

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.

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).

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 HbA1c (%)	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±3,49 ***	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).

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 A. 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 в 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. Mansuroglua B. Protective effect of chemically modified SOD on lipid peroxidation and antioxidant status in diabetic rats / B. Mansuroglua 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.