

ОСОБЕННОСТИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ С ЖИРОВЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИ

Булатова И.А.¹, Щёктова А.П.¹, Карлышева К.Н.²

¹ГБОУ ВПО Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е.А. Вагнера Минздрава России, Пермь, Россия (614090, г. Пермь, ул. Петropавловская, 26), e-mail: psmalf@ru

²ГАУЗ ПК Городская клиническая больница № 3 г. Перми (614000, ул. Серпуховская, 11-А)

Цель исследования: изучить концентрацию малонового диальдегида (МДА) и активность ферментативных антиоксидантов – супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), глутатионпероксидазы (ГПО) и глутатионредуктазы (ГЛР) в сыворотке крови больных метаболическим синдромом (МС) с жировой болезнью печени и оценить взаимосвязь этих параметров с функциональными печеночными пробами и уровнем лептина. **Материал и методы.** Обследовано 30 больных МС с жировой болезнью печени, группа контроля – 15 практически здоровых лиц. В сыворотке крови оценивали концентрацию лептина методом иммуноферментного анализа, уровень МДА и активность антиоксидантов фотометрическим методом. **Результаты.** У больных МС выявлено увеличение концентрации лептина ($p < 0,001$), повышение уровня МДА в 3,6 раз ($p < 0,001$) и снижение активности антиоксидантов: СОД – на 56 %, КАТ на 33 %, ГПО в 4 раза, ГЛР в 2,2 раза. Обнаружены прямые взаимосвязи уровня МДА и обратные корреляции СОД и ГПО с маркерами цитолиза. Концентрация лептина демонстрировала прямую корреляцию с МДА и обратную связь с активностью ГПО. Снижение показателей КАТ и ГПО было взаимосвязано с усугублением атерогенных дислипидемий. Выявлена связь уменьшения активности СОД и нарастания гликемии у больных с МС ($p = 0,046$). **Заключение.** Окислительный стресс у больных МС с жировым поражением печени проявляется повышением содержания МДА и снижением активности ферментов антиокислительной системы. Эти изменения тесно связаны с тяжестью поражения печени и нарастанием изменений лабораторных маркеров МС.

Ключевые слова: малоновый диальдегид, каталаза, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, лептин, цитолиз, метаболический синдром, жировая болезнь.

FEATURES OF OXIDATIVE STRESS IN METABOLIC SYNDROME WITH FATTY LIVER DISEASE

Bulatova I.A.¹, Schekotova A.P.¹, Karlysheva K.N.²

¹SBEI HPE Perm State Medical Academy named after ac. E.. Wagner, Health Ministry of Russia, Russia, Perm, (614090, Perm, Petropavlovskaya street, 26), psmalf@ru.

²SAHI City Clinical Hospital № 3 Perm (614000, Serpukhov street, 11-A)

Aim of the study was to investigate the concentration of malondialdehyde (MDA) and the activity of enzyme antioxidants – superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPO) and glutathione reductase (GLR) in the serum of patients with metabolic syndrome (MS) and fatty liver disease and to assess the relationship of these parameters with functional liver tests and level of leptin. **Material and methods.** 30 patients with MS and fatty liver disease were examined, the control group consisted of 15 healthy subjects. The concentration of leptin means of ELISA method, level of MDA and activity of antioxidants via photometric method were evaluated in serum. **Results.** Patients with MS showed of leptin concentration ($p < 0.001$), an increase of MDA level was 3.6-fold ($p < 0.001$) and decrease in the activity antioxidants in comparison with the control group: SOD on 56 % , CAT on 33%, GPO in 4 times, GLR in 2.2 times. A direct association of the level of MDA and inverse correlations SOD and GPO with markers of cytolysis are detected. The concentration of leptin showed a direct correlation with MDA and inverse relationship with GPO activity. Decrease of CAT and GPO activity was correlated with worsening of atherogenic dyslipidemia. The relationship of depression in SOD activity and the rise of blood glucose in patients with MS were determined ($p = 0.046$). **Conclusion.** Oxidative stress in patients with MS and fatty liver disease is manifested by increased MDA content and by a decrease in the activity of antioxidant enzyme system. These changes are closely associated with the severity of liver damage and the growth of changes in laboratory markers of MS.

Keywords: malondialdehyde, catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, leptin, cytolysis, metabolic syndrome, fatty liver disease.

Общепризнана связь метаболического синдрома (МС) и неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП), хотя до сих пор не ясно, что является причиной, а что следствием [8]. У больных МС риск развития жирового поражения печени возрастает в 4,6 раз. В различных странах жировой болезнью печени страдает от 3 до 30 % населения. Среди людей с избыточной массой тела частота выявления различных форм жирового поражения печени составляет 67 %, при ожирении – 94 %, у лиц с нормальной массой тела эта патология встречается в 24,5 % случаев. При этом у 75 % больных с ожирением имеется стеатоз, у 20 % – стеатогепатит [1, 7, 9]. Стеатоз связан с высокой вероятностью трансформации в неалкогольный стеатогепатит, который сопровождается повышением активности трансаминаз и воспалительно-некротическими изменениями в печени [1, 2]. Практически у всех больных с МС, как и при ожирении, первично выявляется стеатоз печени, у половины – стеатогепатит и у 19 % – цирроз печени [12]. При этом в США зарегистрировано около 600 тысяч больных циррозом печени в исходе НАЖБП [10]. В развитии жирового поражения печени участвуют цитокины, адипокины, продукты свободнорадикального окисления [11]. В условиях накопления свободных жирных кислот в гепатоцитах снижается активность процессов митохондриального окисления, что создает дефицит АТФ в клетках, а повышение интенсивности микросомального окисления сопровождается накоплением активных форм кислорода и активацией перекисного окисления липидов (ПОЛ). Это способствует развитию воспалительной реакции, некрозу гепатоцитов и в итоге приводит к фиброзу вплоть до стадии цирроза печени [5]. В патогенезе МС активно изучается участие лептина, показана положительная корреляция между продукцией лептина, гиперинсулинемией и инсулинрезистентностью даже вне зависимости от массы тела [14]. В развитии поражения печени при МС лептин также играет важную роль: он активирует звездчатые клетки печени, способствуя выработке соединительной ткани. Активация лептиновых рецепторов в звездчатых клетках приводит также к усиленной выработке сосудистого эндотелиального фактора роста, что ведет к неоангиогенезу и сосудистому ремоделированию печени [6].

При МС закономерно выявляется повышение уровня малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови [4]. По активности ферментов антиоксидантной системы данные противоречивы. Возможно, это объясняется многообразием применяемых методических подходов к оценке этой системы, многокомпонентностью ее структуры, а также гетерогенностью обследованных. В некоторых исследованиях при МС отмечено снижение активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КАТ) в эритроцитах больных при увеличении активности глутатионпероксидазы (ГПО) и глутатионредуктазы (ГЛР), что свидетельствует о нарушении регуляции выработки антиоксидантных ферментов [3]. Поэтому представляет интерес комплексное исследование процессов свободнорадикального

окисления и состояния ферментативных антиоксидантов при МС с жировым поражением печени для уточнения их роли в патогенезе заболевания.

Цель исследования – изучить выраженность ПОЛ по уровню МДА и активность ферментативных антиоксидантов – СОД, КАТ, ГПО и ГЛР в сыворотке крови больных МС с признаками НАЖБП и оценить взаимосвязь этих параметров с функциональными печеночными пробами, гликемией, параметрами обмена липидов и уровнем лептина.

Материал и методы исследования. Обследовано 30 пациентов с МС и жировым поражением печени (10 мужчин и 20 женщин), средний возраст которых составил $44,5 \pm 11,1$ года. Для формирования данной группы были использованы критерии, разработанные в рамках проводимой экспертами Национальной образовательной программы США Adult Treatment Panel 111 (АТР 111) и предложенные к использованию международной диабетической федерацией (International Diabetes Federation, 2005) [13]. Аналогичная по половому и возрастному составу контрольная группа включала 15 практически здоровых лиц, не имеющих заболеваний гепатобилиарной системы и признаков метаболических нарушений. Исследование уровня аланиновой и аспарагиновой трансаминаз (АЛТ, АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ), глюкозы и липидного профиля, включающего общий холестерин (ОХ), липопротеиды высокой плотности (ЛПВП) и липопротеиды низкой плотности (ЛПНП) проводилось на автоматическом биохимическом анализаторе «Architect-4000» (США). Липопротеиды очень низкой плотности (ЛПОНП) рассчитывали по формуле: $TG/2,2$, коэффициент атерогенности по формуле – $(ХС - ЛПВП)/ЛПВП$. Концентрацию лептина в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа с помощью набора «DSL» (США) на аппарате «Stat-Fax-2100» (США). Концентрацию МДА в сыворотке крови определяли по методу Владимиров Ю.В., Арчакова А.В. (1972). Активность ферментов АОС исследовали фотометрически: СОД в сыворотке крови изучали методом Misra H. и Fridovich J. (1983), КАТ – по Корольку М.А. (1988), ГЛР – методом Manso и Wrob Leveski (1958), активность ГПО определяли по методике J.R. Prohaska (1986). Наличие жирового поражения печени оценивали с помощью УЗИ и компьютерной томографии. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы Statistica 6.0 (StatSoft). Проверку распределения результатов проводили по критерию Колмогорова – Смирнова. Для описания полученных количественных признаков данные представляли в виде среднего арифметического (M) \pm одно стандартное отклонение (SD), минимума (min) и максимума (max). Так как распределение показателей отклонялось от нормальных, для оценки значимости различий независимых групп использовали непараметрический критерий Манна – Уитни. Количественная оценка линейной связи между двумя независимыми величинами

проводилась с использованием коэффициента ранговой корреляции по Спирмену (r). Различия между группами и значимость взаимосвязей показателей считались достоверными при значении для $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Основные жалобы при опросе у 80 % больных МС с НАЖБП были на тяжесть в правом подреберье и периодически возникающие явления диспепсии. При оценке объективного статуса было выявлено увеличение размеров печени на 2–3 см ниже уровня реберной дуги, индекс массы тела составил $36,8 \pm 6,25$, а объем талии – $109,1 \pm 15,5$ см, что свидетельствует о наличии у больных признаков абдоминального ожирения. УЗИ было проведено всем пациентам, а компьютерная томография сделана 20 % больным при затруднении проведения УЗИ вследствие большого количества жировой клетчатки в области живота. При УЗИ у всех пациентов было найдено повышение эхогенности печени, преимущественно диффузного характера. С помощью компьютерной томографии также был выявлен жировой гепатоз по снижению коэффициента поглощения в области печени. При оценке биохимических показателей крови у больных с МС выявлено повышение активности трансаминаз в 40 % случаев, а также уровня ЩФ у 50 % и ГТП у 32 % обследованных с достоверным отличием показателей от группы контроля (табл. 1). Эти результаты свидетельствуют о наличии у половины больных МС с НАЖБП лабораторных синдромов цитолиза и холестаза, что подтверждает развитие стеатогепатита и сопоставимо с литературными данными [12]. Концентрация глюкозы сыворотки крови натощак была повышена у 50 % пациентов в среднем в 1,3 раза по сравнению с группой практически здоровых лиц, что свидетельствует о нарушении углеводного обмена, в том числе у 3 больных с МС был выявлен сахарный диабет.

Таблица 1

Исследуемые показатели в сыворотке крови больных МС с НАЖБП

Показатель, единица измерения	M ± SD; [Min- и Max]		
	Группа контроля	Пациенты с МС и НАЖБП	p
АЛТ, Е/л	$16,7 \pm 7,45$; [5–40]	$38,26 \pm 23,1$; [7–91]	<0,001
АСТ, Е/л	$21,9 \pm 6,9$; [10–42]	$29,9 \pm 15,9$; [10–90]	<0,001
ГТП, Е/л	$17,9 \pm 9,35$; [7–45]	$42,9 \pm 26,5$; [15–143]	<0,001
ЩФ, Е/л	$59,0 \pm 15,2$; [30,0–96,0]	$81,16 \pm 57,13$; [35,0–316,0]	0,01
Глюкоза, ммоль/л	$4,6 \pm 0,75$; [3,09–5,6]	$6,42 \pm 3,32$; [4,6–20,6]	<0,001
ОХ, ммоль/л	$4,47 \pm 0,88$; [3,0–5,9]	$6,0 \pm 1,05$; [4,4–8,4]	<0,001
ТГ, ммоль/л	$0,9 \pm 0,39$; [0,24–1,82]	$2,7 \pm 1,2$; [1,5–6,1]	<0,001
ЛПВП, ммоль/л	$1,54 \pm 0,26$; [0,82–2,09]	$1,16 \pm 0,15$; [0,79–1,41]	<0,001
ЛПНП, ммоль/л	$2,77 \pm 0,73$; [1,2–4,7]	$3,55 \pm 1,1$; [1,5–5,6]	0,001
ЛПОНП, ммоль/л	$0,45 \pm 0,23$; [0,19–1,0]	$1,02 \pm 0,45$; [0,44–2,1]	<0,001
Коэф. атерогенности	$1,74 \pm 0,42$; [1,1–3,0]	$3,35 \pm 0,88$; [1,76–6,0]	<0,001

Лептин, нг/мл	2,34 ± 1,7; [0,4–5,4]	10,9 ± 4,9; [3,8–27,0]	<0,001
МДА, мкмоль/л	2,1 ± 1,04; [1–4,4]	6,4 ± 2,41; [1,4–10]	<0,001
КАТ, мкат/л	25,85(22,3–29,5);[15–43,2]	8,9 ± 4,74; [2,4–19,3]	<0,001
СОД, Е/л	26,6 ± 6,75;[17,9–47,3]	12,26 ± 7,14; [4,7–25,5]	<0,001
ГПО, мкмоль/л/мин	24,9 ± 6,62; [16,5–46,1]	6,26 ± 3,64; [1,8–15,7]	<0,001
ГЛР, мкмоль/л/мин	10,05 ± 3,74; [4-19]	4,52 ± 2,73; [1,09–11,7]	<0,001

р – достоверность отличий в сравниваемых группах.

Исследование показателей липидного обмена продемонстрировало значительное увеличение уровня ОХ у 80 % больных по сравнению с группой контроля. Повышение содержания ЛПНП отмечалось у 67 % обследованных с МС и достоверно отличалось от группы практически здоровых лиц. Напротив, содержание ЛПВП было снижено у 67 % пациентов в 1,3 раза по сравнению с контрольной группой. Коэффициент атерогенности у пациентов с МС равнялся в среднем 3,3 и тем самым превышал показатель у здоровых лиц в 1,9 раз. Уровень ТГ оказался повышен у 73 % больных в 2,7 раз по сравнению с группой контроля. Учитывая достоверное увеличение средних значений концентраций ТГ, ОХ, ЛПНП при снижении ЛПВП, можно говорить о наличии у всех обследованных больных атерогенных дислипидемий. По критериям АТР 111 уровни ТГ и ЛПВП, а именно отношение ТГ/ЛПВП можно использовать для косвенной оценки инсулинрезистентности, которая лежит в основе развития МС. Нашими исследованиями было показано, что у практически здоровых лиц отношение ТГ/ЛПВП равнялось $0,58 \pm 0,16$, в то время как у больных с МС было в 4 раза выше и составляло $2,32 \pm 0,69$. Полученные данные свидетельствуют о наличии у обследованных лиц с МС инсулинрезистентности. Уровень лептина в сыворотке крови больных с МС и жировым поражением печени был значимо выше, чем у здоровых, причем его средняя концентрация в 5 раз превышала показатель в группе контроля, что косвенно свидетельствует об инсулинрезистентности и стимуляции неангиогенеза и фиброза в ткани печени [6]. У больных с МС и жировым поражением печени была отмечена активизация ПОЛ, которая проявлялась в достоверном увеличении концентрации МДА в 3,6 раз по сравнению с группой контроля (см. табл. 1). При исследовании параметров антиоксидантной защиты выявлено достоверное уменьшение активности всех ферментов по сравнению с практически здоровыми лицами: активность СОД в сыворотке крови больных МС была снижена на 56 %, КАТ на 33 %, активность ГПО снизилась почти в 4 раз, а ГЛР в 2,2 раз. Полученные результаты указывают на снижение функциональной способности антиоксидантной системы (АОС) при жировом поражении печени на фоне МС. Угнетение активности антиоксидантных ферментов явилось одной из причин развития у больных с МС окислительного стресса, поскольку данные ферменты ответственны за удаление первичных активных форм кислорода – супероксидного анион-радикала и перекиси водорода.

При проведении корреляционного анализа выявлены значимые взаимосвязи между концентрацией МДА, ферментами АОС, уровнем лептина и биохимическими тестами (табл. 2). Возрастание интенсивности ПОЛ, оцененной по концентрации МДА, приводит к снижению активности ГПО ($r=-0,49$, $p=0,01$) и КАТ ($r=-0,31$, $p=0,04$). Это указывает на прогрессирующее истощение АОС на фоне оксидантного стресса при МС.

Таблица 2

Взаимосвязи исследуемых тестов у больных МС с НАЖБП

Показатели	r	p
МДА и АЛТ	0,42	0,04
МДА и ЛПОНП	0,45	0,04
МДА и ГПО	-0,49	0,01
МДА и КАТ	-0,31	0,04
МДА и лептин	0,45	0,03
КАТ и ЛПВП	0,34	0,049
ГПО и АЛТ	-0,5	0,03
ГПО и АСТ	-0,38	0,036
ГПО и ЛПВП	0,56	0,01
ГПО и ЛПНП	-0,33	0,04
ГПО и лептин	-0,44	0,01
СОД и АЛТ	-0,46	0,04
СОД и АСТ	-0,54	0,004
СОД и ГТП	-0,34	0,044
СОД и глюкоза	-0,50	0,046

r – коэффициент взаимосвязи показателей; p – значимость взаимосвязей.

Выявленные прямые достоверные взаимосвязи МДА с АЛТ, ЛПОНП и лептином указывают на параллелизм активации ПОЛ и тяжести синдрома цитолиза, дислипидемии и увеличением жировой ткани в печени при МС. Уменьшение активности КАТ взаимосвязано со снижением концентрации ЛПВП, что ведет к атерогенным сдвигам в обмене липидов. Обратные корреляции уровня ГПО с трансаминазами указывают на угнетение активности этого фермента при нарастании цитолиза гепатоцитов, то есть тяжести поражения печени при МС. Снижение активности ГПО также достоверно связано с атерогенными сдвигами в сыворотке крови: снижением ЛПВП и повышением ЛПНП. Роль угнетения ГПО в прогрессировании нарушений липидного обмена подтверждается и обратной корреляцией с лептином ($r=-0,44$, $p=0,01$). Активность СОД демонстрирует достоверные обратные взаимосвязи с трансаминазами, ГТП и глюкозой, то есть снижение уровня данного фермента отражает нарастание цитолиза гепатоцитов, начальные проявления холестаза и нарушение углеводного обмена на фоне депрессии АОС при МС. Взаимосвязей ГЛР с МДА, ферментами АОС, функциональными пробами печени, метаболическими нарушениями выявлено не было. Таким образом, окислительный стресс у больных МС с жировым

поражением печени проявляется повышением содержания МДА и сопровождается снижением активности ферментов антиокислительной системы. Эти изменения тесно связаны с тяжестью поражения печени и нарастанием изменений лабораторных маркеров МС.

Выводы

1. У больных МС с признаками жирового поражения печени имеет место активация процессов ПОЛ в сыворотке крови на фоне снижения активности антиоксидантных ферментов.
2. Возрастание уровня МДА коррелирует с выраженностью цитолиза гепатоцитов и дислипидемией при МС.
3. Депрессия компонентов АОС у больных с МС взаимосвязана с выраженностью цитолиза, нарушениями липидного и углеводного обменов.
4. Повышение уровня лептина при МС с жировым поражением печени взаимосвязано с активацией ПОЛ и угнетением активности ГПО.

Список литературы

1. Ивашкин В.Т., Драпкина О.М., Шульпекова Ю.О. Диагностика и лечение неалкогольной жировой болезни печени // Российские медицинские вести. – 2009. – № 3. – С. 70–82.
2. Подымова С.Д. Жировой гепатоз. Неалкогольный стеатогепатит (эволюция представлений о клинико-морфологических особенностях, прогнозе, лечении) // Тер. арх. – 2006. – № 4. – С. 32-38.
3. Радаева М.В., Ведунова М.В., Конторщиков К.Н. Состояние антиоксидантной и детоксицирующих систем при коррекции метаболических нарушений малыми дозами озона // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. – 2008. – № 2. – С.100-102.
4. Цыганкова О.В. Патогенетические этапы формирования метаболического синдрома у мужчин: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Новосибирск, 2004. – 25 с.
5. Adams L.A., Angulo P., Lindor K.D. Nonalcoholic fatty liver disease // CMAJ. – 2005. – Vol. 29. – P. 899-905.
6. Aleffi S., Petrai I., Bertolani C. Upregulation of proinflammatory and proangiogenic cytokines by leptin in human hepatic stellate cells // Hepatology. – 2005. – Vol. 42. – P. 1339-1348.
7. Bellentani S., Bedogni G., Miglioli L., Tiribelli C. The epidemiology of fatty liver // Eur J Gastroenterol Hepatol. – 2004. – Vol. 16(11). – P. 1087–1093.

8. Chen S.H., He F., Zhou H.L. et al. Relationship between nonalcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome // *J Dig Dis.* – 2011. – Vol. 12(2). – P. 125-130.
9. Clark J.M. The epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease in adults // *J Clin Gastroenterol.* – 2006. – Vol. 40. – P. 5–10.
10. Erickson S.K. Nonalcoholic fatty liver disease // *J Lipid Res.* – 2009. - Vol. 50. – P. 412-416.
11. Fabbrini E., Sullivan S., Klein S. Ожирение и неалкогольная жировая болезнь печени: биохимические, метаболические и клинические последствия // *Hepatology.* – 2010. – Vol. 51. – P. 679-689.
12. Falck-Ytter Y., Younossi Z.M., Marchesini G. Clinical features and natural history of nonalcoholic steatosis syndromes // *Semin Liver Dis.* – 2001. – Vol. 21(1). – P. 17–26.
13. Paul L. Huang. A comprehensive definition for metabolic syndrome // *Dis Model Mech.* – 2009. – Vol. 2. – P. 231–237.
14. Yun J.E., Kimm H., Jee S.H. Serum leptin is associated with metabolic syndrome in obese and nonobese Korean populations // *Metabolism.* – 2010. – Vol. 59(3). – P. 424-429.

Рецензенты:

Устинова О.Ю., д.м.н., профессор, заместитель директора по лечебной работе ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь.

Юшкова Т.А., д.м.н., профессор кафедры фармакологии ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия», г. Пермь.