

Л.В. Беленькая, Л.Ф. Шолохов, М.А. Даренская, И.М. Михалевич

СОСТОЯНИЕ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У МУЖЧИН БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1-ГО ТИПА

ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», Иркутск, Россия

Цель исследования: установление особенностей функционирования системы ПОЛ – АОЗ у мужчин с сахарным диабетом 1-го типа. Используются данные 22 мужчин с сахарным диабетом 1-го типа (основная группа) и 30 человек из группы контроля. Основная и контрольная группы были сформированы по принципу «копия – пара». Используются спектрофотометрические и флюорометрические методы. В результате исследования было установлено, что у мужчин, больных сахарным диабетом 1-го типа, происходит активация процессов липопероксидации и напряжения в системе антиоксидантной защиты.

Ключевые слова: сахарный диабет 1-го типа, мужчины, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система

STATE OF LIPID PEROXIDATION – ANTIOXIDANT SYSTEM IN MEN WITH DIABETES MELLITUS TYPE 1

L.V. Belenkaya, L.F. Sholokhov, M.A. Darenskaya, I.M. Mikhalevich

Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russia

The aim of study is to assess lipid peroxidation and antioxidant system in men with diabetes mellitus type 1. The objective of this study was to identify features of the lipid peroxidation-antioxidant defense system in men of reproductive age with diabetes mellitus type 1. 22 men with diabetes mellitus type 1 (the average age of 27.1 ± 7.38 years) and 30 healthy men of the same age (control group) (the average age of 28.0 ± 4.3 years) were involved in the study. The main and control groups were formed on the principle of "copy – pair". Standard clinical examination methods were used: history taking, physical examination and consultation of specialists to identify complications of diabetes. To determine the indicators of the system of free-radical lipid oxidation and activity of antioxidant protection, the spectrophotometric and fluorometric methods were used. In men with diabetes mellitus 1 type, there is increase in the level of active products reacting with thiobarbituric acid compared to the same indicator in the control group. The level of antioxidant protection in men with diabetes mellitus 1 type unlike the control was characterized by decrease in total antioxidant activity. However, stability of processes of superoxide dismutase activity and the glutathione system in comparison with control is observed against the backdrop of intensity increase of oxidative processes. Activation of lipid peroxidation is observed in men with diabetes mellitus type 1.

Key words: diabetes mellitus type 1, men, lipid peroxidation, antioxidant protection

К одному из важных неспецифических метаболических процессов, протекающих в организме, бесспорно относится свободнорадикальное окисление (СРО) липидов [4, 5, 6, 8]. Образующиеся продукты свободнорадикального окисления липидов регулируют процессы обновления биологических мембран, изменяют метаблическую активность, влияют на синтез биологически активных веществ, функционирование ферментных систем [9], тем самым способствуя обезвреживанию патогенных веществ и продуктов метаболизма, вызывающих повреждение внутриклеточных структур и клеточных мембран, обеспечивая поддержание гомеостаза клетки и в конечном итоге организма. В норме перекисное окисление липидов (ПОЛ) поддерживается на низком уровне при помощи антиоксидантной защиты (АОЗ), представленной ферментативным и неферментативным звеньями. В случае дисбаланса в системе ПОЛ – АОЗ за счет преобладания пероксидазного компонента возникает окислительный стресс, который может быть одним из патогенетических звеньев, способствующих формированию и дальнейшему прогрессированию различных заболеваний, включая сахарный диабет, особенно 1-го типа [7]. Это, возможно, связано с тем, что инсулин обладает антиоксидантной активно-

стью (АОА), оказывая непосредственный эффект на подвижность мембранных липидов и утилизацию перекисей. В условиях дефицита инсулина и снижения общей антиокислительной активности может происходить активация липопероксидации, а накопление продуктов пероксидации может оказывать влияние на сами биологические эффекты инсулина, тем самым усугубляя «порочный круг» данного патологического процесса [1, 2]. В условиях длительной гипергликемии происходит неферментативное гликирование эритроцитарных белков, ухудшающих кислородтранспортную функцию эритроцитов и способствующих возникновению гипоксии тканей, что приводит к развитию осложнений в различных органах. В связи с этим целью данного исследования было установление особенностей функционирования системы ПОЛ – АОЗ у мужчин, больных сахарным диабетом 1-го типа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена в лаборатории патофизиологии (заведующая лабораторией – д.б.н. Л.А. Гребёнкина) ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (директор – д.м.н., профессор РАН Л.В. Рычкова).

Проводилось клиническое обследование мужчин, больных сахарным диабетом 1-го типа, проходивших стационарное лечение с целью компенсации уровня гликемии, подбора дозы адекватной инсулинотерапии и (или) лечения осложнений в городском эндокринологическом отделении МУЗ ГКБ № 8 г. Иркутска (главный врач – к.м.н. Ж.В. Есева; заведующая отделением – М.А. Гвон)

Была сформирована основная группа из 22 мужчин в возрасте $27,1 \pm 7,38$ лет, больных СД 1-го типа. Все пациенты с СД 1-го типа получали в качестве заместительной терапии аналоги инсулинов ультракороткого действия (среднесуточная доза – 24 ± 4 ед.) и ультрадлинный инсулин (средняя суточная доза – 29 ± 5 ед.). Критериями исключения из основной группы были тяжелые осложнения сахарного диабета – диабетическая нефропатия, стадия микроальбуминурии, протеинурии с нарушением азотовыделительной функции почек, вегетативная нейропатия (урогенитальная форма).

Параллельно была сформирована группа контроля численностью 30 человек, в которую вошли мужчины в возрасте $28 \pm 4,3$ года. Основная и контрольная группы были сформированы по принципу «копия – пара». Критериями исключения из группы контроля были: ожирение, тяжелая соматическая патология.

Сбор информации проводился путем анкетирования, выкопировки данных из первичных медицинских документов: медицинской карты амбулаторного больного, выписки из истории болезни, протоколов диагностических исследований.

Эпидемиологическое исследование включало: анкетирование, анализ медицинской документации (медицинская карта амбулаторного больного, выписка из истории болезни, протокол диагностического исследования). При анкетировании уделялось внимание семейному анамнезу, перенесенным или сопутствующим заболеваниям, травмам, особенностям течения периода полового созревания, наличию профессиональных вредностей и влиянию факторов внешней среды (ионизирующее излучение, электромагнитные поля сверхвысокой частоты, высокая температура внешней среды), поступлению в организм ядов и токсичных веществ, приему лекарственных средств, наркотических и психотропных препаратов, злоупотреблению алкоголем, курению.

Методы стандартного клинического обследования включали сбор анамнеза, общеклиническое обследование (согласно Руководству ВОЗ по стандартизированному обследованию и диагностике бесплодных супружеских пар, 1993 г.) и консультацию узких специалистов (невролог, подиатр, офтальмолог) для выявления осложнений сахарного диабета. Всем пациентам проводилось физикальное обследование (общее обследование, стандартное обследование наружных половых органов, макро- и микроскопическое исследование эякулята, ультразвуковое исследование внутренних органов и щитовидной железы). Объективный осмотр включал: оценку параметров физического развития, расчет индекса массы тела по формуле, предложенной Г. Врей в 1978 г. (отношение

массы тела в килограммах к длине тела в метрах, возведенной в квадрат); измерение артериального давления (АД), температуры тела; осмотр стоп для оценки наличия или отсутствия трофических изменений кожи, язвенных дефектов.

В работе с больными соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, 2000 ред.)).

Лабораторные методы исследования

В качестве материала для исследования показателей процессов СРО липидов и АОА использовалась сыворотка крови. Кровь брали из локтевой вены натощак, с 8 до 9 часов утра.

1. Первичные продукты перекисидации липидов (мкмоль/л) оценивались по содержанию субстратов с ненасыщенными сопряженными двойными связями (Дв. св.), кетодиенов и сопряженных триенов (КД и СТ) и диеновых конъюгатов (ДК), вторичные (мкмоль/л) – по содержанию МДА (Волчегорский И.А. с соавт., 1989).

2. Оценка антиокислительной активности (у.е.) проводилась по методике Г.И. Клебанова, И.В. Бабенковой, Ю.О. Теселкина (1988).

3. Определение α -токоферола (мкмоль/л) и ретинола (мкмоль/л) проводили по методу Р.Ч. Черняускене, З.З. Варшкявичене, П.С. Грибаускас (1984).

4. Определение восстановленного глутатиона (GSH), окисленного глутатиона (GSSG) осуществлялось флуориметрическим методом (Hissin, Hilf, 1976).

5. Определение активности супероксиддисмутазы (СОД) проводили по методу Н.Р. Mirsa, I. Fridovich (1972) и выражали в у.е.

Статистическая обработка результатов

Анализ данных производился с помощью современных пакетов прикладных программ по статистическому анализу. Расчеты выполнены на кафедре информатики и компьютерных технологий ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования» Минздрава России (зав. кафедрой – член-корр. РАЕН И.М. Михалевич).

Для групп были просчитаны среднее значение (M) со средней квадратичной ошибкой (m), стандартное отклонение (δ) и др. Показатели групп сравнения были проверены на нормальность распределения по Колмогорову – Смирнову по программе, представленной в работе С.М. Лавач (2000). Вариационные ряды сравнивались по t-критерию Стьюдента или по его непараметрическому аналогу – критерию Манна – Уитни, основанному на сопоставлении средних значений в двух или нескольких группах. Отношение разности выборочных средних определяло данный критерий. Выбранный критический уровень значимости составил $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При оценке состояния системы ПОЛ – АОЗ у больных сахарным диабетом 1-го типа и практически здоровых мужчин с реализованной репродуктивной функцией были получены следующие данные. Наи-

Таблица 1

Показатели системы «ПОЛ – АОЗ» у мужчин, больных СД 1-го типа, и мужчин контрольной группы (M ± σ)

Показатель	Группа 1 (контрольная группа)	Группа 2, сахарный диабет 1-го типа (общая группа)
Дв. св., у.е.	2,8 ± 0,36	2,5 ± 0,69
ДК, мкмоль/л	0,8 ± 0,11	0,7 ± 0,32
КД и СТ, у.е.	0,3 ± 0,041	0,3 ± 0,033
МДА, мкмоль/л	0,99 ± 0,21	1,5 ± 0,6*
АОА, у.е.	15,4 ± 2,49	10,4 ± 2,4*
СОД, у.е.	1,5 ± 0,07	1,4 ± 0,39
Ретинол, мкмоль/л	0,9 ± 0,18	1,0 ± 0,35
α-токоферол, мкмоль/л	8,2 ± 1,29	7,5 ± 2,7
GSH, ммоль/л	2,1 ± 0,10	2,3 ± 0,39
GSSG, ммоль/л	1,9 ± 0,11	2,0 ± 0,34
GSH / GSSG	1,19 ± 0,02	1,1 ± 0,31

Примечание. * – различия по отношению к контролю статистически значимы по Т-критерию Стьюдента при $p < 0,05$.

более значимыми показателями явились увеличение ТБК-активных продуктов (МДА) на 50 % и снижение на 32,5 % общей АОА у больных сахарным диабетом 1-го типа, по сравнению с контрольной группой.

Результаты исследования первичного звена ПОЛ у пациентов с СД 1-го типа, которое включает в себя образование сопряженных двойных связей (ДК, КД и СТ), на первый взгляд свидетельствуют об отсутствии активации перекисидации липидов, так как эта величина не отличается от таковой у здоровых мужчин (табл. 1).

О реальной активации ПОЛ у больных СД 1-го типа свидетельствуют результаты измерения концентрации МДА, которая у этих пациентов выше, чем у здоровых мужчин. Несмотря на то, что однозначно было установлено повышение только одного показателя ПОЛ, это является достаточным критерием для заключения об активации этого многоступенчатого процесса [3], тем более что разнообразные продукты перекисидации липидов, в которые входит МДА, обладают многосторонним повреждающим эффектом на многие биополимеры и клеточные структуры.

Активация ПОЛ у больных СД 1-го типа приводит к дисбалансу системы ПОЛ – АОЗ, который наиболее отчетливо выражается в снижении величины общей АОА, по сравнению с аналогичным показателем в контроле.

Наблюдается сохранение активности СОД на уровне величин контроля. Следует отметить, что поддержание активности СОД у этих пациентов происходит в условиях интенсивного гликирования ферментного белка, нарушающего его нативную структуру [3]. В связи с этим можно предположить, что стабильный уровень реакции дисмутации супероксида обеспечивают неповрежденные гликированием молекулы фермента за счет повышения своей функциональной активности. При оценке содержания витаминов ретинола и α-токоферола в исследуемых группах значимых различий не установлено. При оценке состояния системы «глутатион» различий между окисленной и восстановленной формами в анализируемых группах не выявлено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенного исследования было установлено, что активация процессов ПОЛ у больных СД 1-го типа происходит на этапе образования ТБК-активных продуктов (МДА) при снижении общей АОА сыворотки крови. Вместе с тем на фоне подъема интенсивности окислительных процессов отмечалась стабилизация активности СОД и системы глутатиона.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Балашова Т.С., Голега Е.Н., Рудько И.А., Балоболкин М.И., Кубатиев А.А. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита эритроцитов у больных сахарным диабетом // *Терапевтический архив*. – 1993. – Т. 65, № 10. – С. 23–27.
Balashova TS, Golega EN, Rudko IA, Balabolkin MI, Kubatiev AA (1993). Lipid peroxidation and antioxidant protection of red blood cells in patients with diabetes [Perekisnoe okislenie lipidov i antioksidantnaya zashchita eritrotsitov u bol'nykh sakharnym diabetom]. *Terapevticheskii arkhiv*, 65 (10), 23-27.
2. Дедов И.И., Горельшева В.А., Романовская Т.А. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная ферментативная защита у больных с впервые выявленным инсулинозависимым сахарным диабетом // *Проблемы эндокринологии*. – 1992. – № 6. – С. 32–33.
Dedov II, Gorelysheva VA, Romanovskaya TA (1992). Lipid peroxidation and antioxidant enzyme defense in patients with newly diagnosed insulin-dependent diabetes mellitus [Perekisnoe okislenie lipidov i antioksidantnaya fermentativnaya zashchita u bol'nykh s vpervye vyyavlennym insulinozavisimym sakharnym diabetom]. *Problemy endokrinologii*, 6, 32-33.
3. Ефимов А.С., Науменко В.Г. Перекисное окисление липидов в эритроцитах больных сахарным диабетом с диабетическими ангиопатиями // *Проблемы эндокринологии*. – 1985. – № 1. – С. 6–9.
Efimov AS, Naumenko VG (1985). Lipid peroxidation in erythrocytes of patients with diabetic angiopathy

[Perekisnoe okislenie lipidov v eritrotsitakh bol'nykh sakharnym diabetom s diabeticheskimi angiopatiyami]. *Problemy endokrinologii*, (1), 6-9.

4. Колесникова Л.И., Гребёнкина Л.А., Даренская М.А., Власов Б.Я. Окислительный стресс как неспецифическое патогенетическое звено репродуктивных нарушений (обзор) // Сибирский научный медицинский журнал. – 2012. – Т. 32, № 1. – С. 58–66.

Kolesnikova LI, Grebyonkina LA, Darenskaya MA, Vlasov BY (2012). Oxidative stress as nonspecific pathogenetic link of reproductive disorders (review) [Okislitel'nyy stress kak nespetsificheskoe patogeneticheskoe zveno reproductivnykh narusheniy (obzor)]. *Sibirskij nauchnyy medicinskij zhurnal*, 32 (1), 58-66.

5. Колесникова Л.И., Курашова Н.А., Гребёнкина Л.А., Долгих М.И., Лабыгина А.В., Сутурина Л.В., Дашиев Б.Г., Даржаев З.Ю. Особенности окислительного стресса у мужчин разных этнических групп с ожирением и бесплодием // Здоровье. Медицинская экология. Наука. 2011. – Т. 44, № 1. – С. 38–41.

Kolesnikova LI, Kurashova NA, Grebyonkina LA, Dolgikh MI, Labygina AV, Suturina LV, Dashiev BG, Darzhaev ZY (2011). Features of oxidative stress in men of different ethnic groups with obesity and infertility [Osobennosti okislitel'nogo stressa u muzhchin raznykh etnicheskikh grupp s ozhireniem i besplodiem]. *Zdorov'e. Meditsinskaya ekologiya. Nauka*, 44 (1), 38-41.

6. Колесникова Л.И., Осипова Е.В., Гребёнкина Л.А. Окислительный стресс при репродуктивных нарушениях эндокринного генеза у женщин. – Новосибирск, 2011. – 116 с.

Kolesnikova LI, Osipova EV, Grebyonkina LA (2011). Oxidative stress in women with reproductive endocrine

disorders [Okislitel'nyy stress pri reproductivnykh narusheniyakh endokrinnogo geneza u zhenshchin], 116.

7. Колесникова Л.И., Сутурина Л.В., Лабыгина А.В., Лещенко О.Я., Фёдоров Б.А., Шолохов Л.Ф., Сафроненко А.В., Лебедева Л.Н., Кузьменко Е.Т., Лазарева Л.М., Надеяева Я.Г. Нарушения репродуктивного здоровья и репродуктивного потенциала в современных условиях Восточной Сибири // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2007. – № 2. – С. 41–43.

Kolesnikova LI, Suturina LV, Labygina AV, Leshenko OY, Fyodorov BA, Sholokhov LF, Safronenko AV, Lebedeva LN, Lazareva LM, Nadelyaeva YG (2007). Disorders of reproductive health and reproductive potential in present-day conditions of the Eastern Siberia [Narusheniya reproductivnogo zdorov'ya i reproductivnogo potentsiala v sovremennykh usloviyakh Vostochnoy Sibiri]. *Bulleten' Vostocno-Sibirskogo naucnogo centra*, (2), 41-43.

8. Крыжановский Г.Н. Дизрегуляторная патология: руководство для врачей и биологов / Под ред. Г.Н. Крыжановского. – М.: Медицина, 2002. – 632 с.

Kryzhanovskii GN (ed.) (2002). Dysregulation pathology: guidelines for physicians and biologists [Dizregulyatsionnaya patologiya: rukovodstvo dlya vrachei i biologov], 632.

9. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З., Бондарь И.А., Труфакин В.А. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания. – Новосибирск: Арта, 2008. – 284 с.

Menshchikova EB, Zenkov NK, Lankin VZ, Bondar IA, Trufakin VA. (2008). Oxidative stress: pathological conditions and diseases [Okislitel'nyy stress: patologicheskie sostoyaniya i zabolevaniya], 284.

Сведения об авторах Information about the authors

Беленькая Лилия Васильевна – кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник лаборатории гинекологической эндокринологии ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8 (3952) 20-73-67; e-mail: Drblv@mail.ru)

Belenkaya Liliya Vasilyevna – Candidate of Medical Sciences, Junior Research Officer of the Laboratory of Gynecological Endocrinology of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (664003, Irkutsk, Timiryazev str.; tel.: +7 (3952) 20-73-67; e-mail: Drblv@mail.ru)

Шолохов Леонид Фёдорович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией физиологии и патологии эндокринной системы ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: medec_iphr@sbamsr.irk.ru)

Sholokhov Leonid Fyodorovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Physiology and Pathology of the Endocrine System of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: medec_iphr@sbamsr.irk.ru)

Даренская Марина Александровна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патофизиологии ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: marina_darenskaya@inbox.ru)

Darenskaya Marina Alexandrovna – Doctor of Biological Sciences, Leading Research Officer of the Laboratory of Pathophysiology of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: marina_darenskaya@inbox.ru)

Михалевич Исай Моисеевич – кандидат геолого-минералогических наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологии и патологии эндокринной системы ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»

Mikhalevich Isai Moiseevich – Candidate of Geological and Mineralogical Sciences, Senior Research Officer of the Laboratory of Physiology and Pathology of the Endocrine System of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems