

УДК 616.379-008.64-053.2:616-092.19
DOI: 10.34215/1609-1175-2024-1-39-42



Нарушение антиоксидантной функции у детей с диабетическим кетоацидозом

Ю.В. Быков^{1,2}, В.А. Батурин¹, А.П. Воробьева², А.А. Вартанян¹

¹Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Россия

²Городская детская клиническая больница им. Г.К. Филлипского, Ставрополь, Россия

Цель: проанализировать уровни антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионпероксидазы (ГП) на фоне диабетического кетоацидоза (ДКА) при сахарном диабете (СД) 1-го типа у детей и подростков. **Материалы и методы.** Обследовано 74 ребенка: 50 детей с ДКА (группа исследования) и 24 условно здоровых ребенка (контрольная группа). Дети из группы исследования были поделены на две подгруппы: 1-я подгруппа – дети с ДКА на фоне дебюта СД 1-го типа ($n = 27$), 2 подгруппа – дети с ДКА на фоне хронического СД 1-го типа ($n = 23$). У всех детей выполнено определение концентрации СОД и ГП в плазме крови методом иммуноферментного анализа. Достоверность между данными определяли при помощи критериев Манна – Уитни, Краскела – Уоллиса и коэффициента Спирмена. **Результаты.** Выявлено достоверное уменьшение СОД и ГП у детей с ДКА: 13130 [13005–18255] Pg/ml и 50,085 [42,02–70,325] Ng/ml, по сравнению с контролем: 16415 [13370–19935] Pg/ml и 84,695 [52,49–144,5] Ng/ml соответственно. Отмечены минимальные показатели СОД и ГП у пациентов с ДКА на фоне хронического течения СД 1-го типа по сравнению с детьми при дебюте заболевания. Показана достоверная корреляция между возрастом, длительностью заболевания, количеством ДКА в анамнезе и низкими значениями СОД и ГП. **Заключение.** Обнаружено снижение антиоксидантной функции у детей с ДКА при СД 1-го типа. СОД и ГП могут служить маркерами оксидативного стресса при ДКА в педиатрической практике. Максимально раннее определение СОД и ГП может улучшить и терапию ДКА у детей и подростков.

Ключевые слова: сахарный диабет 1-го типа, диабетический кетоацидоз, антиоксидантная функция, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза

Поступила в редакцию: 02.12.22. Получена после доработки: 15.12.22. Принята к публикации: 19.04.23

Для цитирования: Быков Ю.В., Батурин В.А., Воробьева А.П., Вартанян А.А. Нарушение антиоксидантной функции у детей с диабетическим кетоацидозом. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2024;1:39–42. doi: 10.34215/1609-1175-2024-1-39-42

Для корреспонденции: Быков Юрий Витальевич – канд. мед. наук, ассистент кафедры анестезиологии и реаниматологии с курсом ПДО Ставропольского государственного медицинского университета (355017, г. Ставрополь, ул. Мира, 310); ORCID: 0000-0003-4705-3823; тел.: + 7 (962) 443-04-92; e-mail: yubykov@gmail.com

Decreased antioxidant capacity in children with diabetic ketoacidosis

Yu.V. Bykov^{1,2}, V.A. Baturin¹, A.P. Vorobyova², A.A. Vartanyan¹

¹Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia; ²City Children's Clinical Hospital named G.K. Filippovsky, Stavropol, Russia

Objective. To analyze the levels of antioxidant enzyme superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GP) against the background of diabetic ketoacidosis (DKA) in type 1 diabetes mellitus (DM) children and adolescents. **Materials and methods.** The study involved examination of 74 children: 50 DKA children (study group) and 24 relatively healthy children (control group). The study group children were divided into two subgroups: subgroup 1 included children with DKA against the background of type 1 DM onset ($n=27$), subgroup 2 consisted of children with DKA against the background of chronic type 1 DM ($n=23$). SOD and GP concentrations in blood plasma were determined in all children by enzyme immunoassay. The reliability between the data was estimated using the Mann-Whitney test, Kruskal-Wallis test and Spearman coefficient. **Results.** A significant decrease in SOD and GP in children with DKA was revealed as follows: 13130 [13005–18255] Pg/ml and 50.085 [42.02–70.325] Ng/ml, compared to controls: 16415 [13370–19935] Pg/ml and 84.695 [52.49–144.5] Ng/ml, respectively. Minimal SOD and GP were noted in patients with DKA at the background of chronic type 1 DM, compared to DM onset children. The study indicates a reliable correlation between age, duration of the disease, number of DKA in the history and low values of SOD and GP. **Conclusion.** Decreased antioxidant capacity was found in children with DKA in type 1 DM. SOD and GP can be considered in pediatric practice as markers of oxidative stress in DKA. In addition, an early detection of SOD and GP contributes to the efficient therapy of DKA in children and adolescents.

Keywords: type 1 diabetes mellitus, diabetic ketoacidosis, antioxidant capacity, superoxide dismutase, glutathione peroxidase

Received 2 December 2023; Revised 15 December 2023; Accepted 14 April 2023

For citation: Bykov Yu.V., Baturin V.A., Vorobyova A.P., Vartanyan A.A. Decreased antioxidant capacity in children with diabetic ketoacidosis. *Pacific Medical Journal*. 2024;1:39–42. doi: 10.34215/1609-1175-2024-1-39-42

Corresponding author: Yuri V. Bykov, Cand. Sci. (Med.), assist. of Dept. of anesthesiology and intensive care with postgraduate course Stavropol State Medical University (310 Mira str., Stavropol, 355017, Russia); ORCID: 0000-0003-4705-3823; phone: + 7 (962) 443-04-92; e-mail: yubykov@gmail.com

Распространенность и заболеваемость сахарным диабетом (СД) 1-го типа у детей и подростков увеличивается

во всем мире [1, 2]. Диабетический кетоацидоз (ДКА) является наиболее частым и тяжелым осложнением данного

заболевания, которое характеризуется усилением глюконеогенеза, гликогенолиза и метаболического ацидоза на фоне неконтролируемой гипергликемии [3, 4].

Гипергликемия в рамках ДКА вызывает окислительный стресс (ОС), стимулируя выработку митохондриальных активных форм кислорода, что вызывает последующую резистентность к инсулину [4, 5]. ОС характеризуется дисбалансом между образованием свободных радикалов и снижением антиоксидантной функции (АФ) организма [6]. Негативное действие свободных радикалов нейтрализуется эндогенными биологическими антиоксидантами, такими как: глутатионпероксидаза (ГП), супероксиддисмутаза (СОД) каталаза, витамины и др. [6]. Гипергликемия и перепроизводство супероксид-анионов на фоне СД 1-го типа угнетают эндогенную антиоксидантную систему, что может инициировать диабетические осложнения и утяжелять течение СД [5].

При развитии СД 1-го типа количество свободных радикалов на фоне ОС увеличивается, а количество антиоксидантных ферментов снижается [7]. СОД обеспечивает первую линию защиты от чрезмерной выработки супероксидов и повреждения клеток от ОС [8]. Приводятся данные о снижении СОД у детей с СД 1-го типа [9]. ГП, работающая параллельно с СОД, защищает клеточные белки и мембраны от окислительного повреждения и количество этого фермента может быть снижено у пациентов с СД 1-го типа [10].

Цель настоящей работы состояла в исследовании уровней антиоксидантных ферментов в крови на фоне ДКА при СД 1-го типа у детей и подростков.

Материалы и методы

В открытое слепое контролируемое исследование вошло 74 ребенка (38 мальчиков и 36 девочек, средний возраст $10,06 \pm 0,38$ года), из них 50 детей составили пациенты с СД 1-го типа (группа исследования) и 24 условно здоровых детей (группа контроля). В группу исследования вошли 26 мальчиков и 24 девочки (средний возраст – $10,89 \pm 0,74$ года), в группу контроля – 12 мальчиков и 12 девочек (средний возраст – $10,69 \pm 0,9$ года). 27 детей (54%) из группы исследования составили дети с ДКА с впервые выявленной формой СД 1-го типа (1-я подгруппа) и 23 ребенка (46%) с ДКА с хронической формой СД 1-го типа (2-я подгруппа). Общая длительность заболевания СД 1-го типа у детей из 2-й подгруппы составила $5,04 \pm 0,69$ года. По данным анамнеза дополнительно у детей оценивали общее количество экстренных госпитализаций с ДКА в палаты реанимации и интенсивной терапии (ПРИТ), которое в среднем составило 2 госпитализации [1–3].

Родители или официальные представители детей оформляли добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Соответствие международному исследованию (в том числе Хельсинкской декларации в редакции 2013 г.) и российскому законодательству о правовых и этических принципах проведения научных исследований с участием человека было подтверждено решением локального этического комитета Ставропольского

государственного медицинского университета (протокол № 100 от 17.06.2021 г.).

На момент исследования все пациенты с СД 1-го типа были экстренно госпитализированы в ПРИТ с ДКА. Из клинических проявлений отмечались: тахипноэ, сухость кожных покровов, тошнота и рвота, боли в животе, запах ацетона изо рта, нарушение уровня сознания до оглушения. Средний уровень гипергликемии составил $15,8 \pm 0,87$ ммоль/л, уровень кетоновых тел в моче – $14,2 \pm 1,02$ ммоль/л. При поступлении все дети получали лечение: инфузионная терапия (0,9% NaCl, 10% глюкоза, 0,9% NaCl) из расчета суточной физиологической потребности + 20–50 м/кг/сут исходя из степени дегидратации; 4% KCl в/в капельно в рамках инфузионной терапии, в дозе 3–6 мэкв/кг/сут; инсулины короткого действия (Актрапид) – 1 ЕД/кг/сут в/в через инфузомат, энтеросгель 15 г – 4 раза в сутки. Все дети были проконсультированы эндокринологом, педиатром, неврологом и окулистом.

В контрольную группу были включены дети, которые были госпитализированы в хирургическое отделение по поводу планового грыжесечения (условно здоровые дети, средний возраст – $10,69 \pm 0,9$ года).

Критерии включения в группу исследования:

- пациенты с диагнозом СД 1-го типа, осложненным ДКА и подтвержденными клинико-лабораторными критериями;
- возраст детей от 3 до 18 лет.

Критерии исключения из группы исследования:

- наличие любой другой острой патологии или сопутствующей хронической патологии;
- отказ родителей или законных представителей от участия детей в исследовании.

Критерии включения в контрольную группу:

- отсутствие любой острой патологии или сопутствующей хронической патологии;
- возраст детей от 3-х до 18 лет.

Критерии исключения из контрольной группы:

- отказ родителей или законных представителей от участия детей в исследовании.

Пробы венозной крови на концентрацию антиоксидантных ферментов брали всем детям непосредственно при поступлении в стационар. Пациентам из группы исследования забор крови проводился в круглосуточном режиме, пациентам из контрольной группы – в утренние часы, в день планового поступления в клинику. Исследование проводилось при помощи иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием наборов реагентов компании Cloud-Clone Corp., USA. Исследования проводились на базе лаборатории ООО «Центр клинической фармакологии и фармакотерапии» (научный руководитель проф. В.А. Батурин, лицензия № Л041-01197-26/00365439). При определении концентрации маркеров применялись общепринятые методы, которые были основаны на конкурентном ИФА с моноклональными антителами, специфичными к определяемым антигенам [11]. В качестве показателей «условной нормы» принимались средние значения маркеров АФ у детей контрольной группы.

Таблица 1

Средние показатели (Ме 25–75%) маркеров АФ организма у пациентов с ДКА и условно здоровых детей

Группы детей	СОД (Pg/ml)	ГП (Ng/ml)
Группа исследования (n = 50)	13130 [13005–18255]	50,085 [42,02–70,325]
Контрольная группа (n = 24)	16415 [13370–19935]*	84,695 [52,49–144,5]**

Примечание: достоверные различия по критерию Манна – Уитни между двумя группами исследования: * – $p = 0,04$ (СОД); ** – $p = 0,0004$ (ГП).

Обработка данных проводилась с использованием статистического программного пакета Statistica (StatSoftInc., США) 10.0. С помощью критериев Шапиро – Уилка и Колмогорова – Смирнова оценивали нормальность распределения. В зависимости от распределения средние данные представлены в виде среднего арифметического и ошибки средней ($M \pm m$) или в виде медианы и межквартильного размаха (Ме 25–75%). Для оценки различия средних величин двух несвязанных выборок применяли критерий Манна – Уитни. Для оценки средних величин трех выборок использовался критерий Краскела – Уоллиса. Для изучения взаимосвязей рассчитывали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Уровень статистической значимости (p -value) был принят за $p < 0,05$.

Результаты исследования

Анализ средних показателей маркеров АФ показал достоверное снижение показателей СОД (Pg/ml) и ГП (Ng/ml) у детей с СД 1-го типа на фоне ДКА по сравнению с условно здоровыми детьми (табл. 1). Обращает на себя внимание тот факт, что снижение средних значений ГП (Ng/ml) у пациентов с ДКА, было более выраженным при сравнении со значениями «условной нормы» у контрольных детей.

При дальнейшем анализе двух подгрупп детей с ДКА выявлены изменения в уровнях маркеров АФ организма в зависимости от длительности течения СД 1-го типа (табл. 2). Так, минимальные показатели СОД (Pg/ml) были обнаружены именно у детей с ДКА при хроническом течении СД 1-го типа (1-я подгруппа). У пациентов с дебютом заболевания и ДКА средние показатели СОД (Pg/ml) были приближены к значениям «условной нормы» детей из контрольной группы. Средние значения ГП (Ng/ml) также имели минимальные показатели у детей

Таблица 2

Средние показатели (Ме 25–75%) маркеров АФ организма у пациентов с ДКА, в зависимости от длительности заболевания

Группы детей	СОД (Pg/ml)	ГП (Ng/ml)
Пациенты с впервые выявленным СД 1-го типа, 1-я подгруппа (n = 27)	16045 [14000–18940]	77,3 [85,11–138]
Пациенты с хроническим течением СД 1-го типа, 2-я подгруппа (n = 23)	13065 [12095–14765]	56,21 [39,35–76,84]
Контроль (n = 24)	16415 [13370–19935]*	84,695 [52,49–144,5]**

Примечание: достоверные различия по критерию Краскела – Уоллиса между тремя подгруппами исследования: * – $p = 0,0000$ (СОД); ** – $p = 0,005$ (ГП).

с ДКА из 2-й подгруппы (хроническое течение СД 1-го типа). У пациентов с ДКА из 1-й подгруппы (впервые выявленная форма СД 1-го типа) показатели ГП (Ng/ml) были гораздо выше и приближались к значениям у условно здоровых детей.

Проведенный дополнительный корреляционный анализ выявил достоверную связь практически между всеми исследуемыми признаками (табл. 3). Например, выявлена сильная положительная корреляционная связь между возрастом пациентов, длительностью заболевания и количеством поступлений в ПРИТ с ДКА в анамнезе и сильная отрицательная связь между возрастом пациентов и показателями СОД и ГП. Длительность заболевания имела сильную положительную корреляционную связь с количеством поступления в ПРИТ в анамнезе и умеренную отрицательную связь с показателями СОД и ГП. Среднее количество поступлений с ДКА в ПРИТ в анамнезе отрицательно коррелировала со значениями СОД и ГП (умеренная связь). Показатели СОД и ГП имели умеренную положительную корреляционную связь между собой.

Обсуждение полученных данных

Анализ полученных данных указывает на нарушение АФ организма у детей с СД 1-го типа на фоне ДКА. Обнаружено снижение антиоксидантных ферментов (СОД и ГП) у пациентов с проявлениями ДКА. Если снижение уровня СОД и ГП при СД 1-го типа в педиатрической практике было отмечено и другими авторами [9, 10], то низкие

Таблица 3

Корреляция Спирмена между исследуемыми признаками

Исследуемые признаки	Возраст	Длительность заболевания	Количество поступления в ПРИТ с ДКА в анамнезе	СОД	ГП
1	1,000000	0,860383	0,752052	-0,679266	-0,721006
2	0,860383	1,000000	0,900524	-0,594291	-0,650724
3	0,752052	0,900524	1,000000	-0,580901	-0,666942
4	-0,679266	-0,594291	-0,580901	1,000000	0,491107
5	-0,721006	-0,650724	-0,666942	0,491107	1,000000

показатели данных ферментов в рамках ДКА, по-видимому, отмечены нами впервые. Интересно, что снижение показателей СОД и ГП на фоне ДКА имели минимальные значения именно у детей с хроническим течением СД 1-го типа, что подтверждает данные о том, что проявления ОС нарастают по ходу течения этого заболевания [12]. Выявлена достоверная корреляционная связь между возрастом, длительностью заболевания, количеством декомпенсаций и снижением антиоксидантных ферментов. Таким образом, можно говорить о снижении АФ организма у детей на фоне ДКА с ухудшением в течение развития СД 1-го типа, что говорит о нарастании проявлений ОС.

Полученные нами результаты подтверждают данные, что гипергликемия на фоне ДКА может провоцировать ОС с параллельным снижением АФ организма [13]. ОС может утяжелять течение ДКА, в том числе за счет развития осложнений, однако литературные данные по этой проблематике приводятся только по взрослой популяции или по СД 2-го типа [13, 14]. Выявленное нами снижение АФ на фоне ДКА зафиксировано именно у детей и подростков с СД 1-го типа, что ранее не было отмечено в других исследованиях.

Заключение

Определение маркеров антиоксидантной функции имеет большое значение для диагностики оксидативно-го стресса в рамках диабетического кетоацидоза у детей и подростков с сахарным диабетом (СД) 1-го типа. Своевременная коррекция нарушений антиоксидантных систем снижает риск осложнений диабетического кетоацидоза и повторных декомпенсаций при лечении СД 1-го типа в педиатрической популяции.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования: авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из собственных средств.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования – БЮВ, БВА

Сбор и обработка материала – БЮВ, ВАП, ВАА

Статистическая обработка данных – БЮВ

Анализ и интерпретация данных – БЮВ, БВА, ВАП, ВАА

Написание и редактирование текста – БЮВ, БВА, ВАП

Литература / References

1. Janner M., Saner C. Impact of Type 1 Diabetes Mellitus on Bone Health in Children. *Horm Res Paediatr.* 2022;95(3):205–14. doi: 10.1159/000521627
2. Малюжинская Н.В., Шишиморов И.Н., Магницкая О.В., Степаненко К.В., Полякова О.В., Клиточенко Г.В., Петрова И.В., Емельянова С.А., Скиба А.П. Возможности фармакотерапии на преклинической стадии кардиоваскулярной автономной нейропатии у детей с сахарным диабетом 1-го типа. *Фармация и фармакология.* 2022;10(1):93–103. [Malyuzhinskaya NV, Shishimorov IN, Magnitskaya OV, Stepanenko KV, Polyakova OV, Klitochenko GV, Petrova IV, Emelyanova SA, Skiba AP. Pharmacotherapy possibilities of cardiovascular autonomic neuropathy in children with type 1 diabetes mellitus at the preclinical stage. *Pharmacy and Pharmacology.* 2022;10(1):93–103 (In Russ.).] doi: 10.19163/2307-9266-2022-10-1-93-103
3. Быков Ю.В. Диабетический кетоацидоз у детей и подростков: от патофизиологии до профилактики. *Забайкальский медицинский вестник.* 2021;2:85–95. [Bykov YuV. Diabetic ketoacidosis in children and adolescents: From pathophysiology to prevention. *The Transbaikalian Medical Bulletin.* 2021;2:85–95 (In Russ.).] doi: 10.52485/19986173_2021_2_85
4. Otal Y, Kahraman FA, Haydar FG, Erel Ö. Dynamic thiol/disulfide homeostasis as oxidative stress marker in diabetic ketoacidosis. *Eur J Clin Invest.* 2018;48(10):e13006. doi: 10.1111/eci.13006
5. Kostopoulou E, Livada I, Partsalaki I, Lamari F, Skiadopoulos S, Rojas Gil AP, Spiliotis BE. The role of carbohydrate counting in glycemic control and oxidative stress in patients with type 1 diabetes mellitus (T1DM). *Hormones (Athens).* 2020;19(3):433–8. doi: 10.1007/s42000-020-00189-8
6. Hoffman WH, Siedlak SL, Wang Y, Castellani RJ, Smith MA. Oxidative damage is present in the fatal brain edema of diabetic ketoacidosis. *Brain Res.* 2011;1369:194–202. doi: 10.1016/j.brainres.2010.10.085
7. Asmat U, Abad K, Ismail K. Diabetes mellitus and oxidative stress. A concise review. *Saudi Pharm J.* 2016; 24(5): 547–53. doi: 10.1016/j.jsps.2015.03.013
8. Suys B, de Beeck LO, Rooman R, Kransfeld S, Heuten S, Goovaerts I, Vrints C, de Wolf D, Matthys D, Manuel-y-Keenoy B. Impact of oxidative stress on the endothelial dysfunction of children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: protection by superoxide dismutase? *Pediatr Res.* 2007;62(4):456–61. doi: 10.1203/PDR.0b013e318142581a
9. Ramakrishna V, Jaikhani R. Evaluation of oxidative stress in Insulin Dependent Diabetes Mellitus (IDDM) patients. *Diagn Pathol.* 2007;2:22. doi: 10.1186/1746-1596-2-22
10. Kueakhai P, Chaithirayanon K, Chaiwichien A, Samrit T, Osotprasit S, Suksomboon P, Jaikua W, Sobhon P, Changklungmoa N. Monoclonal antibody against Fasciola gigantica glutathione peroxidase and their immunodiagnosis potential for fasciolosis. *Vet Parasitol.* 2019;276:108979. doi: 10.1016/j.vetpar.2019.108979
11. El Amrousy D., El-Afify D., Shabana A. Relationship between bone turnover markers and oxidative stress in children with type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Res.* 2021;89(4):878–81. doi: 10.1038/s41390-020-01197-5
12. Chaudhuri A., Umpierrez G.E. Oxidative stress and inflammation in hyperglycemic crises and resolution with insulin: implications for the acute and chronic complications of hyperglycemia. *J Diabetes Complications.* 2012; 26(4): 257–8. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2012.04.016
13. Karavanaki K, Karanika E, Georga S, Bartzeliotou A, Tsouvalas M, Konstantopoulos I. Cytokine response to diabetic ketoacidosis (DKA) in children with type 1 diabetes (T1DM). *Endocrine Journal.* 2011;58:1045–53. doi: 10.1507/endocrjej11-0024