$) (табл. 3). Обратная зависимость между степенью декомпенсации диабета и уровнем ЛПН наблюдалась и в других исследованиях [5, 7]. Поскольку продукция лептина прямо зависит от концентрации инсулина в крови, то обнаруженное снижение уровня ЛПН у больных СД2 на фоне декомпенсации диабета можно объяснить ростом относительного дефицита инсулина. Это в условиях длительной ИР приводит к снижению инсулинозависимой секреции

лептина, которая восстанавливается при назначении эффективной сахароснижающей терапии (компенсации диабета).

Уровень лептина через два часа (ЛП2) после болюсного внутривенного введения глюкозы составил 18,9[11,8;31,8] нг/мл, то есть снизился на 11% от исходного ($p<0,0001$). По данным исследования Flanagan D.E. с соавт., проведенного в 2007 году, у здоровых людей после внутривенной нагрузки глюкозой также было обнаружено снижение уровня лептина в течение первого часа после внутривенного введения глюкозы, однако через три часа уровень лептина увеличился [9]. Возможно, секреция лептина в постпрандиальный период носит фазовый характер, снижаясь через один-два часа после введения глюкозы и повышаясь через три часа. На это косвенно указывает снижение секреции лептина в первую половину шестичасового гиперинсулинемического клэмп у здоровых людей на фоне стимулированной ИР [10; 11].

Через два часа после внутривенной нагрузки глюкозой наблюдается снижение уровня лептина, причем в наибольшей степени – при умеренной декомпенсации диабета (HbA_{1c} 7%-8,5%). Следует заметить, что стимуляция секреции инсулина у женщин, больных СД2, была в наибольшей степени выражена именно в этой группе (площадь под инсулинемической кривой – 21425 [9832-36776]), (табл. 3). Следовательно, при СД2 степень снижения лептина через два часа после ВТТГ находится в прямой зависимости от инсулинемии. Наличие положительной корреляционной зависимости между степенью снижения лептина и процентом увеличения инсулина плазмы через 70 минут после внутривенного введения глюкозы ($r=0,5$, $p<0,05$) позволяет предположить, что снижение лептина в условиях внутривенной нагрузки глюкозой находится в зависимости от второй фазы секреции инсулина.

Итак, мы наблюдаем фактически два феномена зависимости секреции лептина и инсулина:

1) прямая зависимость между инсулинемией и уровнем лептина натощак, как в норме, так и у больных СД;

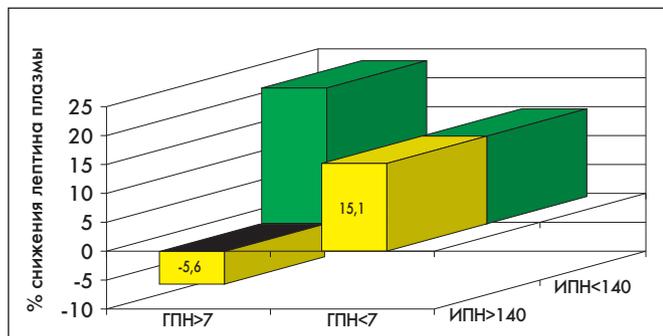


Рис. 1. Процент снижения лептина плазмы через 2 часа после в/в введения глюкозы в зависимости от уровней ИПН и ГПН

2) обратная зависимость между инсулинемией и лептинемией в условиях углеводной нагрузки.

Первый феномен объясняется известной зависимостью секреции лептина от инсулинозависимого поступления глюкозы в адипоцит [18]: чем выше поступление энергетического субстрата (глюкозы) в клетку, тем интенсивнее идет синтез лептина.

Второй феномен можно объяснить тем, что инсулин обладает самостоятельным, не зависимым от стимуляции транспорта глюкозы в адипоцит, прямым подавляющим влиянием на секрецию лептина, что проявляется только при очень высоких концентрациях инсулина, заведомо выше, чем это необходимо для стимуляции утилизации глюкозы. В этом случае, несмотря на стимулированное поглощение глюкозы адипоцитами, секреция лептина подавляется. В результате в условиях углеводной нагрузки, а тем более при инсулинорезистентности, инсулинемия достигает достаточного для подавления продукции лептина уровня, и мы наблюдаем обратную зависимость между инсулинемией и уровнем лептина в ближайшие два-три часа после приема (введения) глюкозы. В этом случае следует также предположить, что на адипоцитах существует пул инсулиновых рецепторов, связанных не с транспортом глюкозы, а с регуляцией секреции лептина, которые задействуются только

при высоких концентрациях инсулина в крови. Или возможен какой-то еще механизм реализации обратной зависимости инсулинемии и лептинемии в условиях углеводной нагрузки.

Выявлена отрицательная зависимость между степенью снижения ЛП2 и НОМА-IR ($r=-0,4$, $p<0,05$). То есть, чем выше НОМА-IR, тем меньше снижение лептина после введения глюкозы. Более того, у лиц с высоким уровнем НОМА-IR (ИПН > 140 $\mu\text{моль/л}$, ГПН > 7 ммоль/л) отмечено увеличение лептина после нагрузки (рис. 1). С другой стороны, степень снижения лептинемии через два часа прямо пропорциональна уровню инсулина через 70 минут после внутривенного введения глюкозы. Следовательно, как гиперинсулинемия натощак, так и в тесте связаны со степенью снижения лептина через два часа, причем первый параметр — обратно пропорционально, а второй — прямо пропорционально.

Выявлена слабая корреляционная зависимость между уровнями ЛПН и ТГ ($r=0,2$, $p<0,09$), что может подтверждать наличие гиполипидемического эффекта лептина, обусловленного снижением синтеза свободных жирных кислот [12].

Выводы

1. У больных с декомпенсированным СД2 отмечается снижение уровня ЛПН по сравнению с больными СД2 в стадии субкомпенсации и компенсации, что может свидетельствовать о снижении стимуляции секреции лептина внутриклеточной глюкозой на фоне декомпенсации СД.

2. Наличие положительной корреляционной зависимости между уровнем лептина плазмы натощак и НОМА свидетельствует об определенной роли лептина в механизмах развития ИР.

3. У больных СД2 через два часа после внутривенного введения глюкозы отмечается снижение уровня лептина, наиболее выраженное при сохранной секреции инсулина.

Литература

- Дедов И.И., Мельниченко Г.А. Ожирение. — М.: МИА, 2004, С. 53–62.
- Древаль А.В. Двумерный параметр кинетики глюкозы в диагностике сахарного диабета // Лабораторное дело, 1988; С. 4: 47–54.
- Bates S.H., Gardiner J.V., Jones R.B., Bloom S.R., Bailey C.J. Acute Stimulation of Glucose Uptake by Leptin in L6 Muscle Cells // *Horm. Metab. Res.*, 2002; 34: P. 111–5.
- Bergen H., Funabashi T., Kleopoulos S.P., Zhong Y.G., Bauman W.A., Mobbs C.V. Obese gene expression: reduction by fasting and stimulation by insulin and glucose in lean mice, and persistent elevation in acquired (diet-induced) and genetic (yellow agouti) obesity // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996; 93: P. 3434–8.
- Buyukbese M.A., Cetinkaya A., Kocabas R., Guven A., Tarakcioglu M. Leptin levels in obese women with and without type 2 diabetes mellitus // *Cell Signal*, 2002; 14(8): P. 655–63.
- Casabiell X., Pineiro V., Peino R., et al. Gender differences in both spontaneous and stimulated leptin secretion by human omental adipose tissue in vitro: dexamethasone and estradiol stimulate leptin release in women, but not in men // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1998; 83: P. 2149–55.
- Clement K., Lahlou N., Ruiz J. et al. Association of poorly controlled diabetes with low serum leptin in morbid obesity // *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 1997; 21: P. 556–61.
- Considine R.V., Sinha M.K., Heiman M.L., Kriauciunas A., Stephens T.W., Nyce M.R., Ohannesian J.P., Marco C.C., McKee L.J., Bauer T.L. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans // *N. Engl. J. Med.*, 1996; 334: P. 292–5.
- Flanagan D.E., Vaile J.C. Gender differences in the relationship between leptin, insulin resistance and the autonomic nervous system // *Regulatory Peptides*, 2007, 140: P. 37–42.
- Fried S.K., Ricci M.R., Russell C.D., et al. Regulation of leptin production in humans // *J. Nutr.*, 2000; 130: 3127S–31S.
- Fruehwald-Schultes B., Oltmanns K.M., Kern W., Born J., Fehm H.L., Peters A. The effect of experimentally induced insulin resistance on the leptin response to hyperinsulinaemia // *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 2002; 26: P. 510–6.
- Iritani N., Sugimoto T., Fukuda H. Gene expressions of leptin, insulin receptors and lipogenic enzymes are coordinately regulated by insulin and dietary fat in rats // *J. Nutr.*, 130: P. 1183–88, 2000.
- Maffei M., Halaas J., Ravussin E., Pratley R.E., Lee G.H., Zhang Y., Fei H., Kim S., Lallone R., Ranganathan S. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects // *Nat. Med.*, 1995; 1: P. 1155–61.
- Meier U., Gressner A.M. Endocrine Regulation of Energy Metabolism: Review of Pathobiochemical and Clinical Chemical Aspects of Leptin, Ghrelin, Adiponectin, and Resistin // *Clinical Chemistry*, 2004; 50: P. 1511–5.

15. Ostlund R.J., Yang J.W., Klein S., Gingerich R. Relation between plasma leptin concentration and body fat, gender, diet, age, and metabolic covariates // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 1996; 81: P. 3909–13.
16. Sandhofer A., Laimer M., Ebenbichler C.F., Kaser S., Paulweber B., Patsch J.R. Soluble leptin receptor and soluble receptor-bound fraction of leptin in the metabolic syndrome // *Obes. Res.*, 2003; 11: P. 760–68.
17. Schwartz M.W., Woods S.C., Porte D., Seeley R.J., Baskin D.G. Central nervous system control of food intake // *Nature*, 2000; 404: P. 661–71.
18. Sivitz W.I., Walsh S.A., Morgen D.A., Thomas M.J., Haynes W.G. Effects of leptin on insulin sensitivity in normal rats // *Endocrinology*, 1997; 138: P. 3395–401.
19. Unger R. Lipotoxic Diseases // *Annu. Rev. Med.*, 2002; 53: P. 319–36.

Древаль А.В.	д.м.н., проф., руководитель отделения терапевтической эндокринологии ГУ МНИКИ E-mail: endocrinolog-cab@yandex.ru
Мисникова И.В.	к.м.н., старший научный сотрудник отделения терапевтической эндокринологии ГУ МНИКИ E-mail: inna-misnikova@mail.ru
Триголосова И.В.	врач отделения терапевтической эндокринологии ГУ МНИКИ E-mail: trigolosova_ira@mail.ru
