

**УДК 616.39-053.6+612.349.8:661.727**

## **АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ УТИЛИЗАЦИИ ЭНДОГЕННЫХ АЛЬДЕГИДОВ В КРОВИ ПОДРОСТКОВ С ОЖИРЕНИЕМ, ОСЛОЖНЕННЫМ ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ**

*Кулешова Д.К., Давыдов В.В.*

*ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков НАМН Украины», Харьков, Украина  
E-mail: darya.kuleshova@gmail.com*

Для выяснения особенностей формирования нейроэндокринного ожирения в пубертатном возрасте в работе было проведено исследование активности отдельных ферментов катаболизма эндогенных альдегидов в крови подростков с нейроэндокринным ожирением, осложненным инсулинорезистентностью и без нее. Показано, что при неосложненном инсулинорезистентностью нейроэндокринном ожирении у подростков раннего и позднего пубертатного возраста не происходит изменения базальной мощности ферментативной системы катаболизма эндогенных альдегидов в крови. У подростков с нейроэндокринным ожирением, сопровождающимся инсулинорезистентностью, в большей мере в позднем пубертатном возрасте, возникает адаптивное повышение активности ферментов катаболизма эндогенных альдегидов. Следствием его возникновения становится уменьшение содержания карбонильных продуктов свободнорадикального окисления в крови у подростков 16-18 лет с ожирением, осложненным инсулинорезистентностью.

**Ключевые слова:** подростки, пубертат, ожирение, инсулинорезистентность, альдегидредуктаза, глутатионтрансфераза, карбонилированные белки.

### **ВВЕДЕНИЕ**

В последние годы в Украине растет заболеваемость нейроэндокринным ожирением среди подростков [1, 2], что формирует негативные тенденции к повышению заболеваемости сердечно-сосудистой патологией в зрелом возрасте. Все это диктует необходимость разработки новых эффективных подходов к лечению и профилактике данной патологии на этапе полового созревания, чего можно достичь лишь при условии детального выяснения молекулярных механизмов ее развития.

Многочисленные литературные данные свидетельствуют о том, что развитие нейроэндокринного ожирения у взрослых пациентов сопровождается формированием оксидативного стресса [3-5]. Следствием возникновения этого состояния становится накопление в организме цитотоксических карбонильных продуктов свободнорадикального окисления, к числу которых относятся эндогенные альдегиды [6, 7]. Последние выступают в качестве своеобразных медиаторов повреждения [6, 8], предопределяющих формирование характерных

сдвигов со стороны обмена веществ при ожирении. Важную роль в адаптации к повреждающему действию оксидативного стресса играет ферментативная система утилизации эндогенных альдегидов [6, 7]. Она включает в себя многочисленные энзимы, которые катализируют окислительно-восстановительные превращения альдегидов, а также их конъюгацию с глутатионом [8, 9]. Однако до настоящего времени в литературе все еще отсутствуют сведения об активности этих ферментов у больных с ожирением. Отсутствуют также и данные о состоянии ферментативной системы утилизации эндогенных альдегидов при ожирении на фоне инсулинорезистентности, как одного из наиболее часто встречаемых осложнений этого заболевания у подростков [10].

Учитывая вышеизложенное, целью работы явилось изучение активности отдельных ферментов катаболизма эндогенных альдегидов в крови подростков с нейроэндокринным ожирением, осложненным инсулинорезистентностью и без нее.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Исследования выполнены у 80 мальчиков-подростков раннего (13–15 лет) и позднего (16–18 лет) пубертатного возраста. Каждая возрастная группа обследованных, в свою очередь, делилась на 3 подгруппы: 1 – здоровые (без соматической патологии, с нормальной массой тела), 2 – подростки с нейроэндокринным ожирением без инсулинорезистентности и 3 – подростки с нейроэндокринным ожирением, осложненным инсулинорезистентностью. Обследуемые 2 и 3 групп имели I и II степень ожирения.

Инсулинорезистентность выявляли путем оценки величины индекса НОМА [11]. Содержание инсулина в крови измеряли радиоиммунологическим методом с помощью наборов Insulin(e) IRMAKIT, Beckman Coulter, Чехия. Концентрацию глюкозы в крови определяли глюкозооксидазным методом с использованием наборов Glucosapil и прибора Super GL, Германия.

В гемолизате и сыворотке крови обследуемых подростков измеряли активность альдегидредуктазы [К.Ф. 1.1.1.21] и глутатионтрансферазы [К.Ф. 2.5.1.18].

Определение активности альдегидредуктазы проводили по методу [12]. Для этой цели 0,1 мл сыворотки крови или 0,1 мл гемолизата эритроцитов вносили в спектрофотометрическую кювету, содержащую (конечная концентрация) 0,05 М калий-фосфатного буфера (рН 6,5), 0,01 М глутарового альдегида и 0,0001 М восстановленного NAD. Скорость реакции измеряли по уменьшению оптической плотности реакционной смеси при 340 нм.

Определение активности глутатионтрансферазы проводили по методу [13]. Для этого 0,1 мл сыворотки крови вносили в спектрофотометрическую кювету, содержащую (конечная концентрация) 0,1 М калий-фосфатного буфера (рН 6,5), 0,001 М динитрохлорбензола и 0,005 М восстановленного глутатиона. Скорость реакции измеряли по изменению оптической плотности реакционной смеси при 340 нм.

Помимо измерения активности ферментов, в сыворотке крови исследовали также содержание карбонилированных белков по реакции с 2,4-

## АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ УТИЛИЗАЦИИ ЭНДОГЕННЫХ АЛЬДЕГИДОВ...

динитрофенилгидразином [14] и концентрацию веществ, дающих положительную реакцию с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК-реактивных веществ) [15].

Полученные данные подвергали статистической обработке с использованием непараметрического метода Wilcoxon-Mann-Whitney.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных исследований представлены в Таблицах 1 и 2.

Таблица 1

**Активность ферментов катаболизма эндогенных альдегидов в крови подростков раннего пубертатного возраста (13-15 лет) с ожирением, осложненным инсулинорезистентностью и без нее (Me±Se; n)**

Фермент		1 группа	2 группа	3 группа
Альдегидредуктаза, мкмоль/мл·мин	сыворотка	0,008±0,002 7	0,008±0,003 10	0,01±0,004 8
	гемолизат	0,003±0,001 6	0,005±0,004 11	0,005±0,003 9
Глутатионтрансфераза, нмоль/мл·мин		36,8±6,8 5	34,2±8,3 10	63±21* 9**

Примечания: \* - достоверность различий показателей по сравнению с 1 группой (p<0,05);

\*\* - достоверность различий показателей по сравнению со 2 группой (p<0,05).

Таблица 2

**Активность ферментов катаболизма эндогенных альдегидов в крови подростков позднего пубертатного возраста (16-18 лет) с ожирением, осложненным инсулинорезистентностью и без нее (Me±Se; n)**

Фермент		1 группа	2 группа	3 группа
Альдегидредуктаза, мкмоль/мл·мин	сыворотка	0,008±0,003 8	0,003±0,002* 9	0,005±0,004 11
	гемолизат	0,004±0,002 7	0,005±0,006 9	0,035±0,03* 9**
Глутатионтрансфераза, нмоль/мл·мин		42,2±5,5 7	55,7±19,7 13***	63,1±16* 12

Примечания: \* - достоверность различий показателей по сравнению с 1 группой (p<0,05);

\*\* - достоверность различий показателей по сравнению со 2 группой (p<0,05);

\*\*\* - достоверность различий показателей по сравнению со 2 группой раннего пубертатного возраста (p<0,05).

Из них следует, что активность глутатионтрансферазы и альдегидредуктазы в крови подростков, находящихся на разных стадиях полового созревания, находится на одинаковом уровне.

У подростков раннего пубертатного возраста с нейроэндокринным ожирением активность глутатионтрансферазы и альдегидредуктазы соответствует таковой у

здоровых сверстников. В то же время у подростков позднего пубертатного возраста при ожирении происходит уменьшение в 2,7 раза активности альдегидредуктазы в сыворотке крови, хотя в гемолизате ее величина остается на исходном уровне. При этом активность глутатионтрансферазы у них оказывается на 63 % выше, чем у подростков раннего пубертатного возраста с ожирением.

При ожирении, осложненном инсулинорезистентностью, у подростков 13–15 лет выявляется увеличение активности глутатионтрансферазы на 85% по сравнению с неосложненной формой нейроэндокринного ожирения и на 70% по сравнению с таковой у здоровых подростков данной возрастной группы. У подростков 16–18 лет с ожирением, осложненным инсулинорезистентностью, имеет место резкое увеличение активности альдегидредуктазы в гемолизате по сравнению с ее величиной у подростков с неосложненной формой нейроэндокринного ожирения и здоровыми обследуемыми данной возрастной группы. Одновременно у них повышается активность глутатионтрансферазы на 13% по сравнению с таковой у здоровых подростков 16-18 лет.

Анализ полученных результатов не позволяет выявить существенных различий в базальной мощности ферментов катаболизма карбонильных продуктов свободнорадикального окисления, катализирующих утилизацию альдегидов в процессах, связанных с их восстановлением и конъюгацией, на разных этапах полового созревания. Однако в условиях нейроэндокринного ожирения активность этих энзимов в разной мере подвергается модуляции. Причиной того могут быть возрастные различия изоферментного спектра альдегидредуктаз и глутатионтрансфераз крови и, как следствие того, неодинаковая устойчивость отдельных их представителей к регуляторным воздействиям в условиях нейроэндокринного ожирения. Вместе с тем высказанное предположение требует проведения специальных исследований, связанных с изучением изоферментного спектра крови на разных этапах полового созревания.

Сравнительная оценка результатов проведенных исследований свидетельствует об отсутствии существенных изменений со стороны активности альдегидредуктазы и глутатионтрансферазы в крови при неосложненной форме ожирения. При этом некоторое понижение альдегидредуктазной активности сыворотки крови у подростков позднего пубертатного возраста компенсируется ростом активности глутатионтрансферазы. Это позволяет думать о своеобразном переключении у них катаболизма эндогенных альдегидов с восстановительного пути на путь, сопряженный с конъюгацией карбонильных продуктов свободнорадикального окисления с глутатионом.

При ожирении, осложненном инсулинорезистентностью, возникает повышение активности глутатионтрансферазы в крови, а у подростков позднего пубертатного возраста при этом дополнительно повышается активность альдегидредуктазы в эритроцитах. Все это свидетельствует о том, что ожирение на фоне инсулинорезистентности сопровождается компенсаторным повышением мощности ферментативной системы катаболизма эндогенных альдегидов, в большей мере выраженное у подростков позднего пубертатного возраста. По всей вероятности возникающий сдвиг имеет характер адаптивной реакции, направленной на

ограничение уровня накопления цитотоксических карбонильных продуктов метаболизма и, как следствие того, повышение устойчивости организма к действию повреждающих факторов оксидативного стресса. Учитывая это, далее были проведены исследования, связанные с измерением концентрации ТБК-реактивных веществ и карбонилированных белков в крови. Последние в большинстве своем представляют собой аддукты белков с карбонильными продуктами (альдегидами) свободнорадикального окисления [16-18]. Полученные результаты представлены на рис. 1 и 2.

Из рис. 1 следует, что у подростков раннего пубертатного возраста с нейроэндокринным ожирением, осложненным инсулинорезистентностью, а также и без нее не происходит существенного изменения уровня карбонилированных белков в крови. В то же время у подростков позднего пубертатного возраста при ожирении имеет место двухкратное понижение концентрации карбонилированных белков в крови. В равной мере аналогичная ситуация характерна и для ожирения, осложненного инсулинорезистентностью. Возникновение подобных изменений приводит к тому, что содержание карбонилированных белков крови подростков 2 и 3 групп 16–18 лет с осложненным и неосложненным ожирением оказывается ниже такового у подростков 13–15 лет.

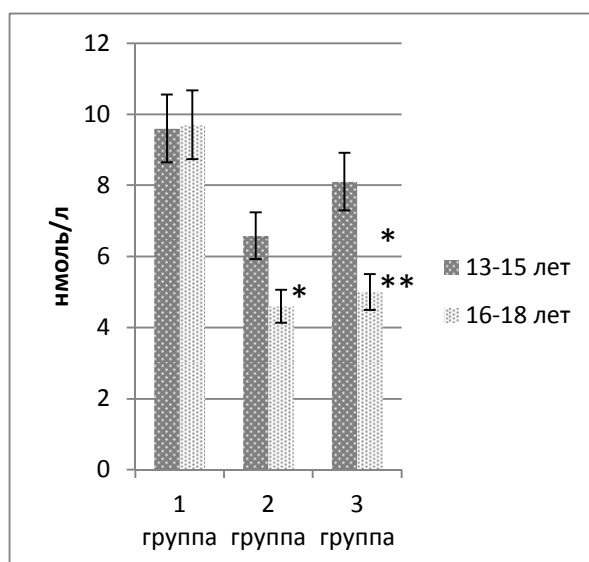


Рис. 1. Содержание карбонилированных белков в крови подростков с ожирением, осложненным инсулинорезистентностью и без нее.

Примечания: \* -  $P < 0,05$  к 1 группе 16-18 лет;

\*\* -  $P < 0,05$  к 3 группе 13-15 лет.

Сходная картина выявляется при анализе уровня ТБК-реактивных веществ в крови обследуемых подростков разных возрастных групп. Как следует из данных, представленных на рис. 2, при ожирении, сопровождающимся

инсулинорезистентностью и без него, у подростков позднего пубертатного возраста не происходит достоверного изменения концентрации ТБК-реактивных веществ в крови. В то же время у подростков раннего пубертатного возраста с осложненным инсулинорезистентностью нейроэндокринным ожирением и без него, концентрация ТБК-реактивных веществ в крови возрастает на 57% по сравнению с таковой у здоровых обследуемых данной возрастной группы.

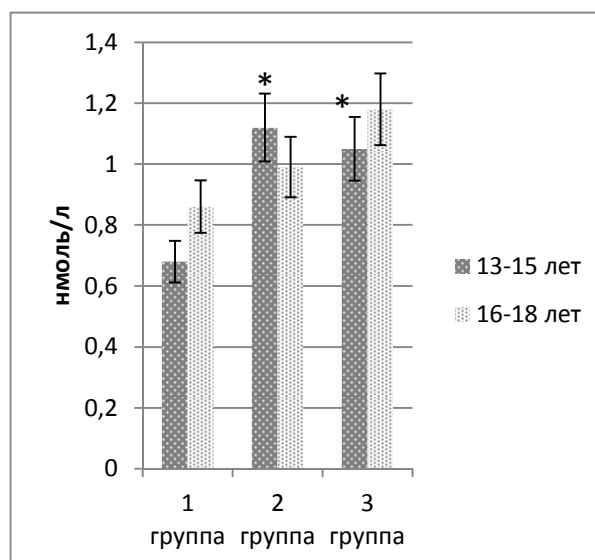


Рис. 2. Содержание ТБК-реактивных веществ в крови подростков с ожирением, осложненным инсулинорезистентностью и без нее.

Примечания: \*-  $P < 0,05$  к 1 группе.

Полученные результаты могут служить косвенным подтверждением того, что повышение активности изученных ферментов катаболизма эндогенных альдегидов действительно способствует уменьшению уровня эндогенных альдегидов в организме и, тем самым, ограничению альтерирующих эффектов оксидативного стресса, сопровождающего нейроэндокринное ожирение. Вместе с тем причины формирования неодинаковой реакции со стороны ферментативной системы катаболизма эндогенных альдегидов в раннем и позднем пубертате остаются неясными. Возможно, они связаны с различиями в интенсивности возникающего в разном возрасте оксидативного стресса. Однако возможно и то, что они обусловлены возрастными различиями в изоферментном спектре изученных энзимов в крови. Выяснению этого вопроса будут посвящены наши дальнейшие исследования.

## ВЫВОДЫ

1. Активность альдегидредуктазы и глутатионтрансферазы в крови подростков раннего и позднего пубертатного возраста находится на одинаковом уровне.

2. При неосложненном инсулинорезистентностью нейроэндокринном ожирении у подростков раннего и позднего пубертатного возраста не происходит изменения базальной мощности ферментативной системы катаболизма эндогенных альдегидов в крови.
3. У подростков с нейроэндокринным ожирением, сопровождающимся инсулинорезистентностью, в большей мере в позднем пубертатном возрасте, возникает адаптивное повышение активности ферментов катаболизма эндогенных альдегидов. Следствием его возникновения становится уменьшение содержания карбонильных продуктов свободнорадикального окисления в крови у подростков 16-18 лет с ожирением, осложненным инсулинорезистентностью.

### **Список литературы**

1. Аверьянов А.П. Ожирение детей и подростков: клинко-метаболические особенности, лечение, прогноз и профилактика осложнений / А.П. Аверьянов // Международный эндокринологический журнал. – 2009. – Т.22, №4. – С. 90–98.
2. Blood pressure and obesity among adolescents: a school-based population study in China / C. Zhong-qiang, Z. Liping, Z. Tao [et al.] // American Journal of Hypertension. – 2012. – Vol. 255. – P. 576–582.
3. Bondia-Pons I. Oxidative stress and inflammation interactions in human obesity / I. Bondia-Pons, L. Ryan, J.A. Martinez // J. Physiol. Biochem. – 2012. – Vol. 68, № 1. – P. 130–139.
4. Insulin sensitive and resistant obesity in humans: AMPK activity, oxidative stress, and depot specific changes in gene expression in adipose tissue / X.J. Xu, M.S. Gauthier, D.T. Hess [et al.] // J. Lipid. Res. – 2012. – Vol. 4. – P. 792–801.
5. Cardiolipin remodeling by ALCAT1 links oxidative stress and mitochondrial dysfunction to obesity / J. Li, C. Romestaing, X. Han [et al.] // Cell. Metab. – 2010. – Vol. 12, №2. – P.154–165.
6. Uchida K. Role of reactive aldehyde in cardiovascular diseases / K. Uchida // Free Radical. Biol. Med. – 2000. – Vol. 28, №. 12 – P. 1685–1696.
7. Davydov V.V. Possible role of aldehyde's scavenger enzymes during aging / V.V. Davydov, N.M. Dobaeva, A.I. Bozhkov // Exp. Gerontol. – 2004. – Vol.39. – P. 11–16.
8. Давидов В.В. Физиологическая и патологическая роль эндогенных альдегидов / Давидов В.В., Божков А.И., Кульчицкий О.К. – Saarbrücken: Palmarium Academic Publishing, 2012. – 240 с.
9. Hayes J.D. Glutathione transferases / J.D. Hayes, J.U. Flanagan, I.R. Jowsey // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. – 2005. – Vol. 45. – P. 51–88.
10. Сенаторова А.С. Ремоделирование сердца как результирующая метаболических и гемодинамических влияний у подростков с избыточной массой тела и ожирением / А.С. Сенаторова, Т.В. Чайченко // Здоровье ребенка. – 2011. – Т. 31, №4. – С. 21–25.
11. Діагностика інсулінорезистентності у дітей та підлітків з ожирінням / Будрейко О.А., Нікітіна Л.Д., Чумак С.О. [та інші.] // Методичні рекомендації. – К.: Нац. академія мед. наук України, МОЗ України, Укр. центр науков. мед. інформації та патентно-ліценційної роботи, 2011. – 24 с.
12. Фомина Е.В. Альдегидредуктазная активность печени крыс разного возраста при иммобилизационном стрессе / Е.В. Фомина, В.В. Давыдов // Проблемы старения и долголетия. – 2004. – Т.13, № 4. – С. 510–517.
13. Mannervik B. Glutathione transferase / B. Mannervik, C. Guthenberg // Methods in enzymology. – 1981. – Vol.77. – P.231–235.
14. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белков плазмы крови больных с психиатрическими расстройствами / Е.Е. Дубинина // Вопр. мед. химии. – 2000. – № 4. – С. 36–47.
15. Esterbauer H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal / H. Esterbauer, K.H. Cheeseman // Methods in enzymology. – 1990. – Vol.186. – P.407–421.
16. Suzuki J.Y. Protein Carbonylation / Y.J. Suzuki, M.Carini, D.A. Batterfield // Antioxidants & Redox Signaling. – 2010. – Vol.12, №12. – P. 323–325.
17. Grimsrud P.A. Oxidative stress and covalent modification of protein with bioactive aldehydes / P.A. Grimsrud, H. Xie, T.J. Griffin, D.A. Bernlohr // J. Biol. Chem. – 2008. – Vol.283. – P.21837–21841.

18. Protein adducts generated from products of lipid oxidation: focus on NHE and one / L.M. Sayre, D. Lin, Q. Yuan [et al.] // *Drug Metab. Rev.* – 2006. – Vol 38. – P. 651–675.

**Кулешова Д.К. Активність ферментів утилізації ендогенних альдегідів в крові підлітків з ожирінням, ускладненим інсулінорезистентністю / Д.К. Кулешова, В.В. Давыдов // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2012. – Т. 25 (64), № 3. – С. 95-102.**

Для з'ясування особливостей формування нейроендокринного ожиріння у пубертатному віці в роботі було проведено дослідження активності окремих ферментів катаболізму ендогенних альдегідів в крові підлітків з нейроендокринним ожирінням, ускладненим інсулінорезистентністю і без неї. Показано, що при неускладненому інсулінорезистентністю ожирінні у підлітків раннього та пізнього пубертатного віку не відбувається змін базальної потужності ферментативної системи катаболізму ендогенних альдегідів в крові. У підлітків з нейроендокринним ожирінням, що супроводжується інсулінорезистентністю, в більшій мірі у пізньому пубертатному віці, виникає адаптивне підвищення активності ферментів катаболізму ендогенних альдегідів. Внаслідок його виникнення стає зменшення змісту карбонільних продуктів вільнорадикального окислення в крові у підлітків 16-18 років з ожирінням, ускладненим інсулінорезистентністю.

**Ключові слова:** підлітки, пубертат, ожиріння, інсулінорезистентність, альдегідредуктаза, глутатіонтрансфераза, карбоніліровані білки.

**Kulieshova D.K. The activity of blood enzymes of endogenous aldehydes utization in adolescents with a complicated insuline resistance obesity / D.K. Kulieshova, V.V. Davydov // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2012. – Vol. 25 (64), No 3. – P. 95-102.**

The present study was performed to elucidate the features of neuroendocrine obesity formation in puberty. The activity of some enzymes of endogenous aldehydes catabolism has been investigated in the blood of adolescents with neuroendocrine obesity, complicated with insulin resistance, or without such a complication. In adolescents with neuroendocrine obesity but without insuline resistance complication in early or late puberty there were observed no blood changes as regards basal power of the enzymatic system of the endogenous aldehydes catabolism. However, in adolescents with a complicated insuline resistance neuroendocrine obesity an adaptive increase in the enzymatic activity of the endogenous aldehydes catabolism was reelevated mostly in late puberty. The consequence of such an increase is a decreased blood content of carbonylated products of free radical oxidation in adolescents, aged 16-18, with a complicated insulin resistance obesity.

**Keywords:** adolescents, puberty, obesity, insuline resistance, aldehyde reductase, glutathione transferase, carbonyle proteins.

*Поступила в редакцію 29.09.2012 г.*