

ОЦЕНКА РОЛИ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ КАРТИНЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДИСКРИМИНАНТНОГО АНАЛИЗА

УДК 612.015.38–074
Поступила 26.04.2012 г.



Ю.Р. Ефременко, к.б.н., доцент кафедры клинической лабораторной диагностики ФПКВ;
Е.Ф. Королева, к.б.н., сотрудник кафедры клинической лабораторной диагностики ФПКВ;
К.Н. Конторщикова, д.б.н., профессор, зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики ФПКВ

Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород, 603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Цель исследования — оценить возможности дискриминантного анализа для выявления значимости отдельных биохимических показателей в развитии метаболического синдрома.

Материалы и методы. Исследовали биохимические показатели в плазме крови 136 больных с метаболическим синдромом и 50 практически здоровых людей с помощью унифицированных тест-систем. Для статистической обработки полученных данных использовали пакет прикладных программ статистического анализа R 2.11.0 и BIOSTAT.

Результаты. По данным дискриминантного анализа биохимических показателей разработана прогностическая модель, позволяющая судить о принадлежности обследуемого человека к категории больных с метаболическим синдромом либо здоровых.

По итогам анализа дискриминантных функций выявлены переменные, которые вносят наибольший вклад в патогенетическую картину метаболического синдрома и несут наибольшую диагностическую информацию. К ним относятся свободный холестерин, интенсивность свободно-радикального окисления и основные продукты окислительной модификации белков. Это позволяет сделать вывод, что важными критериями в развитии и прогрессировании метаболического синдрома являются как показатели, характеризующие липидный обмен, так и показатели, характеризующие окислительный стресс.

Ключевые слова: метаболический синдром; дискриминантный анализ; окислительный стресс.

English

The Appraisal of the Role of Biochemical Indices in Diagnostic Presentation of Metabolic Syndrome Using Discriminant Analysis

Y.R. Efremenko, PhD, Associate Professor, the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, the Faculty of Doctors' Advanced Training;

E.F. Korolyova, PhD, Research Worker, the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, the Faculty of Doctors' Advanced Training;

K.N. Kontorshchikova, D.Bio.Sc., Professor, the Head of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, the Faculty of Doctors' Advanced Training

Nizhny Novgorod State Medical Academy, Minin and Pozharsky Square, 10/1, Nizhny Novgorod, Russian Federation, 603005

The aim of the investigation is to assess the possibilities of discriminant analysis to determine the significance of some biochemical indices in metabolic syndrome development.

Materials and Methods. There were studied the biochemical parameters in blood plasma of 136 patients with metabolic syndrome and 50 virtually healthy people using standardized test systems. The findings were statistically processed by software package of statistical analysis R 2.11.0 and BIOSTAT.

Results. According to discriminant analysis of biochemical indices there was developed a prognostic model enabling to refer an experimental subject either to a group of patients with metabolic syndrome or to healthy people.

According to the analysis of discriminant functions there were determined variables that make a major contribution to pathogenic picture

Для контактов: Ефременко Юлия Рудольфовна, тел. раб. 8(831)437-74-07, тел. моб. +7 910-391-51-51; e-mail: Julia_lisina@mail.ru

of metabolic syndrome and contain significant diagnostic information. Among these are: free cholesterol, the intensity of free radical oxidation, and the main products of oxidative protein modification. Thus, it can be argued that the important criteria in the development and progression of metabolic syndrome are both indicators of lipid metabolism, and indicators of oxidative stress.

Key words: metabolic syndrome; discriminant analysis; oxidative stress.

Распространенность такого симптомокомплекса, как метаболический синдром (МС), тяжесть диабетических и сосудистых осложнений, поражение людей все более молодого возраста определяют актуальность его изучения с целью более раннего выявления [1, 2]. На субклинической стадии ассоциированные с МС функциональные и биохимические изменения являются обратимыми, т.е. при соответствующем лечении возможно исчезновение или, по крайней мере, уменьшение выраженности его проявлений [3].

Основными проявлениями МС, играющими значимую роль в патогенетической цепочке событий, принято считать инсулинорезистентность и дислипидемию [4]. Однако постоянно появляющиеся новые данные расширяют представление о МС и требуют дальнейших клинических и фундаментальных исследований.

Цель исследования — оценить возможности дискриминантного анализа для выявления значимости отдельных биохимических показателей в развитии метаболического синдрома.

Материалы и методы. В анализируемую (основную) группу вошли 136 человек с выявленным по сочетанию критериев метаболическим синдромом, контрольную группу составили 50 практически здоровых людей, сопоставимых по возрасту и полу с основной группой. Для изучения компонентов углеводного, липидного обмена и свободно-радикального окисления у больных с МС исследовали плазму крови: измеряли уровень глюкозы глюкозооксидазным методом; оценивали липидный профиль, включающий общий и свободный холестерин ($ХС_{общ}$ и $ХС_{св}$), триглицериды (ТГ), неэтерифицированные жирные кислоты (НЭЖК), фосфолипиды (ФЛ), с применением стандартных тест-систем Diasys (Германия). Содержание инсулина определяли методом иммуноферментного анализа с использованием тест-системы DRG (Германия). Оценку свободно-радикального окисления в плазме крови проводили методом индуцированной хемилюминесценции на биохемилюминометре БХЛ-06 (Россия) [5]. Из параметров хемилюминограммы учитывались показатели интенсивности свободно-радикального окисления I_{max} (мВ), светосуммы S (мВ), $tg\alpha_2$. Определение уровней продуктов липопероксидации включало измерение диеновых конъюгатов (ДК), триеновых конъюгатов (ТК) и оснований Шиффа (ОШ). Степень окислительной модификации белков выявляли по уровню карбонильных производных [6].

Для статистической обработки полученных данных использовали пакет прикладных программ статистического анализа R 2.11.0 и BIostat. Результаты выражали в виде $M \pm \sigma$, где M — среднее, а σ — среднее квадратичное отклонение. Коэффициенты достоверности представлены по критерию Стьюдента (t). Для оценки взаимосвязей между исследуемыми параметрами

проводили корреляционный анализ с использованием коэффициента корреляции Пирсона. Для построения прогностических моделей применяли линейный регрессионный анализ, для оценки вклада исследуемых показателей в развитие МС — дисперсионный анализ.

Результаты и обсуждение. Одним из наиболее важных звеньев в патогенезе МС является инсулинорезистентность. Для ее оценки использовали расчетный коэффициент НОМА [3], учитывающий концентрации глюкозы и инсулина в плазме крови:

$НОМА (ммоль/л) = (глюкоза, ммоль/л \times \text{инсулин, мкед./мл}) : 22,5$, где 22,5 — расчетный коэффициент, используемый для выражения данного индекса в ммоль/л.

При анализе полученных результатов у больных с МС выявлено статистически значимое увеличение изучаемого показателя при данной патологии (см. таблицу). Это позволило сделать вывод о том, что заболевание обследованных не перешло в стадию декомпенсации. Содержание глюкозы у 28,3% лиц с МС превышало значения, полученные в контрольной группе, у остальных варьировало в референсном диапазоне. Среднее значение данного параметра близко к пороговому ($5,79 \pm 2,92$ ммоль/л), что служит сигналом необходимости мониторинга уровня глюкозы в крови. Уже на субклинической стадии имело место нарушение резистентности тканей к инсулину, о чем свидетельствуют статистически значимо повышенные (почти в 2 раза) значения НОМА-индекса. Таким образом, выявленная гиперинсулинемия связана с компенсаторными механизмами организма — преодолением сниженной чувствительности тканей к инсулину за счет его повышенного синтеза β -клетками поджелудочной железы.

Общепризнано, что гипертриглицеридемия является одним из основных компонентов нарушений липидного обмена при МС. Однако в ходе нашего исследования высокие значения ТГ в плазме крови выявлены только у 44,3% обследованных и статистически значимо превышали уровень ТГ в контрольной группе ($2,80 \pm 2,33$ ммоль/л). Таким образом, можно сделать вывод, что наличие гипертриглицеридемии не является обязательной составляющей МС. В свою очередь, содержание ТГ в пределах референсных значений не

Содержание глюкозы и инсулина в плазме крови при метаболическом синдроме ($M \pm \sigma$)

Показатель	Контрольная группа	Пороговые значения	МС
Инсулин, мкед./мл	$8,82 \pm 3,89$	$<11,00$	$20,23 \pm 14,92^*$
Глюкоза, ммоль/л	$4,83 \pm 0,85$	$<6,10$	$5,79 \pm 2,92^*$
НОМА-индекс, ммоль/л	$1,89 \pm 0,85$	$<2,70$	$5,08 \pm 4,43^*$

* — статистически значимые различия с контрольными значениями ($p \leq 0,01$).

служит доказательством отсутствия данного синдрома или риска его развития.

У обследованных лиц с МС уровень ХС_{общ} находился в референсном диапазоне ($4,99 \pm 2,57$ ммоль/л). Важно отметить, что повышенные значения ХС_{общ} отмечены лишь в 41,5% наблюдений, что, как и в случае с ТГ, не исключает лиц с нормальным содержанием ХС из группы риска. Для более полной диагностической информации проведен анализ уровня свободной (неэтерифицированной) формы ХС. Установлено повышение данного показателя в 78,3% случаев — $44,11 \pm 20,87\%$ от содержания ХС_{общ}, что на 73,8% превышало значения, полученные в контрольной группе. Обращает на себя внимание, что у 46,2% больных с МС с нормальным уровнем ХС_{общ} выявлено повышенное содержание ХС_{св}. Это позволяет сделать вывод о том, что определение ХС_{общ} не отражает нарушения липид-транспортной системы, а нормальное значение данного показателя не исключает нарушения холестерина метаболизма у данной категории больных.

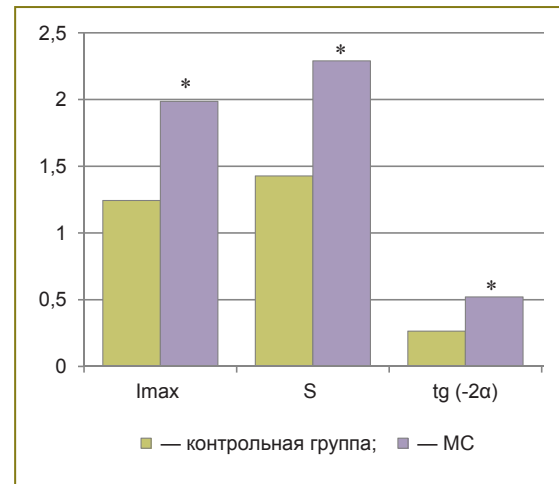
Не менее важное значение в патогенезе МС имеют НЭЖК. В наших исследованиях уровень НЭЖК при МС оказался повышен в 100% случаев и почти в 2 раза превышал нормальные значения ($p=0,001$).

Увеличение количества НЭЖК приводит к уменьшению связывания гепатоцитами инсулина, его деградации и развитию инсулинорезистентности, к торможению супрессивного действия инсулина на глюконеогенез, а также к системной гиперинсулинемии, в свою очередь способствующей развитию периферической инсулинорезистентности [7, 8].

Таким образом, полученные данные позволяют предложить использование уровня НЭЖК в качестве универсального диагностического критерия наличия МС.

При оценке уровня ФЛ у обследованных лиц с МС отмечено нормальное их содержание, входящее в диапазон пороговых значений. Для повышения информативности данного показателя был использован расчетный коэффициент ФЛ/ХС_{общ}. Это позволило выявить статистически значимое снижение данного параметра в 1,6 раз у 89,6% больных с МС. Интересно, что у 26,4% обследованных при нормальном уровне ХС и ФЛ в плазме крови отмечено патологическое значение данного коэффициента. Таким образом, расчет отношения ФЛ к общему ХС позволяет выявить пациентов, входящих в группу риска развития сосудистых осложнений.

Оценка хемилюминограммы продемонстрировала статистически значимое увеличение I_{max}, характеризующего интенсивность свободно-радикального окисления в плазме, в 2,6 раза. Показатели S и tg (-2α) также были статистически значимо выше нормальных значений — на 60,4 и 200,0% соответственно, что свидетельствовало о снижении активности антиоксидантной системы. Полученные данные позволяют сделать вывод о несостоятельности адекватного ответа организма на интенсификацию свободно-радикального окисления и, как следствие, о развитии окислительного стресса при МС (см. рисунок).



Показатели хемилюминограммы при метаболическом синдроме. Показатель S дан в масштабе 1:10; * — статистически значимые различия с контрольными значениями ($p \leq 0,01$)

Окислительный стресс приводит к повышению уровня как первичных (ДК и ТК), так и конечных (ОШ) продуктов пероксидации в плазме больных с МС. Содержание ДК составило $0,20 \pm 0,07$ отн. ед., что на 25% превышало значение данного показателя у практически здоровых людей ($0,16 \pm 0,03$ отн. ед.), а содержание ТК — $0,08 \pm 0,03$ отн. ед., что на 82,9% выше, чем в контрольной группе ($0,041 \pm 0,02$ отн. ед.). Содержание конечных, наиболее токсичных и стабильных, продуктов перекисного окисления липидов — ОШ — продемонстрировало увеличение данного показателя в 5 раз ($15,97 \pm 12,83$ отн. ед.) относительно значений в контрольной группе ($3,57 \pm 1,56$ отн. ед.). В ходе проведенного исследования отмечено статистически значимое увеличение окислительно-модифицированных белков (ОМБ) как нейтрального, так и основного характера. Наибольшее увеличение карбонильных производных наблюдалось при длинах волн 430 и 530 нм — на 45,1 и 58,3% соответственно. Зарегистрированное повышение уровней продуктов нейтрального характера в среднем превышало нормальные значения на 29,1%. Таким образом, повышение продуктов ОМБ и пероксидации подтверждает значимый вклад свободно-радикального окисления в патологическую картину МС и его осложнений.

Для создания прогностической модели, позволяющей судить о принадлежности обследуемого человека к категории больных или здоровых, проведен дискриминантный анализ значений полученных показателей.

На основании большого количества статистических данных выведена система двух уравнений: y_1 — уравнение получено в результате анализа показателей у здоровых людей, y_2 — у лиц, входящих в группу больных с МС.

$$y_1 = -25,3232 + 11,5571 \times \text{НЭЖК} + (-0,5066) \times \text{ТГ} + 0,2782 \times \text{ХС}_{\text{св}} + 4,239 \times \text{ФЛ} + 0,2378 \times \text{инсулин} + 8,4436 \times \text{I}_{\text{max}} + 92,9218 \times \text{ТК} + 0,0251 \times \text{ОШ} + 2,4019 \times \text{ОМБ}(430 \text{ нм}) + (-3,1973) \times \text{ОМБ}(530 \text{ нм});$$

$$y_2 = -61,4927 + 21,4184 \times \text{НЭЖК} + 1,1613 \times \text{ТГ} + 0,5305 \times \text{ХС}_{\text{св}} + 0,6497 \times \text{ФЛ} + 0,4886 \times \text{инсулин} + 14,9376 \times \text{Imax} + 169,4671 \times \text{ТК} + 0,3167 \times \text{ОШ} + 4,0204 \times \text{ОМБ} \quad (430 \text{ нм}) + (-5,4850) \times \text{ОМБ} \quad (530 \text{ нм}).$$

Итоговое прогнозирование основывается на том, какая функция принимает максимальное значение. Если в системе уравнений $y_2 > y_1$, то пациент относится к категории «больных».

При расчете корреляционных связей показателей в группе практически здоровых людей и в группе больных с МС выявлена обратная корреляция между уровнем $\text{ХС}_{\text{св}}$ и ТК ($r = -0,424$; $p = 0,020$). Кроме того, отмечена прямая корреляционная зависимость между инсулином и ОШ ($r = 0,492$; $p = 0,006$). Обратная корреляционная взаимосвязь между ТГ и основными продуктами окислительной модификации белков ($r = -0,408$; $p = 0,025$) у здоровых людей обусловлена конкуренцией за субстрат в условиях нормальной работы антиоксидантной системы. При анализе корреляции в группе больных с МС выявлены отличия, которые вполне согласуются с патологическими изменениями, сопровождающими развитие и прогрессирование данного симптомокомплекса, а именно, корреляционные связи между ТГ и продуктами ОМБ изменили характер корреляции — она стала прямой ($r = 0,262$; $p = 0,035$).

Заключение. Анализ дискриминантных функций позволил выявить переменные, которые вносят наибольший вклад в патогенетическую картину метаболического синдрома и несут наибольшую диагностическую информацию. К ним относятся свободный холестерин, интенсивность свободно-радикального окисления и основные продукты окислительной модификации белков. Эти данные позволяют сделать вывод, что важными критериями в развитии и прогрессировании метаболического синдрома являются как показатели, характеризующие липидный обмен, так и показатели, характеризующие окислительный стресс.

Литература

1. Grundy S.M. Metabolic syndrome: a multiplex cardiovascular risk factor. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(2): 399–404.

2. Mancia G. et al. Guidelines for the management of arterial hypertension: the task force for the management of arterial hypertension of the European Society Of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *J Hypertens* 2007; 25: 1105–1187.

3. Метаболический синдром. Под ред. Г.Е. Ройтберг. М: МЕДпресс-информ; 2007; 224 с.

4. Eckel R.H., Grundy S.M., Zimmet P.Z. The metabolic syndrome. *Lancet* 2005; 365(9468): 1415–1428.

5. Кузьмина Е.И., Нелюбин А.С., Щенникова М.К. Применение индуцированной ХЛ для оценок свободно-радикальных реакций в биологических субстратах. *Биохимия и биофизика микробиологов* 1983; 2: 41–48.

6. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Поротов Г.Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения. *Вопросы медицинской химии* 1995; 41(1): 24–26.

7. Delarue J., Magnan C. Free fatty acids and insulin resistance. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2007; 10(2): 142–148.

8. Jialal I., Huet B.A., Kaur H., Chien A., Devaraj S. Increased toll-like receptor activity in patients with metabolic syndrome. *Diabetes Care* 2012; 35(4): 900–904.

References

1. Grundy S.M. Metabolic syndrome: a multiplex cardiovascular risk factor. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(2): 399–404.

2. Mancia G. et al. Guidelines for the management of arterial hypertension: the task force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *J Hypertens* 2007; 25: 1105–1187.

3. *Metabolicheskiy sindrom* [Metabolic syndrome]. Pod red. Roytberg G.E. [Roytberg G.E. (editor)]. Moscow: MEDpress-inform; 2007; 224 p.

4. Eckel R.H., Grundy S.M., Zimmet P.Z. The metabolic syndrome. *Lancet* 2005; 365(9468): 1415–1428.

5. Kuz'mina E.I., Nelyubin A.S., Shchennikova M.K. *Biokhimiya i biofizika mikrobiologov — Biochemistry and Biophysics of Microbiologists* 1983; 2: 41–48.

6. Dubinina E.E., Burmistrov S.O., Khodov D.A., Porotov G.E. *Voprosy meditsinskoy khimii — Medical Chemistry Issues* 1995; 41(1): 24–26.

7. Delarue J., Magnan C. Free fatty acids and insulin resistance. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2007; 10(2): 142–148.

8. Jialal I., Huet B.A., Kaur H., Chien A., Devaraj S. Increased toll-like receptor activity in patients with metabolic syndrome. *Diabetes Care* 2012; 35(4): 900–904.