

## ОСОБЛИВОСТІ ПОКАЗНИКІВ ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ ПЛАЗМИ КРОВІ ХВОРИХ НА ДІАБЕТИЧНУ ЕНЦЕФАЛОПАТІЮ ЗАЛЕЖНО ВІД ЇЇ СТАДІЇ

Н.В. Пашковська

БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

*У хворих на діабетичну енцефалопатію встановлено інтенсифікацію процесів пероксидації на тлі розбалансування антиоксидантної системи, про що свідчили зростання в плазмі крові пацієнтів рівня малонового діальдегіду, ступеня окисної модифікації білків, активності церулоплазміну, зменшення кількості HS-груп, а також порушення каталазної активності. Виявлені зміни прогресували зі стадією енцефалопатії.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** діабетична енцефалопатія, цукровий діабет, про- та антиоксидантна системи.

**ВСТУП.** Збільшення тривалості життя хворих на цукровий діабет (ЦД) у зв'язку з оптимізацією методів контролю і корекції глікемії призвело до зростання числа його пізніх ускладнень [3]. Ураження центральної нервової системи за цього патологічного стану проявляється діабетичною енцефалопатією (ДЕ). ДЕ – це порушення функції головного мозку метаболічного та судинного характеру [8]. Серед причин її виникнення можна виділити макро-, мікроангіопатії, кетоацидотичні, гіпоглікемічні стани та безпосереднє ураження нервових клітин внаслідок накопичення в останніх сорбітолу та фруктози в результаті активації поліолового шляху обміну глюкози. Загальновідомо, що вирішальну роль в патогенезі ішемічних пошкоджень мозку відіграє активація вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та білків [1].

Результати багатьох досліджень показали, що в інсулінонезалежних тканинах на фоні активації поліолового шляху окиснення глюкози знижується співвідношення НАДФ Н/НАДФ<sup>+</sup> і зростає співвідношення НАД Н/НАД<sup>+</sup>, що супроводжується посиленням утворення реактивних форм кисню. За таких умов та дії каталізаторів (перехідні метали) продукуються вільні кисневі радикали, які посилюють утворення кінцевих продуктів глікозилювання [13].

У літературі на сьогодні накопичено багато відомостей щодо функціонування системи про-

та антиоксидантного захисту за різних хронічних ускладнень ЦД [10]. Водночас особливості показників цієї системи у хворих на ДЕ залежно від стадії процесу залишаються поза увагою дослідників.

Метою роботи було вивчення особливостей системи про- та антиоксидантного захисту в плазмі хворих на діабетичну енцефалопатію залежно від її стадії.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Обстежено 81 особу (65 хворих на ДЕ, які перебували на лікуванні в стаціонарному відділенні Чернівецького обласного клінічного ендокринологічного диспансеру, та 16 практично здорових донорів, які склали контрольну групу).

ДЕ I стадії було діагностовано у 23, II – у 25, III – у 17 пацієнтів.

Діагноз ДЕ встановлювали на підставі скарг, анамнестичних даних, об'єктивного ендокринологічного, неврологічного та психічного статусу, даних доплерографії магістральних артерій голови, комп'ютерної рентгенівської та магніторезонансної томографії, загальноприйнятих лабораторних методик.

Стан про- та антиоксидантної систем плазми крові вивчали за вмістом малонового діальдегіду (МДА) [2], HS-груп [7], ступенем окисної модифікації білків (ОМБ) [6], активністю церулоплазміну [КФ 1.16.3.1] [4] та каталази [5]. Отримані результати оброблено за допомогою статистичної програми "Biostat" із використанням t-критерію Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У ході дослідження було виявлено активацію процесів ПОЛ та білків за ДЕ. Так, у хворих на ДЕ було встановлено вірогідне зростання рівня МДА на 23,3 % порівняно з контрольним показником (табл. 1).

Оскільки МДА є одним з кінцевих продуктів перекисного окиснення, який інгібує простациклін, сприяючи тромбоутворенню [1], зростання цього показника за ДЕ може свідчити про вагомую патогенетичну роль даної субстанції у розвитку церебральних порушень за ЦД.

Загальновідомо, що глюкоза у присутності металів зі змінною валентністю здатна утворювати кетоальдегіди, вільнорадикальні форми кисню, що змінюють структуру білка з утворенням перехресних сполук між білковими молекулами і втратою їх функції. Окисна деструкція білків є одним з провідних механізмів розвитку уражень нервової системи, оскільки призводить до зниження активності  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-ази, глутамінсинтетази, ферментів, що забезпечують підтримку іонного градієнта і зниження концентрації збуджувальних медіаторів [12, 13]. Проведене нами дослідження виявило вірогідне зростання рівня ОМБ на 53,3 %, яке, очевидно, відбувалося за рахунок активації утворення активних форм кисню, про що свідчить високий вміст МДА.

Отримані результати, на нашу думку, є критерієм пошкодження тканин активними формами кисню за ДЕ і вказують на більшу чутливість білків плазматичних мембран до дії активних кисневих метаболітів, ніж ліпідів.

В організмі людини функціонує злагоджена та багатокомпонентна антиоксидантна система ферментних і неферментних механізмів контролю за вмістом активних форм кисню [9]. Церулоплазмін, як і інші біоантиоксиданти (глутатіон, каталаза), є елементом фізіологічної антиоксидантної системи, фактором підтримки окиснювального гомеостазу в організмі. За фізіологічних умов церулоплазмін крові інгібує ПОЛ на 50 % і є основним антиоксидантом крові. Особливістю цього ферменту є висока стабільність до токсичної дії активних форм кисню, що дозволяє йому зберігати високу активність за умов інтенсивної генерації активних форм останнього [4].

В обстежених нами хворих активність церулоплазміну виявилась вірогідно більшою (на 41,1 %) за контрольний показник, що можна розцінити як компенсаторну реакцію системи антиоксидантного захисту у відповідь на посилення процесів пероксидації.

Активність каталази в обстежених пацієнтів не зазнавала вірогідних змін щодо контролю. На нашу думку, це пов'язано з тим, що даний

Таблиця 1 – Показники про- та антиоксидантної систем у хворих на діабетичну енцефалопатію залежно від її стадії

| Показники                | Контроль<br>( $M \pm m$ )<br>n=16 | ДЕ<br>( $M \pm m$ )<br>n=65  | ДЕ I стадії<br>( $M \pm m$ )<br>n=23 | ДЕ II стадії<br>( $M \pm m$ )<br>n=25         | ДЕ III стадії<br>( $M \pm m$ )<br>n=17                       |
|--------------------------|-----------------------------------|------------------------------|--------------------------------------|---|--|
| МДА,<br>мкмоль/л         | 14,6±0,56                         | 18,0±0,30<br>$p_1 < 0,001$   | 16,8±0,31<br>$p_1 < 0,001$           | 17,9±0,48<br>$p_1 < 0,001$<br>$p_2 > 0,05$    | 19,6±0,64<br>$p_1 < 0,001$<br>$p_2 < 0,001$<br>$p_3 < 0,05$  |
| ОМБ,<br>од.опт.густ./мл  | 1,5±0,1472                        | 2,3±0,06<br>$p_1 < 0,001$    | 2,3±0,10<br>$p_1 < 0,001$            | 2,1±0,09<br>$p_1 < 0,001$<br>$p_2 > 0,05$     | 2,4±0,13<br>$p_1 < 0,001$<br>$p_2 < 0,001$<br>$p_3 > 0,05$   |
| Церулоплазмін,<br>мг/л   | 281,5±24,56                       | 397,1±13,07<br>$p_1 < 0,001$ | 327,3±15,23<br>$p_1 > 0,05$          | 416,5±14,85<br>$p_1 < 0,001$<br>$p_2 < 0,001$ | 470,3±28,1<br>$p_1 < 0,001$<br>$p_2 < 0,001$<br>$p_3 > 0,05$ |
| Каталаза,<br>мкмоль/хв.л | 30,7±1,05                         | 30,58±1,3<br>$p_1 > 0,05$    | 28,5±2,68<br>$p_1 > 0,05$            | 30,2±1,58<br>$p_1 > 0,05$<br>$p_2 > 0,05$     | 33,8±2,49<br>$p_1 < 0,001$<br>$p_2 > 0,05$<br>$p_3 > 0,05$   |
| HS-групи,<br>мкмоль/мл   | 1,51±0,147                        | 0,64±0,028<br>$p_1 < 0,001$  | 0,58±0,038<br>$p_1 < 0,001$          | 0,66±0,040<br>$p_1 < 0,001$<br>$p_2 > 0,05$   | 0,65±0,070<br>$p_1 < 0,001$<br>$p_2 > 0,05$<br>$p_3 > 0,05$  |

Примітка.  $p_1$  – вірогідність змін щодо контролю ( $p \leq 0,05$ );

$p_2$  – вірогідність змін щодо групи хворих на ДЕ I стадії ( $p \leq 0,05$ );

$p_3$  – вірогідність змін щодо групи хворих на ДЕ II стадії ( $p \leq 0,05$ ).

фермент найдовше зберігає свою високу активність, майже не потребує енергії активації, а швидкість її реакції лімітує тільки швидкість дифузії субстрату до активного центру [5]. Водночас у 18 хворих на ДЕ, в яких ЦД ускладнився ще й діабетичною гепатопатією, цей показник вірогідно зменшувався в 1,6 раза щодо контролю і складав ( $19,4 \pm 1,67$ ) мкмоль/хв·л ( $p < 0,001$ ). Такі зміни, очевидно, пов'язані з дифузним ураженням печінки у цих пацієнтів.

Кількісний показник HS-груп плазми крові обстежених хворих був вірогідно меншим (у 2,4 раза) за контрольний. Загальновідомо, що HS-групи входять до складу багатьох біологічних сполук: білків, пептидів, відновленого глутатіону, цистеїну, ліпоєвої кислоти, гомоцистеїну тощо, а їх кількість є найбільш чутливим показником рівня оксидантного стресу, оскільки їм властиві як прооксидантний, так і антиоксидантний ефекти [11].

Наступним етапом нашого дослідження було вивчення показників про- та антиоксидантної систем плазми крові за ДЕ залежно від її стадії.

Вірогідне збільшення рівня МДА в плазмі крові хворих було встановлено вже на I стадії ДЕ (на 15,1 %). Також відмічалось достовірне зростання на 60 % ступеня ОМБ, що вказує на вагомий роль процесів окиснювальної деградації білка у розвитку церебральних змін на ранніх стадіях ДЕ.

Активність каталази та церулоплазміну в плазмі крові хворих на ДЕ I стадії не зазнавала вірогідних змін щодо контролю.

Водночас рівень HS-груп різко знижувався (у 2,6 раза), що може непрямо свідчити про виснаження антиоксидантної системи за ДЕ.

Таким чином, розбалансування системи ПОЛ відбувається вже на початку розвитку ДЕ.

У хворих на ДЕ II стадії відмічалися більш суттєві зміни показників про- та антиоксидантного статусу. Так, вміст МДА в плазмі крові вірогідно зростав та перевищував контрольний показник на 22,6 %. Ступінь ОМБ також зазнавав суттєвих змін із достовірним збільшенням щодо контролю на 40 %.

Як і за попередньої стадії, активність каталази практично не змінювалася, тоді як активність церулоплазміну вірогідно зростала не тільки щодо контролю (на 48,0 %), а й щодо групи хворих на ДЕ I стадії (на 27,3 %). Показник кількості HS-груп плазми крові достовірно зменшувався, порівняно з контролем, у 2,3 раза.

У хворих на ДЕ III стадії встановлено найбільш суттєві зміни в системі про- та антиоксидантного захисту плазми крові.

Рівень МДА зростав на 34,2 %. Слід зауважити, що у хворих досліджуваної групи це зростання було вірогідно більш суттєвим, ніж у пацієнтів з ДЕ I ( $p < 0,001$ ) та II ( $p < 0,05$ ) стадій. Таким чином, підвищення рівня МДА відбувалося пропорційно стадійності ДЕ. Показник ОМБ вірогідно зростав на 60 % і був достовірно вищим за відповідний у хворих на ДЕ I стадії.

Активність каталази вірогідно збільшувалася, що, на нашу думку, є компенсаторною реакцією на інтенсифікацію процесів пероксидації. Водночас поглиблений аналіз показав, що у хворих на ДЕ III стадії за наявності гепатопатії активність цього ферменту достовірно зменшувалася щодо контролю і складала ( $24,7 \pm 0,98$ ) мкмоль/хв·л ( $n=6$ ,  $p < 0,01$ ). Активність церулоплазміну також вірогідно зростала на 67,1 % і перевищувала відповідний показник в групі пацієнтів з ДЕ I стадії, тоді як кількісний показник рівня HS-груп плазми крові хворих був достовірно нижчим за контрольний у 2,3 раза.

Таким чином, проведене дослідження показало, що в генезі розвитку ДЕ суттєву роль відіграє оксидантний стрес. Він супроводжується інтенсифікацією процесів ПОЛ та розбалансуванням антиоксидантної системи. Виявлені в системі про- та антиоксидантного захисту зміни прогресують зі стадією розвитку ДЕ.

Механізм ПОЛ в клітинах центральної нервової системи є аналогічним щодо відповідних механізмів в інших тканинах, проте інтенсивність процесів тут є значно вищою. Багато в чому це визначається високим вмістом в мозку поліненасичених жирних кислот – субстратів ПОЛ. Так, вміст фосfolіпідів у мозку в 1,5 раза більший, ніж у печінці, та у 3-4 рази вищий, ніж у серці. Ось чому порушення функціонування системи про- та антиоксидантного захисту є особливо небезпечним для мозкової тканини [1].

За хронічної гіперглікемії реактивні похідні кисню окиснюють жирні кислоти, сприяють утворенню пероксидів ліпідів. Останні мають властивості вільних радикалів, здатних змінювати структуру ДНК і проявляти цитотоксичну дію, внаслідок чого порушуються регенеративно-проліферативні процеси в ендотеліальних клітинах. Крім того, ПОЛ змінює функціональні й антигенні властивості клітинних мембран, викликає експресію рецепторів [9, 13]. Таким чином, підвищене утворення реактивних кисневих радикалів або порушення антиоксидантної активності за ДЕ змінюють баланс в окисно-відновних процесах головного мозку і призводять до пошкодження клітин зі зміною їх функціональної здатності.

**ВИСНОВКИ.** 1. За діабетичної енцефалопатії в організмі виникає оксидантний стрес, який супроводжується інтенсифікацією процесів пероксидації на тлі розбалансування антиоксидантної системи, про що свідчать зростання в плазмі крові хворих рівня малонового діальдегіду, ступеня окисної модифікації білків, активності церулоплазміну, зменшення кількості HS-груп, а також зміна каталазної активності.

2. Порушення функціонування системи про- та антиоксидантного захисту у хворих на

діабетичну енцефалопатію виявляють вже на ранніх її стадіях, їх частота зростає із прогресуванням цього захворювання.

Перспективи подальших досліджень полягають у створенні комплексного диференційованого підходу до діагностики та лікування порушень функціонування системи про- та антиоксидантного захисту у хворих на діабетичну енцефалопатію залежно від стадії основного захворювання.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Астарков С.В. Коррекция окислительного стресса – стратегия защиты мозга в неотложной неврологии // Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости. – 2004. – № 2. – С. 93-96.
2. Васильева Н.В., Мещишен І.Ф. Показники оксидантної та глутатіонової систем крові у хворих на дисциркуляторну енцефалопатію // Бук. мед. вісник. – 1998. – 2, № 3-4. – С. 3-6.
3. Ефимов А., Зуева Н., Скробонская Н. Диабетическая невропатия // Ліки України. – 2005. – № 3. – С. 21-25.
4. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск: Беларусь, 1982. – 290 с.
5. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1998. – № 1. – С. 16-19.
6. Мещишен І.Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові // Бук. мед. вісник. – 1998. – 2, № 1. – С. 156-158.
7. Мещишен І.Ф., Григор'єва Н.П. Метод кількісного визначення HS-груп у крові // Бук. мед. вісник. – 2002. – 6, № 2. – С. 190-192.
8. Мищенко Т.С., Перцева Т.Г., Мищенко В.Н. Сахарный диабет и цереброваскулярные заболевания // Міжнар. неврол. журн. – 2005. – № 4. – С. 29-34.
9. Науменко В.Г. Патогенетична терапія ускладнень цукрового діабету // Міжнар. ендокринолог. журн. – 2006. – № 1. – С. 55-60.
10. Сергієнко О.О., Єфімов А.С. Лікування діабетичної нейропатії (огляд літератури та власних досліджень) // Журн. академії мед. наук України. – 2003. – 9, № 2. – С. 278-298.
11. Шпаков А.О. Роль сульфгидрильних груп в функционировании аденилатциклазной сигнальной системы / Журн. эвол. биохим. и физиол. – 2002. – 38, № 1. – С. 97-107.
12. Obrosova I.G. Increased Sorbitol Pathway Activity Generates Oxidative Stress in Tissue Sites for Diabetic Complications // Antioxidants & Redox Signaling. – 2005. – 7, № 11-12. – P. 1543-1552.
13. Vlassenko A.G., Rundle M.M., Raichle M.E. Regulation of blood flow in activated human brain by cytosolic NADH/NAD+ ratio // PNAS. – 2006. – 103, № 6. – P. 1964-1969.

### ОСОБЕННОСТИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМ ПЛАЗМЫ КРОВИ БОЛЬНЫХ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЕЕ СТАДИИ

Н.В. Пашковская

БУКОВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

#### Резюме

У больных диабетической энцефалопатией установлено интенсификацию процессов пероксидации на фоне разбалансирования антиоксидантной системы, о чем свидетельствовали возрастание в плазме крови пациентов

уровня малонового диальдегида, степени окислительной модификации белков, активности церулоплазмина, уменьшение количества HS-групп, а также нарушение каталазной активности. Обнаруженные изменения прогрессировали со стадией энцефалопатии.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** диабетическая энцефалопатия, сахарный диабет, про- и антиоксидантная системы.

## PECULIARITIES OF THE INDICES OF BLOOD PLASMA PRO- AND ANTIOXIDANT SYSTEM OF PATIENTS WITH DIABETIC ENCEPHALOPATHY DEPENDING ON ITS STAGE

N.V. Pashkovska  
BUCOVYNIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

### Summary

*The intensification of peroxidation processes has been established against a background of antioxidant system disbalance. It has been proved by increase of malonic dialdehyde level, the degree of oxidant protein modification, decrease of the number of HS-groups, increase of ceruloplasmin activity as well as disturbance of catalase activity in the patients' blood plasma. The revealed changes aggravated depending on the stage of encephalopathy.*

**KEY WORDS:** diabetic encephalopathy, diabetes mellitus, pro- and antioxidant systems.

Отримано 20.08.2007 р.

Адреса для листування: Н.В. Пашковська, вул. Шевченка, 3, кв. 8, Чернівці, 58001, Україна.

Для отримання оперативної інформації звертайтеся до нашої сторінки в Інтернеті:  
[www.tdmu.edu.te.ua](http://www.tdmu.edu.te.ua)