

В.П. Каліман

ВМІСТ ГЛІКОВАНОГО КЕРАТИНУ У ВОЛОССІ ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ ІЗ КОМПЕНСОВАНИМ І НЕКОМПЕНСОВАНИМ ВУГЛЕВОДНИМ ОБМІНОМ

Харківський національний медичний університет, Харків

ВСТУП

В Україні зареєстровано понад 1 мільйон хворих на цукровий діабет (ЦД) [1], причому цей показник, як і в усьому світі, з кожним роком прогресивно збільшується. Так, 1999 року захворюваність на ЦД у нашій країні складала 820 випадків на 100 тисяч населення, 2005 року – 2137 випадків на 100 тисяч населення.

На жаль, на момент встановлення клінічного діагнозу ЦД у хворих вже може існувати ціла низка ускладнень у вигляді: офтальмопатії – 20-30% випадків, нефропатії – 10-20%, гіпертензії – 30-40%, дисліпідемії – 50-80%, ангіопатії – 80-100% [1-3].

Розрахунки економістів у галузі охорони здоров'я демонструють, що у структурі витрат на ЦД 85% припадає на лікування ускладнень, спричинених некомпенсованим гіперглікемічним станом. Тому проблема контролю адекватності терапії має не лише медичне, але й вагоме соціально-економічне значення.

Хронічна гіперглікемія є одним із головних чинників розвитку ускладнень ЦД [4]. Її визначають за вмістом продуктів глікування (неферментативної конденсації глюкози з аміногрупами амінокислот) білків крові. Рівень глікованого гемоглобіну відображає середню глікемію за останні 3-4 місяці, рівень фруктозаміну (глікованих білків сироватки, переважно альбумінів) – за останні 2-3 тижні. Зв'язок між хронічно підвищеним вмістом глюкози в крові і різноманітними ускладненнями ЦД досить переконливо підтверджують численні клінічні дослідження [1-4]. Так, наприклад, на тлі суворого глікемічного контролю у хворих на ЦД значно знижується ризик розвитку вторинних ускладнень [4]. Гіпоглікемічна терапія, що дозволяє знизити рівень глікованого гемоглобіну лише на 1%, зменшує ризик виникнення вторинних ускладнень ЦД (мікроросудинних ускладнень – на 37%, ураження периферичних судин – на 43%) і летальність, пов'язану з ускладненнями ЦД, – на 21% [3]. У

фінансовому аспекті це можна представити так: суворий глікемічний контроль, що дозволяє знизити рівень глікованого гемоглобіну на 1-2%, зменшує на 35% вартість лікування хворого на ЦД. Для пацієнтів із пізніми ускладненнями зниження вмісту глікованого гемоглобіну на 2% і більше дозволяє зменшити державні витрати на лікування у 3,25 разу.

Ось чому в рамках загальнонаціональної державної програми "Цукровий діабет" пріоритетним завданням є розробка доступного, інформативного та неінвазивного методу ретроспективної оцінки стану вуглеводного обміну, придатного для контролю компенсації вуглеводного обміну, діагностування гіперглікемічних станів, а також скринінгу з метою виявлення осіб з порушеною толерантністю до глюкози та діабетом. З цієї точки зору становить інтерес кератин волосся, який вступає в неферментативні реакції з глюкозою під час перебування волосини у фолікулі. Цей білок є легко доступним біологічним матеріалом, високо специфічним до альдегідної форми глюкози, він має високу спорідненість до неферментативних реакцій та обмежену чутливість до супутніх відновлювальних речовин крові [11]. Відомий час життя, обумовлений терміном наростання волосся, дає можливість оцінювати стан вуглеводного обміну у різні попередні періоди шляхом вимірювання рівня глікованого кератину у різних ділянках волосини.

Мета дослідження – визначити вміст глікованого гемоглобіну, фруктозаміну та глікованого кератину у хворих на цукровий діабет 1-го та 2-го типу із компенсованим і некомпенсованим вуглеводним обміном, а також вивчити можливість використання глікованого кератину як ретроспективного маркера гіперглікемічного стану.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ

До дослідження було залучено 64 хворих на цукровий діабет 1-го та 2-го типу, віком від

25 до 56 років ($40,5 \pm 15,5$ року), серед них 38 жінок і 26 чоловіків.

За результатами клініко-біохімічного обстеження пацієнтів розподілили на дві групи. Перша група (28 осіб) – хворі на ЦД із компенсованим вуглеводним обміном: 17 жінок віком від 25 до 49 років (37 ± 12 років) та 11 чоловіків віком від 25 до 51 року (38 ± 13 років). Друга група (36 осіб) – хворі на ЦД із некомпенсованим вуглеводним обміном: 21 жінка віком від 28 до 53 років (41 ± 13 років) і 15 чоловіків віком від 30 до 56 років (43 ± 13 років). Контрольну групу склали 15 умовно здорових людей (9 жінок і 6 чоловіків) аналогічного віку (від 25 до 53 років, 39 ± 14 років).

В усіх обстежених визначали вміст глікового гемоглобіну, фруктозаміну у сироватці крові, глікованого кератину у волоссі, глюкози у крові натще, загального холестерину, ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ), ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ) і тригліцеридів за стандартизованими та сертифікованими методиками [5-9].

Глюкозу в крові визначали глюкооксидазним методом із використанням колориметричних наборів компанії HUMAN GMBH. Метод ґрунтується на тому, що у ході окислення глюкози глюкооксидазою утворюється перекис водню, який взаємодіє з фенолом і 4-амінофеназоном (у присутності пероксидази) з утворенням червоно-фіолетового хіноніміну, за кількістю якого судять про вміст глюкози у зразку.

Глікований гемоглобін визначали методом іонообмінної хроматографії. Принцип методу полягає в тому, що цілісна кров змішується з реагентом, який містить детергент і солі борної кислоти. Склад реагенту забезпечує елімінацію лабільних Шиффових сполук у ході гемолізу. Гемолізат інкубують протягом 5 хв. зі слабким катіонообмінником. Під час інкубації HbA0 зв'язується з іонообмінником. Після перемішування за допомогою спеціального сепаратора іонообмінник видаляють. Рівень HbA1 у надосадовій рідині визначають у відсотках від загальної кількості гемоглобіну, вимірюючи поглинання фракції HbA1 і загального гемоглобіну (415 нм, або Hg 405 нм). Отримані дані порівнюють з результатами визначення стандарту HbA1.

Фруктозамін визначали авторським колориметричним методом із використанням нітросинього тетразолію. Метод засновано на здатності фруктозаміну відновлювати нітросиній тетразолій у лужному середовищі, переводячи

його у формаган із максимумом поглинання за 530 нм. Реакція між фруктозаміном й нітросинім тетразолієм відбувається за рН 10,8 (у карбонатному буфері) і температури 37°C. Фотометричне вимірювання проводили через 15 хв. Як стандарт використовували синтетичний кетоамін фруктозолейцин.

Глікований кератин у волоссі визначали авторським методом [10]. Суть методу полягає в тому, що кетоаміни (продукти глікування кератину) через серію перехідних реакцій дають оптично активну сполуку, вміст якої вимірюють на спектрофотометрі в кюветах із довжиною оптичного шляху 1,0 см проти контролю за довжини хвилі 443 нм.

Тригліцериди визначали ферментним методом із використанням колориметричних наборів компанії HUMAN GMBH. Принцип методу полягає в тому, що тригліцериди визначаються після їх ферментативного гідролізу ліпазами за кількістю хіноніміну, що утворюється з 4-аміноантипірину, 4-хлорфенолу та перекису водню під впливом пероксидази.

Загальний холестерин визначали колориметричним ферментативним методом. Принцип методу полягає в тому, що ефіри холестерину визначаються після їхнього ферментативного гідролізу й окислення. Індикаторна речовина, за якою визначається холестерин, – хінонімін, що утворюється з перекису водню і 4-амінофеназону у присутності фенолу та пероксидази.

ЛПВЩ визначали стандартним пероксидазним методом після обробки преципітуючим агентом. Принцип методу полягає в тому, що хіломікрони (ліпопротеїни дуже низької та низької щільності) осідають під дією фосфорномолібденової кислоти та хлориду магнію. Після центрифугування у супернатанті залишаються ліпопротеїни високої щільності, кількість яких визначається за допомогою набору CHOLESTEROL liquicolor.

ЛПНЩ визначали ферментативним кольоровим тестом, який складався з двох етапів. Перший етап – ЛПВЩ і ЛПДНЩ направлено виділяються за допомогою ферментативних реакцій. Другий етап – ЛПНЩ, які залишилися, визначаються за допомогою відомих ферментативних реакцій із застосуванням специфічних суфрактантів (поверхнево-активних речовин). Завдяки наявності цих двох етапів даний тест є більш ЛПНЩ-специфічним, ніж інші методи.

Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою параметричних методів із ви-

користанням пакета програм Statistica 6.0 (Start Soft, США) і критеріїв Колмогорова-Смірнова та Стьюдента. Дані наведено як середнє $\pm$ похибка середнього. Розрахунки виконано на персональному комп'ютері за допомогою пакета прикладної програми "Excel" [12]. Відмінності вважали статистично значущими за $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

До групи з компенсованим перебігом цукрового діабету увійшли хворі, в яких метаболічні показники були у межах цільових значень: рівень глюкози крові натще – $6,5 \pm 0,5$ ммоль/л, глікованого гемоглобіну – $6,85 \pm 0,65\%$, фруктозаміну – $3,04 \pm 0,21$ ммоль/л, ЛПНЩ – $3,5 \pm 0,5$ ммоль/л, ЛПВЩ – $1,1 \pm 0,1$ ммоль/л, загального холестерину – $5,4 \pm 0,6$ ммоль/л, тригліцеридів – $1,95 \pm 0,25$ ммоль/л.

До групи з некомпенсованим вуглеводним обміном увійшли хворі на ЦД, у яких метаболічні показники свідчили про високий рівень ризику розвитку ускладнень. У цих пацієнтів глікемія натще вірогідно перевищувала $7,5$ ммоль/л і складала $10,05 \pm 2,25$ ммоль/л, вміст глікованого гемоглобіну – $8,75 \pm 1,75\%$, фруктозаміну – $4,15 \pm 0,75$ ммоль/л, ЛПНЩ – $5,25 \pm 1,05$ ммоль/л, ЛПВЩ – $0,86 \pm 0,12$ ммоль/л, загального холестерину – $7,5 \pm 1,2$ ммоль/л, тригліцеридів – $3,11 \pm 0,76$ ммоль/л.

У контрольній групі досліджувані показники були у межах фізіологічних норм: глікемія натще – $3,86 \pm 0,63$ ммоль/л; загальний холестерин – $4,19 \pm 0,45$ ммоль/л; тригліцериди – $1,21 \pm 0,14$ ммоль/л; глікований гемоглобін – $4,55 \pm 0,65\%$; фруктозамін – $2,1 \pm 0,3$ ммоль/л; ЛПВЩ – $1,55 \pm 0,12$ ммоль/л; ЛПНЩ – $2,25 \pm 0,3$ ммоль/л.

Узагальнені метаболічні показники у хворих на цукровий діабет із компенсованим і некомпенсованим вуглеводним обміном та умовно здорових людей наведено у табл. 1.

У групі хворих на ЦД із компенсованим вуглеводним обміном і цільовими показниками метаболічної адаптації вміст глікованого кератину у волоссі складав від $0,119$ мкмоль кетоаміну / 100 мг до $0,185$ мкмоль кетоаміну / 100 мг ($M = 0,152 \pm 0,033$ мкмоль кетоаміну / 100 мг). У групі хворих на ЦД із некомпенсованим вуглеводним обміном і високим ризиком розвитку ускладнень показник глікованого кератину у волоссі вірогідно ($p < 0,05$) перевищував показник пацієнтів із компенсованим діабетом і дорівнював $0,240 \pm 0,054$ мкмоль кетоаміну на 100 мг. У контрольній групі показник глікованого кератину волосся був вірогідно нижчим від такого у хворих на ЦД і дорівнював $0,109 \pm 0,008$ мкмоль кетоаміну / 100 мг (табл. 2).

Отже, отримано вірогідну ($p < 0,05$) залежність вмісту глікованого кератину у волоссі від стану

Таблиця 1

Вміст глікованого гемоглобіну, фруктозаміну, глюкози у крові натще, загального холестерину, ЛПВЩ, ЛПНЩ і тригліцеридів у хворих на цукровий діабет із компенсованим та некомпенсованим вуглеводним обміном та умовно здорових людей

Показник	Контрольна група	Хворі на цукровий діабет	
		компенсація	декомпенсація
Глікований гемоглобін (%)	$4,55 \pm 0,63$	$6,85 \pm 0,65$	$8,75 \pm 1,75$
Фруктозамін (ммоль/л)	$2,1 \pm 0,3$	$3,04 \pm 0,21$	$4,15 \pm 0,75$
Глікемія натще (ммоль/л)	$3,86 \pm 0,63$	$6,5 \pm 0,5$	$10,05 \pm 2,25$
Загальний холестерин (ммоль/л)	$4,19 \pm 0,45$	$5,4 \pm 0,6$	$7,5 \pm 1,2$
ЛПНЩ (ммоль/л)	$2,25 \pm 0,3$	$3,5 \pm 0,5$	$5,25 \pm 1,05$
ЛПВЩ (ммоль/л)	$1,55 \pm 0,12$	$1,1 \pm 0,1$	$0,86 \pm 0,12$
Тригліцериди (ммоль/л)	$1,21 \pm 0,14$	$1,95 \pm 0,25$	$3,11 \pm 0,76$

Таблиця 2

Вміст глікованого кератину у волоссі умовно здорових людей і хворих на цукровий діабет з компенсованим і некомпенсованим вуглеводним обміном

Показник	Контрольна група	Хворі на цукровий діабет	
		компенсація	декомпенсація
Вміст глікованого кератину у волоссі (мкмоль кетоаміну на 100 мг)	$0,109 \pm 0,008$	$0,152 \pm 0,033$	$0,240 \pm 0,054$

вуглеводного обміну з кореляцією між цим показником і вмістом глюкози у крові натще, ЛПНЩ, ЛПВЩ, тригліцеридів, загального холестерину, глікованого гемоглобіну та фруктозаміну.

ВИСНОВКИ

1. Вміст глікованого кератину у волоссі має пряму кореляцію з рівнем глікованого гемоглобіну і фруктозаміну у хворих на цукровий діабет.

2. Вміст глікованого кератину у волоссі хворих на цукровий діабет вірогідно перевищує цей показник у здорових людей.

3. Вміст глікованого кератину у волоссі хворих на цукровий діабет із компенсованим вуглеводним обміном вірогідно менший від такого за некомпенсованого перебігу захворювання.

4. Вміст глікованого кератину у волоссі можна вважати ретроспективним маркером глікемічного стану обстежуваного.

5. Вимірювання рівня глікованого кератину у різних ділянках волосся дозволяє отримати інтегральну оцінку стану вуглеводного обміну в певні, визначені лікарем попередні періоди часу.

6. Метод ретроспективної оцінки стану вуглеводного обміну за рівнем глікованого кератину у волоссі є доступним, неінвазивним і специфічним.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Стан ендокринологічної служби України в 2006 р. МОЗУ.* [Текст] / Київ, 2007. – 36 с.
2. *Диагностика, лечение и профилактика диабетических осложнений у детей и подростков* / [Под ред. акад. РАМН И.И.Дедова] [Текст]. – М.: Медицина. – 1997. – 128 с.
3. *UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes* [Text] / (UKPDS 33) // *Lancet*. – 1998. – №18 (3). – P. 837-853.
4. *The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The relationship of glycemic exposure (HbA1c) to the risk of development and progression of retinopathy in the diabetes control and complications trial* [Text] / *Diabetes* // – 1995. №1(4). – P. 968-983.
5. *Камышников В.С.* Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике [Текст] / Камышников В.С. – М.: МЕДпресс-информ, 2004. – 734 с.
6. *Благосклонная Я.В.* *Ендокринологія* [Текст] / Благосклонная Я.В., Шляхто Е.В., Бабенко А.Ю. – СП.: СпецЛит, 2004. – 398 с.

Дата надходження до редакції 15.02.2011 р.

7. *Ильин А.В.* Гликированный гемоглобин как ключевой параметр при мониторинге больных сахарным диабетом. Оптимальная организация исследований [Текст] / Ильин А.В., Арбузова М.И., Князева А.П. // *Сахарный диабет*. – 2008. – №2. – С. 60-64.
8. *Мисникова И.В.* Гликированный гемоглобин – основной параметр в контроле сахарного диабета [Текст] / Мисникова И.В., Древаль А.В., Ковалева Ю.А. // *Сахарный диабет*. – 2008. – №4. – С. 38-40.
9. *Караченцев Ю.И.* Руководство по диагностике и лечению сахарного диабета [Текст] / Караченцев Ю.И., Микитюк М.Р., Полозова Л.Г., Хижняк О.О. – Харьков. – 2007. – 244 с.
10. Пат. 19668 UA, МПК (2006) G01N33/48. Метод визначення глікованого кератину [Текст] / В.П. Каліман, В.В. М'ясоєдов, В.І. Жуков, М.О. Клименко (UA); заявник і патентовласник Каліман В.П. (UA). – № u 200608288; заявл. 24.07.2006; опубл. 15.12.2006, Бюл. №12. – 3 с.
11. *Калиман В.П.* Кетоамины в диагностике некомпенсированных гипергликемических состояний [Текст] / Калиман В.П. // Всероссийский конгресс "Диабет и почки". Москва, 17 мая 2009 – 20 мая 2009 г. Сборник работ. Раздел 2. "Диабетическая нефрология". С. 33.
12. *Лапач С.Н.* Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel [Текст] / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – К.: Морион, 2000. – 320 с.

РЕЗЮМЕ

Содержание гликированного кератина в волосах больных сахарным диабетом с компенсированным и некомпенсированным углеводным обменом
В.П. Калиман

В работе исследовано содержание гликированного гемоглобина, фруктозамина и гликированного кератина у больных сахарным диабетом с компенсированным и некомпенсированным углеводным обменом, а также изучена возможность использования кетоамина кератина в качестве ретроспективного маркера хронической гипергликемии.

Ключевые слова: сахарный диабет, компенсация углеводного обмена, гликированный кератин.

SUMMARY

The content of glycosylated keratin in the hair of patients with diabetes mellitus with compensated and uncompensated carbohydrate metabolism
V. Kaliman

We have investigated the content of glycated hemoglobin, fructosamine, and glycosylated keratin in diabetic patients with compensated and uncompensated carbohydrate metabolism, as well as explore the possibility of keratin ketoamine as a retrospective marker of chronic hyperglycemia.

Key words: diabetes mellitus, the compensation of carbohydrate metabolism, glycated keratin.