

ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗНАЧЕНИЙ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА У ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНЫМИ КОМПОНЕНТАМИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

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

*Белорусский государственный медицинский университет, кафедра
эндокринологии

**Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический
центр гигиены»

*Белорусский государственный медицинский университет, кафедра
кардиологии и внутренних болезней

****Институт тепло- и массообмена имени А.В.Лыкова
Национальной академии наук Беларуси
г.Минск

Ключевые слова: оксидативный стресс, метаболический синдром, диабет, ожирение.

Резюме: Ассоциированы ли компоненты метаболического синдрома (МС) с компенсаторным изменением антиоксидантной защиты однозначно не определено. По результатам исследования определено, что сахарный диабет 2 типа в сочетании с ИБС, а также ожирение в наибольшей степени изменяют прооксидантно-антиоксидантный баланс. Что выражено в снижении активности глутатионпероксидазы, снижении концентрации восстановленного глутатиона и повышении концентрации окисленного глутатиона.

Resume: There are no certain data about abnormal values of elements of oxidative stress (OS) in patients with different parts of metabolic syndrome. According to the results of our study we revealed that type 2 diabetes and concomitant coronary heart disease as well as obesity are foremost associated with abnormal values in elements of OS. Predominantly such changes were revealed in decreased activity of glutathione peroxidase, decreased concentration of reduced glutathione and increased concentration of oxidized glutathione.

Актуальность. Оксидативный стресс (ОС) представляет собой реакцию организма на избыточное образование свободных радикалов, что выражается в гиперпродукции активных форм кислорода и азота и истощении систем их детоксикации. Ассоциированы ли компоненты метаболического синдрома (МС) с компенсаторным усилением антиоксидантной защиты или же, наоборот, с ее угнетением однозначно не определено. Так, например, сахарный диабет 2 типа (СД2) связан как с усилением антиоксидантной защиты, так и с ее угнетением [1], в зависимости от дизайна исследования.

С одной стороны, образование АФК в умеренном количестве является сигналом для активации воспалительной реакции, усиления сосудистого тонуса, чувствительности к кислороду, клеточной пролиферации и апоптоза (2). С другой стороны, на фоне патологических состояний АФК усиливают развитие перечисленных выше реакций и инициируют нарушение функции клеток и тканей.

В нашем исследовании попытались провести сравнение показателей ОС в зависимости от изменений относительно значений, зарегистрированных среди практически здоровых лиц.

Цель: изучить состояние показателей ОС у пациентов с различными компонентами (МС).

Задачи исследования:

1. Определить, насколько часто встречаются изменения компонентов ОС у пациентов с предиабетом, СД2 и ожирением.
2. Выявить, какие компоненты МС в наибольшей степени влияют на активность антиоксидантной защиты.

Материалы и методы

Для проведения исследования сформированы следующие группы: группа 1 – 23 пациента с диагнозом нарушение гликемии натощак (НГН), группа 2 – 42 пациента с диагнозом нарушение толерантности к глюкозе (НТГ), группа 3 – 41 пациент с диагнозом СД2, группа 4 – 48 пациентов с диагнозом СД2 в сочетании с ИБС, группа 5 – 33 пациента с избыточной массой тела (ИМТ 24,9 – 29,9 кг/м²), группа 6 – 26 пациентов с ожирением (ИМТ 29,9 – 34,9 кг/м²), группа 7 - 41 практически здоровый человек.

Критериями включения пациентов в исследование были: возраст не старше 60 лет, стаж СД 2 менее 5 лет, отсутствие острых сосудистых событий в анамнезе.

Изучение показателей ОС проводили по следующим параметрам:

- Активность супероксиддисмутазы (СОД) в крови определяли по восстановлению нитротетразолия супероксидными радикалами (3).

- Активность каталазы (КАТ) определяли по неразрушенной части пероксида водорода, которую затем измеряли с помощью молибдата аммония (4).

- Активность глутатионпероксидазы (ГП) определяли по скорости окисления GSH в присутствии энзима и NADP·H по изменению оптической плотности среды спектрофотометрически.

- Активность глутатионредуктазы (ГР) определяли по изменению оптической плотности, обусловленной окислением NADP·H с источником фермента (при 37°C и при pH 7.7-8.0).

- Общий глутатион (GSHt) эритроцитов измеряли ферментативно по методу Akerboom T.P., Sies H. [5]. Содержание GSH рассчитывали по математической формуле:

$$[GSH] = [GSHt] - 2 \times [GSSG] \quad (2.3)$$

[GSH], [GSSG] – концентрация глутатиона эритроцитов в восстановленной и окисленной формах, [GSht] – общая концентрация глутатиона.

- Окисленный глутатион определяли добавлением раствора N-этилмалеимида (NEM), который блокирует GSH. Затем устраняли избыток NEM, активируя GSSG с помощью глутатионредуктазы (ГР), и определяли концентрацию GSH, возникшего в результате восстановления GSSG.

- Концентрацию продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС) определяли по концентрации малонового диальдегида (МДА) спектрофотометрически по методу Э.Н. Коробейниковой [6].

Результаты и обсуждение

Для изучаемых в данной работе показателей ОС на данный момент нет нормативных значений. Поэтому было интересно проанализировать, как часто встречаются изменения активности ферментов и концентрации прооксидантов-антиоксидантов относительно практически здоровых лиц. Пределы нормальных значений каждого показателя определяли как среднее значение (Me) и среднеквадратичное отклонение ($\pm 1,96$) в группе контроля, что было условно принято за норму. Результаты представлены в Таблице 1.

Таблица 1 - Частота встречаемости значений ОС в группах исследования, в зависимости от различий по сравнению с группой практически здоровых лиц

Критерии (единицы измерения), нормальные значения	Группа 1 (n=23) Число/ %	Группа 2 (n=42) Число/ %	Группа 3 (n=41) Число/ %	Группа 4 (n=48) Число/ %	Группа 5 (n=33) Число/ %	Группа 6 (n=26) Число/ %	Группа 7 (n=41) Число/ %
СОД, усл.ед./мл. 83,65-115,98	12 (57,14)	18 (42,86)	30 (73,17)*	47 (97,92)*	29 (87,88) *	19 (73,08) *	15 (36,59)
Каталаза, мкат/л 8,68-14,60	6 (28,57)	19 (45,24)	24 (58,54)	6 (12,50)*	7 (21,21)*	13 (50,00)	22 (53,66)
ГП ммоль/мин. 66,08-75,59	18 (85,71)*	38 (90,48)*	32 (78,05)*	27 (56,25)	30 (90,91)*	20 (76,92)*	15 (36,59)
ГР ммоль/мин. 0,91-1,06	14 (66,67)*	15 (35,71)	16 (39,02)	19 (39,58)	13 (39,39)	15 (57,69)*	13 (31,71)
GSH, ммоль/л 2,39-3,31	13 (61,90)*	29 (69,05)*	24 (58,54)*	43 (89,58)*	17 (51,52)*	21 (80,77)*	11 (26,83)
GSSG ммоль/л 0,25-0,29	14 (66,67)	36 (85,71)*	34 (82,93)	42 (87,50)*	25 (75,76)*	24 (92,31)*	20 (48,78)
ТБКРС нмоль/мл 0,02-0,04	10 (47,62)*	9 (21,43)	14 (34,15)	30 (62,50)*	12 (36,36)	18 (69,23)*	6 (14,63)
Суммарная антиоксидантная активность, % 65,01-75,02	9 (42,86)	11 (26,19)	15 (36,59)	23 (47,92)	12 (36,36)	7 (26,92)	14 (34,15)

* $p < 0.05$ (классический критерий χ^2 по Пирсону применяли при наличии абсолютных

частот в таблицах сопряженности больше 10, χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность применяли при наличии абсолютных частот меньше 10 в таблицах сопряженности).

В результате такого сравнения определили, что активность СОД в группе 3 снижена у 30 пациентов из 41, в группе 4 – у 47 из 48, в группе 5 – у 29 из 33, в группе 6 – у 19 из 26, что составило 73,17%, 97,92%, 87,88% и 73,08% соответственно. В группе практически здоровых лиц пониженная активность СОД зарегистрирована у 15 лиц, что составило 36,59%. Различия по сравнению с группой контроля являются статистически значимыми ($P_{3-7}=0,0019$, $P_{4-7}=0,0000$, $P_{5-7}=0,0060$, $P_{6-7}=0,0078$). Таким образом, наличие СД2, СД2 в сочетании с ИБС, избыточной массы тела или ожирения ассоциировано с более низкими значениями СОД. Нарушения углеводного обмена в виде НГН и НТГ по результатам данного исследования не приводят к выраженному снижению активности СОД, по сравнению с группой практически здоровых лиц.

При сравнении активности каталазы в обследованных группах пациентов определили, что значения активности фермента ниже таковых у практически здоровых лиц, однако различия не являются статистически значимыми у пациентов с НГН, НТГ, СД2 и ожирением 1 ст. У 5 пациентов из 48 в группе 4 и у 7 пациентов из 33 в группе 6 реже, чем в других группах встречаются значения активности каталазы меньше, чем в группе контроля (у 22 из 41) (12,50% и 21,21% соответственно), что является статистически значимым ($P_{4-7}=0,0001$, $P_{5-7}=0,0093$ соответственно). Это можно объяснить тем, что при более высоких концентрациях H_2O_2 повышается активность ГП для утилизации данной АФК.

При сравнении активности ГП во всех группах, за исключением пациентов с СД2 в сочетании с ИБС значения ниже, чем в группе контроля встречались статистически значимо чаще: у 18 из 23 в группе 1 (в 85,71% случаев), у 38 из 42 в группе 2 (в 90,48% случаев), у 32 из 41 в группе 3 (в 78,05% случаев), у 30 из 33 в группе 5 (в 90,91% случаев) и у 20 из 26 в группе 6 (в 70,92% случаев) ($P_{1-7}=0,0007$, $P_{2-7}=0,0000$, $P_{3-7}=0,0004$, $P_{5-7}=0,0000$, $P_{6-7}=0,0030$ соответственно). В группе 4 в 56,25% случаев регистрировали активность ГП ниже контрольных значений (у 27 из 48), что не являлось статистически значимым.

Частота встречаемости активности ГР ниже, чем в группе контроля (у 13 из 41), зарегистрирована только у пациентов с НГН (у 14 из 23) – в 66,67% случаев и ожирением 1 ст. (у 15 из 26) – 57,69% случаев ($P_{1-7}=0,0186$ и $P_{6-7}=0,0356$ соответственно).

Концентрации одного из важнейших антиоксидантов – восстановленного глутатиона (GSH), ниже, чем в группе контроля, статистически значимо чаще регистрировались во всех группах обследованных пациентов: у 13 из 23 в группе 1 (61,90% случаев), у 29 из 42 в группе 2 (69,05% случаев), у 24 из 41 в группе 3 (58,54% случаев), у 43 из 48 в группе 4 (89,58% случаев), у 17 из 33 в группе 5 (51,52% случаев), и у 21 из 26 в группе 6 (80,77% случаев), в группе 7 (практически здоровые лица)

такие значения зарегистрированы у 11 из 41 (26,83% случаев) ($P_{1-7}=0,0160$, $P_{2-7}=0,0001$, $P_{3-7}=0,0001$, $P_{4-7}=0,0000$, $P_{5-7}=0,0295$, $P_{6-7}=0,0000$ соответственно).

Концентрация прооксидантов ТБКРС выше, чем в группе контроля, чаще регистрировались у пациентов с НГН (у 10 из 23) – в 47,62% случаев ($P_{1-7}=0,0123$), с СД2 в сочетании с ИБС (у 30 из 48) – в 62,50% случаев ($P_{4-7}=0,0000$) и у пациентов с ожирением 1ст. (у 18 из 26) – в 69,23% случаев ($P_{6-7}=0,0000$).

Концентрации прооксиданта – окисленного глутатиона (GSSG) во всех группах, за исключением пациентов с НГН, были выше, по сравнению с группой контроля: у 36 из 42 в группе 2 (в 85,71% случаев, $P_{2-7}=0,0008$), у 34 из 41 в группе 3 (в 82,93% случаев, $P_{3-7}=0,0025$), у 42 из 48 в группе 4 (в 87,50% случаев, $P_{4-7}=0,0002$), у 25 из 33 в группе 5 (в 75,76% случаев, $P_{5-7}=0,0337$) и у 24 из 26 в группе 6 (в 92,31% случаев, $P_{6-7}=0,0007$).

Статистически значимых различий в группах исследования по АОА не зарегистрировано.

Выводы

1. Для всех групп исследования было характерно изменение активности ферментов антиоксидантной защиты и концентраций прооксидантов. В наибольшей степени такие изменения выражены у пациентов с СД2 в сочетании с ИБС.

2. По результатам исследования определено, что такие заболевания как СД2 и ожирение в наибольшей степени провоцируют развитие ОС, что отражено в изменениях компонентов ОС.

3. Наиболее часто зарегистрировано снижение активности ГП, снижение концентрации GSH и повышение концентрации GSSG.

Литература

1. 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.

2. Zhang D. Mitochondrial reactive oxygen species-mediated signaling in endothelial cells / D. Zhang et al. // American Journal of Physiology. – 2007. – V.292. – P.2023-2031.

3. Чевари С., Андял Т., Штрэнгер Я. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте // Лабораторное дело. –1991. – № 10. – С. 9–13.

4. Корольюк М.А. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. –1988. – № 1. – С. 16–18.

5. Akerboom T.P., Sies H. Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples // Methods Enzymology. – 1981. – Vol. 77. – P. 373–382.

6. Коробейникова Э.Н. Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой // Лабораторное дело. –1989. – № 7. – С. 8–9.