

## Сдвиги эндогенных уровней металлопротеинов – регуляторов метаболизма активных форм кислорода в крови больных при инсулинзависимом диабете

А. Р. Варданян, Р. М. Симонян, Д. М. Геворкян, М. А. Симонян

*ЕрГМУ им. М. Гераци, Гюмрийский мед. колледж,  
Институт биохимии им. Г.Х. Бунятыана НАН РА  
375025 Ереван, ул. Корюна, 2*

**Ключевые слова:** диабет, антиоксидант, прооксидант, металлопротеин, инсулинзависимый диабет

Изменение уровней некоторых металлопротеинов антиоксидантного действия в крови больных при инсулинзависимом диабете (ИЗД) и при инсулиннезависимом диабете (ИНД) создает фон соответственного оксидативного стресса. При ИЗД в плазме крови больных наблюдается гиперлипидемия (гипертриглицеридемия), рост липидной пероксидации, однако ощутимого изменения эндогенных уровней антиоксидантных систем:  $Cu$ ,  $Zn$ -супероксиддисмутазы (СОД), каталазы,  $\alpha$ -токоферола не отмечается, при этом заметно возрастает величина отношения  $\alpha$ -токоферола и холестерина [13]. При сравнительно длительном покое или повышенной физической нагрузке при ИЗД наблюдается ослабление действия антиоксидантной защитной системы с соответственным снижением эндогенных уровней СОД и каталазы [8], эндогенного уровня антиоксидантной защитной системы плазмы: церулоплазмينا (ЦП), трансферрина (ТФ),  $\alpha$ -токоферола, мочевой кислоты и альбумина [7]. С другой стороны, при ИНД (диабет типа 2), сопровождающемся нефритом, в эритроцитах повышается уровень липидной пероксидации и снижается активность СОД и каталазы [14]. При неосложненном ИНД в гемолизате эритроцитов, наоборот, происходит снижение уровня липидной пероксидации, активности глутатионредуктазы и пероксидазы с одновременным повышением уровня восстановленного глутатиона, СОД и каталазы [15]. Имеются литературные данные о том, что в плазме крови при ИНД уровень ЦП существенно повышается [6, 11].

Учитывая разноречивость литературных данных, для выявления полной картины оксидативного стресса в крови больных с ИЗД мы задались целью одновременного и комплексного определения в крови эндогенных уровней как ряда известных металлопротеинов антиоксидантного действия (МАД), так и открытых недавно новых металлопротеинов прооксидантного

действия (МПД) – регуляторов метаболизма активных форм кислорода (АФК).

### Материал и методы

Была исследована венозная кровь у больных ИЗД (11 мужчин в возрасте 42–65 лет) с давностью заболевания 4–5 лет. В качестве контроля были использованы показатели донорской крови. Из крови больных ИЗД и донорской крови (по 12 мл) было осуществлено одновременное и комплексное выделение, очистка и количественное определение ряда МПД (цитохромы В-558 III и В-558 IV из мембран эритроцитов, супероксидпродуцирующий липопротеин – супрол из сыворотки крови, а также цитохрома В-5 из растворимой фракции эритроцитов) и МАД –  $Cu$ ,  $Zn$ -СОД и каталазы из растворимой фракции эритроцитов, ТФ и ЦП из сыворотки крови [4, 5]. Эндогенные уровни МАД и МПД крови определяли путем вычисления плотности максимального оптического поглощения: для цитохрома В-5 при 525 нм, цитохромов В-558–530 нм, супрола – 430 нм (слабое поглощение), ЦП – 610 нм и ТФ – 470 нм. Супероксиддисмутазную активность фракций и супероксидпродуцирующую активность супрола определяли нитротетразолиевым синим (НТС) методом путем вычисления процента ингибирования (в случае СОД) или стимулирования (в случае супрола) образования формазана при восстановлении НТС супероксидными радикалами ( $O_2^{\cdot -}$ ) при 560 нм. За единицу активности СОД и супрола принимали то количество фракции, которое вызывает 50% ингибирование или стимулирование образования формазана при 20° для СОД и супрола соответственно. Каталазную активность фракций определяли методом перманганатометрии путем вычисления количества расщепляющейся перекиси водорода за 1 мин при 20°. За единицу каталазной активности принимали то количество

фракции, которое вызывает расщепление  $0.1 \text{ M H}_2\text{O}_2$  в приведенных условиях. Удельную активность указанных металлопротеинов определяли в расчете на 1 мл сыворотки или эритроцитов. Статистическую обработку полученных данных осуществляли вариационным методом Стьюдента-Фишера с определением критерия Р.

### Результаты и обсуждение

При ИЗД эндогенные уровни МАД и МПД по сравнению с контролем подвергаются изменениям в разной степени. Если из супероксидпродуцирующих металлопротеинов уровень цитохрома В-5 по сравнению с донорской кровью не изменяется (таблица), то на фоне повышения уровня цитохромов В-558 III и В-558 IV наблюдается снижение уровня супрола с соответственным повышением его  $\text{O}_2^-$ -продуцирующей активности. По-видимому, последний эффект связан с активированием супрола *in vivo* [3]. Из АФК утилизирующих металлопротеинов только уровень ЦП повышен на 51,1%, в то время как уровень МАД снижен на 139,4% по сравнению с контрольными показателями. Изменения эндогенных уровней металлопротеинов крови – регуляторов метаболизма АФК несколько различаются при ИЗД и при экспериментальном 21-дневном аллоксановом диабете [1], кроме эндогенных уровней эритроцитарных мембранных цитохромов В-558, которые повышены как у больных ИЗД, так и у аллоксандиабетических крыс. Это свидетельствует о том, что в обоих случаях снижена стабильность эритроцитарных мембран, что связано с облегчением отщепления цитохромов В-558, являющихся функционально-структурными компонентами этих мембран [3, 9]. Однако, если при аллоксановом диабете при росте уровней  $\text{O}_2^-$ -продуцирующих цитохромов В-558 организм вырабатывает соответственно повышенный уровень утилизирующих АФК металлопротеинов [1], то у больных ИЗД адаптационные механизмы организма фактически не в силах повысить суммарный уровень антирадикальных защитных ключевых металлопротеинов крови, что, по-видимому, связано с давностью заболевания.

Приведенные количественные характеристики оксидативного стресса, связанные с изменениями эндогенных уровней ключевых МАД и МПД – регуляторов метаболизма АФК, дают основание для применения препаратов антиоксидантного действия (витамины Е и С, орготеин, СОД-мимик комплексы) [2, 10, 12] с целью стабилизации эритроцитарных мембран, которая заметно снижена у больных ИЗД. Можно предположить, что приведенные факторы играют немаловажную роль в патогенезе ИЗД и осложняют

Таблица

Относительные изменения (%) эндогенных уровней МАД и МПД крови по сравнению с показателями донорской крови, которые принимаются за 100% у больных при ИЗД  
( $n=8$ ,  $P<0,05$ )

Металлопротеины	% изменения эндогенных уровней МАД и МПД при ИЗД
Церулоплазмин	+19,1±3,2
Трансферрин	-52,2±8,4 ( $P<0,04$ )
Cu, Zn-СОД	-14,2±1,9
Каталаза	-93,1±11,4 ( $P<0,02$ )
Цитохром В-558	нет изменений
Цитохром В-558 III	-56,2±8,9 ( $P<0,02$ )
Цитохром В-558 IV	+14,3±2,5
Супрол	-16,4±2,5
$\text{O}_2^-$ -продуцирующая активность супрола	+26,3±4,1

или практически сводят к минимуму эффективность общепринятого лечения этого заболевания.

Поступила 31.05.02

**Թթվածնի ակտիվ ձևերի նյութափոխանակությունը կարգավորող մեթալոպրոթեինների էնդոգեն մակարդակների գենաշարժերը ինսուլինկախյալ շաքարախտով հիվանդների արյան մեջ**

Ինսուլինային կախվածությամբ տիպ 1 շաքարախտով հիվանդների արյան պրոօքսիդանտային  $3/2$  էնդոգեն մետալոպրոթեինների (ցիտոքրոմներ b-5, b-558 III, b-558 IV և սուպրոլ) և հակաօքսիդանտային ազդեցության մետալոպրոթեին-

ների (Cu, Zn-SOD, կատալազ, ցերուլոպլազմին և տրանսֆերին) գումարային էնդոգեն մակարդակները համապատասխանաբար աճում են (51,1%) և նվազում (139,4%)՝ ստուգիչ ցուցանիշների համեմատ:

**The shifts in the endogenous levels of metalloproteins regulating reactive oxygen species in the blood of patients with insulin-dependent diabetes**

H. R. Vardanyan, R. M. Simonyan, D. M. Gevorkyan, M. A. Simonyan

In comparison with the control data, an increase (to 51,1%) in the endogenous levels of prooxidant action metalloproteins (cytochromes b-5, b-558 III, b-558 IV and suprol) and decrease (to 139,4%) in the levels of

those of antioxidant action (Cu, Zn-SOD, catalase, ceruloplasmin and transferrin) in the blood of the insulin-dependent diabetes patients are observed.

**Литература**

1. *Варданян А. Р., Геворкян Д. М., Агаджанов М. И., Симонян М. А.* Мед. наука Армении, 1999, 39, 2, с. 38.
2. *Геворкян Д. М.* Применение витамина Е и супероксиддисмутазы при диабете. Метод. реком. Ереван, 1984.
3. *Симонян М. А., Бабаян М. А., Симонян Г. М.* Биохимия, 1995, 60, с. 1977.
4. *Симонян М. А., Симонян Г. М., Григорян Г. Г., Симонян Р. М.* Лицензия изобрет. N908. Армпатент, 2001.
5. *Симонян М. А., Симонян Г. М., Мелконян Р. В.* Пром. собственность (Официальный бюлл. Армпатента). Ереван, 1977.
6. *Androne L., Gavan N. A., Veresiu I. A., Orasan R.* In vivo, 2000, 14, p. 327.
7. *Asayama K., Uchida N., Nakane N. et al.* Free Radic. Biol. Med., 1993, 15, p. 597.
8. *Atalay M., Laaksonen D. R., Niskanen L. et al.* Acta Physiol. Scand., 1997, 161, p.195.
9. *Batot G., Paclat M. H., Doussi'ere J. et al.* Biochim. Biophys. Acta, 1998, 1406, p.188.
10. *Brainard J. et al.* Arch. Ophthalmol., 1982, 100, p.1832.
11. *Daimon M., Susa S., Yamatan K. et al.* Diabetes Care, 1998, 21, p.1525.
12. *Kajanachumpol S., Kominds S., Mahaisirijodom A. J.* Med. Assoc. Thai., 1997, 80, p.372.
13. *Kedzioza-Komatowska K. Z., Luciak M. et al.* Nephrol. Dial. Transplant., 1998, p.13.
14. *Matkovics B., Kotorman M., Varga I.S. et al.* Acta Physiol. Hung., 1997-1998, 85, p.107.
15. *Telci Metab. Res., 2000, 32, p.40.*