

в обеих группах в сравнении с контрольной группой ($p < 0,001$). У детей, длительно (более 7 лет) болеющих ИЗСД, отмечено снижение активности СОД и ГЛП.

Выводы

1. При ИЗСД у детей повышение уровня ГП и МДА в плазме крови сопровождается достоверным снижением уровня ГЛП и повышением активности СОД. Повышение активности СОД, по видимому, носит компенсаторный характер. Снижение активности ГЛП более выражено у больных в декомпенсированном состоянии.

2. Определение активности ГЛП у детей с ИЗСД является наиболее информативным маркером состояния системы антиоксидантной защиты.

3. Длительность сахарного диабета существенно не влияет на активность ферментов антиоксидантной защиты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балаболкин М. И., Мамаева Г. Г., Полякова И. А., Князева А. П. // Пробл. эндокринологии. — 1992. — № 6. — С. 34—35.

© Л. Г. ЧУГУНОВА, И. И. ДУБИНИНА, 1994

УДК 616.379-008.64-07:616.153.915-39

Л. Г. Чугунова, И. И. Дубинина

ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТЬ ЛИЗОСОМАЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Кафедра биохимии (зав.—акад. РАН Е. А. Строев), кафедра эндокринологии (зав.—доц. И. И. Дубинина) Рязанского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова

В последние годы повысился интерес к изучению перекисного окисления липидов (ПОЛ) при различных заболеваниях, в том числе и при сахарном диабете (СД) [5, 6, 8—10]. Изменения процессов ПОЛ, учитывая его универсальность для любых биомембран, прежде всего влияют на функционирование лизосомального аппарата [2]. Свободнорадикальное окисление может захватывать лизосомальную мембрану, изменять ее проницаемость, нарушая функции клеток и чувствительность их к внеклеточным регуляторам.

В настоящее время выявлена важная роль процессов ПОЛ в патогенезе СД и диабетических ангиопатий [3—6, 11], отмечены разнонаправленные изменения процессов ПОЛ при СД I и II типов [1], тяжелой форме СД, кетоацидозе у детей [9]. Согласно данным литературы [7, 8], интенсификация ПОЛ при СД выявляется на фоне снижения в тканях и плазме уровня α -токоферола и истощения запасов антиоксидантов. Возможно, что инсулин участвует в метаболизме липидных перекисей и способствует их утилизации. Дестабилизация лизосомальных мембран, ведущая к выходу в клеточный матрикс кислых гидролаз, происходит под воздействием различных факторов, в том числе и гормональных.

Целью настоящего исследования явилось комплексное изучение процессов ПОЛ и активности отдельных лизосомальных ферментов у больных СД I и II типов. В доступной нам литературе подобных работ мы не встретили.

2. Гаврилов В. Б., Мишкорудная М. И. // Лаб. дело. — 1983. — № 3. — С. 33.
3. Дедов И. И., Горельщикова В. И., Романовская Г. А. и др. // Пробл. эндокринологии. — 1992. — № 6. — С. 32—33.
4. Коробейникова Э. Н. // Лаб. дело. — 1989. — № 7. — С. 8.
5. Литвиненко Л. А. // Пробл. эндокринологии. — 1991. — № 3. — С. 6—8.
6. Моин В. М. // Лаб. дело. — 1986. — № 12. — С. 724—727.
7. Старосельцева Л. К., Косилова Е. С., Смурова Т. Ф. и др. // Пробл. эндокринологии. — 1986. — № 1. — С. 19—22.
8. Туркина Т. И., Марченко Л. Ф., Зезеров А. Е. и др. // Там же. — 1991. — № 4. — С. 13—15.
9. Чевари С., Чабан С., Секей И. // Лаб. дело. — 1985. — № 11. — С. 678.
10. Jain S. K., McVie R., Dueff S., Herbst S. S. // Diabetes. — 1989. — Vol. 38, № 12. — P. 1539—1543.

Получила 14.02.94

L. N. Scherbachyova, N. B. Lebedev, A. P. Knyazeva, B. P. Mishchenko — ACTIVITIES OF ANTIOXIDANT DEFENSE ENZYMES IN CHILDREN WITH INSULIN-DEPENDENT DIABETES MELLITUS

Summary. Activities of superoxide dismutase and glutathione peroxidase were measured in 60 children aged 5 to 15 with insulin-dependent diabetes of various degrees of compensation and duration. Measurements of glutathione peroxidase were found to be the most informative marker of the status of antioxidant defense system.

Материалы и методы

Проведено комплексное обследование 56 больных СД I и II типов, в том числе 34 больных СД I типа и 22 больных СД II типа. Возраст больных колебался от 15 до 69 лет, длительность СД — от нескольких месяцев до 27 лет. Средняя тяжесть заболевания была у 26 больных СД I типа и у 22 больных СД II типа, тяжелой форма — у 8 больных с I типом СД. Диабетические ангиопатии имели место у больных СД I и II типов: ангиопатия нижних конечностей, полинейропатия, ретинопатия. Больным СД I типа проводилась интенсивная инсулиновая терапия. Доза инсулина составляла 0,5—0,8 ЕД на 1 кг массы тела в сутки, средняя доза инсулина $40,81 \pm 2,25$ ЕД/сут. Больные СД II типа получали лечение пероральными сахароснижающими средствами (манинил, букарбан и сочетание их с глибутидом, адебитом).

Скорость ПОЛ в мембранах эритроцитов определяли по активности ферментативного (НАДФ·Н-зависимого — НЗП) и неферментативного (аскорбатзависимого — АЗП) ПОЛ, а также по накоплению ацилгидроперекисей (АГП), «межмолекулярных сшивок» (ММС), спонтанного гемолиза эритроцитов (СГ). Активность ферментов лизосом в лейкоконцентрате — катепсинов, кислой ДНКазы и β -галактозидазы — определяли спектрофотометрическим методом.

Контрольную группу составили 20 практически здоровых лиц. Результаты обработаны с применением критерия достоверности Фишера — Стьюдента с помощью персонального компьютера «Мазовия-1914».

Результаты и их обсуждение

Результаты исследования представлены в табл. 1 и 2.

Как видно, у больных СД I типа имеется тенденция к повышению всех изучаемых показателей свободнорадикального окисления липидов. Особо следует отметить достоверное

Показатели ПОЛ эритроцитарных мембран у больных СД I и II типов

Группа	НЗП	АЗП	ММС	АГП	СГ
	нмоль на 1 мг липидов за 1 ч		ед. на 1 мг липидов		%
Здоровые (n=20)	17,28 ± 1,42	9,67 ± 1,06	1,86 ± 0,20	0,47 ± 0,04	6,87 ± 0,92
Больные СД I типа (n=34)	21,6 ± 1,67	9,77 ± 0,09	2,15 ± 0,15	0,80 ± 0,05***	7,86 ± 0,75
В том числе с длительностью СД					
до 10 лет	23,93 ± 2,17*	9,67 ± 0,92	2,07 ± 0,21	0,76 ± 0,06***	8,57 ± 1,2
более 10 лет	25,08 ± 3,33*	6,55 ± 1,33	2,38 ± 0,33	0,89 ± 0,12**	7,76 ± 1,42
Больные СД II типа (n=22)	24,95 ± 1,65**	12,56 ± 1,66	2,78 ± 0,35*	0,68 ± 0,08**	9,92 ± 1,03*
В том числе с длительностью СД					
до 10 лет	21,81 ± 2,68	11,23 ± 1,6	2,15 ± 0,46	0,68 ± 0,1*	9,79 ± 1,38
более 10 лет	26,15 ± 2,88*	10,23 ± 2,56	3,43 ± 0,21***	0,63 ± 0,03**	10,04 ± 1,23*

Примечание. Здесь и в табл. 2: достоверность показателей в сравнении с контролем: одна звездочка — $p < 0,05$, две — $p < 0,01$, три — $p < 0,001$.

Таблица 2

Активность лизосомальных ферментов в лейкоконцентрате у больных СД I и II типов

Группа	β-галакто- зидаза	Катеп- сины	ДНКазы
	нмоль/ч на 1 мг белка		мкмоль/ч на 1 мг белка
Здоровые (n=20)	20,56 ± 0,85	49,96 ± 1,86	4,63 ± 0,31
Больные СД I типа (n=34)	17,51 ± 1,23	53,02 ± 3,13	3,75 ± 0,24
В том числе с длительностью СД			
до 10 лет	18,10 ± 1,75	54,36 ± 4,39	4,58 ± 0,4
более 10 лет	15,10 ± 2,23	52,97 ± 6,64	2,42 ± 0,52
Больные СД II типа (n=22)	18,2 ± 2,21	54,96 ± 4,78	3,32 ± 0,48
В том числе с длительностью СД			
до 10 лет	16,49 ± 2,19	61,10 ± 6,94	2,99 ± 0,45
более 10 лет	19,05 ± 1,21	52,95 ± 5,11	4,03 ± 0,50

($p < 0,001$) повышение содержания первичных продуктов пероксидации — ацилгидроперексидей (АГП) по сравнению с контрольной группой. Исследование лизосомальных ферментов у всей группы больных инсулинзависимым СД по сравнению с контрольной группой выявило достоверное снижение активности β-галактозидазы и ДНКазы в лейкоцитах.

При сравнении результатов изучения процессов ПОЛ и активности лизосомальных ферментов в зависимости от длительности заболевания показало, что у больных СД I типа с длительностью заболевания до 10 лет наряду с достоверным накоплением АГП ($p < 0,001$) имеет место повышение скорости ферментативной (НЗП) пероксидации липидов биомембран. И. И. Дедов и соавт. [4] выявили активацию процессов ПОЛ уже в дебюте инсулинзависимого СД, о чем свидетельствовало достоверное повышение содержания МДА в мембранах эритроцитов. У больных СД с длительностью, превышающей 10 лет, нами обнаружены более отчетливые изменения процессов ПОЛ. Это согласуется с результатами исследований [5], выявивших тенденцию к повышению уровня диеновых конъюгатов у больных СД длительностью более 5—10 лет по сравнению с больными СД длительностью до 1 года. Нами получены также разные изменения активности лизосомальных ферментов в зависимости от длительности СД. У больных СД I типа с длительностью более 10 лет имеет место резкое снижение активности ДНКазы и β-галактозидазы в лейкоцитах крови, коррелирующее с противоположными

ми сдвигами показателей АГП и скорости НЗП. Эти реципрокные изменения показателей ПОЛ и ферментного комплекса лизосом являются, очевидно, характерным признаком при длительном течении СД I типа.

Изучение состояния ПОЛ и активности лизосомальных ферментов у больных СД II типа выявило повышение процессов ПОЛ, особенно для вторичных продуктов ПОЛ — ММС и в меньшей степени для АГП, заметно активизировался процесс ферментативной пероксидации липидов (НЗП). Вместе с тем активность лизосомальных ферментов изменялась незначительно, наблюдалась лишь тенденция к снижению содержания ДНКазы.

О существовании зависимости биохимических сдвигов от длительности заболевания свидетельствовало увеличение содержания ММС, отчасти АГП и СГ у больных СД II типа с длительностью более 10 лет, происходящее, видимо, вследствие активации ферментативной системы пероксидации. Активность лизосомальных ферментов имела выраженные изменения, особенно ДНКазы ($p < 0,01$) в начальной стадии заболевания, у больных с длительностью СД II типа более 10 лет эти сдвиги менее демонстративны.

Таким образом, проведенное комплексное исследование метаболизма у больных СД I и II типов выявило некоторые закономерности биохимических изменений показателей ПОЛ и ферментных функций лизосом. Общими для инсулинзависимого и инсулиннезависимого типов СД были реципрокные сдвиги ряда показателей ПОЛ и ферментов лизосом — повышение активности ферментной системы пероксидации липидов (НЗП) и содержания АГП в эритроцитах с одновременным дефицитом в лейкоцитах β-галактозидазы и ДНКазы. При СД I типа было гораздо выше накопление АГП, а для II типа СД более характерны активация НЗП и дефицит лизосомальных ферментов.

Глубокие нарушения процессов ПОЛ и активности ферментов лизосом являются одним из патогенетических механизмов развития диабетических ангиопатий, что диктует необходимость включения антиоксидантных препаратов в терапию уже на ранних стадиях заболевания [4], а также поиска новых способов корреляции данных нарушений.

Выводы

1. У больных СД имеют место повышение активности ПОЛ в биомембранах эритроцитов и дефицит ДНКазы и в меньшей степени β -галактозидазы в лизосомах лейкоцитов.

2. Установлена зависимость изменений показателей ПОЛ и активности лизосомальных ферментов от типа СД и длительности заболевания, что необходимо учитывать в комплексной терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Боднар П. Н., Приступок А. М. // Клин. мед.—1984.— № 8.—С. 98—101.
2. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах.— М., 1972.
3. Гармаш В. Я., Григорьева И. В., Ракина Д. Р. // Всероссийский съезд эндокринологов, 2-й: Тезисы.— Челябинск, 1991.—С. 80—81.
4. Дедов И. И., Горелышева Г. А., Романовская Г. А. и др. // Пробл. эндокринолог.—1992.— № 6.—С. 32—33.
5. Ефимов А. С., Науменко В. Г. // Там же.—1985.— № 1.—С. 6—9.
6. Мамедгасанов Р. М., Рахмани С. А. // Там же.—1989.— № 1.—С. 19—21.
7. Мхитарян В. Г., Геворкян Д. М. // Биол. журн. Армении.—1981.— № 8.—С. 783—788.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1994

УДК 616.379-008.64-055.51.7-092-07

И. П. Домусчиев, Т. Л. Кураева, А. С. Сергеев, В. В. Яздовский, Л. Н. Денисов, В. П. Максимова, О. М. Смирнова, Г. А. Романовская

АНАЛИЗ ЯДЕРНЫХ СЕМЕЙ С ДВУМЯ И БОЛЕЕ БОЛЬНЫМИ ИНСУЛИНЗАВИСИМЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ СИБСАМИ

Эндокринологический научный центр (дир.—акад. РАМН И. И. Дедов) РАМН, Медико-генетический научный центр (дир.—проф. В. И. Иванов) РАМН, Институт иммунологии (дир.—член-корр. Р. М. Хаитов) Минздравмедпрома, Институт ревматологии (дир.—акад. РАМН В. А. Насонова) РАМН, Москва

Метод пораженных сибсовых пар широко используется в анализе типа наследования заболеваний, с которыми ассоциируют генетические маркеры, например HLA-ассоциированных заболеваний [6]. Передача антигенов (гаплотипов) от родителей к детям может происходить с неодинаковой частотой. При отсутствии связи с заболеванием наследование HLA-антигенов (гаплотипов) от родителей к детям происходит по закону Менделя, т. е. среди сибсов, больных одним и тем же заболеванием, соотношение пар с числом 2, 1 и 0 идентичных по происхождению гаплотипов (IBD-identical by descent) соответствует простому менделевскому соотношению 1:2:1 (25%:50%:25%). Однако если связь между HLA-антигеном и заболеванием существует, то наблюдается отклонение от закона Менделя.

Исследование семей с двумя и более больными инсулинзависимым сахарным диабетом (ИЗСД) сибсами может дать ценную информацию, поскольку у пораженных сибсов больше вероятность генетической гомогенности этого заболевания [1]. Исследования HLA-антигенов в таких семьях могут помочь лучшему пониманию участвующих генетических механизмов.

Целью работы явился анализ распределения HLA-гаплотипов в ядерных семьях с двумя и более больными ИЗСД сибсами методом пораженных сибсовых пар.

8. Старосельцева Л. К., Косилова Е. С., Смунова Т. Ф. и др. // Пробл. эндокринолог.—1986.— № 1.—С. 19—22.
9. Туркина Т. И., Марченко Л. Ф., Зезеров А. Е. и др. // Там же.—1991.— № 4.—С. 13—15.
10. Fujiwara S., Kondo T., Muracami K. et al. // Klin. Wschr.—1989.— Bd 67, № 7.—С. 336—341.
11. Uzol N., Sivas A., Kysal M. // Hormone metab. Res.—1987.— Vol. 19, № 2.—P. 89—90.

Поступила 12.01.94

L. G. Chugunova, I. I. Dubinina—LIPID PEROXIDATION PARAMETERS AND ACTIVITIES OF LYSOSOMAL ENZYMES IN DIABETICS

Summary. The processes of lipid peroxidation and activities of lysosomal enzymes were studied in 56 patients with type I and II diabetes mellitus. The rate of lipid peroxidation of red cell membranes was assessed from the activities of enzymatic (NADPH-dependent) and nonenzymatic (ascorbate-dependent) lipid peroxidation, from accumulation of acylhydroperoxides, intermolecular joints, and from spontaneous red cell hemolysis. Activities of lysosomal enzymes (cathepsins, acid DNase, and β -galactosidase) were measured in leukoconcentrate. The activity of enzymatic system of lipid peroxidation and acylhydroperoxide content in red cell membranes were found increased. In parallel with this, a deficiency in leukocytic lysosomes of β -galactosidase and DNase was revealed. The detected metabolic disturbances may be regarded as one of the pathogenetic mechanisms of development of diabetic angiopathies. A relationship was revealed between changes in lipid peroxidation parameters and activities of lysosomal enzymes, on the one hand, and diabetes mellitus type and duration, on the other.

Материалы и методы

Обследовано 15 ядерных семей с двумя больными ИЗСД сибсами и 1 ядерная семья с тремя больными ИЗСД сибсами—всего 69 человек, в том числе 33 больных ИЗСД сибса (14 лиц мужского пола и 19 лиц женского) и 36 здоровых лиц (здоровые родители и здоровые сибсы)—18 лиц мужского пола и 18 лиц женского пола. Все обследованные лица были только русской национальности. Среднее число сибсов в семье—2. Возраст сибсов, больных ИЗСД, колебался от 3 до 60 лет, возраст здоровых родственников—от 14 до 68 лет. Возраст начала заболевания варьировал от 8 мес до 55 лет. Во всех случаях по течению заболевания это был типичный ИЗСД. Длительность сахарного диабета колебалась от нескольких дней до 27 лет.

HLA-антигены определяли микролимфотоксическим тестом на лимфоцитах периферической крови человека.

При обработке полученных данных применяли метод пораженных сибсовых пар на основе смешанной модели с использованием условно-вероятностного подхода [7]. Метод позволяет свести данные по распределению чисел I-хромосом в сибсовых семьях к IBD-отношениям в пораженных парах сибсов. Найдено, что численности семей любого размера с $r \geq 2$ больными сибсами могут быть сведены к эквиваленту $n(X)$ численностей пораженных сибсовых пар с $X=2, 1, 0$ IBD-гаплотипами, как

$$n(X) = \sum_{S=2}^S n_{s2}(X) + \sum_{S=3}^S \sum_{r=3}^r \sum_{n=2}^n n_{sr} \text{CrL}(X), \quad (1)$$

где $n_{s2}(X)$ —число семей S с $r=2$ больными сибсами, имеющими X IBD-гаплотипов, n_{sr} —число семей размера $S > 2$ больными с $r > 2$ сибсами, содержащими $L=2, 3, 4$ HLA-гаплотипа, $\text{CrL}(X)$ —«конвертирующие коэффициенты».