

СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ПЛАЗМЫ У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА В СОЧЕТАНИИ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

Шишко О.Н.

Белорусский государственный медицинский университет,
кафедра эндокринологии, г. Минск

Ключевые слова: антиоксидантные ферменты, сахарный диабет, тип 2, ишемическая болезнь сердца.

Резюме: Актуальным является изучение механизмов, предрасполагающих к развитию макрососудистых осложнений у пациентов с сахарным диабетом 2 типа (СД2) в сочетании с ишемической болезнью сердца (ИБС). Целью исследования было изучение антиоксидантного состояния плазмы у данной категории лиц. Согласно результатам исследования снижена активность СОД (супероксиддисмутазы) и АОА (суммарная антиоксидантная активность плазмы).

Resume: Study of mechanisms predisposing to macrovascular complications in patients with type 2 diabetes (T2D) and chronic heart disease (CHD) is important today. The aim was to study antioxidant state in patients with T2D and CHD. According to the results we found decreased activity of SOD (super-oxide dismutase) and total antioxidant activity of plasma.

Актуальность. Известно, что риск развития ишемической болезни сердца (ИБС) у пациентов с сахарным диабетом 2 типа (СД2), в 3-5 раз выше, по сравнению с общей популяцией [1]. Несмотря на пристальное внимание, удаляемое данной проблеме, среди пациентов с диабетом на первом месте по причинам смерти находятся сердечно-сосудистые катастрофы. По этой причине изучение состояний, предрасполагающих к развитию глубоких и необратимых изменений у данной категории пациентов, представляет большой интерес. Гипергликемия активизирует патологические механизмы оксидативного стресса (ОС), что постепенно ведет к истощению защитных механизмов клетки и плазмы [3]. Результаты многих исследований во многом противоречивы и не дают однозначного ответа на состояние активности антиоксидантных ферментов повышены при сахарном диабете [6].

Цель: Изучить характерные для СД2 в сочетании с ИБС изменения антиоксидантной активности ферментов плазмы.

Задачи: 1. Изучить активность антиоксидантной системы плазмы в группах обследованных пациентов; 2. Оценить влияние некоторых традиционных факторов риска СД2 типа, ИБС на состояние антиоксидантной системы плазмы.

Материал и методы. Для характеристики изменений активности антиоксидантных ферментов плазмы, сопутствующих сахарному СД2 и ИБС обследовано 198 пациентов. Выделены следующие группы пациентов:

- Группа 1 – 42 пациента с диагнозом НТГ;
- Группа 2 – 41 пациент с диагнозом СД2;
- Группа 3 – 48 пациентов с диагнозом СД2 в сочетании с ИБС;
- Группа 4 – 26 пациентов с ожирением (ИМТ 29,9 – 34,9 кг/м²);
- Группа 5 - 41 практически здоровый человек.

Характеристика групп исследования представлена в Таблице 1.

Таблица 1 -Характеристика групп исследования

| Показатели | Группа 1 | Группа 2 | Группа 3 | Группа 4 | Группа 5 |
|--|--------------|--------------|-------------|---------------|------------|
| Пол, n (м/ж) | 16/26 | 21/20 | 36/12 | 12/14 | 20/21 |
| Возраст (лет) | 48,88±7,56 | 49,61±6,86 | 54,58±5,53* | 45,62±10,00 | 49,76±7,78 |
| Уровень НbA1c (%) | 5,67±0,51** | 6,59±1,15** | 6,52±0,59** | 5,21±0,37 | 5,32±0,40 |
| Уровень гликемии натощак (ммоль/л) | 5,84±1,19** | 5,80±1,48** | 6,35±0,78** | 5,79±1,49** | 4,95±0,46 |
| Индекс массы тела, кг/м ² | 29,41±4,09** | 30,53±4,03** | 30,16±3,3** | 31,75±2,10*** | 23,30±1,28 |
| Общий холестерин (ммоль/л) | 6,67±0,95** | 6,42±1,92** | 5,21±1,33** | 6,56±1,51** | 5,31±0,88 |
| Триглицериды (ммоль/л) | 1,85±0,62* | 1,78±0,81 | 1,91±0,84* | 1,91±0,98* | 1,45±0,54 |
| ХС-ЛПВП (ммоль/л) | 4,73±1,19** | 4,14±1,18 | 2,68±1,28* | 4,27±1,34 | 3,53±1,34 |
| ХС-ЛПНП (ммоль/л) | 0,84±0,28** | 0,81±0,37 | 0,87±0,38 | 0,87±0,44 | 0,75±0,41 |
| * p < 0,01; ** p < 0,001, *** p < 0,000, по сравнению с группой контроля | | | | | |

Биохимическое исследование крови проводили утром натощак, забор крови проводили из локтевой вены не ранее чем через 12 часов после последнего приема пищи. Содержание общего холестерина (ОХС), холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП), триглицеридов (ТГ) плазмы крови определяли ферментативным методом с использованием реактивов фирмы «СORMAY». Уровень холестерина ЛПНП вычисляли по формуле Фридвальда[5].

Определение уровня НbA1c проводили референсным методом - жидкостной ионообменная хроматография высокого давления (ВЭЖХ) на автоматизированном анализаторе D10. Коэффициент вариации (CV) <4%(на практике 1-1.5%).

Активность супероксиддисмутазы (СОД) в крови определяли по восстановлению нитротетразолия супероксидными радикалами, которые образуются при реакции между феназинметасульфатом и восстановленной формой никотинамиддинуклеотида (NAD·H). СОД блокирует образование нитроформаза, который является продуктом продукта восстановления нитротетразолия. Таким образом, на основании количества нитроформаза можно оценить активность СОД. Результаты выражены в усл.ед./мл. Каталаза разрушает H_2O_2 , а оставшуюся неразрушенной часть пероксида водорода измеряют с помощью молибдата аммония [4], на чем и основан метод определения активности каталазы. Результаты выражены в мкат/л.

Суммарную антиоксидантную активность (АОА) плазмы крови изучали по методу Промыслова М.Ш. и Демчук М.Л. [2]. Определяли величину торможения ПОЛ модельной системы, в качестве субстрата окисления использовали линоленовую кислоту. Результаты выражены в %. При описании исходных характеристик групп вычисляли средние значения, стандартное отклонение или медиану и интерквартильный размах; частоту встречаемости для дискретных переменных.

Различия между группами – U-критерий Манна-Уитни или критерий Колмогорова-Смирнова в зависимости от объема выборки. Размер анализируемой популяции представлен как n. Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез принят $p < 0,05$. Для выявления силы и направления связей между исследуемыми переменными использовался корреляционный анализ с расчетом непараметрического коэффициента корреляции Спирмена. Анализ результатов исследования проводили на основе биостатистических методов программы STATSOFTSTATISTICA 10.0 для Windows.

Результаты и их обсуждение. Активность ферментов плазмы представлена в Таблице 2

Таблица 2 - Активность ферментов плазмы

| Критерии | Группа 1 (n=42) | Группа 2 (n=41) | Группа 3 (n=48) | Группа 5 (n=26) | Группа 6 (n=41) | P* |
|---|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|---|
| Каталаза, мкат/л | 9,35 [2,38;22,38] | 7,99 [4,80;11,18] | 22,11 [9,86;38,19] | 8,39 [4,53;15,18] | 7,37 [6,73;14,39] | $P_{1-3} < 0,01$ $P_{2-3} < 0,001$ $P_{3-4} = 0,0005$ $P_{3-5} < 0,005$ |
| Супероксиддисмутаза, усл.ед./мл | 92,95 [60,21; 144,02] | 76,49 [35,43; 85,22] | 71,71 [48,14; 80,37] | 72,07 [27,10; 90,11] | 104,96 [66,86; 142,82] | $P_{1-2} < 0,005$ $P_{1-3} < 0,001$ $P_{1-4} = 0,044$ $P_{2-5} < 0,005$ $P_{3-5} < 0,001$ |
| Суммарная антиоксидантная активность, % | 69,60 [62,42; 81,70] | 68,26 [62,90; 81,21] | 65,16 [50,00; 72,30] | 77,42 [63,78; 84,25] | 70,40 [60,63; 83,10] | $P_{1-3} < 0,025$ $P_{3-4} = 0,005$ |

СОД катализирует дисмутацию супероксидного анионного радикала ($O_2^{\cdot-}$) до молекулярного кислорода (O_2) и пероксида водорода (H_2O_2), которые затем по воздействием каталазы превращаются в молекулярный кислород и воду. Согласно результатам исследования, наименьшая активность ферментов зарегистрирована в группе пациентов с СД2 в сочетании с ИБС: 71,71 [48,14;80,37] усл.ед./мл в группе 4, по сравнению с 104,96 [66,86;142,82] усл.ед./мл в группе контроля ($P_{3-6}<0,001$), а также 92,95 [60,21;144,02] усл.ед./мл у пациентов с НТГ ($P_{1-3}<0,001$).

Каталаза – фермент, который катализирует расщепление H_2O_2 до H_2O и O_2 . Наиболее высокая активность зарегистрирована в группе пациентов с СД2 в сочетании с ИБС и составила 22,11 [9,86;38,19] мкат/л, что в 2,4 раза выше, чем в группе 1 (9,35 [2,38;22,38]) ($P_{2-4}<0,01$), в 2,7 раз выше, по сравнению с группой 3 (7,99 [4,80;11,18]), ($P_{1-3}<0,001$), и в 2,6 и 3 раза больше, по сравнению с группами 4 (8,39 [4,53;15,18]), ($P_{3-4}=0,0005$) и 5 (7,37 [6,73;14,39]), ($P_{3-5}<0,005$) соответственно. Невысокая активность каталазы в других группах, имеющих факторы развития ОС, может быть обусловлена тем, что при низкой концентрации H_2O_2 его расщепление осуществляется в основном за счет ГП.

Суммарная антиоксидантная активность плазмы была наиболее низкой у пациентов с СД2 в сочетании с ИБС (65,16[50,00;72,30] %), по сравнению с пациентами с НТГ (69,60[62,42;81,70] %) ($P_{1-3}<0,025$), и с ожирением (77,42[63,78;84,25] %) ($P_{3-4}=0,005$).

В группе пациентов с СД2 выявлена положительная корреляционная связь : между уровнем ТГ и АОА ($r=0,32$, $p<0,05$). Среди пациентов с СД2 в сочетании с ИБС увеличение массы тела снижает АОА, а активность КАТ зависит от уровня гликемии ($r=0,37$, $p<0,05$). Хотя колебания уровня гликемии натощак в группе 4 были невыраженными, однако даже небольшое увеличение уровня глюкозы крови может значительно активировать фермент КАТ.

Выводы: 1. Для пациентов с СД2 в сочетании с ИБС характерно снижение активности СОД, АОА, но повышенная активность КАТ; 2. Повышение уровня гликемии является фактором, усиливающим активность КАТ при сочетании СД2 и ИБС.

Литература

1. Королук М.А. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. –1988. – № 1. – С. 16–18.
2. Промыслов М.Ш., Демчук М.Л. Модификация метода определения суммарной антиоксидантной активности сыворотки крови // Вопросы медицинской химии. – 1990. – № 4. – С. 90–92.
3. Сахарный диабет: острые и хронические осложнения. / Под ред. И.И. Дедова, М.В. Шестаковой // М.:«Издательство «Медицинское информационное агентство», 2011, 477 стр.
4. Чевари С., Андял Т., Штрэнгер Я. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте // Лабораторное дело. –1991. – № 10. – С. 9–13.
5. Friedwald W.T., Levy R.I., Fredrickson D.S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use the preparative ultracentrifuge // Clin. Chem. – 1971. – Vol. 18. – P. 499–502.
6. Plasma 8-epi-PGF2 alpha levels are elevated in individuals with non-insulin dependent diabetes mellitus / N.K. Gopaul [et al.] // FEBS Lett. – 1995. – V.368 – P.225-229.