

УДК 577.112.4:598/599

**ИЗМЕНЕНИЕ ПРОЦЕССОВ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ
БЕЛКОВ И УРОВНЯ МОЛЕКУЛ СРЕДНЕЙ МАССЫ У БОЛЬНЫХ С
НАДПОЧЕЧНИКОВОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ, СОПРОВОЖДАЮЩЕЙСЯ
ГИПЕРИНСУЛИНИЕЙ**

Никольская В.А.

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
E-mail: nikolskaja@.ru*

У больных с надпочечниковой недостаточностью гиперинсулинемия приводит к повышению показателя окислительной модификации белков в сыворотке крови и уровня молекул средней массы как в сыворотке, так и в гемолизате эритроцитов крови. На основании полученных данных предложено использование определения молекул средней массы в гемолизате эритроцитов в качестве дополнительного биохимического критерия прогнозирования развития гиперинсулинемии у больных с надпочечниковой недостаточностью.

Ключевые слова: гиперинсулинемия, надпочечниковая недостаточность, окислительная модификация белков, молекулы средней массы.

ВВЕДЕНИЕ

В патогенезе надпочечниковой недостаточности вследствие нарушения синтеза контринсулярных гормонов развивается эпичная гиперинсулинемия. Развитие данного процесса формирует клинически выраженное нарушение углеводного обмена [1-5]. Изменения, связанные с гиперинсулинемией могут являться фактором повреждающего воздействия на различные структуры организма, в том числе и эритроциты крови. Несмотря на отсутствие ряда метаболических систем, эритроциты крови не являются инертными структурами [6-14]. Парадоксальным является тот факт, что эти клетки, важнейшая функция которых заключается в переносе кислорода для нужд других тканей, сами используют для выработки энергии только анаэробные механизмы утилизации глюкозы [15].

Гиперинсулинемия способна активировать окислительные процессы и приводить к окислительной модификации аминокислот, вызывая деградацию белков интактных клеток и интрацеллюлярных органелл, к разрушению структуры мембран клеток [16-19]. Основными токсическими субстратами, ответственными за возникновение стадии аутоагрессии эндотоксикоза могут стать продукты клеточной дезорганизации, неполного распада, то есть молекулы средней массы [20, 21]. Большое количество работ посвящено изучению влияния гиперинсулинемии на отдельные биохимические показатели сыворотки крови [9-14], однако, следует отметить, что влияние повышенного содержания инсулина на показатели процесса

окислительной модификации белков и содержание молекул средней массы в эритроцитах крови больных не изучалось.

Целью работы явилось исследование влияния гиперинсулинемии на показатели окислительной модификации и уровень молекул средней массы эритроцитов крови больных с надпочечниковой недостаточностью.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследований служила сыворотка крови и гемолизат эритроцитов больных с надпочечниковой недостаточностью и группы практически здоровых людей. Забор крови осуществлялся утром натощак с 9 до 11 часов у 10 здоровых лиц и у 10 больных с надпочечниковой недостаточностью из локтевой вены. Для получения сыворотки антикоагулянт не добавляли, кровь центрифугировали 15 мин при 3000 об/мин на клинической центрифуге через 20 мин после забора крови [22]. Для получения плазмы крови, а в дальнейшем гемолизата эритроцитов, использовали антикоагулянт (этилендиаминтетрауксусная кислота или ее динатриевая соль (ЭДТА) и гепарин), для предохранения крови от свертывания. Гемолизированную сыворотку не использовали для анализа, так как при гемолизе искажаются результаты определения [23].

Гемолизат эритроцитов получали по методу Драбкина [24]. Для определения окислительной модификации белков сыворотки крови и гемолизата эритроцитов крови использовали метод Дубининой Е.Е. и др. [25-26]. Оптическую плотность образовавшихся динитрофенилгидразонов регистрировали при длинах волн: 346 и 370 нм (альдегидные и кетонные продукты окислительной модификации нейтрального характера), а также при 430 нм и 530 нм (альдегидные и кетонные продукты окислительной модификации основного характера). Степень окислительной модификации белков выражали в единицах оптической плотности, отнесенных на 1 мл биологического материала (е.о.п./мл). Содержание молекул средней массы в гемолизате эритроцитов определяли по методу Габриэлян Н.И. и др. [20, 21].

Оценка достоверности различий между данными, полученными в результате исследования, проводилась с использованием t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты позволяют судить о достоверном характере изменений продуктов окислительной модификации белков в сыворотке крови больных с надпочечниковой недостаточностью. Так содержание динитрофенилгидразонов, относящихся к альдегидо- и кетонпроизводным нейтрального характера (длины волн регистрации 356, 370 нм), увеличивается 42 %-44 %, а альдегидо- и кетонпроизводных основного характера в 2 раза (длины волн регистрации 430 нм и при 530 нм) по сравнению с контрольной группой.

Следует отметить, что данный показатель в гемолизате эритроцитов у группы больных с надпочечниковой недостаточностью остается без изменений по сравнению с контрольной группой.

Таблица 1.
Уровень продуктов перекисного окисления белков в сыворотке крови больных с надпочечниковой недостаточностью, ед. оп. пл./мл ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Исследуемые группы	Длины волн регистрации			
	$\lambda = 356$ нм	$\lambda = 370$ нм	$\lambda = 430$ нм	$\lambda = 530$ нм
Практически здоровые лица (n=10)	4,91±0,23	4,86±0,21	2,06±0,15	0,55±0,09
Больные с надпочечниковой недостаточностью (n=10)	6,99±0,31*	6,93±0,29*	3,05±0,13*	1,08±0,05*

Примечание: * – различия достоверны по сравнению с контрольной группой (p<0,01).

Таблица 2.
Уровень продуктов перекисного окисления белков в гемолизате эритроцитов крови больных с надпочечниковой недостаточностью, ед. оп. пл./мл ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Исследуемые группы	Длины волн регистрации			
	$\lambda = 356$ нм	$\lambda = 370$ нм	$\lambda = 430$ нм	$\lambda = 530$ нм
Практически здоровые лица (n=10)	6,69±0,56	6,50±0,51	2,90±0,28	0,91±0,27
Больные с надпочечниковой недостаточностью (n=10)	6,89±0,57	6,98±0,51	2,92±0,34	1,01±0,15

Отмечена одинаковая закономерность в распределении окисленных форм белков в сыворотке крови и гемолизате эритроцитов крови у больных с надпочечниковой недостаточностью и у практически здоровых лиц: суммарное содержание продуктов окислительной модификации нейтрального характера (λ регистрации 356 и 370 нм) превышает в 3,4-3,7 раза содержание продуктов основного характера (λ регистрации 430 и 530 нм).

Полученные данные свидетельствуют о том, что окислительная деструкция белков в сыворотке является физиологическим процессом, наблюдающимся как у здоровых, так и у больных с той лишь разницей, что у вторых этот процесс протекает более активно, о чем свидетельствуют достоверные различия в содержании окисленных продуктов.

Результаты изучения содержания молекул средней массы (МСМ) в сыворотке крови и гемолизате эритроцитов крови больных с надпочечниковой

недостаточностью представлены в Таблице 3.

Таблица 3.
Содержание молекул средней массы у больных с надпочечниковой недостаточностью, ед.опт.пл. ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Исследуемые группы	Исследуемый материал	
	Сыворотка крови	Гемолизат эритроцитов
Практически здоровые лица (n=10)	0,287±0,012	0,480±0,022
Больные с надпочечниковой недостаточностью (n=10)	0,421±0,016 *	0,676±0,029 *

Примечание: * – различия достоверны по сравнению с контрольной группой (p<0,01).

Как показали результаты исследования, у больных с надпочечниковой недостаточностью наблюдается достоверное увеличение содержания молекул средней массы на 46 % в сыворотке крови и на 40,8 % – в гемолизате эритроцитов по сравнению с контрольной группой. Основная причина накопления МСМ в сыворотке крови связана с усиленным образованием МСМ за счёт появления избыточного количества деформированных белковых метаболитов и продуктов, имеющих в своём составе углеводные компоненты [27-30]. Увеличение концентрации молекул средней массы в биологических жидкостях наблюдается при патологических состояниях, сопровождающихся эндогенной интоксикацией [28, 29]. Многие авторы считают среднемoleкулярные олигопептиды основным биохимическим маркёром, отражающим уровень патологического белкового метаболизма [27]. Молекулы средней массы могут быть близки по строению к регуляторным пептидам и оказывать влияние на жизнедеятельность всех органов и систем, способны соединяться с рецепторами на любой клетке и блокировать их [27].

Поскольку в литературе имеются данные, свидетельствующие о том, что при гиперинсулинемии подвергаются пострансляционной модификации белки эритроцитов [31], можно предположить, что изменение уровня МСМ в эритроцитах крови больных является одним из механизмов регуляции процессов компенсаторной реакции в ответ на гиперинсулинемию или служить проявлением их антиоксидантного действия [27, 31]. Неоднозначный характер изменений продуктов окислительной модификации белков в эритроцитах крови больных, может указывать на то, что объектом регуляции является процесс окислительной модификации белков. Однако, какой из изученных параметров является ведущим в регуляции изменений метаболического состояния эритроцитов предстоит определить.

Полученные данные свидетельствуют о том, что определение уровня молекул средней массы в гемолизате эритроцитов крови может служить дополнительным диагностическим критерием прогнозирования развития гиперинсулинемии.

ВЫВОДЫ

1. У больных с надпочечниковой недостаточностью увеличивается содержание продуктов окислительной модификации белков в сыворотке крови на 42 %-50 % по сравнению с контрольной группой.
2. В сыворотке крови и гемолизате эритроцитов больных с надпочечниковой недостаточностью наблюдается повышение уровня молекул средней массы на 46 % и 40 % соответственно по сравнению с контрольной группой.

Список литературы

1. Ефимов А.С. Эндокринология / А.С. Ефимов, П.Н. Боднар, Б.А. Зелинский – К.: Вища школа, 1983. – С. 171–173.
2. Ефимов А.С. Неотложная эндокринология / Ефимов А.С., Комисаренко И.В., Скробонская Н.А. – М.: Медицина, 1982. – 36 с.
3. Теппермен Дж. Физиология обмена веществ и эндокринной системы. Вводный курс / Дж. Теппермен, Х. Теппермен; пер. с англ. В. И. Кандрора – М.: Мир, 1989. – 656 с.
4. Дедов И.И. Эндокринология / И.И. Дедов, Г.А. Мельниченко, В.В. Фадеев– Москва: ГЭОТАР–Медиа, 2007. – С.177–220.
5. Ангельски С. Клиническая биохимия / С. Ангельски, З. Якубовки, Г. Доминичак– Сопот, 1988. – С. 135–158.
6. Данн М.Дж. Почечная эндокринология / Данн М.Дж. – Москва: Медицина, 1987. – 667 с.
7. Гроллман А. Клиническая эндокринология и ее физиологические основы / Артур Гроллман, пер. с англ. И.А. Эскин. – Москва: Медицина, 1989. – 338 с.
8. Лавина Н. Эндокринология / Нил Стивенсон Лавина, пер. с англ. док. мед. наук В.И. Кандрора . – Москва: Практика, 1999. – С. 683–701.
9. Зимин Ю.В. Происхождение, диагностическая концепция и клиническое значение синдрома инсулинорезистентности или метаболического синдрома Х / Ю.В. Зимин // Кардиология. – 1998. – №6. – С. 71–81.
10. Lind L. Decreased peripheral blood flow in the pathogenesis of the metabolic syndrome comprising hypertension, hyperlipidemia and hyperinsulinemia / L.Lind, H Lithell. // Am. Heart J. – 1993. – V.125. – P. 1494 – 1497.
11. Scherrer U. Insulin as a vascular and simpathoexcitatory hormone. Implications for blood pressure regulation, insulin sensitivity, and cardiovascular morbidity / U. Scherrer, C. Sartori // Circulation. – 1997. – V. 96. – P. 4104–4113.
12. DeFronzo R.A. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance / R.A. DeFronzo, J. Tobin, R. Andres // Am. J. Physiol. – 1979. – V. 237. – P.214–223.
13. Understanding "insulin resistance": both glucose resistance and insulin resistance are required to model human diabetes / A.S. Rudenski, D.R. Matthews, J.C. Levy [et al.] // Metabolism. – 1991. – V. 40. – P. 908–917.
14. Fasting insulin levels and coronary risk factors in randomly selected adult population in Mexico City / C. Posadas–Romero, J. Zamora–Gonzalez, L. Yamamoto [et al.] // XII World Congress of Cardiology and XVI Congress of the European Society of Cardiology. – September, 10–14, 1994, Berlin, Germany. CD Conifer Information System: A 64. – P. 292.
15. Марри Р. Биохимия человека. Т. 2 / Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В., пер. с англ. М. Д. Гроздовой. – Москва: МИР, 1993. – 415 с.
16. Зенков Н. К. Окислительный стресс: Биохимический и патофизиологический аспекты / Зенков Н. К., Ланкин В. З., Меньшикова Е. Б. – М.: МАИК, 2001. – 343 с.

17. Зайцев В. Г. Активные формы кислорода (синопсис) / В. Г. Зайцев // Успехи современной биологии. – 2004. – Вып. 2. – С. 69 – 75.
18. Болдарев А. Свободные радикалы в нормальном и ишемическом мозге / Александр Болдарев, Михаил Куклей // Нейрохимия. – 1996. – №13. – С. 271 – 278.
19. Кутлубаев М. А. Свободнорадикальное окисление и его регуляция психотропными препаратами в условиях хронического стресса (клинико–экспериментальное исследование): автореф. дис. на соискание ученой степени кандидата медицинских наук: спец. 14.00.16 «Патологическая физиология» / М. А. Кутлубаев. – Омск, 2007. – 22 с.
20. Скрининговый метод определения средних молекул в биологических жидкостях. Метод. рекомендации / Н.И. Габриэлян, Э.Р.Левицкий, Дмитриев А.А. [и др.] – М., 1985. – 18 с.
21. Гаврилов В.Б., Лобко Н.Ф., Конев С.В. Определение тирозин- и триптофансодержащих пептидов в плазме крови по поглощению в УФ–области спектра / В.Б. Гаврилов, Н.Ф. Лобко, С.В. Конев //Клин. лаб. диагн. – 2004. – Вып.3. – С. 12 – 16.
22. Базарнова М.А. Руководство по клинической лабораторной диагностике / М.А. Базарнова, В.Т. Морозова. – Киев: Вища школа, 1986. – 175 с.
23. Горячковский А.М. Клиническая биохимия / Горячковский А.М. – Одесса: Астропринт, 2004. – С. 287 – 325.
24. Drabkin D. Asimplified technique for large crystallisation of haemoglobin in the enistalline / Drabkin D. Fnn N. S. Acad. Sci., 1964 – Vol. 121. – № 11 – P. 404–407.
25. Дубинина Е. Окислительная модификация белков / Елена Дубинина, Владимир Шугалей // Успехи современной биологии. – 1993. – Т. 113, Вып. 1. – С. 71–81.
26. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод её определения / Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров, Д.А. Ходов [и др.] // Вопросы медицинской химии. – 1995. – Т. 41, Вып. 1. – С. 24–25.
27. Карякина Е.В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений / Е.В. Карякина, С.В. Белова // Клин. лаб. диагн. – 2004. – Вып. 3. – С. 4–8.
28. Дисбаланс перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты и уровень средних молекул у детей, больных хроническим гломерулонефритом / Е.А. Вельдер, Н.И. Аверьянова, В.М. Аксёнова [и др.] //Матер. науч. сессии Перм. гос. мед. академии. – Пермь, 2000. – С. 23–24.
29. Роль липидов фракции средних молекул в характеристике патологического процесса / В.Ш. Промыслов, Л.И. Левченко, М.Л. Демчук [и др.] //Вопр. мед. химии. – 1989. – Вып. 4. – С. 105–107.
30. Юдакова О.В. Интенсивность ПОЛ и АОА, уровень молекул средней массы как показателя эндогенной интоксикации при распространённом перитоните / О.В. Юдакова, Е.В. Григорьев // Клин. лаб. диагн. – 2004. – Вып. 10. – С. 20–22.
31. Tomasevic N. Insulin-induced glycosylphosphatidylinositol (GPI) binding to red cell membrane proteins / N. Tomasevic, M. Nikolic, V. Niketic // J. Serb. Chem. Soc. 2002. – V.67, № 12. – P. 819–824.

Нікольська В.О. Зміни процесів окислювальної модифікації білків та рівня молекул середньої ваги у хворих з наднирковою недостатністю, що супроводжується гіперінсулінемією / В.О. Нікольська // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2010. – Т. 23 (62). – № 1. – С. 84-90.

У хворих з наднирковою недостатністю гіперінсулінемія призводить до підвищення показника окислювальної модифікації білків у сироватці та рівня молекул середньої ваги як у сироватці, так і у гемолізаті крові. На підставі отриманих даних запропоновано використання визначення молекул середньої маси у гемолізаті еритроцитів в якості додаткового біохімічного критерія прогнозування розвитку гіперінсулінемії у хворих з наднирковою недостатністю.

Ключові слова: гіперінсулінемія, надниркова недостатність, окисна модифікація білків, молекул середньої ваги.

Nikolskaya V.A. Change of processes of oxidative modifications of proteins and level of molecules of average mass at patients with the adrenal insufficiency accompanied hyperinsulinemia / V.A. Nikolskaya // Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2010. – V.23 (62). – № 1. – P. 84-90.

The hyperinsulinemia leads to rising of an indicator of oxidative modifications of proteins in blood serum and level of molecules of average mass in serum and hemolysate of erythrocytes of blood at the patients with adrenal insufficiency. Having analyzed the obtained data, it was offered to use of definition of molecules of average mass in a hemolysate of erythrocytes as additional biochemical criterion of forecasting of development hyperinsulinemia at patients with adrenal insufficiency.

Keywords: hyperinsulinemia, adrenal insufficiency, oxidative modifications of proteins, molecules of average mass.

Поступила в редакцию 16.04.2010 г.