

УДК 612.014:616-074

НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ В ИССЛЕДОВАНИИ БЕЛКОВО-ЛИПИДНОГО ОБМЕНА В ДИАГНОСТИКЕ ОСЛОЖНЕНИЙ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

© 2012 г.

Ю.Р. Ефременко, Е.Ф. Королева

Нижегородская государственная медицинская академия

Julia_lisina@mail.ru

Поступила в редакцию 13.04.2012

Представлены результаты исследования новых высокочувствительных маркеров осложнений метаболического синдрома, позволяющих выявлять лиц группы риска с целью своевременной диагностики и контроля эффективности различных лечебных программ.

Ключевые слова: метаболический синдром, липидный профиль, неэтерифицированные жирные кислоты, матриксные металлопротеиназы.

Введение

Согласно классификации Международной федерации диабета (IDF, 2005), основным критерием метаболического синдрома (МС) является центральное ожирение, а именно окружность талии (ОТ) у женщин более 80 см, у мужчин – более 94 см. Помимо этого, необходимо наличие двух из дополнительных критериев: содержание триглицеридов в сыворотке выше 1.7 ммоль/л, уровень холестерина липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) ниже 1.03 ммоль/л для мужчин и 1.29 ммоль/л для женщин; уровень артериального давления превышает 130/85 мм рт. ст., гипергликемия натощак 5.6 ммоль/л, нарушение толерантности к глюкозе. Важным звеном в патогенезе МС является развитие и прогрессирование инсулинорезистентности тканей (ИР). Приведенные критерии считаются основополагающими для прогнозирования осложнений, ассоциированных с МС [1]. Тем не менее стандартные диагностические подходы не всегда своевременно выявляют лиц с потенциальным риском прогрессирования данного патологического состояния. В связи с этим, актуальность исследования новых маркеров метаболического синдрома (неэтерифицированных жирных кислот, фосфолипидов, свободного холестерина и матриксных металлопротеиназ) и его осложнений не вызывает сомнений.

Цель данного исследования – изучение параметров белкового и липидного обмена при метаболическом синдроме.

Материалы и методы

В исследование включены 159 человек в возрасте 48.1 ± 5.7 лет.

Основную группу составили 60 человек с МС, которым проводилось внутривенное введение 200 мл озонированного физиологического раствора с концентрацией озона 300–400 мкг/л, через день, 6–7 процедур на курс лечения.

Группа сравнения включала 49 человек с МС, в лечении их были использованы стандартные методы (статины, диуретики, ингибиторы ангиотензин-превращающий фермент (АПФ)) в условиях стационара.

Диагноз ставился на основании наличия абдоминального ожирения (отношение окружности талии к окружности бедер – ОТ/ОБ = 1.08 ± 0.05), артериальной гипертензии, повышенного значения глюкозы натощак и нарушения липидного обмена.

Нормальные значения исследуемых показателей были установлены в контрольной группе, которую составили 50 практически здоровых человек, сопоставимых по возрасту и полу с основной и контрольной группами.

В плазме крови исследовали уровни триглицеридов (ТГ), неэтерифицированных жирных кислот (НЭЖК), общего холестерина (о-ХС), свободного холестерина (с-ХС), фосфолипидов (ФЛ) с использованием тест-систем DiaSys (Германия) на биохимических анализаторах Clima MC-15 (Испания) и Conelab 20i (Финляндия). Количество инсулина (DRG, Германия) измеряли на иммуноферментном анализаторе Sunrise TECAN (Австрия) для расчета НОМА-индекса (homeostasis model assessment) с целью выявления инсулинорезистентности тканей [2]. Наличие окислительного стресса определяли по уровню продуктов окислительной модификации белков [3]. Концентрацию матриксных металлопротеиназ (ММР-9) оценивали иммунофер-

ментным методом с помощью стандартного набора Quantikine (R&D Systems, США).

Для статистической обработки полученных данных использовался пакет прикладных программ статистического анализа R 2.11.0 и Bio-stat. Результаты выражали в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое, m – стандартная ошибка среднего. Для оценки взаимосвязей между исследуемыми параметрами проводился корреляционный анализ с применением коэффициента корреляции Пирсона.

Результаты и их обсуждение

Одним из ключевых звеньев в патогенетической цепочке МС является инсулинорезистентность. «Золотым стандартом» измерения ИР является эугликемический гиперинсулиновый клэмп-тест. Однако метод является трудоемким и дорогостоящим. Поэтому для оценки ИР предложены различные индексы, основанные на соотношении концентраций инсулина и глюкозы в плазме натощак. Для выявления нарушения чувствительности тканей к инсулину применяют НОМА-индекс (homeostasis model assessment) [4]. Расчет НОМА-индекса показал увеличение данного показателя у 80% обследованных больных (6.28 ± 0.68), что подтверждает риск развития сосудистых и диабетических осложнений.

Не менее важное значение в развитии и прогрессировании МС имеет дислипидемия. Согласно полученным данным, высокий уровень триглицеридов, как один из основных критериев МС, отмечен у 38.7% обследованных лиц и превышал значения у здоровых людей контрольной группы в среднем на 67.3%. Изучение данного показателя в группе больных с МС после стандартного лечения выявило снижение содержания ТГ в сыворотке крови на 48%. По всей видимости, это связано с применением гиполипидемических препаратов на протяжении всего курса стационарного лечения. После курса озонотерапии уровень ТГ изменился аналогичным образом, а именно отмечено снижение на 52% (таблица). Это может быть связано со способностью озона активировать кислородозависимые процессы, вследствие чего усиливается β -окисление жирных кислот и уменьшается содержание ТГ и холестерина [5].

В связи с тем, что гипертриглицеридемия была выявлена лишь у трети обследованных, был проведен поиск более чувствительного и универсального маркера дислипидемии. В наших исследованиях обнаружено, что при МС в 100% случаев уровень неэтерифицированных

жирных кислот в 2 раза превышал значения данного показателя в контрольной группе (0.40 ± 0.04) (таблица). Таким образом, можно сделать вывод о высокой диагностической значимости данного показателя.

После курса стандартной терапии наблюдалось снижение уровня НЭЖК на 16%. Согласно данным И.Е. Чазовой и В.Б. Мычки [6] при стандартном лечении под воздействием статинов происходит снижение ИР тканей. Выявленное нами уменьшение НЭЖК возможно является результатом торможения процессов липолиза вследствие повышения чувствительности периферических тканей к инсулину.

Сопоставимые изменения уровня НЭЖК отмечены после курса озонотерапии. Продemonстрировано снижение данного параметра на 15% в сыворотке крови больных с МС. Описанные изменения, по всей видимости, связаны с активацией аэробных процессов под воздействием озона и последующим окислением продуктов метаболизма НЭЖК. Данные соединения аккумулируются, в основном, в скелетных мышцах, миокарде и являются причиной нарушения инсулинозависимой утилизации глюкозы в этих тканях [7]. Увеличение количества НЭЖК приводит к уменьшению связывания гепатоцитами инсулина, его деградации и развитию ИР [8, 9].

Обсуждая проблему нарушений липидного обмена при МС, следует обратить внимание на уровень фосфолипидов. Данный показатель у 75% больных варьировал в пределах нормы (таблица 1). Поэтому для повышения информативности данного параметра был использован коэффициент ФЛ/о-ХС, ранее широко применяемый в кардиологии. Весьма существенно, что у 80% обследуемых с МС это отношение было достоверно снижено относительно значений в контрольной группе. Повышение данного коэффициента свидетельствует о предрасположенности к атеросклерозу. После проведенного курса лечения в основной группе и группе сравнения достоверных изменений данного коэффициента обнаружено не было, что свидетельствует о сохранении риска возникновения атеросклеротических изменений. Таким образом, данной категории больных необходимо мониторинг состояния липидного спектра.

Учитывая важную роль холестерина в патогенезе атеросклеротических изменений, представляется целесообразным исследование его различных форм. Уровень свободного холестерина характеризует возможность элиминации избыточного ХС из тканей в печень.

Таблица

Показатели липидного обмена и инсулинорезистентности у больных с метаболическим синдромом до и после лечения ($M \pm m$)

Показатель	Основная группа		Группа сравнения	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
НОМА-индекс, ммоль/л	7.37±1.13	5.18±0.77*	5.19±0.45	3.41±0.26*
ТГ, ммоль/л	2.52±0.25	1.98±0.15*	2.00±0.21	1.61±0.12*
о-ХС, ммоль/л	7.23±0.35	5.84±0.50*	6.45±0.32	5.49±0.39*
с-ХС, % от о-ХС	51.39±2.62	39.21±1.56*	50.12±2.37	39.07±2.31*
ФЛ/о-ХС	0.42±0.03	0.49±0.04	0.49±0.04	0.52±0.05
НЭЖК, ммоль/л	0.80±0.03	0.7±0.05*	0.75±0.04	0.62±0.05*

* – Различия статистически значимые в группах до и после лечения ($p \leq 0.05$).

Как видно из таблицы, у пациентов с МС на фоне гиперхолестеринемии было выявлено значительное повышение уровня свободного ХС в 1.9 раза по сравнению со здоровыми лицами контрольной группой. Следует отметить, что уровень общего холестерина снижается как после стандартного лечения, так и после озонотерапии.

По всей видимости, накопление с-ХС в крови связано с ингибированием активности лецитин-холестеринацилтрансферазы (ЛХАТ), участвующей в этерификации ХС, и его обратной транспортировки в печень. Предполагаемое снижение активности ЛХАТ в условиях гипергликемии может быть вызвано гликозилированием апопротеина А (апоА), который является кофактором этого фермента. Не менее существенную роль играет свободнорадикальное окисление белковой части ЛПВП (апоА), приводящее к ингибированию фермента и уменьшению обратного транспорта ХС из тканей в печень и накоплению его в крови. В связи с этим важным представляется исследование окислительных процессов, особенно оценка окислительной модификации белков (ОМБ). Отмечено достоверное увеличение продуктов ОМБ в группе больных с МС (15.79±1.56 ед. опт. пл./ г белка) относительно контрольных значений (14.66±0.08). При расчете корреляционных связей в контрольной группе отмечена обратная взаимосвязь между ТГ и основными продуктами окислительной модификации белков ($r = -0.408$, $p = 0.025$), что обусловлено конкуренцией за субстрат в условиях нормальной работы антиоксидантной системы. В группе больных с МС корреляционные связи между ТГ и продуктами ОМБ изменили характер – корреляция стала прямой ($r = 0.262$, $p = 0.035$), что вполне согласуется с патологическими изменениями, сопровождающими развитие и прогрессирование данного симптомокомплекса.

После проведения курса озонотерапии отмечается достоверное снижение исследуемого параметра, что связано со способностью озона стимулировать активацию антиоксидантной системы защиты [10]. Стандартная терапия не приводила к уменьшению количества токсичных агентов перекисной деградации белков.

Интенсификация свободнорадикальных процессов приводит к накоплению продуктов ОМБ и окисленных липопротеинов низкой плотности. Последние распознаются макрофагами как антигены и подвергаются эндоцитозу, инициируя иммунный ответ в интима сосудов. Дальнейшая деятельность макрофагов в субэндотелиальном пространстве приводит к стимуляции цитокинов и высвобождению матриксных металлопротеиназ (ММР).

ММР – большая группа протеолитических ферментов, физиологическая функция которых – ремоделирование тканей, ангиогенез и формирование костной системы. Все ферменты синтезируются в виде неактивных предшественников, активируются при участии системы активатор пламиногена/плазмин. Активность регулируется тканевыми ингибиторами ММР (ТИМР), цитокинами и различными факторами роста. Для нашей работы наибольший интерес представляет ММР-9 (желатиназа В). Основная функция данного фермента – разрушение белков межклеточного матрикса (эластина, фибриллина, декорина, коллагенов IV, V, XI и XVI типов). При окислительном стрессе активация макрофагов и образование пенистых клеток приводит к сверхсинтезу ММР. Повышенная активность ММР-9 нарушает гомеостаз экстрацеллюлярного матрикса, что на данной стадии атерогенеза является маркером наличия атеросклеротической бляшки (АСБ) и ее нестабильности. Согласно данным F.L. Li-Saw-Hee et al. [11] и J. Sundstrom et al. [12], максимальная активность ММР обнаруживается в самой уязви-

мой области АСБ и приводит к ее разрыву. Таким образом, устойчивость фиброзной бляшки зависит от активности ММР-9.

Анализ плазмы крови больных с МС показал повышение активности ММР-9 в 78.6% случаев более чем в 3 раза. Полученные результаты свидетельствуют о том, что у большей части обследованных лиц на фоне метаболического синдрома выявляются атеросклеротические изменения. В связи с этим ситуация требует динамического наблюдения за степенью атерогенеза с целью предотвращения развития тромбозов.

Выводы

1. Наиболее информативными маркерами осложнений, ассоциированных с метаболическим синдромом, являются незатерифицированные жирные кислоты, свободный холестерин и отношение количеств фосфолипидов к общему холестерину.

2. Для оценки устойчивости фиброзной бляшки необходимо контролировать активность матриксных металлопротеиназ, которые могут выступать в качестве маркеров атеросклеротических событий.

3. Маркеры осложнений метаболического синдрома могут быть использованы в качестве критериев эффективности различных схем лечения.

Список литературы

1. Алексеева О.П., Востокова А.А., Курышева М.А. Метаболический синдром: современное понятие, факторы риска и некоторые ассоциированные заболевания. Н. Новгород: Изд-во НижГМА, 2009. 112 с.

2. Метаболический синдром / Под ред. Г.Е. Ройтберг. М.: МЕДпресс-информ, 2007. 224 с.

3. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Поротов Г.Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения // Вопросы медицинской химии. 1995. Т. 41. № 1. С. 24–26.

4. Barr E.L.M., Cameron A.J., Balkau B. et al. HOMA insulin sensitivity index and the risk of all-cause mortality and cardiovascular disease events // *Diabetologia* DOI 10.1007/s00125-009-1588-0

5. Конторщикова К.Н., Перетягин С.П. Диплом на открытие № А 387 от 9 февраля 2006 г. «Закономерность формирования адаптационных механизмов организмов млекопитающих при системном воздействии низкими терапевтическими дозами озона».

6. Чазова И.Е., Мычка В.Б. Роль статинов в лечении больных с метаболическим синдромом // *Consilium medicum*. 2007. Т. 2. № 1. С. 55–61.

7. Cameron A.J. The metabolic syndrome: Validity and utility of clinical definition for cardiovascular disease and diabetes risk prediction // *Maturitas*. 2010. № 65. P. 117–121.

8. Delarue J., Magnan C. Free fatty acids and insulin resistance // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*. – 2007. V. 10. № 2. P. 142–148.

9. Jialal I., Huet B.A., Kaur H., Chien A., Devaraj S. Increased toll-like receptor activity in patients with metabolic syndrome // *Diabetes Care*. 2012. V. 35. № 4. P. 900–904.

10. Ведунова М.В. Состояние эндогенной интоксикации при метаболическом синдроме и его коррекции низкими дозами озона. Автореферат дис. ... канд. биол. наук. Н. Новгород, 2008. 30 с.

11. Li-Saw-Hee F.L., Edmunds E., Blann A.D. et al. Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor metalloproteinase-1 levels in essential hypertension. Relationship to left ventricular mass and antihypertensive therapy // *Int. J. Cardiol*. 2000. V. 75. P. 43–47.

12. Sundstrom J., Evans J.C., Benjamin E.J., et al. Relations of plasma total TIMP-1 levels to cardiovascular risk factors and echocardiographic measures: Framingham heart study // *EHJ*. 2004. V. 25. P. 1509–1516.

NEW FEATURES IN THE STUDY OF PROTEIN-LIPID METABOLISM IN THE DIAGNOSIS OF COMPLICATIONS OF METABOLIC SYNDROME

Yu.R. Efremenko, E.F. Koroleva

The paper presents the results of a study of new highly sensitive markers of complications of the metabolic syndrome for identifying individuals at risk in order to timely diagnose and monitor the effectiveness of various treatment programs.

Keywords: metabolic syndrome, lipid profile, free fatty acids, matrix metalloproteinases.