

УДК 616.39-053.6:577.11+612.349

*Д.К. Кулешова, В.В. Давыдов*

*ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков НАМН Украины», г. Харьков*

## **СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ У ПОДРОСТКОВ С НЕЙРОЭНДОКРИННЫМ ОЖИРЕНИЕМ, ОСЛОЖНЁННЫМ И НЕ ОСЛОЖНЁННЫМ ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ**

С целью изучения особенностей антиоксидантной системы у подростков с нейроэндокринным ожирением, осложнённым и не осложнённым инсулинорезистентностью, обследовано 40 мальчиков-подростков позднего пубертатного периода (16–18 лет). Показано, что у подростков с неосложнённым нейроэндокринным ожирением наблюдается компенсаторное повышение активности ферментов первой линии антиоксидантной защиты организма, в том числе и неферментативного показателя антиоксидантной системы – мелатонина. У подростков с нейроэндокринным ожирением, осложнённым инсулинорезистентностью, выявлено снижение компенсаторной реакции и ослабление мощности антиоксидантной системы защиты организма.

**Ключевые слова:** *подростки, пубертат, ожирение, инсулинорезистентность, антиоксидантные ферменты, церулоплазмин, мелатонин.*

Многочисленные данные клинических исследований последних лет указывают на возрастание заболеваемости нейроэндокринным ожирением среди подростков [1, 2]. Как следствие этого, у взрослого населения отмечается повышенная заболеваемость сердечно-сосудистой системы, что приводит к инвалидизации трудоспособного населения и увеличению смертности [3]. В связи со сказанным поиск новых подходов к лечению и профилактике ожирения в подростковом возрасте становится первостепенной государственной задачей. Несомненно, реального прогресса в данном направлении можно достичь, лишь познав в деталях молекулярные механизмы формирования нейроэндокринного ожирения в подростковом возрасте. Однако до настоящего времени в их понимании остаётся много неясного.

Согласно данным литературы, развитие ожирения сопровождается возникновением оксидативного стресса в организме [4, 5]. Данное состояние выступает в роли одного из важных патогенетических звеньев формирования метаболических нарушений при нейроэндокринном ожирении, а возникновение

оксидативного стресса может быть связано с ограничением мощности антиоксидантной системы в организме [6–8]. Однако особенности формирования оксидативного стресса и роль антиоксидантной системы в его возникновении при нейроэндокринном ожирении у подростков всё ещё недостаточно изучены. Не установлены также особенности изменения антиоксидантной системы при ожирении в подростковом возрасте на фоне инсулинорезистентности, как одном из широко встречающихся осложнений этого заболевания [9, 10].

Целью данного исследования явилось изучение ряда показателей антиоксидантной системы в крови подростков с нейроэндокринным ожирением, осложнённым и не осложнённым инсулинорезистентностью.

**Материал и методы.** Обследовано 40 мальчиков-подростков позднего пубертатного возраста (16–18 лет). Подростков разделили на три группы: 1-я – здоровые, 2-я – с нейроэндокринным ожирением без инсулинорезистентности и 3-я – с нейроэндокринным ожирением, осложнённым инсулинорезистентностью. Обследуемые 2-й и 3-й групп

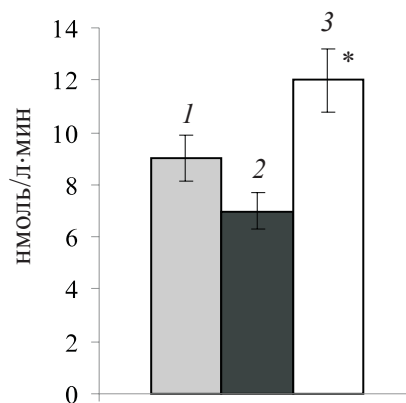
© Д.К. Кулешова, В.В. Давыдов, 2012

имели I–II степень ожирения. Инсулинорезистентность выявляли путём оценки величины индекса НОМА [11]. Содержание инсулина в крови определяли радиоиммунологическим методом с помощью наборов Insulin(e) IRMAKIT, Beckman Coulter (Чехия), концентрацию глюкозы – глюкозооксидазным методом с использованием наборов Glucosapil и прибора SuperGL (Германия). Определяли активность супероксиддисмутазы [12], глутатионпероксидазы [13] и церулоплазмينا [14], а также содержание мелатонина [15] и церулоплазмينا с использованием наборов CERULOPLASMIN, Dialab (Австрия).

В сыворотке крови измеряли скорость индуцированного восстановленным железом перекисного окисления липидов (ПОЛ). С этой целью 0,2 мл сыворотки смешивали с 3,8 мл 0,05 М калийфосфатного буфера pH 7,4 и 0,25 мл 0,001 М раствора  $\text{KMnO}_4$ . Реакционную смесь интенсивно перемешивали и инкубировали в течение 10 мин при температуре 25 °С. После этого из неё отбирали аликвоту объёмом 0,25 мл, которую переносили в стеклянную центрифужную пробирку, содержащую 0,5 мл 20%-ной трихлоруксусной кислоты (проба 1). В исходную реакционную смесь вносили 0,25 мл 0,01 М  $\text{FeSO}_4$ , интенсивно перемешивали и инкубировали в течение 10 мин при 25 °С. После этого из неё вновь отбирали аликвоту объёмом 0,25 мл, которую переносили в следующую центрифужную пробирку, содержащую 0,5 мл 20%-ной трихлоруксусной кислоты (проба 2). В обе пробирки, содержащие аликвоты реакционной смеси и трихлоруксусную кислоту, вносили 0,25 мл 1 М соляной кислоты и 0,5 мл 0,7%-ной 2-тиобарбитуровой кислоты. Пробы интенсивно перемешивали и помещали на 10 мин в кипящую водяную баню, после чего охлаждали и центрифугировали в течение 15 мин при  $41,6 \text{ c}^{-1}$ . Надосадочную жидкость осторожно декантировали и измеряли её оптическую плотность на спектрофотометре СФ-46 при 532 нм. Результаты измерений использовали для расчёта содержания ТБК-реактивных веществ в пробах с учётом коэффициента молярной экстинкции малонового диальдегида [16]. Скорость индуцированного ПОЛ рассчитывали по разности содержания ТБК-реактивных веществ в пробах 2 и 1.

Полученные данные статистически обрабатывали с использованием непараметрического метода Вилкоксона–Манна–Уитни.

**Результаты и их обсуждение.** Данные измерения скорости индуцированного ПОЛ представлены на рисунке. Из рисунка следует, что у больных с ожирением не выявляется статистически достоверное изменение величины данного показателя, хотя и имеет место выраженная тенденция к его понижению ( $p > 0,05$ ). В то же время у подростков с ожирением, осложнённым инсулинорезистентностью, имеет место повышение скорости индуцированного ПОЛ в крови на 71 % по сравнению с её величиной у подростков с неосложнённым нейроэндокринным ожирением. Оценивая возможные причины обнаруженного сдвига, можно предположить, что выраженное повышение скорости индуцированного ПОЛ при нейроэндокринном ожирении, осложнённом инсулинорезистентностью, связано с увеличением мощности антиоксидантной активности крови у больных данной группы. Для проверки этого предположения далее в крови обследуемых подростков измеряли активность антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и церулоплазмينا).



Скорость индуцированного ПОЛ в крови подростков 1-й (1), 2-й (2) и 3-й (3) групп с инсулинорезистентностью и без неё.

\*  $p < 0,05$  в сравнении со 2-й группой

Исследования показали, что у подростков с нейроэндокринным ожирением активность супероксиддисмутазы и церулоплазмينا в крови не отличается от таковой у здоровых сверстников (табл. 1). Однако у них имеет место повышение активности глутатионпер-

Таблиця 1. Активність антиоксидантних ферментів в крові підлітків з ожирінням, ускладненим і не ускладненим інсулінорезистентністю (ІР) ( $M \pm m$ )

Фермент	Групи підлітків		
	1-я (здорові)	2-я (с ожирінням без ІР)	3-я (с ожирінням з ІР)
СОД, ЕД/(мін·мл)	1,40±0,07 (n=7)	1,36±0,18 (n=13)	1,50±0,15 (n=9)
ГПО, мкмоль/(мін·мл)	9,0±2,4 (n=8)	12,9±3,6* (n=12)	11,2±2,5 (n=11)
Церулоплазмин, мг/л	211,3±32,6 (n=8)	242,1±80,4 (n=12)	234,8±37,8 (n=11)

Примечания: 1. За 1 ЕД СОД была принята такая активность, которая соответствовала 50 % торможения скорости окисления кверцетина.

2. \*  $p < 0,05$  по отношению к 1-й группе.

оксидазы на 43 % по сравнению с её величиной у здоровых подростков. При этом активность данного фермента у них находится на уровне аналогичного показателя у подростков с ожирением, осложнённым инсулинорезистентностью. В то же время активность супероксиддисмутазы и церулоплазмينا у подростков 3-й группы существенно не отличается от таковой у подростков 1-й группы.

Результаты проведённых исследований указывают на то, что сдвиги со стороны общей антиоксидантной активности крови у подростков с ожирением, осложнённым инсулинорезистентностью, не сопровождаются изменением активности изученных антиоксидантных ферментов в крови. Вместе с тем у них значительно понижается содержание церулоплазмينا (табл. 2). Следует заметить, что уменьшение содержания церулоплазмينا в крови имеет место и у больных с неосложнённым ожирением, однако данный сдвиг у них в определённой мере компенсируется повышением активности глутатионпероксидазы.

Анализ полученных результатов позволяет сделать заключение, что у подростков с неосложнённым нейроэндокринным ожирением формируются метаболические предпосылки для поддержания антиоксидантной

активности крови. Они связаны с компенсаторным повышением активности ферментов первой линии антиоксидантной защиты, к числу которых относится глутатионпероксидаза [17]. Определённую роль в этом может играть и повышение содержания в крови неферментативных антиоксидантов, особое значение среди которых имеет гормон мелатонин [18, 19]. Нами были изучены особенности экскреции данного гормона у подростков обследуемых групп (табл. 2).

Исследования показали, что уровень экскреции мелатонина с мочой у подростков с неосложнённым ожирением на 57 % выше, чем у здоровых. В то же время у подростков с ожирением, осложнённым инсулинорезистентностью, величина данного показателя находится на уровне таковой у здоровых подростков.

Таким образом, при неосложнённом нейроэндокринном ожирении в организме подростков формируются условия для стабилизации антиоксидантной активности крови в результате повышения в ней активности глутатионпероксидазы и увеличения концентрации неферментативных антиоксидантов, к числу которых относится мелатонин. Это, по всей вероятности, является компенсаторной реакцией со стороны метаболизма на ранних

Таблиця 2. Вміст мелатоніну і церулоплазмину в крові підлітків з ожирінням, ускладненим і не ускладненим інсулінорезистентністю ( $M \pm m$ )

Антиоксиданти	Групи підлітків		
	1-я	2-я	3-я
Церулоплазмин, мг/дл	3,9±0,5 (n=7)	2,8±0,6* (n=13)	3,2±0,6* (n=12)
Мелатонин, нмоль/сут	61,2±17,1 (n=5)	96,0±15,1* (n=6)	86,5±20,0 (n=4)

Примечание. \*  $p < 0,05$ .

стадиях розвитку ожирення. В то же время при ожирении, сопровождающемся инсулинорезистентностью, происходит понижение общей антиоксидантной активности крови. Возникновение подобного сдвига, помимо прочего, может быть связано с нарушением формирования компенсаторных механизмов, характерных для неосложнённого нейроэндокринного ожирения.

Можно предположить, что развитие нейроэндокринного ожирения на фоне инсулинорезистентности сопровождается понижением мощности антиоксидантной системы в организме, что, в свою очередь, предопределяет развитие в нём оксидативного стресса. Несомненно, что в этих условиях формируются предпосылки для отягощения течения основного заболевания. Причиной возникновения обнаруженного феномена может быть нарушение регуляции синтеза внутриклеточных ферментов при инсулинорезистентности и, в том числе, энзимов, принимающих участие в адаптации к действию повреждающих факторов оксидативного стресса.

### Список литературы

1. *Аверьянов А. П.* Ожирение детей и подростков: клиничко-метаболические особенности, лечение, прогноз и профилактика осложнений // *Международ. эндокринолог. журн.* – 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.] // *Am. J. Hypertension.* – 2012. – Vol. 25. – P. 576–582.
3. *Nelson M. K.* The burden of obesity among a national probability sample of veterans / M. K. Nelson // *J. Gen. Intern. Med.* – 2006. – Vol. 9. – P. 915–919.
4. *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.
5. Insuline 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.
6. Dysregulation of adipose glutathione peroxidase-3 in obesity contributes to local and systemic oxidative stress / S. Yun, K. A. Yong, C. Jin Woo [et al.] // *Molec. Endocrin.* – 2008. – Vol. 9. – P. 2176.
7. *Molnar D.* Reduced antioxidant status in obese children with multimetabolic syndrome / D. Molnar, T. Decsi, B. Koletsko // *Intern. J. Obesity.* – 2004. – Vol. 28. – P. 1197–1202.
8. Antioxidant superoxide dismutase activity in obese children / O. Erdeve, Z. Siklar, P. Kocaturk [et al.] // *Biol. Trace. Elem. Res.* – 2004. – Vol. 3. – P. 219 – 228.
9. *Хижняк О. О.* Метформин в профилактике метаболического синдрома у детей и взрослых / О. О. Хижняк // *Международ. эндокринолог. журн.* – 2007. – Т. 10, № 4. – С. 43–47.
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 : метод. рекомендації / О. А. Будрейко, Л. Д. Нікітіна, С. О. Чумак [та ін.]. – К. : Нац. акад. мед. наук України, МОЗ України, Укр. центр наук. мед. інформації та патентно-ліцензійної роботи. – 2011. – 24 с.

### Выводы

1. При нейроэндокринном ожирении, осложнённом инсулинорезистентностью, у подростков понижается антиоксидантная активность крови, что нехарактерно для подростков с ожирением без инсулинорезистентности.

2. Понижение содержания церулоплазмينا в крови подростков с неосложнённым нейроэндокринным ожирением сопровождается повышением активности глутатионпероксидазы в крови и увеличением уровня экскреции мелатонина с мочой.

3. У больных с нейроэндокринным ожирением, осложнённым инсулинорезистентностью, в крови понижается содержание церулоплазмينا, тогда как активность глутатионпероксидазы, супероксиддисмутазы и церулоплазмينا, а также уровень экскреции мелатонина соответствуют таковым у здоровых подростков.

4. У подростков с нейроэндокринным ожирением, осложнённым инсулинорезистентностью, формируются условия для возникновения оксидативного стресса в организме.

12. *Костюк В. А.* Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина / В. А. Костюк // Вопросы мед. химии. – 1990. – Т. 36, № 2. – С. 28–35.
13. *Mills G. C.* The purification and properties of glutathione peroxidase of erythrocytes / G. C. Mills // J. Biol. Chem. – 1959. – Vol. 234, № 3. – P. 502–506.
14. *Камышников В. С.* Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: Справочник: В 2 т. – 2-е изд. / В. С. Камышников. – Минск : Интерпресссервис, 2003. – Т. 2. – 463 с.
15. *Давыдов В. В.* Нормы содержания биологически активных веществ у детей и подростков: Справочник / В. В. Давыдов, Д. А. Кашкалда, А. В. Голобородько. – Харьков : Федорко, 2008. – 132 с.
16. *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.
17. Polymorphism in genes related to oxidative stress (CAT, MnSOD, MPO, and eNOS) and acute toxicities from radiation therapy following lumpectomy for breast cancer / A. Jiyoun, B. C. Ambrosone, A. P. Kanetsky [et al.] // Clin. Cancer Res. – 2006. – Vol. 74. – P. 7063–7067.
18. Melatonin as an antioxidant: biochemical mechanism and pathophysiological implications in humans / R. J. Reiter, D. X. Tan, J. C. Mayo [et al.] // Acta Biochim. Pol. – 2003. – Vol. 50. – P. 1129–1146.
19. Effect of melatonin in the antioxidant defense system in locomotor muscles of the estuarine crab / M. A. Geins, M. A. Vargas, T. F. Gomez [et al.] // Gen. and Compar. End. – 2010. – Vol. 166. – P. 72–82.

*Д.К. Кулешова, В.В. Давыдов*

**СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ У ПІДЛІТКІВ З НЕЙРОЕНДОКРИННИМ ОЖИРІННЯМ, УСКЛАДНЕНИМ І НЕ УСКЛАДНЕНИМ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНІСТЮ**

З метою вивчення особливостей стану антиоксидантної системи у підлітків з нейроендокринним ожирінням, ускладненим і не ускладненим інсулінорезистентністю, досліджено 40 підлітків пізнього пубертатного періоду (16–18 років). Встановлено, що у підлітків з неускладненим нейроендокринним ожирінням спостерігається компенсаторне підвищення активності ферментів першої лінії антиоксидантного захисту, у тому числі неферментативного показника антиоксидантної системи – мелатоніну. У підлітків з нейроендокринним ожирінням, ускладненим інсулінорезистентністю, виявлено зниження компенсаторної реакції й послаблення потужності антиоксидантної системи захисту організму.

**Ключові слова:** підлітки, пубертат, ожиріння, інсулінорезистентність, антиоксидантні ферменти, церулоплазмін, мелатонін.

*D.K. Kulieshova, V.V. Davydov*

**STATE OF THE ANTIOXIDANT SYSTEM OF ADOLESCENTS WITH THE NEUROENDOCRINE OBESITY, INSULINE RESISTANCE AND COMPLICATED WITHOUT IT**

40 adolescents boys in their late puberty (16–18 years) were examined with the purpose to study some peculiarities in the antioxidant system in youth with neuroendocrine obesity and insulin resistance complications or without them. A compensatory increase in the enzyme activity of the first line of the antioxidant defence, including melatonin level as a nonenzymatic indicator of antioxidant system in adolescents with neuroendocrine obesity without insulin resistance. Certain decrease in a compensatory response as well as some reduction of the antioxidant system protective power have been revealed in adolescents with neuroendocrine obesity and insulin resistance.

**Key words:** adolescents, puberty, obesity, insuline resistance, antioxidant enzymes, ceruloplasmin, melatonin.

Поступила 31.05.12