

Л.И. Колесникова ¹, М.А. Даренская ¹, Л.А. Гребенкина ¹, Т.П. Бардымова ²,
С.В. Гнусина ¹, Н.В. Семенова ¹

СИСТЕМА ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ I ТИПА: ЭТНИЧЕСКИЙ АСПЕКТ

¹ ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН (Иркутск)
² ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования»
(Иркутск)

Окислительный стресс является признанным патогенетическим механизмом сахарного диабета I типа. Резкое увеличение концентрации глюкозы в плазме крови может способствовать значительному образованию свободных радикалов через следующие механизмы: гликирование, аутоокисление глюкозы, внутриклеточную активацию полиолового пути, способствующего дисбалансу соотношения NADH/NAD⁺. Частота, тяжесть и количество осложнений при сахарном диабете I типа связаны со многими факторами, включая географическое положение и этническую принадлежность. Изучены особенности процессов липопероксидации у 30 женщин больных СД I типа бурятской и русской этногрупп. В качестве материала для биохимических исследований использовали сыворотку крови и гемолизат. Содержание субстратов для процессов ПОЛ – соединений с изолированными двойными связями и продуктов процессов липопероксидации (диеновых конъюгатов, кетодиенов и сопряженных триенов, малонового диальдегида), общую антиокислительную активность сыворотки крови и ее компонентов (супероксиддисмутазы, α -токоферола, ретинола, восстановленного и окисленного глутатиона) определяли на спектрофлуорофотометре «SHIMADZU-1501» (Япония). При анализе межгрупповых различий для независимых выборок использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Показано, что степень интенсивности липопероксидных процессов у пациенток бурятской этногруппы более снижена по сравнению с русскими, что подтверждается, в том числе и значениями коэффициента окислительного стресса. Работа выполнена при поддержке Совета по грантам Президента РФ (НШ – 494.2012.7).

Ключевые слова: сахарный диабет I типа, липопероксидация, этническая группа

LIPID PEROXIDATION SYSTEM IN TYPE 1 DIABETES: ETHNIC ASPECTS

L.I. Kolesnikova ¹, M.A. Darenskaya ¹, L.A. Grebenkina ¹, T.P. Bardymova ²,
S.V. Gnusina ¹, N.V. Semenova ¹

¹ Scientific Center of Family Health and Human Reproduction Problems SB RAMS, Irkutsk
² Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education, Irkutsk

Oxidative stress is an acknowledged pathogenic mechanism in Type 1 diabetes mellitus. Acute increases in plasma glucose concentration may increase free radical production by the following mechanisms: labile glycation; auto-oxidation of glucose, and intracellular activation of the polyol pathway; which produces an imbalance in the NADH/NAD⁺ ratio and favours the production of free radicals. Incidence, severity, and rate of complications of Type 1 diabetes mellitus are associated with many factors including geographic location and ethnicity. The main features of lipid peroxidation in 30 women with type 1 diabetes in Buryat and Russian ethnic groups were examined. The materials for biochemical studies were blood serum and red cells. The content of the substrates and products of lipid peroxidation (diene conjugates, ketodienes and coupled trienes, malondialdehyde), total antioxidant activity of serum and its components (superoxide dismutase, α -tocopherol, retinol, reduced and oxidized glutathione) were evaluated by a spectrofluorophotometer «SHIMADZU-1501» (Japan). Statistical analysis was performed by non-parametric tests. It is shown that the intensity of lipid peroxidation processes in patients Buryat ethnic group is reduced in comparison with Russian ethnic group, that confirmed by the values of the coefficient of oxidative stress. The study was supported by grants of the President of the Council of the Russian Federation (Scientific School - 494.2012.7).

Key words: type 1 diabetes, lipid peroxidation, ethnic group

Одной из основных концепций персонализированной медицины является использование этноспецифического подхода в медицинских исследованиях [9].

Сахарный диабет, по определению ВОЗ и ООН, относят к неинфекционным заболеваниям с эпидемиологической скоростью роста распространенности, что побудило ООН в 2006 г. принять резолюцию по борьбе с сахарным диабетом. По данным Государственного регистра, в настоящее время в России официально зарегистрирован 3 268 871 больной сахарным диабетом, из них 282 501 больных сахарным диабетом I типа (СД I типа) [8].

Распространенность сахарного диабета I типа (СД I типа) зависит не только от географического

положения региона и факторов окружающей среды, а также обусловлена этническими особенностями [2, 7, 16]. Ряд исследователей показали низкую заболеваемость СД I типа среди коренных народов Севера и Сибири, что связано с наличием протективных по данной нозологии аллелей [6, 16, 18]. В современных условиях человеку приходится адаптироваться к уже сложившимся, часто неблагоприятным факторам внешней среды, поэтому вопросы устойчивости к уже имеющимся заболеваниям приобретают особое значение. В развитии адаптационных процессов ведущую роль играют процессы перекисного окисления липидов – антиоксидантной защиты (ПОЛ – АОЗ) [2, 4, 14]. Активации процессов липопероксидации при

СД I типа способствуют различные нарушения метаболизма: гипергликемия и дислипидемия, изменения секреции инсулина и истощение антиоксидантного резерва [1, 3, 5, 11]. Показано, что представители различных этнических групп обладают различной наследственной устойчивостью (резистентностью) к патологическим воздействиям [7, 12, 13]. Недостаточная изученность этого вопроса препятствует разработке научно обоснованных, дифференцированных для различных этнических групп оздоровительных программ и лечебных мероприятий.

Республика Бурятия расположена на юго-востоке Российской Федерации – в Южной Сибири, прилегающей к озеру Байкал. По данным Всероссийской переписи населения 2002 г. в Бурятии проживает 981 238 человек, из них 272 910 – представители коренной бурятской этногруппы. Распространенность СД I типа среди лиц коренной этногруппы составляет 24,18 на 100 тыс. населения, что значительно ниже российских показателей (224,5 на 100 тыс. населения). Всего в республике зарегистрировано 66 больных СД I типа, из которых 29 являются лицами женского пола [2].

В связи с этим, целью настоящего исследования явилось изучение особенностей процессов ПОЛ – АОЗ у женщин больных СД I типа бурятской и русской этнических групп.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование были включены женщины, больные СД I типа в стадии суб- и декомпенсации в возрасте от 18 до 60 лет, бурятской (15 больных, средний возраст – 33,07 ± 3,44 года) и русской (15 больных, средний возраст – 35,00 ± 3,43 года) этнических групп, с длительностью заболевания 9,97 ± 1,00 года, проживающие на территории республики Бурятия. Диагноз «СД I типа» у всех пациенток подтвержден клинико-лабораторными исследованиями. Все больные СД I типа получали заместительную инсулинотерапию по интенсифицированной схеме. Критериями исключения являлись наличие выраженной сопутствующей соматической патологии и тяжелых проявлений диабетических осложнений (хроническая почечная недостаточность, макроангиопатии). В контрольную группу были включены практически здоровые лица, не имеющие родственников больных СД (20 женщин бурятской этногруппы (средний возраст – 29,65 ± 1,75 года) и 20 – русской этногруппы (средний возраст – 29,80 ± 1,42 года)).

Материалом исследования служили плазма и гемолитат крови. Забор крови проводили из локтевой вены в соответствии с общепринятыми требованиями. Интенсивность процессов ПОЛ оценивали по содержанию его субстратов с сопряженными двойными связями (Дв.св.), а также продуктов – диеновых конъюгат (ДК) и кетодиенов и сопряженных триенов (КД и СТ) по методу И.А. Волчегорского (1989). Содержание ТБК-активных продуктов ПОЛ определяли флуориметрически по методу В.Б. Гаврилова с соавт. (1987). О состоянии системы антиоксидантной защиты (АОЗ) судили по общей антиоксидантной активности (АОА) крови (метод Г.И. Клебанова с соавт. (1988)), по содержанию ее компонентов: α-токоферола и ре-

тинола по методу Р.Ч. Черняускене и соавт. (1984) и активности супероксиддисмутазы (СОД) проводили методом Н.Р. Misra, I. Fridovich (1972). Измерения проводили на спектрофлуорофотометре «Shimadzu RF-1501» (Япония), спектрофотометре «Shimadzu RF-1650» (Япония). Для более информативной характеристики состояния процессов ПОЛ – АОЗ рассчитывали коэффициент окислительного стресса (КОС), представляющий собой отношение показателей системы ПОЛ – АОЗ пациентки с СД I типа к среднегрупповым показателям контрольной группы. При КОС > 1 регистрируют развитие окислительного стресса.

Все женщины, перед включением их в данное исследование, подписывали информированное согласие на участие в исследовании в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации последнего пересмотра (Сеул, октябрь 2008).

При анализе межгрупповых различий для независимых выборок использовались методы математической статистики, реализованные в лицензионном интегрированном статистическом пакете комплексной обработки данных Statistica 6.1 Stat-Soft Inc, США (правообладатель лицензии – ФГБУ «НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН»). Исследование проводилось при поддержке гранта Президента РФ НШ - 494.2012.7.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выявлено, что содержание субстратов с ненасыщенными Дв.св. в крови пациенток с СД I типа бурятской этногруппы по отношению к контрольной группе значимо возрастало в 1,41 раза ($p = 0,007$). Закономерно происходило статистически значимое увеличение содержания первичных продуктов ПОЛ – ДК в 1,65 раза ($p = 0,000$) (рис. 1). Показано, что усиление процессов липолиза, вызванное дефицитом инсулина приводит к возрастанию концентрации субстратов ПОЛ, содержащих ненасыщенные двойные связи, вследствие чего отмечается рост первичных продуктов липопероксидации – ДК. Диеновые конъюгаты относятся к токсическим метаболитам, которые оказывают повреждающее действие на липопротеиды, белки, ферменты и нуклеиновые кислоты [4, 5, 10].

Более выраженные изменения в системе липопероксидации были зарегистрированы в группе женщин больных СД I типа русской этногруппы. Так, имело место статистически значимое возрастание концентрации субстратов с сопряженными двойными связями – в 2,41 раза ($p = 0,000$) и уровня диеновых конъюгат – в 2,29 раза ($p = 0,000$) (рис. 1). Кроме того, отмечалась значительная активация процессов ПОЛ на стадии промежуточных продуктов в виде значимого увеличения содержания КД и СТ в 3,77 раза ($p = 0,000$). Выяснено, что избыточное образование продуктов ПОЛ оказывает цитотоксическое действие, что проявляется повреждением мембран эритроцитов, лизосом. При этом изменяется структура мембран клеток, вплоть до их разрыва, ингибируется активность цитохромоксидазы [10]. Известно, что усиление активности ПОЛ играет существенную роль

в повреждении эритроцитов и эндотелия сосудов и в формировании диабетических ангиопатий [1,3,5,20].

Сравнение метаболитов процесса пероксидации липидов в двух этнических группах показало усиление активности процессов ПОЛ в группе русских пациенток. Были выявлены статистически значимые различия по концентрации субстратов с Дв.св. – в 1,37 раза ($p = 0,027$) выше и КД и СТ в 1,88 раза ($p = 0,037$) выше, чем в группе больных бурятской этногруппы (рис. 1). Избыточный уровень глюкозы является одним из генераторов свободных радикалов, которые в свою очередь повреждают липидные и белковые компоненты клеток, способствуют образованию и накоплению высокотоксичных липоперекисных соединений, усиливающих процессы дестабилизации клеточных мембран и субклеточных структур, и, следовательно, может оказывать негативное влияние на течение диабета у больных русской этногруппы. Кроме того, известно, что сами свободные радикалы могут способствовать развитию гипергликемии [19].

При физиологических условиях в организме имеется постоянный баланс между уровнем свободных радикалов (оксидантов) и активностью системы антиоксидантной защиты [4]. Окислительный стресс сопровождается нарушением равновесия между указанными системами с увеличением количества оксидантов, которые ведут к повреждению биологических молекул в клетках, что сопровождается повышением их содержания в биологических средах и тканях организма [11, 14, 15]. Важным показателем, определяющим буферную емкость всей системы АОЗ, может являться общая антиокислительная активность крови – общая АОА, включающая множество компонентов ферментативной и неферментативной природы [17]. К основным звеньям системы АОЗ относятся ферментативное звено – СОД и жирорастворимые витамины - α -токоферол и ретинол.

У пациенток бурятской этногруппы отмечалось статистически значимое повышение уровня общей

АОА крови на 63 % ($p = 0,000$), при значимом снижении активности основного фермента системы АОЗ – СОД на 14 % ($p = 0,035$) и сохранении базального уровня жирорастворимых витаминов (рис. 2). СОД выполняет ключевую роль на первой линии защиты организма от избыточной продукции супероксидного анион-радикала. Вероятно, небольшое снижение активности данного фермента обусловлено его функционированием на первоначальных этапах процессов ПОЛ у больных бурятской этногруппы, так как в данной группе имеет место повышение концентрации продуктов деструкции гидроперекисей – ДК. Обращает на себя внимание также повышенный рост уровня общей АОА крови у пациенток бурятской этногруппы, что, возможно, способствует устойчивости к отрицательному воздействию оксидативного стресса и может рассматриваться как защитная реакция, способствующая благоприятному течению заболевания. По полученным ранее клиническим данным было выявлено, что поздние сосудистые осложнения (диабетическая ретинопатия и диабетическая нефропатия) у больных СД I типа бурятской этногруппы встречаются реже, чем среди больных других этнических групп и среднестатистических показателей [2, 7].

Анализ состояния системы АОЗ в группе женщин больных СД I типа русской этногруппы показал статистически значимое снижение значений активности СОД на 15 % ($p = 0,004$) по сравнению с женщинами контрольной группы, а также общей АОА крови на 47 % ($p = 0,002$) по отношению к больным бурятской этногруппы с СД I типа, при отсутствии изменений содержания α -токоферола и ретинола. Инициация липоперекисидных процессов на стадии первичных и промежуточных продуктов без закономерного повышения активности системы АОЗ может привести к нарушению различных звеньев гемостаза и повышению агрегации форменных элементов крови, что в свою очередь приводит к увеличению вязкости крови, утолщению базальной мембраны сосудистой стенки, замедлению кровотока

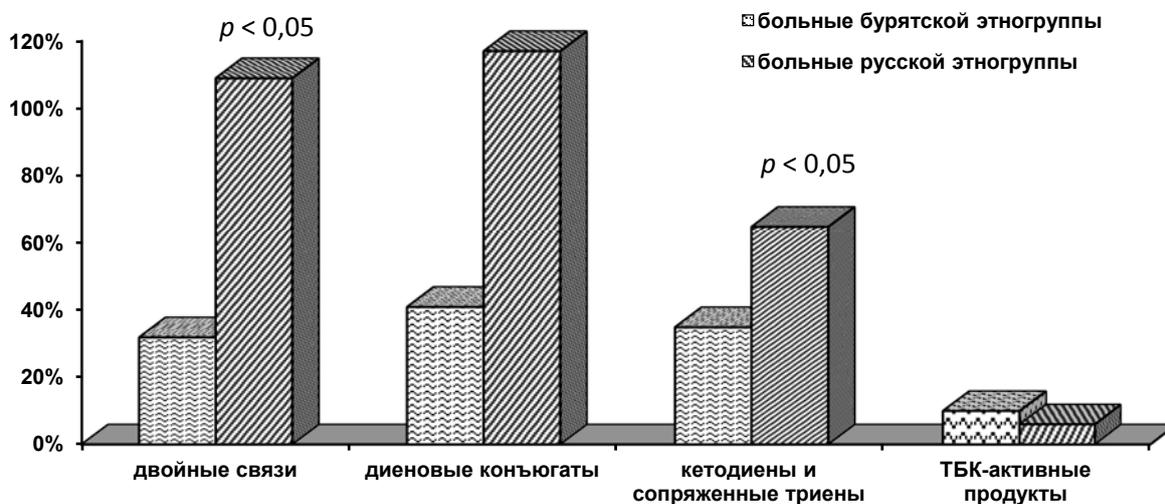


Рис. 1. Изменение содержания продуктов липопероксидации у больных СД I типа двух этнических групп (за 0 % – приняты результаты контрольных групп); $p < 0,05$ – статистически значимые различия между показателями.

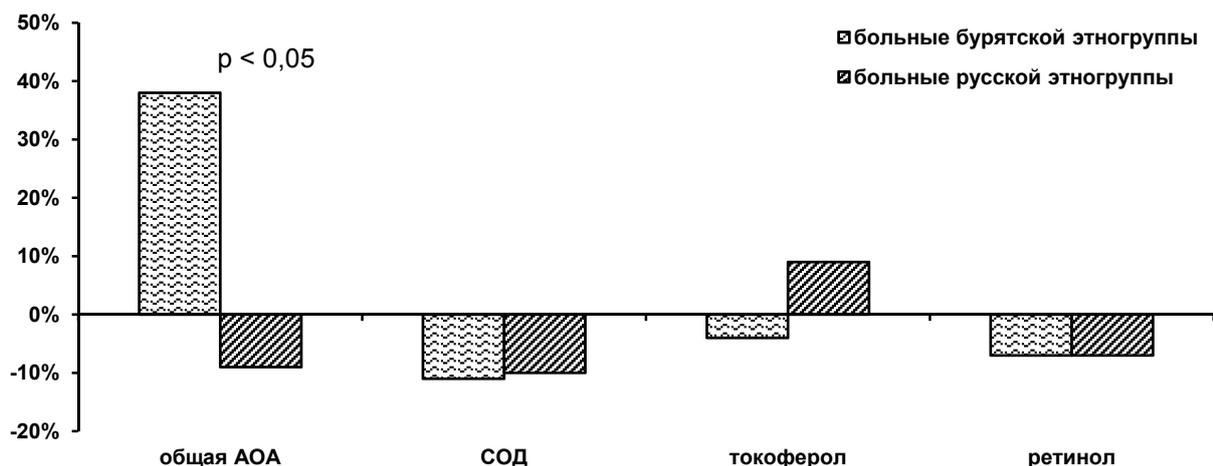


Рис. 2. Изменение содержания параметров системы АОЗ у больных СД I типа двух этнических групп (за 0 % – приняты результаты контрольных групп); $p < 0,05$ – статистически значимые различия между показателями.



Рис. 3. Уровень коеффициента окислительного стресса в группах больных СД I типа двух этнических групп.

на уровне мелких и сосудов среднего калибра, ухудшению микроциркуляции [1]. Выявленное ранее [2] нарушение липидного обмена совместно с показателями окислительного стресса являются факторами риска развития макроангиопатии у больных СД I типа русской этногруппы.

При оценке значений коеффициента окислительного стресса было установлено, что данный показатель в группе больных СД I типа бурятской этногруппы составляет – 1,35, в группе больных русской этногруппы – 2,45 (рис. 3). Значение КОС > 1, как правило, рассматривается, как нарастание степени окислительного стресса. Чем больше величина коеффициента окислительного стресса, тем более интенсивны процессы перекисидации липидов и менее эффективна система АОЗ у обследуемых больных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об усилении процессов липопероксидации в группах больных СД I типа, при этом, степень интенсивности липопероксидных процессов различна. Изменения в системе ПОЛ – АОЗ у пациенток бурятской этногруппы с СД I типа характеризуются

более низкой интенсивностью в сравнении с русскими. Выявленные нарушения позволяют рекомендовать строго индивидуальный подход к проведению комплексной терапии, включающей назначение антиоксидантов и препаратов, направленных на нормализацию липидного обмена.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балаболкин М.И., Креминская В.М., Клебанова Е.М. Роль окислительного стресса в патогенезе диабетической нейропатии и возможность его коррекции препаратами α -липовой кислоты // Проблемы эндокринологии. – 2005. – Т. 51, № 3. – С. 22–32.
2. Бардымова Т.П. Этнические аспекты сахарного диабета у народов Прибайкалья: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Иркутск, 2007. – 37 с.
3. Даренская М.А. Закономерности изменений процессов перекисного окисления липидов-антиоксидантной защиты и гормональной регуляции в различные периоды становления репродуктивной системы у больных сахарным диабетом 1 типа: дисс. ... канд. биол. наук. – Иркутск, 2005. – 120 с.
4. Даренская М.А., Колесникова Л.И., Бардымова Т.П., Петрова В.А. и др. Закономерности изменений

показателей процесса перекисидации липидов у практически здоровых в различные периоды становления репродуктивной системы // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. – 2006. – № 1. – С. 119–122.

5. Дедов И.И., Балаболкин М.И., Мамаева Г.Г., Клебанова Е.М. и др. Сахарный диабет: ангиопатии и окислительный стресс. Пособие для врачей. – М., 2003. – 86 с.

6. Дедов И.И., Колесникова Л.И., Иванова О.Н., Бардымова Т.П. и др. Полиморфизм генов HLA класса и CTLA здоровых бурят и больных сахарным диабетом 1 типа в Бурятской республике // Сахарный диабет. – 2006. – № 1. – С. 2–8.

7. Дедов И.И., Колесникова Л.И., Бардымова Т.П., Прокофьев С.А. и др. Этнические аспекты сахарного диабета у народов Прибайкалья // Бюлл. СО РАМН. – 2008. – № 1 (129). – С. 16–20.

8. Дедов И.И. Сахарный диабет – опаснейший вызов мировому сообществу // Вестник РАМН. – 2012. – № 1. – С. 7–13.

9. Дедов И.И., Тюльпаков А.Н., Чехонин В.П., Бахлашев В.П. и др. Персонализированная медицина: современное состояние и перспективы // Вестник РАМН. – 2012. – № 12. – С. 4–12.

10. Заводник И.Б., Дремза И.К., Лапшина Е.А., Чещевик В.Т. Сахарный диабет: метаболические эффекты и окислительный стресс // Биологические мембраны: Журнал мембранной и клеточной биологии. – 2011. – Т. 28, № 2. – С. 83–94.

11. Ильин В.П., Даренская М.А., Колесникова Л.И. Особенности взаимодействия процессов липопероксидации и гормональной регуляции у больных сахарным диабетом 1 типа в различные периоды становления репродуктивной системы // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. – 2004. – Т. 1, № 2. – С. 127–133.

12. Колесникова Л.И., Долгих В.В., Баирова Т.А., Бимбаев А.Б.Ж. Эссенциальная артериальная ги-

пертензия и гены ренин-ангиотензиновой системы. – Новосибирск: Наука, 2008. – 108 с.

13. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Гребенкина Л.А., Осипова Е.В. и др. Изучение состояния процесса липопероксидации у женщин различных этнических групп с угрозой прерывания беременности // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. – 2010. – № 6 (76), Ч. 2. – С. 31–33.

14. Колесникова Л.И., Осипова Е.В., Гребенкина Л.А. Окислительный стресс при репродуктивных нарушениях эндокринного генеза у женщин. – Новосибирск: Наука, 2011. – 116 с.

15. Макаров О.А., Савченков М.Ф., Ильин В.П., Колесникова Л.И. Радон и здоровье населения. – Новосибирск, 2000. – 147 с.

16. Нелаева А.А., Коноплин Р.Б., Коноплина Е.В. Генетические маркеры сахарного диабета 1 типа в популяции ханты // Медицинская наука и образование Урала. – 2007. – Т. 8, № 5. – С. 50–51.

17. Семенюк А.В., Колесникова Л.И., Куликов В.Ю., Неделькина С.В. и др. Метод оценки активности ферментов метаболизма лекарственных растений // Клиническая лабораторная диагностика. – 1982. – № 10. – С. 607–609.

18. Сунцов Ю.И., Дедов И.И., Маслова О.В., Болотская Л.Л. и др. Риск развития сахарного диабета 1 типа в популяции башкир (по данным HLA-генотипирования) // Сахарный диабет. – 2006. – № 2. – С. 2–6.

19. Kostolanská J., Jakus V., Barák L. Glycation and lipid peroxidation in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus with and without diabetic complications // J. Pediatr. Endocrinol. Metab. – 2009. – Vol. 22, N 7. – P. 635–643.

20. Takayanagi R., Inoguchi T., Ohnaka K. Clinical and experimental evidence for oxidative stress as an exacerbating factor of diabetes mellitus // J. Clin. Biochem. Nutr. – 2010. – Vol. 48, N 1. – P. 72–77.

Сведения об авторах

Колесникова Любовь Ильинична – член-корр. РАМН, профессор, директор ФГБУ «НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: (3952) 20-76-36; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)

Даренская Марина Александровна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии репродукции ФГБУ «НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: (3952) 20-76-36; e-mail: mops_my@front.ru)

Гребенкина Людмила Анатольевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии репродукции ФГБУ «НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: (3952) 20-76-36; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)

Бардымова Татьяна Прокопьевна – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой эндокринологии ГБОУ ДПО ИГМАПО Минздравсоцразвития РФ (664049, г. Иркутск, м/р Юбилейный, 100; тел. (3952) 46-53-26; e-mail: bardymov@mail.ru)

Гнусина Светлана Васильевна – кандидат медицинских наук, заведующая отделением эндокринологии клиники ФГБУ «НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: (3952) 20-76-36; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)

Семенова Наталья Викторовна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории патофизиологии репродукции ФГБУ «НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: (3952) 20-76-36; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)