УДК 616.379-008.64-07:616.154:577:17

ПОВЫШЕНИЕ ОБЩЕЙ КОНЦЕНТРАЦИИ КАТИОНОВ ЦИНКА И СНИЖЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ЛАБИЛЬНОГО ЦИНКА В КРОВИ БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ ТИПА I

Гарипова М.И., Ильина О.С., Буторина О.Л., Веселов С.Ю., Шигапова А.И., Новоселова Е.И., Гарипов О.С., Зинатуллина Л.Г., Цветков В.О.

Башкирский государственный университет, Уфа, e-mail: margaritag@list.ru

Показано, что общая концентрация катионов цинка в крови больных сахарным диабетом выше, чем в крови здоровых доноров: среднее значение концентрации цинка в крови больных диабетом составило 34,3 ± 1,26 мкМоль/л, в крови здоровых доноров – 23,6 ± 1,32 мкМоль/л ($t = –3,66$; $p = 0,0007$; $F = 3,42$; $p = 0,008$). В то же время концентрация несвязанных с белком катионов цинка (лабильного цинка) в крови больных сахарным диабетом ниже, чем в норме (0,98 ± 0,036 мкМоль/л при диабете по сравнению с 1,62 ± 0,093 мкМоль/л в норме, $Z = –4,14$; $p = 0,000034$). Таким образом, по нашим данным, в крови больных сахарным диабетом происходит повышение общей концентрации катионов цинка с одновременным снижением концентрации цинка в лабильной форме, что указывает на увеличение связывания катионов цинка с белками крови в крови больных инсулинозависимым сахарным диабетом. На основе экспериментальных данных было высказано предположение о том, что увеличение цинк-связывающей способности белков крови больных сахарным диабетом связано с изменением их состава, а именно с появлением в крови больных диабетом белков, связанных с развитием воспаления, в том числе α_1-кислого гликопротеина. Вероятно, повышение общей концентрации катионов цинка в плазме крови больных сахарным диабетом направлено на компенсацию дефицита лабильного цинка, но в обследованной нами группе больных не достигает своей цели.

Ключевые слова: катионы цинка в крови человека, лабильный и связанный с белками цинк, сахарный диабет, α_1-кислый гликопротеин

THE INCREASING OF TOTAL ZINC CATION CONCENTRATION AND THE DECREASING OF LABILE ZINC CONCENTRATION IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS TYPE I

Garipova M.I., Ilina O.S., Butorina O.L., Veselov S.Y., Shigapova A.I., Novoselova E.I., Garipov O.S., Zinatullina L.G., Tsvetkov V.O.

Bashkir State University, Ufa, e-mail: margaritag@list.ru

It's shown that the total zinc concentration in the diabetic blood is more, than that in healthy donors (mean zinc concentration in the blood of patients with diabetes was 34,3 ± 1,26 mkmol/l, while in the blood of healthy donors – 23,6 ± 1,32 mkmol/l, $T = –3,66$; $p = 0,0007$; $F = 3,42$, $p = 0,008$). At the same time the concentration of unbound with protein zinc (mobile zink) in the blood of patients with diabetes was significantly lower than in healthy donors (mean value of the index in the blood of people with diabetes was 0,98 ± 0,036 mkmol/l, while in the blood of healthy donors – 1,62 ± 0,093 mkmol/L, $Z = –4,14$; $p = 0,000034$). Thus, according to our data, in the blood of people with diabetes increased total zinc concentration accompanied with zinc in mobile form reducing, which indicates an increasing of zinc binding to blood proteins in insulin-dependent diabetes mellitus patients blood. On the basis of experimental data it has been suggested that the increased protein zinc-binding capasity in diabetes due to the change in it's composition, namely, the emergence of proteins associated with the inflammatory response, including α 1-acid glycoprotein. Probably, increasing of the total concentration of zinc cations in the diabetes blood is aimed to compensation of mobile zinc deficiency, but in studied patient's group not reaches their goal.

Keywords: zinc cations in human blood, mobile and protein-bound zinc, diabetes mellitus, α_1 –glycoprotein

Катионы цинка принимают важное участие в метаболизме инсулина, они необходимы для формирования осмотически стабильных гексамеров гормона в гранулах β-клеток [5]. Мембраны клеток островков Лангерганса содержат трансмембранные молекулы цинкового насоса, регулирующего его метаболизм в клетках поджелудочной железы [9]. О тесной взаимосвязи продукции инсулина с катионами цинка говорит тот факт, что на основании присутствия цинка в 10–15 % гранул α-клеток было сделано предположение, нашедшее экспериментальное подтверждение, об образовании инсулина также и этим типом клеток наряду с глюкагоном [6]. Важность присутствия цинка в поджелудочной железе для продукции инсулина подтверждается тем, что обеднение ее цинком приводит к явному диабету, при инсулинзависимом диабете содержание цинка в β-клетках островкового аппарата снижается на 50 % [8]. Kim и соавторы высказали предположение о том, что выход цинка из секреторных гранул может быть причиной гибели β-клеток, особенно при гиперинсулинемии [7]. Доказана роль катионов цинка во взаимодействии инсулина с транспортными белками крови [2]. Следовательно, возможные отклонения концентрации катионов цинка в крови человека от нормы могут быть одной из причин снижения эффективности проявления биологической активности и доставки инсулина к чувствительным клеткам при

сахарном диабете. Данные литературы о соответствии норме концентрации катионов цинка в крови больных сахарным диабетом противоречивы [3, 4, 10]. В связи с этим представляет интерес сравнение содержания этого катиона в крови здоровых доноров и больных сахарным диабетом.

Целью нашего исследования было проведение сравнения **концентрации** катионов цинка в плазме крови здоровых доноров и больных сахарным диабетом типа I.

Материалы и методы исследования

В исследовании использованы пробы крови 42 больных сахарным диабетом типа I, находившихся на стационарном лечении в эндокринологическом отделении РКБ им. Куватова (г. Уфа), с процентным содержанием в капиллярной крови гликозилированной формы гемоглобина от 8 до 18,6%.

Формирование группы здоровых доноров проводили на основании заключения эндокринолога об отсутствии отклонений от нормы в регуляции углеводного обмена и процентного содержания гликозилированного гемоглобина (%Ггб) в капиллярной крови. Для исследования отобраны пробы крови 53 здоровых добровольцев 20–25 лет с содержанием Ггб от 4 до 7,5%, что соответствует нормальному уровню гликемии.

Метод количественного определения катионов цинка в сыворотке крови человека разработан на основе качественного варианта дитизонового метода определения цинка [1]. К 2 мл пробы крови добавляли 0,1 мл 10% NaOH и 0,2 мл раствора 1% раствора дитизона в четыреххлористом углероде. В отрицательном контроле вместо сыворотки крови добавляли 2 мл дистиллированной воды, в положительном контроле – 2 мл 20 мкМ раствора сульфата цинка. Пробы фотометрировали при 540 нм. Расчет концентрации катионов цинка в пробе проводили по формуле: С**Zn** = **20** мкМ×ОП540 Пробы/ОП540 Стандарта

Определение содержания в пробах α_1-кислого гликопротеина и трансферина проводили методом иммунонефелометрии с использованием диагностических наборов фирмы «Иммунотех» (Россия) по прилагаемой инструкции. Для количественной оценки результатов применялась оценка интенсивности реакции в баллах по трехбалльной шкале.

Результаты исследования и их обсуждение

Показано, что общая концентрация катионов цинка в крови больных сахарным диабетом выше, чем в крови здоровых доноров (среднее значение концентрации цинка в крови больных диабетом составило 34,3 ± 1,26 мкМоль/л, в крови здоровых доноров – 23,6 ± 1,32 мкМоль/л). Полученные данные соответствуют нормальному распределению, и были проанализированы с применением параметрических критериев Стьюдента и Фишера (табл. 1, $t = -3{,}66$, $p = 0{,}0007$, $F = 3{,}42$, $p = 0{,}008$).

По данным литературы, в крови человека цинк присутствует в основном в связанном с белками состоянии, возможно, остальная часть катионов цинка (лабильный цинк) связана с низкомолекулярными соединениями (аминокислотами), нормальная концентрация катионов цинка в крови составляет 10–23 мкМ/л (Мухина, 2005). Для выяснения вопроса о том, в какой из двух фракций происходит повышение цинка в крови больных сахарным диабетом, проведено определение несвязанного с белками (лабильного) цинка в плазме крови больных диабетом и здоровых доноров. Для этой цели проведено осаждение белков сыворотки крови трихлоруксусной кислотой и последующее определение катионов цинка в надосадке дитизоновым методом.

Таблица 1

Результат определения цинка в сыворотке крови здоровых доноров (I) и больных сахарным диабетом (II)

(I) мкмоль/л	(II) мкмоль/л
23,6 ± 1,32 мкМоль/л	34,3 ± 1,26 мкМоль/л
$t = -3{,}66$; p = 0,0007; $F = 3{,}42$, $p = 0{,}008$	

Установлено, что концентрация несвязанных с белками катионов цинка в крови больных сахарным диабетом достоверно ниже, чем в крови здоровых доноров (среднее значение показателя в крови больных диабетом составило 0,98 ± 0,036 мкМоль/л, в то время как в крови здоровых доноров концентрация составила 1,62 ± 0,093 мкМоль/л) (табл. 2). Достоверность различия доказана с использованием критерия Манна–Уитни ($Z = -4{,}14$; $p = 0{,}000034$).

Таблица 2

Результат определения несвязанных с белком катионов цинка в сыворотках крови здоровых доноров и больных сахарным диабетом

(I) мкмоль/л	(II) диабетом мкмоль/л
1,62 ± 0,093 мкМоль/л	0,98 ± 0,036 мкМоль/л
$Z = -4{,}14$; $p = 0{,}000034$	

По нашим данным, в крови больных диабетом на фоне повышения общего содержания цинка происходит снижение концентрации катионов цинка в лабильной форме, что свидетельствует о повышении связывания цинка белками крови при инсулинзависимом сахарном диабете. Было высказано предположение о том, что это явление связано с изменением состава белков крови при сахарном диабете, в частности, с изменением концентрации транспортных

белков крови. Для проверки этого предположения проведено определение концентрации трансферина и α_1-кислого гликопротеина в крови больных сахарным диабетом и здоровых доноров методом иммунонефелометрии при помощи диагностических наборов фирмы Иммунотех (Россия). Выявлено достоверное повышение концентрации α_1-кислого гликопротеина в крови больных сахарным диабетом (1,86 ± 0,4 балла в крови больных диабетом по сравнению с 0,3 ± 0,2 балла в норме, $Z = -3{,}54$; $p = 0{,}03$), различий в концентрации трансферина не выявлено ($Z = -1{,}28$; $p = 0{,}27$).

Заключение

Таким образом показано, что при инсулинозависимом сахарном диабете происходит достоверное повышение общей концентрации катионов цинка в крови с одновременным достоверным снижением концентрации лабильного цинка. На основании экспериментальных данных сделано предположение о том, что при сахарном диабете повышение цинксвязывающей активности белков объясняется изменением их состава, а именно появлением транспортных белков, связанных с развитием воспалительной реакции, в частности α_1-кислого гликопротеина. Вероятно, повышение общей концентрации катионов цинка в плазме крови больных сахарным диабетом направлено на компенсацию дефицита лабильного цинка, возникающего за счет сдвига равновесия в сторону связывания катионов белками крови, но в обследованной нами группе больных не достигает своей цели.

Список литературы

1. Алексеев В.А. Качественный анализ. – Атомиздат, 1960.

2. Аффинное выделение связывающих инсулин сывороточных гликопротеидов человека и изучение их состава в норме и при сахарном диабете первого типа / М.И. Гарипова, Н.А. Киреева, Т.В. Моругова, О.С. Елисеева, А.С. Першина // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. – 2007. – Т. 3. – № 1. – С. 27–32.

3. Клиническое значение нарушений метаболизма цинка: авторские лекции по педиатрии / Ю.Г. Мухина, С.О. Ключников, О.К. Нетребенко, Л.А. Щеплягина. – 2005.

4. Скальный А.В. Цинк и здоровье человека (книга для современных думающих врачей и любознательных пациентов). – Оренбург: РИК ГОУ ОГУ, 2003. – 80 с.

5. Danscher G. The autometallographic zinc-sulphide method. A new approach involving in vivo creation of nanometer-sized zinc sulphide crystal lattices in zinc-enriched synaptic and secretory vesicles // Histochem J. – 1996. – Vol. 28. – P. 361–373;

6. Foster M.C., Leapman R.D., Li M.X., Atwater I. Elemental composition of secretory granules in pancreatic islets of Langerhans // Biophys J. – 1993. – Vol. 64. – P. 525–532.

7. Kim B.J., Kim Y.H., Kim S., Kim J.W., Koh J.Y., Oh S.H., Lee M.K., Kim K.W., Lee M.S. Zinc as a paracrine effector in pancreatic islet cell death // Diabetes. – 2000. – Vol. 49. – P. 367–372.

8. Kiilerich S., Hvid Jacobsen K., Vaag A., Sorensen S.S. 65 zinc absorption in patients with insulin-dependent diabetes mellitus assessed by whole-body counting technique // Clin. Chim. Acta. – 1990. – Vol. 189. – P. 13–18.

9. Kristiansen L.,·Liselotte J., Meredin G., Danscher G. Autometallography allows ultrastructural monitoring of zinc in the endocrine pancreas // Histochem. Cell Biol. – 2001. – Vol. 115. – P. 125–129.

10. McMillan E.M., Rowe D.J.F. Clinical significance of diurnal variation in the estimation of plasma zinc // Clin. Exp. Dermatol. – 1982. – № 7. – P. 629–632.

References

1. Alekseev V.A. Kachestvennyj analiz. – Atomizdat, 1960.

2. Garipova M.I., Kireeva N.A., Morugova T.V., Eliseeva O.S., Pershina A.S., Affinnoe vydelenie svjazyvajushhih insulin syvorotochnyh glikoproteidov cheloveka i izuchenie ih sostava v norme i pri saharnom diabete pervogo tipa // Vestnik biotehnologii i fiziko-himicheskoj biologii im. Ju.A. Ovchinnikova. 2007. t. 3. no. 1. pp. 27–32.

3. Muhina Ju.G., Kljuchnikov S.O., Netrebenko O.K., Shhepljagina L.A. Klinicheskoe znachenie narushenij metabolizma cinka. Avtorskie lekcii po pediatrii. 2005.

4. Skalnyj A.V. Cink i zdorov›e cheloveka (kniga dlja sovremennyh dumajushhih vrachej i ljuboznatel›nyh pacientov). Orenburg: RIK GOU OGU, 2003. 80 p.

5. Danscher G. The autometallographic zinc-sulphide method. A new approach involving in vivo creation of nanometer-sized zinc sulphide crystal lattices in zinc-enriched synaptic and secretory vesicles. Histochem J. 1996. Vol. 28. pp. 361–373;

6. Foster M.C., Leapman R.D., Li M.X., Atwater I. Elemental composition of secretory granules in pancreatic islets of Langerhans // Biophys J. 1993. Vol. 64. pp. 525–532.

7. Kim B.J., Kim Y.H., Kim S., Kim J.W., Koh J.Y., Oh S.H., Lee M.K., Kim K.W., Lee M.S. Zinc as a paracrine effector in pancreatic islet cell death // Diabetes. 2000. Vol. 49. pp. 367–372.

8. Kiilerich S., Hvid Jacobsen K., Vaag A., Sorensen S.S. 65 zinc absorption in patients with insulin-dependent diabetes mellitus assessed by whole-body counting technique // Clin. Chim. Acta. 1990. Vol. 189. pp. 13–18.

9. Kristiansen L.,·Liselotte J., Meredin G., Danscher G. Autometallography allows ultrastructural monitoring of zinc in the endocrine pancreas // Histochem. Cell Biol. 2001. Vol. 115. pp. 125–129.

10. McMillan E.M., Rowe D.J.F. Clinical significance of diurnal variation in the estimation of plasma zinc // Clin. Exp. Dermatol. 1982. no. 7. pp. 629–632.

Рецензенты:

Мустафина О.Е., д.б.н. профессор, заведующая лабораторией физиологической генетики Института биохимии и генетики УНЦ РАН, г. Уфа;

Хазиев Ф.Х., д.б.н., главный научный сотрудник Института биологии УНЦ РАН, г. Уфа.

Работа поступила в редакцию 08.02.2013.