

# Клінічна фізіологія та біохімія

УДК 616.379-008.64-053.2 : 577.12

*В.Г. МАЙДАННИК, Є.А. БУРЛАКА*

*Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, м. Київ*

## **Стан метаболічно-гіпоксичних порушень при діабетичній нефропатії у дітей**

Цукровий діабет (ЦД) – група розладів обміну речовин, що характеризується хронічною гіперглікемією внаслідок дефіциту інсуліну, резистентністю до інсуліну або їх поєднанням. У світі близько 140 млн осіб хворіють на цукровий діабет. Основним біохімічним розладом при цукровому діабеті є гіперглікемія, що спричинює токсичну дію, внутрішньоклітинно активуючи низку ферментативних реакцій, апоптоз, запалення, оксидативний стрес. Усі ці порушення ініціюють активізацію цитокінів і факторів росту, які беруть активну участь у виникненні та розвитку ушкоджень органів-мішеней при цукровому діабеті [2, 17, 19].

Моніторинг рівня глюкози крові у хворих на цукровий діабет є критично важливим моментом терапії. Глюкоза, що є в крові у надлишковій концентрації, може зв'язуватись неферментативно з білками, зокрема, з гемоглобіном у процесі глікозилювання. Рівень формування глікозилюваного гемоглобіну залежить від концентрації глюкози в навколишньому мікрооточенні. Люди з високим рівнем глюкози в крові мають вищий рівень глікозилюваного гемоглобіну. Неферментативне глікозилювання, що відбувається в результаті спонтанної взаємодії між глюкозою та аміногрупами білків, призводить до утворення продуктів неповного глікозилювання (ПНГ), що є високотоксичними [2].

Показники патофізіологічних процесів, що спричинюють формування хронічної клітинної гіпоксії, є наслідком токсичного персистентного впливу глюкози і призводять до діабетичної нефропатії при ЦД 1-го типу у дітей, вивчені недостатньо.

Цукровий діабет – основна причина термінальної стадії хронічного захворювання нирок (ХЗН), позаяк діабетична нефропатія розвивається в 30–40 % хворих. Діабетична нефропатія не розвивається за відсутності гіперглікемії. Сьогодні вивчаються декілька ланок ушкодження нирок за діабетичної нефропатії. Як відомо, гіперглікемія індукує ушкодження нирок безпосередньо або через гемодинамічні порушення [11]. Крім цього, гіперглікемія є активатором протеїнази С, утворення продуктів неповного глікозилювання, розвитку запалення. Паралельно відбуваються гемодинамічні зміни, такі, як клубочкова гіперфільтрація, альбумінурія. Ці порушення провокують стимуляцію ниркових клітин до продукування профіброзних факторів, зокрема TGF- $\beta$ 1. Це активує транспортний білок GLUT-1, який посилює внутрішньоклітинний транспорт глюкози [21]. TGF- $\beta$ 1 активує позаклітинне відкладення матриксу (колаген типів I, IV, V, VI; фібронектин, ламінін та ін.) в структурі клубочка, викликаючи

розширення мезангіального простору, потовщення клубочкової базальної мембрани [20].

Відомо також, що при діабетичній нефропатії відбувається активація системи ренін-ангіотензин-альдостерон (РААС). *In vitro* показано, що ангіотензин II збільшує продукцію компонентів зовнішньоклітинного матриксу мезангіальними клітинами, насамперед через стимуляцію TGF- $\beta$ 1 [5, 9].

Результатом персистентної гіперглікемії є утворення високих рівнів продуктів неповного глікозилювання. Ці метаболіти глюкози активують утворення TGF- $\beta$ 1 клітинами клубочка, що індукує гломерулосклероз і тубуло-інтерстиціальні ушкодження. Призначення специфічних інгібіторів продуктів глікозилювання щурам з індукованим цукровим діабетом знижує ступінь гломерулосклерозу (ступінь гломерулосклерозу визначається сектором клубочка, який займає склероз: I ст. – до 20 %, II ст. – 25–50 %, III ст. – 50–75 %, IV ст. – понад 75 %), у тубуло-інтерстиціальному сегменті, сприяє зниженню рівня альбумінурії [7].

Останніми роками приділяється увага дослідженню стану системи вітаміну D3 (за даними літератури, цей аспект активно досліджується при діабетичній нефропатії у дорослих) при цукровому діабеті 1-го типу. Його виявлено у когорті дорослих, хворих на ЦД 1-го типу. Дефіцит вітаміну D3 пов'язують з високим ризиком мікросудинних і макросудинних ускладнень діабету [6]. Однак не досліджено стан системи вітаміну D3 у дітей, хворих на цукровий діабет 1-го типу. Незрозумілі патофізіологічні аспекти виникнення його дефіциту, чинники, що призводять до його недостатності. Проведене нами дослідження базисних патогенетичних розладів при діабетичній нефропатії (показники гіпоксії, загальнометаболічних порушень) у дітей передуює вивченню системи вітаміну D3 у дітей з діабетичною нефропатією, що може стати поштовхом для розробки нових підходів до унеможливлення ушкодження нирок при діабетичній нефропатії.

**Мета дослідження** – вивчити показники патофізіологічних процесів, що провокують формування хронічної клітинної гіпоксії, викликають унаслідок токсичного персистентного впливу глюкози та призводять до діабетичної нефропатії при ЦД 1-го типу у дітей.

**Матеріали і методи дослідження.** Обстежено 34 пацієнтів із цукровим діабетом 1-го типу (віком від 10 до 16 років), які перебували на стаціонарному лікуванні у відділенні ендокринології ДКЛ № 6 м. Києва в 2015 р. Комплекс обстеження крім загальноприйнятих методик (огляд, моніторинг артеріального тиску, загальний та біохімічний аналіз крові, вивчення сечового осаду та концентраційної спроможності нирок, УЗД органів черевної порожнини тощо) включав визначення в крові хворих рівня окиснених і неокиснених ліпідів, спектральний аналіз форм гемоглобіну. До групи контролю увійшли 18 здорових дітей.

Спорідненість гемоглобіну із киснем та коефіцієнт окиснення ліпідів визначали спектрофотометричним методом [13]. Гемоліз еритроцитів (цього вимагає методика оцінювання дисоціації Hb/O<sub>2</sub>) здійснювали замороженням зразків крові. Електронні спектри гемоглобіну реєстрували за допомогою спектрофотометра T70 UV/VIS (PG Instruments Limited, UK).

Гіпоксичні ушкодження (HIF-1 $\alpha$ ) в плазмі визначали за допомогою методу Western Blotting. Для підготовки зразків плазму крові розводили в буфері (50 ммоль Tris/HCl (pH=7,4), 50 ммоль NaCl, 1 ммоль EDTA, 0,5 ммоль дитіотреїтолу 0,5 % деоксихлорату натрію, 1,5 % NP-40, 1 ммоль фенілметилсульфонілу флюориту) у співвідношенні 1:100. До зразка додавали інгібітори протеаз (Protease cocktail inhibitor, Roche Diagnostics, USA) у співвідношенні 1:1000 до кінце-

вого об'єму. Об'єм зразків, які поміщали в гель для електрофорезу, визначали з урахуванням концентрації загального білка плазми обстежених та суспензії клітин за методом Бредфорда (Bio-Rad protein assay, США).

Електрофорез зразків проводили в 12,5% поліакриламідному гелі з наступним трансфером на полівінілдендифлюоридні мембрани та блокуванням мембран у 5 % знежиреному молоці на TBS-T (136 ммоль NaCl, 10 ммоль Tris, 0,05 % Tween 20). Інкубацію з первинними антитілами (mouse anti-HIF-1 alfaCell Signaling) у співвідношенні 1:500 – 1:1000 проводили протягом 12 год за температури 4 °С. Як вторинні антитіла використовували Anti-rabbit та Anti-mouse horsredish peroxidase Ab (GE Healthcare) в концентрації 1:3000 з інкубуванням протягом 1 год за кімнатної температури. Після відмивання мембран за допомогою TBS-T проведено візуалізацію білків із застосуванням хемілюмінесцентного субстрату ECL (GE Healthcare). Для контролю об'єму зразків, поміщених у гель при електрофорезі, використано  $\beta$ -актин.

Матеріал опрацьовано з використанням методів варіаційної статистики (STATISTICA 6.0) та непараметричних статистичних підходів (тест Манна–Вітні). Результати представлено як Mean $\pm$ SEM, статистично достовірним вважався рівень  $p < 0,05$ .

**Результати дослідження та їх обговорення.** Залежно від загальноклінічних даних, усіх пацієнтів розділено на чотири групи (див. таблицю).

#### Клінічна характеристика обстежених дітей

Параметри	ЦД 1-го типу, вперше виявлений	ЦД 1-го типу, діабетична нефропатія	Контроль
Вік, роки	13 $\pm$ 5 (11–16)	12 $\pm$ 4 (12–16)	12 $\pm$ 5 (11–17)
Хлопчики/дівчатка	8/8	8/10	10/8
Маса тіла, кг	55 $\pm$ 2 (49–60)	52 $\pm$ 4 (28–61)	61 $\pm$ 4 (35–71)
Зріст, см	161 $\pm$ 6 (157–171)	163 $\pm$ 4 (155–174)	163 $\pm$ 5 (159–171)
Креатинін плазми, мкмоль/л	38 $\pm$ 4 (36–43)	61 $\pm$ 5 (43–61)	39 $\pm$ 4 (36–41)
Добова протеїнурія, мг/доба	Відсутня	290 $\pm$ 20 (210–310)	Відсутня
Глікозильований гемоглобін, %	4,5 $\pm$ 0,8 (4,0–5,8)	14 $\pm$ 4 (9–16)	4,3 $\pm$ 0,9 (4,1–5,6)
Систолічний АТ, мм рт.ст.	110 $\pm$ 4 (100–120)	120 $\pm$ 20 (115–140)	112 $\pm$ 6 (100–118)
Діастолічний АТ, мм рт. ст.	86 $\pm$ 3(68–88)	100 $\pm$ 10 (92–110)	88 $\pm$ 4 (70–86)

У всіх обстежених дітей вивчено рівні спорідненості гемоглобіну з киснем за рівнем поглинання в межах смуги Соре. У дітей з основної групи показник становив 3,05  $\pm$  0,23. У групі дітей із вперше виявленим ЦД 1-го типу зафіксовано зростання показника порівняно з групою контролю – 3,61  $\pm$  0,25 % ( $p < 0,05$ ). У дітей із ЦД 1-го типу та діабетичною нефропатією показник становив 1,76  $\pm$  0,27 % ( $p < 0,01$ ) (групи контролю (рис. 1).

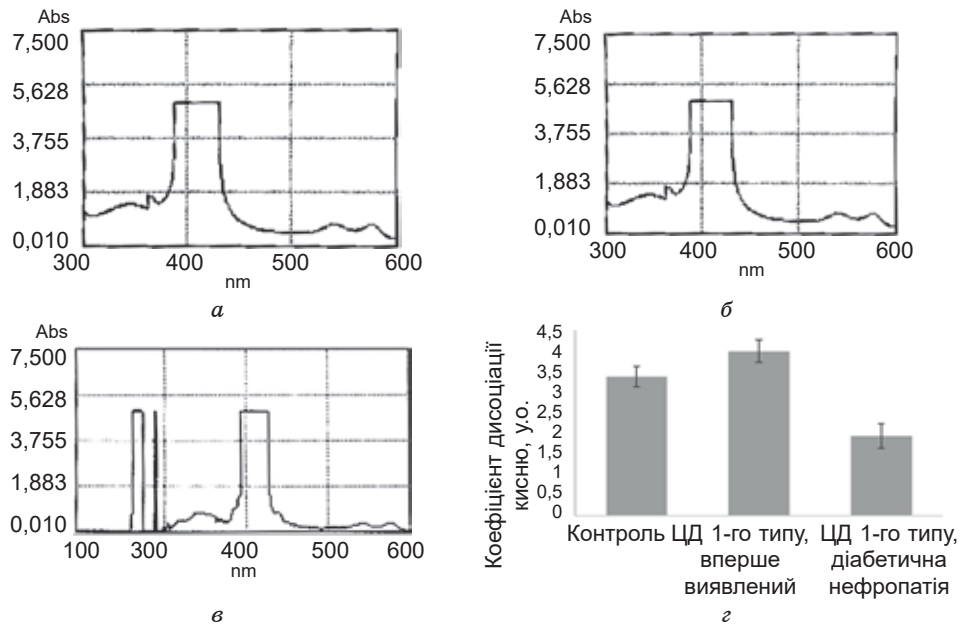


Рис. 1. Зміна електронної структури порфіринового кільця гемоглобіну у дітей: а – група контролю; б – ЦД 1-го типу, вперше виявлений; в – ЦД 1-го типу, діабетична нефропатія; г – показники обстежених груп.

Досліджуючи рівень клітинної гіпоксії при діабетичній нефропатії, визначали показник HIF-1 $\alpha$  у плазмі крові. Виявлено високі рівні HIF-1 $\alpha$  у дітей із діабетичною нефропатією, як і у дітей із ЦД 1-го типу у порівнянні з групою контролю. Так, у цій групі показник перевищував показник групи контролю ( $30,03 \pm 3,75$  %,  $p < 0,01$ ). Показник у групі дітей із діабетичною нефропатією перевищував показник у групі з ЦД 1-го типу ( $118,44 \pm 1,76$  % проти  $130,04 \pm 3,75$  %,  $p < 0,01$ ). Показник групи контролю взято за 100 % (рис. 2, а). Виявлено пряму позитивну кореляційну залежність між тривалістю діабетичної нефропатії та рівнями HIF-1 $\alpha$  ( $r = 0,68$ ,  $p < 0,01$ ) (рис. 2, б).

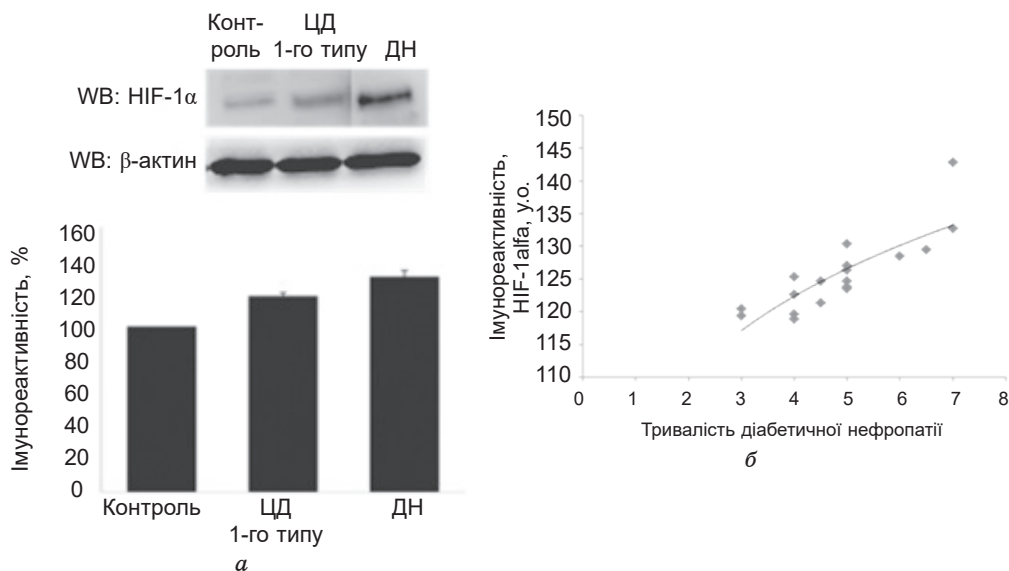


Рис. 2. Рівні HIF-1 $\alpha$  в плазмі крові хворих на діабетичну нефропатію і ЦД 1-го типу (а); залежність рівнів HIF-1 $\alpha$  від тривалості діабетичної нефропатії (б); \* –  $p < 0,05$ . WB – Western Blotting.

У всіх обстежених дітей, хворих на ЦД 1-го типу, досліджено рівні в плазмі крові показника окиснення ліпідів за рівнем коефіцієнта співвідношення фракцій неокиснені/окиснені ліпіди. У дітей основної групи цей показник становив  $1,25 \pm 0,03$  у групі дітей з уперше виявленим ЦД 1-го типу –  $1,01 \pm 0,05$  ( $p < 0,05$ ), у дітей із групи з ЦД 1-го типу та діабетичною нефропатією –  $0,76 \pm 0,07$  ( $p < 0,01$ ) щодо групи контролю (рис. 3).

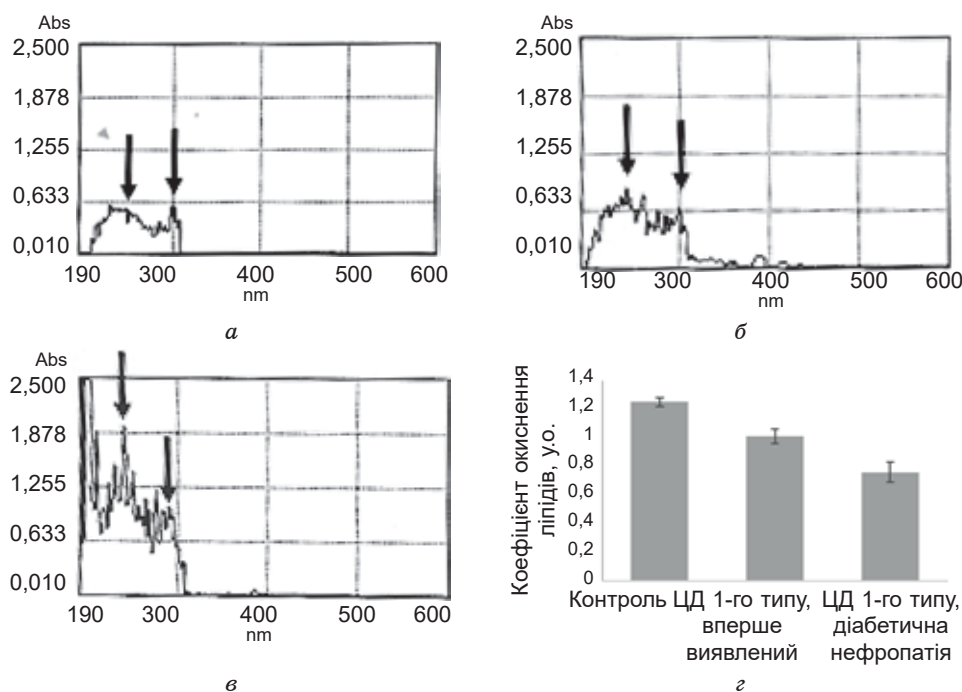


Рис. 3. Коефіцієнт окиснення ліпідів у дітей:

*a* – група контролю; *б* – ЦД 1-го типу, вперше виявлений;

*в* – ЦД 1-го типу, діабетична нефропатія; *г* – показники обстежених груп.

Поглинання світла метало- і хромопротеїнами, зокрема гемоглобіном, у видимій ділянці спектра визначається простетичними групами. На межі між видимою та ультрафіолетовою ділянками спектра всі 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 в молекулі гемоглобіну на рівні гему. За умов гіперглікемії, що наявна при цукровому діабеті [13], гемоглобін зазнає глікозилювання, і, як наслідок, змінюється його спорідненість із киснем і порушується кисеньтранспортна функція.

Гемоглобін представлений гетерогенною родиною білків, що містять простетичну групу та протопорфірин IX (гем). Крім транспорту кисню гемоглобін виконує ще цілу низку важливих функцій: зв'язування оксиду азоту [15] і сульфідів, взаємодія з активними формами оксигену та нітрогену, сенсорні функції та ін. У результаті гіперглікемії при ЦД утворюються трансформовані форми оксигемоглобіну та оксиміоглобіну (метформи гемопротеїнів), ушкоджується порфіринове кільце з подальшою деградацією гему. Гем деградує у дві стадії та включає окиснення заліза гему і нітрування залишків тирозину в апоферменті. Нітрування гемоглобіну призводить до зміни конформації білка, внаслідок чого гем виходить із гідрофобної кишені, а отже, підвищується ймовірність його вивільнення і руйнування [16]. Гемоглобін – перший



білок, для якого показано можливість неферментативного глікозилювання. Вміст у крові глікозилюваного гемоглобіну (HbA1c) є маркером порушень вуглеводного обміну та показником компенсування ЦД [10]. Проведені нами дослідження підтверджують значне зростання вмісту HbA1 у пацієнтів із ЦД 1-го типу та діабетичною нефропатією порівняно з уперше виявленим ЦД.

Переважаючими сайтами глікозилювання гемоглобіну є аміногрупи N-кінцевої амінокислоти валіну обох  $\beta$ -ланцюгів, а також  $\epsilon$ -аміногрупи деяких залишків лізину  $\alpha$ - і  $\beta$ -ланцюгів глобіну [2, 18]. Присутність молекули глюкози на N-кінцях  $\beta$ -ланцюгів глобіну унеможливає взаємодію HbA1c з 2,3-дифосфоліцератом, який зумовлює зниження спорідненості гемоглобіну з киснем, що виявлено в групі хворих на ЦД 1-го типу зі сформованою нефропатією.

Як відомо, порфірини мають плоску структуру, у якій чергуються одинарні та подвійні зв'язки, тобто є системою зі спряженими подвійними зв'язками. Експериментально доведено [4], що спектри поглинання молекул зі спряженими подвійними зв'язками визначаються усією системою спряжених зв'язків. Тому можна припустити, що будь-які зміни в системі спряжених зв'язків порфірину, що призводять до зміни симетрії електронної густини порфіринового ядра, можуть супроводжуватися зміною електронної густини молекули, розподілу електронних енергетичних рівнів і, як наслідок, зміною спектрів поглинання. У досліджах *in vitro* показано, що інтенсивність смуги Soret зумовлена електронною структурою гему [4, 13]. Зауважимо, що специфічні властивості гемоглобіну визначаються структурою молекули: структурою гему, глобінового компонента, природою зв'язку гему з глобіном. Важливу роль у цьому зв'язку відіграє залізо гему. Не менш важливий внесок у зв'язки гему з глобіном роблять 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, відображають зміни як у гемі, так і в глобіні, що пояснює виявлене нами зростання спорідненості гемоглобіну з киснем у групі пацієнтів із вперше виявленим ЦД.

Продукти глікозування при ЦД, в тому числі HbA1, формуються в неферментативних реакціях глюкози та інших продуктів глікозилювання за участю окиснених жирних кислот. Ці процеси активно відбуваються в артеріальних ендотеліальних клітинах артерій та інших епітеліальних клітинах, у тому числі в нирках [1]. Виявлено високий коефіцієнт окисненості ліпідів при діабетичній нефропатії, що є передумовою для ушкодження судин, у тому числі мікроциркуляторного русла нирок.

*In vitro* показано, що гіперглікемія та протеїнурія, які шкідливо впливають на клітини нирок при діабетичній нефропатії, можуть спричиняти апоптоз тубулярних клітин, пов'язаний із активацією Fas-FADD-каспаз-8 шляху. Антиапоптозний фактор Bcl-2 може зв'язуватися з Вах, унеможливаючи його активацію. Функція надекспресії Bcl-2 в подоцитах полягає у забезпеченні захисного впливу на клубочки при діабетичній нефропатії [16]. *In vitro* показано, що захисний антиапоптозний ефект 1,25-(OH) 2D3 при апоптозі клітин нирок пов'язаний з регулювальним впливом на Smad, FADD, Вах Bcl-2. 1,25 (OH) 2D3 може гальмувати TGF- $\beta$ 1-сигнальний шлях і активність каспази-3, інгібуючи рівні апоптозу, зв'язані з білками (Fas, FADD і Вах), збільшуючи експресію антиапоптозного білка Bcl-2 в клітинах нирок [12].

ЦД 1-го типу пов'язаний із дисбалансом про-, антизапальних цитокінів, – трансформувальний фактор росту  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1), інтерферон  $\gamma$  (INF- $\lambda$ ), інтерлейкін-1  $\alpha$  (IL-1a), інтерлейкін-1b (IL-1b), IL-4, IL-6, IL-12, фактор некрозу пухлин (TNF)- $\alpha$ . Основним джерелом цих ци-

токінів та інших запальних медіаторів імунної системи є активовані Т- і В-лімфоцити, дендритні клітини (ДК), природні кілери (НК) клітини і макрофаги. Усі ці порушення провокують запалення, що, супроводжується зростанням внутрішньоклітинної гіпоксії [8]. Відомо, що 1,25 (ОН) 2D3 є потужним регулятором прозапальних процесів. Вітамін Д3 і його аналоги також пригнічують секрецію ІЛ-2 – ключового цитокіна *in vitro* [14, 16].

Таким чином, дослідження вторинних індукованих метаболічними розладами та гіпоксією ушкоджень, при ЦД 1-го типу та діабетичній нефропатії, зокрема зв'язаних з порушеннями в системі вітаміну Д3 та в системі контролю апоптозу, а також пошук терапевтичних шляхів їх унеможливлення та лікування, є перспективним напрямом сучасної нефрології.

**Висновки.** Досліджено деякі показники патофізіологічних процесів, що виникають унаслідок персистентної гіперглікемії та провокують формування хронічної клітинної гіпоксії і призводять до діабетичної нефропатії при ЦД 1-го типу у дітей.

Виявлено, що в організмі дітей з уперше виявленим ЦД 1-го типу наявні виражені метаболічні порушення – високий коефіцієнт окиснення ліпідів, що стабільно зростає при сформованій діабетичній нефропатії (згідно з класифікацією, це стадія, яку виявляють клінічно); зростання коефіцієнта дисоціації Нb та кисню, що є свідченням ушкоджень глобину та є первинним до утворення НbA1c.

У дітей із діабетичною нефропатією зростає показник спорідненості Нb із киснем унаслідок зростання рівня НbA1c та створює патогенетичний фон для розвитку каскаду реакцій у патогенезі діабетичної нефропатії. Загальнометаболічні (базисні) порушення при діабетичній нефропатії – зниження окиснення ліпідів та зростання коефіцієнта спорідненості Нb із киснем супроводжувались високим рівнем внутрішньоклітинної гіпоксії, рівні якої залежать від тривалості діабетичної нефропатії.

Вивчення порушень у системі вітаміну Д3 та в системі контролю апоптозу при діабетичній нефропатії у дітей з метою розробки лікувальних підходів до їх корекції є вкрай важливим.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Alinejad-Mofrad S.* Improvement of glucose and lipid profile status with Aloe vera in pre-diabetic subjects: a randomized controlled-trial / S. Alinejad-Mofrad, M. Foadoddini, S. Alireza Saadatjoo, M.J. Shayesteh // *J. Diabetes Metab. Disord.* – 2015. – Vol. 14. – P. 22–27.
2. *American Diabetes Association* diagnosis and classification of diabetes *Diabetes Mellitus Care.* – 2010. – Vol. 33, Issue 1. – P. 62–69.
3. *American Diabetes Association* Standards Of Medical Care In Diabetes. – 2015. – Vol. 38, Issue 1. – P. 90.
4. *Artyukhov V.G.* Gemoproteidy: zakonmernosti fotokhimicheskikh prevrashcheniy v usloviyakh razlichnogo mikrookruzheniya / V.G. Artyukhov // Voronezh : Izd-vo Voronezh. un-ta, 1995. – P. – 280.
5. *Atkins R.C.* Diabetic kidney disease: Act now or pay later / R.S. Atkins, P. Zimet // *Nephrol Dial Transplant.* – 2010. – Vol. 25. – P. 331–333.
6. *Chowdhury R.* Vitamin D and risk of cause specific death: systematic review and meta-analysis of observational cohort and randomised intervention studies / R. Chowdhury, S. Kunutsor, A. Vitezova // *British Medical Journal.* – 2014. – Vol. 348.
7. *Forbes J.M.* The breakdown of preexisting advanced glycation end products is associated with reduced renal fibrosis in experimental diabetes / J.M. Forbes, V. Thallas, M.C. Thomas, H.W. Founds, W.C. Burns, G. Jerums, M.E. Cooper. // *FASEB J.* – 2003. – Vol. 17. – P. 1762–1764.
8. *Goldin A.* Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury / A. Goldin, J.A. Beckman, A.M. Schmidt, M.A. Creager // *Circulation.* – 2006. – Vol. 114. – P. 597–605.
9. *Hadjadj S.* Association between angiotensin-converting enzyme gene polymorphisms and diabetic nephropathy: case-control, haplotype, and family-based study in three European populations / S. Hadjadj, L. Tarnow, C. Forsblom // *J Am Soc Nephrol.* – 2007. – Vol. 18, Issue 4. – P. 1284–1291.
10. *Hayashi A.* An enzymatic reduction system for metmyoglobin and methemoglobin, and its application to functional studies of oxygen carriers / A. Hayashi, T. Suzuki, M. Shin // *Biochim Biophys Acta.* – 1973. – Vol. 310. – P. 309–316.
11. *Heilig C.W.* GLUT1 regulation of the pro-sclerotic mediators of diabetic nephropathy / C.W. Heilig, D.K. Deb,

A. Abdul, H. Riaz, L.R. James, J. Salameh, N.S. Nahman // *Am J Nephrol* 2013. – Vol. 38. – P. 39–49. 12. *Holick M.F.* Medical progress: Vitamin D deficiency // *M.F. Holick // NEJM*. – 2007. – Vol. 357, Issue 3. – P. 266–281. 13. *Ivanov Yu.G.* Modifikatsiya spektrofotometricheskogo metoda opredeleniya kislorodnodissotsiatsionnykh krivykh gemoglobina / *Yu.G. Ivanov // Byul. eksperimental'noy biologii i meditsyny*. – 1975. – Vol. 11. – P. 122–123. 14. *Oh J.* 1,25(OH) 2 vitamin D inhibits foam cell formation and suppresses macrophage cholesterol uptake in patients with type 2 diabetes mellitus / *J. Oh, S. Weng, S.K. Felton // Circulation*. – 2009. – Vol. 120. – P. 687–698. 15. *Pacher P.* Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease // *P. Pacher, S.J. Beckman, L. Liaudet // Physiol. Rev.* – 2007. – Vol. 87, Issue 1. – P. 315–424. 16. *Reidy K.* Molecular mechanisms of diabetic kidney disease / *K. Reidy, H.M. Kang, T. Hostetter, K. Susztak // K. J. Clin. Invest.* – 2014. – Vol. 124, Issue 6. – P. 2333–2340. 17. *Rojas A.* Advanced glycation and endothelial functions: a link towards vascular complications in diabetes / *A. Rojas, M.A. Morales // Life Sci.* – 2004. – Vol. 76. – P. 715–730. 18. *Shubrook J.H.* Risks and benefits of attaining HbA(1c) goals: Examining the evidence / *J.H. Shubrook, J. Shubrook // Journal of the American Osteopathic Association*. – 2010. – Vol. 110, Issue 7. – P. 7–12. 19. *Vinod P.B.* Pathophysiology of diabetic nephropathy / *Clinical Queries: P.B. Vinod // Nephrology*. – 2012. – Vol. 1, Issue 2. – P. 121–126. 20. *Wolf G.* Cellular and molecular mechanisms of proteinuria in diabetic nephropathy / *G. Wolf, F.N. Ziyadeh // Nephron. Physiol.* – 2007. – Vol. 106. – P. 26–31. 21. *Ziyadeh F.N.* Long-term prevention of renal insufficiency, excess matrix gene expression, and glomerular mesangial matrix expansion by treatment with monoclonal antitransforming growth factor-beta antibody in db/db diabetic mice / *F.N. Ziyadeh, B.B. Hoffman, D.C. Han // Proc. Natl. Acad. Sci USA*. – 2000. – Vol. 97. – P. 8015–8020.

Стаття надійшла до редколегії 17.09.2015

### Состояние метаболически-гипоксических нарушений при диабетической нефропатии у детей

*В.Г. МАЙДАННИК, Е.А. БУРЛАКА*

*Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, г. Киев*

Диабетическая нефропатия является основной причиной смерти пациентов с сахарным диабетом (СД) и признаком его декомпенсации. Основными механизмами, лежащими в основе патогенеза диабетической нефропатии, являются образование продуктов неполного гликозилирования, воспаление, нарушения в системе витамина D3. Исследованы звенья и уровни метаболических нарушений у детей с СД 1-го типа и при диабетической нефропатии. В ходе исследования обследовано 34 ребенка с СД 1-го типа и диабетической нефропатией (в возрасте от 10 до 16 лет). Сродство гемоглобина к кислороду и окисление липидов определяли методом спектрофотометрии. Уровни маркера клеточной гипоксии HIF-1 были определены методом Western Blotting. В группе детей с впервые выявленным СД 1-го типа выявлен высокий уровень диссоциации гемоглобина и кислорода по сравнению с контрольной группой. В группе детей со сформированной диабетической нефропатией уровень маркера значительно ниже по сравнению с контрольной группой и пациентами с СД 1-го типа. Высокий уровень внутриклеточной гипоксии был зафиксирован у всех пациентов по сравнению с контролем. Уровень HIF-1 был значительно выше у пациентов с нефропатией, чем в группе с СД 1-го типа. Дальнейшие исследования изученных маркеров и их взаимозависимости в сети расстройств, вызванных дефицитом витамина D3 и нарушениями в системе контроля апоптоза, в частности в ракурсе прогрессирования диабетической нефропатии, являются перспективным направлением для создания схем профилактики и лечения диабетической нефропатии.

**Ключевые слова:** сахарный диабет 1-го типа, диабетическая нефропатия, метаболические нарушения, гипоксия.



## State of metabolic-hypoxic disorders in children with diabetic nephropathy

V. MAIDANNYK, Ye. BURLAKA

*O. Bohomolets Kyiv National Medical University*

Diabetic nephropathy is the leading cause of kidney disease in patients starting renal replacement therapy and affects ~40 % of type 1 patients. It increases the risk of death, mainly of cardiovascular causes, and is defined by increased urinary albumin excretion. Hyperglycemia, increased blood pressure levels, and genetic predisposition are the main risk factors for the development of diabetic nephropathy. Several key mechanisms are involved in the development of diabetic nephropathy – advanced glycation products formation, inflammation, oxidative stress, disturbances in the Vitamin D3 regulatory system. The purpose of the study was to investigate the links and level of metabolic disorders in children with DM type I and diabetic nephropathy. The study involved 34 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. The level of the marker of cellular hypoxia HIF-1 $\alpha$  was measured using Western Blotting technique.

In the group of children with newly diagnosed DM type I low 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 was significantly higher as compared to the control group. Children from control group developed the affinity of hemoglobin to oxygen at level  $3.05 \pm 0.23$  a.u. In the group of children with newly diagnosed diabetes an increased level of the index was recorded as compared to the control group –  $3.61 \pm 0.25$  a.u. ( $p < 0.05$ ). In the group of children with diabetes and diabetic nephropathy an index was at the level  $1.76 \pm 0.27$  a.u. ( $p < 0.01$ , as compared to the control group). High level of intracellular hypoxia has been documented in all patients as compared to the control. The level of HIF-1 $\alpha$  was significantly higher in patients with diabetic nephropathy in comparison to the diabetic group. In patients with newly diagnosed diabetes mellitus the level of HIF-1 $\alpha$  exceeded the control group by  $30.03 \pm 3.75$  % ( $p < 0.01$ ). Index in the group of diabetic nephropathy exceeded the records from the group with the diabetes mellitus ( $118.44 \pm 1.76$  % and  $130.04 \pm 3.75$  %, respectively ( $p < 0.01$ )). Stage-dependent increase of the level of lipids oxidation coefficient depending on the efficacy of control of DM has been documented. Children from control group have the index at the level  $1.25 \pm 0.03$  a.u. In the group of children with newly diagnosed diabetes –  $1.01 \pm 0.05$  a.u. ( $p < 0.05$  as compared to control). In the group of children with diabetes and diabetic nephropathy and –  $0.76 \pm 0.07$  a.u. ( $p < 0.01$ ) in comparison to control group.

Specific inhibitors of the various pathways having place in diabetic nephropathy development are now available, enabling to prevent and treat diabetic nephropathy. The mainstay of therapy remains attaining optimum glycaemic control. Antihypertensive therapy has a major role in slowing the progression of diabetic nephropathy. Agents that interrupt the renin-angiotensin system such as angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II receptor antagonists may be particularly useful as renoprotective agents in both the hypertensive and normotensive context. However, the basic therapeutic effects based on the ability to recover already existing cellular damage remains to be unknown. Further investigations of the studied markers and their interrelation in the network of disorders due to Vitamin D3 deficiency and apoptosis controlling system, including the pathogenesis of progression of diabetic nephropathy is a promising direction to create schemes of prevention and treatment of diabetic kidney disease.

**Key words:** diabetes mellitus type I, diabetic nephropathy, metabolic disorders, hypoxia.