

Оценка уровней аутоантител к NMDA и дофаминовым рецепторам у детей, больных сахарным диабетом I типа, в зависимости от тяжести течения заболевания

Быков Ю. В.^{1,2}

к.м.н., ассистент, кафедра анестезиологии, реаниматологии и скорой медицинской помощи, врач анестезиолог-реаниматолог

Батурин В. А.^{1,3}

д.м.н., профессор, заведующий, кафедра клинической фармакологии

Углова Т. А.²

врач детский эндокринолог

1 – Ставропольский государственный медицинский университет, г. Ставрополь, Российская Федерация

2 – Детская городская клиническая больница им. Г.К. Филиппского, г. Ставрополь, Российская Федерация

3 – ООО «Центр клинической фармакологии и фармакотерапии», г. Ставрополь, Российская Федерация

Автор для корреспонденции: Быков Юрий Витальевич; **e-mail:** yubykov@gmail.com

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Аннотация

Сахарный диабет (СД) 1 типа, является одним из распространенных эндокринологических заболеваний в детском возрасте. Целью данного исследования было изучение содержания уровня аутоантител (ААТ) к NMDA рецепторам и дофаминовым рецепторам второго типа (DAR2) у детей с различной степенью тяжести на фоне СД 1 типа. Обследовано 38 детей и подростков в возрасте от 2 до 17 лет. Определение в сыворотке крови уровней ААТ к NMDA рецепторам и дофаминовым рецепторам (DR2) проводилось методом иммуноферментного анализа (ИФА). Обнаружено увеличение ААТ к NMDA рецепторам и дофаминовым рецепторам (DAR2) у детей с хроническим течением СД 1 типа на фоне диабетического кетоацидоза (ДКА), по сравнению с детьми на фоне дебюта СД или компенсации заболевания. Увеличенное содержание ААТ к NMDA и дофаминовым рецепторам (DAR2) определялось у детей и подростков на фоне длительного течения заболевания и частых госпитализаций в реанимационное отделение.

Ключевые слова: сахарный диабет I типа, NMDA рецепторы, дофаминовые рецепторы, аутоантитела

doi: 10.29234/2308-9113-2020-8-4-41-48

Для цитирования: Быков Ю. В., Батурин В. А., Углова Т. А. Оценка уровней аутоантител к NMDA и дофаминовым рецепторам у детей, больных сахарным диабетом I типа, в зависимости от тяжести течения заболевания. *Медицина* 2020; 8(4): 41-48.

Введение

Сахарный диабет (СД) – это эндокринная патология, которая проявляется резистентностью к инсулину, резким снижением функции β -клеток поджелудочной железы, аномально высокими уровнями глюкагона и гипергликемией [7]. СД I типа – это аутоиммунное заболевание, является наиболее распространенным именно среди детей и подростков, которое часто сопровождается серьезными острыми и хроническими осложнениями [6]. Одним из потенциально тяжелых и опасных для жизни осложнений СД 1 типа у детей является диабетический кетоацидоз (ДКА) [4]. Частота возникновения ДКА во время диагностики СД I типа колеблется от 15% до 67% [10]. Отек головного мозга, на фоне нарушения сознания, является причиной 0,46% – 4,60% смертей и основной причиной летальности, связанной с ДКА [2].

С другой стороны известно, что дисбаланс метаболических (нейротрансмиттерных) регуляторных систем является основой многих метаболических нарушений, в том числе и при СД [1]. Например, известно, что длительная активация NMDA-рецепторов на фоне СД может вызывать нейродегенерацию нейронов головного мозга [3]. Кроме этого, хорошо известна важность дофаминовых рецепторов в функции ЦНС, в том числе их влияние на гомеостаз глюкозы и функцию β -клеток поджелудочной железы [5]. Приводятся данные, что дофамин ингибирует высвобождение инсулина, приводя к инсулинорезистентности [8].

В последние годы аутоантитела (ААТ) все чаще используются в качестве возможных биомаркеров СД I типа для углубленного понимания патофизиологии, выявления риска и разработки потенциальных терапевтических методов при данном заболевании [9]. В связи с этим представлялось интересным изучить ААТ к NMDA рецепторам и дофаминовым рецепторам (DAR2) у больных с СД после перенесенного ДКА.

Цель исследования

Цель исследования – изучить уровень ААТ к NMDA рецепторам и дофаминовым рецепторам (DAR2) у детей с различной степенью тяжести состояния на фоне СД I типа.

Материал и методы исследования

Работа выполнена на базе детской городской больницы им. Г. К. Филиппского (г. Ставрополь) в дизайне открытого сравнительного исследования. Были сформированы 2 группы больных детей. В первую группу были включены 19 детей (11 мальчиков и 8 девочек), в возрасте от 2 до 17 лет (средний возраст $9,07 \pm 3,6$ года), экстренно

поступивших в клинику с проявлениями выраженного ДКА на фоне хронического СД I типа в стадии декомпенсации. Все дети первой группы были госпитализированы в палаты реанимации и интенсивной терапии в связи с проявлениями ДКА, в тяжелой и средней степени тяжести состояния.

Критерии включения в первую группу:

- Подтверждение диагноза СД I типа, согласно диагностическим критериям ВОЗ, в стадии декомпенсации, с гипергликемией выше 11,1 ммоль/л;
- Возраст детей от 2-х до 17 лет;
- ДКА средней степени тяжести: оглушение-сопор, глубокое шумное дыхание, гипорефлексия и мышечная гипотония, тахикардия, артериальная гипотония, многократная рвота, боли в животе, концентрация ацетона в моче 80-160 mg/dl;
- ДКА тяжелой степени: отсутствие сознания (кома), арефлексия, резкая дегидратация, «мраморная» окраска кожи, пастозность и отеки голеней, рвота цвета кофейной гущи, олигоанурия, шумное и глубокое дыхание (Куссмауля) или периодическое дыхание (Чейн-Стокса), артериальная гипотония и тахикардия, концентрация ацетона в моче 160 mg/dl.
- Частые поступления (от 4-х до 8 раз) в клинику на фоне субкомпенсации и декомпенсации СД I типа в течение заболевания (данные анамнеза).

Тяжесть ДКА определяли согласно международному консенсусу «International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes» (2009 г.). Забор венозной крови для определения уровней ААТ к NMDA и к DAR2 рецепторам проводился однократно в круглосуточном режиме, в зависимости от времени госпитализации ребенка в реанимационное отделение.

Во вторую группу были включены дети и подростки с хроническим течением СД I типа, планоно получавшие инсулин по течению основного заболевания и госпитализированные без проявления ДКА для проведения диагностических мероприятий. В эту группу вошли 19 детей (9 мальчиков и 11 девочек), в возрасте от 4 до 17 лет (средний возраст $12,07 \pm 4,2$ года, длительность заболевания $7,6 \pm 3,4$ года).

Критерии включения в группу сравнения:

- Подтверждение диагноза СД I типа, согласно диагностическим критериям ВОЗ, в стадии компенсации, с уровнем гликемии менее 6 ммоль/л натощак;
- Возраст детей от 2-х до 17 лет;

- Отсутствие проявлений ДКА на момент поступления (как клинических, так и лабораторных).
- Редкие поступления (до 2-х раз) в клинику на фоне субкомпенсации и декомпенсации СД I типа в течение заболевания (данные анамнеза).

Забор венозной крови для обследования в этой группе проводился однократно в утренние часы (9:00), при госпитализации ребенка в клинику.

При поступлении детей обеих групп учитывался анамнез заболевания (длительность заболевания, частота поступлений детей за период заболевания, тяжесть состояния при поступлении: тяжелое, средней тяжести, удовлетворительное).

Количественное определение ААТ в сыворотке крови проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА). Методика определения уровня ААТ к NMDA рецепторам (субъединица NMDAR2A) и дофаминовым рецепторам второго типа (DAR2) была основана на иммунологической реакции между ААТ в сыворотке крови пациентов и антигенами рецепторов NMDAR2A и рецепторов дофамина второго типа (DAR2) при использовании человеческих рекомбинантных антигенов [производитель Cloud-Clone Corp, США], с дальнейшей детекцией образовавшегося иммунного комплекса с помощью пероксидазного конъюгата моноклональных антител к иммуноглобулину IgG человека. Применялись тест-системы, разработанные в ООО НПО «Иммунотэкс» (Россия). Результаты анализов регистрировали с помощью фотометра вертикального сканирования «Лазурит» (США) при длине волны 450 нм. Нормальные показатели IgG ААТ рассматривались в пределах до 10 мкг/мл (согласно инструкции производителя).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием прикладных программ Statistica v. 7.0. Оценивали характер распределения показателей с применением метода Шапиро-Уилка. При нормальном распределении использовался для сравнения двух групп критерий Стьюдента. Результаты представляли как средние значения и стандартная ошибка ($M \pm m$). При ненормальном распределении сравнение результатов в двух группах проводили с использованием критерия Манна-Уитни. Результаты представляли в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (25-й и 75-й процентиля, $LQ-UQ$). Для оценки встречаемости эффекта в группах использовали критерий Фишера. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Дети из первой группы (группа исследования) имели тяжелое состояние за счет декомпенсации СД I типа на фоне ДКА и отека головного мозга: нарушение сознания (от оглушения до комы), нестабильная гемодинамика (тахикардия и артериальная

гипотония), острая дыхательная недостаточность, тошнота, многократная рвота. В данной группе регистрировались кетоновые тела в моче (80-160 mg/dl) и среднесуточная гипергликемия ($17,6 \pm 1,5$ ммоль/л). Дети из второй группы имели удовлетворительное состояние на фоне компенсации СД I типа, без клинических проявлений ДКА и отека головного мозга (ясное сознание, отсутствие гемодинамических и дыхательных нарушений). Уровень среднесуточной гипергликемии был $5,08 \pm 0,6$ ммоль/л натощак, кетоновые тела в моче не определялись.

Если говорить об общей длительности заболевания СД, то она оказалась достоверно больше ($p=0,0004$) в первой группе, по сравнению со второй группой (табл. 1). То есть дети, поступавшие в реанимационное отделение в тяжелом состоянии на фоне выраженных проявлений ДКА имели достоверно большую длительность заболевания, нежели дети, госпитализированные в стабильном состоянии в эндокринологическое отделение, без проявлений ДКА. Также достоверно большим ($p=0,0002$) оказалось среднее количество поступлений детей и подростков в тяжелом состоянии по течению заболевания СД в реанимационное отделение с проявлениями ДКА: $5,27 \pm 1,06$ раз в первой группе, по сравнению со второй группой – $0,25 \pm 0,04$ раз (за всю длительность заболевания).

Таблица 1. Сравнительная характеристика больных 1 и 2 групп *

Группа	Длительность заболевания (годы)	ААТ к NMDAR (мкг/мл)	ААТ к DAR2 (мкг/мл)
1	Me=4,0 (3,0-8,0)	Me=5,48 (3,84-8,45)	Me=12,19 (7,24-15,86)
2	Me=1,0 (0,5-1,0)	Me=3,02 (2,75-3,65)	Me=3,76 (2,79-5,48)
	$p=0,0004$	$p=0,00015$	$p=0,0015$

* - данные представлены медианой (Me) и интерквартильным размахом (25-й и 75-й процентиля, LQ-UQ).

У больных первой группы с СД I типа (декомпенсация заболевания на фоне хронического течения) уровень ААТ к NMDA рецепторам в сыворотке крови был почти в два раза выше и составил Me=5,48 мкг/мл ($p=0,00015$). Содержание ААТ к дофаминовым рецепторам (DAR2) был также выше ($p=0,0015$) в первой группе (Me=12,9 мкг/мл), по сравнению со второй группой (Me=3,76 мкг/мл). Таким образом, выявлено повышение IgG ААТ к NMDA рецепторам NMDAR1 и дофаминовым рецепторам (DAR2) у детей и подростков на фоне ДКА и тяжелого состояния при декомпенсации СД I типа, по сравнению со второй группой.

Таким образом, высокие показатели ААТ к NMDA рецепторам и дофаминовым рецепторам (DAR2) обнаружены у детей при декомпенсации СД I типа на фоне ДКА и тяжелого состояния. Так, у детей с декомпенсацией СД средние значения ААТ к дофаминовым рецепторам (DAR2) оказались выше более чем в 3,5 раза по сравнению с группой без ДКА. У пациентов с СД I типа на фоне ДКА и декомпенсации уровень ААТ к NMDA рецепторам также оказался увеличенным в 2 раза. В целом полученные данные

согласуются с результатами А. Lau и М. Tymianski [3], которые показали, что длительная стимуляция NMDA-рецепторов на фоне СД возможно вызывает нейродегенерацию и эксайтотоксичность в нейронах. Это, видимо, может сопровождаться повышением уровня ААТ к этому виду рецепторов. Не исключено, что процесс минимальной мозговой дисфункции у детей и подростков с СД I типа, запускается задолго до появления классических и клинических проявлений заболевания. Возможно, что повышение дофаминергической медиации, обнаруженное при СД [5], сопровождается экспрессией дофаминовых рецепторов, что в свою очередь вызывает повышение продукции ААТ к дофаминовым рецепторам (DAR2). Можно сделать вывод, что повышение ААТ к NMDA рецепторам и дофаминовым рецепторам (DAR2) может являться диагностическим предиктором тяжелого течения СД I типа у детей и подростков. Возможно, что определение уровней ААТ позволит выявлять дисфункцию ЦНС еще на доклиническом этапе.

Заключение

Обнаружено увеличение IgG ААТ к NMDAR1 и дофаминовым рецепторам (DAR2) у детей с хроническим течением СД I типа на фоне ДКА, по сравнению с детьми на фоне дебюта СД или компенсации заболевания. Важно, что увеличенное содержание ААТ к NMDA рецепторам и дофаминовым рецепторам (DAR2) диагностировалось у детей и подростков не только на фоне тяжелого состояния с ДКА, но и на фоне длительного течения заболевания и частых госпитализаций в реанимационное отделение, что может служить определенным маркером повреждения головного мозга, хронификации и тяжести СД.

Литература

1. Bao Y., Zhao T., Wang X. et al. Metabonomic variations in the drug-treated type 2 diabetes mellitus patients and healthy volunteers. *J Proteome Res.* 2009;8(4):1623-30. doi: 10.1021/pr800643w
2. Edge J.A., Ford-Adams M.E., Dunger D.B. Causes of death in children with insulin dependent diabetes 1990-96. *Arch Dis Child.* 1999; 81:318-323.
3. Lau A, Tymianski M. Glutamate receptors, neurotoxicity and neurodegeneration. *Pflugers Arch* 2010; 460: 525-542. doi: 10.1007/s00424-010-0809-1
4. Lopes C.L., Pinheiro P.P., Barberena L.S., Eckert G.U. Diabetic ketoacidosis in a pediatric intensive care unit. *J Pediatr (Rio J)* 2017; 93(2): 179-184. doi: 10.1016/j.jped.2016.05.008
5. Lopez Vicchi F., Luque G.M., Brie B. et al. Dopaminergic drugs in type 2 diabetes and glucose homeostasis. *Pharmacol Res.* 2016;109:74-80. doi: 10.1016/j.phrs.2015.12.029
6. Robert A.A., Al-Dawish A., Mujammami M., Dawish M.A.A. Type 1 Diabetes Mellitus in Saudi Arabia: A Soaring Epidemic. *Int J Pediatr.* 2018; 2018:9408370. doi: 10.1155/2018/9408370

7. Sharma S, Singh H., Ahmad N., et al. The role of melatonin in diabetes: therapeutic implications. *Arch Endocrinol Metab.* 2015; 59(5): 391-9. doi: 10.1590/2359-3997000000098
8. Underland L.J., Mark E.R., Katikaneni R., Heptulla R. The Impact of Dopamine on Insulin Secretion in Healthy Controls. *Indian J Crit Care Med.* 2018; 22(4): 209-213. doi: 10.4103/ijccm.IJCCM_175_17
9. Watkins R.A., Evans-Molina C., Blum J.S., DiMeglio L.A.. Established and emerging biomarkers for the prediction of type 1 diabetes: a systematic review. *Transl Res.* 2014; 164(2): 110-21. doi:10.1016/j.trsl.2014.02.004
10. Wojcik M., Sudacka M., Wasyl B. et al. Incidence of type 1 diabetes mellitus during 26 years of observation and prevalence of diabetic ketoacidosis in the later years. *Eur J Pediatr.* 2015; 174:1319-1324. doi: 10.1007/s00431-015-2537-1.

Estimating the Levels of Autoantibodies to NMDA And Dopamine Receptors in Children with Diabetes Mellitus Type I, Subject to the Condition Severity

Bykov Yu. V.^{1,2}

MD, PhD, Assistant, Chair for Anesthesiology, Resuscitation and Emergency Medicine; Anesthesiologist-resuscitator

Baturin V. A.^{1,3}

Doctor of Medicine, Head, Chair for Clinical Pharmacology

Uglova T. I.²

MD, Pediatric Endocrinologist

1 – Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia

2 – City Clinical Children's Hospital named after G. K. Filippovsky, Stavropol, Russia

3 – LLC "Center for Clinical Pharmacology and Pharmacotherapy", Stavropol, Russia

Corresponding Author: Bykov Yuri; e-mail: yubykov@gmail.com

Conflict of interest. None declared.

Funding. The study had no sponsorship.

Abstract

Type I Diabetes Mellitus (DM) is among the most common endocrinological diseases in adolescents. The purpose of this study was to research the level of autoantibodies (AAT) to NMDA receptors and Type 2 dopamine receptors (DAR2) in children with varying severity condition of Type I Diabetes. We examined 38 children and adolescents aged 2 to 17 years. In order to determine the levels of AAT to NMDA receptors and dopamine receptors (DR2) in blood serum, we applied the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). We found higher levels of AAT to NMDA receptors and dopamine receptors (DAR2) in children with chronic Type I Diabetes against the background of diabetic ketoacidosis (DKA), as compared to children with the diabetes onset or compensation of the disease. The increased levels of AAT to NMDA and dopamine receptors (DAR2) were found in children and adolescents against the background of a long history of the disease and frequent hospitalization to the intensive care unit.

Keywords: Diabetes Mellitus Type I, NMDA receptors, dopamine receptors, autoantibodies

References

1. Bao Y., Zhao T., Wang X. et al. Metabonomic variations in the drug-treated type 2 diabetes mellitus patients and healthy volunteers. *J Proteome Res.* 2009;8(4):1623-30. doi: 10.1021/pr800643w
2. Edge J.A., Ford-Adams M.E., Dunger D.B. Causes of death in children with insulin dependent diabetes 1990-96. *Arch Dis Child.* 1999; 81:318-323.

3. Lau A, Tymianski M. Glutamate receptors, neurotoxicity and neurodegeneration. *Pflugers Arch* 2010; 460: 525-542. doi: 10.1007/s00424-010-0809-1
4. Lopes C.L., Pinheiro P.P., Barberena L.S., Eckert G.U. Diabetic ketoacidosis in a pediatric intensive care unit. *J Pediatr (Rio J)* 2017; 93(2): 179-184. doi: 10.1016/j.jped.2016.05.008
5. Lopez Vicchi F., Luque G.M., Brie B. et al. Dopaminergic drugs in type 2 diabetes and glucose homeostasis. *Pharmacol Res.* 2016;.109:.74-80. doi: 10.1016/j.phrs.2015.12.029
6. Robert A.A., Al-Dawish A., Mujammami M., Dawish M.A.A. Type 1 Diabetes Mellitus in Saudi Arabia: A Soaring Epidemic. *Int J Pediatr.* 2018; 2018:9408370. doi: 10.1155/2018/9408370
7. Sharma S, Singh H., Ahmad N., et al. The role of melatonin in diabetes: therapeutic implications. *Arch Endocrinol Metab.* 2015; 59(5): 391-9. doi: 10.1590/2359-39970000000098
8. Underland L.J., Mark E.R., Katikaneni R., Heptulla R. The Impact of Dopamine on Insulin Secretion in Healthy Controls. *Indian J Crit Care Med.* 2018; 22(4): 209-213. doi: 10.4103/ijccm.IJCCM_175_17
9. Watkins R.A., Evans-Molina C., Blum J.S., DiMeglio L.A.. Established and emerging biomarkers for the prediction of type 1 diabetes: a systematic review. *Transl Res.* 2014; 164(2): 110-21. doi:10.1016/j.trsl.2014.02.004
10. Wojcik M., Sudacka M., Wasyl B. et al. Incidence of type 1 diabetes mellitus during 26 years of observation and prevalence of diabetic ketoacidosis in the later years. *Eur J Pediatr.* 2015;174: 1319-1324. doi: 10.1007/s00431-015-2537-1.