

◆ КЛИНИЧЕСКАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2003

УДК 616.379-008.64-053.2-07:616.153.96-39

М. А. Флеров, Н. Н. Смирнова, З. В. Светлова

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ ТИПА 1

Лаборатория нейроэндокринологии (зав. — проф. В. Г. Шаляпина) Института физиологии им. И. П. Павлова РАН и кафедра педиатрии (зав. — доктор мед. наук О. К. Москвичев) Санкт-Петербургского медицинского университета им. акад. И. П. Павлова

Изучена окислительная деструкция белков плазмы крови детей, больных сахарным диабетом типа 1, и практически здоровых детей. Длительность заболевания 3—5 лет. Определяли степень спонтанного и металлокатализируемого окисления белков по реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков с 2,4-динитрофенилгидразином. Показано, что в плазме крови больных сахарным диабетом типа 1 по сравнению со здоровыми повышен уровень продуктов перекисного окисления.

Oxidative plasma protein destruction was studied in children with type 1 diabetes mellitus and healthy children. The duration of the disease was 3–5 years. The degree of spontaneous and metal-catalyzed protein oxidation was determined by the interaction of oxidized amino acid residues with 2,4-dinitrophenylhydrazine. The plasma from children with type 1 diabetes mellitus showed a higher level of peroxidation products than that from healthy children.

Исследование биохимических механизмов модификации макромолекул при сахарном диабете — одно из актуальных направлений в изучении молекулярных основ природы заболевания, его диагностики и лечения.

Наиболее быстрым способом модификации белковых молекул является перекисное окисление [1, 13], а усиление окислительной деструкции белков, как и перекиса липидов, играет важную роль в структурно-функциональных изменениях мембран различных органов и тканей [9], что всегда влечет за собой нарушение клеточного гомеостаза [7].

Окислительная модификация белков — один из ранних индикаторов поражений тканей при патологии [2].

Несмотря на то что в настоящее время среди исследователей, занимающихся проблемами, связанными с сахарным диабетом, нет единого мнения относительно повышения активности систем перекисного окисления при диабете, рядом авторов установлен факт повышения уровня свободных радикалов у больных диабетом [8, 10, 12]; отмечается резкое увеличение процессов перекисного окисления липидов в крови больных диабетом. Однако данных о возможности окислительной деструкции белков сыворотки крови у больных сахарным диабетом практически нет.

В то же время повышенный уровень глюкозы способствует нарушению работы системы внутриклеточной антиоксидантной защиты, дисбалансу окислительного фосфорилирования и повышению концентрации супероксидного анион-радикала, перекиси водорода и гидроксильных радикалов [5, 6, 11].

В связи с этим уровень перекисного окисления белков (ПОБ) плазмы крови может быть тестом степени метаболических нарушений у больных сахарным диабетом различных возрастных групп.

Задача нашего исследования — определение интенсивности ПОБ плазмы крови у подростков,

больных сахарным диабетом, и сравнение ее с данными, полученными в группе практически здоровых детей в возрасте 13—14 лет.

Материалы и методы

Больные сахарным диабетом дети были в возрасте 11—15 лет. Длительность заболевания составляла 3—5 лет. Исследование проводили в стадии компенсации. Кровь брали утром натощак, добавляя антикоагулянт. Для получения плазмы кровь центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 мин. Метод определения продуктов ПОБ основан на том, что конечные продукты свободнорадикального окисления белков могут количественно реагировать с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов. Исследование проводили по методу Levine [11] в модификации Дубининой [3], который позволяет определять спонтанное и металлокатализируемое окисление белков. Для инициации окисления белков плазмы крови проводили инкубацию с 200 мкл среды, содержащей 1 мМ Fe^{2+} , 5 мМ H_2O_2 и 1,7 мМ ЭДТА. Время инкубации 15 мин при 37°C. Продукты ПОБ регистрировали при длинах волн 240 и 274 нм — альдегид-динитрофенилгидразоны и 363 нм — кетон-динитрофенилгидразоны. Степень окислительной модификации белков выражали в единицах оптической плотности, рассчитанной на 1 мл плазмы. Для статистической обработки полученных результатов использовали критерий Стьюдента. Различия между средними считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

В таблице представлены данные о спонтанном и активируемом металлами (Fe-зависимое) ПОБ в плазме крови больных сахарным диабетом типа 1 и здоровых детей. Как видно из таблицы, в плазме

Уровень ПОБ в плазме крови больных сахарным диабетом типа 1 и здоровых детей

Группа доноров	Число доноров	E _{240 нм}	E _{274 нм}	E _{363 нм}
Спонтанное ПОБ				
Больные диабетом	12	1,71 ± 0,25*	2,01 ± 0,43	1,40 ± 0,002*
Здоровые	12	0,99 ± 0,34	1,58 ± 0,11	0,72 ± 0,03
Fe-зависимое ПОБ				
Больные диабетом	12	5,52 ± 0,065	3,71 ± 0,68	7,84 ± 0,03*
Здоровые	12	5,73 ± 0,21	3,43 ± 0,38	5,49 ± 0,63

Примечание. Звездочка — $p < 0,05$.

крови детей, больных сахарным диабетом, повышено образование конечных продуктов ПОБ, связанных с длиной волны 240 нм. Увеличение по сравнению со здоровыми детьми составляет 73%. Такое же повышение выявлено для кетон-динитрофенилгидразонов (363 нм), также конечных продуктов ПОБ. Не отмечено достоверных различий в образовании продуктов ПОБ, регистрируемых при длине волны 274 нм. При индукции ПОБ *in vitro* ионами Fe²⁺ в сочетании с H₂O₂ наблюдалось лишь увеличение образования кетон-динитрофенилгидразонов при 363 нм в плазме крови детей, больных диабетом, в среднем на 50%. По остальным показателям различия были недостоверны.

Одной из актуальных проблем современной диабетологии является обнаружение клеточных маркеров, которые адекватно отражают метаболические и биохимические процессы, происходящие при сахарном диабете. С определенной долей уверенности можно сказать, что таковыми могут быть продукты окислительной деструкции не только мембранных липидов, но и белков. Усиление процессов перекисного окисления при сахарном диабете, выразившееся в повышении продуктов ПОБ у детей, больных сахарным диабетом, по сравнению со здоровыми детьми в среднем на 70% указывает на выход из-под контроля защитно-приспособительных реакций организма на клеточном уровне. Это означает нарушение ионного механизма регуляции ферментных систем, обеспечивающих клеточный гомеостаз, что играет важную роль в пато-

генезе заболевания и приводит к активации целого ряда сосудоповреждающих факторов.

По мнению ряда авторов, окислительная модификация белков плазмы крови отражает общую направленность окисления белков во всем организме и может носить избирательный специфический характер при различных заболеваниях [1, 4]. Поскольку повышение уровня ПОБ в плазме крови, обнаруженное у детей, больных сахарным диабетом, очень значительно, не исключено, что этот показатель сможет служить тестом глубины метаболических нарушений при сахарном диабете. Вполне возможно, что коррекция процессов ПОБ при сахарном диабете будет иметь важное значение в терапии этого заболевания и снижении риска сосудистых осложнений, которые его сопровождают.

Выводы

1. Установлено, что при сахарном диабете типа 1 в плазме крови у детей повышается уровень продуктов ПОБ.

2. Интенсивность окислительной модификации белков плазмы крови отражает степень метаболических нарушений в тканях при сахарном диабете.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арчаков А. И., Мохосеева И. М. // Биохимия. — 1989. — Т. 54, № 2. — С. 179—186.
2. Дубинина Е. Е., Шугалей И. В. // Успехи соврем. биол. — 1993. — Т. 113, вып. 1. — С. 71—81.
3. Дубинина Е. Е., Бурмистров С. О., Ходов Д. А. и др. // Вопр. мед. химии. — 1995. — Т. 41, № 1. — С. 24—26.
4. Дубинина Е. Е., Морозова М. Г., Леонова Н. В. и др. // Там же. — 2000. — Т. 46, № 4. — С. 398—409.
5. Ефимов А. С., Науменко В. Г. // Пробл. эндокринол. — 1985. — Т. 31, № 1. — С. 3—9.
6. Кондратьев Я. Ю., Носиков В. В., Дедов И. И. // Там же. — 1998. — Т. 44, № 1. — С. 43—51.
7. Лисицина Т. А., Васильева И. М., Дурнев А. Д. // Докл. АН. — 1999. — Т. 365, № 2. — С. 263—266.
8. Любичкий О. Б., Давыдов Б. В., Ельшанский И. В. и др. // Вопр. мед. химии. — 1998. — Т. 44, № 6. — С. 565—570.
9. Татьянаенко Л. В., Богданов Г. Н., Варфоломеев В. Н. и др. // Там же. — С. 551—558.
10. Giugliano D., Acampora R., O'Onofrio F. // Diabet. Metab. — 1994. — Vol. 20. — P. 445—453.
11. Levine R. T., Garland D., Oliver C. N. et al. // Meth. Enzymol. — 1990. — Vol. 186. — P. 464—478.
12. Oberley L. W. // Free Rad. Biol. Med. — 1988. — Vol. 5. — P. 113—124.
13. Stadman E. R. // Ibid. — 1990. — Vol. 9. — P. 315—325.

Поступила 28.03.01

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2003

УДК 616.379-008.64-07:616.153.915

О. Н. Потеряева, Л. Е. Панин, О. П. Шевкопляс, О. С. Воронова, Н. Е. Костина, Л. М. Поляков

ЛИПОПРОТЕИНЫ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ ТИПА 2

НИИ биохимии, Научный центр клинической и экспериментальной медицины, Новосибирск

Изучали качественный и количественный состав липопротеинов сыворотки крови у больных сахарным диабетом типа 2. Проведен корреляционный анализ между показателями липидного обмена и другими характеристиками больных (индекс Кетле, длительность диабета, степень его компенсации,

The qualitative and quantitative composition of serum lipoproteins was studied in patients with type 2 diabetes mellitus. A correlation analysis was made between lipid metabolic and other indices (Quetle index, a history of diabetes, the degree of its compensation, age, carbohydrate metabolism). The patients воз-