

КОРТИКОСТЕРОИДНЫЙ ПРОФИЛЬ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЖЕНЩИН С ОЖИРЕНИЕМ И НАРУШЕНИЯМИ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА

Елена Владимировна АНУФРИЕНКО, Ольга Павловна ЧЕРКАСОВА, Вера Георгиевна СЕЛЯТИЦКАЯ

Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии определен кортикостероидный профиль сыворотки крови женщин с ожирением и нарушениями углеводного обмена. При сочетанных нарушениях углеводного обмена средней тяжести и тяжелой формы содержание в сыворотке крови 11-дезоксикортизола, непосредственного предшественника в синтезе кортизола, снижалось. Полученные результаты позволяют предполагать повышение активности 11 β -гидроксилазы в корковом веществе надпочечников, что может быть звеном одного из патогенетических механизмов развития сахарного диабета типа 2 на фоне ожирения.

Ключевые слова: ожирение, нарушения углеводного обмена, кортикостероиды.

Ожирение, особенно его абдоминальный фенотип, являющийся предшественником метаболического синдрома, сердечно-сосудистых заболеваний и сахарного диабета (СД) типа 2, становится сегодня одной из наиболее важных проблем общественного здоровья во всем мире [1]. Среди множества различных потенцирующих ожирение факторов наиболее важная роль принадлежит нарушениям гормональной регуляции процессов метаболизма, при этом особого внимания заслуживают глюкокортикоидные и половые гормоны [2]. Эти гормоны играют важную координирующую роль в регуляции метаболизма и сердечно-сосудистой функции, участвуют в ответе организма на острый и хронический стресс. В свою очередь хронический стресс в сочетании с положительным энергетическим балансом может изменять активность гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы (ГГAKC) и повышать риск развития ожирения, особенно абдоминального [3].

В настоящее время получены доказательства ассоциации абдоминального ожирения с гиперактивностью ГГAKC и нарушениями баланса андрогенов, специфика которых определяется полом человека [1, 4]. Абдоминальное ожирение также связано с повышением активности процессов превращения кортизола в кортизон в периферических тканях и с последующей стимуляцией стероидогенеза в коре надпочечников по механизму обратной связи [4, 5]. Следовательно, как дизрегуляция активности ГГAKC, так и изменения метаболизма кортизола в периферических тканях могут играть важную роль в патофизиологии абдоминального ожирения [6]. Поскольку глюкокортикоидные гормоны стимулируют процессы глюконеогенеза в печени, дизрегуляция ГГAKC также может быть звеном патогенеза сахарного диабета типа 2 у лиц

с ожирением. Все это делает необходимым изучение характера изменений процессов стероидогенеза в надпочечниках у больных с ожирением и нарушениями углеводного обмена.

Целью работы было исследование особенностей надпочечникового стероидогенеза у женщин с ожирением и разной степенью нарушений углеводного обмена с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии, который дает возможность определять стероидный профиль крови и выявлять нарушения синтеза и метаболизма стероидных гормонов [7].

Материал и методы

На базе клиники НЦКЭМ СО РАМН было обследовано 43 женщины в возрасте от 40 до 60 лет с ожирением (индекс массы тела, определенный как отношение массы тела к росту в квадрате, у всех пациенток был более 30 кг/м²). Все включенные в обследование женщины дали информированное согласие на участие в исследовании, которое соответствовало этическим стандартам, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» (2000 год) и с Правилами клинической практики в Российской Федерации, утвержденными приказом Минздрава РФ № 266 (2003 год).

Обследование включало забор крови из вены в утреннее время натощак с последующим определением содержания в сыворотке общего холестерина (нормативная величина до 5,2 ммоль/л), триглицеридов (нормативная величина от 0,5 до 1,7 ммоль/л), холестерина липопротеидов высокой плотности (нормативная величина для женщин выше 1,3 ммоль/л). В капиллярной крови определяли содержание глюкозы (нормативные

Ануфриенко Е.В. — к.м.н., врач-эндокринолог консультативно-поликлинического отделения клиники
Черкасова О.П. — к.б.н., ст.н.с. лаборатории эндокринологии
Селятицкая В.Г. — д.б.н., проф., руководитель лаборатории эндокринологии

величины от 3,33 до 5,55 ммоль/л). Все измерения проводили на биохимическом анализаторе «Konelab 30i», Thermo Clinical LabSystems (Финляндия). Содержание в сыворотке иммунореактивного инсулина, С-пептида и лептина измеряли с использованием наборов для иммуноферментного анализа: Insulin-ELISA Monobind, США (нормативная величина для взрослых 0,7–9,0 мкМЕ/мл); Monobind_C-peptide-ELISA, США (нормативная величина 0,7–1,9 нг/мл); DBC CAN-L-4620 Version: 6.0/Diagnostics Biochem., Канада (нормативная величина для женщин 3,7–11,1 нг/мл) соответственно.

Содержание кортикостероидов (кортизола, кортизона, 11-дезоксикортизола, 17 α -оксипрогестерона, кортикостерона) в сыворотке крови определяли с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [8]. Сыворотку (1,0 мл) экстрагировали 4 мл гексана, органический слой отбрасывали; к водной фазе приливали 9 мл хлороформа, экстрагировали 5 мин, органический слой упаривали досуха, растворяли в 24 мкл элюента и анализировали с помощью ВЭЖХ. Для определения содержания стероидов использовали метод микроколоночной ВЭЖХ на хроматографе «Миличром-1» (НПО «Научприбор», Россия), оснащенный аналитической колонкой размером 62 \times 2 мм (Силасорб C₁₈, 5 мкм). В качестве элюента использовали градиент ацетонитрила в воде от 30 до 45 %; длина волны детектирования 240 нм. Результаты выражали в нг/мл сыворотки крови.

Статистическую обработку полученных данных выполняли с использованием пакета прикладных программ Statistica 6 (Statsoft, США). Полученные данные представлены в таблицах как среднее арифметическое и ошибка среднего ($M \pm m$). Оценку межгрупповых различий при множественном сравнении проводили с использованием критерия Крускала – Уоллиса, при парном сравнении применяли критерий Манна – Уитни. Выявленные различия считали статистически значимыми при величине $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В зависимости от уровня гликемии (табл. 1) и степени тяжести нарушений углеводного обмена (НУО) [9], все обследованные женщины были разделены на 3 группы: 1 группа – без НУО или с легкой формой СД типа 2; 2 группа – с СД типа 2 средней тяжести; 3 группа – с СД типа 2 тяжелой формы. Женщины в выделенных группах находились в климактерическом периоде онтогенеза, однако средний возраст пациенток 1 группы был ниже величины этого показателя женщин 2 и 3 групп (табл. 1). Средние величины индекса массы тела у пациенток разных групп статистически значимо не различались, однако прослеживается тенденция к ее снижению у женщин 3 группы с тяжелой формой СД типа 2.

Поскольку все обследованные женщины имели ожирение, закономерно, что среднее содержание триглицеридов и общего холестерина в сыворотке крови было повышено, а концентрация холесте-

Таблица 1

Эндокринно-метаболические показатели женщин с ожирением и разной степенью нарушений углеводного обмена ($M \pm m$)

Показатель	Группы женщин		
	1 группа (n = 24)	2 группа (n = 11)	3 группа (n = 8)
Возраст, лет	51,5 \pm 2,0	55,8 \pm 2,2	55,6 \pm 2,1
Индекс массы тела, кг/м ²	33,7 \pm 1,3	33,3 \pm 1,0	30,4 \pm 1,0
Содержание глюкозы, моль/л	4,86 \pm 0,37	6,68 \pm 0,35*	8,96 \pm 0,74*. [#]
Содержание триглицеридов, моль/л	1,94 \pm 0,18	2,31 \pm 0,29	2,33 \pm 0,42
Содержание общего холестерина, моль/л	6,24 \pm 0,27	6,03 \pm 0,28	6,73 \pm 0,55
Содержание холестерина липопротеидов высокой плотности, моль/л	1,19 \pm 0,05	1,20 \pm 0,10	1,27 \pm 0,11
Содержание иммунореактивного инсулин, мкМЕ/мл	15,6 \pm 1,5	13,1 \pm 1,3	— ^a
Содержание С-пептида, нг/мл	1,78 \pm 0,25	2,91 \pm 0,29*	1,66 \pm 0,12 [#]
Содержание лептин, нг/мл	30,4 \pm 10,7	46,5 \pm 9,5	28,5 \pm 2,5

Примечание: ^a – содержание иммунореактивного инсулина не определяли, поскольку женщины 3 группы получали инсулинотерапию. Здесь и в табл. 2: * – достоверное ($p < 0,05$) отличие от величины соответствующего показателя женщин группы 1, [#] – достоверное ($p < 0,05$) отличие от величины соответствующего показателя женщин группы 2.

рина липопротеидов высокой плотности понижена относительно нормативных величин, не различаясь между группами. У пациенток 2 и 3 групп среднее содержание в сыворотке крови триглицеридов имело тенденцию к повышению относительно величины соответствующего показателя у женщин 1 группы (табл. 1).

Пациентки 3 группы в связи с наличием выраженной гипергликемии и тяжелым течением СД типа 2 получали инсулин, в 1 и 2 группах лечения инсулином во время обследования не было. Средние величины содержания в сыворотке крови иммунореактивного инсулина у женщин 1 и 2 групп не различались, в то время как содержание С-пептида в сыворотке крови женщин 2 группы было выше нормативных величин и статистически значимо больше, чем у женщин 1 группы (табл. 1). Такой подъем концентрации С-пептида указывает на компенсаторную реакцию со стороны инсулярной системы на гипергликемию и усиление синтеза проинсулина в β -клетках островков Лангерганса. Тот факт, что у женщин 2 группы содержание иммунореактивного инсулина не было повышено относительно величины этого показателя в 1 группе, указывает на одновременную стимуляцию процессов деградации инсулина. У женщин 3 группы среднее содержание С-пептида в сыворотке крови было ниже, чем у женщин 2 группы, хотя концентрация глюкозы была выше в полтора раза, что, с одной стороны, свидетельствует о формирующемся истощении β -клеток островков Лангерганса, а с другой — может явиться следствием проводимой инсулинотерапии. Содержание лептина, гормона жировой ткани, в сыворотке крови женщин всех трех групп было существенно выше нормативных величин, что обусловлено имеющимся у них ожирением [10].

Таким образом, обследованные пациентки имели ожирение, дислипидемию, гиперинсулинемию (в 1 и 2 группах), что указывает на формирующуюся инсулинорезистентность, и гиперлептинемию. О нарушениях углеводного обмена у женщин 2 и 3 групп свидетельствовало повышенное содержание глюкозы в крови, причем у женщин

3 группы были выявлены признаки развивающегося истощения β -клеток островков Лангерганса поджелудочной железы.

Содержание основного глюкокортикоидного гормона кортизола в сыворотке крови женщин не различалось между группами (табл. 2) и находилось в пределах колебаний концентрации гормона, определенных ранее методом ВЭЖХ для здоровых лиц [11]. Не было выявлено различий в содержании в сыворотке крови женщин и других кортикостероидов, а именно: 17α -оксипрогестерона, образующегося из прогестерона и являющегося предшественником в синтезе 11-дезоксикортизола и кортизола; кортикостерона, также образующегося из прогестерона через промежуточный синтез дезоксикортикостерона и являющегося предшественником синтеза 18-оксикортикостерона и альдостерона; кортизона — неактивного метаболита кортизола, образующегося из него в тканях периферических органов, преимущественно в почках и кишечнике [12, 13]. Однако концентрация в сыворотке крови 11-дезоксикортизола, непосредственного предшественника в синтезе кортизола, у женщин 2 группы была в 2,3 раза, а у женщин 3 группы — в 6,9 раза ниже, чем у пациенток 1 группы. При этом стоит еще раз подчеркнуть, что содержание 17α -гидроксипрогестерона, непосредственного предшественника в синтезе 11-дезоксикортизола, не менялось.

Для измерения активности ферментов стероидогенеза используют метод, заключающийся в расчете отношения концентраций продукта реакции и его предшественника [14, 15]. Активность 11β -гидроксилазы оценивали по отношению в крови обследованных женщин концентраций кортизола и 11-дезоксикортизола, активность 21 -гидроксилазы — по отношению концентраций 11-дезоксикортизола и 17 -оксипрогестерона. Активность 11β -гидрокси-стероиддегидрогеназы, фермента, который осуществляет взаимное превращение кортизола и его низкоактивной формы кортизона в тканях различных органов [13], оценивали по их отношению.

Величина отношения концентраций кортизола и 11-дезоксикортизола повышалась от 1 к 3 груп-

Таблица 2

Содержание кортикостероидов (нг/мл) в плазме крови женщин с ожирением и разной степенью нарушений углеводного обмена ($M \pm m$)

Содержание кортикостероида	Группы женщин:		
	1 группа (n = 24)	2 группа (n = 11)	3 группа (n = 8)
17α -оксипрогестерон	$14,4 \pm 2,6$	$15,0 \pm 0,9$	$17,0 \pm 3,5$
11-дезоксикортизол	$13,7 \pm 1,6^*$	$6,0 \pm 1,5$	$2,0 \pm 0,6^{*,\#}$
Кортизол	$105,6 \pm 6,7$	$94,7 \pm 9,5$	$102,3 \pm 17,3$
Кортизон	$14,3 \pm 1,2$	$11,5 \pm 0,9$	$12,6 \pm 1,6$
Кортикостерон	$5,6 \pm 0,7$	$5,2 \pm 0,8$	$8,5 \pm 2,5$

пам и составила 7,71, 15,78 и 51,15 соответственно, а 11-дезоксикортизола и 17-оксипрогестерона — наоборот, снижалась, составив 0,93, 040 и 0,12 соответственно. Полученные результаты позволяют предполагать, что увеличение тяжести нарушений углеводного обмена у женщин ассоциировано с повышением активности 11 β -гидроксилазы — фермента стероидогенеза в коре надпочечников, отвечающего за активность синтеза основного глюкокортикоидного гормона человека кортизола. Полученные нами результаты подтверждаются сведениями из литературных источников о роли гипергликемии у пациентов с СД типа 2 в усилении активности ГГКС [14].

Активность 21-гидроксилазы, катализирующей образование 11-дезоксикортизола из 17-оксипрогестерона, снижалась, что можно расценить как компенсаторную реакцию, направленную на ограничение поступления субстрата для синтеза кортизола. Можно высказать и другое предположение, что активность 21-гидроксилазы не менялась, в этом случае выявленное снижение величины отношения концентраций 11-дезоксикортизола и 17-оксипрогестерона можно отнести за счет активации 11 β -гидроксилазы и большего расхода 11-дезоксикортизола в реакции синтеза кортизола. Второе предположение подтверждается литературными сведениями, указывающими на ключевую роль изменения активности именно 11 β -гидроксилазы в развитии ряда патологических состояний [16, 17].

Недавно были опубликованы сведения, указывающие, что к особенностям надпочечникового стероидогенеза у женщин репродуктивного возраста, страдающих ожирением, в частности, относится снижение содержания 11-дезоксикортизола в сыворотке крови на фоне неизменной концентрации кортизола, что говорит о повышении активности 11 β -гидроксилазы [15]. Все женщины, обследованные нами, имели ожирение, но находились в климактерическом периоде. Полученные результаты показали выраженное снижение содержания 11-дезоксикортизола в сыворотке крови только при увеличении тяжести нарушений углеводного обмена, при этом величина отношения концентраций кортизол/11-дезоксикортизол у женщин 1 группы без нарушений углеводного обмена совпадала со значениями этого показателя, приведенными в работе [14] для женщин аналогичного возраста с нормальной массой тела. Можно предположить, что у женщин в климактерическом периоде изменения баланса половых стероидных гормонов затрагивают также и синтез кортикостероидов.

Величина отношения концентрации кортизола к содержанию кортизона не менялась в разных группах женщин и составила 7,38, 8,23 и 8,12 в 1, 2 и 3 группах соответственно. Встает вопрос, если мы предполагаем, что с нарастанием тяжести

нарушений углеводного обмена увеличивается активность 11 β -гидроксилазы и повышается синтез кортизола, почему в сыворотке крови не меняются ни его концентрация, ни величина отношения концентраций кортизола и кортизона? Полученные в последние годы результаты убедительно доказали, что при ожирении повышается содержание кортизола в адипоцитах и в портальной вене, но не в системном кровотоке. Увеличение уровня кортизола в адипоцитах при ожирении обусловлено повышенной активностью в них фермента 11 β -гидроксистероиддегидрогеназы типа 1, катализирующего превращение инертного кортизона в физиологически активный гормон кортизол [18, 19]. Поступающий в печень через портальную вену в высоких количествах, кортизол индуцирует синтез белков, включая ферменты глюконеогенеза, способствует гипергликемии, формированию инсулинорезистентности гепатоцитов, усиливает висцеральное ожирение, утяжеляя тем самым метаболические нарушения у лиц с ожирением [20].

Заключение

Нарастающее снижение содержания 11-дезоксикортизола, отражающее повышение активности 11 β -гидроксилазы в корковом веществе надпочечников, при увеличении тяжести нарушений углеводного обмена может быть звеном одного из патогенетических механизмов развития сахарного диабета типа 2 на фоне ожирения у женщин в климактерическом периоде онтогенеза.

Список литературы

1. Pasquali R., Vicennati V., Gambineri A. et al. Sex-dependent role of glucocorticoids and androgens in the pathophysiology of human obesity // *Int. J. Obes.* 2008. 32. (12). 1764–1779.
2. Pasquali R., Vicennati V., Gambineri A. Adrenal and gonadal function in obesity // *J. Endocrinol. Invest.* 2002. 25. (10). 893–898.
3. Bose M., Oliván B., Laferrere B. Stress and obesity: the role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in metabolic disease // *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.* 2009. 16. (5). 340–346.
4. Goth M., Hubina E., Korbonits M. Correlations between the hypothalamo-pituitary-adrenal axis and the metabolic syndrome // *Orv. Hetil.* 2005. 146. (2). 51–55.
5. Golub M.S. The adrenal and the metabolism syndrome // *Curr. Hypertens. Rep.* 2001. 3. (2). 117–120.
6. Pasquali R., Vicennati V., Cacciari M. et al. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in obesity and the metabolic syndrome // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2006. 1083. 111–128.
7. Великанова Л.И., Шафигуллина З.Р., Воробина Н.В. и др. Диагностическое значение высокоэффективной жидкостной хроматографии кортикостероидов при заболеваниях гипоталамо-надпочечниковой системы // *Пробл. эндокринологии.* 2005. 51. (6). 9–12.

- Velikanova L.I., Chafigullina Z.R., Vorochobina N.V. et al. The diagnostic value of high performance liquid chromatography of corticosteroids at pituitary-adrenal disorders // Probl. endokrinol. 2005. 51. (6). 8–11.
8. Байкова Л.А., Федоров В.И., Черкасова О.П. Анализ кортикостероидов плазмы крови методом микроколоночной жидкостной хроматографии // Лаб. дело. 1989. (5). 57–60.
- Baikova L.A., Fedorov V.I., Cherkasova O.P. Analysis of the blood plasma corticosteroids by micro-column liquid chromatography // Lab. delo. 1989. (5). 57–60.
9. Дедов И.И., Шестакова М.В. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом (издание третье, дополненное). М., 2007. 112 с.
- Dedov I.I., Shestakova M.V. Algorithms of specialized medical treatment of patients with diabetes mellitus. M., 2007. 112 p.
10. Mantzoros C.S. The role of leptin in human obesity and disease: a review of current evidence // Ann. Intern. Med. 1999. 130. 671–680.
11. Федоров В.И., Черкасова О.П. Недостаточность и дисбаланс кортикоидной системы как факторы риска бесплодия и дисфункции яичников // Клин. лаб. диагностика. 2000. (6). 7–10.
- Fedorov V.I., Cherkasova O.P. Insufficiency and disbalance of corticoid system as risk factors of sterility and ovarian dysfunction // Klin. lab. diagnostika. 2000. (6). 7–10.
12. Колесникова Г.С., Гончаров Н.П., Воронцов В.И. и др. Сравнительная характеристика стероидогенеза и его биоритма в коре надпочечников в условиях их гиперфункции // Вестник РАМН. 1994. (12). 39–44.
- Kolesnikova G.S., Goncharov N.P., Vorontsov V.I. et al. Comparative characterization of steroidogenesis and its biorhythm in the adrenal cortex during their hyperfunction // Vestnik RAMN. 1994. (12). 39–44.
13. Walker B.R. Steroid metabolism in metabolic syndrome X // Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab. 2001. 15. (1). 111–122.
14. Ueshiba H., Shimizu Y., Hiroi N. et al. Decreased steroidogenic enzyme 17,20-lyase and increased 17-hydroxylase activities in type 2 diabetes mellitus // Eur. J. Endocrinol. 2002. 146. (3). 375–380.
15. Гончаров Н.П., Колесникова Г.С. Параметры надпочечникового стероидогенеза у женщин репродуктивного возраста, страдающих ожирением // Пробл. эндокринологии. 2008. 54. (6). 16–21.
- Goncharov N.P., Kolesnikova G.S. Adrenal steroidogenesis parameters in reproductive age obese women // Probl. endokrinol. 2008. 54. (1). 8–11.
16. Nimkarn S., New M.I. Steroid 11beta-hydroxylase deficiency congenital adrenal hyperplasia // Trends Endocrinol. Metab. 2008. 19. (3). 96–99.
17. Romero D.G., Rilli S., Plonczynski M.W. et al. Adrenal transcription regulatory genes modulated by angiotensin II and their role in steroidogenesis // Physiol. Genomics. 2007. 30. (1). 26–34.
18. Stimson R.H., Andersson J., Andrew R. et al. Cortisol release from adipose tissue by 11beta-hydroxysteroiddehydrogenase type 1 in humans // Diabetes. 2009. 58. (1). 46–53.
19. Morton N.M., Seckl J.R. 11beta-hydroxysteroiddehydrogenase type 1 and obesity // Front. Horm. Res. 2008. 36. 146–164.
20. Basu R., Basu A., Grudzien M. et al. Liver is the site of splanchnic cortisol production in obese nondiabetic humans // Diabetes. 2009. 58. (1). 39–45.

BLOOD SERUM CORTICOSTEROID PROFILE IN OBESE WOMEN WITH CARBOHYDRATE EXCHANGE DISORDERS

Elena Vladimirovna ANUFRIENKO, Ol'ga Pavlovna CHERKASOVA, Vera Georgievna SELYATITSKAYA

Scientific Center of Clinical and Experimental Medicine SB RAMS
630117, Novosibirsk, Timakov st., 2

Blood serum corticosteroid profile is determined by high efficient liquid chromatography in obese women with carbohydrate exchange disorders. It was found that the content of 11-desoxycortisol, which is immediate precursor in cortisol synthesis, was descended under associated carbohydrate exchange medium-scale and heavy-scale disorders. Obtained results allow us to propose the increase of 11 β -hydroxylase activity in adrenal cortex, which may be a link of second kind diabetes pathogenetic mechanism development both with obesity.

Key words: obesity, carbohydrate exchange disorders, corticosteroids.

Anufrienko E.V. — candidate of medical sciences, endocrinologist of the consultation-polyclinic division
Cherkasova O.P. — candidate of biological sciences, senior scientist of the laboratory for endocrinology
Selyatitskaya V.G. — doctor of biological sciences, professor, head of the laboratory for endocrinology