

## Возрастные особенности процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у девушек и женщин — этнических тофов

*Колесникова Л.И., Даренская М.А., Долгих В.В., Шенин В.А., Дутова С.В., Гребенкина Л.А., Долгих М.И.*

## Age features of lipid peroxidation and antioxidant protection processes in girls and women tofalar ethnic groups

*Kolesnikova L.I., Darenskaya M.A., Dolgikh V.V., Shenin V.A., Dutova S.V., Grebenkina L.A., Dolgikh M.I.*

Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН, г. Иркутск

© Колесникова Л.И., Даренская М.А., Долгих В.В. и др.

Представлено исследование особенностей процессов перекисного окисления липидов — антиоксидантной защиты (ПОЛ—АОЗ) у девушек и женщин трех возрастных групп, проживающих в Тофаларии (этнические тофы). Используются спектрофотометрические, флюорометрические и статистические (с помощью параметрического *t*-критерия Стьюдента и коэффициента Фишера при дисперсионном анализе) методы исследования. Установлено, что в пубертатный период происходит снижение активности процессов ПОЛ—АОЗ. В возрасте 19—30 лет отмечается повышение концентрации первичных и вторичных продуктов липопероксидации и ретинола. Старший возрастной период характеризуется повышенной интенсивностью перекисных процессов.

**Ключевые слова:** тофы, возраст, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита.

Research objective: studying lipid peroxidation and antioxidant protection processes in girls and women of 3 age groups living in Tofalariya (ethnic tofalars). Spectrophotometric, fluorometric and statistic methods (Student's parametrical criterion and Fisher's coefficient) were used. It was determined that decrease of lipid peroxidation and antioxidant protection processes activity takes place in puberty period. We marked increase concentration of lipid peroxidation products and retinol. The elder age period is characterized by the raised intensity of peroxidation processes.

**Key words:** tofalars, age, lipid peroxidation, antioxidant protection.

УДК 612.397:577.125:616-053.7-055.2-054

### Введение

Сохранение здоровья человека становится все более актуальной задачей и рассматривается в неразрывном единстве с условиями окружающей среды, образом жизни и биологическими особенностями конкретной популяции людей. В настоящее время растет интерес к изучению особенностей неспецифических реакций организма, лежащих в основе адаптационно-компенсаторных механизмов, протекающих как у здоровых людей, так и при патологических состояниях в

зависимости от этнической принадлежности [2, 3, 9]. Длительное проживание малочисленных народов в обособленных экологических условиях выработало через нейроэндокринные регуляторные механизмы особенности метаболизма, соответствующие данному региону [3]. Однако нарушение векового ритма жизни, традиционного уклада, питания, низкая физическая активность и другие факторы риска, связанные с современным образом жизни, характерные в настоящее время для малых этносов России [1], нередко служат причинами снижения адаптивного потенциала челове-

ка и способствуют развитию заболеваний [9, 11]. Выяснение особенностей процесса перекисного окисления липидов — антиоксидантной защиты (ПОЛ—АОЗ) в различные возрастные периоды у представительниц малых народностей представляет несомненную важность для раскрытия закономерностей формирования адаптивных реакций на клеточном уровне и прогноза развития различных заболеваний. Соответственно, целью исследования явилось изучение особенностей процессов ПОЛ—АОЗ у девушек и женщин, проживающих в Тофаларии.

## Материал и методы

В исследование были включены 37 девушек и женщин в возрасте от 12 до 50 лет, проживающих в пос. Алыгджер Нижнеудинского района Иркутской области (этнические тофы). В соответствии с возрастной классификацией периодизации жизни человека все обследуемые были разделены на три возрастные группы: 1-я — 13 человек в возрасте 12—18 лет (средний возраст  $13,8 \pm 0,5$  года), 2-я — 13 человек в возрасте 19—30 лет (средний возраст  $24,3 \pm 1,2$  года) и 3-я — 11 человек в возрасте 31—50 лет (средний возраст  $42,7 \pm 2,4$  года). Оценка показателей процессов ПОЛ—АОЗ проведена в лаборатории патофизиологии репродукции НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН. В работе соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, 2000 ред.)).

Материалом исследования служили сыворотка крови и гемолизат эритроцитов. Забор крови проводили из локтевой вены в соответствии с общепринятыми требованиями. Интенсивность процессов ПОЛ—АОЗ оценивали по содержанию его субстратов с сопряженными двойными связями (ДС), а также продуктов — диеновых конъюгатов (ДК), кетодиенов (КД) и сопряженных триенов (СТ) [4]. Содержание ТБК-активного продукта ПОЛ — малонового диальдегида (МДА) определяли флюориметрическим методом [5] и рассчитывали индекс окисления МДА/ДК. Об активности системы антиоксидантной защиты судили по общей антиокислительной активности (АОА) [8], а также по содержанию ее компонентов ( $\alpha$ -токоферола, ретинола [13], восстановленного и окисленного глутатиона (GSH и GSSG) [14], активности супероксиддисмутазы

(СОД) [15]. Измерения проводили на спектрофотометре Shimadzu RF-5000 (Япония).

Для определения близости к нормальному закону распределения количественных признаков использовали визуально-графический метод и критерии согласия Колмогорова—Смирнова с поправкой Лиллиефорса и Шапиро—Уилки. Проверка равенства генеральных дисперсий осуществлялась с помощью *F*-критерия Фишера. Для представления количественных данных приводили описательные статистики: среднее выборочное *M* и стандартное (среднеквадратичное) отклонение *s*. При анализе межгрупповых различий для независимых выборок по каждому из количественных признаков использовали параметрический *t*-критерий Стьюдента. Для оценки внутригрупповой взаимосвязи количественных признаков применялся корреляционный анализ Пирсона. Критический уровень значимости принимался равным 5% ( $p = 0,05$ ). В исследовании использовались вычислительные процедуры методов математической статистики, реализованные в лицензионном интегрированном статистическом пакете комплексной обработки данных Statistica 6.1 (StatSoft Inc., США (правообладатель лицензии — Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН)).

## Результаты

Результаты исследования состояния процесса ПОЛ—АОЗ у девушек и женщин различных возрастных групп представлены в таблице. Показано, что содержание в сыворотке крови субстратов с сопряженными ДС во всех группах значимо не отличалось. При этом происходило статистически значимое накопление первичных продуктов липопероксидации — ДК на 46% ( $p = 0,005$ ) во 2-й группе и на 23% ( $p = 0,030$ ) в 3-й возрастной группе в сравнении с 1-й. Содержание вторичных продуктов ПОЛ — КД и СТ также значимо увеличивалось в 1,52 раза ( $p = 0,019$ ) во 2-й и в 2,08 раза ( $p = 0,005$ ) в 3-й группе женщин по отношению к 1-й возрастной группе. При сравнении концентраций продуктов ПОЛ 2-й и 3-й групп изменения были выявлены по *F*-критерию, который показал более широкий диапазон дисперсий уровня КД и СТ ( $p = 0,037$ ) в 3-й группе. Статистически значимых различий по уровню конечного продукта липопероксидации — МДА между группами не установлено, однако оценка соотношения МДА/ДК показала увеличение данного

индекса в 3-й группе в 1,41 раза ( $p = 0,046$ ) в сравнении со 2-й группой.

При рассмотрении компонентов системы АОЗ не выявлено статистически значимых изменений общей АОА крови, активности СОД, концентрации  $\alpha$ -токоферола. В то же время уровень неферментативного антиоксиданта — ретинола значимо повышался на 44% ( $p = 0,035$  и  $p = 0,029$ ) в старших возрастных группах по сравнению с 1-й группой. Дисперсионный анализ показал увеличение диапазона изменений восстановленного глутатиона в 3-й возрастной группе в отношении 1-й ( $p = 0,039$ ) и 2-й ( $p = 0,0005$ ) групп при базальном уровне окисленного глутатиона.

Сравнительная характеристика показателей системы ПОЛ—АОЗ у девушек и женщин — этнических тофов в различные возрастные периоды ( $M \pm m$ )

Показатель	Возрастная группа			Критерий значимости различий	
	1-я	2-я	3-я	<i>t</i>	<i>F</i>
ДС, отн. ед.	2,58 ± 0,61	3,01 ± 0,67	2,97 ± 0,74		
ДК, мкмоль/л	1,98 ± 0,38	2,90 ± 1,00	2,44 ± 0,59	$p < 0,05$ (1—2) (1—3)	$p < 0,05$ (1—2) (1—3)
КД и СТ, отн. ед.	0,25 ± 0,10	0,38 ± 0,16	0,52 ± 0,30	$p < 0,05$ (1—2) (1—3)	$p < 0,05$ (2—3)
МДА, мкмоль/л	1,20 ± 0,46	1,23 ± 0,49	1,49 ± 0,36		
АОА, усл. ед.	14,94 ± 5,14	14,11 ± 5,59	16,92 ± 4,71		
$\alpha$ -Токоферол, мкмоль/л	7,71 ± 2,84	8,96 ± 4,81	8,90 ± 5,11		
Ретинол, мкмоль/л	0,43 ± 0,19	0,62 ± 0,23	0,62 ± 0,21	$p < 0,05$ (1—2) (1—3)	
СОД, усл. ед.	1,81 ± 0,04	1,81 ± 0,06	1,83 ± 0,03		
GSH, мкмоль/л	2,06 ± 0,24	2,16 ± 0,15	1,90 ± 0,46		$p < 0,05$ (1—3) (2—3)
GSSG, мкмоль/л	2,00 ± 0,31	2,14 ± 0,31	2,13 ± 0,21		
МДА/ДК	0,63 ± 0,29	0,46 ± 0,21	0,65 ± 0,25	$p < 0,05$ (2—3)	

Для определения функциональных изменений был применен корреляционный анализ Пирсона. Проведенные исследования показали наличие в группе девушек пубертатного возраста восьми статистически значимых корреляционных связей (четырёх положительных, четырёх отрицательных). Так, в системе ПОЛ—АОЗ отмечались зависимости субстратов с сопряженными двойными связями с ДК ( $r = +0,77$ ;  $p = 0,002$ ), с общей АОА ( $r = +0,70$ ;  $p = 0,008$ ), ретино-

лом ( $r = -0,67$ ;  $p = 0,012$ ). Установлены тесные корреляционные связи первичных продуктов липопероксидации с компонентами системы АОЗ: ДК — АОА ( $r = +0,76$ ;  $p = 0,001$ ), ДК — ретинол ( $r = -0,74$ ;  $p = 0,004$ ), ДК — СОД ( $r = -0,60$ ;  $p = 0,031$ ). В системе АОЗ были выявлены корреляции ретинола с АОА ( $r = -0,62$ ;  $p = 0,023$ ) и СОД ( $r = +0,59$ ;  $p = 0,032$ ). У женщин 2-й группы количество корреляций значительно снижается. В данной группе зарегистрировано две статистически значимые взаимосвязи: МДА — АОА ( $r = +0,68$ ;  $p = 0,011$ ) и GSSG — СОД ( $r = +0,55$ ;  $p = 0,050$ ). Старшая возрастная группа характеризовалась наличием пяти значимых зависимостей (трех положительных и двух отрицательных). Были показаны взаимосвязи ДС с ДК ( $r = +0,74$ ;  $p = 0,010$ ), ДС с GSSG ( $r = -0,66$ ;  $p = 0,028$ ), ДК с GSSG ( $r = -0,79$ ;  $p = 0,004$ ), АОА с ретинолом ( $r = +0,72$ ;  $p = 0,013$ ), GSSG с  $\alpha$ -токоферолом ( $r = +0,70$ ;  $p = 0,016$ ).

## Обсуждение

Тофалария расположена на северо-востоке Восточных Саян (Прибайкалье) на западе Иркутской области на высоте от 2 200 до 2 600 м над уровнем моря. Это место проживания одной из самых малочисленных этнических групп — тофов (или тофаларов). Тофалары как этнос находятся, безусловно, в критической фазе этнического развития. Невысокая численность, утрата многих элементов традиционной культуры, рост количества смешанных браков создают предпосылки к интенсивной метисации, ускорению ассимилятивных процессов, этническая граница популяции становится все менее четкой [10, 11].

При анализе результатов обследования девушек и женщин — этнических тофов прежде всего обращает на себя внимание интенсификация процесса ПОЛ—АОЗ у представительниц старших возрастных групп. Так, 2-я и 3-я возрастные группы отличались от 1-й высокими значениями первичных (ДК) и вторичных (КД и СТ) продуктов ПОЛ, кроме того, в возрасте старше 30 лет имело место повышение соотношения МДА/ДК. Результаты согласуются с литературными [4], а также полученными ранее данными относительно возрастных изменений процессов ПОЛ—АОЗ в группах девушек и женщин европейской расы [6]. Согласно сведениям литературы [3, 10], характер питания также определяет качественный состав липидов биологических мембран, в которых растет доля холесте-

рина и других слабоокисляющихся липидов, что влечет за собой увеличение продуктов ПОЛ.

Известно, что концентрация жирорастворимых витаминов с возрастом увеличивается, что объясняется возрастным повышением уровня липидов в крови [6, 13]. В группах тофов содержание ретинола во 2-й и 3-й группах значимо повышается, что, возможно, связано с его антиоксидантной ролью. Кроме того, ретинол значительно усиливает антиоксидантное действие  $\alpha$ -токоферола, обеспечивая стационарный уровень последнего [12]. Содержание  $\alpha$ -токоферола в группах существенно не отличалось. В то же время уровень ретинола соответствует нижней границе нормы (0,50—2,27 мкмоль/л), что может свидетельствовать о скрытом гиповитаминозе тофов. Уровень витамина А в плазме, как правило, начинает снижаться тогда, когда его концентрация в печени падает до 0,7 мкмоль/г ткани. Кроме того, был зарегистрирован широкий диапазон изменений GSH в 3-й группе, что говорит о разной степени реактивности у женщин-тофов.

Анализ функциональных связей в трех группах показал большое разнообразие корреляций в 1-й группе. Зависимости показателя ДС с общей АОА и ретинолом могут свидетельствовать об активации системы АОЗ в ответ на повышение интенсивности процессов окисления субстратов. В ответ на увеличение субстратов с сопряженными двойными связями происходит увеличение диеновых конъюгатов, что влечет за собой активацию АОА (связи ДК с общей АОА, СОД и ретинолом). Большинство связей в младшей возрастной группе обнаруживает жирорастворимый антиоксидант — ретинол. Вероятно, он вносит основной вклад в общую АОА сыворотки крови, что наряду с супероксиддисмутазной активностью оказывает существенное ингибирующее влияние на процессы перекисидации липидов — в данной группе они регистрируются на низком уровне.

Вторая возрастная группа по сравнению с 1-й характеризовалась значительным снижением количества функциональных зависимостей. Происходит потеря корреляций ДС и ДК с антиоксидантами. В данной группе имеет место связь токсичных продуктов ПОЛ—МДА с общей АОА, что, вероятно, обуславливало торможение процессов липопероксидации на стадии конечных продуктов. Взаимосвязь между СОД и GSSG у женщин данной группы подтверждает мне-

ние о том, что взаимодействие GSH с органическими радикалами эффективно только в условиях удаления супероксидного анион-радикала [12], поэтому глутатион образует с СОД своеобразную антиоксидантную систему. В старшей возрастной группе обнаруживались зависимости субстратов с сопряженными двойными связями и ДК. Взаимосвязи окисленной формы глутатиона с ДС и ДК указывали на недостаточную антиоксидантную активность сыворотки крови. Установленные зависимости АОА с ретинолом и  $\alpha$ -токоферола с GSSG также не играют существенной роли в ограничении процессов липопероксидации вследствие повышения вторичных продуктов ПОЛ.

## Заключение

Таким образом, были установлены особенности изменений процессов липопероксидации в различные возрастные периоды у девушек и женщин — этнических тофов. Пубертатный период у девушек-тофов характеризуется низкой активностью липоперекисных процессов, что может свидетельствовать о минимальном воздействии токсических форм кислорода на клеточные мембраны. В возрасте 19—30 лет отмечается повышение концентрации первичных, вторичных продуктов ПОЛ и ретинола, происходит потеря межсистемных взаимосвязей. Старший возрастной период характеризуется повышенной интенсивностью перекисных процессов, появлением новых корреляционных связей. Несомненно, в группах женщин — этнических тофов старшего возраста обосновано назначение различного комплекса антиоксидантов, так как коррекция нарушений в системе ПОЛ—АОЗ должна являться неотъемлемой частью профилактики различных патологических состояний.

## Литература

1. Абрютин Л.И., Зубов Л.А. Коренные малочисленные народы Севера России: проблемы здоровья // Международный полярный год: достижения и перспективы развития циркумполярной медицины: материалы Всерос. науч.-практ. конф. 17—19 июня 2009 г. Архангельск, 2009. С. 17—20.
2. Бардымова Т.П. Этнические аспекты сахарного диабета у народов Прибайкалья: автореф. дис. ... д-ра. мед. наук. Иркутск, 2007. 37 с.
3. Влоцинский П.Е., Род А., Потеряева О.Н., Поляков Л.М. Анализ состояния липидного обмена в группах инуитов // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. 1998. № 3 (89). С. 100—104.
4. Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г. и др.

- Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови // *Вопр. мед. химии*. 1989. С. 127—131.
5. *Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Мажуль Л.М.* Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой // *Вопр. мед. химии*. 1987. № 1. С. 118—122.
  6. *Даренская М.А., Колесникова Л.И., Бардымова Т.П. и др.* Закономерности изменений показателей процесса перекисидации липидов у практически здоровых в различные периоды становления репродуктивной системы // *Бюл. ВСНЦ СО РАМН*. 2006. № 1 (47). С. 119—122.
  7. *Журавлёва Т.Д., Суплотов С.Н., Киянюк Н.С. и др.* Возрастные особенности свободнорадикального окисления липидов и антиоксидантной защиты в эритроцитах здоровых людей // *Клинич. лаб. диагностика*. 2003. № 8. С. 17—18.
  8. *Клебанов Г.И., Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О. и др.* Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов // *Лаб. дело*. 1988. № 5. С. 59—62.
  9. *Колесникова Л.И., Бардымова Т.П., Петрова В.А. и др.* Этнические особенности липидного и углеводного обмена у больных сахарным диабетом 1 типа // *Бюл. ВСНЦ СО РАМН*. 2006. № 1 (47). С. 127—130.
  10. *Рассадин И.В.* Хозяйство и культура тофаларов. Улан-Удэ: БНЦ СО РАН, 2005. 203 с.
  11. *Суляндзига Р.В. и др.* Коренные малочисленные народы Севера, Сибири и Дальнего Востока Российской Федерации. Обзор современного положения. М., 2003. 142 с.
  12. *Суханова Г.А., Серебров В.Ю.* Биохимия клетки. Томск: Чародей, 2000. 154 с.
  13. *Черняускене Р.Ч., Варшкявичене З.З., Грибаускас П.С.* Одновременное определение концентраций витаминов Е и А в сыворотке крови // *Лаб. дело*. 1984. № 6. С. 362—365.
  14. *Hisin P.J., Hilf R.* Fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues // *Anal. Biochem*. 1976. V. 74, № 1. P. 214—226.
  15. *Misra H.P., Fridovich I.* The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase // *J. Biol. Chem*. 1972. V. 247. P. 3170—3175.

Поступила в редакцию 23.11.2009 г.

Утверждена к печати 17.03.2010 г.

#### Сведения об авторах

**Л.И. Колесникова** — д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАМН, директор НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (г. Иркутск).

**М.А. Даренская** — канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник лаборатории патофизиологии репродукции НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (г. Иркутск).

**В.В. Долгих** — д-р мед. наук, профессор, зам. директора по науке НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (г. Иркутск).

**В.А. Шенин** — д-р биол. наук, руководитель лаборатории генетико-биохимических проблем онтогенеза НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (г. Иркутск).

**С.В. Дутова** — мл. науч. сотрудник лаборатории генетико-биохимических проблем онтогенеза НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (г. Иркутск).

**Л.А. Гребенкина** — канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник лаборатории патофизиологии репродукции НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (г. Иркутск).

**М.И. Долгих** — канд. биол. наук, науч. сотрудник лаборатории патофизиологии репродукции НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (г. Иркутск).

#### Для корреспонденции

**Даренская Марина Александровна**, тел. 8-964-227-5272, e-mail: mops\_my@front.ru