

Т. А. Чак¹, Е. А. Павлющик², А. В. Хапалюк¹, В. Ю. Афонин³

ЭЛЕКТРОНЕЙРОМИОГРАФИЯ У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПАХ ГЕНОВ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ

*УО «Белорусский государственный медицинский университет»¹,
Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси²,
Научно-практический центр гигиены³*

Исследование включало 131 пациента с сахарным диабетом 2 типа. У всех обследованных определены генотипы V16A полиморфизма гена SOD2 и G172A полиморфизма гена SOD3

и проведена стимуляционная электронейромиография нервов нижних конечностей. У носителей различных генотипов оценены амплитуды М-ответа и скорости распространения возбуждения (СРВ) по моторным волокнам п. peroneus, амплитуды потенциала действия и СРВ по сенсорным волокнам п. suralis и п. peroneus superficialis. Выявлено, что у носителей гомозиготного генотипа GG гена SOD3 по сравнению с носителями генотипов AA и GA снижены М-ответы, СРВ по моторным и сенсорным волокнам нервов нижних конечностей. Показатели электронейромиографии у носителей генотипов VV, VA и AA гена SOD2 не имели значимых различий.

Ключевые слова: диабетическая дистальная полинейропатия, ген супероксиддисмутазы 2, ген супероксиддисмутазы 3, электронейромиография.

T. A. Chak, O. O. Pavlyushchik, A. V. Khapaliuk, V. Yu. Afonin

ELECTRONEUROMYOGRAPHY IN TYPE 2 DIABETES MELLITUS PATIENTS WITH DIFFERENT GENOTYPES OF SUPEROXIDE DISMUTASE GENES

131 patients with diabetes mellitus type 2 were involved in the study. They were determined genotypes superoxide dismutase 2 gene V16A polymorphism and superoxide dismutase 3 gene G172A polymorphism. Stimulation electroneuromyography of the nerves of the lower extremities in patients was performed. Peroneus nerve amplitudes of the muscle action and conduction velocity (CV) and sural and peroneal nerve action potential and CV were estimated in carriers of different genotypes. It is revealed that patients with type 2 diabetes mellitus and homozygous GG genotype of the extracellular superoxide dismutase SOD3 gene have lower M-response indicative of muscle contraction, and nerve CV of the motor and sensory fibers in the lower extremities in comparison to carriers of the AA and GA genotypes. The indices of electroneuromyography did not differ significantly between carriers of the SOD2 VV, VA and AA genotypes.

Keywords: diabetic distal polyneuropathy, superoxide dismutase 2 gene, superoxide dismutase 3 gene, electroneuromyography.

Практически во всех странах мира регистрируется рост заболеваемости сахарным диабетом 2 типа (СД 2), опасного своими ранними и поздними осложнениями. Диабетическая дистальная полинейропатия является одним из наиболее частых осложнений СД 2, которая может приводить к синдрому диабетической стопы, и в результате к ампутации нижних конечностей [3]. Некоторые ученые считают дистальную полинейропатию лишь условно осложнением диабета, так как функциональные нарушения периферической нервной системы наблюдаются уже в дебюте заболевания, что связано с высокой чувствительностью нервных клеток к повышенной концентрации глюкозы [4].

Окислительный стресс влияет на содержание и активность ферментов антиоксидантной защиты в нервных клетках и сдвигает окислительно-восстановительный баланс в нейронах в сторону накопления окисленных форм соединений [10]. В связи с этим гены ферментов антиоксидантной системы рассматриваются в качестве модулирующих механизмов развития диабетической полинейропатии [2].

Среди ферментов антиоксидантной системы в первую очередь необходимо отметить супероксиддисмутазу (SOD) – антиоксидант, который находится во всех клетках человеческого организма, потребляющих кислород, и представляет собой первую линию защиты от поражающего действия свободных радикалов. SOD участвует в реакции превращения супероксида в перекись водорода и молекулярный кислород. В организме человека SOD представлена цитозольным (SOD1), митохондриальным (SOD2) и внеклеточным (SOD3) типами [2].

Ген митохондриальной супероксиддисмутазы (SOD2) локализован на 6-й хромосоме (6q25.3) [2, 9]. Наиболее изученным является полиморфизм Ala16Val, представленный заменой аланина на валин в 16-м положении последовательности пептида. По мнению многих исследователей данный

полиморфизм может быть связан с абсолютным или относительным локальным дефицитом фермента SOD2 [1].

Внеклеточная супероксиддисмутаза (SOD3) представляет собой тетрамономер, содержащий в каждой субъединице по одному атому меди и цинка. В кровеносных сосудах она связана с поверхностью эндотелиальных клеток и внеклеточным матриксом [7]. Ген SOD3 расположен в локусе хромосомы 4 (4q21), имеет длину 5900 пар нуклеотидов, содержит 3 экзона и 2 интрона. Переход гуанина (аллеля G) в аденин (аллель A) в положении 172 приводит к замещению аланина на треонин (Ala40Thr). Полиморфизм G172A гена SOD3 связывают с изменением активности фермента супероксиддисмутазы [8]. Некоторые литературные данные указывают на то, что однонуклеотидные полиморфизмы генов SOD2 и SOD3 могут быть ассоциированы с повышенным риском развития нейропатии [6].

Наиболее информативным и в то же время доступным методом ранней диагностики дистальной полинейропатии является электронейромиография.

Целью исследования было изучение показателей электронейромиографии у пациентов с сахарным диабетом 2 типа при различных генотипах V16A полиморфизма гена SOD2 и G172A полиморфизма гена SOD3.

Материалы и методы

Исследование проводилось на базе Городского эндокринологического диспансера г. Минска. Обследован 131 пациент с сахарным диабетом 2 типа. У всех пациентов была проведена стимуляционная электронейромиография с помощью 2-канального электронейромиографа «Нейро-ЭМГ-Микро» фирмы Нейрософт (Россия), оценивались амплитуда М-ответа и скорость распространения возбуждения (СРВ) по моторным волокнам п. peroneus, амплитуда потенциала действия и СРВ

по сенсорным волокнам n. suralis и n. peroneus superficialis. У всех обследованных пациентов были определены генотипы генов SOD2 и SOD3. У носителей отдельных генотипов каждого гена были проанализированы полученные показатели электронейромиографии. Критериями исключения из исследования были сопутствующие заболевания, способные приводить к изменениям сенсорных и моторных волокон нервов нижних конечностей: алкоголизм, активные формы гепатита, гипотиреоз, гипертиреоз или другие нарушения функции ЩЖ, онкологические заболевания в момент исследования или в анамнезе; нарушения психики, возраст старше 65 лет, а также наличие дистальной полинейропатии 3 степени с ампутиациями и/или трофическими изменениями нижних конечностей.

Для статистической обработки использовалась программа Statistica 10.0. Распределение признака было отличным от нормального, поэтому использовались методы непараметрической статистики (критерий Мана-Уитни U, анализ Краскелл-Уоллиса).

Результаты и обсуждение

При анализе показателей электронейромиографии у носителей VV, VA и AA генотипов по всем исследуемым нервам статистически значимых различий не было выявлено, что может свидетельствовать об отсутствии ассоциативной взаимосвязи между нарушением нервного ответа и проводимости и V16A полиморфизмом гена SOD2 при сахарном диабете 2 типа ($p > 0,05$).

При сравнительном анализе показателей электронейромиографии в группах пациентов с генотипами GG, GA и AA гена SOD3 выявлены статистически значимые различия (таблица).

Как показано в таблице, CPB по n. suralis обеих нижних конечностей было достоверно выше в группе с генотипом AA гена SOD 3 ($p < 0,05$). У пациентов с генотипом GG отмечена тенденция к снижению скоростей распространения возбуждения по n. peroneus, n. suralis и n. peroneus superficialis по сравнению с носителями остальных генотипов. Статистически значимые различия были получены по n. suralis обеих

нижних конечностей ($H_{справа} = 8,0$, $p_{справа} = 0,019$; $H_{слева} = 7,9$, $p_{слева} = 0,020$). У носителей генотипа GG амплитуды М-ответа ($H = 6,1$, $p = 0,048$) и CPB ($U = 229,5$, $p = 0,049$) n. peroneus левой нижней конечности также были достоверно ниже по сравнению с носителями генотипов AA и GA. Полученные данные могут свидетельствовать о возможной связи развития дистальной полинейропатии при сахарном диабете 2 типа с носительством генотипа GG.

По данным литературы, носители гомозиготного генотипа GG (Ala40Ala) характеризуются сниженным уровнем активности фермента супероксиддисмутазы 3 и более подвержены развитию окислительного стресса [8]. Согласно современным представлениям, поражение сосудистой стенки и нервных волокон при диабетической полинейропатии в первую очередь является следствием блокады гексозаминового пути утилизации глюкозы с накоплением промежуточных продуктов обмена, а не обусловленной гипергликемией активацией полиолового пути обмена глюкозы. Повышение концентрации промежуточных продуктов обмена запускает активацию протеинкиназы C и образование большого количества конечных продуктов гликирования, что приводит к нарушению эндотелийзависимых реакций и функции структур нервных клеток. Таким образом, именно окислительный стресс – результат дисбаланса большого количества свободных радикалов и слабости собственной антиоксидантной системы, – ответственны за нарушение обмена глюкозы в клетке [5]. Сопоставив полученные данные можно предположить, что генотип GG гена SOD 3 ассоциирован с развитием нарушения проводимости по нервным волокнам нижних конечностей при сахарном диабете 2 типа. Генотип AA, более распространенный в европейской популяции, можно считать «защитным» относительно развития периферической нейропатии.

Выводы

1. У носителей гомозиготного генотипа GG гена SOD 3 по сравнению с носителями генотипов AA и GA снижены М-ответы, скорости распространения возбуждения по моторным и сенсорным волокнам нервов нижних конечностей, что может свидетельствовать об ассоциативной связи G172A

Таблица. Сравнительный анализ показателей электронейромиографии в группах с различными генотипами G172A полиморфизма гена SOD3 при сахарном диабете 2 типа

Показатели, Me (25% – 75%)	Генотип AA, n = 65		Генотип GA, n = 54		Генотип GG, n = 12		
	Справа 1	Слева 2	Справа 3	Слева 4	Справа 5	Слева 6	
Амплитуда М-ответа n. peroneus, мВ	1	3,5(2,6–5,3)	5,2(3,0–5,4)	3,1(1,5–5,2)	5,2(2,5–5,3)	4,3(1,3–5,3)	3,9(1,7–5,4)
	2	4,3(2,7–5,4)	3,4 (2,3–5,4)**	3,9(2,8–5,4)	3,4(1,6–5,3)	3,0(1,5–5,3)	2,4(1,0–5,3)
	3	5,3(2,8–5,4)	5,3(2,5–5,4)**	3,8(3,0–5,3)	5,3(2,6–5,4)	4,6(3,0–5,3)	2,9(1,8–5,3)
CPB по n. peroneus, м/с	12	49,1 (46,2–55,5)	47,1 (43,8–52,1)	50,2 (45,8–53,1)	46,7 (41,8–50,0)	46,2 (42,9–52,9)	45,0 (40,8–52,0)
	23	50,0 (46,7–52,9)	50,0 (45,1–53,6)**	47,8 (43,8–52,6)	47,1 (42,5–50,0)	49,3 (44,0–52,1)	43,7 (40,6–49,3)
	13	49,5 (46,3–53,6)	48,0 (44,2–52,1)	50,0 (45,7–53,7)	47,5 (44,2–50,7)	46,3 (42,5–50,3)	43,5 (41,2–50,2)
Амплитуда ПД n. suralis, мкВ	7,7 (4,7–10,8)	8,4 (6,1–11,3)	7,9 (4,2–10,4)	8,6 (5,2–13,6)	8,6 (5,4–10,4)	8,5 (6,3–12,1)	
CPB по n. suralis, м/с	55,8 (50,0–60,4)***	56,2 (50,0–60,0)*	53,5 (45,5–9,7)****	51,2 (45,2–56,7)	50,0 (40,5–50,0)	50,0 (43,4–55,1)	
Амплитуда ПД по n. peroneus superficialis, мкВ	6,9 (3,4–9,8)	7,0 (3,8–12,1)	6,2 (4,6–13,0)	8,7 (4,6–12,1)	7,5 (3,2–9,7)	6,4 (3,2–8,9)	
CPB по n. peroneus superficialis, м/с	53,8 (45,2–61,5)	55,6 (45,7–62,2)	53,0 (44,8–57,4)	53,0 (44,0–58,8)	50,0 (46,7–63,6)	50,0 (44,1–53,1)	

Примечание: $p_{2-4} < 0,05$; $p_{2-6} < 0,05$; $p_{1-5} < 0,05$; $p_{3-5} < 0,05$ при сравнении групп с генотипами AA, AG, GG; CPB – скорость распространения возбуждения; ПД – потенциал действия; 1 – точка стимуляции в области предплюсны; 2 – точка стимуляции в области голени малоберцовой кости; 3 – точка стимуляции в области подколенной ямки; 1–2 – интервал предплюсна-голень малоберцовой кости; 2–3 – голень малоберцовой кости – подколенная ямка; 1–3 – предплюсна – подколенная ямка.

□ Оригинальные научные публикации

полиморфизма гена с нарушением нервной проводимости при сахарном диабете 2 типа.

2. У носителей VV, VA и AA генотипов гена SOD2 показатели электронной миографии нервов нижних конечностей не имели значимых различий, что может указывать на отсутствие ассоциативной взаимосвязи между нарушением нервного ответа и проводимости и V16A полиморфизмом гена SOD2 при сахарном диабете 2 типа.

Литература

1. Ассоциация полиморфизма гена SOD 2 и гена SOD 3 с диабетической полинейропатией при сахарном диабете типа 1 / И. А. Строков [и др.] // Сахарный диабет. – 2003. – Т. 6, № 2. – С. 3–5.

2. Колесникова, Л. И. Гены ферментов антиоксидантной системы / Л. И. Колесникова, Т. А. Баирова, О. А. Первушина // Вестник РАМН. – 2013. – № 12. – С. 83–88.

3. Майоров, А. Ю. Диагностические критерии сахарного диабета и других категорий гипергликемии / А. Ю. Майоров // Сахарный диабет: диагностика, лечение, профилактика / А. Ю. Майоров; под ред. И. И. Дедова, М. В. Шестаковой. – М.: МИА, 2011. – Гл. 6. – С. 110–123.

4. Маркин, С. П. Неврологические проявления сахарного диабета [Электронный ресурс] / С. П. Маркин // Неврология, ревматология. – 2011. – № 1. – Режим доступа: <http://medi.ru/doc/a400202.htm>. – Дата доступа: 25.11.2014.

5. Строков, И. А. Диабетическая нейропатия / И. А. Строков // Сахарный диабет 2 типа. Проблемы и решения / А. С. Аметов [и др.]; под ред. Н. В. Беловой, И. Н. Самуйловой. – М.: ГОЭТАР-Медиа, 2014. – Гл. 22. – С. 597–620.

6. Association of the SOD2 Ala(-9)Val and SOD3 Arg213Gly polymorphisms with diabetic polyneuropathy in patients with diabetes mellitus type 1 / E. V. Zotova [et al.] // Mol Biol (Mosk). – 2003. – Vol. 37, № 3. – P. 404–408.

7. Nozik-Grayck, E. Extracellular superoxide dismutase / E. Nozik-Grayck, H. B. Suliman, C. A. Piantadosi // Int. J. Biochem. Cell. Biol. – 2005. – Vol. 37, № 12. – P. 2466–2471.

8. SOD3 and eNOS genotypes are associated with SOD activity and NOx / X. Dong [et al.] // Experimental and Therapeutic Medicine. – 2014. – Vol. 8, № 1. – P. 328–334.

9. Sublocalization of the gene encoding manganese superoxide dismutase (MnSOD/SOD2) to 6q25 by fluorescence in situ hybridization and somatic cell hybrid mapping / S. L. Church [et al.] // Genomics. – 1992. – Vol. 14. – P. 823–825.

10. The role of oxidative stress in diabetic neuropathy: generation of free radical species in the glycation reaction and gene polymorphisms encoding antioxidant enzymes to genetic susceptibility to diabetic neuropathy in population of type I diabetic patients / M. A. Babizhayev [et al.] // Cell. Biochem. Biophys. – 2015. – Vol. 71, № 3. – P. 1425–1443.