

УДК 577.169:618.36 + 577.15: 577.17+577.164.1

©Коллектив авторов

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ СОСТАВА ЖИРНЫХ КИСЛОТ КРОВИ ПРИ ОЖИРЕНИИ И САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2 ТИПА У ЖЕНЩИН

Н.П. Микаелян^{1}, А.А. Терентьев¹, Х.З. Нгуен¹, А.В. Микаелян², С.А. Новикова²*

¹Российский национальный исследовательский
медицинский университет имени Н.И. Пирогова,

117997, Москва ул. Островитянова, 1; эл.почта: ninmik@yandex.ru

²Московский областной НИИ акушерства и гинекологии, 101000, Москва, ул. Покровка, 22а

Результаты исследования свидетельствуют о том, что ожирение и сахарный диабет 2 типа (СД2) у женщин сопровождаются дислипидемией атерогенного характера, с активацией процессов липидной перекиссации, а также нарушениями в системе антиоксидантной защиты (АОЗ). СД2, обусловленный дисбалансом перекисного окисления липидов – ПОЛ-АОА, сопровождается более высокой концентрацией продуктов ПОЛ, снижением параметров антиоксидантных систем и утилизации глюкозы клетками. Ожирение и СД2 сопровождаются модификацией состава свободных и эстерифицированных ЖК крови, что может привести к изменению функциональной активности мембран клеток, следовательно, и понижению функциональной активности инсулиновых рецепторов, инсулинзависимых транспортеров глюкозы. Результаты исследования свидетельствуют о важной роли ЖК и их метаболитов в патогенезе ожирения и СД2, что необходимо учитывать при разработке и выборе соответствующих профилактических и терапевтических мероприятий, направленных на предотвращение или устранение выявленных нарушений.

Ключевые слова: жирные кислоты, сахарный диабет, ожирение, инсулинрезистентность, утилизация глюкозы, оксидативный стресс

DOI: 10.18097/PBMC20156106760

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что в основе развития сахарного диабета 2 типа (СД2) лежат инсулинорезистентность периферических тканей и недостаточная секреция инсулина. Инсулинорезистентность часто выявляется также у лиц с ожирением [1, 2]. По мнению ряда авторов, формированию сниженной чувствительности клеток и тканей к инсулину предшествует дефицит в клетках эссенциальных полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) [3, 4]. Недостаток ПНЖК в клетках может привести к изменению жирно-кислотного состава фосфолипидов и физико-химических свойств плазматических мембран, понижению их жидкостности, нарушению функционирования рецепторов к инсулину и транспортных систем поступления в клетку глюкозы. Вследствие блокады поглощения жирных кислот (ЖК) происходит компенсаторное увеличение пассивного поглощения клетками неэстерифицированных свободных жирных кислот (СЖК) [3-5], что активизирует липолиз, усиливает секрецию инсулина и развитие гиперинсулинемии (ГИ) [6, 7]. Нарушение ауторегуляции инсулиновых рецепторов при ГИ ещё больше усиливает

периферическую инсулинрезистентность (ИР). Однако, патогенетическая роль ЖК вследствие нарушения их транспорта, связанного с дисфункцией инсулиновых рецепторов, изучено недостаточно.

Целью данной работы явилось исследование патогенетических особенностей состава жирных кислот в плазме крови и утилизация глюкозы эритроцитами у женщин, страдающих ожирением и СД2.

МЕТОДИКА

У 35 женщин с СД2, а также у 30 здоровых женщин (контрольная группа) и 15 женщин с ожирением проводили комплексное исследование липидного состава крови, процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ) и состояния системы антиоксидантной защиты (АОЗ). Средний возраст пациентов составил 52 года. Длительность диабета у пациентов варьировала от 1 года до 5 лет, при этом 19 женщин страдали СД 2 менее 3 лет, а 16 – более 3 лет. К моменту исследования диабетические нарушения у больных с СД 2 были компенсированы диетой и сахароснижающими препаратами.

* - адресат для переписки

Общеклиническое и биохимическое обследование включало расчёт индекса массы тела (ИМТ), оценку систолического и диастолического артериального давления (АД), пульса, исследование углеводного и липидного обменов, спектра жирных кислот, состояние инсулиновых рецепторов и баланс ПОЛ-АОЗ.

У пациентов определяли наличие абдоминально-висцерального ожирения, артериальной гипертензии и ИР/ГИ. Для характеристики ИР/ГИ использовали показатели базального инсулина и соотношения глюкоза/инсулин натощак. Уровень базального инсулина 25,0 мкЕд/мл в обследованных группах свидетельствовал о гиперинсулинемии. Для выявления ИР рассчитывали гликемический индекс (индекс Саго) – соотношение глюкоза мг% / инсулин натощак [8]. Значение ОТ>88 см, свидетельствующие об избыточном накоплении жира в абдоминальной (подкожной и висцеральной) области.

Об интенсивности ПОЛ судили по ранее описанным нами методам [9-11] определения содержания гидроперекисей (ГП) и малонового диальдегида (МДА) в ЛПНП, используя цветную реакцию с тиобарбитуровой кислотой [10]. Утилизацию глюкозы эритроцитами и инсулинсвязывающую активность клеток определяли по методам [9, 12, 13]. Утилизацию глюкозы клетками крови определяли в среде, содержащей 2×10^9 кл/мл отмытых эритроцитов, инкубированных с возрастающими концентрациями нативного инсулина [14].

Содержание общего ХС, ТГ, ХС ЛПВП в плазме крови определяли на автоанализаторе Airone 200 ферментным методом с помощью комбинированных диагностических наборов фирмы "Bioson" (Германия). Липопротеидный спектр сыворотки крови определяли стандартным набором реактивов фирмы "BioSystems S.A." (Испания). Концентрацию ХС ЛПНП и ХС ЛПОНП оценивали по расчётным формулам Friedwald (1972) и выражали в моль/л, КА – по формуле Климова А.Н. (1977) [15]. Материалом для исследования служила венозная кровь, которую получали от испытуемых с использованием ЭДТА в качестве антикоагулянта. Экстракцию липидов из сыворотки крови проводили по методу Folch и соавт. [16], после чего осуществляли метилирование ЖК методом [17] с дальнейшим анализом на газожидкостном хроматографе-

масс-спектрометре ULTRA GC-ITQ 900 (США), снабжённом пламенно-ионизационным детектором и капиллярной колонкой (0,25×30 м) с привитой фазой Supelcowax 10. Прибор калибровали стандартными смесями метиловых эфиров ЖК фирмы "Sigma" (США). Обсчёт и идентификацию пиков проводили с помощью программно-аппаратного комплекса "Analytica for Windows" с использованием IBM Pentium IV 1800. Определяли концентрации следующих высших ЖК: миристиновой (C14:0), пальмитиновой (C16:0), стеариновой (C18:0), пальмитолеиновой (C16:1), олеиновой (C18:1), линолевой (C18:2ω6), α-линоленовой (C18:3ω3), γ-линоленовой (C18:3ω6), дигомо-γ-линоленовой (C20:3ω6), арахидоновой (C20:4ω6).

Активность глутатионпероксидазы (ГПО), супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КТ) определяли с помощью наборов фирмы "BioVision" (США) на иммуноферментном анализаторе Stat Fax 3200. Показатель общей антиоксидантной защиты (АОЗ) определяли в крови больных на биохимическом анализаторе SAPHIRE 400 с использованием реактивов фирмы "RANDOX" (США). Статистическую обработку материала осуществляли с помощью компьютерной программы Microsoft Excel. Достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента. При изучении характера взаимоотношений исследуемых параметров использовали коэффициент корреляции.

Данное исследование одобрено комитетом по этике РНИМУ имени Н.И. Пирогова. Обследуемые дали информированное согласие на участие в данном исследовании.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют, что при СД2 происходят более значительные изменения в липидном составе крови по сравнению с группой больных с ожирением; повышение уровня общего ХС, ТГ, ХС ЛПНП и ЛПОНП. При этом уровень ХС ЛПВП снижается. Гипертриглицеридемия сопряжена с повышением содержания ЛПОНП, что может быть обусловлена с увеличением поступления ЖК, вследствие отсутствия ингибирующего влияния инсулина на продукцию и формирование ЛПОНП (табл. 1). При ожирении

Таблица 1. Изменение некоторых метаболических показателей в плазме крови у пациентов с ожирением и СД2.

Показатель	Контроль	Ожирение	СД2
ОХС, ммоль/л	4,53±0,21	5,80±0,55	5,82±0,29
ТГ, ммоль/л	0,68±0,05	1,71±0,23*	2,93±0,37*
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,43±0,12	1,19±0,07	1,05±0,08*
ХС ЛПНП, ммоль/л	2,76±0,23	3,82±0,44	4,30±0,57*
МДА в ЛПНП, нмоль/мл	3,09±0,12	4,83±0,485	5,98±0,58*
Гидроперекиси в ЛПНП, ммоль/мл	3,22±0,59	6,11±1,96*	8,41±1,16*
Глюкоза/инсулин усл.ед.	0,54±0,09	4,2±0,3*	7,3±0,4*
ИСА,% эритроциты	27,1±3,9	21,6±2,1*	14,8±2,1*

Примечание. Здесь и в других таблицах: результаты представлены в виде среднего значения ± ошибка среднего; * - достоверно по сравнению с контрольной группой (p<0,05).

отмечается увеличение концентрации всех продуктов ПОЛ в ЛПОНП, которые имели наибольшие значения у больных с СД2. При этом установлено, что ИСА в эритроцитах у больных значительно снижается, определяется взаимосвязь между соотношением глюкоза/инсулин натощак и ИСА ($r = -0,62$, $p < 0,05$).

Активация ПОЛ сопровождается увеличением содержания МДА в ЛПОНП при СД2 в 1,28 раза, гидроперекисей в 1,5 раза, что приводит у больных к снижению утилизации глюкозы (УГ) в мембране эритроцитов в 1,93 раза ($p < 0,05$) (табл. 2). Отмечается снижение как базального, так и стимулированного потребления глюкозы эритроцитами по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Имеет место значительное снижение активности ферментов-антиоксидантов,

например, активность металлодержащего фермента CuZn-COD снижается 1,83 раза ($p < 0,05$) (табл. 2). Достоверное снижение ИСА и УГ эритроцитами в этих группах больных свидетельствует о ИР. Резко выраженная гипергликемия, то есть значительное снижение степени утилизации глюкозы эритроцитами, а также активности ферментов антиоксидантной защиты при высокой степени ПОЛ, отмечается в группе больных с СД2. В пуле НЖК в эритроцитах максимальное повышение отдельных фракций отмечается также у больных СД2 (табл. 3); арахидовая ЖК (C20:0) увеличивается в 6 раз, пентадекановая кислота (C15:0) – в 3 раза, каприновая ЖК (C10:0) – в 2 раза, пальмитиновая (C16:0) – на 63%, в результате суммарный уровень

Таблица 2. Изменение некоторых показателей антиоксидантной защиты и утилизации глюкозы эритроцитами у различных групп больных.

Группа	АОЗ, ммоль/л	CuZn-COD, ед/мг Hb	Каталаза, ед/мг Hb	Глутатион-пероксидаза, ед/мг/ Hb	Утилизация глюкозы Эр, мкмоль (2×10^9) кл/час
Контроль	1,72±0,07	1380±31	622±2,8	48,6±0,6	1,68±0,05
Ожирение	1,26±0,07*	923±29*	510±4,3*	46,0±0,6	0,93±0,04*
СД2	1,21±0,03*	752±23*	490±3,9*	40,3±0,57	0,87±0,03*

Таблица 3. Уровень жирных кислот в эритроцитах у больных с ожирением и при СД2 (% от суммы жирных кислот).

Жирная кислота	Контрольная группа	Ожирение	Эритроциты при СД2
НЖК			
C8:0 (Каприловая)	0,118±0,01	0,534±0,191*	0,453±0,178***
C10:0 (Каприновая)	0,057±0,003	0,158±0,029***	0,109±0,021****
C12:0 (Лауриновая)	0,377±0,0234	0,107±0,031****	0,270±0,073*
C14:0 (Миристиновая)	0,314±0,028	0,324±0,086	0,447±0,097*
C15:0 (Пентадекановая)	0,139±0,01	0,296±0,078*	0,375±0,126***
C16:0 (Пальмитиновая)	23,72±0,646	25,566±0,939*	28,735±4,087*
C18:0 (Стеариновая)	15,499±1,268	15,110±0,852	16,596±0,967*
C20:0 (Арахидовая)	0,062±0,013	0,206±0,071*	0,415±0,132****
C24:0 (Лигноцериновая)	0,769±0,06	2,841±0,713***	3,161±1,309**
МННЖК			
C14:1 (Миристолеиновая)	0,071±0,009	0,016±0,005****	0,052±0,013*
C16:1n7 (Пальмитолеиновая)	0,649±0,093	0,359±0,127*	0,384±0,098***
C18:1n9 (Олеиновая)	22,954±0,75	20,377±1,366*	16,56±1,832****
C20:1n9 (цис-11-эйкозеновая)	0,272±0,01	0,270±0,034	0,253±0,097
ω3-ПННЖК			
C18:3n3 (α-линоленовая)	0,196±0,018	0,116±0,053*	0,124±0,045***
C20:5n3 (Эйкозапентаеновая (ЭПК))	1,734±0,148	2,280±0,346*	3,363±1,126*
C22:6n3 (Докозагексаеновая (ДГК))	3,860±0,396	3,398±0,827	2,198±1,058*
ω6-ПННЖК			
C18:2n6 (Линолевая)	14,846±0,658	14,057±4,153	13,715±1,012*
C20:3n6 (дигомо-γ-линоленовая)	0,143±0,014	0,172±0,016*	0,288±0,099*
C20:4n6 (Арахидоновая)	13,957±0,209	13,814±4,296	12,537±0,989*
ΣНЖК	41,0552±0,668	45,1414±1,599**	50,518±4,513***
ΣМННЖК	58,9448±0,668	54,8586±1,599**	49,481±4,513***
ΣНЖК/ΣМННЖК	0,6966±0,019	0,8241±0,0526**	1,036±0,171***
Σω3	5,789±0,533	5,794±1,205	5,685±1,519
Σω6	28,946±0,441	28,043±0,855	26,492±1,647*
Σω7	0,649±0,092	0,359±0,127*	0,384±0,098****
Σω9	23,5256±0,743	20,647±1,358*	16,821±1,79****

Примечание: Достоверность различий с показателями в контроле: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,005$; **** - $p < 0,001$.
Σ - сумма.

НЖК возрастает на 23%, по сравнению с контрольной группой ($p<0,001$). Анализ концентрации отдельных ННЖК показал, что уровень всех фракций МННЖК в группах больных по сравнению с контрольными значениями достоверно снижается, особенно значительно падает уровень пальмитоолеиновой кислоты ($C16:1n7$) – на 41% и олеиновой ($C18:1n9$) кислоты – на 28% по сравнению с контролем ($p<0,001$). Из семейства $\omega 3$ -ПННЖК уровень α -линолевой кислоты при ожирении у пациентов также имеет тенденцию к снижению, однако это снижение особенно значительно при СД2: α -линолевая кислота ($C18:3n3$) снижается на 36,7% и ДГК ($C22:6n3$) – на 43% ($p<0,05$). Как видно из таблицы 3 все изучаемые показатели ПННЖК в эритроцитах достоверно снижаются особенно значительно у больных женщин с СД2 по отношению к контролю. При сравнении данных полученных у тех же групп больных в плазме крови показало (табл. 4), что при СД2 по сравнению с контролем повышается суммарное содержание $\omega 6$ -ПННЖК более чем в 2 раза ($p<0,05$). Возрастание суммарного уровня $\omega 6$ -ПННЖК имеющее место при СД2, сопровождается снижением коэффициента $\omega 3$ ПННЖК/ $\omega 6$ -ПННЖК, что было обусловлено низкой концентрацией α -линоленовой кислоты, а также ЭПК и ДГК (30% и 52% соответственно). Изменения во фракционном составе ЖК у пациентов с ожирением по сравнению с контрольной группой имели такое же направление, как и у больных СД2, но были менее выражены. Отмечались прямые корреляционные взаимосвязи между активностью СОД и α -линоленовой кислотой ($r=+0,53$, $p<0,05$), уровнем ДГК в эритроцитах и ферментативной активностью ГПО ($r=+0,47$, $p<0,05$), что свидетельствует о прямой связи активности ферментов антиоксидантов с уровнем семейства жирных кислот омега-3.

Приведённые результаты свидетельствуют, что в изучаемых параметрах в эритроцитах и плазме крови имеются разнонаправленные изменения, однако, во всех случаях у пациентов с СД2 по сравнению с пациентами с ожирением установлены более выраженные нарушения жирнокислотного состава крови за счёт группы ЖК омега-3 и омега-6.

Также отмечено увеличение коэффициента НЖК/ННЖК. Эти изменения связаны, по-видимому, с тем, что при липолизе в первую очередь мобилизуются ННЖК, которые и окисляются первыми [13, 17]. Можно предположить, что этим объясняется активация процессов перекисного окисления липидов у больных при ожирении и СД2 [1, 3, 18].

Таким образом, у больных СД2 и у пациентов с ожирением отмечается повышение показателей ХС, ТГ, ХС ЛПНП, ХС ЛПОНП, а также КА по сравнению с контрольной группой. Эти изменения позволяют утверждать, что развитие СД2 у женщин так же, как и при ожирении, сопровождается дислипидемией атерогенного характера. При этом у больных с СД2 имеют место более выраженные изменения количественного состава липидов, в том числе жирнокислотного состава крови. Ожирение и СД2 сопровождаются изменением состава свободных и эстерифицированных ЖК крови, что может привести к изменению функциональной активности (в том числе инсулинсвязывающей активности) мембран. Нарастание концентрации свободных радикалов, и снижение активности ферментов антиоксидантной защиты сопровождается нарушением процессов утилизации глюкозы клетками.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

У больных женщин с ожирением, сопровождающимся ИР, так же, как и при СД2, отмечаются качественно однотипные нарушения липидного (жирнокислотного) и углеводного обменов (повышение уровня ОХ, ТГ, ХС ЛПНП, ХС ЛПОНП, постпрандиальной глюкозы и др). Дислипидемия при ожирении и СД2 имеет атерогенный характер. СД2, обусловленный дисбалансом ПОЛ-АОЗ, сопровождается более высокой концентрацией перекисленных липопродуктов, снижением параметров антиоксидантных систем и утилизации глюкозы клетками. Ожирение и СД2 сопровождаются изменением состава свободных и эстерифицированных ЖК плазмы крови, что может привести к изменению функциональной активности мембран клеток, следовательно, и понижению функциональной активности инсулин-зависимых транспортеров

Таблица 4. Уровень жирных кислот в плазме крови у больных с ожирением и СД2, по сравнению с их уровнем у контрольной группы (% от суммы жирных кислот).

Семейство ПНЖК	Жирные кислоты	Контрольная группа	Ожирение	СД2
$\omega 3$ -ПННЖК	20:5 (ЭПК) 22:6 (ДГК)	0,6 \pm 0,12 2,2 \pm 0,8	0,45 \pm 0,07 2,18 \pm 0,09	0,36 \pm 0,03* 1,23 \pm 0,23*
$\omega 6$ -ПННЖК	18:2 (линолевая кислота) 20:3 (дигомо- γ -линоленовая кислота) 20:4 (арахидоновая кислота)	14,0 \pm 3,5 0,3 \pm 0,05 8,3 \pm 1,9	11,98 \pm 0,28 0,88 \pm 0,12 6,14 \pm 0,98	39,3 \pm 4,1* 0,7 \pm 0,2* 5,01 \pm 1,1*
$\Sigma \omega 3$ -ПННЖК		2,9 \pm 0,1	2,73 \pm 0,12	1,5 \pm 0,4*
$\Sigma \omega 6$ -ПННЖК		23,6 \pm 3,1	19,5 \pm 3,4	48,6 \pm 3,2*
$\omega 3$ -ПННЖК / $\omega 6$ -ПННЖК, ед.		0,097	0,14	0,028
Σ НЖК		31,87 \pm 3,01	35,00 \pm 2,05	38,60 \pm 2,20*
Σ ННЖК		68,13 \pm 2,35	65,00 \pm 3,21	61,2 \pm 2,3*
НЖК / ННЖК, ед.		0,46 \pm 0,05	0,54 \pm 0,01	0,63 \pm 0,02*

глюкозы. Полученные результаты исследования свидетельствуют о важной роли ЖК и их метаболитов в патогенезе ожирения и СД2, что необходимо учитывать при разработке и выборе соответствующих профилактических и терапевтических мероприятий, направленных на предотвращении или устранении выявленных нарушений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аметов А.С., Соловьева О.Л. (2011) Пробл. эндокринол., №6, 52-56.
2. Lindren C.M., McCarthy M.I. (2008) Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab., **4**, 156-163.
3. DeFronzo R.A. (2010) Diabetologia, **53**, 1270-1287.
4. Uauy R. (2009) Ann. Nutr. Metab., **54**(Suppl 1), 2-7.
5. Jeppesen C., Schiller K., Schulze M.B. (2013) Curr. Diab. Rep., **13**(2), 279-288.
6. Nyenwe E.A., Jerkins T.W., Umpierrez G.E., Kitabchi A.E. (2011) Metabolism, **60**, 1-23.
7. Dale Abel E. (2010) Heart Metab., **48**, 5-10.
8. Caro F. (1991) J. Clin. Endocrinol. Metab. **73**, 691-695.
9. Микаелян Н.П., Князев Ю.А., Петрухин В.А., Микаелян А.В., Беспалова В.А. (2006) Вестн. РГМУ, **5**(52), 16-20.
10. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. (1983) Лаб. дело, №3, 33-35.
11. Yagi Y., Matsuda M. (1976) Experimentia, **32**(7), 905-906.
12. Микаелян Н.П., Терентьев А.А., Гурина А.Е., Смирнов В.В. (2011) Биомед. химия, **57**, 642-649.
13. Inzucchi S.E., Bergenstal R.M., Buse J.B. et al. (2012) Diabetes Care, **35**, 1364-1379.
14. Микаелян Н.П. (1991) Метаболический статус и инсулинсвязывающая активность клеток крови и печени при экстремальных состояниях. Дисс. д.б.н., Москва
15. Климов А.Н. (1977) Превентивная кардиология, 307-315.
14. Folch J., Lees M., Sloane-Stanley A.G.H. (1957) J. Biol. Chem., **226**, 497-509.
15. Ichihara K., Fukubayashi Y. (2010) J. Lipid Res., **51**, 635-640.
16. Karpe F., Dickmann J.R., Frayn K.N. (2011) Diabetes, **60**, 2441-2449.

Поступила: 20. 12. 2014.

CHANGES OF BLOOD FATTY ACID IN WOMEN WITH OBESITY AND TYPE 2 DIABETES MELLITUS

N.P. Mikaelyan¹, A.A. Terentev¹, K.H. Nguen¹, A.V. Mikaelyan², S.A. Novikova²

¹Pirogov Russian National Research Medical University,

1 Ostrovityanova str. Moscow, 117997 Russia; e-mail: ninmik@yandex.ru

²Moscow Regional SRI Obstetrics and Gynecology, 22-a Pokrovka str., Moscow, 101000 Russia

Obesity and type 2 diabetes (DM2) in women are accompanied by atherogenic dyslipidemia, with the activation of lipid peroxidation (LPO), as well as disturbances in the antioxidant defense system (ADS). DM2 due to imbalance in LPO-ADS is accompanied by a high concentration of LPO products, decreased parameters of antioxidant systems and impaired utilization of glucose by cells. The results obtained in this study suggest an important role of fatty acids and their metabolites in the pathogenesis of obesity and DM2, which should be taken into consideration during design and selection of appropriate preventive and therapeutic measures aimed at prevention or elimination of the violations.

Key words: fatty acids, diabetes mellitus, obesity, insulin resistance, glucose utilization, oxidative stress