

ОСОБЛИВОСТІ ГЛІКОЗИЛЮВАННЯ БІЛКІВ У ХВОРИХ НА ДІАБЕТ

А. В. Дзись, Е. М. Кавун

Анотація. У статті розглянуто процес неферментативного глікозилювання, що відбувається за надлишкового вмісту глюкози в крові і стає причиною багатьох молекулярних змін в організмі. Цей процес відбувається у хворих на цукровий діабет, в яких глюкоза в крові більша за норму. Глікозилювання призводить до порушення структури білків, а також зміни ліпідів і мембран, що являється причиною розвитку численних патологій. Проведено аналіз впливу на процес глікозилювання додаткових параметрів, таких як вік, стать, тип діабету.

Ключові слова: цукровий діабет, глікозилювання білків, глікозильований гемоглобін

Неферментативне глікозилювання відбувається за умов гікемії, що призводить до зміни природної функції глікозильованих білків. Їх наявність призводить до структурних змін клітин і різноманітних ускладнень, властивих цукровому діабеті (ЦД). Захворювання цукрового діабету є одним з найбільш розповсюджених. Якщо на початку 80-х років минулого століття число хворих на ЦД становило близько 30 млн, то на сьогодні це вже понад 366 млн, а за прогнозами експертів Міжнародної діабетичної федерації (МДФ) і ВООЗ до 2030 року очікується понад 552 млн. Число хворих на ЦД 2-го типу зростає в усіх без винятку країнах світу найчастіше серед людей віком від 40 до 59 років. До того ж 183 млн людей із ЦД залишаються недіагностованими. ЦД спричинив 4,6 млн випадків смерті у 2011 році, а витрати на ЦД досягали принаймні 465 млрд доларів США [12].

Для визначення цукру проводиться вимірювання глюкози в крові лабораторним методом або індивідуальним глюкометром. Для того, щоб визначити дійсний ступінь компенсації ЦД проводиться вимірювання рівня глікозильованого гемоглобіну. Важливим питанням також являються вікові та соціально-психологічні фактори впливають на рівень глікозильованого гемоглобіну, що краще допоможе зрозуміти хід захворювання і створювати індивідуальний підхід для кожного пацієнта, що у свою чергу полегшить підібрати індивідуальні шляхи які впливають на протікання захворювання.

Види цукрового діабету

За статистичними даними у різних країнах кількість хворих на цукровий діабет різняться, в залежності від рівня медицини і багатьох інших факторів і на сьогодні він є одним із найпоширеніших захворювань у світі. Сучасні методи вимагають постійного контролю рівня цукру у крові, збалансованої дієти, нагляду в лікаря та уникнення стресів.

ЦД першого типу супроводжується станом хронічної гіперглікемії, порушенням синтезу інсуліну та/або метаболізму глюкози у другому типі. Діабет – це хронічне ендокринно-обмінне захворювання зумовлене абсолютною або відносною недостатністю інсуліну внаслідок дії екзогенних чи ендогенних факторів, які супроводжуються порушенням багатьох видів обміну речовин, насамперед вуглеводного (гіперглікемія), ураженням різних органів і тканин, в тому числі судин та нервової тканини.

Існує два основних види діабету, це цукровий діабет 1 типу (інсулінозалежний) і цукровий діабет 2 типу (інсуліннезалежний). Також до загальновідомих двох видів діабету додається третій, маловідома форма – це гестаційний діабет [11]. Останній виникає у другому або третьому триместрі вагітності, і зникає після народження дитини. Цей тип характеризується підвищенням концентрації контрінсулярних гормонів, таких як [10], що призводить до інсулінрезистентності, і, відповідно, до збільшення потреби в інсуліні та до підвищення доступності глюкози для плоду. Внаслідок цих змін зростає ризик порушення вуглеводного обміну у жінок, які досі були здоровими.

Цукровий діабет 1 типу обумовлений руйнуванням β -клітин підшлункової залози аутоімунними процесами, що індукованими факторами пов'язаними із середовищем у осіб

із генетичною схильністю. У розвитку захворювання беруть участь антитіла до острівців Лангерганса (до різних антигенів β -клітин), які можуть з'являтися за багато місяців і років до появи симптомів цукрового діабету. Протягом цього повільного періоду відбувається втрата секреторної функції β -клітин, яка призводить до маніфестного ЦД, який характеризується абсолютним дефіцитом інсуліну. Після появи захворювання процес руйнування β -клітин триває ще впродовж певного часу. Зникнення С-пептиду (маркера секреції інсуліну) в сироватці свідчить про їхнє остаточне знищення.

Цукровий діабет другого типу є найчастішою формою, він виникає у 80 % випадків, і він обумовлений поступовим порушенням секреції інсуліну в умовах інсулінрезистентності. Цей тип може бути генетично обумовлений, однак ключову роль відіграють фактори зовнішнього середовища, соціальні умови, насамперед фактор стресогенності та низька фізична активність.

Виявлено також що надмірна кількість вільних жирних кислот, які вивільняє червона жирова тканина під час діабету, викликає явище ліпотоксичності. Збільшення окислених жирів призводить гальмування гліколізу у м'язах, а у печінці призводить до явища глюконеогенезу, що вимагає компенсації секреції інсуліну β -клітинами та може призвести до поступового виснаження його резерву з наступним порушенням метаболізму глюкози.

Показано також що існують інші специфічні типи діабету, такі як [2]:

1. генетичні дефекти β -клітин;
2. генетичні дефекти дії інсуліну;
3. хвороби екзокринної частини підшлункової залози;
4. ендокринопатії;
5. діабет, що індукований ліками;
6. діабет, що індукований збудниками;
7. незвичайні форми імуноопосередкованого діабету;
8. генетичні синдроми, що поєднуються з цукровим діабетом.

Рівень глюкози у крові під час діабету та його вплив на глікозилювання білків та ліпідів

Визначення рівня глюкози дозволяє виявити ЦД і дає змогу вчасно запобігти розвитку пре-діабетичного стану і більш чітко контролювати рівень цукру в крові безпосередньо під час ЦД, що дозволяє уникнути критичних станів в організмі таких як гіперглікемія і гіпоглікемія.

За даними комітету ВООЗ по цукровому діабету 1999 р. встановлені критерії ЦД та порушення толерантності до глюкози [12].

Таблиця 1

Критерії цукрового діабету та порушення толерантності

Діагноз	Визначення глюкози в крові	Концентрація глюкози, ммоль/л		
		Цільна кров	Плазма	
			Венозна	Капілярна
Норма	Натощак	>3,3 <5,5	>3,3 <5,5	>4,0 <6,1
	Через 2 години після ГТТ	<6,7	<7,8	<7,8
Цукровий діабет	Натощак	>6,1	>6,1	>7,0
	Через 2 години після ГТТ або довільне	>10,0	>11,1	>11,1
Порушення толерантності до глюкози	Натощак	<6,1	<6,1	<7,0
	Через 2 години після ГТТ	>6,7 <10,0	>7,8 <11,1	>7,8 <11,1

Американська діабетична асоціація визначила наступні відкориговані критерії визначення діабету [9]:

1. Глікований гемоглобін A1C $\geq 5,7$ –6.4 %
2. Рівень глюкози в плазмі крові натще $\geq 5,6$ –6,9 ммоль/л
3. Рівень глюкози в плазмі крові через дві години після їжі $\geq 11,1$ ммоль/л при проведенні орального ГТТ
4. Довільний рівень глюкози в плазмі крові $\geq 7,8$ 11.0 ммоль/л

Підвищений рівень глюкози у крові при цукровому діабеті посилює процеси глікозилювання білків і ліпідів і призводить до неправильного їх функціонування. При глікозилюванні колагену, еластину та фібронектину призводить до того, що шкіра втрачає пружність і активно піддається негативному впливі сонячного опромінювання. У кровоносних судинах продукти глікозилювання перетворюються на молекулярний клей, що призводить до запалення, та до гіпертрофії гладких м'язів судин і позаклітинного матриксу [3].

Стан хронічної гіперглікемії при ЦД, що індукована надлишком глюкози призводить до істотних змін у клітинах еритроїдного ряду на молекулярному рівнях. Змінюється внутрішньоклітинний метаболізм еритроцитів, модифікуються компоненти клітинної мембрани та знижується їх механічна та осмотична стійкість. Популяція еритроцитів характеризується збільшенням вмісту макроцитів, зростанням поліморфізму клітин, появою значної кількості деформованих і гемолізованих форм. Зростання частки модифікованого у такий спосіб гемоглобіну зумовлює підвищення спорідненості його молекул до кисню, що ускладнює насичення киснем периферійних тканин. Погіршення оксигенації ендотеліоцитів кровоносних судин спричинює порушення газотранспортної функції крові.

При діабеті глікозилюванню підлягають майже всі білки. Так глікозилювані білки кришталіка очей сприяють порушенню світлопропускання. Глікозилювання мієліну викликає порушення проведення імпульсів у нервових волокнах та до розвитку нейропатії. Глікозилювання білків базальних мембран спричиняють порушення ниркової фільтрації і розвиток нефропатії. Глікозилювання альбуміну призводить до порушення транспортної функції і до патології ниркових клубочків. Глікозилювання аполіпропротеїну-В призводить до атеросклерозу, ішемічної хвороби серця, інфарктів та інсультів [13].

Глікозилювання гемоглобіну, біохімія процесу

Глікозилюванню переважно піддається гемоглобін A1 (HbA1). Під час його аналізу методом хроматографії катіонного обміну виявляється кілька варіантів HbA1a (з фруктозою), HbA1b (з глюкозо-6-фосфатом) і HbA1c (утворюється за участі глюкози). Найбільш поширеним є HbA1c, він складає 60–80 % від кількості глікозилюваного гемоглобіну [4].

Як було вказано раніше глікозилювання відбувається в результаті неферментативного приєднання глюкози до N-кінцевих ділянок β-ланцюгів глобіну гемоглобіну A1 і позначається як HbA1c. У здорових дорослих людей співвідношення різних форм глікозилюваних гемоглобінів: 90 %, HbA1a – 1,6 %; HbA1b – 0,8 %; HbA1c – 3,6 %; HbA2 – 2,5 % і HbF (фетального) – 0,5 %. Утворення HbA1c акумулюється всередині еритроцитів і зберігається впродовж усього терміну функціонування еритроцитів. Таким чином концентрація HbA1c відображає рівень глікемії пацієнтів за 60–90 днів до дослідження.

Біохімія глікозилювання

Глікозилювання білків і ліпідів є поширеним явищем в живих організмах. Воно може бути 2 видів: ферментативне і неферментативне. Ферментативне глікозилювання є природним процесом, який залежить від відповідних ферментів. Натомість процес неферментативного глікозилювання призводить до утворення інших кінцевих продуктів глікозилювання (КПГ), які нехарактерні для нормального протікання біохімічних процесів і які, в свою чергу, порушують функціонування біологічних молекул.

Глікозилювання відбувається за участі моносахаридів, зокрема глюкози. Перебуваючи переважно у формі D-глюкопіранози вона у клітині є відносно хімічно інертною сполукою за звичайних умов, але водночас являється найважливішим джерелом енергії.

Під час глікозилювання карбонільна група взаємодіє з α-аміногрупою, в результаті чого утворюється нестабільна основа Шиффа, яка через проміжну форму у вигляді енамінолу перетворюється у більш стійку форму – продукт Амадори (Amadori product), (див. рис. 1). Енамінол також підлягає таким процесам модифікації як окислення, конденсація із наступною структурною перебудовою, в результаті чого утворюється цілий ряд кінцевих продуктів глікозилювання (КПГ) або Advanced Glycosylation End-products (AGE)

Якщо в клітині вчасно не переривається каскад не ензиматичних процесів, то КПП поступово накопичується в тканинах і має негативні наслідки. Кількість КПП зменшується при зниженні рівня глюкози і зростає з часом. Більше того деякі із КПП можуть формувати ковалентні зшивки з аміногрупами інших білкових молекул [1].

В нормальних умовах швидкість цієї реакції настільки мала, що її продукти встигають видалятися істотно не впливаючи на організм. Однак, при швидкому збільшенні цукру в крові, при діабеті, глікозилювання значно прискорюється, а продукти реакції накопичуються і викликають ускладнення. Так, накопичення видозмінених білків призводить у кристалику до порушення зору, а зміни у шкірі які аналогічні віковим, а також багатьох інших порушень в організмі [8].

Залежність глікозилювання від різних параметрів (тип, вік, стать)

Процес глікозилювання залежить від ряду факторів, які впливають на цей процес як безпосередньо так і опосередковано і призводить до ускладнення захворювання. Велику роль при цьому відіграють не лише правильні дії з боку лікаря, але й усвідомленість пацієнта, який в свою чергу незначними зусиллями може значно полегшити протікання захворювання.

Так, у період з червня 2014 по травень 2015 у Китаї, в «Третій народній лікарні м. Шеньчжень» було проведено дослідження, метою якого було визначити кореляцію між рівнем глікозилюваного гемоглобіну A1c (HbA1c), статтю та віком. В цьому дослідженні взяли участь 18265 китайських пацієнтів, яким раніше не діагностували цукровий діабет. Із загальної кількості випадків 16734 випадки мали HbA1c < 6,5 %, що продемонструвало позитивну кореляцію між рівнями HbA1c та віком пацієнтів. Лінійна регресія за віком показала, що HbA1c у чоловічої групи була значно вищою, ніж у жіночої групи ($P < 0,0001$). Крім того, у різних гендерних групах рівень HbA1c поступово підвищувався із збільшенням віку. Проведений аналіз показав, що рівні HbA1c зростали 0,014 % на десятиліття у HbA1c < 6,5 % осіб, що підтверджує важливість вікового критерію [5].

У період з 1998 по 2017 було проведено ряд досліджень щодо рівня HbA1c, як фактору ризику ретинопатії та нефропатії у дітей та дорослих з діабетом 1 типу. Дані були отримані на основі шведської популяції. Результати показали, що ризик ретинопатії та нефропатії не відрізнявся при рівнях HbA1c < 6,5 %, але збільшився при важкій гіпоглікемії порівняно з рівнем HbA1c 6,5–6,9 %. Ризик важких ускладнень, головним чином, спостерігався при рівнях HbA1c > 8,6 %, але при більш легких ускладненнях був підвищений при рівнях HbA1c > 7,0 % [6].

На фактори, пов'язані з високим рівнем глікозилюваного гемоглобіну у хворих на діабет 1 типу проводили багатофакторне дослідження в Бразилії де також були виявлені певні закономірності. Проведений аналіз виявив кореляцію між рівнями HbA1c на фоні расових відмінностей, рівнем освіти, дотриманням дієти та лікування інсуліном, а також між тими групами хто брав чи не брав участь в навчальних лекціях із захворювання на діабет. Крім того пацієнти, які у попередньому році не були на медичних прийомах рівень HbA1c був значно вищим. Також пацієнти, які не проводили регулярного вимірювання

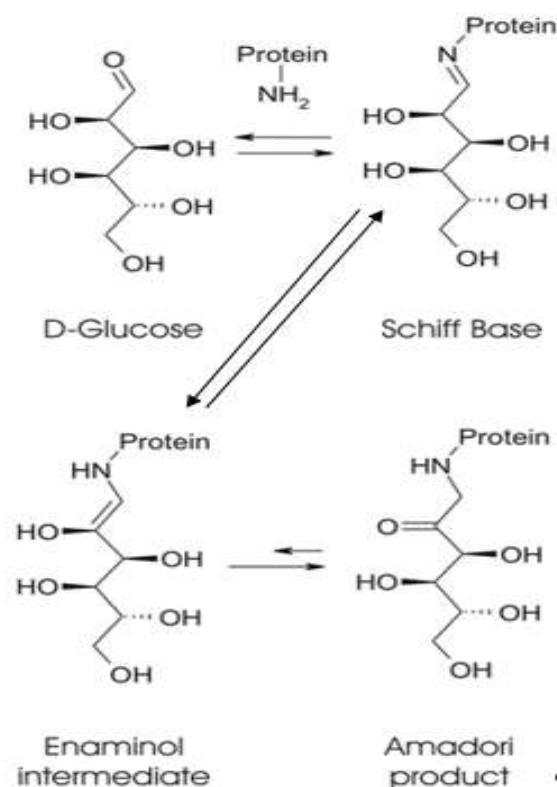


Рис. 1 Послідовність хімічних перетворень під час глікозилювання білків глюкозою при цукровому діабеті [8]

рівня глюкози в крові, і які отримували менше чотирьох доз інсуліну на день, також спостерігався більш високий рівень HbA1c [7].

Отже, цукровий діабет першого і другого типу супроводжується неспецифічним глікозилюванням ряду біологічно-активних сполук серед яких білки і ліпіди. Модифікація білків призводить до суттєвих змін у цілому спектрі біохімічних процесів, що провокує ряд ускладнень у хворих на діабет. Контроль загального рівня глюкози відбувається шляхом аналізу рівня глікозилюваного гемоглобіну, що свідчить про хід захворювання. Регулювання цукру у крові можливий за рахунок дотримання запропонованих схем лікування, так і завдяки самоконтролю щодо раціону та зниження стресогенності. Важливим перспективним напрямком є також кроки до зниження процесу глікозилювання за рахунок використання ряду препаратів, молекули яких мають у своєму складі аміногрупи.

Аннотация. В статье рассмотрен процесс неферментного гликозилирования, который происходит из-за избыточного содержания глюкозы в крови и становится причиной многих молекулярных изменений в организме. Этот процесс имеет место у больных сахарным диабетом, в которых глюкоза в крови выше нормы. Гликозилирование приводит к нарушению структуры белков, а также изменения липидов, является причиной развития многочисленных патологий. Проведен анализ влияния на процесс гликозилирования дополнительных параметров, таких как возраст, пол, тип диабета.

Ключевые слова: сахарный диабет, гликозилирования белков, гликозилированный гемоглобин.

Abstract. The article discusses the process of non-enzymatic glycosylation, which occurs due to excess glucose in the blood which causes many molecular changes in the body. This process takes place in patients with diabetes mellitus, in which blood glucose is higher than normal. Glycosylation leads to a violation of the structure of proteins, as well as changes in lipids, is the cause of the development of numerous pathologies. The analysis of the influence on the glycosylation process of additional parameters, such as age, gender, type of diabetes, has been carried out.

Key words: diabetes mellitus, glycosylation of proteins, glycosylated hemoglobin

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Лозінська Л. М., Семенчин Г. М. Біологічні аспекти неензиматичного глікозилювання. *Укр. біохім. журн.* 2012. № 5. С. 16–37.
2. Вплив продукту декарбоксилювання L-аргініну на морфофункціональні показники еритроциту за умов експериментального цукрового діабету у щурів / [І. В. Ференц, І. В. Бродяк, М. Я. Люта та ін.]. *Фізіол. журн.* 2014. № 4. С. 70–79.
3. Скибчик В. А., Соломенчук Т. М. Глікозилюваний гемоглобін – фактор підвищеного ризику мікро- і макросудинних ускладнень у хворих на цукровий діабет. *Український медичний часопис.* 2005. № 5. С. 81–88.
4. Бойчук Т. М., Толстанов О. К., Грицюк М. І., Гоженко А. І. Глікозилювання білків при цукровому діабеті: феномен утворення та патогенетичні наслідки (огляд літератури). *Actual problems of transport medicine.* 2013. № 3. С. 52–59.
5. Association between glycated hemoglobin A1c levels with age and gender in Chinese adults with no prior diagnosis of diabetes mellitus / Qinglin M., Houming L., Guangxin X. та ін. *Biomedical reports.* 2016. № 4. С. 737–740.
6. HbA1c level as a risk factor for retinopathy and nephropathy in children and adults with type 1 diabetes: Swedish population based cohort study / M. Lind, A. Pivodic, A. Svensson та ін. *BMJ.* 2019. № 366. С. 1–9.
7. Factors associated with high levels of glycated haemoglobin in patients with type 1 diabetes: a multicentre study in Brazil / C. S. Andrade, G. S. Ribeiro, C. Santos та ін. *BMJ Open.* 2017. № 7. С. 1–10.
8. <https://www.ahajournals.org/doi/full/10.1161/circulationaha.106.621854>
9. Аналіз стандартів Американської діабетичної асоціації. *Практична ангіологія.* 2008. URL: <https://angiology.com.ua/ua/archive/2008/2%2813%29/article-129/suchasna-medichna-dopomoga-hvorim-na-cukroviy-diabet-analiz-ctandartiv-amerikanskoyi-diabetichnoyi-asociaciyi>.
10. Балаболкин М. И. Сахарный диабет. М., 1994; Балаболкин М. И. Диабетология. М., 2000; Балаболкин М. И., Клебанова Е., Кремская В. М. Дифференциальная диагностика и лечение эндокринных заболеваний. М., 2000.
11. URL: <https://empendium.com/ua/chapter/B27.II.13.2.2>.
12. IDF Diabetes Atlas Update 2012. URL: <http://www.idf.org/diabetesatlas/5e/Update2012>.
13. Глікозилювання білків при цукровому діабеті: феномен утворення та патогенетичні наслідки (огляд літератури) / Т. М. Бойчук, О. К. Толстанов, М. І. Грицюк, А. І. Гоженко. *Актуальні проблеми транспортної медицини.* 2013. № 3. С. 52–59.