

Abstract

**Maidannyk Vitaliy,
Burlaka Ievgeniia***

*Bogomolets national medical uni-
versity, Peremogy avenue, 34,
Kiev, 01004, Ukraine*

**METABOLIC DISORDERS IN CHILDREN WITH DIABETES
MELLITUS TYPE I AND DIABETIC NEPHROPATHY**

Introduction. Diabetic nephropathy is the leading cause of death in patients with diabetes mellitus (DM). Two key mechanisms are involved in the development of diabetic nephropathy – advanced glycation and oxidative stress. Formation of diabetic nephropathy depends on the degree of control of the diabetes, which is an indicator of the level of glycosylated hemoglobin (HbA1c).

Purpose: To investigate the level of metabolic disorders in children with DM type I and diabetic nephropathy.

Material and methods. The study involves 18 children with DM type I and diabetic nephropathy (aged 10 to 16 years). The affinity of hemoglobin to oxygen and lipid oxidation ratio were determined using spectrophotometric method.

Results. In the group of children with newly diagnosed DM type I a high rate of affinity of hemoglobin to oxygen as compared to the control group has been recorded. In the group of children with DM type I and developed diabetic nephropathy the level of the marker is significantly lower as compared to control group. Stage-dependent increase of the level of lipids oxidation coefficient depending on the efficacy of control of DM has been documented.

Discussion. We examined two components of pathogenesis and indicators of the persistent influence of glucose in diabetes mellitus – outcomes of the formation of advanced glycation products (HbA1c) and lipids oxidation coefficient. Further investigations of the advanced glycation products formation intermediates in secondary activation cascade of reactions, including the pathogenesis of progression of diabetic nephropathy is a promising direction to create schemes of prevention and treatment of diabetic kidney disease.

Keywords: diabetes mellitus type I, diabetic nephropathy, metabolic disorders

Corresponding author: *evgbur1982@gmail.com

Резюме

Майданник В.Г., Бурлака Є.А.
*Національний медичний універ-
ситет імені О.О. Богомольця,
проспект Перемоги, 34., Київ,
01004, Україна*

**МЕТАБОЛІЧНІ ПОРУШЕННЯ ПРИ ЦУКРОВИМУ ДІАБЕТИ
І ТИПУ ТА ДІАБЕТИЧНІЙ НЕФРОПАТІЇ У ДІТЕЙ**

Діабетична нефропатія є основною причиною смертності хворих на цукровий діабет (ЦД). Формування діабетичної нефропатії залежить від ступеня компенсованості ЦД, показником якого є рівень глікозильованого гемоглобіну (HbA1c). Обстежено 18 дітей хворих на ЦД I типу та з діабетичною нефропатією (віком від 10 до 16 років). Спорідненість гемоглобіну до кисню та коефіцієнт окиснення ліпідів визначали спектрофотометричним методом. У групі дітей з вперше виявленим ЦД I зафіксоване зростання показника спорідненості гемоглобіну до кисню в порівнянні з групою конт-

роля. У дітей з ЦД I та діабетичною нефропатією рівень показника достовірно нижчий за групу контролю. Виявлено стадійність зростання коефіцієнта окисненості ліпідів в залежності від компенсованості ЦД. Таким чином, нами досліджені дві складові патогенезу та показники результату персистентного впливу глюкози при ЦД – формування продуктів глікозування (HbA1c) та коефіцієнт окисненості ліпідів. Виявлено стадійність змін вказаних показників в залежності від компенсованості ЦД та наявності ускладнень (діабетичної нефропатії). Дослідження участі продуктів неповного глікозування в якості посередників при активації вторинних каскадів реакцій, зокрема з патогенезі прогресування діабетичної нефропатії, є перспективним напрямком з метою створення схем попередження розвитку та лікування діабетичної хвороби нирок.

Ключові слова: цукровий діабет I типу, діабетична нефропатія, метаболічні порушення

Резюме

Майданник В.Г., Бурлака Є.А.*
 Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца
 проспект Победы, 34., Киев,
 01004, Украина

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ I ТИПА И ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕФРОПАТИИ У ДЕТЕЙ

Диабетическая нефропатия является основной причиной смертности больных сахарным диабетом (СД). Формирование диабетической нефропатии зависит от степени компенсованости СД, показателем которого является уровень гликозилированного гемоглобина (HbA1c). Обследовано 18 детей больных СД I типа и с диабетической нефропатией (в возрасте от 10 до 16 лет). Средство гемоглобина к кислороду и коэффициент окисления липидов определяли спектрофотометрическим методом. В группе детей с впервые выявленным СД I типа зафиксирован рост показателя средства гемоглобина к кислороду по сравнению с группой контроля. У детей с СД I типа и диабетической нефропатией уровень показателя достоверно ниже группы контроля. Виявлено стадійність зростання коефіцієнта окисненості ліпідів в залежності від компенсованості СД. Таким образом, нами исследованы две составляющие патогенеза и показатели результата персистентного влияния глюкозы при СД – результат формирования продуктов гликозилирования (HbA1c) и коэффициент окиснености липидов. Виявлено стадійність змін вказаних показателів в залежності від компенсованості СД и наличия осложнений (диабетической нефропатии). Исследование участия продуктов неполного гликозилирования в качестве посредников при активации вторичных каскадов реакций, в частности с патогенезе прогрессирования диабетической нефропатии, является перспективным направлением с целью создания схем предупреждения развития и лечения диабетической болезни почек.

Ключевые слова: сахарный диабет I типа, диабетическая нефропатия, метаболіческие нарушения

Автор, відповідальний за листування: * evgbur1982@gmail.com

Вступ

Цукровий діабет (ЦД) в даний час є серйозною проблемою охорони здоров'я у світі. За останніми даними близько 140 млн осіб по всьому світу хворіють на цукровий діабет. Основним біохімічним розладом при цукровому

діабеті є гіперглікемія, що спричинює свою токсичну дію внутрішньоклітинно активуючи ланцюжок різних ферментативних реакцій, апоптоз, запалення, оксидативний стрес. Всі ці порушення ініціюють активацію цитокінів і



факторів росту, які приймають активну участь у виникненні та розвитку пошкоджень органів-мішеней при цукрового діабету¹⁻³.

Моніторинг рівня глюкози крові у пацієнтів, хворих на цукровий діабет, є критично важливим моментом терапії. Глюкоза, присутня у крові у надлишковій концентрації, може пов'язувати ферментативно з білками, такими як гемоглобін в процесі глікозування. Рівень формування глікозильованого гемоглобіну залежить від концентрації глюкози в навколишньому. Люди з високим рівнем глюкози в крові будуть мають вищий рівень глікованого гемоглобіну. Неферментативне глікозування, що відбувається в результаті спонтанної взаємодії між глюкозою та аміногрупами білків, призводять до утворення продуктів неповного глікозування (ПНГ), що є високотоксичними².

На даний час залежність рівнів метаболічних порушень, що виникають в результаті токсичного персистентного глюкози, від ефективності глікемічного контролю у дітей при цукровому діабеті I типу та при сформованій діабетичній нефропатії не є достатньо вивченими.

Матеріал і методи

Проведено обстеження 18 пацієнтів дітей хворих на цукровий діабет I типу (віком від 10 до 16 років), які перебували на стаціонарному лікуванні в відділенні ендокринології ДКЛ №6 м. Києва в 2014 р. Комплекс обстеження, окрім загальноприйнятих методик (огляд, моніторинг артеріального тиску, загальний та біохімічний аналізи крові, вивчення сечового осаду та концентраційної спроможності нирок, УЗД органів черевної порожнини, тощо), включав визначення в крові хворих рівня окиснених та неокиснених ліпідів, спектральний аналіз форм

гемоглобіну. Групу контролю склали 11 здорових дітей. Спорідненість гемоглобіну до кисню та коефіцієнт окиснення ліпідів визначали спектрофотометричним методом⁴. Гемоліз еритроцитів проводили шляхом замороження зразків крові. Електронні спектри гемоглобіну реєстрували за допомогою спектрофотометра T70 UV/VIS (PG Instruments Limited, UK).

Кількісна оцінка спектрів проводилась з використанням програмного забезпечення Image J (NIH, USA).

Матеріал опрацьовано з використанням методів варіаційної статистики (STATISTICA 6.0) та непараметричних статистичних підходів (Mann-Whitney test). Результати представлено як Mean±SEM, статистично достовірним вважався рівень P<0,05.

Результати та обговорення

Дане дослідження було проведено для оцінки системних метаболічних порушень, які залежать від глікемічного контролю. Залежно від загальноклінічних даних, усі пацієнти були розділені на групи (Табл. 1). Поглинання світла метало- та хромопротеїнами, зокрема гемоглобіном, у видимій ділянці спектра визначається простетичними групами. На межі між видимою і ультрафіолетовою ділянками спектра усі порфірини характеризуються інтенсивною смугою поглинання з максимумом у межах 400–418 нм – смуга Соре. Вона характеризує зміни електронної структури порфіринового кільця. За змінами положення та інтенсивності поглинання цієї смуги можна судити про конформаційні зміни у молекулі гемоглобіну на рівні гему. В умовах гіперглікемії, що має місце за умов цукрового діабету⁵, гемоглобін зазнає глікозильовання, і, як наслідок, змінюється його спорідненість до кисню та порушується кисень-транспортна функція.

Таблиця 1

Клінічна характеристика обстежених дітей

Параметр	ЦД I тип, вперше виявлений	ЦД I тип, діабетична нефропатія	Контроль
Вік	13±5 (11–16)	12±4 (12–16)	12±5 (11–17)
Хлопчики/дівчатка	5/5	4/4	6/5
Маса тіла	55±2 (49–60)	52±4 (28–61)	61±4 (35–71)
Зріст	161±6 (157–171)	163±4 (155–174)	163±5 (159–171)
Креатинін плазми, мкмоль/л	39±4 (36–42)	58±5 (43–61)	38±4 (35–41)
Добова протеїнурія, мг/доба	Відсутня	150±20 (70–200)	відсутня
Глікозильований гемоглобін, %	Відсутній	12±4 (9–13)	Відсутній
Систолічний АТ, мм рт.ст.	110±4 (100–120)	120±20 (115–140)	112±6 (100–118)
Діастолічний АТ, мм рт.ст.	86±3(68–88)	100±10 (92–110)	88±4 (70–86)



У всіх обстежених дітей було вивчено рівні спорідненості гемоглобіну з киснем за рівнем поглинання в межах смуги Сорє. У дітей з основної групи показник становив $3,05 \pm 0,23$. У групі дітей з вперше виявленим ЦД I

зафіксоване зростання показника в порівнянні з групою контролю - $3,61 \pm 0,25\%$ ($p < 0,05$). У дітей з групи з ЦД I та діабетичною нефропатією показник становив $1,76 \pm 0,27\%$ ($p < 0,01$) відносно групи контролю (Рис.1).

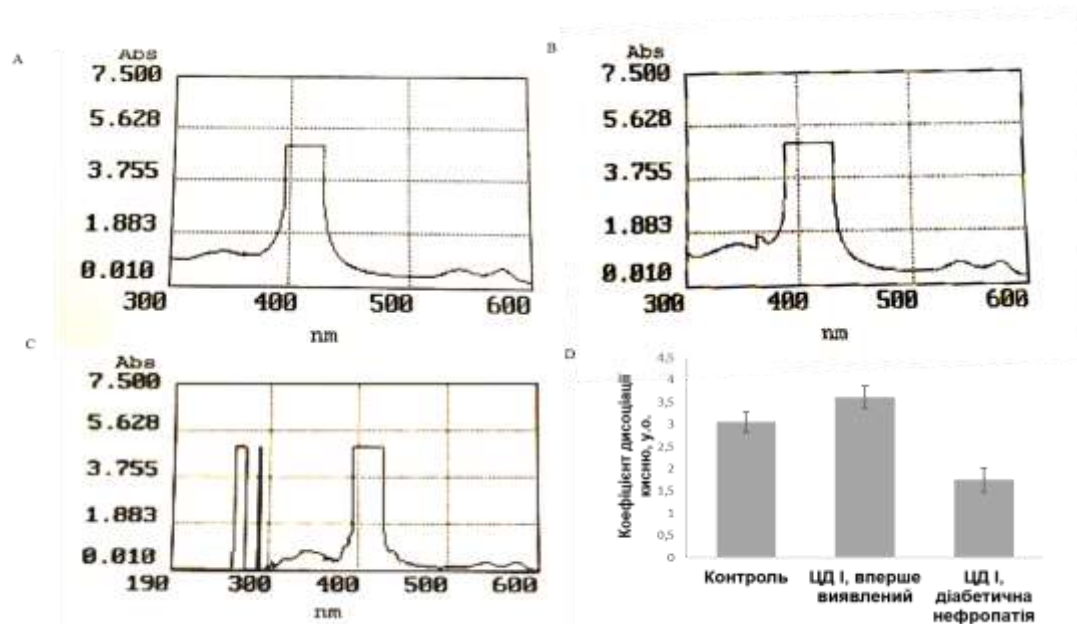


Рисунок 1. Показники зміни електронної структури порфіринового кільця гемоглобіна у обстежених дітей. А – група контролю, В – ЦД I, вперше виявлений, С – ЦД I, діабетична нефропатія, D – показники обстежених груп.

У всіх обстежених дітей хворих на ЦД I було досліджено рівні в плазмі крові показника окисненості ліпідів за рівнем коефіцієнта співвідношення фракцій неокиснені/окиснені ліпіди. У дітей з основної групи показник

становив $1,25 \pm 0,03$. У групі дітей з вперше виявленим ЦД I - $1,01 \pm 0,05\%$ ($p < 0,05$). У дітей з групи з ЦД I та діабетичною нефропатією - $0,76 \pm 0,07\%$ ($p < 0,01$) відносно групи контролю (Рис.2).

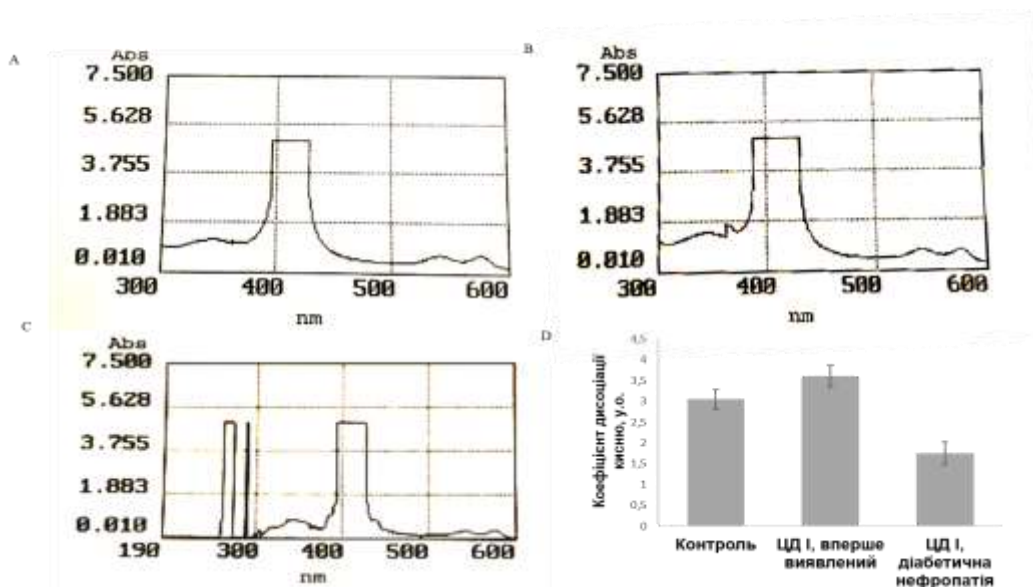


Рисунок 2. Коефіцієнт окисненні ліпідів у обстежених дітей. А – група контролю, В – ЦД I, вперше виявлений, С – ЦД I, діабетична нефропатія, D – показники обстежених груп.



Гемоглобін представлений гетерогенною родиною білків, що містять простетичну групу та протопорфірин IX (гем). Крім транспорту кисню, гемоглобін виконує цілу низку важливих функцій: зв'язування оксиду азоту і сульфідів, взаємодію з активними формами кисню та нітрогену, сенсорні функції та інші. У результаті гіперглікемії при ЦД відбувається наростання утворення трансформованих форм оксигемоглобіну і оксиміоглобіну (метформи гемопротейнів), пошкодження порфіринового кільця з подальшою деградацією гему. Деградація гему здійснюється у дві стадії та включає окиснення заліза гему і нітрування залишків тирозину в апоферменті. Нітрування гемоглобіну призводить до зміни конформації білка, в результаті якої гем виходить із гідрофобної кишені, й, отже, підвищується ймовірність його вивільнення і руйнування⁶.

Гемоглобін – перший білок, для якого було показано неферментативне глікозилювання. Неферментативне глікозилювання – посттрансляційна реакція хімічної конденсації білка з моносахаридом. Вміст у крові глікозилюваного гемоглобіну (HbA1c) є маркером порушень вуглеводного обміну та показником компенсованості гемоглобіну. В результаті проведених нами досліджень встановлено значне зростання вмісту HbA1 у пацієнтів з ЦД I та сформованою діабетичною нефропатією в порівнянні з вперше виявленим ЦД⁷.

Переважаючими сайтами глікозилювання гемоглобіну є аміногрупи N-кінцевої амінокислоти валіну обох β-ланцюгів, а також ε-аміногрупи деяких залишків лізину α- і β-ланцюгів глобіну⁸. Присутність молекули глюкози на N-кінцях β-ланцюгів глобіну робить неможливою взаємодію HbA1c з 2,3-дифосфоліцератом, який зумовлює зниження спорідненості гемоглобіну до кисню, що було виявлено нами у групі хворих на ЦД I зі сформованою нефропатією.

Відомо, що порфірини мають плоску структуру, у якій чергуються одинарні та подвійні зв'язки, тобто є системою зі спряженими подвійними зв'язками. Експериментально доведено⁹, що спектри поглинання молекул зі спряженими подвійними зв'язками визначаються усією

системою спряжених зв'язків. Тому можна припустити, що будь-які зміни у системі спряжених зв'язків порфірину, які призводять до зміни симетрії електронної густини порфіринового ядра, можуть супроводжуватися зміною електронної густини молекули в цілому, розподілу електронних енергетичних рівнів і, як наслідок, зміною спектрів поглинання. У досліджах *in vitro* показано, що інтенсивність смуги Core обумовлена електронною структурою гему⁹. Варто зазначити, що специфічні властивості гемоглобіну визначаються структурою молекули в цілому: структурою гему, глобінового компонента, природою зв'язку гему з глобіном. Важливу роль у цьому зв'язку відіграє залізо гему. Не менш важким вкладом у зв'язках гему з глобіном вносять його карбоксильні групи через взаємодію з боковими групами основних амінокислотних залишків глобіну. На зміну електронної густини гему може суттєво впливати його мікрооточення. Виявлені нами зміни спектральних характеристик у видимій ділянці, очевидно, є відображенням змін як у гемі, так і у глобіні, що пояснює виявлене нами зростання спорідненості гемоглобіну до кисню у групі пацієнтів з вперше виявленим ЦД.

Продукти глікозування при ЦД, в тому числі глікозилюваний гемоглобін, формуються в ході неферментативних реакцій глюкози та інших продуктів глікозування за участю окиснених жирних кислот. Дані процеси активно відбуваються в артеріальних ендотеліальних клітинах та інших епітеліальних клітинах, в тому числі в нирках.

Продукти глікозування мають здатність зв'язуватися відповідними рецепторами на клітинах, таких як макрофаги, ендотеліальні клітини судин, епітеліальні клітини нирок. Це індукує активацію окисних процесів, активацію факторів росту, активацію сигнальних шляхів апоптозу, факторів адгезії, фіброзування¹⁰. Дослідження вторинних, індукованих персистентною гіперглікемією, пошкоджень при ЦД, зокрема на різних етапах формування діабетичної нефропатії, та пошук терапевтичних шляхів до їх попередження та лікування, є перспективним напрямком сучасної нефрології.

сформованій діабетичній нефропатії; зростання спорідненості Hb до кисню, що є свідченням присутності пошкоджень глобіна та є первинними до утворення HbA1c.

Висновки

1. Встановлено, що в організмі дітей з вперше виявленим ЦД I типу присутні виражені метаболічні порушення – високий коефіцієнт окисненості ліпідів, що стадійно зростає при



У дітей з діабетичною нефропатією виявлено зниження показника спорідненості Нв до кисню, що є результатом зростання рівня НвА1с та

створює патогенетичний фон для розвитку наступних каскадів реакцій в патогенезі діабетичного захворювання нирок.

References (список літератури)

1. Yamagishi S, Imaizumi T. [Diabetic vascular complications: pathophysiology, biochemical basis and potential therapeutic strategy]. *Curr Pharm Des.* 2005;11:2279–2299.
 2. Rojas A, Morales MA. [Advanced glycation and endothelial functions: a link towards vascular complications in diabetes]. *Life Sci.* 2004; 76: 715–730.
 3. American Diabetes Association Standarts Of Medical Care In Diabetes. 2015; 38 (1).
 4. Иванов Ю. Г. [Модификация спектрофотометрического метода определения кислорододиссоциационных кривых гемоглобина. *Бюл. экспериментальной биологии и медицины.* 1975; 79 (11): 122–123.
 5. Pacher P, Beckman S. J., Liaudet L. [Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease]. *Physiol. Rev.* 2007; 87 (1): 315–424.
 6. Hayashi A, Suzuki T, Shin M. [An enzymatic reduction system for metmyoglobin and methemoglobin, and its application to functional studies of oxygen carriers]. *Biochim Biophys Acta.* 1973; 310: 309-316.
 7. American Diabetes Association Diagnosis and classification of diabetes mellitus *Diabetes Care.* 2010; 33 (1): 62–69.
 8. Shubrook JH, Shubrook J. ["Risks and benefits of attaining HbA(1c) goals: Examining the evidence"]. *The Journal of the American Osteopathic Association.* 2010; 110 (7): 7–12.
 9. Артюхов В. Г. [Гемопротеиды: закономерности фотохимических превращений в условиях различного микроокружения]. Воронеж: Изд-во Воронеж. ун-та, 1995. 280 с.
- Giacco F, Brownlee M. [Oxidative Stress and Diabetic Complications]. *Circ Res.* 2010; 107: 1058-1070.

(received 21.06.2015, published online 30.09.2015)

(отримано 21.06.2015, опубліковано 30.09.2015)

