

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ФЕРМЕНТАМИ СИСТЕМЫ ГЛУТАТИОНА, ЦИТОКИНАМИ, МИКРОЦИРКУЛЯЦИЕЙ И НАРУШЕНИЯМИ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА

О.Н. Шишко

Белорусский государственный медицинский университет

Введение. Согласно данным IDF (International Diabetes Federation) в 2012 г. в мире зарегистрировано 371 миллион людей с сахарным диабетом (СД), 4,8 миллиона умерли от осложнений заболевания. В Республике Беларусь на 1000 человек приходится 679,77 больных диабетом в возрасте от 20 до 79 лет, 243 из которых имеют не диагностированный СД [1]. Очевидным становится заинтересованность в детальном изучении механизмов заболевания и методов первичной профилактики.

В мире по разным данным предиабетом (НГН (нарушение гликемии натощак) и НТГ (нарушение толерантности к глюкозе)) страдают около 300-316 миллионов. Риск развития СД2 (сахарного диабета 2 типа) у пациентов с НГН в сочетании с НТГ такой же, как и при наличии одного из указанных нарушений углеводного обмена и составляет от 5% до 10% в год, по сравнению с 0,7% среди практически здоровых лиц [7].

Колебания уровня гликемии инициируют процессы образования активных форм кислорода (АФК), которые, влияя на различные структуры и системы клетки, приводят к нарушению ее функции и в конечном итоге гибели. Наиболее важной внутриклеточной антиоксидантной системой является система глутатиона, ферменты которой участвуют в детоксикации пероксида водорода и гидроперекисей.

Система микроциркуляции участвует в поддержании сосудистого и тканевого гомеостаза: регулирует транспорт и обмен веществ, выполняет защитную функцию, способствует регенерации тканей при их повреждении [1]. В литературе описаны механизмы развития эндотелиальной дисфункции у пациентов с СД2, однако мало освещен вопрос изменения микроциркуляции при предиабете. Изучение микроциркуляции позволит расширить возможности ранней диагностики микроангиопатий и их своевременное лечение.

Интерлейкин-8 (ИЛ-8) и интерлейкин-6 (ИЛ-6) являются провоспалительными цитокинами. ИЛ-8 обладает атерогенными свойствами и может оказывать влияние на стабильность атеросклеротической бляшки [10]. Выявлено, что у пациентов с нарушением инсулиночувствительности уровень ИЛ-6 повышен, а в некоторых исследованиях доказано влияние данного цитокина на риск развития СД2 [9].

Цель исследования. Определить уровень взаимосвязи между активностью глутатионпероксидазы (ГП) и глутатионредуктазы (ГР), концентрацией провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-8) и изменениями микроциркуляции при предиабете и СД2.

Задачи:

- Изучить состояние микроциркуляции, ферментов системы глутатиона (глутатионредуктазы (ГР) и глутатионпероксидазы (ГП)) и ИЛ-6, ИЛ-8 у пациентов с предиабетом и СД2.
- Выявить степень влияния антиоксидантных ферментов эритроцитов (ГП, ГР), ИЛ-6, ИЛ-8 на систему микроциркуляции при нарушениях углеводного обмена.
- Определить прогностическую значимость уровня ИЛ-6 на развитие предиабета.

Материалы и методы исследования. В исследование включены 131 пациент. Участники исследования разделены на 3 группы: группа 1 — 37 пациентов с впервые выявленным предиабетом, группа 2 — 35 пациентов с СД 2, принимающих таблетированные сахароснижающие препараты и группа 3 — группа контроля, которую составили 59 практически здоровых лиц. Характеристика групп исследования приведена в табл. 1.

Таблица 1

Клиническая характеристика пациентов в группах наблюдений

| Показатели | Группа 1 (n=39) | Группа 2 (n=35) | Группа 3 (n=59) |
|------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Средний возраст, лет | 49,6 ± 8,06 | 48,0 ± 7,95 | 46,50 ± 9,68 |
| ИМТ, кг/м ² | 26,2 ± 2,11 | 25,1 ± 0,86 | 25,1 ± 0,63 |

| | | | |
|--------------|--------------------------|---------------|-------------|
| ОХС, ммоль/л | 5,91 ± 0,24 ^Δ | 6,54 ± 0,12* | 5,45 ± 0,11 |
| ТГ, ммоль/л | 2,03 ± 0,10** | 1,99 ± 0,07** | 1,32 ± 0,05 |
| НbA1c, % | 5,49 ± 0,79 | 5,80 ± 0,90 | 5,40 ± 0,40 |

Примечание: различия по отношению к группе практически здоровых лиц достоверны при уровне значимости: ^Δ $p < 0,1$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$.

Критериями включения являлись: впервые выявленные НГН или НТГ, стаж СД 2 не более 5 лет. Критериями исключения являлись: наличие воспалительных заболеваний органов и тканей, наличие острой сердечно-сосудистой патологии (острый инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения).

Лабораторное обследование включало: определение гликемии натощак, липидограммы, гликированного гемоглобина (НbA1c). Диагноз предиабета устанавливали по результатам глюкозотолерантного (ГТТ) теста с 75г глюкозы. Диагноз СД 2 устанавливали на основании диагностических критериев ВОЗ в 1999 году. Для определения степени компенсации нарушения углеводного обмена определяли уровень НbA1c, рекомендованный уровень для пациентов с СД 2 типа – не более 7%.

Активность глутатионпероксидазы (ГП) в эритроцитах определяли по методу Гавриловой А.Р. и Хмара Н.Ф.[1]. Активность глутатионредуктазы (ГР) определяли по методу С. Beutler.[5]. Содержание ИЛ-6 и ИЛ-8 в сыворотке крови определяли на планшетном иммуноферментном анализаторе «SUNRISE» (Австрия).

Метод компьютеризированной конъюнктивальной биомикроскопии применен для определения микроциркуляции (Малая Л.Т.,1977). Характер нарушений микроциркуляторного русла определяли по следующим показателям: FC (количество функционирующих капилляров), AVA (артерио-венозные анастомозы), Mean (извитость сосудов), SI (сладж-феномен), Mtr (микротромбоз). Оценка проводилась по системе критериев для количественной оценки состояния конъюнктивальной микроциркуляции по Л.Т. Малой и соавт. (1977) [2], где наибольшему количеству баллов соответствуют наиболее выраженные изменения. Статистический анализ данных проводили с помощью пакета прикладных программ SPSS 17 и STATISTICA 10.

Результаты и их обсуждение. При анализе изменений микроциркуляции в группе пациентов с предиабетом выявлены изменения микрососудов. Отмечалось уменьшение количества функционирующих капилляров (3,0 [2,0; 3,0]), увеличение количества артериоло-веноулярных анастомозов (2,0 [2,0; 4,0]), увеличение количества микротромбозов (1,0 [1,0; 2,0]), по сравнению с группой контроля (2,0 [2,0; 3,0], $P1-3 < 0,025$; 2,0 [2,0; 2,0], $P1-3 < 0,025$ и 0,0 [0,0; 1,0], $P1-3 < 0,001$, соответственно). К описанным выше изменениям в группе пациентов с СД2 присоединяется меандрическая извитость микрососудов (1,0 [1,0; 2,0]) и развитие сладж-феномена (2,0 [2,0; 4,0]), по сравнению с группой пациентов с предиабетом (1,0 [1,0; 1,0], $P1-2 < 0,05$ и 2,0 [2,0; 4,0], $P1-2 < 0,05$, соответственно).

Сравнительная характеристика активности антиоксидантных ферментов системы глутатиона представлена в таблице 2. ГР восстанавливает дисульфидную связь окисленного глутатиона (GSSG) до сульфгидрильной формы (GSH). Более высокая активность фермента выявлена в группе пациентов с предиабетом (1,04 ммоль/мин.[0,95; 1,22]), по сравнению с группой пациентов с СД2 (0,82 ммоль/мин.[0,69; 1,09]) и группой контроля (0,96 ммоль/мин.[0,79; 1,09]). Такие изменения соответствуют максимальной активации внутриклеточной антиоксидантной защиты на ранних этапах колебания гликемии. ГП катализирует восстановление пероксида водорода (H₂O₂) до воды, а также восстановление перекисей липидов в спирты. По результатам нашего исследования активность данного ферменты ниже в группе 1 (54,17 ммоль/мин.[36,96; 62,18]), по сравнению с группой 2 (57,27 ммоль/мин.[43,55; 64,81]), что может быть обусловлено дезактивацией H₂O₂ каталазой на этапе предиабета и истощением данного фермента при стойкой гипергликемии на фоне СД2 [11].

Активности ГР и ГП в исследуемых группах пациентов

| | Группа 1 (n=39) | Группа 2 (n=35) | Группа 3 (n=59) | P |
|----------------|----------------------|----------------------|---------------------|--|
| ГР (ммоль/мин) | 1,04 [0,95; 1,22] | 0,82 [0,69; 1,09] | 0,96 [0,79; 1,09] | P ₁₋₂ <0,001 P ₁₋₃ >0,05 P ₂₋₃ >0,1 |
| ГП(ммоль/мин) | 54,17 [36,96; 62,18] | 57,27 [43,55; 64,81] | 57,82[38,16; 63,04] | P ₁₋₂ < 0,001 P ₁₋₃ >0,1 P ₂₋₃ >0,1 |

У пациентов с предиабетом выявлено статистически значимое повышение концентрации ИЛ-6 (2,1985ммоль/л [1,9862; 2,3614]), по сравнению с группой контроля (2,05 ммоль/л [1,00; 2,45], P₁₋₃< 0,05). Также при проведении регрессионного анализа установлено, что уровень ИЛ-6 может быть использован в качестве предиктора развития предиабета (p<0,0001): более низкие значения соответствуют более высокому риску развития НГН или НТГ, что согласуется с данными, полученными S. Franckhauser [etal.] [8].

Наиболее высокая активность ИЛ-6 и ИЛ-8 наблюдалась в группе пациентов с СД2 (3,38ммоль/л [2,82; 3,87] и 7,90 ммоль/л [5,35; 8,26], соответственно), по сравнению с группой пациентов с предиабетом (2,1985ммоль/л [1,9862; 2,3614], P₁₋₂<0,001 и 6,8246ммоль/л [5,4786; 6,8246], соответственно).

В группе пациентов с предиабетом установлена положительная корреляционная связь между активностью ГП и развитием микротромбозов (r=0,38, p<0,05). В группе пациентов с СД2 выявлена положительная корреляционная связь между ГП и развитием сладж-феномена (r=0,35, p<0,05), а также между активностью ГР и микротромбозами (r=0,37, p<0,05).

В группе пациентов с нарушениями углеводного обмена (СД2+предиабет) выявлена отрицательная корреляционная связь между активностью ГР и ИЛ-6 и ИЛ-8 (r=-0,41, p<0,05 и r=-0,23, p<0,05 соответственно).

Выводы. Изменения системы микроциркуляции формируются на этапе предиабета, изменения показателей усугубляется при СД2; активность глутатионредуктазы максимальна у пациентов с предиабетом, а на этапе СД2 наибольшей активностью обладает глутатионпероксидаза.

Изменения активности антиоксидантных ферментов эритроцитов ассоциированы с нарушениями микроциркуляции при патологии углеводного обмена.

CORRELATION BETWEEN GLUTATHIONE SYSTEM ENZYMES, CYTOKINES, MICROCIRCULATION AND IMPAIRED GLYCEMIC STATES

V.M. Shishko

Changes in activity of glutathionereductase (GR) and glutathioneperoxidase (GP), increase of proinflammatory cytokines (IL-6, IL-8) may considerably impair the state of microcirculation leading to the development of both micro- and macroangiopathy during type 2 diabetes (T2D). The state of these variables in patients with prediabetes (impaired glucose tolerance and impaired fasting glucose) is poorly known. The purpose of investigation was to determine the state of GR, GP, IL-6, IL-8 and microcirculation in patients with newly diagnosed prediabetes and T2D (with duration of disease no longer than 5 years) and to find the relationship between these variables. We revealed that alterations in microcirculation are revealed during prediabetes and progress during type 2 diabetes (T2D), the highest activity of GR was in patients with prediabetes and GP in T2D. Changes of antioxidant enzymes activity may have impact on damage of microcirculation.

Литература.

1. Гаврилова А.Р. Определение активности глутатионпероксидазы эритроцитов при насыщающих концентрациях субстрата / А.Р. Гаврилова, Н.Ф. // Лабораторное дело. – 1986. – № 12. – С. 721–723.
2. Милютин, Д.А. Характер изменения состояния микроциркуляции и параметров гемореологии у мужчин и женщин с СД 2 типа /Д.А. Милютин [и соавт.] // Материалы VII Международной конференции «Гемореология и микроциркуляция (от функциональных механизмов в клинику)» – 14-16 июня 2009 г., Ярославль.– С.35

3. Новые подходы к оценке микроциркуляции в клинической практике / Обыденникова Т.Н. [и соавт.] // Клиническая медицина. – 2001. - №4 (56). – С.71-75.
4. Aroda, V.R. Approach to the patient with prediabetes / V.R. Aroda, R. Ratner // J ClinEndocrinolMetab. – 2008. - V.93, №9. – P. 3259-3265.
5. Beutler C. Effect of flavincompauds on glutathione reductase activity, in vivo and in vitro studies / C. Beutler // Journal of Clinical Investigation. – 1969. – Vol .48. – P. 1957.
6. IDFAtlas 2012.
7. Impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance / D.M. Nathan [et al.] // Diabetes Care. – 2007 - V.30 – P. 753-769.
8. Franckhauser S. Overexpression of Il6 leads to hyperinsulinaemia, liver inflammation and reduced body weight in mice / S. Franckhauser [etal.] // Diabetologia. – 2008. – V.51. – P. 1306–1316.
9. Nesto R.W. Correlation between cardiovascular disease and diabetes mellitus: current concepts / R.W. Nesto // Am J Med. – 2004. – V.116(suppl 5A). – P.11 – 22.
10. Plasma interleukin-8 concentrations in obese subjects with impaired glucose tolerance / M. Strackowski et al. // Cardiovascular Diabetology. – 2003. - doi:10.1186/1475-2840-2-5.
11. Targeting mitochondrial reactive oxygen species as novel therapy for inflammatory diseases and cancers / X. Li [et al.] // J HematolOncol. – 2013. – V.6, №19.