

УДК: 616.39-053.6:577.15+612.349.8

Возрастные особенности проявления оксидативного стресса у подростков разного возраста с ожирением на фоне инсулинорезистентности и без нее
Д.К.Кулешова, В.В.Давыдов

*ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков НАМН Украины» (Харьков, Украина)
darya.kuleshova@gmail.com*

Исследования показали, что нейроэндокринное ожирение у подростков сопровождается формированием оксидативного стресса. В большей мере он выражен в раннем, чем в позднем пубертатном возрасте. Сопутствующая ожирению инсулинорезистентность увеличивает проявления оксидативного стресса в организме подростков в позднем пубертатном возрасте, что способствует отягощению прогноза данного заболевания. Понижение мощности общей антиоксидантной системы организма выступает в качестве одной из причин усиления проявлений оксидативного стресса в организме подростков позднего пубертатного возраста с нейроэндокринным ожирением, осложненным инсулинорезистентностью.

Ключевые слова: *подростки, пубертат, нейроэндокринное ожирение, инсулинорезистентность, оксидативный стресс.*

Вікові особливості прояву оксидативного стресу у підлітків різного віку з ожирінням на фоні інсулінорезистентності і без неї
Д.К.Кулешова, В.В.Давидов

Дослідження показали, що нейроендокринне ожиріння у підлітків супроводжується формуванням оксидативного стресу. В більшій мірі він виражений у ранньому, ніж пізньому пубертатному віці. Супутня ожирінню інсулінорезистентність збільшує прояви оксидативного стресу в організмі підлітків в пізньому пубертатному віці, що спричиняє обтяжування прогнозу даного захворювання. Зниження потужності загальної антиоксидантної системи організму виступає у якості однієї з причин підсилення проявів оксидативного стресу в організмі підлітків пізнього пубертатного віку з нейроендокринним ожирінням, ускладненим інсулінорезистентністю.

Ключові слова: *підлітки, пубертат, нейроендокринне ожиріння, інсулінорезистентність, оксидативний стрес.*

Age-related features of oxidative stress manifestation in adolescents with obesity in the presence of insulin resistance and without it
D.K.Kuleshova, V.V.Davydov

The study was designed to show that neuroendocrine obesity in adolescents is associated with oxidative stress formation, which is to a great extent more expressive in early than in late puberty. Insulin resistance in conjunction with obesity increases manifestations of oxidative stress in the organism of adolescents in the late puberty, which contributes to complication of the disease prognosis. Decreased total antioxidant capacity of the organism acts as one of the causes of increase of oxidative stress manifestations in late puberty adolescents with neuroendocrine obesity, complicated by insulin resistance.

Key words: *adolescents, puberty, neuroendocrine obesity, insulin resistance, oxidative stress.*

Введение

Результаты многочисленных исследований, выполненные у взрослых пациентов, свидетельствуют о том, что развитие нейроэндокринного ожирения сопровождается формированием в организме оксидативного стресса (Bondia-Pons et al., 2012; Xu et al., 2012; Li et al., 2010). Следствием его появления становится нарушение обменных процессов, которое выступает в роли важного неспецифического звена патогенеза данного заболевания (Uchida, 2000; Давыдов и др., 2012). Меньше известно об особенностях формирования оксидативного стресса при развитии ожирения в подростковом возрасте. Отсутствуют также и сведения о состоянии показателей

свободнорадикального окисления в организме у подростков с ожирением на фоне инсулинорезистентности. Выяснение этого вопроса приобретает особую актуальность в связи с широким распространением инсулинорезистентности при ожирении на этапе полового созревания (Хижняк, 2007; Сенаторова, Чайченко, 2011). Учитывая вышеизложенное, в настоящей работе было предпринято изучение содержания продуктов свободнорадикального окисления в крови подростков разного возраста с нейроэндокринным ожирением, сопровождающимся инсулинорезистентностью, и без нее.

Объекты и методы исследований

Исследования выполнены у 80 мальчиков-подростков раннего (13–15 лет) и позднего (16–18 лет) пубертатного возраста. Каждая возрастная группа обследованных, в свою очередь, делилась на 3 подгруппы: 1 – здоровые (без соматической патологии, с нормальной массой тела), 2 – подростки с нейроэндокринным ожирением без инсулинорезистентности и 3 – подростки с нейроэндокринным ожирением и сопутствующей инсулинорезистентностью. Обследуемые 2 и 3 групп имели I и II степень ожирения.

Инсулинорезистентность выявляли путем оценки величины индекса НОМА (Будрейко та ін., 2011). Содержание инсулина в крови измеряли радиоиммунологическим методом с помощью наборов Insulin(e) IRMAKIT, Beckman Coulter, Чехия. Концентрацию глюкозы в крови определяли глюкозооксидазным методом с использованием наборов Glucosapil и прибора Super GL, Германия.

У всех обследуемых измеряли уровень суточной экскреции мелатонина с мочой (Давыдов и др., 2008).

В сыворотке крови исследовали концентрацию веществ, дающих положительную реакцию с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК-реактивных веществ) (Esterbauer, Cheeseman, 1990), шиффовых оснований (Rice-Evans et al., 1991), диеновых конъюгатов (Стальная, 1977) и карбонилированных белков по реакции с 2,4-динитрофенилгидразином (Дубинина, 2000).

Помимо этого, в сыворотке крови проводили измерение скорости индуцированного восстановленным железом перекисного окисления липидов. С этой целью 0,2 мл сыворотки смешивали с 3,8 мл 0,05 М калий-фосфатного буфера, pH 7,4, и 0,25 мл 0,001 М раствора $KMnO_4$. Реакционную смесь интенсивно перемешивали и инкубировали в течение 10 минут при 25°C. После этого из нее отбирали пробу объемом 0,25 мл, которую переносили в стеклянную центрифужную пробирку, содержащую 0,5 мл 20% трихлоруксусной кислоты (проба 1). В исходную реакционную смесь вносили 0,25 мл 0,01 М $FeSO_4$, интенсивно перемешивали и инкубировали в течение 10 минут при 25°C. После этого из нее вновь отбирали пробу объемом 0,25 мл, которую переносили в следующую центрифужную пробирку, содержащую 0,5 мл 20% трихлоруксусной кислоты (проба 2). В обе пробирки, содержащие пробы реакционной смеси и трихлоруксусную кислоту, вносили 0,25 мл 1 М соляной кислоты и 0,5 мл 0,7% 2-тиобарбитуровой кислоты, интенсивно перемешивали и помещали на 10 минут в кипящую водяную баню. После этого их охлаждали и центрифугировали в течение 15 минут при 2500 об/мин. Надосадочную жидкость осторожно декантировали и измеряли ее оптическую плотность на спектрофотометре СФ-46 при 532 нм. Результаты измерений использовали для расчета содержания ТБК-реактивных веществ в пробах, с учетом коэффициента молярной экстинкции малонового диальдегида (Esterbauer, Cheeseman, 1990). Скорость индуцированного перекисного окисления липидов рассчитывали по разности содержания ТБК-реактивных веществ во 2 и 1 пробах и выражали в $nmоль/л \cdot мин$.

Полученные данные подвергали статистической обработке с использованием непараметрического метода Wilcoxon-Mann-Whitney.

Результаты и обсуждение

Проведенные исследования показали, что у подростков 13–15 лет с ожирением в сыворотке крови увеличивается содержание диеновых конъюгатов и ТБК-реактивных веществ на 330% и 57% соответственно по сравнению с их величиной у здоровых сверстников (табл. 1). В то же время концентрация шиффовых оснований и карбонилированных белков у них остается на уровне здоровых подростков этой возрастной группы.

У подростков 16–18 лет с неосложненным ожирением имеет место увеличение содержания диеновых конъюгатов в крови на 151% по сравнению с его величиной у здоровых сверстников. Уровень же ТБК-реактивных веществ и шиффовых оснований у них не отличается от такового у

здоровых подростков данной возрастной группы. При этом концентрация карбонилированных белков в крови 16–18-летних обследуемых с ожирением понижается на 53% по сравнению с ее величиной у здоровых сверстников.

Таблица 1.
Содержание продуктов свободнорадикального окисления в крови подростков разного возраста с неосложненным нейроэндокринным ожирением (Me ± Se; n)

Возраст	13–15 лет		16–18 лет	
Группа обследуемых	1	2	1	2
Диеновые конъюгаты, мкмоль/л сыворотки	8,42 ± 3,5 4	36,2 ± 7* 5	14,2 ± 3,7 5	37,0 ± 9,4* 6
Шиффовы основания, мкмоль/л сыворотки	291,5 ± 23 4	306,2 ± 24,6 7	333,6 ± 20 7	306,3 ± 24,6 7
Карбонилированные белки, нмоль/л сыворотки	9,6 ± 1,43 6	6,58 ± 4,15 11	9,7 ± 2,71 8	4,6 ± 0,86* 13
ТБК+-реактивные вещества, нмоль МДА/л сыворотки	0,68 ± 0,24 10	1,12 ± 0,24* 13	0,86 ± 0,28 11	0,99 ± 0,25 13

Примечания: * – $P < 0,05$ к 1 группе.

Полученные данные свидетельствуют о том, что в организме подростков с ожирением возникает оксидативный стресс, проявления которого имеют зависимый от возраста характер. В большей мере они выражены в раннем, чем в позднем пубертатном возрасте. Заслуживает внимания тот факт, что увеличение содержания отдельных продуктов свободнорадикального окисления не сопровождается у подростков обеих исследованных возрастных групп существенным изменением скорости индуцированного ПОЛ в крови (рис. 1). Он свидетельствует о поддержании исходно высокого уровня антиоксидантной активности крови на этапе полового созревания.

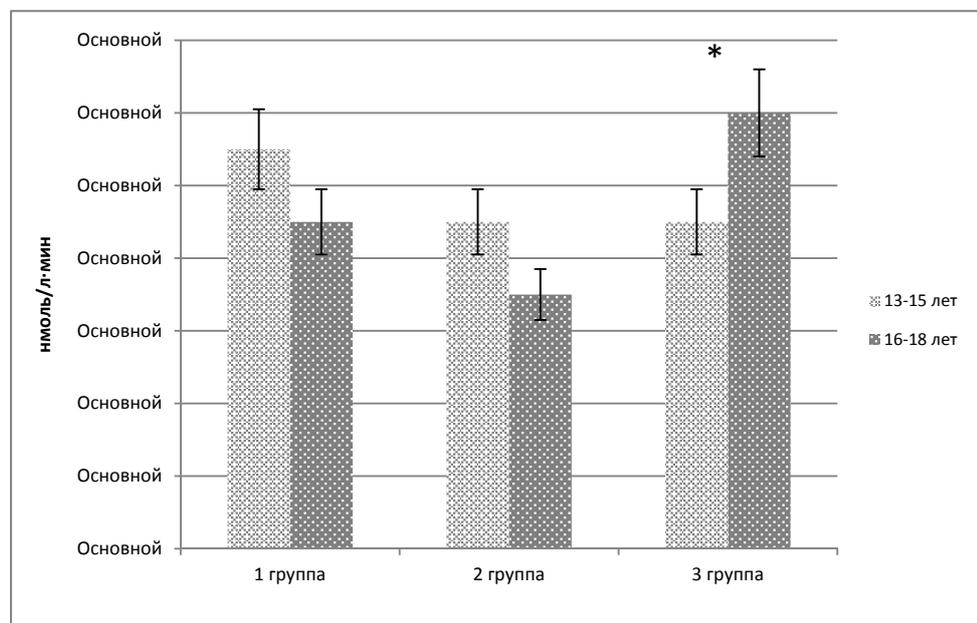


Рис. 1. Скорость индуцированного ПОЛ в сыворотке в крови у подростков разного возраста с нейроэндокринным ожирением на фоне инсулинорезистентности и без нее

Примечания: * – $P < 0,05$ к 2 группе 16–18 лет.

Учитывая это, можно предположить, что в основе формирования оксидативного стресса при ожирении лежит повышение скорости процессов свободнорадикального окисления в организме. Причинами подобного сдвига могут быть увеличение содержания в крови свободных жирных кислот (Boden, 2001), как субстратов для перекисного окисления липидов, а также повышение концентрации прооксидантных метаболитов, к числу которых относятся катехоламины (Joshi et al., 2006).

При ожирении на фоне инсулинорезистентности в организме подростков появляются возрастные особенности в проявлении оксидативного стресса. Как следует из результатов, представленных в табл. 2, у обследуемых 13–15-летнего возраста с ожирением, осложненным инсулинорезистентностью, повышается содержание в крови диеновых конъюгатов и ТБК-реактивных веществ соответственно на 375% и 57% по сравнению с их величиной у здоровых подростков этой возрастной группы. При этом можно заметить, что величина данных показателей не отличается у них от таковой у подростков 13–15-летнего возраста с неосложненным ожирением.

Таблица 2.

Содержание продуктов свободнорадикального окисления в крови подростков разного возраста с нейроэндокринным ожирением на фоне инсулинорезистентности (Me ± Se; n)

Возраст	13–15 лет		16–18 лет	
	2	3	2	3
Диеновые конъюгаты, мкмоль/л сыворотки	36,2 ± 7 5	40,0 ± 8,2* 5	37,0 ± 9,4 6	44,4 ± 6,3* 7
Шиффовы основания, мкмоль/л сыворотки	306,2 ± 24,6 7	327,5 ± 60,0 6	306,3 ± 24,6 7	388,0 ± 70* 7**
Карбонилированные белки, нмоль/л сыворотки	6,58 ± 4,15 11	8,1 ± 3,57 8	4,6 ± 0,86 13	5,0 ± 1,29* 12
ТБК+-реактивные вещества, нмоль МДА/л сыворотки	1,12 ± 0,24 13	1,05 ± 0,24* 12	0,99 ± 0,25 13	1,18 ± 0,5 15

Примечания: * – $P < 0,05$ к 1 группе (см. табл. 1);

** – $P < 0,05$ к 2 группе 16–18 лет.

У обследуемых 16–18 лет с ожирением, осложненным инсулинорезистентностью, выявляется повышение содержания диеновых конъюгатов и шиффовых оснований в сыворотке крови на 213% и 22% соответственно по сравнению с его величиной у здоровых подростков данной возрастной группы. При этом уровень карбонилированных белков у них понижается на 49% по сравнению с таковым у здоровых сверстников. Акцентируя внимание на появление всех этих сдвигов, следует обратить внимание на то, что содержание диеновых конъюгатов, ТБК-реактивных веществ и карбонилированных белков у обследуемых 16–18 лет с ожирением, осложненным инсулинорезистентностью, не отличается от их величины у сверстников с неосложненным ожирением. В то же время концентрация шиффовых оснований у них в крови становится на 33% выше, чем у 16–18-летних подростков с ожирением без инсулинорезистентности.

Обнаруженные сдвиги в содержании продуктов свободнорадикального окисления белков и липидов в крови у обеих возрастных групп подростков с ожирением на фоне инсулинорезистентности не сопровождаются изменением интенсивности индуцированного ПОЛ в крови по сравнению с его величиной у здоровых сверстников (рис. 1). Вместе с тем, скорость индуцированного ПОЛ у 16–18-летних подростков данной группы становится на 71% выше, чем у сверстников с неосложненным ожирением.

Анализ полученных результатов указывает на то, что инсулинорезистентность не вносит существенных корректив в проявление оксидативного стресса при ожирении у подростков 13–15-летнего возраста. Однако в 16–18-летнем возрасте ситуация изменяется. Появление

инсулинорезистентности способствует усилению проявлений оксидативного стресса при ожирении у подростков данной возрастной группы. Увеличение выраженности оксидативного стресса при ожирении на фоне инсулинорезистентности формирует предпосылки для нарушения течения обменных процессов в организме больных и, тем самым, для ухудшения прогноза заболевания в позднем пубертатном возрасте, что не характерно для раннего периода полового созревания.

В основе повышения уровня оксидативного стресса при ожирении на фоне инсулинорезистентности у подростков позднего пубертатного возраста лежит понижение мощности антиоксидантной системы организма. В пользу данного предположения свидетельствует увеличение у них скорости индуцированного ПОЛ крови по сравнению с величиной аналогичного показателя у сверстников с неосложненным ожирением.

Причины уменьшения антиоксидантной активности крови в позднем пубертатном возрасте при осложненном инсулинорезистентностью ожирении могут быть связаны с изменением продукции гормонов, обеспечивающих регуляцию скорости свободнорадикальных процессов в организме. Среди большого числа их представителей особого внимания заслуживает мелатонин, концентрация которого во многом определяет уровень антиоксидантной активности крови (Reiter et al., 2003; Geins et al., 2010).

Действительно, проведенные нами исследования позволили выявить ограничение экскреции данного гормона из организма подростков позднего пубертатного возраста с ожирением на фоне инсулинорезистентности, по сравнению с таковым у подростков раннего пубертатного возраста (рис. 2). Полученные результаты могут указывать на уменьшение продукции данного гормона при ожирении на фоне инсулинорезистентности у подростков позднего пубертатного возраста, что подтверждает высказанное ранее предположение.

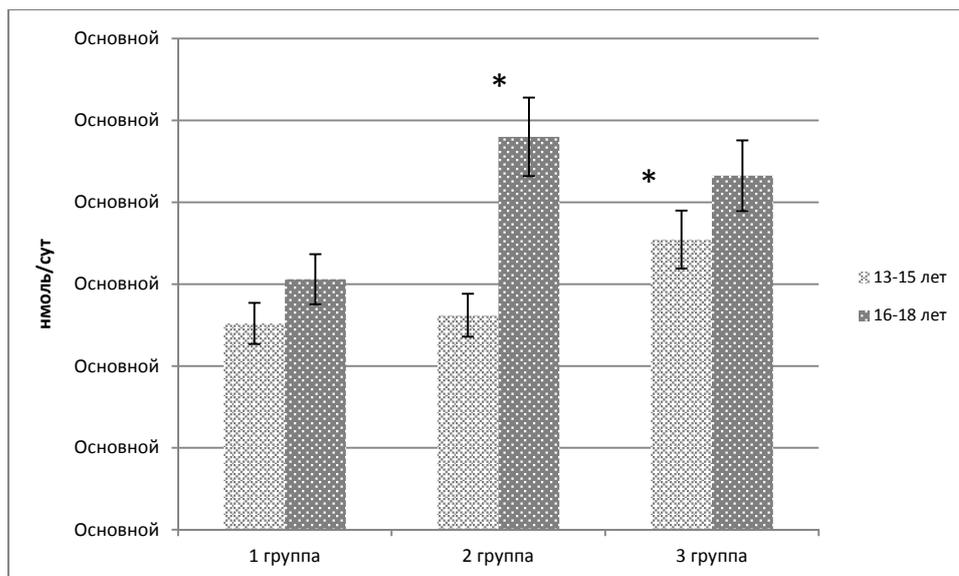


Рис. 2. Уровень суточной экскреции мелатонина у подростков разного возраста с осложненным и неосложненным нейроэндокринным ожирением

Примечания: P < 0,05 к 2 группе 13–15 лет.

Согласно литературным данным, одним из факторов регуляции секреции мелатонина является инсулин. Под влиянием этого гормона увеличивается секреция соматомедина, который, в свою очередь, стимулирует образование мелатонина в организме (Kogawa et al., 1983). Можно предположить, что в позднем периоде полового созревания в условиях инсулинорезистентности ограничивается реализация эффекта инсулина на данный гормон. Однако механизм этого феномена остается неясным и требует специального изучения.

Выяснение конкретной причины понижения антиоксидантной активности крови в условиях инсулинорезистентности имеет большие перспективы в плане разработки новых подходов к лечению ожирения на стадии полового созревания и, таким образом, профилактики сердечно-сосудистых заболеваний в зрелом возрасте. Детальному выяснению данного вопроса будут посвящены наши дальнейшие исследования.

Выводы

1. В организме подростков с ожирением возникает оксидативный стресс. В большей мере он выражен в раннем, чем в позднем пубертатном возрасте.
2. У подростков 13–15-летнего возраста инсулинорезистентность не вносит существенных корректив в проявление оксидативного стресса при ожирении, тогда как у подростков 16–18-летнего возраста инсулинорезистентность увеличивает проявления оксидативного стресса при ожирении.
3. У подростков позднего пубертатного возраста с ожирением на фоне инсулинорезистентности понижается уровень экскреции мелатонина с мочой, по сравнению с таковым у подростков раннего пубертатного возраста.
4. Увеличение выраженности оксидативного стресса при ожирении на фоне инсулинорезистентности в позднем пубертатном возрасте способствует нарушению обменных процессов в организме больных и, тем самым, ухудшению прогноза заболевания.
5. Одной из причин модуляции свободнорадикальных процессов в организме подростков позднего пубертатного возраста с ожирением является обусловленное инсулинорезистентностью понижение мощности антиоксидантной системы организма.

Список литературы

- Будрейко О.А., Нікітіна Л.Д., Чумак С.О. та ін. Діагностика інсулінорезистентності у дітей та підлітків з ожирінням. Методичні рекомендації. – К.: Нац. академія мед. наук України, МОЗ України, Укр. центр науков. мед. інформації та патентно-ліцензійної роботи, 2011. – 24с. /Budreyko O.A., Nikitina L.D., Chumak S.O. ta in. Diagnostyka insulinorezystentnosti u ditey ta pidlitkiv z ozhirinniam. Metodychni rekomendatsii. – K.: Nats. akademiya med. nauk Ukrainy, MOZ Ukrainy, Ukr. tsentr naukov. med. informatsii ta patentno-litsenziynoi roboty, 2011. – 24s./
- Давыдов В.В., Божков А.И., Кульчицкий О.К. Физиологическая и патофизиологическая роль эндогенных альдегидов. – Saarbrücken: Palmarium Academic Publishing, 2012. – 240с. /Davydov V.V., Bozhkov A.I., Kul'chitskiy O.K. Fiziologicheskaya i patofiziologicheskaya rol' endogennykh al'degidov. – Saarbrücken: Palmarium Academic Publishing, 2012. – 240s./
- Давыдов В.В., Кашкалда Д.А., Голобородько А.В. Нормы содержания биологически активных веществ у детей и подростков: Справочник. – Харьков: Федорко, 2008. – 132с. /Davydov V.V., Kashkalda D.A., Goloborod'ko A.V. Normy sodержaniya biologicheskii aktivnykh veshchestv u detey i podrostkov: Spravochnik. – Khar'kov: Fedorko, 2008. – 132s./
- Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белков плазмы крови больных с психиатрическими расстройствами // *Вопр. мед. химии.* – 2000. – №4. – С. 36–47. /Dubinina Ye.Ye. Okislitel'naya modifikatsiya belkov plazmy krovi bol'nykh s psikiatricheskimi rasstroystvami // *Vopr. med. khimii.* – 2000. – №4. – S. 36–47./
- Сенаторова А.С., Чайченко Т.В. Ремоделирование сердца как результирующая метаболических и гемодинамических влияний у подростков с избыточной массой тела и ожирением // *Здоровье ребенка.* – 2011. – Т.31, №4. – С. 21–25. /Senatorova A.S., Chaychenko T.V. Remodelirovaniye serdtsa kak rezul'tiruyushchaya metabolicheskikh i gemodinamicheskikh vliyaniy u podrostkov s izbytochnoy massoy tela i ozhireniyem // *Zdorov'ye rebenka.* – 2011. – T.31, №4. – S. 21–25./
- Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот // *Современные методы в биохимии.* – М.: Медицина, 1977. – С. 63–64. /Stal'naya I.D. Metod opredeleniya diyenovoy konyugatsii nenasyschennykh vysshykh zhirnykh kislot // *Sovremennyye metody v biokhimii.* – M.: Meditsina, 1977. – S. 63–64./
- Хижняк О.О. Метформин в профилактике метаболического синдрома у детей и взрослых // *Международный эндокринологический журнал.* – 2007. – Т.10, №4. – С. 43–47. /Khizhnyak O.O. Metformin v profilaktike metabolicheskogo sindroma u detey i vzroslykh // *Mezhdunarodnyy endokrinologicheskii zhurnal.* – 2007. – T.10, №4. – S. 43–47./
- Boden G. Free fatty acid – the link between obesity and insulin resistance // *Endocr. Pract.* – 2001. – Vol.1. – P. 44–51.

- Bondia-Pons I., Ryan L., Martinez J.A. Oxidative stress and inflammation interactions in human obesity // J. Physiol. Biochem. – 2012. – Vol.68, №1. – P. 130–139.
- Geins M.A., Vargas M.A., Gomez T.F. et al. Effect of melatonin in the antioxidant defense system in locomotor muscles of the estuarine crab // Gen. and Compar. End. – 2010. – Vol.166. – P. 72–82.
- Esterbauer H., Cheeseman K.H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal // Methods in enzymology. – 1990. – Vol.186. – P. 407–421.
- Joshi A.A., Prabhakar V.K.B., White H.D. et al. Obesity, hypertension and elevated catecholamines // Endocrine Abstracts. – 2006. – Vol.11. – P.118.
- Kogawa M., Takano K., Asakawa K. et al. Insulin stimulation of somatomedin: a product in monolayer cultures of rat hepatocytes // Acta Endocrinol. – 1983. – Vol.103. – P. 385–390.
- Li J., Romestaing C., Han X. Cardiolipin remodeling by ALCAT1 links oxidative stress and mitochondrial dysfunction to obesity // Cell. Metab. – 2010. – Vol.12, №2. – P. 154–165.
- Reiter R.J., Tan D.X., Mayo J.C. Melatonin as an antioxidant: biochemical mechanism and pathophysiological implications in humans // Acta Biochim. Pol. – 2003. – Vol.50. – P. 1129–1146.
- Rice-Evans C.A., Diplock A.T., Symons M.C.R. Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology: techniques in free radical research. – London, 1991. – 346p.
- Uchida K. Role of reactive aldehydes in cardiovascular diseases // Free Radical. Biol. Med. – 2000. – Vol.28, №1. – P. 1685–1696.
- Xu X.J., Gauthier M.S., Hess D.T. Insulin sensitive and resistant obesity in humans: AMPK activity, oxidative stress, and depot specific changes in gene expression in adipose tissue // J. Lipid. Res. – 2012. – Vol.4. – P. 792–801.

Представлено: В.І.Жуков / Presented by: V.I.Zhukov
Рецензент: В.В.Мартиненко / Reviewer: V.V.Martynenko
Подано до редакції / Received: 25.04.2012