

Нарушение активности натрий-калиевой АТФазы эритроцитов у пациентов с сахарным диабетом

З.М. Шамансурова, Ф.А. Мухамедова, А.Г. Цой, А.Б. Ташманова, А.В. Алиева, Н.А. Ахрарова

НИИ Эндокринологии МЗ РУз (директор — проф. Исмаилов С.И.), Ташкент

Цель исследования. Изучить активность натрий-калиевой АТФазы (НКАТФазы) эритроцитов у больных сахарным диабетом (СД) и ее взаимосвязь с клиническими проявлениями и биохимическими показателями крови.

Материалы и методы. В исследование включено 76 пациентов с СД, (39 — с СД 1 и 35 — с СД 2). Контрольную группу составили 11 лиц без СД. У обследуемых определяли уровень HbA_{1c} , активность сиалидазы эритроцитов, уровень нитритов и нитратов крови и мембран по активности НКАТФазы по уровню неорганического фосфора в присутствии АТФ.

Результаты. Активность НКАТФазы была значимо ниже у больных СД по сравнению с лицами без диабета ($p < 0,05$). Активность НКАТФазы не имела зависимости от возраста и пола обследованных лиц, оставалась низкой при всех сроках заболевания и недостоверно снижалась с увеличением продолжительности диабета. Изучаемый показатель имел зависимость от уровня HbA_{1c} , снижения уровня фосфора мембран, повышения активности сиалидазы эритроцитов, уровня нитритов и нитратов крови.

Заключение. Активность НКАТФазы отражает степень метаболических нарушений и дисфункции эндотелия при СД.

Ключевые слова: натрий-калиевая АТФаза, электролитический градиент клеточной мембраны, С-пептид, диабетическая нейропатия

Shamansurova Z.M., Mukhamedova F.A., Tsoi A.G., Tashmanova A.B., Alieva A.V., Akhrarova N.A.

Abnormal Na-K-ATPase activity in erythrocytes from patients with diabetes mellitus (DM)

Aim. To measure Na-K-ATPase activity in erythrocytes from patients with diabetes mellitus (DM), elucidate its relationship with clinical manifestations of the disease and biochemical blood characteristics.

Materials and methods. A total of 76 DM patients were enrolled in this study (39 with DM1 and 35 with DM2). Control group consisted of 11 subjects without DM. They were examined for HbA_{1c} , nitrite and nitrate levels in blood and membranes, sialidase activity in erythrocytes and Na-K-ATPase activity measured from variations of inorganic phosphorus content in the presence of ATP.

Results. Na-K-ATPase activity in MD patients was significantly lower than in controls ($p < 0.05$). It was unrelated to the patients' age and sex but dropped insignificantly with MD duration. Na-K-ATPase activity depended on blood HbA_{1c} and membrane phosphorus levels, enhanced sialidase activity in erythrocytes, nitrite and nitrate concentrations in plasma.

Conclusion. Na-K-ATPase activity reflects the degree of metabolic disturbances and endothelial dysfunction in patients with DM.

Key words: Na-K-ATPase, electrolyte gradient across plasma membrane, C peptide, diabetic neuropathy

Сахарный диабет (СД) — распространенное заболевание, сопровождающееся нарушением обмена углеводов, белков, липидов во всех тканях организма. Натрий-калиевая АТФаза (НКАТФ) — мембраносвязанный фермент, участвующий во многих жизненно важных функциях клеток млекопитающих, вовлечен в процессы нервной передачи, транспорта электролитов, поддержания электрического градиента клеточной мембраны. В последние годы появились сведения о нарушении активности НКАТФ при СД и обсуждается его возможное участие в развитии диабетической нейропатии [1, 2, 3]. Кроме того, исследования ряда авторов показали роль С-пептида в регуляции активности НКАТФазы [3]. Сведения литературы по изучению активности фермента при СД разноречивы, в разных тканях показаны как снижение, так и повышение активности [1]. Целью данного исследования явилось изучение активности НКАТФазы эритроцитов у больных сахарным диабетом и ее зависимость с клиническими проявлениями и биохимическими показателями крови.

Материалы и методы

Исследование проведено у 76 пациентов с СД, находившихся на стационарном и амбулаторном лечении в НИИЭ. Из них у 39 пациентов был СД1 и у 37 — СД2. Контрольную группу составили 11 лиц без СД. У обследуемых лиц определяли уровень HbA_{1c} [4, 5], активность сиалидазы эритроцитов [5, 6], уровень нитритов и нитратов крови — стабильных метаболитов оксида азота по [7, 8], фосфор крови и мембран по [5], активность НКАТФазы по уровню неорганического фосфора в присутствии АТФ [1, 3]. Полученные результаты были обработаны методами вариационной статистики с расчетом $M \pm m$ и оценкой достоверности данных при $p < 0,05$ по критерию Стьюдента и расчета корреляции [9].

Результаты и обсуждение

Клиническая характеристика обследуемых лиц по возрасту и полу, а также результаты исследований представлены в табл. 1. Средний возраст обследуемых лиц отличался по типу диабета и, логично, больные СД 2 были старше, чем с СД1. Среди больных СД 2 26% находились на инсулинотерапии и 74% имели осложнения диабета, тогда как 46% пациентов с СД1 имели осложнения. Уровень HbA_{1c} достоверно был повышенным и сопоставим у больных СД1 и 2, что указывало на соответствие метаболического контроля этих групп.

Активность сиалидазы эритроцитов (АСЭ) при СД отражает степень структурно-функциональных нарушений на плазматической мембране эритроцитов [6, 8, 10]. АСЭ была существенно повышенной при СД1 (в 10 раз, $p < 0,01$) и СД2 (в 9,17 раз, $p < 0,01$), по сравнению с лицами без диабета и согласовалась с данными литературы и предыдущими результатами [6].

Уровень фосфора плазмы существенно не отличался у обследованных пациентов. При этом определение уровня фосфора мембран эритроцитов показало снижение его при СД1 (в 2,3 раза, $p < 0,05$) и СД2 (в 1,75 раза, $p < 0,05$) и согласовалось с результатами АСЭ, указывая на наличие структурно-функциональных нарушений на поверхности мембраны эритроцитов при СД [8].

Активность НКАТФ мембран эритроцитов была снижена на 25%, $p < 0,05$ при СД1 и на 29,9%, $p < 0,05$ при СД2, по сравнению с лицами без диабета, что согласовалось с данными других авторов [1, 2, 3].

Нитриты и нитраты являются стабильными метаболитами оксида азота. По их уровню можно судить о количестве оксида азота и функциональном состоянии эндотелия сосудов [10]. При исследовании уровня нитритов и нитратов крови выяв-

Таблица 1

Клиническая характеристика и активность НКATФазы у обследуемых лиц			
Показатели	Здоровые лица	СД1	СД2
Возраст (лет)	39,2±3,1	28,5±27*	61,4±4,2 [^] *
Пол м/ж	5/6	24/15	17/18
Длительность СД (лет)	–	9,1±2,8	7,4±3,6
Инсулинотерапия, пациентов (%)	–	100%	26
Прием ссп, пациентов (%)	–	–	74
Осложнения СД (%)	–	46	74
HbA _{1c} (%)	5,38±0,32	9,37±0,54*	8,47±0,47*
Активность сиалидазы эритроцитов (мкг сиа-л к-ты/мг белка/час)	12,64±1,054	126,48±12,6*	115,94±10,5*
Активность НКATФазы (мг фосфора/мг белка/час)	427±6,8	320±11,2*	299±13,7*
Фосфор плазмы (мг/л)	1,12±0,3	1,01±0,21	1,12±0,26
Фосфор мембран (мг/л)	1,4±0,062	0,6±0,14*	0,8±0,12*
СМОА (мг нитритов и нитратов/мг белка/час)	48±2,4	25,4±2,1*	24,8±1,9*

Примечания: * при $p < 0,05$ по отношению к показателям здоровых лиц; [^] при $p < 0,05$ в сравниваемых группах СД1 и СД2

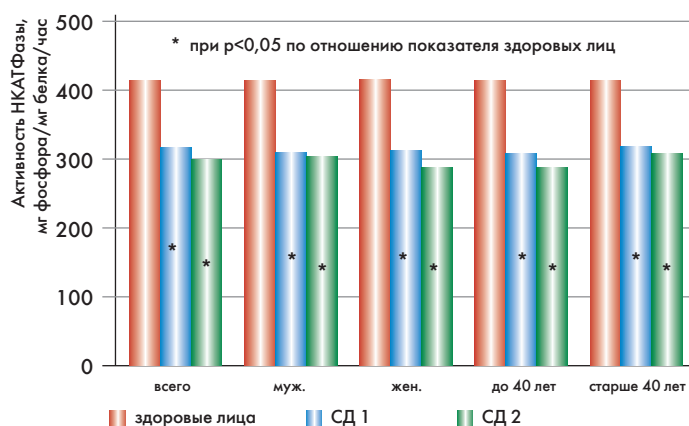


Рис. 1. Активность НКATФазы (мг фосфора/мг белка/час) в зависимости от пола и возраста обследованных лиц

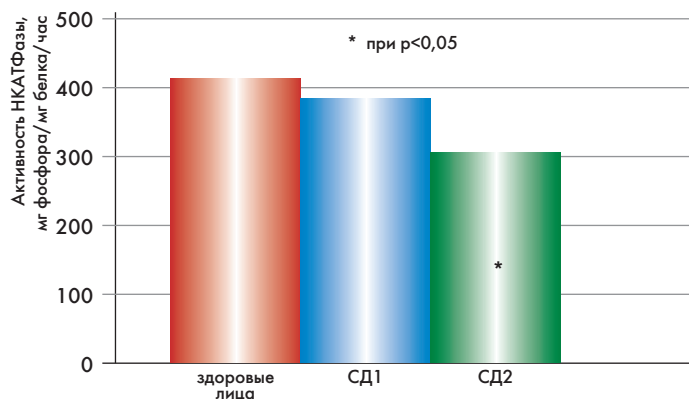


Рис. 2. Активность НКATФазы (мг фосфора/мг белка/час) в зависимости от уровня HbA_{1c}

лено выраженное снижение в группе больных СД1 (на 47%, $p < 0,05$) и СД2 (на 48,3%, $p < 0,05$), что указывало на дисфункцию эндотелия и соответствовало снижению НКATФ у этих пациентов. Активность НКATФ имела взаимосвязь с уровнем нитритов и нитратов крови – стабильных метаболитов оксида азота (СМОА), а также с АСЭ.

Исследование активности НКATФ в зависимости от пола (мужчины, женщины) и возраста (до 40 лет, старше 40 лет) обследованных лиц не выявило различий (рис. 1) среди больных СД1 и СД2 и здоровых лиц, что свидетельствует о ведущей роли метаболических нарушений в изменении активности фермента.

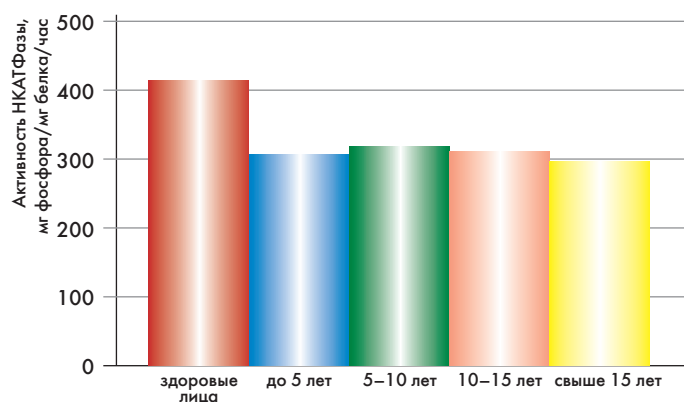


Рис. 3. Активность НКATФазы (мг фосфора/мг белка/час) в зависимости от длительности СД

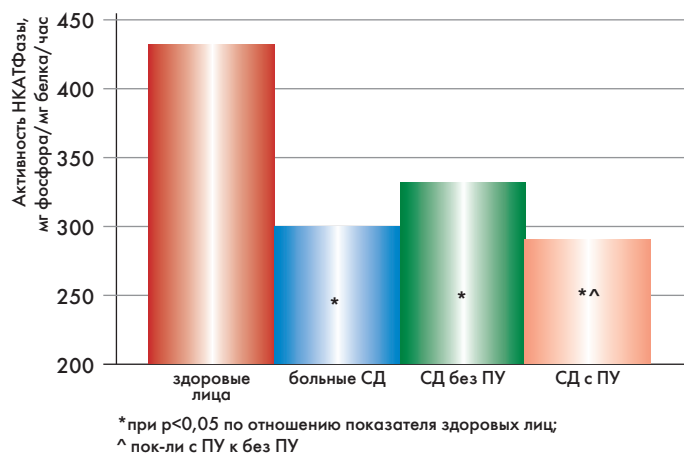


Рис. 4. Активность НКATФ эритроцитов в зависимости от тяжести диабетической нефропатии

Исследование зависимости активности НКATФ от уровня гликемии и метаболического контроля показало положительную корреляционную зависимость с HbA_{1c} ($r=0,34$), что свидетельствует о роли гипергликемии в нарушении активности фермента. При анализе результатов в зависимости от уровня HbA_{1c} выявлено более выраженное снижение активности фермента при высоких уровнях гликемии (рис. 2).

Активность фермента оставалась низкой при всех сроках заболевания. При этом с увеличением продолжительности диабета активность фермента достоверно снижалась, что, на наш взгляд, связано с основной причиной нарушения активности фермента – гипергликемией (рис. 3).

Независимо от уровня HbA_{1c} и большей длительности заболевания в группе больных СД1, активность НКАТФ эритроцитов была низкой у всех пациентов с СД и достоверно не различалась в зависимости от типа диабета, что, возможно, связано с наличием и тяжестью осложнений диабета.

Для изучения зависимости активности НКАТФ от наличия и тяжести диабетической нефропатии (ДН) анализ результатов проводили в зависимости от наличия протеинурии (ПУ) или отсутствия ее. Результаты показали большее снижение активности фермента с нарастанием тяжести поражения почек (рис. 4). Нарушение активности фермента, по-видимому, является отражением одного из многосторонних механизмов нарушения структурно-функциональных компонентов мембран при СД [8, 11].

Таким образом, полученные нами результаты позволили сформулировать следующие выводы:

1. Активность НКАТФ эритроцитов существенно снижена у больных СД1 и СД2; она не зависит от возраста и пола обследуемых лиц, снижена при любой длительности заболевания.

2. Установлена взаимосвязь активности НКАТФ эритроцитов с уровнем HbA_{1c} , фосфором мембран, активностью сиалидазы эритроцитов, уровнем нитритов и нитратов крови, что отражает степень метаболических нарушений при СД.

3. Имеется зависимость активности НКАТФ от наличия и тяжести диабетической нефропатии; при нарастании тяжести поражения почек активность фермента снижалась.

Авторы выражают благодарность профессору Philippe Vague и сотрудникам лаборатории «Эндокринология, диабет и метаболизм» Марсельского университета (Франция) за оказанную помощь в налаживании методики определения активности натрий-калиевой АТФазы.

Литература

1. Микаэлян Н.П., Князев Ю.А., Гурина А.Е.. Состояние цитоплазматических мембран при экспериментальном сахарном диабете. Вестник РГМУ 1998, №2 – С. 70–73.
2. Jannot M.F., Dufayet De La Tour D.T., Coste P. Vague Na/KATPase activity in Diabetic Patient. Metabolism, Vol 51, No3 (March), 2002; pp284–291.
3. Wahren J.; Ekberg K.; Jornvall H.; C-peptid is a bioactive peptid. Diabetologia(2007)50:503–509.
4. Данилова Л.А., Лопатина Н.И. Колориметрический метод определения гликозилированных гемоглобинов // Лаб. дело. – 1986. – №5. – С. 281–285.
5. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник/ Под ред. Меньшикова В.В. – М.: Медицина, 1987, 368 с.
6. Shamansurova ZM, Ergashova MJ, Akbarov ZS. Erythrocyte sialidase activity increase in patients with diabetes mellitus. Diabetes Nutr Metab. 1998;11:257–259.
7. Алексеев В.Н. Курс качественного химического полумикроанализа. М.: Госхимиздат, 1962, 584 с.
8. Goi G, Bairati C, Segalini G, et al. Alterations in the activity of several glycohydrolases in red blood cell membrane from type 2 diabetes mellitus patients. Metabolism. 1999;48:817–821.
9. Мерков А.М., Поляков Л.Е. Санитарная статистика (пособие для врачей). – Л.: Медицина, 1974, 384 с.
10. Moshage, H, Kok, B, Huizenga, JR, Jansen, PLM. (1995) Nitrite and nitrate determinations in plasma: a critical evaluation Clin Chem 41,892–896.
11. Mazzanti L, Faloia E, Rabini RA, et al. Diabetes mellitus induces red blood cell plasma membrane alterations possibly affecting the aging process. Clin Biochem. 1992;25:41–46.

Шамансурова З.М.	к.м.н., старший научный сотрудник НИИ Эндокринологии МЗ РУз, Ташкент. E-mail: shamansurova@yahoo.com
Мухамедова Ф.А.	к.м.н., старший научный сотрудник НИИ Эндокринологии МЗ РУз, Ташкент
Цой А.Г.	младший научный сотрудник НИИ Эндокринологии МЗ РУз, Ташкент
Ташманова А.Б.	младший научный сотрудник НИИ Эндокринологии МЗ РУз, Ташкент
Алиева А.В.	младший научный сотрудник НИИ Эндокринологии МЗ РУз, Ташкент
Ахрарова Н.А.	младший научный сотрудник НИИ Эндокринологии МЗ РУз, Ташкент