23. Новикова В.П., Азанчевская С.В., Петровский А.Н. 2008. Клинико-морфологические особенности НР-неассоциированного хронического гастрита у пациентов разных возрастных групп. Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. XV (4):48-51.
24. Новикова В.П., Бубнова Е.А. 2012. Хронический гастрит и заболевания щитовидной железы у детей. Детская медицина Северо-Запада. 3 (1) 75-84.
25. Звягин А.А. 2002. Аутоиммунный гастрит у детей. Рос. журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии (3):25-29.
26. Мартынова М.И., Сапелкина Л.В. 1996. Хронический атрофический гастрит А у детей, больных сахарным диабетом. Болезни органов пищеварения у детей. Питание здорового и больного ребенка: Материалы II конгресса педиатров России. – М.; Н.Новгород:153.
27. Новикова В.П. 2008. Этиопатогенетические особенности аутоиммунного хронического гастрита. Областная детская клиническая больница: Клинико-диагностические и организационные проблемы. Сборник научных трудов. Т4.-СПб:163-179.
28. De Block C.E., De Leeuw I.H., Bogers J.J. et al. 2003. Autoimmune gastropathy in type 1 diabetic patients with parietal cell antibodies: histological and clinical findings. Diabetes Care. 26 (1):82-8.
29. Новикова В.П., Аксенов О.А., Насыров Р.А., Крулевский В.А., Евстратова Ю.С. 2006. Герпетические инфекции при хроническом гастрите у лиц разного возраста. Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. СПб.(2):117-120.
30. Ткаченко Е.И., Новикова В.П., Абдул С.Ш., Аксенов О.А., Михеева Е.А., Гончарова Л.Б., Юрьев В.В., Евстратова Ю.С. 2005. Хроническая вирусная инфекция Эпштейна-Барра у детей, имеющих высокий уровень антител к Н +/К +-АТФ-азе париетальных клеток желудка в сыворотке крови. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.(4):78-81.
31. Новикова В.П., Абдул Саттар Ш., Юрьев В.В. и др. 2005. Антитела Н+К+/АТФ-азе париетальных клеток желудка и медленноперсистирующая герпетическая инфекция при хроническом гастрите у детей. Медлайн-Экспресс. 3 (179):33-35.
32. Волынец Г.В., Хавкин А.И., Филатов Ф.П., Астахова Н.И., Мурашкин В.Ю., Гаранжа Т.А., Ярославцева Н.Г. Заболевания верхних отделов органов пищеварения у детей с хронической Эпштейна-Барр вирусной инфекцией. Российский педиатрический журнал. 2004. № 6. С. 49-51.
33. Волынец Г.В., Беляев Д.Л., Виноградова Т.В., Мурашкин В.Ю., Бабаянц А.А., Шаповалова Т.Г., Семенов А.В. Подходы к лечению аутоиммунного гастрита у детей. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2007. Т. 52. № 6. С. 73.
34. Волынец Г.В., Хавкин А.И., Филатов Ф.П. 2004. К вопросу об этиологии аутоиммунного гастрита у детей. Медлайн. (8-9):6-8.
35. Крулевский В.А., Петровский А.Н., Аничков Н.М., Новикова В.П. Хронический гастрит и герпетические инфекции у лиц разного возраста. Архив патологии. 2010. Т. 72. № 1. С. 33-35.
36. Новикова В.П. Этиопатогенетические и клинико-морфологические особенности хронического гастрита в разном возрасте. диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук / ГОУВПО "Санкт-Петербургская государственная медицинская академия". Санкт-Петербург, 2009.
37. Новикова В.П., Крулевский В.А., Петровский А.Н. Эпштейн-Барр вирусная инфекция при нехеликобактерном хроническом гастрите у лиц разного возраста. Профилактическая и клиническая медицина. 2008. № 3. С. 87-90.

**Чернышева Е.Н., Панова Т.Н., Демидов, А.А., Абдрашитова А.Т., Дьякова О.Н.,
Ивлева Т.А., Жеребненко Е.В., Рабаданова Р.М.**

**Особенности процесса апоптоза и клинико-лабораторная характеристика
пациентов с метаболическим синдромом**

Астраханский ГМУ Минздрава России

НУЗ отделенческая больница на ст. Астрахань 1 ОАО «РЖД»

(Россия, Астрахань)

doi:10.18411/spc-15-02-2018-09

idsp: 000001:spc-15-02-2018-09

Актуальность

Апоптоз – это форма запрограммированной клеточной гибели, которая является физиологическим механизмом поддержания тканевого гомеостаза организма, путем устранения избыточных и функционально аномальных клеток [4, 12]. Одним из вариантов запуска процесса апоптоза является высокая концентрация белка р53. При нарастании содержания протеина р53 происходит увеличение количества клеток с морфологическими признаками апоптотической смерти, что позволяет рассматривать белок р53 в качестве индуктора и маркера апоптоза [1]. Данный белок способствует сохранению генетической однородности и стабильности [8, 11]. Если генетический аппарат клетки не поврежден, то белок р53 не активен. Регуляция программы апоптоза

нарушается при активации процессов перекисного окисления и/или недостаточности антиоксидантной системы [3, 9, 10, 14]. Такие заболевания как сердечно-сосудистые, сахарный диабет, злокачественные новообразования, тесно коррелируют с патологическими изменениями в механизмах апоптотического процесса, что является причиной его чрезмерного активирования или ингибирования [5].

В современной научной и практической медицине особое место занимает изучение метаболического синдрома (МС), поскольку он является основой для развития и прогрессирования «болезней цивилизации». По результатам скандинавского исследования Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study, у пациентов с МС риск развития ишемической болезни сердца (ИБС) в 4 раза выше, а смертность от ИБС в 3 раза выше по сравнению с пациентами без данных нарушений [13]. Не менее грозным осложнением МС является развитие сахарного диабета 2 типа - у пациентов с МС и преддиабетом риск развития сахарного диабета оказался самым высоким и составил 40%, что в 2,5 раза выше по сравнению с группой больных без МС [16]. Данная патология влечет за собой серьезные экономические затраты. На основании этого хочется сделать акцент на то, что МС рассматривается как серьезная медико-социальная проблема. В ранее проведенных нами исследованиях, был установлен факт высокой активности свободно – радикальных процессов и нарушения звена антиоксидантной защиты [7], что должно оказать воздействие на выработку белка р53 и процесс апоптоза.

На основании этого нами сформулирована цель исследования - изучение состояния регуляции процесса апоптоза, путем определения содержания белка р53 в сыворотке крови пациентов с метаболическим синдромом.

Материалы и методы

Проведение клинического исследования одобрено Региональным Независимым Этическим комитетом. Диагностика МС была основана на критериях, предложенных экспертами Российского кардиологического общества (2009г) [2]. В исследование не включали пациентов в возрасте старше 60 и моложе 30 лет, с хроническими заболеваниями в стадии обострения, тяжелой неконтролируемой артериальной гипертензией, аутоиммунными заболеваниями, заболеваниями системы крови, острыми бактериальными и вирусными инфекциями в ближайшие 3 месяца, злокачественными новообразованиями, беременных, с декомпенсацией сахарного диабета 2-го типа, сахарным диабетом 1-го типа, гипотиреозом, тиреотоксикозом, принимавших глюкокортикоиды, давностью хирургического вмешательства менее 6 месяцев.

Первоначально на условиях добровольного информированного согласия в исследование было включено 232 пациента с МС из которых на основании критериев исключения осталось 270 человек основной группы в возрасте 49,00 (41,00; 54,00) лет, которые были разделены на подгруппы: по индексу массы тела (ИМТ) - 181 пациент с ИМТ 30-39, 89 пациентов с ИМТ $\geq$ 40; по возрасту – 93 пациента от 30 до 44 лет (молодой возраст), 177 пациентов от 45 до 60 лет (средний возраст); по гендерным различиям – 162 мужчины и 108 женщин.

Группу контроля составили 70 человек без МС, сопоставимых по возрасту 47,0 (40,0; 52,0) лет - 27 человек (38,6%) молодого возраста и 43 человека (61,4%) среднего возраста и полу - 40 мужчин – 57,14% и 30 женщин – 42,86%..

Всем пациентам с МС и группе контроля проводили исследования соответствующие критериям диагностики. Кроме этого, всем определяли уровень инсулина сыворотки крови (мкЕд/мл) с помощью набора «Insulin AccuBind Elisa» методом ИФА, рассчитывали индекс инсулинорезистентности (НОМА- IR) по формуле = глюкоза (ммоль/л) x инсулин (мкЕд/мл)/ 22,5. Повышение данного показателя более 2,77 свидетельствовало о наличии инсулинорезистентности.

Как видно из таблицы 1, имеют место статистически значимые значения по всем исследуемым показателям между пациентами с МС и группой контроля, $p < 0,05$

Таблица 1

Характеристика клинико – лабораторных параметров пациентов с метаболическим синдромом и контрольной группы

Показатели, единицы измерения	Исследуемые группы	
	Контроль (n=70)	Больные с МС (n=270)
Индекс массы тела, кг/м ²	24,52 (21,34; 24,75)	33,91 (31,82; 40,38) *
Окружность талии, см	88,0 (76,0; 92,0)	120,5 (111,0; 133,0) *
Окружность бедер, см	95,0 (93,0; 98,0)	119,0 (110,0; 135,0) *
Глюкоза (ммоль/л)	4,7 (4,5; 4,9)	5,4 (5,1; 5,9) *
Инсулин (мкЕд/мл)	10,13 (8,9; 11,6)	36,92 (29,46; 52,44) *
НОМА- IR	2,1 (1,78; 2,5)	8,9 (6,7; 13,7) *
Общий холестерин (ммоль/л)	4,5 (4,1; 4,8)	6,5 (6,05; 7,15) *
Триглицериды (ммоль/л)	1,33 (1,21; 1,45)	2,48 (2,12; 3,41) *
ХС ЛПНП (ммоль/л)	2,3 (2,1; 2,4)	4,1 (3,7; 4,6) *
ХС ЛПВП (ммоль/л)	1,6 (1,44; 1,73)	1,05 (0,9; 1,4) *
ХС ЛПОНП (ммоль/л)	0,6 (0,56; 0,67)	1,2 (0,97; 1,55) *
Коэффициент атерогенности	1,8 (1,77; 1,9)	4,41 (3,6; 5,35) *
Систолическое артериальное давление, мм.рт.ст.	110,0 (107,0; 117,0)	151,0 (147,0; 155,0) *
Диастолическое артериальное давление, мм.рт.ст.	70,0 (65,0; 74,0)	95,0 (94,0; 100,0) *

* $p < 0,05$ - при сравнении исследуемой группы и контроля

Процесс апоптоза оценивали по концентрации белка p53 сыворотки крови (U/мл) с помощью набора фирмы Bender MedSystems (Австрия) методом ИФА.

Статистический анализ результатов проводили на IBM с помощью пакета программ STATISTICA 7,0 (StatSoft, версия 7, USA). Количественные показатели были проверены на нормальность с использованием критерия Шапиро – Уилка. Распределение показателей отличается от нормального, поэтому данные представлены в виде Me (LQ;UQ), где Me – медиана – центральное значение признака в выборке, справа и слева от которого расположены равные количества объектов исследования; LQ – нижний квартиль; UQ – верхний квартиль. Межгрупповые отличия оценивали непараметрическим критерием Манна – Уитни. Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

При анализе полученных данных было выявлено, что в основной группе пациентов уровень белка p53 составил 1,59 (1,36; 1,91) U/мл, что в 1,6 раза выше, чем в контрольной группе - 0,96 (0,91; 0,99) U/мл, $p < 0,05$.

Содержание белка p53 достоверно различается в подгруппах по ИМТ: 1,48 (1,29; 1,6) U/мл и 2,0 (1,86; 2,28) U/мл у пациентов с ИМТ ≥ 40 и с ИМТ < 40 соответственно, а также с контролем - 0,96 (0,91; 0,99), где $p < 0,05$ для обеих подгрупп.

Далее мы рассмотрели содержание данного белка в подгруппах основной и контрольной групп в зависимости от возраста и пола (рис.1).

У пациентов основной группы молодого возраста содержание белка p53 достоверно ниже, чем у пациентов среднего возраста - 1,51 (1,4; 1,9) U/мл и 1,68 (1,4; 1,9) U/мл, соответственно, ($p < 0,05$). Значимых различий по концентрации белка p53 в подгруппах контроля по возрасту не выявлено: 0,95 (0,9; 0,98) U/мл и 0,96 (0,91; 0,99) U/мл, ($p > 0,05$). Достоверных отличий по данному показателю между мужчинами и женщинами в основной и контрольной группах не выявлено.

При проведении корреляционного анализа в основной группе самые сильные достоверные корреляционные связи обнаружены между белком p53 и индексом массы тела, окружностью талии и индексом НОМА – IR (табл. 2).

Рис. 1. Содержание белка p53 в сыворотке крови в зависимости от возраста и гендерных различий основной и контрольной групп

Таблица 2

Корреляционный анализ белка p53 и клиничко – лабораторных показателей в основной группе

Коррелируемые показатели		Коэффициент корреляции	Уровень значимости
Основные клиничко-лабораторные показатели	p53/индекс массы тела	+0,85	0,001
	p53/окружность талии	+0,8	0,005
	p53/систолическое артериальное давление	+0,3	0,06
	p53/диастолическое артериальное давление	+0,41	0,07
	p53/число сердечных сокращений	+0,39	0,38
	p53/общий холестерин	+0,45	0,1
	p53/триглицериды	+0,52	0,045
Углев. обмен	p53/инсулин	+0,7	0,003
	p53/НОМА – IR	+0,84	0,005
	p53/глюкоза	+0,43	0,99
Окислит. стресс	p53/гидроперекиси липидов	+0,71	0,036
	p53/перекись водорода	+0,75	0,003

Статистической значимости не имеют связи между белком p53 и клиничко-лабораторными показателями: уровнями систолического и диастолического артериального давления, числом сердечных сокращений, общим холестерином, триглицеридами, глюкозой.

Хочется отметить наличие сильной прямой связи между показателями окислительного стресса и уровнем белка p53. Мы полагаем, что этому может быть следующее объяснение – избыточное количество свободных радикалов, образующихся у пациентов с МС, являются неспецифическим фактором запуска апоптоза. Белок p53

находит повреждения ДНК и в определённых ситуациях приводит в активное состояние гены, отвечающие за репарацию ДНК. Если происходит дальнейшее накопление повреждений в цепи ДНК, то белок p53 способствует угнетению выработки белков клеточного деления, при достижении очень высокого уровня повреждений ДНК происходит активация программы гибели клетки [15].

В наши дни активно обсуждается вопрос о роли апоптоза, и в частности белка p53, в процессе старения. Скулачев В.П. в своих работах показывает, что старение - это результат гибели очень большого количества клеток и недостаточной репарации, рождения новых клеток, при этом погибшие клетки замещаются соединительной тканью. Таким образом, апоптоз основных, ключевых клеток организма, уничтожение которых способствует снижению функциональной активности - это и есть процесс старения. Апоптоз принимает участие в процессе старения 2-мя возможными способами. Один из них направлен на поддержание тканевого постоянства и реализуется за счет апоптоза стареющих клеток, которые заменяются в результате клеточного деления. Второй способ – патологический, т.к. происходит удаление постмитотических клеток, которые не могут быть заменены и при этом старение развивается преждевременно [6]. Данный факт подтверждает результаты, полученные нами ранее – у пациентов с метаболическим синдромом старение развивается преждевременно, при этом у данных лиц календарный возраст опережает биологический.

Заключение

Доказано участие индуктора апоптоза – белка p53 в патогенезе метаболического синдрома - содержание белка p53 у пациентов с метаболическим синдромом в 1,6 раза выше, чем у лиц без такового, оно прямо коррелирует с индексом массы тела, объемом талии и индексом НОМА-IR.

1. Белолопенко И.А. Клинико-диагностическое значение индуктора апоптоза – белка p53, интерлейкинов 8 и 10 в развитии преждевременного старения у работников Астраханского газоперерабатывающего завода: Автореф. дис. канд. мед. наук - Астрахань, 2011. - 23 с.
2. Диагностика и лечение метаболического синдрома. Российские рекомендации (второй пересмотр). Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2009. - № 8(6). Приложение 2.
3. Лильин Е. Т., Иваницкая И.Н. Роль гипоксии как пускового механизма апоптоза при некоторых неврологических заболеваниях у детей // Вопросы современной педиатрии. - 2003. - Т. 2, № 5. - С. 74 - 79.
4. Лушников Е.Ф., Абросимов А.Ю. Гибель клетки (апоптоз) - М., Медицина, 2001. - 192 с.
5. Меньшикова Е. Б., Ланкин В.З., Зенко Н.К. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты /. - М.: Слово, 2006. - 556 с.
6. Скулачев В.П. Старение организма - частный случай фенотоза // Соросовский образовательный журнал. - 2001. - Т.7. - №10. - С. 7 - 11.
7. Чернышева Е.Н., Панова Т.Н. Окислительный стресс в рамках метаболического синдрома // Российский кардиологический журнал. – 2013. - №2 (100), приложение 2. - С. 126 - 127.
8. Ярилин, А.А. Апоптоз: природа феномена и его роль в норме и при патологии / А.А. Ярилин // Актуальные проблемы патофизиологии. - М.: Медицина, 2001. - С. 13-56.
9. Haddad J. J. Pharmacoredox regulation of cytolcine-related pathways: from receptor signaling to pharmacogenetics // Free Radical Biol. Med. - 2002. - V. 33. - P. 907 - 926.
10. Harada C. K., Nakamura C. Role of Apoptosis Signal-Regulating Kinase 1 Stress-Induced Neural Cell Apoptosis in Vivo // Am. J. Pathol. - 2006. - V. 168 (1). - P. 262 - 269.
11. Joza N., Kroemer G., Penninger J. M. Genetic analysis of the mammalian cell death machinery // Trends Genet. - 2002. - V. 18 (3). - P. 142 -149.
12. Krijnen P.A.J., Nijmeijer R., Meijer C.J.L.M. Apoptosis in myocardial ischaemia and infarction // J. Clin. Pathol. - 2002. - V. 55 (11). - P. 801 - 811.
13. Lakka H.M., Laaksonen D.E., Lakka T.A., Niskanen L.K. et al. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle – aged men // JAMA. - 2002. - V. 21. - P. 2709 - 2716.
14. Lin M. T., Beal M. F. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases // Nature. - 2006. - V. 443 (19). - P. 787 - 795.
15. Polyak K., Xia Y, Zweier J.L. The model for p53-induced apoptosis // Nature. - 1997. - V. 389. - P. 300 - 305.
16. Valensi P. All in one. Monde Moderne (France). - 2004. - p. 71 - 110, 184 - 209.