

АЛЬДЕГИДРЕДУКТАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ И СПЕКТР АЛЬДОКЕТОРЕДУКТАЗ КРОВИ У ПОДРОСТКОВ С НЕЙРОЭНДОКРИННЫМ ОЖИРЕНИЕМ

Д. К. КУЛЕШОВА¹, В. В. ДАВЫДОВ¹, В. Н. ШВЕЦ²

¹ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков НАМН Украины», Харьков;

²Запорожский государственный медицинский университет;
e-mail: darya.kuleshova@gmail.com

С целью выяснения механизмов формирования нейроэндокринного ожирения в пубертатном возрасте проведено исследование альдегидредуктазной активности и спектра альдокеторедуктаз крови подростков 13–15- и 16–18-летнего возраста с ожирением. Установлено, что базальная альдегидредуктазная активность и спектр альдокеторедуктаз крови у здоровых подростков раннего пубертатного возраста не отличаются от таковых у здоровых подростков позднего пубертатного возраста. У подростков позднего пубертатного возраста с нейроэндокринным ожирением снижается альдегидредуктазная активность и происходит изменение спектра альдокеторедуктаз крови. У подростков раннего пубертатного возраста с ожирением происходит изменение спектра альдокеторедуктаз крови, которое не сопровождается изменением ее альдегидредуктазной активности. На основании полученных результатов высказывается предположение о том, что в позднем пубертатном возрасте формируются предпосылки для отягощения течения нейроэндокринного ожирения.

Ключевые слова: пубертатный возраст, нейроэндокринное ожирение, альдокеторедуктазы.

Рост заболеваемости нейроэндокринным ожирением среди подростков в Украине [1, 2] формирует негативные предпосылки к повышению заболеваемости сердечно-сосудистой патологией в зрелом возрасте. Это возводит в ранг первостепенных задач поиск новых подходов к лечению и профилактике ожирения на этапе полового созревания. Представляется очевидным, что реального прогресса в данном направлении можно достичь, лишь познав тонкие молекулярные механизмы формирования нейроэндокринного ожирения в подростковом возрасте. Однако до настоящего времени в их понимании все еще остается много неясного.

Литературные данные указывают на то, что развитие нейроэндокринного ожирения у взрослых пациентов сопровождается формированием оксидативного стресса [3–5]. Следствием его возникновения становится накопление в организме цитотоксических карбонильных продуктов свободнорадикального окисления, к числу которых относятся эндогенные альдегиды [6, 7], выступающие в роли своеобразных медиаторов повреждения клеток тканей внутренних органов [8]. Важную роль в адаптации к повреждающему действию оксидативного стресса играет ферментная система утилизации эндогенных альдегидов [8–10]. Она включает в себя многочисленные ферменты, которые ката-

лизируют их окислительно-восстановительные превращения [11, 12]. Особое значение среди них принадлежит альдокеторедуктазам – ферментам, катализирующим восстановительный путь утилизации карбонильных продуктов свободнорадикального окисления. Однако до настоящего времени в литературе отсутствуют сведения об особенностях функционирования данных ферментов при нейроэндокринном ожирении. Учитывая это, целью работы явилось изучение альдегидредуктазной активности и спектра альдокеторедуктаз крови подростков разного возраста с нейроэндокринным ожирением.

Материалы и методы

Обследовано 40 подростков раннего (13–15 лет) и позднего (16–18 лет) пубертатного возраста. Каждая возрастная группа, в свою очередь, была разделена на 2 подгруппы: 1 – здоровые (без соматической патологии, с нормальной массой тела) и 2 – подростки с нейроэндокринным ожирением I–II степени.

В сыворотке крови обследуемых измеряли альдегидредуктазную активность [13]. Для этой цели 0,1 мл сыворотки крови или 0,1 мл гемолизата эритроцитов вносили в спектрофотометрическую кювету, содержащую в конечной концентрации 0,05 М калий-фосфатного

буфера (рН 6,5), 0,01 М глутарового альдегида и 0,0001 М восстановленного NAD. Абсорбцию измеряли при 340 нм. Скорость реакции выражали в мкмоль/мин · мл сыворотки (гемолизата).

Спектр альдокеторедуктаз сыворотки крови исследовали с помощью электрофореза на пластинках с агарозой. В работе использовали набор реактивов и пластинки для разделения белков Cormay Gel Protein 100 (Cormay, Польша).

На пластинку наносили по 5 мкл сыворотки крови. Фракционирование альдокеторедуктаз проводили в течение 30 мин при напряжении 100 В, используя трис-барбиталовый буфер из набора. В работе использовали прибор для электрофореза Solar (Беларусь).

Окрашивание пластинок после электрофореза проводили в специальном растворе в течение 30 мин при 37 °С. Для приготовления его 30 мг NAD, 17,5 мг нитросинего тетразолия и 1 мг феназинметасульфата растворяли в 45 мл 0,1 М глицин-NaOH буфера (рН 10,0). Приготовленный раствор фильтровали, после чего в него дополнительно вносили 0,486 мл бензилового спирта в 0,75 мл метанола [14].

После окрашивания пластинки тщательно отмывали от окрашивающего раствора, подсушивали на воздухе и подвергали денситометрии.

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

Результаты и обсуждение

Результаты исследования альдегидредуктазной активности здоровых подростков разного возраста представлены на рис. 1. Из него следует, что энзиматическая активность в их сыворотке крови и гемолизате находится на одинаковом уровне.

Альдокеторедуктазы крови обследуемых при электрофорезе разделяются на 6 отдельных фракций (рис. 2). При этом у подростков разных возрастных групп достоверных различий в соотношении фракций в спектре альдокеторедуктаз сыворотки крови не выявлено ($P > 0,05$).

На рис. 3 представлены результаты исследований альдегидредуктазной активности крови у подростков с нейроэндокринным ожирением. Из полученных данных, представленных на этом рисунке, следует, что у 13–15-летних пациентов (подгруппа 2) величина альдегидредуктазной активности не отличается от таковой у сверстников контрольной подгруппы.

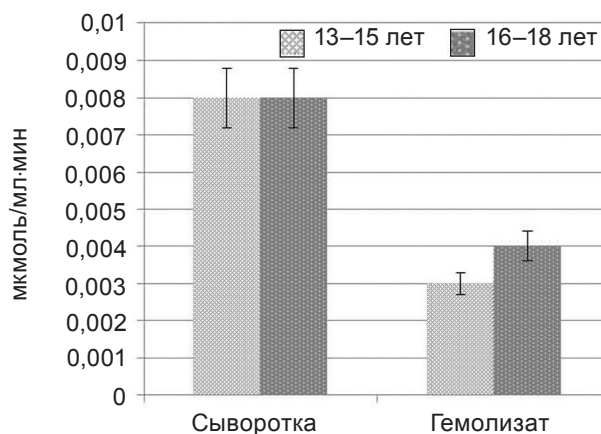


Рис. 1. Альдегидредуктазная активность сыворотки крови и гемолизата у здоровых подростков разного возраста

Вместе с тем у подростков раннего пубертатного возраста с ожирением выявляются существенные отличия в спектре альдокеторедуктаз сыворотки крови по сравнению с таковым у здоровых 13–15-летних подростков (рис. 4). Эти отличия проявляются у них в по-

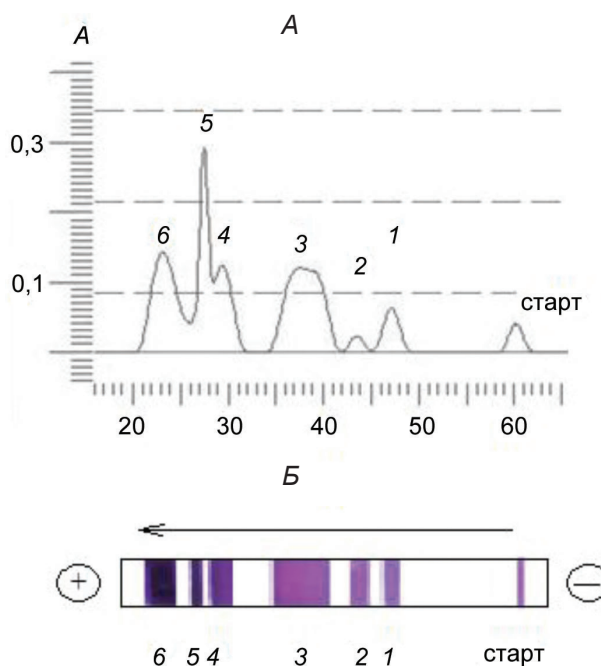


Рис. 2. Схема расположения фракций альдокеторедуктаз на пластинке с сепарозой после их электрофоретического разделения (А) и денситограмма (Б). Стрелкой указано направление движения фракций при электрофорезе. Цифры обозначают номера фракций альдокеторедуктаз крови

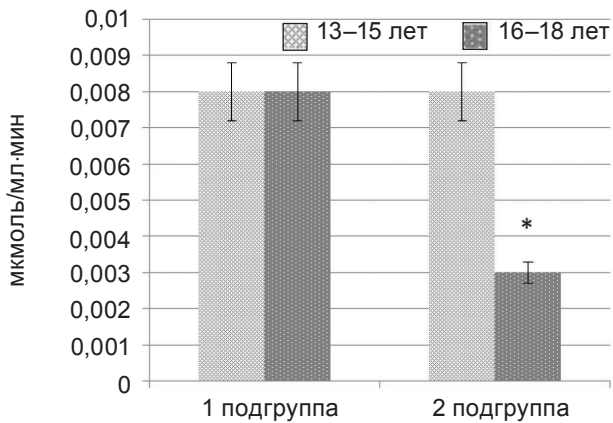


Рис. 3. Альдегідредуктазна активність сыворотки крові у підлітків різного віку з ожирінням. Примечания: * $P < 0,05$ к 1 підгрупі (16–18 лет)

вышении в 2,5 раз доли одной из подвижных фракций (фракция 5) в спектре альдокеторедуктаз крови по сравнению с ее величиной у здоровых сверстников.

У 16–18-летних подростков с ожирением альдегидредуктазная активность крови на 63% ниже ее величины у здоровых сверстников (рис. 3). Возникающий сдвиг со стороны ферментатической активности сопровождается у них изменением спектра альдокеторедуктаз крови. Как видно из рис. 4 у подростков данной возрастной группы с ожирением существен-

но возрастает доля 4-й фракции и, наоборот, значительно уменьшается доля 3-й фракции в спектре альдокеторедуктаз по сравнению с таковыми у здоровых сверстников.

Анализ результатов проведенных исследований дает основания для заключения об идентичности спектра альдокеторедуктаз крови у подростков, находящихся на разных этапах полового созревания. С этим, по всей вероятности, связана у них и одинаковая величина базальной альдегидредуктазной активности в сыворотке крови.

На основании полученных данных об отсутствии возрастных различий в альдегидредуктазной активности и спектре альдокеторедуктаз в крови у подростков контрольных групп высказывается предположение о том, что модуляция уровня гормональной секреции в период полового созревания не оказывает существенного влияния на экспрессию генов отдельных представителей альдокеторедуктаз. Вместе с тем при нейроэндокринном ожирении в крови подростков возникают зависимые от возраста изменения в спектре альдокеторедуктаз. В большей мере они выражены у 16–18-летних, чем у 13–15-летних подростков. Их появление в позднем пубертатном возрасте при ожирении сопровождается значительным снижением базальной альдегидредуктазной активности сыворотки крови, что не характерно для ожирения в раннем пубертатном возрасте.

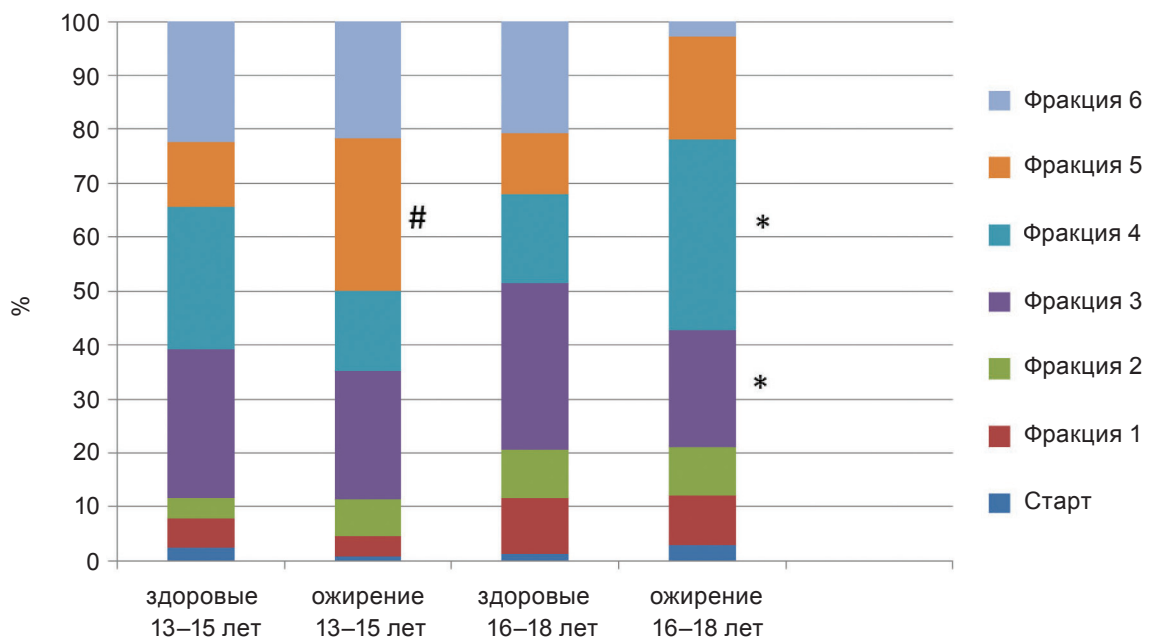


Рис. 4. Соотношение отдельных фракций в спектре альдокеторедуктаз крови у подростков разного возраста с ожирением. * $P < 0,05$ к здоровым 16–18 лет; # $P < 0,05$ к здоровым 13–15 лет

Ввиду того, что при нейроэндокринном ожирении возникает оксидативный стресс [3–5], устойчивость организма к его повреждающему воздействию во многом зависит от эффективности функционирования ферментативных систем утилизации цитотоксических карбонильных продуктов свободнорадикального окисления [15, 16]. В этой связи изменения в спектре альдокеторедуктаз, которые сопровождаются снижением базальной альдегидредуктазной активности, создают условия для накопления в клетках цитотоксических карбонильных продуктов обмена, а значит и глубокого нарушения метаболизма в тканях внутренних органов. В результате этого в позднем пубертатном возрасте формируются предпосылки для отягощения течения ожирения.

Таким образом, несмотря на сходство спектра альдокеторедуктаз крови здоровых подростков разного возраста, при ожирении у них появляются существенные различия в соотношении отдельных представителей данных ферментов. Анализ возможных причин формирования подобного феномена позволяет высказать предположение о том, что они связаны с возрастными особенностями регуляции экспрессии генов альдокеторедуктаз при ожирении на разных этапах полового созревания. Важную роль в этом могут играть сдвиги в уровне гормональной секреции при ожирении в пубертатном возрасте. В большей мере это касается гормонов, которые участвуют в регуляции синтеза стрессовых протеинов (антиоксидантных ферментов, шаперонов и др.), а также гормонов, обладающих выраженными антиоксидантными свойствами. Особое значение среди последних, по всей вероятности, приобретает мелатонин [17 – 19].

Изменение скорости синтеза стрессовых протеинов предопределяет модуляцию свободнорадикальных процессов в тканях, а значит и величины проявления оксидативного стресса в организме. В свою очередь, изменение уровня оксидативного стресса в организме подростков разного возраста с ожирением способствует появлению возрастных особенностей в экспрессии генов и ферментативной активности альдокеторедуктаз. Подобное предположение основано на сведениях о том, что при оксидативном стрессе, с одной стороны, возникают условия для прямого регуляторного воздействия на экспрессию генов альдокеторедуктаз

[20, 21], а с другой стороны – для модуляции каталитической активности за счет окислительной модификации функциональных групп в активном центре этих ферментов [22, 23].

Выяснение конкретных причин появления возрастных особенностей в изменении спектра альдокеторедуктаз крови при ожирении на этапе полового созревания имеет большие перспективы для разработки новых подходов к лечению и для профилактики данного заболевания. Их изучению будут посвящены наши дальнейшие исследования.

АЛЬДЕГІДРЕДУКТАЗНА АКТИВНІСТЬ ТА СПЕКТР АЛЬДОКЕТОРЕДУКТАЗ КРОВІ У ПІДЛІТКІВ З НЕЙРОЕНДОКРИННИМ ОЖИРІННЯМ

*Д. К. Кулешова¹, В. В. Давидов¹,
В. М. Швець²*

¹ДУ «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків НАМН України», Харків;

²Запорізький державний медичний університет, Україна;

e-mail: darya.kuleshova@gmail.com

З метою з'ясування механізмів формування нейроендокринного ожиріння в пубертатному віці проведено дослідження альдегидредуктазної активності та спектра альдокеторедуктаз крові підлітків 13–15-річного та 16–18-річного віку з ожирінням. Встановлено, що базальна альдегидредуктазна активність та спектр альдоредуктаз крові у здорових підлітків раннього та пізнього пубертатного віку не відрізняються від таких у здорових підлітків пізнього пубертатного віку. У підлітків пізнього пубертатного віку з нейроендокринним ожирінням знижується альдегидредуктазна активність і відбуваються зміни спектра альдоредуктаз крові. У підлітків раннього пубертатного віку з ожирінням відбуваються зміни спектра альдокеторедуктаз крові, які не супроводжуються змінами її альдегидредуктазної активності. На підставі одержаних результатів висловлюється припущення про те, що у пізньому пубертатному віці формуються передумови для обтяжування процесу нейроендокринного ожиріння.

Ключові слова: пубертатний вік, нейроендокринне ожиріння, альдокеторедуктази.

ALDEHYDE REDUCTASE ACTIVITY AND BLOOD ALDO-KETO REDUCTASE SPECTRUM IN ADOLESCENTS WITH NEUROENDOCRINE OBESITY

D. K. Kulieshova¹, V. V. Davydov¹, V. M. Shvets²

¹Institute of Children and Adolescents Health Care, National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kharkiv;

²Zaporozhye State Medical University, Ukraine; e-mail: darya.kuleshova@gmail.com

S u m m a r y

Investigation of aldehyde-reductase activity and blood aldo-keto reductase spectrum has been performed in 13-15 and 16-18-years old adolescents with obesity to clear up the mechanisms of neuroendocrine obesity at the age of puberty. It has been established that basal aldehyde reductase activity and blood aldo-keto reductase spectrum of healthy adolescents in early puberty do not differ from those of healthy adolescents in late puberty. A decreased aldehyde reductase activity and some alterations in blood aldo-keto reductase spectrum have been observed in late puberty in adolescents with neuroendocrine obesity. In adolescents with obesity there have been registered some changes in blood aldo-keto reductase spectrum which are not accompanied by any alterations in its aldehyde reductase activity. The results obtained suggest that certain prerequisites are formed in late puberty to complicate the course of neuroendocrine obesity.

Key words: pubertal age, neuroendocrine obesity, aldo-keto reductases.

1. *Аверьянов А. П.* // Междунар. эндокринол. журн. — 2009. — **22**, № 4. — С. 90–98.
2. *Большова Е. В.* // Здоров'я України. — 2007. — **1**, № 18. — С. 38–39.
3. *Bondia-Pons I., Ryan L., Martinez J. A.* // J. Physiol. Biochem. — 2012. — **68**, N 1. — P. 130–139.
4. *Xu X. J., Gauthier M. S., Hess D. T. et al.* // J. Lipid. Res. — 2012. — **4**. — P. 792–801.
5. *Li J., Romestaing C., Han X. et al.* // Cell. Metab. — 2010. — **12**, N 2. — P. 154–165.
6. *Uchida K.* // Free Radical. Biol. Med. — 2000. — **28**, N 12. — P. 1685–1696.
7. *Davydov V. V., Dobaeva N. N., Bozhkov A. I.* // Exp. Gerontol. — 2004. — **39**, N 1. — P. 11–16.
8. *Давыдов В. В., Божков А. И., Кульчицкий О. К.* — Saarbrücken: Palmarium Academic Publishing, 2012. — 240 p.
9. *Singhal S. S., Godley B. F., Chandra A. et al.* // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 1999. — **40**, N 11. — P. 2652–2659.
10. *Zhu H., Zhang L., Xi X. et al.* // Free Radic. Res. — 2006. — **40**, N 8. — P. 875–884.
11. *Brein P. J. O., Siraki A. G., Shangari N.* // Critical Reviews in Toxicology. — 2005. — **35**. — P. 609–662.
12. *Kabbani E. I., Old E. S., Ginell S. L., Carper D. A.* // Mol. Vis. — 1999. — **5**. — P. 20–24.
13. *Ellis E. M., Hayes J. D.* // J. Biochem. — 1995. — **312**, N 2. — P. 535–541.
14. *Nihmat A. Morjana, Flynn T. G.* // J. Biol. Chem. — 1989. — **264**, N 5. — P. 2906–2911.
15. *Srivastava S., Chandrasekar B., Bhatnagar A., Brabhu S.* // A. M. J. Heart Circ. Physiol. — 2002. — **283**. — P. 2615 – 2616.
16. *Keightley J. A., Shang L., Kinter M.* // Mol. Cell Proteomics. — 2003. — **12**. — P. 1236–1245.
17. *Reiter R. J., Tan D. X., Mayo J. C. et al.* // Acta Biochim. Pol. — 2003. — **50**, N 4. — P. 1129–1146.
18. *Sanchez-Barcelo E. J., Mediavilla M. D., Alonso-Gonzales C., Reiter R. J.* // Expert. Opin. Investig. Drugs. — 2012. — **21**, N 6. — P. 819–831.
19. *Kharwar R. K., Haldar C.* // Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol. — 2012. — **162**, N 4. — P. 296–302.
20. *Spycher S.* // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1996. — **226**, N 2. — P. 512–516.
21. *Srivastava S., Spite M., Trent J. O. et al.* // J. Biochem. — 2004. — **279**, N 51. — P. 53395 – 53435.
22. *Kaiserova K., Srivastava S., Hoetker J. et al.* // J. Biol. Chem. — 2006. — **281**, N 22. — P. 15110–15120.
23. *Kaiserova K., Tang X. L., Srivastava S., Bhatnagar A.* // J. Biol. Chem. — 2008. — **283**, N 14. — P. 9101–9112.

Получено 12.07.2012