

– РОЗДІЛ 5 ЕКОЗООЛОГІЧНІ ТА МЕДИКО-ЕКОЛОГІЧНІ
ДОСЛІДЖЕННЯ –

УДК : 616.379–008.64:616.13–004.6:612.397

**ПОКАЗНИКИ, ЩО ХАРАКТЕРИЗУЮТЬ
МЕТАЛОЛІГАНДНИЙ ГОМЕОСТАЗ, ЛІПІДНИЙ ОБМІН ТА
АНТИОКСИДАНТНИЙ ЗАХИСТ У ХВОРИХ НА
ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ ТА ОБЛІТЕРУЮЧИЙ
АТЕРОСКЛЕРОЗ**

Ю.В. Єщенко, В.Д. Бовт, Л.О. Омельянчик, О.А. Бондарюк
Запорізький національний університет
vd.bovt@gmail.com

Исследовалось влияние заболеваний, характеризующихся нарушением обмена липидов и повреждением сосудов (сахарный диабет и облитерирующий атеросклероз) на показатели, характеризующие содержание металлолигандного гомеостаза в плазме крови (содержание в сыворотке Zn, Cu, Fe, церулоплазмينا) и эритроцитах (содержание Hb, % гликозилированного Hb) и металлоферментов. Установлено, что изменения в липидном обмене, характеризующиеся гиперлипидемией разного типа, II при облитерирующем атеросклерозе, что обуславливает местное поражение сосудов и IV при сахарном диабете, обуславливающее общее поражение сосудов. Оба заболевания вследствие общих этиопатогенетических факторов почти одинаково негативно влияют на механизмы антиоксидантной защиты. Изменения показателей, характеризующие металлолигандный гомеостаз, однонаправлены для Zn и Fe, их содержание снижалось при обоих заболеваниях. Содержание Cu изменялся разнонаправлено при сахарном диабете он повышался, а при облитерирующем атеросклерозе снижался.

Металлолигандный гомеостаз, липидный обмен, антиоксидантная защита, облитерирующий атеросклероз, сахарный диабет, антиоксиданты, металлосодержащие ферменты, транспортные белки

Відома значна кількість захворювань, при яких мають місце як порушення ліпідного обміну, так і зміни в механізмах металолігандного гомеостазу [1, 3, 5]. Наприклад це цукровий діабет та облітеруючий атеросклероз, що призводять до великої кількості випадків інвалідізації людей працездатного віку [2, 4, 7]. Це відбувається завдяки тому, що велика кількість

металоферментів бере участь у перекисному окисленні ліпідів [2, 4, 7], а також механізмах антиоксидантного захисту. Крім того, у цих процесах беруть участь гормони, що містять метали, наприклад інсулін [1, 3, 5]. Зміна показників, що характеризують ці процеси, значним чином впливають на механізми, що забезпечують достатню працездатність організму, впливаючи на процеси дихання [1, 2, 4, 7]. У зв'язку з вищенаведеним необхідно дослідити, як ці процеси пов'язані між собою та знайти надійні експресійні та малозатратні методи діагностики, профілактики і корекції патологічних процесів, що відбуваються при цих захворюваннях.

Раніше ці процеси досліджувалися окремо [1, 3, 4]. Так, відомі механізми етіопатогенетичних змін при цукровому діабеті, облітеруючому атеросклерозі [2, 4, 7], але як при цьому з ними пов'язані зміни в показниках, що характеризують металолігандний гомеостаз, майже не досліджено.

Метою дослідження було виявлення змін у показниках металолігандного гомеостазу, що пов'язані з порушеннями ліпідного обміну при захворюваннях при яких мають місце як генералізоване, так і місцеве пошкодження судинної системи організму, таких як цукровий діабет та облітеруючий атеросклероз, та знаходження на базі цього рис збігу та відмінностей у їх патогенетичних механізмах.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження були проби периферійної крові 60 осіб, з яких 20 осіб були практично здоровими та склали контрольну групу, 20 осіб страждали цукровим діабетом II-го типу різного ступеня важкості та 20 осіб хворіли на облітеруючий атеросклероз з ураженням судин нижніх кінцівок. Дослідження проводились на базі «Вітацентру» м. Запоріжжя. Серед досліджених були однакова кількість жінок і чоловіків, віком від 50 до 55 років. У всіх осіб, як хворих на цукровий діабет, так і на облітеруючий атеросклероз, було виявлено ураження судин сітківки ока і нижніх кінцівок середньої важкості. У хворих визначали показники, що характеризують:

1) ліпідний обмін: загальну кількість холестерину, рівні ліпопротеїдів високої та низької кількості, вміст тригліцеридів, коефіцієнт атерогенності,

$$K = \frac{(\text{холестерин ЛПНЩ} + \text{холестерин})}{\text{холестерин}}$$

2) показники, що характеризують стан металолігандного гомеостазу (вміст гемоглобіну в еритроцитах), рівень глікозильованого гемоглобіну, вміст супероксиддисмутази та каталази в еритроцитах, вміст Zn, Cu та целуроплазміну, рівень антиоксидантної активності.

Кров отримували з вен, гепаринізували після центрифугування, отримували плазму та еритроцитарну масу, яку використовували для визначення вмісту глікозильованого гемоглобіну [2, 6–9].

Концентрацію Zn в крові визначали колориметричним методом без депротеїнізації стандартним набором реактивів SPINREAC I. Концентрацію Cu в плазмі крові визначали за допомогою стандартного набору реактивів «Gachema» для фотометричного визначення цих металів у біологічному матеріалі.

Одержані результати досліджень перевіряли на нормальність розподілу за допомогою W-критерія Шапіро-Вілка. Імовірність похибки $d > 0,05$. При нормальному розподілі, порівняння вибірок проводилось за допомогою t-критерію Стюдента для незалежних вибірок. Статистичну обробку даних проводили з використанням програмного пакету Statistic Soft 6.0.

Результати та їх обговорення

Показники, що характеризують рівень ліпідного обміну у хворих на атеросклероз і цукровий діабет у порівнянні з контрольною групою здорових людей, а також з загально прийнятими нормами для цих показників наведені у табл. 1.

Усі показники у контрольній групі знаходились у межах норми.

У хворих на облітеруючий атеросклероз були підвищені такі показники, як загальна кількість холестерину (на 100 % по відношенню до контролю), ліпопротеїди низької щільності (на

75 % відносно контрольної групи та на 12 % по відношенню до норми).

Таблиця 1 – Показники, що характеризують ліпідний обмін у здорових людей та хворих на облітеруючий атеросклероз і цукровий діабет

Tabl 1 – Indicators of lipid metabolism in healthy people and patients with atherosclerosis and diabetes

Група обстежуваних	Контрольна група (здорові люди) (n = 20)	Хворі на облітеруючий атеросклероз (n = 20)	Хворі на цукровий діабет (n = 20)
Загальна кількість холестерину в плазмі крові ммоль/л (N 5,0–5,2 ммоль/л)	4,18 ± 0,19	8,75 ± 0,12*** p<0,001	6,05 ± 0,15 ** p<0,01
Ліпопротеїди високої щільності ммоль/л (N 1,68–1,74 ммоль/л)	1,72 ± 0,05	0,62 ± 0,06** p<0,01	1,57 ± 0,03** p<0,001
Ліпопротеїди низької щільності ммоль/л (N<3,9 ммоль/л)	2,73 ± 0,09	4,52 ± 0,06*** p<0,001	3,32 ± 0,04*** p<0,01
Тригліцериди ммоль/л (N 1,5–2 ммоль/л)	1,67 ± 0,007	3,21 ± 0,03 ** p<0,01	2,72 ± 0,05** p<0,01
Коефіцієнт атерогенності (N 3–3,5 ммоль/л)	3,14 ± 0,04	15,11 ± 0,02*** p<0,001	3,12 ± 0,02***

Примітка: *P < 0,05; **P < 0,01; ***P < 0,001

Вміст тригліцеридів був підвищеним відносно контролю на 100 і 60 % відповідно відносно верхньої межі норми. Коефіцієнт атерогенності стосовно контролю та верхньої межі норми був підвищений у 4,5 рази. Кількість ліпопротеїдів високої щільності була знижена відносно контролю і нижньої межі норми відповідно

на 45 і 60 %. Подібні зміни спостерігалися при гіперліпідемії II-го типу з важкою гіперхолістеринемією, які викликають місцеві атеросклеротичні ураження судин.

У хворих на цукровий діабет із усіх показників був підвищений несуттєво тільки рівень загального холестерину, а інші показники були майже в межах нормальних показників, що відповідає гіперліпідемії IV-го типу з незначним чином вираженою гіперхолістеринемією, яка викликає загальне ураження судин.

Показники, які характеризують зміни, що викликають відхилення у еритроцитах крові, наведені в табл. 2.

Таблиця 2 – Вміст в еритроцитах у здорових людей та хворих на облітеруючий атеросклероз і цукровий діабет гемоглобіна, глікозильованого гемоглобіна та антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутази, каталази)

Table 2 – Content in red blood cells in healthy individuals and patients with atherosclerosis and diabetes hemoglobin, glycosylated hemoglobin and antioxidant enzymes (superoxide dismutase, catalase)

Група обстежуваних	Контрольна група (здорові люди) (n=20)	Хворі на облітеруючий атеросклероз (n=20)	Хворі на цукровий діабет (n=20)
Гемоглобін, г/л (N 132 – 164 г/л)	145 ± 1,24	103 ± 1,36** p<0,01	99,8 ± 1,98** p<0,01
Глікозильований гемоглобін, Hb A _{1c} , % до загального Hb N 5,5–7,5%	6,53 ± 0,75	8,57 ± 0,63** p<0,01	10,3 ± 0,68** p<0,01
Супероксиддисмутаза, ум. од./мг Hb N = 1,04 ± 0,05 ум. од./мг Hb	1,06 ± 0,01	0,75 ± 0,03** p<0,01	0,85 ± 0,08** p<0,01
Каталаза, мк ОД/еритроцит N 18,14–26,0 мк ОД/еритроцит	19,12 ± 0,25	16,35 ± 0,26** p<0,01	15,4 ± 0,31** p<0,01

Примітка *P < 0,05; **P < 0,01; ***P < 0,001

Усі показники у контрольній групі знаходились у межах норми.

Гемоглобін в обох випадках був нижче нижньої межі норми, що свідчить про анемію, яка мала місце в усіх хворих, причому у хворих на цукровий діабет анемія була більш виражена.

Глікозильований гемоглобін був підвищений в обох випадках, але у хворих на облітеруючий атеросклероз цей показник перевищував верхню межу норми незначно, що свідчить про достатню компенсацію патологічного процесу, а при цукровому діабеті показник був значно підвищений, що свідчило про те, що компенсаторні механізми цих хворих суттєво виснажені.

Вміст металовмісних ферментів і приймаючих участь у реакціях антиоксидантного захисту знижено, нижче нижньої межі норми в обох випадках. Вміст супероксиддисмутази в еритроцитах крові знижувався істотніше при облітеруючому атеросклерозі, а вміст каталази був більшим при цукровому діабеті.

Показники, що характеризують зміни, котрі викликані хворобами у плазмі крові, наведені у табл. 3.

Усі показники у контрольній групі знаходились у межах норми.

У хворих на облітеруючий атеросклероз було визначено зниження усіх досліджуваних показників, що свідчить про значний ступінь порушення механізмів металолігандного гомеостазу та системи антиоксидантного захисту.

У хворих на цукровий діабет встановлено зниження показників вмісту Zn, Fe та рівень антиоксидантного захисту, а вміст Cu і церулоплазміну були підвищені, що також свідчить про значний ступінь порушення механізмів металолігандного гомеостазу та системи антиоксидантного захисту, але механізми розвитку цих змін дещо інші, ніж ті, які мають місце при облітеруючому атеросклерозі.

При загальному аналізі впливу захворювань, що пов'язані з порушеннями ліпідного обміну та цілісності стінки кровоносних судин, було встановлено, що різні зміни в показниках ліпідного обміну відповідають однакові зміни в показниках антиоксидантного захисту (їх значне загальне зниження) та в показниках, які характеризують метаболізм Zn та Fe.

Таблиця 3 – Вміст у плазмі крові у здорових людей та хворих на облітеруючий атеросклероз і цукровий діабет металів (цинку, міді, заліза) та рівень антиоксидантного захисту і церулоплазміну

Table 3 – Content in the blood plasma of healthy people and patients with atherosclerosis and diabetes metals (zinc, copper, iron) and the level of antioxidant and ceruloplasmin

Група обстежуваних	Контрольна група (здорові люди) (n=20)	Хворі на облітеруючий атеросклероз (n=20)	Хворі на цукровий діабет (n=20)
Вміст Zn, мкм/л (N = 11,5–18,5 мкм/л)	16,7 ± 0,85	8,45 ± 0,45** p<0,01	7,24±0,67** p<0,01
Вміст Cu, мкм/л (N = 11–22 мкм/л)	14,3 ± 0,75	9,05 ± 0,24** p<0,01	25,3±0,64** p<0,01
Вміст Fe, мкм/л (N = 10–30 мкм/л)	25,3 ± 0,27	9,15 ± 0,01*** p<0,001	8,25±0,04*** p<0,001
Вміст церулоплазміну, мг/л (N = 270–370 мг/л)	285 ± 6,32	245±5,27*** p<0,001	490±7,45 *** p<0,001
Рівень функціонування системи антиоксидантного захисту (N = 60–75%)	71,5 ± 0,25	55,3 ± 0,42** p<0,01	54,2 ± 0,23** p<0,01

*P < 0,05; **P < 0,01; ***P < 0,001.

При аналізі взаємозв'язків між досліджуваними процесами метаболізму, можна дослідити механізми розвитку порочного кола, яке викликає розвиток патологій, пов'язаних з ураженням стінок кровоносних судин. Це можливо представити у вигляді наступної схеми: 1) порушення у металолігандному гомеостазі призводять до 2) порушень у ферментативних системах, що відповідають за оксидативний захист та перекисне окислення

ліпідів; 3) це викликає пошкодження стінок кровоносних судин, які внаслідок розвитку атеросклеротичних процесів викликають ішемічні явища в організмі; 4) це призводить до порушень у металолігандному гомеостазі і породжує замикання кола.

Різницю в змінах вмісту Cu та церулоплазміну можна пояснити тим, що при цукровому діабеті головним етіопатогенетичним фактором була недостатність інсуліну і, як наслідок, недостатність, яка призводить до недостатності Zn та залишку у крові Cu як антагоністу Zn [1, 2, 6]. При облітеруючому атеросклерозі це можливо пояснити тим, що є активний центр ліпопротеїдліпази, який містить Cu, так як і лецитинхолестеринацилтрансферази. Так що можливо припустити, що недостатність Cu може викликати недостатність синтезу цих ферментів і супроводжуватись атеросклеротичним ураженням стінок судин.

Перспективи подальших досліджень: 1) більш детальне вивчення етіопатогенетичних механізмів розвитку хвороб, що пов'язані з порушеннями різних видів гомеостазу; 2) винахід найпростіших методів їх діагностування; 3) розробка методів їх корекції.

Висновки

1. У хворих на облітеруючий атеросклероз були виявлені: 1) ліпідемія II-го типу; 2) зниження вмісту антиоксидантних ферментів та металовмісних ферментів в еритроцитах крові; 3) зменшення вмісту хелатоутворюючих металів у плазмі крові; 4) зниження рівня транспортних білків як в еритроцитах, так і в плазмі крові; 5) погіршення рівня антиоксидантного захисту в плазмі крові.

2. У хворих на цукровий діабет були виявлені: 1) ліпідемія IV-го типу; 2) підвищення вмісту глікозильованого Hb; 3) підвищення вмісту Cu в плазмі крові, а також при церулоплазміну; 4) останні зміни в організмі спостерігались такі самі, як при облітеруючому атеросклерозі.

3. Досліджено механізм розвитку порушень, що призводять до взаємопов'язаних змін в ліпідному обміні, металолігандному гомеостазі та антиоксидантному захисті, які взаємопов'язані між

собою через загальні компоненти (металомісткі ферменти, транспортні білки, коферменти та інші).

Література

1. Омелянчик Л.О. Адаптація та металолігандний гомеостаз // Л.О. Омелянчик, Ю.В. Єщенко, О.М. Кучковський, В.Д. Бовт. – ЗНУ, 2013. – 351 с.

Omel'yanchuk L.O. Adaptatsiya ta metalolihandnyy homeostaz // L.O. Omel'yanchuk, Yu.V. Yeshchenko, O.M. Kuchkovs'kyu, V.D. Bovt. – ZNU, 2013. – 351 s.

2. Halliwell B. *Free Radicals in Biology and Medicine Oxford / B. Halliwell – University Press. – 1999. – 936 p.*

3. Берегова Т.В. Визначення вмісту цинку та інсуліну в острівцевих клітинах при різному функціональному стані інсулярного апарату / Т.В. Берегова, Ю.В. Єщенко, В.Д. Бовт [та ін.] / *Фізіологічний журнал*. – 2007. – Т. 53. – №4. – С. 100–104.

Berehova T.V. Vyznachennya vmistu tsynku ta insulynu v ostrivtsevykh klitynakh pry riznomu funktsional'nomu stani insulyarnoho aparatu / T.V. Berehova, Yu.V. Yeshchenko, V.D. Bovt [ta in.] / Fiziologichnyy zhurnal. – 2007. – T. 53. – №4. – S. 100–104.

4. Зозуля Ю.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга / Ю.А. Зозуля, В.А. Барабаш. – М.: Знание, 2000. – 344 с.

Zozulya Yu.A. Svobodnoradykal'noe okyslenye y antyoksydantnaya zashchyta pry patolohyy holovnoho moz'ha / Yu.A. Zozulya, V.A. Barabash. – M.: Znanye, 2000. – 344 s.

5. Eschenko J.V. *The influence of stress factors on zinc and insulin content in islands of langerghans / J.V. Eschenko, V.D. Bovt // Przemysl. Nauka I Studia. – 2008. – № 4. – P. 82–87.*

6. Чеснокова Н.П. Общая характеристика источников образования свободных радикалов и антиоксидантных систем / Н.П. Чеснокова, Е.В. Понукалина, М.Н. Бизенкова // *Успехи современного естествознания*. – 2006. - №7. – С. 37–41.

Chesnokova N.P. Obschaya kharakterystyka ystochnykov obrazovanyya svobodnykh radykalov y antyoksydantnykh system / N.P. Chesnokova, E.V. Ponukalyna, M.N. Byzenkova // Uspekhy sovremennogo estestvoznaniya. – 2006. – № 7. – S. 37–41.

7. Каган В.Е. Проблемы анализа эндогенных продуктов перекисного окисления липидов / Каган В.Е., Орлов В.Н., Прилипко Л.Л. – М., 1986. – 136 с.

Kahan V.E. Problemi analiza endohennikh produktov perekysnoho okslyenuya lypydov / Kahan V.E., Orlov V.N., Prylypko L.L. – M., 1986. – 136 s.

8. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, А.И. Иванова // Лаб. дело – 1988. – №1. – С. 16–19.

Korolyuk M.A. Metod opredelenyuua aktyvnosti katalazi / M.A. Korolyuk, A.Y. Ivanova // Lab. delo – 1988. – № 1. – S. 16–19.

9. Дубинина Е.Е. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека / Е.Е. Дубинина, Л.А. Скальникова, Л.Ф. Ефимова // Лаб. дело. – 1983. – №10. – С. 30–33.

Dubynyna E.E. Aktyvnost' y yzofermentniy spektr superoksyddysmutazi erytrotsyтов y plazmi krovy cheloveka / E.E. Dubynyna, L.A. Skal'nykova, L.F. Efyymova // Lab. delo. – 1983. – № 10. – S. 30–33.

**INDEX WHIS ARE CHARACTERISATED OF
METALOLIGAND HOMEOSTASIS, LIPID PEROXIDATION
AND ANTIOXIDANT SYSTEM IN PATIENT WITH
DIABETES AND ATHEROSCLEROSIS**

Eshchenko J.V., Bovt V.D., Omelyanchik L.A., Bondaruk O.A.

Zaporizhzhya National University

vd.bovt@gmail.com

The disease is manifested as metabolism disturbance, mikrocyrculatory and metaloligand homeostasis disorders like atherosclerosis and diabetes mellitus leading to a large number of cases of disability of working age, and lead to severe disability majority of patients with these disease. It is known that cellular cytoplasm is mainly formed of lipids, which together with proteins form lipoproteins complexes (cellular membranes).

Disturbans of fat metabolism may manifest as:

1) appearance in the place where it does not appear under normal conditions;

2) increase of fat amount in the places where it is present under normal conditions.

The main cause of fatty change is hypoxia which may be done to disturbances in transportation systems.

Atherosclerosis is a chronic disease affecting primarily the intima of larger and medium-sized arteries and is characterized by fibrolipid planes or atheroma's. Although the fibrous and complicated planes are the atherosclerotic lesions associated with disturbances in blood flow that cause clinical disease states the morphology changes of diffuse intimal thickening and fatty streaks may be either precursors of the basic atherosclerotic lesion or stages in its development.

Diabetes mellitus is due to relative or absolute insulin insufficiency. Insulin insufficiency increases blood glucose amount because cellular membranes are closed for glucose those hyperglycemia and hyperlipidemia develop. Diabetic macro- and microangiopathy is seen in the vessels.

Atherosclerosis lesions in the diabetic are morphologically identical to those occurring in nondiabetics.

The symptomatic these disease involves most often the heart, brain kidneys small intestine and lower extremities. Complications those connected with angiopathy (gangrene of extremities, myocardial infarction, blindness).

For the treatment and the prevention of these disease is necessary to investigate their etiopathogenetical factors and functional pathological changes. The aim of the study was to examine the intensity of lipid peroxidation, protein status of antioxidant system and content chelatable metals (Zn, Cu, Fe) in blood markers that characterized the state of adaptive system and metaloligand homeostasis.

In are research took part 60 humans. To the participants of experimental groups (n = 20) was a patient with diabetes mellitus and atherosclerosis. The human in control group (n = 20) was healthy. As biochemical parameters of surveyed persons functional condition: glucose, content in blood chelatable metals (Zn, Cu, Fe). Hb content in erythrocytes metalloferments and antioxidant ferments.

All patients have changes in characteristics of the metaloligand homeostasis as deficit of Fe and Zn. It is established that oxidative stress is as one of the mechanisms of formation and the consequence of

these diseases one of the markers of oxidative stress is the intensification and lipid peroxidation.

Lower high density (HDL) in some diabetic subjects has been an enlarged turnover of glycosylated HDL. HDL is believed to exert a protective effect with respect to atherosclerosis. Glycosylation and cross-linking of proteins in the arterial wall may damage the vessel and predispose it to atherosclerosis.

Found among patients surveyed of diseases imbalance in the POL-AOS characterized by lower efficiency of antioxidant defense, demonstrates the need for inclusion in the complex therapy of patients antioxidation and drugs.