К 85-летию Национальной академии наук Беларуси

МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ СИНДРОМ: ЭКСПЕРИМЕНТ, КЛИНИКА, ТЕРАПИЯ

METABOLIC SYNDROME: EXPERIMENT, CLINICS AND THERAPY

ГРОДНО/GRODNO
2013

From year to year thyroid cancer becomes a more widespread and socially significant malignancy. Though, being by definition relatively slow in progression well differentiated tumor it sometimes shows up as a serious, highly aggressive tumor. It's nature of masking to a nodular lesion of a thyroid makes it tricky to diagnose. Many efforts all over the world are aimed to improve early diagnostics of thyroid cancer. The work is taken on all possible directions – visualization, molecular genetic profiling, surgical treatment and biological/chemotherapy options. Association of insulin resistance, metabolic syndrome and thyroid cancer is discussed. Currently the diagnostic success is due to complex, multidisciplinary approach, involving multiple specialists, instruments and methods.

МЕТАБОЛИЗМ ТИАМИНА В ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ АЛЛОКСАНОВОМ ДИАБЕТЕ

А.Ф. Макарчиков*[¶]*, *Т.А. Лучко**, *Т.Г. Кудырко*[¶]*, *И.М. Русина*[¶]*, *Е.А. Макар**, *В.А. Гуринович**, *В.А. Аверин*

*РНИУП «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси», [¶]УО «Гродненский государственный аграрный университет»

Введение. Сахарный диабет – хроническое заболевание, для которого характерна стойкая гипергликемия, возникающая из-за отсутствия инсулина (диабет 1 типа) или его недостаточного биосинтеза и инсулиновой резистентности (диабет 2 типа). Во многих случаях диабет 2 типа является компонентом метаболического синдрома, определяемого как абдоминальное ожирение, в сочетании с любыми двумя из четырех факторов: повышенным уровнем триацилглицеринов, сниженным уровнем холестерина липопротеинов высокой плотности, артериальной гипертензией и резистентностью к инсулину [1]. Развитие диабета служит причиной повреждения сосудистой системы организма и, как следствие, ранней инвалидизации и преждевременной смерти в результате таких осложнений, как почечная недостаточность, слепота, кардиоваскулярные и нервные заболевания.

В настоящее время сахарный диабет представляет собой серьезную медико-социальную проблему, приобретающую все более широкие масштабы. По сведениям Международной федерации диабета число людей, страдающих данным заболеванием, в 2012 г. достигло отметки в 371 млн., еще 280 млн. находятся в группе риска, при этом ежегодно от диабета умирает 4,8 млн. человек, а затраты на лечение и уход за пациентами составляют более 471 млрд. долларов США. Прогнозы на ближайшее будущее неутешительны: заболеваемость продолжает находиться на восходящей траектории, так что к 2030 г. число больных диабетом может возрасти до 552 млн. [2].

В исследованиях на крысах была продемонстрирована эффективность высоких доз тиамина и бенфотиамина для предотвращения диабетической

нефропатии [3] и ретинопатии [4]. Считается, что действие витамина может быть обусловлено повышением экспрессии тиаминдифосфат (ТДФ)-зависимого фермента транскетолазы; при этом в результате активации пентозофосфатного пути окисления глюкозы снижается концентрация глицеральдегид-3-фосфата и как следствие – конечных продуктов гликирования. Наряду с ТДФ в тканях млекопитающих присутствует тиаминмонофосфат (ТМФ), и в небольших количествах синтезируются другие производные тиамина – тиаминтрифосфат (ТТФ) и аденозин-тиаминтрифосфат (АТТФ), вероятно, выполняющие регуляторные функции. В настоящее время система обмена витамина B_1 и ее роль в регуляции жизнедеятельности клеток при патологических состояниях изучены лишь фрагментарно. Цель данной работы заключалась в исследовании метаболизма витамина B_1 в печени крыс при аллоксановом диабете.

Материалы и методы. При моделировании диабета использовались крысы-самцы линии Вистар массой 170–230 г, содержавшиеся на обычном рационе вивария. Диабет вызывали однократным внутрибрюшинным введением аллоксана в дозе 170 мг/кг. Контрольная и опытная группы включали по 5 особей. Через 1,5 мес. животных декапитировали, печень извлекали, замораживали в жидком азоте и хранили при - 85°С до проведения анализов. Концентрацию глюкозы в крови измеряли глюкозооксидазным методом с помощью набора «Глюкоза ФС «ДДС», ЗАО «Диакон-ДС».

Содержание производных тиамина определяли методом обращенно-фазной ион-парной ВЭЖХ с предколоночной дериватизацией на хроматографе «Agilent 1200», используя колонку PRP-1 (∅ 4,1 × 150 мм, размер частиц 5 мкм; Hamilton Co) с протекторным картриджем. Мобильная фаза состояла из 50 мМ К-фосфатного буфера, pH 8,5, содержащего 25 мМ тетра-*н*-бутиламмонийгидрогенсульфат и 4% тетрагидрофуран, скорость потока – 0,5 мл/мин. Производные тиохрома детектировали по флуоресценции при длине волны возбуждения 365 нм, эмиссии – 433 нм [5].

Активность мембранно-связанных ферментов – ТДФазы, ТМФазы и АТТФ-гидролазы – определяли в гомогенатах, активность растворимой ТТФазы и тиаминкиназы – в супернатанте, полученном в результате центрифугирования гомогената при 20000 g в течение 60 мин. Для приготовления гомогенатов образцы печени размораживали и разрушали при 4°С в стеклянном гомогенизаторе в 5 объемах 50 мМ трис-HCl буфера, pH 7,4, содержащего 0,15 М KCl и 0,2 мМ ЭДТА. Все активности определялись при 37°С. Инкубационная смесь для измерения активности ТТФазы состояла из 50 мМ трис-HCl буфера, pH 8,9, 5 мМ $MgCl_2$, 0,02 мМ ТТФ и образца белка в объеме 0,1 мл. Реакцию осуществляли 30 мин и останавливали добавлением 0,5 мл 0,5 М Na-фосфатного буфера, pH 6,8. АТТФ-гидролазную реакцию проводили в течение 10 мин при pH 8,0 в среде объемом 0,1 мл, содержавшей 50 мМ трис-HCl буфер, 5 мМ $MgCl_2$ и 0,002 мл гомогената. Для определения активности тиаминкиназы использовалась инкубационная система объемом 0,2 мл, включавшая 50 мМ трис-HCl буфер, pH 8,0, 10 мМ АТФ, 5 мМ $MgCl_2$, 0,05 мМ тиамин и 0,05 мл экстракта; инкубация проводилась в течение 90 мин. Остановку тиаминкиназной и АТТФ-гидролазной реакций осуществляли путем

кипячения проб в течение 1 мин. Количество образующегося ТДФ в каждой из трех перечисленных выше реакций определяли ферментативным методом после рекомбинации аликвот реакционной смеси с апопируватдекарбоксилазой (ПДК) из пивных дрожжей (60 мин при 25°С). Активность холоПДК измеряли по уменьшению концентрации НАДН в сопряженной с алкогольдегидрогеназой реакции, регистрируя изменение оптической плотности раствора при 340 нм [6]. Реакционная среда для определения ТДФазной активности содержала 50 мМ трис-HCl буфер, pH 9,0, 10 мМ $MgCl_2$ и 1 мМ левамизол. Активность ТМФазы определяли в инкубационной смеси, содержавшей 50 мМ трис–малеатный буфер, pH 6,5, и 10 мМ $MgCl_2$. Объем реакционной системы в обоих случаях составлял 0,2 мл, концентрации субстратов – 0,5 мМ, количество вносимого гомогената – 0,02 мл. ТДФазную реакцию проводили 30 мин, ТМФазную – 120 мин. Остановку реакций осуществляли добавлением 0,1 мл 15% ТХУ. Концентрацию P_i, высвобождающегося в результате гидролиза субстрата, находили с помощью метода Lanzetta et al. [7]. За единицу активности (Е) принимали количество фермента, катализирующее образование 1 мкмоль продукта за 1 мин в условиях испытания.

Достоверность разности между средними значениями показателей по группам оценивали на основании t-критерия Стъюдента. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы GraphPadPrism 5.0; результаты представлены в виде средних значений ± стандартные отклонения (M ± SD).

Результаты и обсуждение. У крыс контрольной группы концентрация глюкозы в сыворотке крови, взятой после 16 часов голодания, составляла 6,9 ± 0,5 мМ, у диабетных животных без лечения – 14,8 ± 8,3 мМ, на фоне инъекций тиамина – 19,1 ± 6,7 мМ, при введении АТТФ – 18,4 ± 10,3 мМ.

Результаты определения тиамина и его производных в печени представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Содержание производных тиамина в печени крыс при аллоксановом диабете

Группа	Производные тиамина, нмоль/г ткани				
	тиамин	ТМФ	ТДФ	ТТФ	АТТФ
Контроль	0,71 ± 0,12	2,20 ± 0,29	27,90 ± 4,24	0,034 ± 0,008	0,032 ± 0,009
Диабет	1,38 ± 0,44*	3,28 ± 0,92*	34,53* ± 5,32	0,081 ± 0,042*	0,043 ± 0,014

* $p < 0,05$

Как видно из таблицы 1, развитие диабета приводило к статистически значимому увеличению содержания тиамина (на 94%), ТМФ (на 49%), ТДФ (на 25%) и ТТФ (на 138%). Концентрация АТТФ у диабетных крыс также возрастала на 34%, однако эти изменения оказались статистически недостоверными. Таким образом, полученные данные указывают на то, что при аллоксановом диабете в печени повышается содержание как нефосфорилированного тиамина, так и всех его производных. В целом, по-видимому, можно говорить о том, что при диабете система обмена тиамина в печени переходит на другой уровень активности.

Общепризнанная биохимическая функция тиамина состоит в участии ТДФ в углеводном и энергетическом обмене клетки в качестве кофермента транскетолазы, пируват- и α-кетоглутаратдегидрогеназных комплексов. Имеются также данные о регуляторной роли ТТФ в метаболизме глюкозы [8]. На уровне же организма центральное место в гомеостазе глюкозы принадлежит печени. В связи с этим примечательным выглядит тот факт, что концентрация ТТФ в печени диабетных крыс возрастает особенно ощутимо – в 2,4 раза (таблица 1). В настоящее время остается лишь догадываться о причинах повышения концентраций производных тиамина в печени при диабете. Возможно, это обусловлено потерей гормонального контроля (из-за недостаточности инсулина) над биосинтезом глюкозы, следствием чего является чрезмерный рост ее внутриклеточной концентрации.

Среди ферментов системы обмена витамина B_1 на молекулярном уровне охарактеризованы только тиаминкиназа и растворимая ТТФаза. Пока еще не ясно, существуют ли в клетках млекопитающих специфичные ферменты гидролиза ТМФ и ТДФ; что же касается ферментов, катализирующих биосинтез и деградацию АТТФ, об их свойствах не известно ничего. В таблице 2 приведены результаты определения ферментативных активностей, относящихся к обмену тиамина, в печени контрольных и диабетных крыс.

Таблица 2 – Активность ферментов метаболизма производных тиамина в печени крыс при аллоксановом диабете

Группа	Ферментативная активность, мЕ/г ткани				
	тиаминкиназа	ТМФаза	ТДФаза	ТТФаза	АТТФ-гидролаза
Контроль	3,6 ± 1,6	41,4 ± 8,8	114,8 ± 34,6	114,6 ± 18,1	269,1 ± 16,9
Диабет	4,2 ± 1,4	41,1 ± 6,4	135,5 ± 36,1	106,4 ± 13,8	266,3 ± 33,4

Из данных таблицы 2 следует, что активности ферментов печени, участвующих в метаболизме витамина B_1, при диабете не изменялись, хотя концентрации их субстратов (продуктов) заметно возрастали (таблица 1). Это несоответствие может объясняться тем, что регуляция активности ферментов обмена тиамина в печени при диабете осуществляется на кинетическом уровне без изменения их экспрессии.

Заключение. Полученные нами результаты свидетельствуют о существенном повышении концентраций тиамина и его производных, в особенности ТТФ, в печени крыс с аллоксановым диабетом. Это может указывать на участие системы метаболизма тиамина в регуляции внутриклеточного гомеостаза глюкозы.

Литература

1. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome // International Diabetes Federation. 2006. 23 p.
2. www.idf.org
3. Babaei-Jadidi R., Karachalias N., Ahmed N. [et al.] // Diabetes. 2003. Vol. 52. P. 2110–2120.
4. Hammes H.P., Du X., Edelstein D. [et al.] // Nat Med. 2003. Vol. 9. P. 294–299.
5. Bettendorff L., Peeters M., Jouan C. [et al.] // Anal. Biochem. 1991. Vol. 198. P. 52–59.

6. Черникевич И.П., Гриценко Э.А., Макарчиков А.Ф., Воскобоев А.И. // Прикл. Биохим. Микробиол. 1991. Т. 27, вып. 5. С. 65–68.
7. Lanzetta P.A., Alvarez L.J., Reinach P.S., Candia O. A. // Anal. Biochem. 1979. Vol. 100. P. 95–97.
8. Макарчиков, А.Ф. Тиаминтрифосфат: новый взгляд на некоферментную функцию витамина B_1. Минск: Белорусская наука, 2008. 433 с.

THIAMINE METABOLISM IN THE LIVER OF ALLOXAN DIABETIC RATS

A.F. Makarchikov*¶*, *T.A. Luchko**, *T.G. Kudyrka*¶*, *I.M. Rusina*¶*, *E.A. Makar**, *V.A. Gurinovich**, *V.A. Averyn*

*Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds, National Academy of Sciences of Belarus, ¶Grodno State Agrarian University

Alloxan diabetes causes the increasing of vitamin B_1 derivatives levels in rat liver. In diabetic rats, the amounts of thiamine, thiamine monophosphate, thiamine diphosphate, thiamine triphosphate and thiamine adenosine triphosphate were elevated by 94%, 49%, 24%, 138% and 34%, respectively, as compared to controls. These data may indicate that thiamine metabolic system is involved in cellular glucose homeostasis.

БЕРЕМЕННОСТЬ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ СИНДРОМ: ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ И РОДОВ

Н.П. Митьковская, А.Ю. Захарко*, И.В. Патеюк, Т.В. Статкевич

БГМУ Минск, *УЗ «ГГКБ № 2», Гомель, annazakharko@tut.by

Введение. В экономически развивающихся странах, включая Россию и Беларусь, 30% населения имеют избыточную массу тела [1, 2]. Распространено ожирение и среди беременных женщин (до 12,3–38%) [3]. Частота метаболического синдрома (МС) среди беременных до настоящего времени точно не установлена, по разным данным она колеблется от 5 до 20% [2,3].
Экстрагенитальные заболевания у беременных представляют собой особую проблему, как для терапевтов, так и для акушеров-гинекологов. Участие терапевта в ведении беременных стало необходимым. Одновременно повысился интерес акушеров к знанию патологии внутренних органов, поскольку наличие экстрагенитальных заболеваний не только определяет во многих случаях состояние женщины в период беременности, но, по данным разных авторов, с ними связаны 12 – 20% материнской смертности и до 40% перинатальной заболеваемости и смертности [2, 3]. По данным ряда авторов, характерные черты МС, такие как избыточная масса тела, повышение артериального давления (АД), дислипидемия, могут быть важными предрасполагающими факторами в развитии гестационных осложнений,