

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ОКСИДАТИВНЫМ СТРЕССОМ У ПАЦИЕНТОВ С НАРУШЕНИЯМИ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА, ОЖИРЕНИЕМ

Шишко О.Н.*, Мохорт Т.В.*, Цапаева Н.Л.**, Константинова Е. Э.***,
Буко И.В.****

**Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», кафедра эндокринологии, Минск*

*** Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», 3-я кафедра внутренних болезней, Минск*

**** Институт тепло- и массообмена имени А.В. Лыкова НАН Беларуси, Минск*

*****Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр «Кардиология», Минск*

Актуальность.

Оксидативный стресс (ОС) и развивающееся в результате этого повреждение тканей и гибель клеток являются основой для развития многих хронических патологических состояний. Избыточная продукция свободных радикалов и/или истощение системы их детоксикации приводит к нарушению прооксидантно-антиоксидантного баланса, что в свою очередь ведет к сосудистой дисфункции, повреждение белковых структур клеток, липидного слоя мембран и нуклеиновых кислот (1). В течение последних десятилетий большое внимание уделяется изучению ОС как одного из главных факторов развития сахарного диабета 2 типа (СД2) и 1 типа, так и их осложнений (1,2).

Важным для профилактики осложнений и предупреждения повреждения тканей и нарушения их функции является поддержание оксидантно-антиоксидантного баланса (3). Радикалы, содержащие свободный кислород (АФК – активные формы кислорода), являются особенно токсичными для тканей, поскольку обладают высокой реактивностью и способностью образовывать ковалентные связи неферментативно (4), что делает процесс разрушения клеточных структур быстрым и не требующим больших энергозатрат.

Антиоксидантная система (АОС) представлена ферментами, к которым относятся глутатионпероксидаза (ГП), супероксиддисмутаза (СОД) и каталаза (Кат), а также неферментативными системами: глутатион (GSH), витамины А, С и Е.

Взаимосвязь между гипергликемией, гиперинсулинизмом и ОС у пациентов с СД2 описана в результатах многих исследований, однако изменения прооксидантно-антиоксидантного статуса у пациентов с предиабетом и избыточной массой тела, ожирением изучены недостаточно.

Целью исследования являлась оценка активности важнейших антиоксидантных ферментов (СОД, Кат), суммарной антиоксидантной активности плазмы и уровень продуктов ПОЛ как одного из наиболее значимых источников АФК.

Материалы и методы

В соответствии с целями исследования сформированы следующие группы пациентов: группа 1 – 23 пациента с диагнозом НГН; группа 2 – 42 пациента с диагнозом НТГ; группа 3 – 41 пациент с диагнозом СД2; группа 4 – 33 пациента с избыточной массой тела (ИМТ 24,9 – 29,9 кг/м²); группа 5 – 26 пациентов с ожирением I степени (ИМТ 29,9 – 34,9 кг/м²); группа 6 - 41 практически здоровый человек.

Общая характеристика групп представлена в Таблице 1.

Таблица 1 – общая характеристика групп

Показатели	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4	Группа 5	Группа 6
Возраст (лет)	44,95± 7,84*	48,88± 7,56	49,61± 6,86	47,36± 9,33	45,62± 10,00	49,76± 7,78
Уровень НbA1c (%)	5,42±0,39 *	5,67±0,51 **	6,59±1,15 **	5,42±0,23 **	5,21±0,37	5,32±0,40
Индекс массы тела, кг/м ²	29,21±3,4 9***	29,41± 4,09**	30,53± 4,03**	27,68± 1,24**	31,75± 2,10***	23,30± 1,28
Общий холестерин (ммоль/л)	6,44±1,35 ***	6,67±0,95 **	6,42±1,92 **	6,06±1,69 *	6,56±1,51 **	5,31±0,88
Триглицериды (ммоль/л)	1,64±0,47	1,85±0,62 *	1,78±0,81	2,27±1,91	1,91±0,98 *	1,45±0,54
ХС-ЛПВП (ммоль/л)	4,25±1,36 **	4,73±1,19 **	4,14±1,18	3,56±1,35	4,27±1,34	3,53±1,34
ХС-ЛПНП (ммоль/л)	0,75±0,21	0,84±0,28 **	0,81±0,37	1,03±0,87	0,87±0,44	0,75±0,41

* $p < 0,01$; ** $p < 0,001$, *** $p < 0,000$, по сравнению с группой контроля
**** - 2009г, IDF, Национальный институт сердца, крови, легких США (NHLBT), ВОЗ, Международное общество атеросклероза (IAS) и Международная ассоциация по изучению ожирения (IASO).

Уровень продуктов ПОЛ в ЛНП определяли по концентрации конечного продукта окисления – малонового диальдегида (МДА) в реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС) по методу Э.Н. Коробейниковой (5).

Активность супероксиддисмутазы (СОД) в крови определяли по восстановлению нитротетразолия супероксидными радикалами (6).

Каталаза разрушает H_2O_2 , а оставшуюся неразрушенной часть пероксида водорода измеряли с помощью молибдата аммония (7).

Результаты и их обсуждение

Уровень продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в липопротеидах низкой плотности (ЛНП) был наиболее высоким у пациентов с ожирением, где значения ТБКРС составили 0,042 [0,033;0,068] нмоль/мл, что было статистически значимо выше, по сравнению с группой контроля (0,023 [0,015;0,032] нмоль/мл) ($P_{5-6}=0,000$). В других группах исследования также зарегистрированы высокие показатели ТБКРС, по сравнению с группой контроля (НГН 0,034 [0,020;0,072] нмоль/мл, НТГ 0,031 [0,015;0,031] нмоль/мл, СД2 0,030 [0,025;0,048] нмоль/мл), ($P_{1-6}=0,03$, $P_{2-6}<0,025$, $P_{3-6}<0,005$). Продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС) отражают концентрацию малонового диальдегида (МДА). Последний является альдегидным продуктом перекисного окисления липидов, что косвенно отражает интенсивность образования свободных радикалов (13). Повышенное образование липидных пероксидов повреждает структуру мембраны клеток за счет изменения ее текучести, а также концентрации рецепторов и белков на ее поверхности. Перекисное окисление липидов, в свою очередь, активируется при гликировании белков на фоне гипергликемии. И хотя, в данном исследовании пациенты были компенсированы по углеводному обмену, даже малейшее колебание гликемии, а также наличие гипергликемии ранее (при выявлении диабета и/или до компенсации заболевания) в значительной степени нарушает нормальный механизм метаболизма липидов. Согласно результатам исследования N. Shao и соавт., уровень диеновых конъюгатов (к которым относится ТБКРС) являлся независимым предиктором тяжелой микроальбуминурии у пациентов с СД2 (15).

СОД катализирует дисмутацию супероксидного анионного радикала ($O_2^{\cdot-}$) до молекулярного кислорода (O_2) и пероксида водорода (H_2O_2), которые затем под воздействием каталазы превращаются в молекулярный кислород и воду (8). Наиболее высокая активность СОД зарегистрирована среди практически

здоровых лиц (104,96 [66,86;142,82] усл.ед./мл), а в группах исследования наблюдались показатели значительно ниже. Наименьшая активность фермента зарегистрирована в группе пациентов с СД2 (76,49 [35,43;85,22] усл.ед./мл), по сравнению с группой контроля ($P_{3-6}<0,005$). По результатам Godin и соавт. уровень СОД был значительно повышен у пациентов с СД2 (9), те же результаты были получены и Audin А.и соавт. спустя 12 лет (10). Но авторы в своих исследованиях определяли уровень СОД среди пациентов с декомпенсированным углеводным обменом. В данном исследовании пациенты с СД2 имели компенсированное состояние по уровню гликемии, что позволяет предположить, что стойкая гипергликемия истощает запасы антиоксидантной защиты, в большей степени это отражается на уровне активности СОД.

У пациентов с предиабетом (НГН - 82,35 [50,99;101,86] усл.ед./мл, НТГ - 92,95 [60,21;144,02] усл.ед./мл), избыточной массой тела (82,18 [48,32;118,38] усл.ед./мл) и ожирением (72,07 [27,10;90,11] усл.ед./мл) показатели активности фермента СОД также были снижены, однако статистически значимой разницы, по сравнению с практически здоровыми лицами, не выявлено. По результатам исследования S. Dziegielewska-Gesiak и соавт. (11), активность СОД была достоверно снижена у пациентов с предиабетом, по сравнению с лицами без нарушений углеводного обмена. В своем исследовании авторы включали пациентов в возрасте 65 лет и старше, что позволяет предположить влияние возраста дополнительно к нарушениям углеводного обмена на изменение активности одного из главных ферментов, обеспечивающих антиоксидантную защиту. По результатам Uzel и соавт. активность СОД и КАТ была снижена у пациентов с СД2, по сравнению с практически здоровыми лицами (12).

Колебания уровня гликемии при предиабете, в частности у пациентов с НТГ, в наименьшей степени влияют на активность СОД (92,95 [60,21;144,02] усл.ед./мл), что статистически подтверждено результатами исследования, где показатели были значимо выше, по сравнению с другими группами исследования ($P_{2-3}<0,005$, $P_{2-5}=0,044$).

Каталаза – фермент, который катализирует расщепление H_2O_2 до H_2O и O_2 . Наиболее низкая активность зарегистрирована в группе пациентов с СД2 (7,99 [4,80;11,18]) мкат/л), а также в группе лиц с ожирением (8,39 [4,53;15,18]) что в 2 раза меньше, чем в группе контроля (16,73 [12,13;22,11]) ($P_{3-7}<0,001$, $P_{6-7}=0,0003$, соответственно). Невысокая активность каталазы группах, имеющих факторы развития ОС, может быть обусловлена тем, что при низкой концентрации H_2O_2 его расщепление осуществляется в основном за счет глутатионпероксидазы.

Выводы

1. Колебания гликемии как при предиабете, так и при СД2, влияют на уровень ПОЛ в ЛНП в сторону их увеличения. Ожирение также сопровождается повышенным содержанием ТБКРС.

2. СД2 сопровождается снижением активности СОД и Кат, состояние ожирения – снижением активности Кат, что может быть обусловлено более высоким содержанием ТБКРС, что является источником свободных радикалов и, как следствие, необходимостью их дезактивации и истощением антиоксидантного потенциала ферментов.

Литература

1. Johansen J. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: Linking basic science to clinical practice / J. Johansen et al. // *Cardiovascular diabetology*. - 2005. -P. 4-5.
2. Jakus V. The role of free radicals, oxidative stress and antioxidant systems in diabetes vascular disease / V. Jakus et al. // *Bratisl Lek Listy*. – 2000. – V.101. – P.541-51.
3. Mansuroǵlua B. Protective effect of chemically modified SOD on lipid peroxidation and antioxidant status in diabetic rats / B. Mansuroǵlua et al. // *International Journal of Biological Macromolecules*. - 2014. – P. 79-87.
4. Ola M. Analysis of glucose metabolism in diabetes rat retinas / M. Ola et al. // *Am J Physiol Endocrinol Metab*. – 2006. – V. 290. – P.1057-1067.
5. Коробейникова Э.Н. Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой // *Лабораторное дело*. –1989. – № 7. – С. 8–9.
6. Чевари С., Андял Т., Штрэнгер Я. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте // *Лабораторное дело*. –1991. – № 10. – С. 9–13.
7. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы // *Лабораторное дело*. –1988. – № 1. – С. 16–18.
8. Dawud F. Ameliorative effects of vitamin C and zinc in alloxan-induced diabetes and oxidative stress in Wistar rats / F. Dawud et al.// *Curr Res J Biol Sci*. – 2012. – V.4. – P.123-9.
9. Godin D. Antioxidant enzyme alterations in experimental and clinical diabetes / D. Godin et al. // *Mol Cell Biochem*. - 1988. – V.84. – P.223–233.
10. Audin A. Oxidative stress and nitric oxide related parameters in type II diabetes mellitus: effects of glycemic control / A. Audin et al. // *Clinical Biochemistry*. – 2001. – V.34. – P. 65–70.
11. Dziegielewska-Gesiak S. Role of lipid peroxidation products, plasma total antioxidant status, and cu-, zn-superoxide dismutase activity as biomarkers of oxidative stress in elderly prediabetics / Dziegielewska-Gesiak S. et al. // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2014.
12. Uzel N. Erythrocyte lipid peroxidation and glutathione peroxidase activities in patients with diabetes mellitus / N. Uzel et al. // *Horm Metab Res*. – 1987. – V.19. – P.89 –90.
13. Dawud F. Ameliorative effects of vitamin C and zinc in alloxan-induced diabetes and oxidative stress in Wistar rats / F. Dawud // *Curr Res J Biol Sci*. – 2012. – V.4. – P. 123 - 9.

14. Relationship between Oxidant/Antioxidant Markers and Severity of Microalbuminuria in the Early Stage of Nephropathy in Type 2 Diabetic Patients

15. Shao N. Relationship between Oxidant/Antioxidant Markers and Severity of Microalbuminuria in the Early Stage of Nephropathy in Type 2 Diabetic Patients / N. Shao // Diabetes Res. – 2013.