

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

ШЕВЧЕНКО ТЕТЯНА АНТОНІВНА

УДК: 616.12-008.331.1-053.2-085-092:577.38

**ЕФЕКТИВНІСТЬ КОРЕКЦІЇ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ У ДІТЕЙ,
ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 1-ГО ТИПУ**

14.01.10 - Педіатрія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Київ – 2019

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця МОЗ України.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор,
академік НАМН України
Майданик Віталій Григорович,
Національний медичний університет
імені О.О. Богомольця МОЗ України,
завідувач кафедри педіатрії №4.

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор,
Большова Олена Василівна,
ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені
В.П. Комісаренка» НАМН України,
керівник відділу дитячої ендокринної патології;

доктор медичних наук, професор
Чайченко Тетяна Валеріївна,
Харківській національний медичний
Університет МОЗ України,
професор кафедри педіатрії №1
та неонатології.

Захист відбудеться "19" грудня 2019 року о 13³⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д26.003.04 при Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця МОЗ України за адресою: 01004, м. Київ, вул. Толстого, 10.

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України (03056, м. Київ, вул. Зоологічна,1).

Автореферат розісланий «30» жовтня 2019 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради Д 26.003.04,
доктор медичних наук, професор

А.В. Чуриліна

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Зростання захворюваності на патологію ендокринної системи серед дітей в останні роки обумовлено, головним чином, збільшенням кількості хворих на цукровий діабет типу 1 (ЦД 1).

За даними міжнародної діабетичної федерації (IDF, 7th edition), у 2015 р. близько 415 млн. осіб у світі хворіють на цукровий діабет. Прогнозують, що до 2040 р. ця цифра підвищиться до 642 млн. Кількість дітей, хворих на цукровий діабет (ЦД), становить 542 тис., а річний приріст вперше виявлених випадків – 86 тис.

Особливості перебігу ЦД 1 у дітей, зокрема молодшого віку, пов'язані з багатьма як екзогенними (страх перед ін'єкцією, відмова від їжі, труднощі в дотриманні необхідного режиму харчування тощо), так і ендогенними (незрілість та лабільність майже всіх систем організму, зокрема імунної і нервової) чинниками. Ці фактори призводять до погіршення метаболічного контролю захворювання і ранньої появи ускладнень ЦД 1 (Corathers S.D. et al., 2017; Koller D. et al., 2015). При вивченні даних літератури встановлено такі особливості, характерні для ЦД 1 у дітей: захворюваність на ЦД 1 у дітей збільшується, при цьому відбувається омолодження маніфестації захворювання; факторами навколишнього середовища, що впливають на розвиток і перебіг ЦД 1 у дітей, є вірусні інфекції, особливості харчування, психоемоційні та соціальні чинники, також не виключено ролі екологічного фактору в розвитку захворювання; відмічається превалювання хронічної декомпенсації ЦД у дітей і підлітків. Ці особливості потребують подальшого вивчення і розробки методів запобігання гострих і хронічних ускладнень у дітей, хворих на ЦД 1. Природа діабетичних ангіопатій (мікро - і макроангіопатія) - поліетіологічна та багатофакторна. Збільшується кількість даних, що свідчать про вплив гіперглікемії, гіперінсулінемії і дисліпідемії на розвиток макроангіопатій у хворих на ЦД [Matough F.A., 2012; Ullah A., 2016]. ЦД належить до захворювань з порушенням вільнорадикальних процесів в організмі (Son S.M., 2012). Вважають, що на початку розвитку та при прогресуванні хронічних ускладнень ЦД 1, вільні радикали (ВР) відіграють головну роль внаслідок їх здатності пошкоджувати ліпіди, білки і ДНК [Diano S., Horvath T.L., 2010]. Останніми роками значну увагу приділяють оксидативному стресу (ОС), який бере участь в прогресуванні та патогенезі пізніх хронічних ускладнень ЦД [Dorcely V. et al. 2017; Ibanez-Bruron M.C. et al., 2017]. Вплив ОС спостерігається на різних етапах розвитку ЦД: секреторної дисфункції та аутоімунної деструкції β -клітин, інсулінорезистентності периферичних тканин, пошкодження ендотеліоцитів і нейронів, що призводить до розвитку діабетичної ангіопатії і нейропатії (Бабінець Л.С., 2013; Tiwari B.K. et al., 2013; Gerber P.A., 2017). Проте точний механізм, за допомогою якого ОС може спричинити і прискорити розвиток ускладнень при ЦД, залишається недостатньо вивченим.

При ЦД одночасно і з гіперпродукуванням вільних радикалів (ВР) відбувається виснаження системи антиоксидантного захисту. Якщо в дебюті

ЦД активність антиоксидантних ферментів знижена, то при тривалому перебігу захворювання у хворих різко погіршуються антиоксидантні властивості крові і значно активуються процеси ПОЛ (Peerapatdit T. et al., 2006).

Однак дослідження у цьому напрямі досить фрагментарні, до кінця не встановлено ролі ОС в розвитку хронічних ускладнень ЦД 1 у дітей і не розроблені ефективні методи його корекції.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт кафедри педіатрії №4 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, є фрагментом комплексної державної бюджетної теми «Розробка критеріїв діагностики та обґрунтування лікувальної тактики метаболічних порушень при патології серцево-судинної, ендокринної та сечової системи у дітей» (№ державної реєстрації 0115U002599).

Мета дослідження: підвищення ефективності профілактики та лікування пізніх ускладнень шляхом корекції оксидативного стресу у дітей з ЦД 1.

Завдання дослідження:

1. Дослідити стан окисного гомеостазу у дітей, хворих на ЦД 1.
2. Оцінити стан мікроциркуляторного русла у дітей, хворих на ЦД 1.
3. Визначити залежність розвитку пізніх ускладнень у дітей з ЦД 1 від стану окисного гомеостазу та мікроциркуляторного русла.
4. Розробити комплекс корекції оксидативного стресу у дітей, хворих на ЦД 1, та оцінити його ефективність.

Об'єкт дослідження: діти, хворі на ЦД 1

Предмет дослідження: показники оксидативного стресу та мікроциркуляції

Методи дослідження: загальноклінічні, лабораторні, біофізичного обстеження (електронний парамагнітний резонанс для визначення супероксидгенеруючої та NO-генеруючої активності нейтрофільних гранулоцитів крові); метод спектрофотометрії для вимірювання швидкості утворення окисних мутацій в ДНК - 8-оксогуанін (8-охоG), 8-гідрокси-2-деоксигуанозин (8-ОНdG), дослідження продуктів ПОЛ (малоновий діальдегід (МДА) та показників антиоксидантної системи (АОС) (супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, відновлений глутатіон), інструментальні (електрокардіографія (ЕКГ), реоенцефалографія, ультразвукове дослідження (УЗД) органів черевної порожнини, капіляроскопія нігтьового ложа пальців рук), математично-статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів дослідження. Вперше у дітей з ЦД 1, досліджено показники оксидативного стресу (8-охоG та 8-ОНdG в сечі, супероксидгенеруюча та NO-генеруюча активність нейтрофільних гранулоцитів крові), які є однією з ланок розвитку хронічних ускладнень ЦД 1 у дітей. Встановлені кореляційні зв'язки між досліджуваними показниками капіляроскопії нігтьового ложа пальців рук та бульбарної мікроскопії кон'юнктиви ока. Вперше з метою корекції оксидативного стресу призначено препарат L-аргінінової кислоти дітям з ЦД 1.

Практичне значення одержаних результатів. За результатами проведених досліджень застосування комп'ютерної капіляроскопії слід рекомендувати як скринінговий метод для дослідження мікроциркуляції у дітей з ЦД 1, для виявлення діабетичної ангіопатії на ранньому етапі розвитку захворювання.

З метою зниження рівня оксидативного стресу та покращання стану антиоксидантної системи до основної схеми лікування дітей з ЦД 1, рекомендовано включити антиоксидантний препарат L-аргінінової кислоти.

Оформлено патент на корисну модель №128513UA, МПК⁵¹ А61В 10/00, G01N 33/48, А61Р 13/12, А61Р 31/12 Спосіб прогнозування розвитку ускладнень у дітей з цукровим діабетом 1 типу / ДУ "Інститут епідеміології та інфекційних хворобі м. Л. В. Громашевського НАМН"; Юхименко О. О., Майданник В. Г., Шевченко Т. А., Самарін Д. В.; u 2018 02240 ; заявл. 05.03.2018 ; опуб. 25.09.18, Бюл. № 18.

Видано інформаційний лист про нововведення в сфері охорони здоров'я України №73-2017 «Підвищення ефективності лабораторної діагностики ЦД 1 та у дітей з цукровим діабетом 1-го типу на фоні гострих респіраторних вірусних захворювань».

Впровадження результатів дослідження в практику. Результати дослідження та розроблені на їх основі рекомендації впроваджено в практику роботи міського ендокринологічного відділення ДКЛ №6 Шевченківського району Києва. Основні положення дисертації використовують в навчальному процесі на кафедрі педіатрії №4 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця при вивченні розділу «Патологія ендокринної системи у дітей».

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є завершеним науковим дослідженням. Дисертант особисто обґрунтувала актуальність і необхідність проведення дослідження, сформулювала його мету і завдання. Автором самостійно проведено аналіз вітчизняної та зарубіжної наукової літератури з теми дослідження; відбір тематичних хворих, клініко-інструментальне обстеження. Дисертант особисто проаналізувала та узагальнила отримані результати, виконала статистичну обробку даних з використанням сучасного програмного забезпечення, сформулювала висновки і практичні рекомендації. В опублікованих наукових працях викладено дані, отримані під час виконання дисертаційної роботи. Усі розділи дисертації написані автором.

Апробація результатів роботи.

Матеріали дисертації висвітлені та обговорені на науково-практичній конференції «Медико-соціальні аспекти діагностики, лікування та реабілітації захворювань у дітей» (Київ, 19-20 березня 2015р), I євразійському конгресі педіатрів (Дніпропетровськ, 16-17 березня 2016р), XIII міжнародній науковій конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання сучасної медицини» (Харків, 14-15 квітня 2016р), III міжнародному медико-фармацевтичному конгресі студентів та молодих учених «Пріоритети та перспективи молодіжної науки», ВІМСО 2016 (Чернівці, 6-8 квітня 2016р).

Публікації. За матеріалами дисертації надруковано 15 наукових праць, з них 5 статей у фахових наукових журналах, що входять до переліку, затвердженого Департаментом атестації кадрів при МОН України, 2 статті у наукових журналах, 6 тез у матеріалах науково-практичних конференцій, з'їздів та конгресів, одержано один патент на корисну модель та опубліковано один інформаційний лист.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 162 сторінках, ілюстрована 10 таблицями, 25 рисунками, 3 мікрофотами. Включає вступ, огляд літератури, матеріали та методи дослідження, 3 розділи власних досліджень, узагальнення й аналіз результатів, висновки, практичні рекомендації і список використаних джерел. Бібліографія містить 251 джерело (68 вітчизняних та російськомовних публікацій, 183 іноземних).

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи дослідження.

Для виконання поставлених завдань нами було обстежено 120 дітей, хворих на ЦД 1, віком від 5 до 18 років в середньому ($13,60 \pm 3,06$) роки, із них 62 хлопчики та 58 дівчат з тривалістю захворювання від 1 міс. до 14 років в середньому ($4,69 \pm 3,49$) роки. Загальноклінічне обстеження проводили на базі міського дитячого ендокринологічного відділення ДКЛ №6 Києва. Всіх дітей, хворих на ЦД 1-го типу, обстежено згідно з «Протоколом надання медичної допомоги дітям за спеціальністю «Дитяча ендокринологія», затвердженого МОЗ України 2006 році (із змінами, внесеними згідно з наказами МОЗ №55 (2009 рік), №864 (2013 рік). Критерії виключення: вік дітей до 5 років, загострення супутніх хронічних захворювань, відмова від участі у дослідженні. До групи контролю включено 40 практично здорових дітей відповідного віку для визначення параметрів окисного гомеостазу. Умовами включення дітей до контрольної групи були відсутність гострих та хронічних захворювань, а також скарг на момент обстеження.

При порівнянні досліджуваних показників діти з ЦД 1 були розподілені на групи за рівнем глікемічного контролю: з оптимальним глікемічним контролем, з субоптимальним глікемічним контролем, з глікемічним контролем з високим ризиком для життя; за тривалістю захворювання: діти, які хворіють на ЦД 1 менше 1 року, діти із тривалістю хвороби від 1 року до 5 років, діти із тривалістю хвороби більше 5 років; за віком: до 12 років (без ознак пубертату), старше 12 років (з ознаками пубертату); за наявністю хронічних ускладнень.

30 дітям з ЦД 1 (18 дівчат, 12 хлопчика, віком в середньому ($14,59 \pm 1,97$) років, тривалістю захворювання в середньому ($5,6 \pm 3,6$) років, 27 дітей з ЦД 1 з субоптимальним глікемічним контролем і 3 дитини з ЦД 1 з глікемічним контролем з високим ризиком для життя) досліджували параметри ОС: рівень оксид азоту та супероксидрадикалу в крові, $8 - \text{oxOG}$ та $8 - \text{OHdG}$ в сечі. Групу контролю склали 20 практично здорових дітей відповідного віку.

90 дітям з ЦД 1 з них 43 дівчат та 47 хлопчика, віком в середньому ($13,59 \pm 1,04$) років, з тривалістю захворювання в середньому ($4,68 \pm 3,49$) років

досліджували рівень МДА, СОД, відновленого глутатіону, каталази в крові. Групу контролю склали 20 практично здорових дітей відповідного віку.

Для корекції ОС 30 дітям з ЦД 1, які дали згоду, призначили основний курс лікування згідно протоколу МОЗ України та препарат L-аргінінової кислоти у дозі 5 мл/кг/добу (але не більше 100мл/добу) дітям віком до 12-и років, старше 12-и років – 100 мл/добу, внутрішньовенно крапельно зі швидкістю 10 крапель/хв. в перші 10-15 хв., потім швидкість збільшували до 30 крапель/хв (згідно інструкції). Групу порівняння склали 60 дітей з ЦД 1, які отримували лікування згідно «Протоколу надання медичної допомоги дітям за спеціальністю «Дитяча ендокринологія» МОЗ України (2006 рік): отримували інсулінотерапію (за базісно-болусною схемою), дієтотерапію (стіл №9 по Певзнеру), дозоване фізичне навантаження, симптоматичне лікування по показаннями.

Всім дітям було проведено загальноклінічне обстеження, яке включало вивчення скарг, збирання анамнезу захворювання, анамнезу життя, спадкового анамнезу з його поглибленим вивченням, об'єктивне обстеження, проведення лабораторних методів дослідження (загальний аналіз крові і сечі, біохімічний аналіз крові, визначення глікованого гемоглобіну (HbA1c, %), мікроальбумінурії (МАУ), глікемічного та глюкозурічного профілю тощо), проведення інструментальних методів дослідження (ЕКГ, УЗД органів черевної порожнини, УЗД щитоподібної залози).

Для вивчення параметрів ОС досліджували прооксиданти та продукти перекисного окислення білків в Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р.Є. Кавецького НАН України. Для визначення швидкості утворення O_2^- NAD(P)H-оксидазою та рівня синтезу NO індукційною NOs нейтрофільних гранулоцитів крові брали у пацієнтів 2 мл венозної крові і додавали 3% трилон Б, потім виділяли нейтрофільні гранулоцити. Отримані клітини розділяли на дві частини, в одній вимірювали рівень генерування супероксидних радикал-аніонів з використанням спінового уловлювача 2,2,6,6-тетраметил-4-оксипіперидину (Росія) та методу електронного парамагнітного резонансу (ЕПР) у спеціальному кварцовому кюветі при кімнатній температурі. У другій частині виділених клітин реєстрували рівень синтезу оксиду азоту з використанням спінового уловлювача діетилдитіокарбамату (фірма "SIGMA") та методу ЕПР при температурі рідкого азоту (77К) в спеціальному кварцовому дуарі (Панасенко О.М. та співавт.; Бурлака А.П. та співавт., 1994).

Для визначення швидкості утворення маркерів окисних пошкоджень гуаніну в ДНК (8-oxoG, 8-OHdG) за допомогою спектрофотометрії проводили твердофазну екстракцію окислених гуанінових основ ДНК у сечі (Хайтович М.В. та співавт., 2004).

Продукти ПОЛ (МДА) і показники АОС (СОД, каталаза, відновлений глутатіон) досліджували методом спектрофотометрії. Дослідження проводили у НДІ експериментальної і клінічної медицини НМУ імені О.О. Богомольця.

В основі визначення МДА лежить реакція 2-тіобарбітурової кислоти (ТБК) і МДА з утворенням забарвленого триметинового комплексу в еритроцитах

(Er), що має максимум поглинання при 532 нм за методикою Сталевої І.Д. (Сталева І.Д., Гаврішвілі Т.Г., 1977). Розрахунок результатів проводили за формулою (1):

$$C = E \times 10^6 \times 2 / 1,56 \times 10^5 \text{ або } C = E \times 2 / 0,156 = 19,23. \quad (1)$$

де С - концентрація МДА, мкм / л (мкм / мг білка);

Е - оптична щільність проби;

10^6 - коефіцієнт перерахунку (мкм);

$1,56 \times 10^5$ - коефіцієнт молярної екстинкції ТМК МДА з 2-ТБК 2-й фактор розведення.

Матеріалом для визначення активності СОД були відмиті еритроцити за методикою Дубініної Е.Е (Дубініна Е.Е. та співавт., 1983). Метод ґрунтується на здатності СОД пригнічувати аутоокислення адреналіну, яке ініціюється супероксидними радикалами, що виникають при взаємодії адреналіну із слідами металів в лужному середовищі (Гімерх Ф.І., 1967). Розрахунок результатів проводили за формулою (2):

$$T = [1 - (\Delta D_o / \Delta D_k)] \times 100\%. \quad (2)$$

де Т - % інгібування;

Do - оптична щільність за наявності гемолізату;

Dk - оптична щільність за відсутності гемолізату;

Активність СОД розраховували в умовних одиницях (ум.од.) активності (за 1 ум.од. активності брали 50% інгібування активності ферменту) за формулою (3):

$$\text{ум.од.} = \frac{T\%}{100\% - T\%}. \quad (3)$$

Відновлений глутатіон в крові визначали Гімерха Ф.І. (Гімерх Ф.І., 1967; Архипов А.В., 2004), в основі якого лежить реакція 5,5-дитіо-біс (2-нітробензойної) кислоти (реактив Елмана) із сульфгідрильною групою відновленого глутатіону, в результаті чого в еквімолярних кількостях утворюється забарвлений в жовтий колір тіонітрофенільний аніон (ТНФА), що має максимум поглинання при 412 нм.

Принцип методу визначення каталази ґрунтується на здатності перекису водню утворювати із солями молібдену стійкий забарвлений комплекс (Королюк М.А. та співавт., 1988; Стефанов О.В., 2001). Розрахунок результатів проводили за формулою (4):

$$A = (E_{\text{хол}} - E_{\text{дос}}) \times V \times t \times K \text{ (мкат/л)}, \quad (4)$$

де А- активність каталази;

Е хол - екстинція холостої проби;

Е дос –екстинція дослідної проби;

V- об'єм проби (0,1 мл);

t - час інкубації, 600 с;

K - коефіцієнт мілімолярної екстинції H_2O_2 , що дорівнює $22,2 \times 10^3 \text{ мМ}^{-1} \times \text{см}^{-1}$;

$A = \Delta E \times 133,2$.

Стан мікроциркуляторного русла у дітей і підлітків досліджували за допомогою методу біомікроскопії кон'юнктиви ока і комп'ютерної капіляроскопії ложа нігтя рук.

Біомікроскопію кон'юнктиви ока проводили за допомогою щілинної лампи ЩЛ-2Б та капіляроскопа «Supereyes usb portable digital microscope model b010» при збільшенні у 200 разів за методикою Н.Б. Шульпіної (Шульпіна І.Б., 1974). Об'єктом дослідження були внутрішні і зовнішні кути кон'юнктиви очних яблук, ділянки лімба, капілярна сітка якого найбільш уразлива при патологічному процесі. Аналізували форму, калібр судин, їх хід, наявність мікроаневризм, фон і щільність судинного рисунка, характер кровообігу, периваскулярні зміни.

Капіляроскопію нігтьового ложа проводили за допомогою капіляроскопа «Supereyes usb portable digital microscope model b010» при збільшенні у 200 разів за методикою W. Lombard (Селезнев С.А., 1985). Об'єктом дослідження було ложе нігтя на ІV пальцях рук. Оцінювали зміни форми, довжини, рівномірності калібру капілярної петлі – стабільні показники порушення мікроциркуляторного русла, які виявляються при довготривалому захворюванні, а також кількість функціонуючих капілярів на одиницю площі, діаметр їх бранш, швидкість і гомогенність кровообігу, прозорість капілярного фону – лабільні показники. Також, оцінювали розміри периваскулярної зони (ПВЗ), що відображає ділянку тканинного простору, трофічне забезпечення якої здійснює даний капіляр.

Для статистичного аналізу отриманих результатів дослідження використовували стандартні методи оцінки достовірності відмінностей в порівнюваних обстежуваних групах, базові статистичні показники, методи параметричного та непараметричного статистичного аналізу. Описова частина представлена як \pm середнє квадратичне відхилення ($M \pm SD$). Проведено попередню перевірку відповідності даних закону нормального розподілу за критерієм Колмогорова-Смірнова. Достовірність відмінностей абсолютних значень оцінювали на основі U-критерію Манна-Уїтні (для всіх показників) та парного t-тесту (для показників з нормальним розподілом). Для вирішення кожної задачі використано двосторонні ділянки, порівняння двох пов'язаних і непов'язаних вибірок, метод кореляційного аналізу для виявлення зв'язку між різними параметрами, в тому числі з використанням поправки Бонфероні. Для

порівняння якісних перемінних використано непараметричні методи, що ґрунтуються на розподілі різниці відмінностей. Ступінь взаємозв'язку між парами незалежних значень, які виражали в кількісній шкалі, оцінювали за коефіцієнтом вибіркової кореляції. Різницю між показниками вважали достовірною при значенні ($p < 0,05$). Достовірність відмінностей відносних показників оцінювали методом довірчих інтервалів імовірностей, статистичну достовірність визначали на рівні не нижче 95%. Проводили кореляційний аналіз з розрахунком коефіцієнтів парної кореляції Пірсона (r) та багатофакторний аналіз досліджуваних показників. Для встановлення ефективності лікування використовували порівняння показників до та після корекції з використанням метода Каплана-Мейєра.

Усі дослідження виконано з дотриманням основних принципів Гельсінської декларації з біомедичних досліджень і положень GCHCN, етичних принципів та рекомендацій із залученням осіб як суб'єктів, викладених у Бельмонтській доповіді. Дизайн дослідження передбачав дотримання принципів конфіденційності та поваги до особистості хворого, концепцію інформованої згоди, врахування переваг користі над ризиком шкоди й інших етичних принципів стосовно осіб, які були суб'єктами досліджень. Комісією з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень при Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця (протокол № 98 від 26.10.2016 р.) вказано, що проведені наукові дослідження дітей відповідали етичним вимогам відповідно до наказу №231 МОЗ України від 01.11.2001р.

Результати дослідження та їх обговорення.

Відомо, що 8-OHdG надходить в сечу внаслідок нуклеозидного шляху репарації ДНК, а 8-oxoG – при його експресії з ДНК глікозилами. Окисна форма гуаніну, як відомо, має властивість утворювати пару з цитозином і аденином, в результаті чого може персистувати в месенджері РНК, що може бути причиною транскрипційних помилок. Накопичення окисних пошкоджень ДНК є однією з причин діабетичної ангіопатії, серцево-судинних захворювань.

За результатами досліджень (Yang H. et al., 2011) спостерігали підвищення рівня 8-oxoG і 8-OHdG у сироватці крові хворих з ЦД 1. Також у дослідженні (Varvarovská J. et al., 2004) спостерігали підвищення рівня окисних пошкоджень ДНК у крові хворих з ЦД 1 віком (2,5 - 19,5) років.

При дослідженні рівня 8-oxoG і 8-OHdG в сечі дітей, хворих на ЦД 1 віком, встановили, що вміст 8-oxoG був ($6,81 \pm 0,72$) нмоль/кг/добу, а у дітей групи контролю – ($2,78 \pm 1,53$) нмоль/кг/добу ($p < 0,05$). Вміст 8-OHdG у дітей з ЦД 1 становив – ($6,77 \pm 0,94$) нмоль/кг/добу, а в групі контролю – ($5,06 \pm 3,96$) нмоль/кг/добу. Виявлено достовірне підвищення рівня 8-oxoG ($p < 0,05$) та тенденцію до підвищення рівня 8-OHdG в добовій сечі у дітей з ЦД 1 порівняно з групою контролю (рис.1).

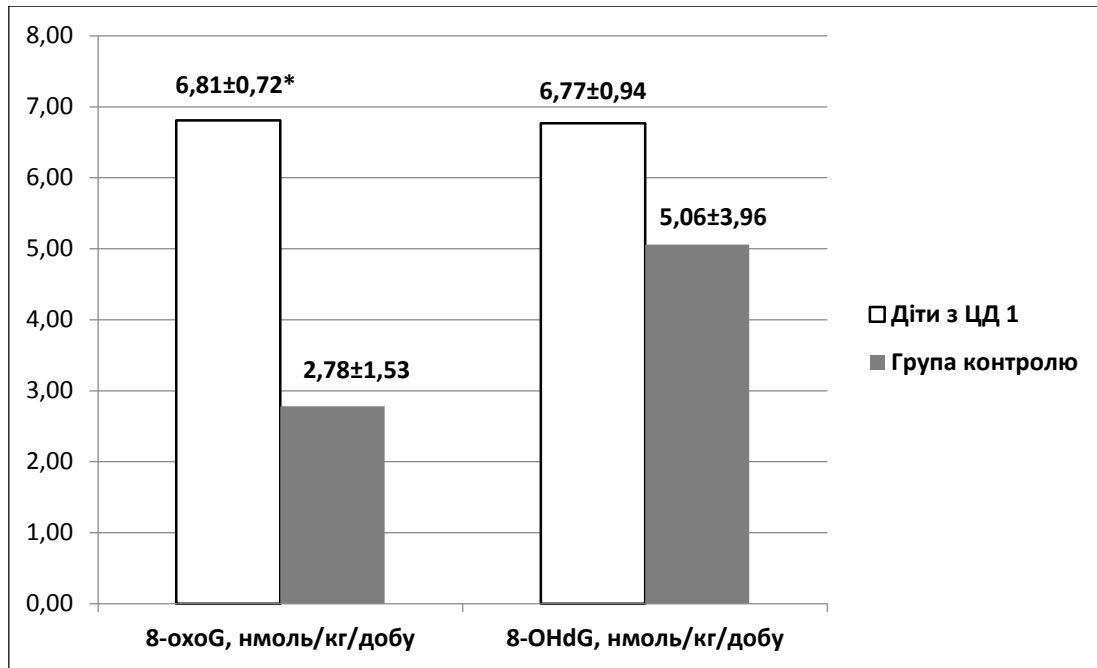


Рисунок 1. Добова екскреція із сечею маркерів оксидативного стресу у дітей з ЦД 1 порівняно з групою контролю.

Примітка. * $p < 0,05$ достовірна різниця при порівнянні результатів 8-охоG між двома групами

Спостерігали тенденцію до прискорення швидкості утворення O_2^- нейтрофільними гранулоцитами крові у дітей з ЦД 1 порівняно з контролем – $(2,68 \pm 1,47)$ нмоль/ 1×10^3 кл./хв і $(1,73 \pm 1,23)$ нмоль/ 1×10^3 кл./хв відповідно.

Отримані дані вказують на активацію імунокомпетентних клітин у дітей з ЦД 1, і є проявом автоагресивної спрямованості зрушень в метаболізмі, оскільки нейтрофільні гранулоцити також є джерелом продукування АФК, оксиду азоту. Утворення великої кількості супероксидрадикал-аніону є наслідком порушення фізіологічних умов метаболізму кисню. Рівень синтезу оксид азоту iNOS в нейтрофільних гранулоцитах периферичної крові хворих становив $(4,37 \pm 0,72)$ нмоль/ 1×10^5 кл., що майже вдвічі більше, ніж у групі контролю, - $(2,46 \pm 0,56)$ нмоль/ 1×10^5 кл. ($p < 0,05$) (рис.2).

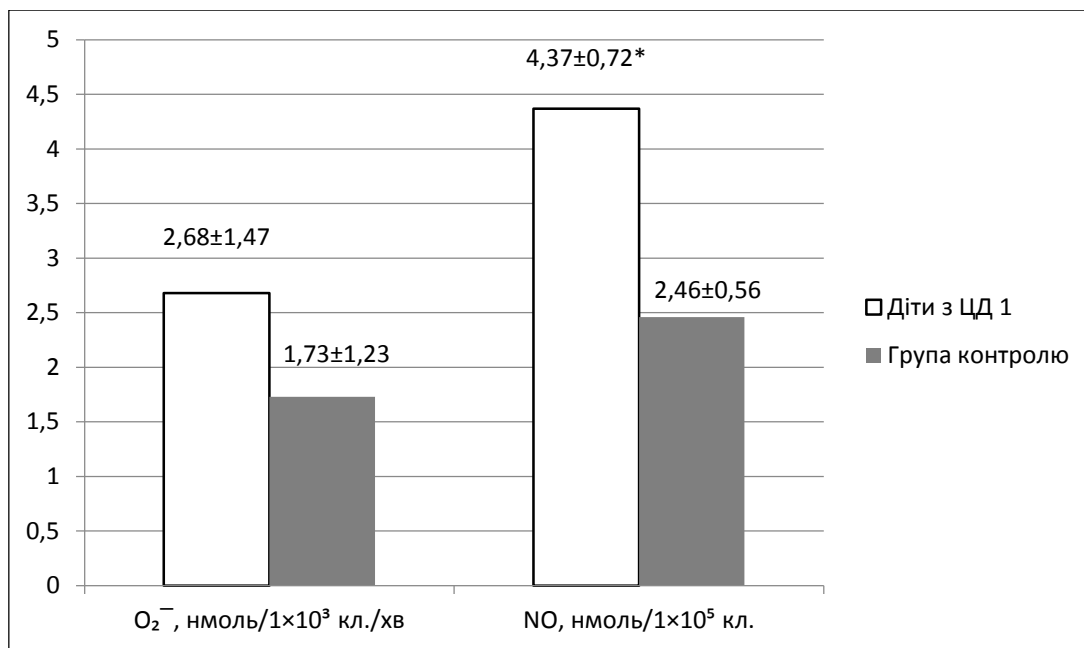


Рисунок 2. Утворення супероксидрадикал-аніону, O_2^- (нмоль/ 1×10^3 кл./хв) і оксид азоту, NO (нмоль/ 1×10^5 кл.) у дітей з ЦД 1 порівняно з групою контролю

Примітка. * $p < 0,05$ достовірна різниця при порівнянні результатів оксид азоту, NO між групою дітей з ЦД 1 та групою контролю

Проведено кореляційний аналіз між маркерами ОС 8-охоG, 8-OHdG та прооксидантами (NO, O_2^-). Виявлено достовірний негативний кореляційний зв'язок між 8-OHdG та O_2^- , позитивний кореляційний зв'язок між NO та O_2^- , 8-OHdG та 8-охоG ($p < 0,05$) (рис.3, рис.4).

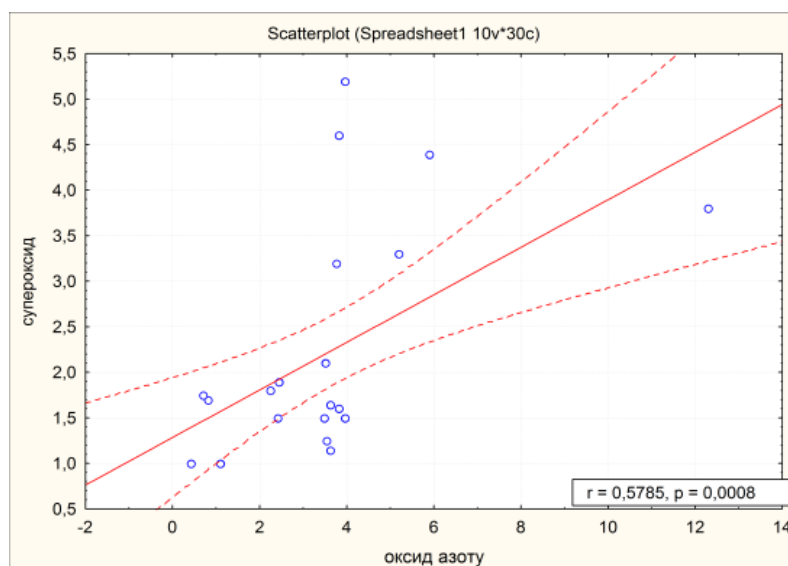


Рисунок 3. Кореляційний зв'язок між супероксидрадикалом (O_2^-) та оксид азотом (NO)

Примітка. $r = 0,5785$, $p < 0,05$

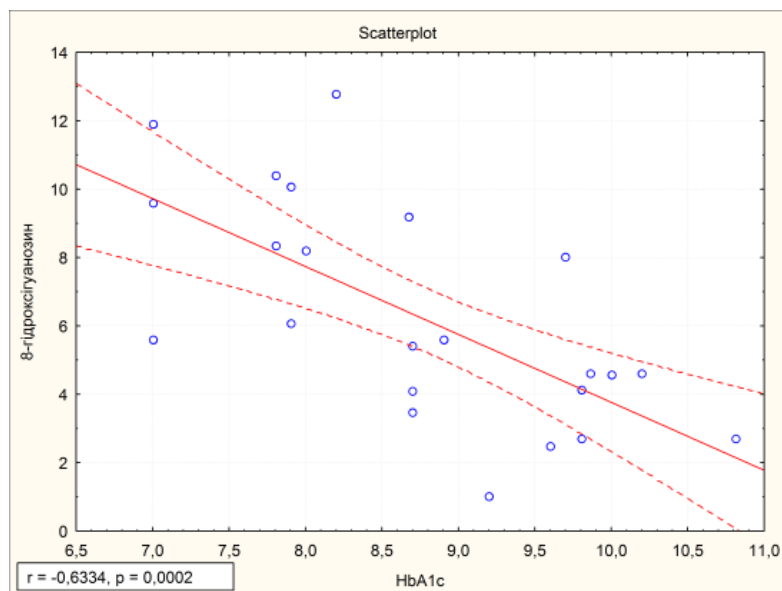


Рисунок 4. Кореляційний зв'язок між екскрецією 8-ОНдГ і рівнем НbАс1, %

Примітка. $r = -0.6334$, $p < 0,01$

Встановлено у дітей з ЦД 1 достовірне підвищення рівня МДА до $(3,47 \pm 0,23)$ мкмоль/л порівняно з групою контролю – $(0,64 \pm 0,06)$ мкмоль/л ($p < 0,001$), що погоджується з результатами інших досліджень (Varvarovská J. et al., 2004, Suys B. et al., 2007, Yang H. et al., 2011, Stambouli-Guerriche A.B. et al., 2015). На відміну від результатів інших досліджень (Suys B. et al., 2007, Stambouli-Guerriche A.B. et al., 2015) нами виявлено достовірне зниження відносно групи контролю рівня СОД ($1,59 \pm 0,3$ ум.од. проти $2,95 \pm 0,58$ ум.од., $p < 0,05$), що погоджується з результатами інших досліджень (Varvarovská J. et al., 2004, Yang H. et al., 2011). Відмічали тенденцію до зниження рівня відновленого глутатіона ($0,49 \pm 0,08$) ммоль/л у дітей з ЦД 1 проти контролю ($0,70 \pm 0,27$) ммоль/л, але різниця не була статистично достовірною ($p = 0,629$). Це погоджується з результатами інших досліджень (Varvarovská J. et al., 2004, Yang H. et al., 2011, Stambouli-Guerriche A.B. et al., 2015). Відмічали без достовірної різниці тенденцію до зниження рівня каталази ($3,94 \pm 0,32$ мкат/л проти $3,98 \pm 0,71$ мкат/л, $p = 0,459$). Отримані данні погоджуються з даними досліджень інших авторів (Yang H. et al., 2011). Проте у дослідженні (Stambouli-Guerriche A.B. et al., 2015) рівень каталази підвищувався (рис.5).

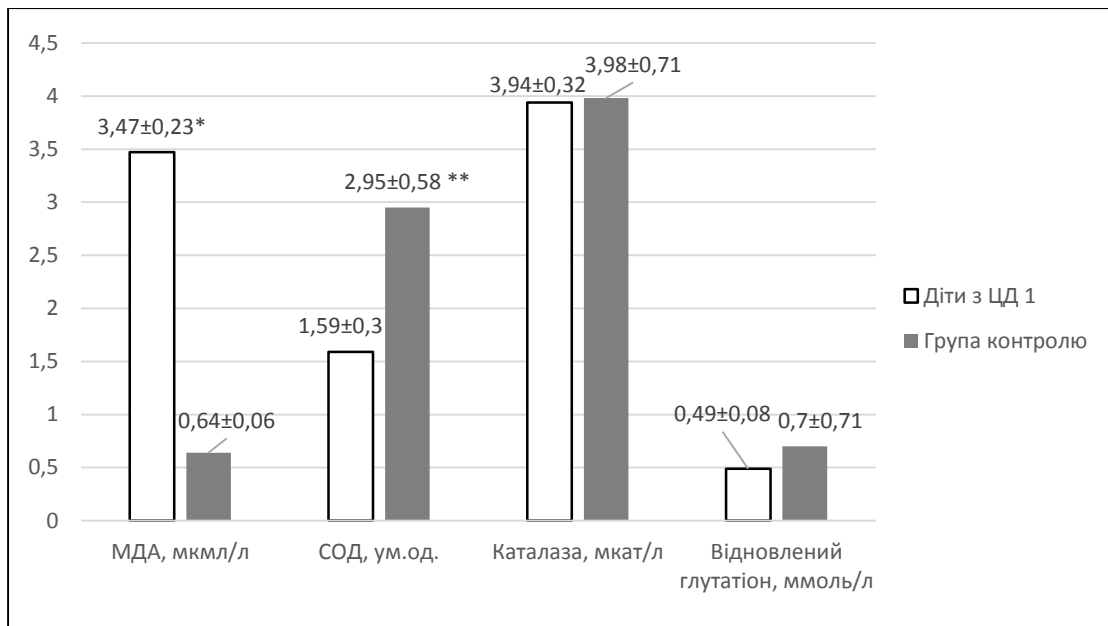


Рисунок 5. Показники окисного гомеостазу у дітей, хворих на ЦД 1 порівняно з групою контролю

Примітки: * - $p < 0,001$ достовірна різниця результатів МДА дітей з ЦД 1 порівняно з групою контролю; ** - $p < 0,05$ достовірна різниця результатів СОД дітей з ЦД 1 порівняно з групою контролю

Результати показників ПОЛ і антиоксидантного захисту можуть свідчити про порушення рівноваги між продукуванням ВР і функціонуванням антиоксидантної системи, що є головною умовою розвитку ОС та ангіопатій у дітей з ЦД 1.

Отже, отримані результати свідчать про гіперпродукування прооксидантів (NO , O_2^-) та показників ОС (8-ОНдГ, 8-охоГ, МДА, каталаза, відновлений глутатіон). Внаслідок порушення обміну глюкози відбувається гіперпродукування NO та O_2^- , що, в свою чергу призводить до збільшення ПОЛ і рівня МДА. Внаслідок впливу прооксидантів на ланцюги ДНК підвищується утворення 8-ОНдГ та 8-охоГ.

При аналізі показників ОС залежно від глікемічного контролю виявлено, що рівень МДА у дітей, хворих на ЦД 1, з оптимальним глікемічним контролем становив ($2,58 \pm 0,29$) мкмоль/л, що нижче, ніж у дітей із субоптимальним глікемічним контролем МДА - ($4,23 \pm 0,26$) мкмоль/л та з глікемічним контролем з високим ризиком для життя МДА - ($3,09 \pm 0,35$) мкмоль/л ($p < 0,001$). Рівень СОД у дітей з оптимальним рівнем глікемічного контролю становив - ($2,38 \pm 1,22$) ум.од., що вище, ніж у дітей із субоптимальним глікемічним контролем - ($1,64 \pm 0,48$) ум.од. та з глікемічним контролем з високим ризиком для життя ($1,58 \pm 0,39$) ум.од. Рівень каталази у дітей з оптимальним глікемічним контролем ($6,63 \pm 1,0$) мкат/л також вищий, ніж у дітей із субоптимальним глікемічним контролем ($3,96 \pm 0,46$) мкат/лі з глікемічним контролем з високим ризиком для життя відповідно ($3,88 \pm 0,47$) мкат/л. Рівень відновленого глутатіону у дітей з оптимальним глікемічним контролем становив ($0,52 \pm 0,17$) ммоль/л, що вище, ніж у дітей із субоптимальним глікемічним контролем, -

($0,4\pm 0,11$) ммоль/л, але нижче, ніж у дітей з глікемічним контролем та з глікемічним контролем з високим ризиком для життя ($0,59\pm 0,14$) ммоль/л (табл. 1).

Таблиця 1.
Рівень показників ОС залежно від глікемічного контролю ($M\pm m$)

Показник	Оптимальний глікемічний контроль (ОГК) (n=5)	Субоптимальний глікемічний контроль (СОГК) (n=44)	Глікемічний контроль з високим ризиком для життя (ГКВРДЖ) (n=41)
МДА, мкмоль/л	$2,58\pm 0,29^*$	$4,23\pm 0,26^*$	$3,09\pm 0,35^*$
СОД, ум.од.	$2,38\pm 1,22$	$1,64\pm 0,48$	$1,58\pm 0,39$
Каталаза, мкат/л	$6,63\pm 1,0$	$3,96\pm 0,46$	$3,88\pm 0,47$
Відновлений глутатіон, ммоль/л	$0,52\pm 0,17$	$0,4\pm 0,11$	$0,59\pm 0,14$

Примітка. * $p<0,001$ - достовірна різниця при порівнянні результатів МДА між дітьми з ОГК та дітьми з СОГК, між дітьми з ОГК та дітьми з ГКВРДЖ

Отже, рівень МДА з погіршенням глікемічного контролю достовірно підвищується і спостерігаються порушення рівноваги між показниками АОС.

Відмічаються зміни в окисному гомеостазі при збільшенні тривалості захворювання. Так, рівень МДА підвищується після одного року тривалості ЦД 1 майже в 2 рази ($p<0,05$). Рівень СОД також підвищився, але на 5-й рік захворювання рівень СОД знизився. Рівень каталази та відновленого глутатіону з подовженням тривалості ЦД 1 зменшується, що може свідчити про виснаження АОС та підтримання показників ОС на високому рівні.

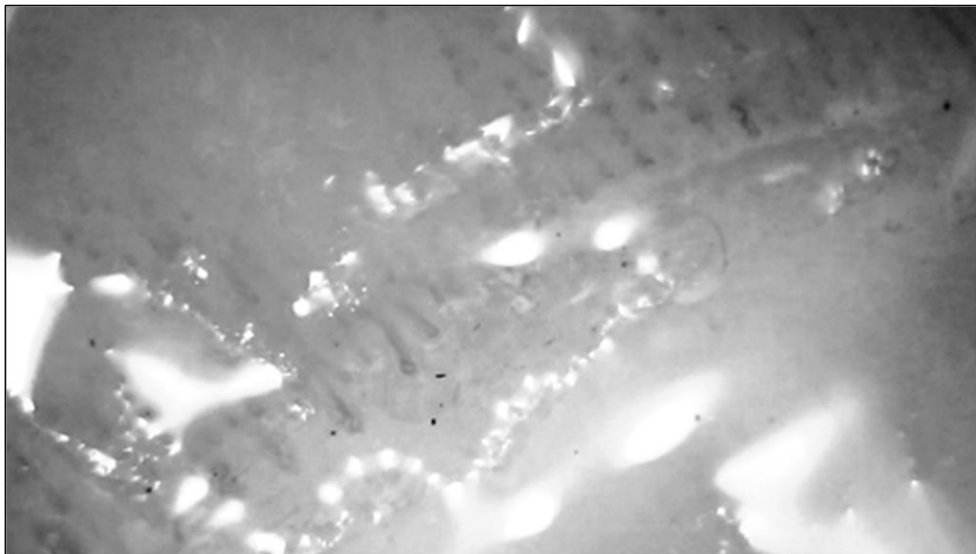
Виявлено, що у дітей з ЦД 1 без ускладнень рівень МДА був нижчим, ніж у дітей з ускладненнями, – ($3,19\pm 0,4$) мкмоль/л і ($3,84\pm 0,28$) мкмоль/л відповідно. Рівень СОД ($1,49$ ум.од. $\pm 0,62$ ум.од.) був нижчим, ніж у дітей з ускладненнями ($1,59$ ум.од. $\pm 0,34$ ум.од.). У дітей без ускладнень рівень каталази ($3,97$ мкат/л $\pm 2,62$ мкат/л) та відновленого глутатіону ($0,68$ ммоль/л $\pm 0,15$ ммоль/л) був вищим, ніж у дітей з ускладненнями – відповідно ($3,94\pm 0,38$) мкат/л і ($0,39\pm 0,32$) ммоль/л.

Отже, різниця між рівнем показників окисного гомеостазу у дітей, хворих на ЦД 1 з ускладненнями чи без ускладнень, статистично недостовірна.

Ми дослідили окисний гомеостаз, у дітей з ЦД 1 молодше 12 років без ознак пубертату (n=23) та у дітей з ЦД 1 старше 12 років з ознаками пубертату (n=67). Відмітили зниження рівня МДА у дітей з ЦД 1 віком молодше 12 років до ($3,19\pm 0,41$) мкмоль/л порівняно з дітьми старше 12 років – до ($3,84\pm 0,29$)

мкмоль/л. Рівень СОД у дітей молодше 12 років ($1,49 \text{ ум.од.} \pm 0,57 \text{ ум.од.}$) нижчий, ніж у дітей віком старше 12 років ($1,56 \text{ ум.од.} \pm 0,36 \text{ ум.од.}$). Рівень каталази у дітей віком молодше 12 років також нижчий ($3,92 \text{ мкат/л} \pm 0,52 \text{ мкат/л}$), ніж у дітей старше 12 років ($3,99 \text{ мкат/л} \pm 0,43 \text{ мкат/л}$), рівень відновленого глутатіону у дітей молодше 12 років вищий ($0,5 \text{ ммоль/л} \pm 0,17 \text{ ммоль/л}$), ніж у дітей старше 12 років ($0,39 \text{ ммоль/л} \pm 0,1 \text{ ммоль/л}$).

При дослідженні мікроциркуляції у дітей з ЦД 1, у 45,8% (n=55) дітей спостерігали звивистість капілярів, у 53,3% (n=64) – розширення браншів, у 48% (n=40) – вкорочення капілярних петель, у 46,7% (n=56) дітей – звуження капілярних петель. У 12% (n=10) хворих виявлено подовження капілярних петель, у 16,7% (n=20) хворих капіляри були у вигляді коми, у 2,5% (n=3) - у вигляді крапок, у 6,7% (n=8) дітей капіляри були представлені судинними клубочками. У 10% (n=12) дітей була знижена кількість капілярів, у 83,3 % (n=100) вони мали червоний фон, у 10% (n=12) – помутніння фону, у 1,7% (n=2) дітей – периваскулярний набряк. При обстеженні у 60% (n=72) дітей з ЦД 1, виявлено сповільнений кровообіг, у 40% (n=48) – прискорений кровообіг, у 10% (n=12) - нормальний кровообіг, а у 1,7% (n=2) дітей – переривчастий кровообіг (Мікрофото 1)



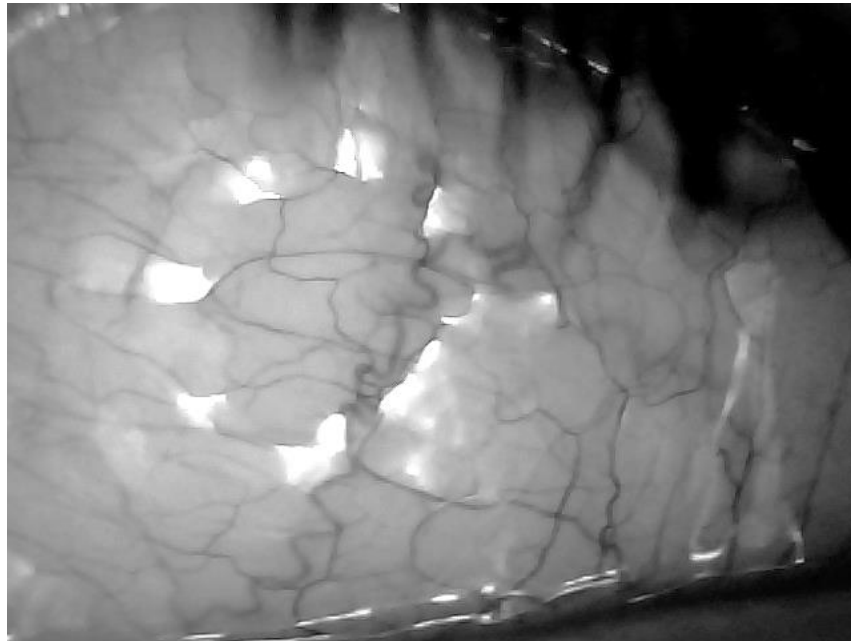
Мікрофото 1. Капіляроскопія нігтьового ложа хлопчика з ЦД 1, 16 років, з тривалістю захворювання 5 років, ПМЦ 2-го ступеня.

Про схожі зміни при капіляроскопії повідомляли в джерелах літератури (Житова В. А., Чернуха С. Н., 2013).

При аналізі порушень мікроциркуляції найбільшу кількість ускладнень спостерігали у дітей, хворих на ЦД 1 із 2-м ступенем порушення мікроциркуляції (ПМЦ), ніж у дітей з 1-м та 3-м ступенями ПМЦ.

При біомікроскопії кон'юнктиви ока у дітей з ЦД 1, також спостерігали зміни. Найчастіше це судинні порушення у вигляді м'ядричної звивистості

капілярів 53,3% (n=64), венул 35% (n=42), поодинокі нерівномірності калібру судин 43,3% (n=52), поодиноких мікроаневризм 33,3% (n=40), судинних клубочків, поодинокі сітчастої структури та артеріоло-венулярних анастомозів 28,3% (n=24). Позасудинні порушення у вигляді мікрогеморагії та периваскулярного набряку зустрічали відповідно у 11,7% (n=14) і 10% (n=12). Внутрішньосудинні порушення – сладж-феномен був лише у 3,3% (n=4) дітей (Мікрофото 2).



Мікрофото 2. Біомікроскопія кон'юнктиви ока Поліни П. з ЦД 1, 15 років з тривалістю захворювання 3 роки (міандрична звивистість капілярів, нерівномірність калібру судин, сладж-феномен)

Результати біомікроскопії кон'юнктиви ока показали, що зі збільшенням тривалості ЦД 1 збільшується кількість дітей, хворих на ЦД 1, з судинними змінами (нерівномірність калібру судин, міандрична звивистість, судинні клубочки) ($p < 0,05$).

Встановлено достовірні кореляційні зв'язки між показниками біомікроскопії кон'юнктиви ока та капіляроскопією нігтьового ложа. Виявлено слабкий позитивний кореляційний зв'язок між множинними судинними клубочками кон'юнктиви ока та судинними клубочками нігтьового ложа ($r=0,418$, $p<0,01$), периваскулярним набряком кон'юнктиви ока та капілярами нігтьового ложа у вигляді крапки ($r=0,433$, $p<0,01$), множинною сітчастою структурою капілярів кон'юнктиви ока та капілярами нігтьового ложа у вигляді коми ($r=0,416$, $p<0,01$), множинною сітчастою структурою капілярів кон'юнктиви ока та безсудинними ділянками «лисинами» нігтьового ложа ($r=0,459$, $p<0,01$). Ці результати свідчать про єдність порушень мікроциркуляції, що погоджуються з результатами інших досліджень, в яких

виявили кореляційні зв'язки між показниками капіляроскопії слизової оболонки перегородки носа та бульбарної мікроскопії у дітей з ЦД 1 на тлі хронічної патології ЛОР-органів (Мітюряєва І.О. та співавт., 2015; Iurii Gavrylenko et al., 2016).

З метою корекції ОС 30 дітям з ЦД 1, що погодились на лікування, призначали препарат L-аргінінової кислоти. Рівень МДА до прийому препарату становив $(3,84 \pm 0,42)$ мкмоль/л (95 % СІ 2,69–4,74), СОД – $(1,9 \pm 0,5)$ ум.од. (95 % СІ 0,91–2,85), каталази – $(3,65 \pm 0,58)$ мкат/л (95 % СІ 2,66–4,42), відновленого глутатіону – $(0,54 \pm 0,10)$ ммоль/л (95 % СІ 0,3–0,69). Після прийому препарату рівень МДА достовірно знизився до $(2,16 \pm 0,37)$ мкмоль/л (95 % СІ 1,92–3,61) ($p < 0,01$), рівень СОД підвищився до $(3,42 \pm 0,61)$ ум.од. (95 % СІ 1,56–4,2) ($p < 0,01$), каталази достовірно підвищився до $(5,52 \pm 0,63)$ мкат/л (95 % СІ 4,3–6,66) ($p < 0,05$), відновленого глутатіону - до $(0,79 \pm 0,19)$ ммоль/л (95 % СІ 0,69–1,22) (рис.6).

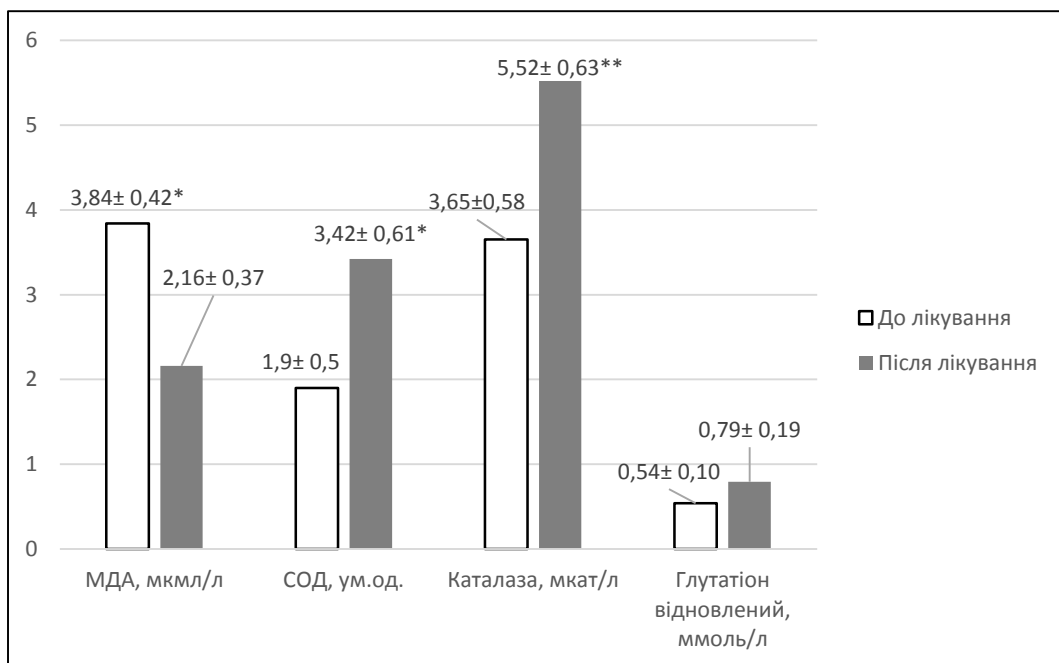


Рисунок 6. Показники оксидативного стресу у дітей, хворих на ЦД 1 до та після прийому препарату L-аргінінової кислоти

Примітки: * ($p < 0,001$) - достовірна різниця при порівнянні результатів МДА, СОД до та після лікування L-аргініновою кислотою; ** ($p < 0,05$) достовірна різниця при порівнянні результатів каталази до та після лікування L-аргініновою кислотою.

Разом з тим, у дітей з групи порівняння, які не отримували L-аргінінову кислоту, значних змін показників ОС та АОС на 8-й день дослідження не виявлено. Рівень МДА підвищився, рівень СОД та відновленого глутатіону незначно підвищився, вміст каталази не змінився ($p > 0,05$), що може свідчити про напруження АОС.

Достовірні позитивні зміни показників ОС і АОС на тлі прийому препарату L-аргінінової кислоти порівняно з групою порівняння, в якій суттєвих змін не відмічали, може свідчити про ефективність дії препарату. При проведенні капіляроскопії нігтьового ложа на тлі прийому L-аргінінової кислоти встановлено достовірне зменшення параметрів ПВЗ від $(100,00 \pm 1,55)$ мкм, до $(96,00 \pm 1,14)$ мкм, ($p < 0,001$), що також підтверджує позитивний вплив L-аргінінової кислоти на стан мікроциркуляції.

Під час виконання капіляроскопії нігтьового ложа в динаміці у дітей з ЦД 1, через 2 тижні після прийому препарату L-аргінінової кислоти спостерігали покращання мікроциркуляторного русла. Відмічалось відновлення діаметра капілярів та їх довжини. Так, до прийому препарату L-аргінінової кислоти у 86,7 % дітей були порушення діаметра капілярів та у 26,6 % дітей – порушення довжини петлі капілярів. Після лікування препаратом L-аргінінової кислоти кількість дітей з порушеним діаметром капілярів зменшилась до 50 % ($p < 0,05$), а із порушенням довжини петлі капілярів – до 6,6 % ($p < 0,05$), що може свідчити про поліпшення стану тонусу судинної стінки. В групі порівняння відмічалось незначне зменшення кількості дітей з порушенням діаметра капілярів (відповідно від 70 % до 61,7 %) та з порушенням довжини петлі капілярів (від 50 % до 41,7 %). Також спостерігали покращання кровообігу після прийому курсу L-аргінінової кислоти. Так, у 40 % дітей з ЦД 1 мав місце прискорений кровообіг, у 43 % дітей з ЦД 1 - сповільнений кровообіг, після курсу терапії препаратом L-аргінінової кислоти кількість дітей з прискореним кровообігом зменшилась до 16,6 % ($p < 0,05$), а з сповільненим кровообігом – до 20 %, що також може свідчити про покращання тонусу судинних стінок. В групі порівняння спостерігали порушення кровообігу у 40 % дітей, через 2 тижні відсоток дітей з порушенням кровообігу зменшився лише до 30%. При проведенні біомікроскопії кон'юнктиви ока із судинних змін відмічали поодинокі нерівномірності калібру судин у 33,3 % хворих дітей, які отримували препарат L-аргінінової кислоти, міандричну звивистість венул - у 13,3 %, поодинокі мікроаневризми - у 6,6 % дітей, а серед позасудинних змін виявлено периваскулярний набряк у 13,3 % дітей. Після прийому курсу L-аргінінової кислоти відмічали покращання стану судин кон'юнктиви ока у дітей, хворих на ЦД 1. Так, зменшився відсоток дітей з поодинокими нерівномірностями калібру судин та міандричною звивистістю венул до 3,3. Після лікування не виявлено дітей з поодинокими мікроаневризмами та з периваскулярним набряком, що може свідчити про покращання стану судин кон'юнктиви ока. При виконанні біомікроскопії кон'юнктиви ока в групі порівняння серед судинних змін спостерігали поодинокі нерівномірності калібру судин у 43,3 % дітей, міандричну звивистість венул та поодинокі мікроаневризми - у 23,3 % дітей, а серед позасудинних змін виявлено периваскулярний набряк у 10 % дітей. Через 2 тижні в групі порівняння відсоток дітей з поодинокими нерівномірностями калібру судин зменшився до 33,3, з міандричною звивистістю венул до 20, з поодинокими мікроаневризмами до 16,6. Периваскулярний набряк виявлено у 8,3 % дітей з ЦД 1.

Нами проведено аналіз отриманих даних методом Каплана-Мейєра. За даними цього аналізу, ефективність лікування препаратом L-аргінінової кислоти достовірно ($p < 0,05$) відрізняється від результатів групи порівняння. Так, на 14-й день після лікування препаратом L-аргінінової кислоти, за даними бульбарної мікроскопії кон'юнктиви ока, у 3,3 % дітей з ЦД 1 виявлено нерівномірний калібр судин проти 33,3 % дітей групи порівняння дітей з ЦД 1, які отримували препарат L-аргінінової кислоти не спостерігали поодинокі мікроаневризми, разом з тим, у 28,3 % дітей групи порівняння відмічали поодинокі мікроаневризми ($p < 0,05$). У 3,3 % хворих дітей, після прийому препарату L-аргінінової кислоти, спостерігали міандричну звивистість проти 28,3 % хворих дітей групи порівняння, які не приймали препарат L-аргінінової кислоти ($p < 0,05$). Також при проведенні капіляроскопії нігтьового ложа на 14-й день після лікування препаратом L-аргінінової кислоти у 6,6 % дітей з ЦД 1 спостерігали порушення довжини петлі капілярів проти 41,7 % пацієнтів групи порівняння ($p < 0,05$).

На тлі прийому препарату L-аргінінової кислоти, за даними аналізу Каплан-Мейєра, виявлена ефективність порівняно з лікуванням дітей контрольної групи, що може свідчити про покращання стану судинної стінки та кровообігу капілярів. Ефективна дія препарату L-аргінінової кислоти на капіляри нігтьового ложа і кон'юнктиви ока може вказувати на позитивний вплив на всі ланки кровообігу. Ефективність L-аргінінової кислоти та відсутність побічних дій на організм дітей дають підставу рекомендувати включення препарату до комплексної терапії дітей, хворих на ЦД 1, з метою корекції ОС.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення актуальної наукової проблеми – підвищення ефективності профілактики та лікування хронічних ускладнень у дітей з ЦД 1 шляхом корекції оксидативного стресу, на підставі проведеного клініко-лабораторного, інструментального дослідження, що має значення для педіатрії, ендокринології.

1. У результаті проведених досліджень встановлено достовірні зміни окисного гомеостазу у дітей, хворих на ЦД 1-го типу, зокрема достовірне підвищення рівня 8-охоG ($p < 0,05$) порівняно з групою контролю, рівня NO - до $(4,37 \pm 0,72)$ нмоль/ 1×10^5 кл., що майже вдвічі більше, ніж у групі контролю, - $(2,46 \pm 0,56)$ нмоль/ 1×10^5 кл. ($p < 0,05$), достовірне підвищення рівня МДА $(3,47 \pm 0,23)$ мкмоль/л порівняно з групою контролю – $(0,64 \pm 0,06)$ мкмоль/л ($p < 0,001$) та достовірне зниження рівня СОД до $(1,59 \pm 0,30)$ ум.од. порівняно з групою контролю – $(2,95 \pm 0,58)$ ум.од. ($p = 0,011$), що підтверджує наявність оксидативного стресу у дітей, хворих на ЦД 1-го типу. Встановлено достовірний ($p < 0,05$) позитивний кореляційний зв'язок між NO та O_2^- , ($r =$

0,57), що вказує на гіперпродукування вільних радикалів та активацію антиоксидантної системи.

2. Встановлені достовірні кореляційні зв'язки між показниками біомікроскопії кон'юнктиви ока та капіляроскопією нігтьового ложа пальців рук у дітей з ЦД 1 (позитивний кореляційний зв'язок між множинними судинними клубочками кон'юнктиви ока та судинними клубочками нігтьового ложа ($r=0,418$, $p<0,01$), периваскулярним набряком кон'юнктиви ока та капілярами нігтьового ложа у вигляді крапки ($r=0,433$, $p<0,01$), множинною сітчастою структурою капілярів кон'юнктиви ока та капілярами нігтьового ложа у вигляді коми ($r=0,416$, $p<0,01$), множинною сітчастою структурою капілярів кон'юнктиви ока та безсудинними ділянками «лисинами» нігтьового ложа ($r=0,459$, $p<0,01$) свідчать про єдність мікроциркуляторного русла і зміни мікроциркуляції на всіх ланках кровообігу.

3. Встановлено, що у дітей, які страждають на ЦД 1 більше 1-го року, підвищується рівень малонового діальдегіду (рівень МДА від $(2,65\pm 0,84)$ до $(4,74\pm 0,38)$ мкмоль/л ($p<0,05$) та наявна тенденція до зниження рівня показників антиоксидантної системи (супероксиддисмутази, каталази, відновленого глутатіона ($p>0,05$)). Рівень МДА з наявністю хронічних ускладнень достовірно не корелює.

4. Лікування препаратом L-аргініною кислотою призводить до корекції ОС із зменшенням рівня малонового діальдегіду ($p<0,01$), підвищенням рівня каталази ($p<0,05$). Також встановлена ефективність впливу препарату на стан судинної стінки та кровообігу капілярів кон'юнктиви ока і нігтьового ложа пальців рук ($p < 0,05$ за методом Каплана-Мейєра).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Для дослідження порушення мікроциркуляції у дітей з ЦД 1 доцільне застосування методу комп'ютерної капіляроскопії.

2. Включення до основної схеми лікування дітей, хворих на ЦД 1, препарату L-аргінінової кислоти у віковому дозуванні сприяє зниженню рівня оксидативного стресу, покращанню стану антиоксидантної системи та мікроциркуляторного русла.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Майданник В.Г., Шевченко Т.А., Корнійко Є.Ю., Герасимчук К.А. Корекція оксидативного стресу у дітей, хворих на ЦД 1-го типу//*Пробл.клін. педіатрії*.-2017.-1-2 (35-36).-С.45-49.
2. Шевченко Т.А., Корнійко Л. Ю. Кореляційні зв'язки показників мікроциркуляторного русла у дітей, хворих на ЦД 1-го типу//*Укр.наук.-мед. молодіжний журн.*-2017.-№2 (101).-С.37-41.
3. Майданник В.Г., Шевченко Т.А., Корнійко Л.Ю., Гавриленко Ю.В. Вплив L-аргініну на стан мікроциркуляторного русла у дітей, хворих на ЦД 1-го типу//*Пробл. клін. педіатрії*.-2018.-1 (39).-С.45-49.
4. Майданник В.Г., Шевченко Т.А. Стан перекисного окислення ліпідів та антиоксидантної системи у дітей, хворих на ЦД 1 залежно від наявності хронічних ускладнень//*Пробл. клін. педіатрії*.-2018.-4 (42).-С.6-13.
5. Шевченко Т.А., Майданник В.Г. Параметри окисного гомеостазу у дітей, хворих на ЦД 1 в залежності від тривалості захворювання та ускладнень//*Укр. наук.-мед. молодіжний журн.*-2018.-3-4(108).-С.11-15.
6. Підвищення ефективності лабораторної діагностики ЦД I типу та у дітей з цукровим діабетом I типу на фоні гострих респіраторних вірусних захворювань: інформаційний лист про нововведення в сфері охорони здоров'я №73-2017/О. О. Юхименко, Майданник В.Г., Шевченко Т.А., Лантух Л. О.; ДУ Інститут епідеміології та інфекційних хвороб імені Л. В. Громашевського НАМН України, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Укрмедпатентінформ, Міністерство охорони здоров'я України. - К.: МОЗ України; Укрмедпатентінформ, 2017. - 4 с. - Б. ц.
7. Патент на КМ UA № 128513. Спосіб прогнозування розвитку ускладнень у дітей з цукровим діабетом 1 типу/Юхименко О. О., Майданник В. Г., Шевченко Т. А., Самарін Д. В.; ДУ "Інститут епідеміології та інфекційних хвороб імені Л. В. Громашевського НАМН". u 2018 02240 ; заявл. 05.03.2018; опуб. 25.09.18, Бюл. № 18.
8. Шевченко Т.А., Мітюряєва І.О., Гнілоскурєнко А.В. Порушення мікроциркуляції у дітей, хворих на ЦД 1 в залежності від тривалості захворювання//*Актуальні проблеми педіатрії: матеріали XI конгресу педіатрів України (Київ, 7-9 жовт. 2015 р.)*.-К., 2015.-С.107.
9. Шевченко Т.А., Корнійко Є.Ю., Герасимчук К.А. Окисний гомеостаз у дітей, хворих на ЦД 1-го типу//*Пріоритети та перспективи молодіжної науки: матеріали III міжнародного медико-фармацевтичного конгресу студентів та молодих учених (Чернівці, 6-8 квіт. 2016р.)*. Чернівці, 2016. С. 408.
10. Шевченко Т.А., Корнійко Є.Ю., Герасимчук К.А., Гавриленко Ю.В., Черновол Л.О., Лантух Л.О., Белінська І.А. Ефективність впливу L-аргініну на окисний гомеостаз у дітей, хворих на ЦД 1-го типу//*Актуальні проблеми педіатрії: матеріали XIII з'їзду педіатрів України (Київ, 11-13 жовт. 2016р.)*.-К., 2016.-С.109-110.
11. Шевченко Т.А., Корнійко Є.Ю., Герасимчук К.А., Черновол Л.О. Показники окисного гомеостазу у дітей, хворих на ЦД 1 в залежності від

тривалості захворювання//*Актуальні проблеми педіатрії: матеріали XII конгресу педіатрів України (Київ, 10-12 жовт. 2017 р.)*.-К., 2017.-С.64.

12. Митюряева И.А., Гнилокурченко А.В., Шевченко Т.А. Особенности микроциркуляторного русла у детей с сахарным диабетом 1 типа в зависимости от длительности заболевания//*Межд.журн.педиатрии, акушерства и гинекологии*.-2015.-Т.7 (3).-С.18-25.

13. Шевченко Т.А., Корнійко Є.Ю., Герасимчук К.А., Лантух Л.О., Белінська І.А. Зміни показників окисного гомеостазу у дітей хворих на ЦД 1-го типу//*Межд. журн. педиатрии, акушерства и гинекологии*.-2016.-Т.9 (2).-С. 57-61.

14. Shevchenko T., Kornijko I., Gerasymchuk K. Microcirculation state in children with type 1 diabetes depending on the duration of disease XV International Congress of Medical Sciences (Sofia, Bulgaria, 12 – 15 May. 2016). Sofia, Bulgaria, 2016. P.230.

15. Tatiana Shevchenko, Liza Korniiiko, Katerina Gerasymchuk controlled prospective trial "Oxidative homeostasis in children with type 1 diabetes" International Student Congress ISC (Graz, Austria, 25-27th May 27.). Graz, Austria, 2017. ISBN 978-3-9504088-0-5.

АНОТАЦІЯ

Шевченко Т.А. Ефективність корекції оксидативного стресу у дітей, хворих на ЦД 1-го типу.– Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.10 - «Педіатрія». - Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, 2019.

Дисертація присвячена проблемі оксидативного стресу (ОС), що розвивається у дітей, хворих на цукровий діабет ЦД 1-го типу. Наведено результати клінічних, лабораторних, інструментальних методів дослідження проведених у 120 дітей, хворих на ЦД 1-го типу.

У науковій роботі вперше проведено дослідження показників ОС (8-оксигуанін (8-охоG) та 8-окси-дигуанозин (8-ОНdGu) в сечі, супероксидгенеруючої та NO-генеруючої активності нейтрофільних гранулоцитів крові дітей з ЦД 1. Вивчено показники ОС (малоновий діальдегід, супероксиддисмутаза, каталаза, відновлений глутатіон) залежно від тривалості захворювання, наявності хронічних ускладнень ЦД 1 у дітей. Вперше встановлено кореляційні зв'язки між досліджуваними показниками капіляроскопії нігтьового ложа пальців рук та бульбарної біомікроскопії кон'юнктиви ока у дітей з ЦД 1. Вперше для корекції рівня ОС, покращання стану антиоксидантної системи та мікроциркуляторного русла включено до

основної схеми лікування дітей ЦД 1, антиоксидантний препарат L-аргінінової кислоти.

Ключові слова: цукровий діабет 1; оксидативний стрес; мікроангіопатія; мікроциркуляція; антиоксиданти; прооксиданти; L-аргінінова кислота.

АННОТАЦІЯ

Шевченко Т.А. Эффективность коррекции оксидативного стресса у детей, больных сахарным диабетом 1-го типа. - Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.10- «Педиатрия». - Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев, 2019.

В результате проведенных исследований установлены достоверные изменения окислительного гомеостаза у детей, больных сахарным диабетом (СД) 1, достоверное повышение уровня 8-охоG ($p < 0,05$) по сравнению с группой контроля, уровня NO до $(4,37 \pm 0,72)$ нмоль/ 1×10^5 кл., что почти вдвое выше, чем в группе контроля – $(2,46 \pm 0,56)$ нмоль/ 1×10^5 кл. ($p < 0,05$), достоверное повышение уровня МДА до $(3,47 \pm 0,23)$ мкмоль/л по сравнению с группой контроля – $(0,64 \pm 0,06)$ мкмоль/л ($p < 0,001$) и достоверное снижение уровня СОД у больных до $(1,59 \pm 0,30)$ усл.ед. по сравнению с группой контроля – $(2,95 \pm 0,58)$ усл.ед. ($p = 0,011$), что подтверждает наличие оксидативного стресса у детей, больных СД 1. Установлена достоверная положительная корреляционная связь между NO и O^{2-} ($p < 0,05$) ($r = 0,57$), что указывает на гиперпродукцию свободных радикалов и активацию АОС. Установленные достоверные корреляционные связи между показателями биомикроскопии конъюнктивы глаза и капилляроскопии ногтевого ложа пальцев рук ($r = 0,309-0,459$, $p < 0,05$) у детей с СД 1 свидетельствуют о единстве микроциркуляторного русла и изменений микроциркуляции во всех звеньях кровообращения. Выявлено достоверное увеличение уровня малонового диальдегида и тенденцию к снижению уровня показателей антиоксидантной системы (СОД, каталаза, глутатион) с увеличением продолжительности СД 1. Хронические осложнения у детей, больных СД 1, существенно не влияют на уровень малонового диальдегида, СОД, каталазы, глутатиона.

На фоне лечения препаратом L-аргининовой кислоты уровень малонового диальдегида достоверно уменьшился ($p < 0,01$), содержание каталазы достоверно повысилось ($p < 0,05$), уровень супероксиддисмутазы и восстановительного глутатиона повысился, что может свидетельствовать об улучшении состояния окислительного гомеостаза у детей больных СД 1.

По данным анализа Каплан-Мейера, была подтверждена эффективность влияния L-аргининовой кислоты ($p < 0,05$) на состояние сосудистой стенки и кровообращения капилляров конъюнктивы глаза и ногтевого ложа пальцев рук.

Эффективное действие препарата L-аргининовой кислоты на капилляры ногтевого ложа и конъюнктивы глаза может указывать на положительное влияние его на звенья кровообращения. Применение компьютерной

капилляроскопии следует рекомендовать как скрининговый метод для исследования микроциркуляции у детей, больных СД 1 для раннего выявления сосудистых изменений. С целью снижения уровня оксидативного стресса, улучшения состояния антиоксидантной системы и микроциркуляторного русла следует рекомендовать включение в основную схему лечения детей с СД 1 антиоксидантный препарат L-аргининовой кислоты.

Ключевые слова: сахарный диабет 1; оксидативный стресс; микроангиопатия; микроциркуляция; антиоксиданты; прооксиданты; L-аргининовая кислота.

SUMMARY

Shevchenko T.A. Efficiency of the oxidative stress correction in children with type 1 diabetes - Manuscript.

Dissertation for the candidate of medical sciences degree in specialty 14.01.10 "Pediatrics" (222 - Medicine). - Bogomolets National Medical accredited by University Ministry of Health of Ukraine, Kyiv, 2019.

The dissertation is devoted to the problem of oxidative stress (OS) in developing in children with type 1 diabetes. The results of clinical, laboratory, instrumental methods of research conducted in 120 children with type 1 diabetes are presented.

In this study for the first time were investigated/measured levels of OS (8-oxoguanine (8-oxoG) and 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdGu) in urine, superoxide-generating and NO-generating activity of the neutrophilic granulocytes in blood) for children with type 1 diabetes. The OS parameters (malonic dialdehyde, superoxide dismutase, catalase, restorative glutathione) were studied, depending on the duration of the disease, on the presence of chronic complications of type 1 diabetes in children. Correlations between the studied parameters of nailfold capillaroscopy and biomicroscopy of the bulbar conjunctiva of the eye were established. For the first time, the L-arginine acid preparation was administered for the correction of OS to children with type 1 diabetes.

Keywords: diabetes mellitus type 1, oxidative stress, microangiopathy, microcirculation, antioxidants, prooxidants, L-arginic acid.

Перелік умовних скорочень

8-OHdG - 8-гідрокси-2-деоксигуанозин
8-oxoG - 8-оксогуанін
HbA1c - глікований гемоглобін
NO - оксид азоту
ROS - активні форми кисню
АЛК - альфа-ліпоева (тіоктова) кислота
АОС - антиоксидантна система
АФК - активні форми кисню
ВР – вільні радикали
ВРДЖ - високий ризик для життя
ДКА - діабетичний кетоацидоз
ДН - діабетична нефропатія
ДПН - діабетична полінейропатія
ЕКГ - електрокардіографія
ЕПР – електронний парамагнітний резонанс
ЛПНЩ - ліпопротеїни низької щільності
МДА – малоновий діальдегід
МЦ – мікроциркуляція
ОГК - оптимальний глікемічний контроль
ОС - оксидативний стрес
ПВЗ – периваскулярна зона
ПМЦ – порушення мікроциркуляції
ПОЛ - перекисне окислення ліпідів
цГМФ - циклічний гуанозинмонофосфат
СОГК - субоптимальний глікемічний контроль
СОД – супероксиддисмутаза
ЦД 1 - цукровий діабет 1-го типу

