

## **Захарен диабет**

### Цели

**Цели на преподавателя:** да се представят причините за възникване, клинично проявление, особеностите в метаболизма при инсулино-зависим и инсулино-независим диабет, маркери за предсказване, възможни усложнения и тестове за проследяване развитието на диабета.

**След работа с този раздел студентите ще могат да постигнат следните учебни цели:**

#### **А. Знания**

1. Да дадат начално определение и класификация на захарен диабет;
2. Да опишат клиничните признаци и биохимичните промени при новоотключен диабет, диабет с кетоацидоза и диабетна кома;
3. Да изброят промените във въглехидратната, липидната и белтъчната/аминокиселинната обмяна при диабет I тип;
4. Да изброят факторите, предразполагащи към отключване на диабет I тип;
5. Да изброят типовете и дадат примери за маркери за предсказване на диабет I тип;
6. Да посочат рискови фактори на средата за развитие на диабет I тип;
7. Да изброят усложненията, възможни и при двата типа диабет;
8. Да посочат тестовете за проследяване развитието на диабета.

#### **Б. Разбирания**

1. Да обяснят полиурията, полидипсията и загубата на тегло при диабет I тип;
2. Да обяснят хипергликемията, глюкозурията, увеличеното разграждане на белтъци в мускулите, увеличената липолиза в мастна тъкан, увеличена кетогенеза, кетонемия и кетонурия при диабет I тип;
3. Да опишат генетичните фактори за развитие на диабет I тип;
4. Да разгледат диабета I тип като автоимунно заболяване;
5. Да обяснят значението на различните групи маркери за предсказване на диабет I тип;
6. Да обяснят усложненията при диабет II тип;
7. Да обяснят редки случаи на диабет II тип;
8. Да обяснят усложненията, възможни и при двата типа диабет;

#### **В. Умения**

1. Да приложат познанията си върху метаболизма в здрав човек и представят схема за особеностите на обмяната при диабет I тип;

2. Да представят обобщена схема за последствията от инсулинов недостиг при диабет I тип;
3. Да приложат познанията си върху метаболизма в здрав човек и представят схема за особеностите на обмяната при диабет II тип;
4. Да решават клинични случаи с диабет.

#### 18.1. Резюме

Диабетът е хетерогенна група заболявания, характеризиращи се с хронична хипергликемия и множество метаболитни, ендокринни и други разстройства, вследствие недостатъчен инсулинов ефект. Инсулино-зависимият диабет (ИЗД), или диабет I тип, се дължи на недостатъчна продукция или липса на инсулин най-често поради аутоимунно разрушаване на  $\beta$ -клетките в Лангерхансовите острови на панкреаса или по-рядко поради мутации в гена за инсулин, водещи до получаване на дефектен, неактивен инсулин. Инсулино-независимият диабет (ИНЗД), или диабет II тип, се дължи на липса или намален брой на инсулиновите рецептори, дефектни рецептори, образуване на антитела срещу инсулиновия рецептор (рядко) или на пострецепторен дефект (нарушено вътреклетъчно предаване на хормоналния сигнал).

При ИЗД се наблюдава хипергликемия, хиперлиппротеинемия (хиломикрони и ЛПМНП) и епизоди на тежка кетоацидоза. Нарушена е въглехидратната, мастната, и белтъчната обмяна. Главна причина за образуване на аутоантитела са мутации в хромозома № 6, където е разположен генният комплекс за главна тъканна съвместимост (МНС- Major Histocompatibility Complex). От значение са и мутации в областта на инсулиновия ген в хромозома № 11. В човека обаче са открити и други генетични райони в различни други хромозоми, определящи в една или друга степен предразположение към диабет. Полиурията, полидипсията и загубата на тегло при ИЗД са следствие от хипергликемията. Когато концентрацията на глюкоза в кръвта надвиши максималното ниво за бъбречна тубуларна реабсорбция, глюкозата минава и в урината (глюкозурия). Организмът се обезводнява заради усилената бъбречна дейност за изхвърляне на излишната глюкоза с урината (полиурия). Това пък предизвиква неутолима жажда (полидипсия). Глюкозурията води до значителни загуби на калории (4.1 kcal/g екскретирана глюкоза). Това, както и загубата на мускулна и мастна тъкан води до отслабване въпреки засиления апетит и увеличеното поемане на храна. От биохимична гледна точка хипергликемията е резултат от невъзможността инсулин-зависимите тъкани да поемат глюкоза от кръвта, а също и от усилената чернодробна глюконеогенеза от аминокиселини, получени от мускулните белтъци. Поради недостига на глюкоза като източник на енергия в клетките на мастна и мускулна тъкани, организмът започва неконтролно да разгражда своите мастни и белтъчни запаси. В аномално високи концентрации се образуват кетотела, две от които са киселини. Това в съчетание с обезводняването може да доведе до кома и дори до смърт. За да се предскаже дали ще се развие или не ИЗД, се ползват генетични, имунологични и метаболитни маркери. За отключване на диабета значение имат и рискови фактори на средата (вирусни инфекции, токсични увреждания, отравяния, емоционален стрес и др).

При диабет II тип хипергликемията се дължи на слабо поемане на глюкоза от периферните тъкани, особено мускулите. Кетоацидоза обикновено не се развива, тъй като тук няма неконтролируема липолиза в мастната тъкан. Има хипертриглицеридемия, но тя се дължи на увеличение на ЛПМНП, без хиперхиломикронемия. Това се обяснява предимно с по-високата скорост на чернодробната *de novo* синтеза на ВМК и ЛПМНП, отколкото с увеличено отдаване на ВМК от мастната тъкан. Отделя се инсулин, но поради резистентността към него, периферните тъкани не могат да отговорят на инсулиновия сигнал. Инсулинова резистентност може да има на всяко ниво от биологичното действие на инсулина - от началното свързване към клетъчните рецептори до фосфорилиращата каскада,

започваща с автофосфорилиране на инсулиновия рецептор. Броят на инсулиновите рецептори в някои пациенти е намален. Гените за инсулиновия рецептор са в хромозома № 19. При други пациенти има нормално свързване на инсулина, но аномални пострецепторни отговори, напр. не се активират глюкозните преносители. Затлъстяването е една от причините за инсулинова резистентност. Често срещано усложнение е хипергликемичната хиперосмолярна кома. Приведените като примери редки случаи на ИНЗД (лепрехаунизъм при новородено и инсулинова резистентност с пострецепторен дефект) улесняват разбирането на причините и механизма на диабет тип II.

Характерните и за двата типа диабет усложнения като хипогликемична криза и хипогликемична кома са представени чрез конкретни случаи. Поради нарушена биосинтеза на базалната мембрана на кръвоносните капилляри има и други усложнения: микроваскуларни увреждания (ретинопатия и нефропатия) и невропатии, а също и макроваскуларни увреждания - засягат се сърдечни, мозъчни и периферни съдове и периферни нерви. В късните стадии на нелекуван диабет се развива слепота и бъбречна недостатъчност. Роля за тези увреждания имат натрупващият се сорбитол в полиоловия път и спонтанното гликозилиране на белтъци.

Наред с рутинните тестове, в клиниката са важни и специалните тестове за проследяване развитието на диабета - тест за толерантност към глюкоза, гликозилиран хемоглобин, фруктозамин.

## 18.2. Начално определение и класификация на захарен диабет

На диабета са посветени томове литература. Престижни периодични списания редовно публикуват новости върху това заболяване. Познанията ни върху него са като море. Настоящата лекция е само първа среща с диабета и не претендира за всеобхватност. Всяка следваща дисциплина ще добавя по нещо към основата, която дава биохимията.

Диабетът е хетерогенна група заболявания, характеризиращи се с хронична хипергликемия и множество метаболитни, ендокринни и други разстройства, вследствие недостатъчен инсулинов ефект [1-5]. Диабетът се развива в генетично предразположени индивиди, но значение имат и рискови фактори на средата.

Според причините за недостатъчния инсулинов ефект диабетът се дели на два главни типа:

### I. Инсулино-зависим диабет (ИЗД) или диабет I тип

Наблюдава се при 10% от болните, обикновено се проявява под 30 годишна възраст. Дължи се на **недостатъчна продукция или липса на инсулин поради:**

- 1) автоимунно разрушаване на  $\beta$ -клетките в Лангерхансовите острови на панкреаса, предопределено от наследствени и външни фактори;
- 2) мутации в гена за инсулин - получава се дефектен, неактивен инсулин.

### II. Инсулино-независим диабет (ИНЗД) или диабет II тип

Наблюдава се при 90% от болните, обикновено се проявява над 40 г. Дължи се на **резистентност към инсулиновото действие в периферните тъкани поради:**

- 1) липса или намален брой на инсулиновите рецептори
- 2) дефектни рецептори
- 3) антитела срещу инсулиновия рецептор (рядко)

4) пострецепторен дефект - нарушено е вътреклетъчното предаване на хормоналния сигнал.

### 18.3. Инсулино-зависим диабет (I тип)

#### 18.3.1. Клинично проявление и биохимични промени

Представените накратко три клинични случая дават представа за клиничните проявления при това тежко заболяване. Случаите са любезно предоставени от д-р М. Константинова, Институт по педиатрия, Медицински Университет, София.

**Новооткрит диабет:** Момиченце на 4 години от известно време уринира обилно бистра урина (полиурия), изпитва силна неутолима жажда (полидипсия) и е отслабнало с 2 кг, въпреки че е поемало достатъчно храна. Лабораторните изследвания в деня на прегледа са:

кръвна глюкоза - 16 ммол/л (норма 3.6 -6.1 ммол/л);

в урината има глюкоза, няма ацетон.

Засегната е въглехидратната обмяна.

**Диабет плюс кетоацидоза:** При момче на 5 години от известно време родителите са забелязали полиурия, полидипсия и загуба на телесно тегло, но не са обърнали внимание. Момчето влиза в болница заради възпалено гърло и температура. Лабораторните изследвания при постъпването в болницата са:

кръвна глюкоза - 23 ммол/л (норма 3.6 -6.1 ммол/л);

в урината има кетонни тела и захар.

Засегнати са въглехидратната и липидната обмени.

**Диабетна кома:** Девойка на 18 години с установен захарен диабет с 14 годишна давност, постъпва в болницата след простудно заболяване. Метаболитният контрол е лош, постъпвала е неколккратно в клиниката поради развитие на кетоацидоза. По време на простудното заболяване е намалила инсулиновата доза. Домашният лекар е отсъствал и майката не е потърсила друг лекар. В деня на приемането състоянието на момичето рязко се влошава: повръща, става отпусната, загубва съзнание и е докарана с бърза помощ в болницата. Тя е обезводнена, кожата е студена и се наблюдава характерното учестено дълбоко равномерно, така наречено Кусмаулово дишане, при което се усеща плодов дъх.

Лабораторните изследвания в деня на приема в болницата са дадени в табл. 18-1. Засегнати са въглехидратната, липидната и белтъчна обмени. рН на кръвта е силно снижено.

**Табл. 18-1.** Лабораторни изследвания на пациентка с диабетна кома при приемане в болницата.

<b>В плазмата</b>	<b>Стойности на пациентката</b>	<b>Нормални стойности</b>
Глюкоза	31 mmol/L 6,4 пъти над средна норма	3.6 -6.1 mmol/L
β-Хидроксibuтират	12,5 mmol/L (50 пъти повече)	под 0.25 mmol/L
Ацетоацетат	2.6 mmol/L (13 пъти повече)	под 0.2 mmol/L
Уреен азот	12 mmol/L (7 пъти повече)	2 mmol/L
Креатинин	164 μmol/L	60 - 132 μmol/L
Бикарбонат	5 mmol/L	24-28 mmol/L
Калий	5,8 mmol/L	3,5 – 5,0 mmol/L
pH артериално	7.00	7.35 - 7.45
<b>В урината</b>	има глюкоза и кетонoви тела	

Разгледаните три случая показват колко сериозни и тежки са последствията от недостига на инсулин. Преди откриването му, болният е умирал не по-късно от година след поставяне на диагнозата захарен диабет. След изолирането на инсулин от животни през 1921 г. милиони човешки животи са спасени благодарение въвеждането му в организма на болния.

#### **Как ще обясним полиурията, полидипсията и загубата на тегло ?**

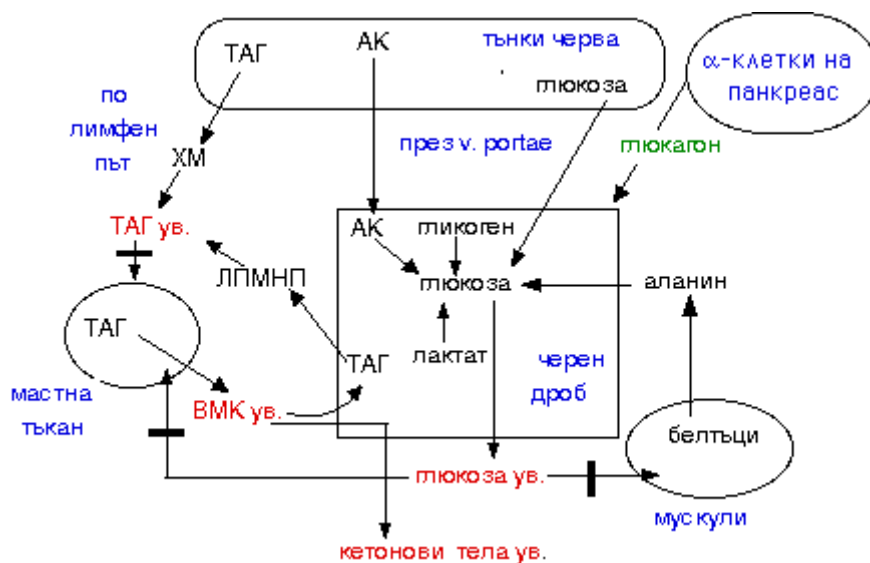
Главно проявление на захарния диабет е хипергликемията. Когато концентрацията на глюкоза в кръвта надвиши максималното ниво за бъбречна тубуларна реабсорбция, глюкозата минава и в урината (глюкозурия). Организмът се обезводнява заради усилената бъбречна дейност за изхвърляне на излишната глюкоза с урината (полиурия). Това пък предизвиква неутолима жажда (полидипсия). Глюкозурията води до значителни загуби на калории (4.1 kcal/g екскретирана глюкоза). Това, както и загубата на мускулна и мастна тъкан води до отслабване въпреки засиления апетит и увеличеното поемане на храна.

Независимо, че симптомите на инсулино-зависимия диабет (полиурия, полидипсия, загуба на тегло) се появяват внезапно, той се развива постепенно и скрито, в течение на няколко години, докато имунната система не унищожи около 80 % от бета-клетките. Едва тогава се проявяват класическите симптоми. Останалите 20 % клетки се ликвидират значително по-бързо. Смъртността при диабетна кетоацидоза и диабетната кома при неконтролиран диабет е 6-10%.

#### **18.3.2. Особенности в обмяната при диабет от I тип**

В т. 17.7.5. бе разгледана обмяната в здрав човек в сито състояние (фиг. 17-10).

При инсулино-зависим диабет от панкреаса не се отделя инсулин, а само глюкагон (фиг. 18-1). При нетретиран диабет се наблюдава хипергликемия, хиперлиппротеинемия (хиломикрони и ЛПМНП или VLDL), и епизоди на тежка кетоацидоза. Нарушена е не само въглехидратната, но и мастната, и белтъчната обмяна (фиг. 18-2).

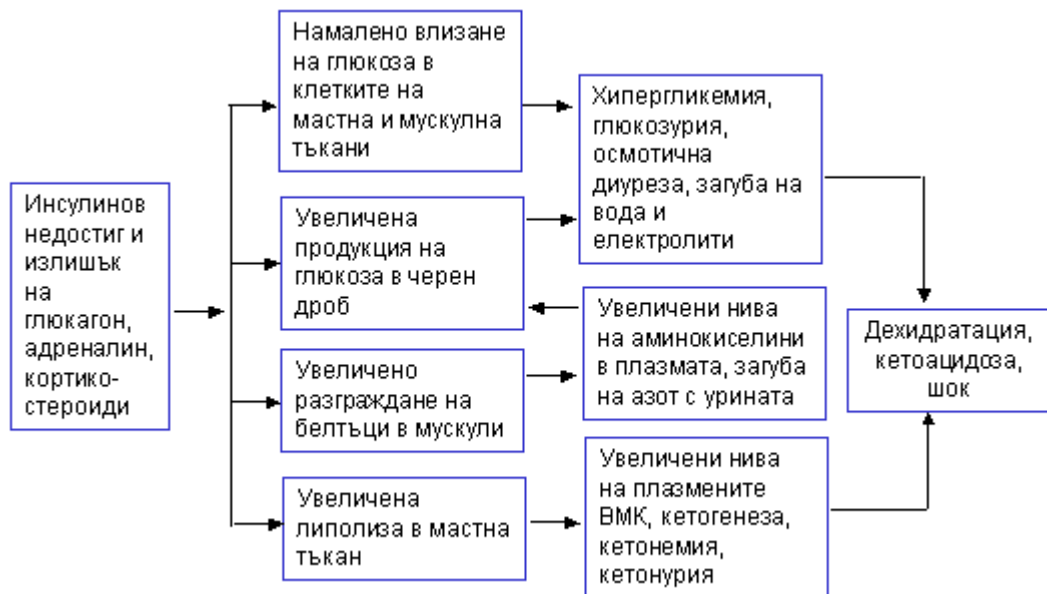


Фиг. 18-1. Особености на метаболизма при инсулино-зависим диабет (I тип).

Хиперглицемията е резултат от невъзможността инсулин-зависимите тъкани да поемат глюкоза от кръвта, а също и от усилената чернодробна глюконеогенеза от АК, получени от мускулните белтъци.

Ниското отношение инсулин/глюкагон води до увеличена липолиза в мастна тъкан. Това увеличава мастните киселини в кръвта, и в черния дроб. Част от тях се окисляват до ацетил-КоА и после до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  в цитратния цикъл. Но цикълът е със слаб интензитет и поради това е увеличена кетогенезата в черния дроб. Ако кетоните тела не се използват толкова бързо, колкото се образуват, възниква опасно състояние, известно като кетоацидоза. Не всички мастни киселини, поети от черния дроб, могат да се обработят от него в  $\beta$ -окислението и кетогенезата. Останалото количество се естерифицира и се използва за синтеза на ЛПМНП (VLDL). Хипертриглицеридемия се получава, защото ЛПМНП (VLDL) се синтезират и освобождават от черния дроб по-бързо отколкото тези частици могат да бъдат разградени от липопротеин-липазата, чиято синтеза зависи от инсулин. Недостигът в липопротеинлипазата води и до хиломикронемия, тъй като този ензим е необходим и за катаболизма на хиломикроните в мастна тъкан.

Всяка тъкан при диабет изпълнява катаболитната си роля, за която е предназначена при гладуване, въпреки че от червата се поемат адекватни или дори увеличени количества глюкоза.



Фиг. 18-2. Обобщена схема на усложненията при инсулинов недостиг.

Загубата на глюкоза наред с острата загуба на мускулна и мастна тъкан, води до сериозно намаление на телесното тегло, въпреки нормалното или увеличено поемане на калории. Поради недостига на глюкоза в клетките като източник на енергия, организмът започва безконтролно да разгражда своите мастни и белтъчни запаси. В аномално високи концентрации се образуват кетотела, две от които са киселини. Това в съчетание с обезводняването може да доведе до кома, и дори до смърт.

### 18.3.3. Генетични фактори за развитие на диабет I тип

### 18.3.3. Генетични фактори за развитие на диабет I тип

ИЗД е мултифакторно аутоимунно заболяване, за което предразположението се определя от генетични фактори и от фактори на средата [6]. Срещу белтъци на  $\beta$ -клетките в Лангерхансовите острови на панкреаса се образуват аутоантитела и  $\beta$ -клетките се разрушават. Резултатът е недостатъчна инсулинова продукция или липса на инсулин. Главна причина за образуване на аутоантитела са мутации в хромозома № 6, където е разположен генният комплекс за главна тъканна съвместимост (МНС- Major Histocompatibility Complex). От значение са и мутации в областта на инсулиновия ген в хромозома № 11. В човека обаче са открити и други генетични райони в различни други хромозоми, определящи в една или друга степен предразположение към диабет (в мишка са известни 15 района в 11 хромозоми).

Наличието на мутации в различни гени се смята за необходимо, но не достатъчно условие за отключване на диабета. От значение са и факторите на средата, повечето от които са не напълно идентифицирани.

Гените от МНС кодират маркерни белтъци, по които тъканите на един индивид се отличават от аналогичните тъкани на друг индивид. Тези гени се разполагат в хромозома 6 - участък А С В за клас I и участък D за клас II, който се разделя на 3 локуса: DP, DQ, DR [7]. Най-важни са мутациите в локуса DQ. Белтъците, кодирани от МНС I и II клас са близки по структура [8]. Белтъците от клас I се състоят от голяма полипептидна верига и много по-малка субединица -  $\beta$ -2-микроглобулин. Белтъците от клас I се намират на повърхността на почти всички клетки. Срещу комплекса от антиген

и белтъци от клас I реагират цитотоксичните Т-клетки от имунната система. Белтъците от клас II, напротив се появяват само при някои клетки, които участват в имунния отговор като напр. макрофаги. На повърхността на макрофагите те участват в представянето на антигена на хелперните Т-лимфоцити. Състоят се от две полипептидни вериги с еднаква големина. Срещу комплекса от антиген и белтъци от клас II реагират хелперните Т-клетки.

Белтъкът DQ от клас II се състои от две вериги А и В. Ако в В-веригата на 57 позиция има аспартат (Асп57), това пречатва развитието на диабет. Ако на 57 позиция има друга аминокиселина, предразположението към диабет се увеличава. А и В-веригите на белтъка DQ са съединени подобно на буквата X, едната и страна е образувана от А-веригата, а другата от В-веригата. Горните сегменти образуват нещо като вдлъбнатина, в която се свързва антигенът. Асп57 се разполага на вътрешната повърхност на вдлъбнатината - в място, достъпно и за антигена, и за рецептора на хелперните Т-клетки, чиято роля е дадена по-долу. Асп57 може би предизвиква по-слабо свързване между антигена, имащ отношение към диабета и аутоимунен отговор не настъпва. Друга аминокиселина вероятно осигурява здраво свързване между антигена и белтъка DQ и силен имунен отговор.

#### 18.3.4. Диабетът I тип - аутоимунно заболяване

Аутоимунната атака срещу  $\beta$ -клетките, произвеждащи инсулин, протича в три фази [7]:

I. Човек, генетически предразположен към диабета, попада под въздействието на чужд антиген, с близко сходство към компонент от бета-клетките. Процесът започва със силен имунен отговор спрямо чуждия антиген, приличащ на нормалния белтък. Макрофагите, срещнали някъде в организма този чужд антиген, го поглъщат и го представят на своята повърхност в съчетание с белтъците от МНС, клас II (такива като DQw 3,2) на хелперните Т-лимфоцити. Последните започват да секретират интерлевкини, стимулиращи активността на други хелперни клетки, а също и на В-лимфоцитите, произвеждащи антитела и цитотоксическите Т-лимфоцити.

II. След това активираните клетки, както и специфичните към чуждия антиген антитела, могат да се пренесат с кръвния ток до панкреаса, където  $\beta$ -клетките имат белтък, приличащ на чуждия антиген. Молекулите на аутоантигена са в съчетание с белтъците от МНС I клас, които видяхме, че приличат на белтъците от II клас. Така се спровоцира атака срещу  $\beta$ -клетките от цитотоксичните Т-лимфоцити, вече сенсibiliзирани от чуждия антиген-двойник. Антителата против чуждия антиген се свързват с  $\beta$ -клетките и с това привличат още макрофаги, комплемент и NK (Natural killers). Макрофагите започват да представят аутоантигена на хелперните Т-лимфоцити. Последните се размножават и имунният отговор се усилва.

III. По-нататъшната атака се развива в хода на повреждане на  $\beta$ -клетките. Те произвеждат излишък от молекули от МНС клас I, увеличавайки с това активността на цитотоксическите Т-лимфоцити. На повърхността им се появяват и белтъци от МНС II клас. Активността на хелперните Т-лимфоцити се усилва още повече. Освен това на повърхността на повредените клетки се появяват още белтъци, напр. проинсулин, които нормално са вътреклетъчни. Тези белтъци предизвикват нова вълна на имунната атака, което накрая води до пълна гибел на  $\beta$ -клетките.

#### 18.3.5. Маркери за предсказване на диабет от I тип

##### а) Генетични маркери

Вече разгледахме значението на гените от МНС (в човека наричани HLA - human



leucocyte antigen - открити най-напред в левкоцити). Макар че мутациите в MHC клас II са един от най-силните и важни генетични фактори за развитие на диабет, те са само необходимо, но не и достатъчно условие за предразположение към диабет.

Общоприето е схващането, че диабет от I тип е полигенно аутоимунно заболяване с различни диабетогенни гени - в рамките на и извън MHC район, участващи в патогенетичния процес. Известни са и други такива участъци, много от които предстои да бъдат по-детайлно идентифицирани.

Наличието на мутации в MHC само по себе си не е достатъчно сигурен предсказващ фактор и не се използва самостоятелно за предсказване риска за развитие на диабет. Но в комбинация с имунологични или метаболитни маркери, генетичният маркер дава ценна информация за възможността външно здрав индивид да развие диабет.

## **б) Имунологични маркери**

Понастоящем определянето на антитела срещу антигени на островните клетки е най-добрата предсказваща възможност за бъдещо развитие на диабет [8-11].

### **1) ICA (islet-cell autoantibody) - антитела срещу цитоплазмни компоненти на островните клетки**

Въпреки че са първите известни антитела, свързани с развитие на аутоимунност при диабета, те все още са едни от най-добрите маркери за предсказване. Откриват се години преди клиничните прояви на диабет. Дълги години бяха считани за едно антитяло, но днес се знае, че са хетерогенен клас от аутоантитела, съдържащи имуноглобулини срещу компоненти на  $\beta$ -клетките, но и имуноглобулини, реагиращи с антигени и от други островни клетки. Винаги, когато е възможно, трябва да се вземат под внимание при предсказващи изследвания.

### **2) IAA (insulin autoantibodies) - аутоантитела срещу инсулин**

Те са открити през 1983 год, 9 години след откриването на ICA. Подобно на ICA, и IAA се откриват години преди клиничните прояви на диабет. За разлика от ICA, при IAA съществува обратно пропорционална зависимост между концентрацията им и възрастта на проявление на диабета. При деца под 10 години концентрацията им е висока, а във възрастни почти няма IAA. Затова използването на IAA е особено полезно при деца.

### **3) Аутоантитела срещу GAD (glutamic acid decarboxylase)**

През 1982 се описва антитяло срещу неизвестен аутоантиген от  $\beta$ -клетките - белтък с молекулна маса 64 kDa. През 1990 г. той се идентифицира като GAD (глутамат декарбоксилаза). GAD съществува в две изоформи, различаващи се по молекулно тегло (65 и 67 kDa). 67 kDa се образува в нервна тъкан - катализира превръщането на глутамат в  $\gamma$ -аминомаслена киселина. Доказани са аутоантитела срещу 67 kDa GAD в пациенти с полиендокринни аутоимунни заболявания със или без ИЗД.

Аутоантителата срещу 65 kDa GAD се използват с успех за предсказване развитие на диабет. За разлика от IAA, които са лимитирани само при деца, аутоантителата срещу 65 kDa GAD се използват при всички възрасти.

**4) Аутоантитела срещу GM2-1 ганглиозид** (гликолипид, съдържащ сиалова киселина) - едно от ICA аутоантитела. Също представлява потенциално важен маркер за предсказване развитие на диабет сред роднини на болни от ИЗД.

### **5) Аутоантитела срещу тирозин фосфатаза**

Преди и при отключване на диабета се появяват аутоантитела срещу белтък с молекулно тегло 40 kDa, който се оказа, че е част от островната тирозин фосфатаза с

м. тегло 105 KDA. Автоантителата срещу островната тирозин фосфатаза са с висока предсказваща сила за бързо развитие на тип I диабет в пациенти с ICA +/GAD-

Ако в роднина на диабетик се открият две кои да е автоантитела от IAA, анти-GAD 65 или анти-тирозин фосфатаза, рискът за развитие на диабет I тип е много висок. Ако се открие само едно или нито едно от тези автоантитела, рискът е нисък.

Тези тестове биха били оптимални и за масова проверка на цялото население. Антителата се появяват сравнително рано, преди клиничните признаци на диабета. Но те са доста скъпи и засега не се прилагат за масов скрининг.

Колкото по-рано се открие диабетът, по-голям шансът е да се съхранят оставащите неразрушени □

□-клетки чрез подходящо лечение (имуносупресори, които да намалят броя на Т-лимфоцитите или да потиснат тяхната активация). Но имunosупресори не могат да се прилагат дълго, защото общо се потиска имунната система и се увеличава риска от рак и инфекции.

В бъдеще вероятно би могло да се създадат агенти с избирателно действие, елиминиращи само определени Т-лимфоцити - с рецептори за автоантигена, но не повлияващи другите клетки. Елиминирането на малък брой Т-лимфоцити не би се отразило на общата имунокомпетентност.

Надежди се възлагат на възможността за създаване на толеранс към ранните диабетогенни антигени, за да се предотврати диабета. Напр. приемане на инсулин, GAD и други автоантигени през устата забавя или предотвратява развитието на диабет в мишки.

Прилагането на имунна терапия би било много перспективно и би заменило инсулиновата терапия.

### **в) метаболитни маркери**

Най-широко използваният метаболитен маркер е IVGTT (intravenous glucose tolerance test) (ИВТГТ - интравенозен тест за глюкозен толеранс), който измерва секрецията на инсулин при остро интравенозно натоварване с глюкоза. Намален инсулинов отговор в антияло-положителен индивид показва много висок риск за развитие на диабета. - така че това е един чувствителен и специфичен маркер. Но очевидно не може да се използва за скриниране на големи групи хора. Освен това метаболитният маркер идентифицира пациенти в късната фаза на предклиничния период, в отрязък от време, когато е твърде късно за успешни предпазни мерки.

### **18.3.6. Рискови фактори на средата**

Освен генетичните предпоставки, съществуват и пускови условия при клиничното развитие на болестта. Към тях се причисляват вирусите. Вирусната инфекция може да причини смърт на □-клетките чрез пряко лизиране или чрез предизвикване на автоимунен процес, или чрез нарушение в баланса на клетките от имунната система. У деца, чиито майки са прекарали рубеола по време на бременността, съществува увеличен риск за развитие на диабет. При повечето деца, носещи рисковите антигени от MHC - DR и DQ, началото на болестта е свързано с вирусна инфекция. Възможно е такава роля да играят Coxsackie вирусите.

Сравнението на секвенция от GAD 65 и Coxsackie вирусен белтък В P2-C показва зона от консервативна хомология, покриваща 16 АК, от които 7 са идентични. Хомоложни секвенции има в GAD 65 и проинсулин, белтъка на топлинния шок 65 (HSP-65), карбоксипептидаза H (CPH). Предполага се, че автоимунността се развива като следствие от молекулна мимикрия, при която Т-клетките разпознават близки секвенции в белтъци с различен произход. Така имунитет към GAD може да доведе до разпознаване от Т-клетките на HSP-65, CPH, инсулин, последвано от комплексен анти-островен отговор и диабет от първи тип [11].

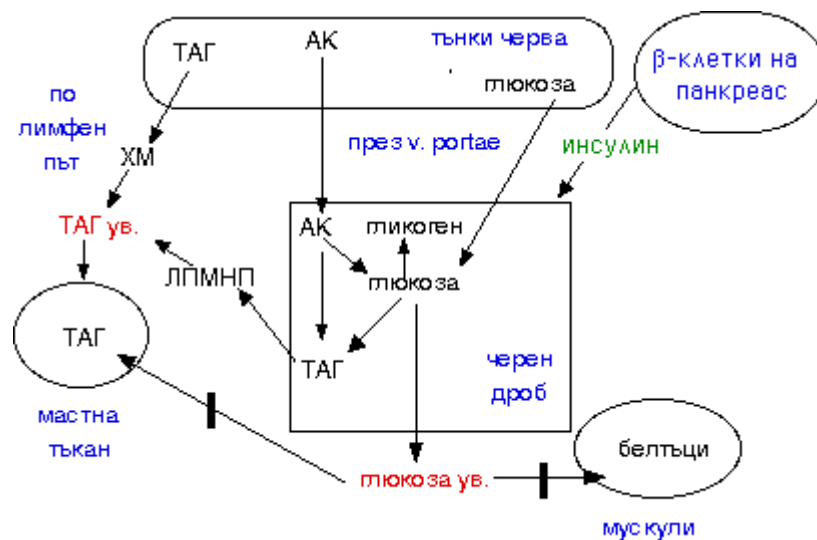
Други фактори могат да бъдат токсични увреждания, отравяния, емоционален стрес.

#### 18.4. Инсулино-независим диабет или II тип

##### 18.4.1. Особенности в обмяна на въглехидрати, липиди

В т. 18.2 бяха посочени причините за това комплексно полигенно заболяване с хетерогенни клинични проявления и многобройни биохимични разстройства, а именно: липса или намален брой на инсулиновите рецептори, дефектни рецептори, антитела срещу инсулиновия рецептор (рядко) и пострецепторни дефекти [13-17]. Инсулиновият недостиг е частичен.

На фиг. 18-3 са представени особеностите в обмяната при диабет II тип. Хипергликемията се дължи на слабото поемане на глюкоза от периферните тъкани, особено мускулите. Кетоацидоза обикновено не се развива, тъй като тук няма неконтролируема липолиза в мастната тъкан. Има хипертриглицеридемия, но тя се дължи на увеличение на ЛПМНП (VLDL), без хиперхиломикронемия. Това се обяснява предимно с по-високата скорост на чернодробната *de novo* синтеза на ВМК и ЛПМНП (VLDL), отколкото с увеличено отдаване на ВМК от мастната тъкан.



Фиг. 18-3. Особенности на метаболизма при инсулино-независим диабет (II тип).

Отделя се инсулин, но поради резистентността към него, периферните тъкани не могат да отговорят на инсулиновия сигнал. Инсулинова резистентност може да има на всяко ниво от биологичното действие на инсулина - от началното свързване към клетъчните рецептори до фосфорилиращата каскада, започваща с автофосфорилиране на инсулиновия рецептор. Броят на инсулиновите рецептори в някои пациенти е намален. Гените за инсулиновия рецептор са в хромозома № 19. Други имат нормално свързване на инсулина, но аномални пострецепторни отговори, напр. не се активират глюкозните преносители.

Затлъстяването е една от причините за инсулинова резистентност. Факт е, че болшинството от инсулино-независимите диабетици са пълни. Техните инсулинови нива са високи, но не толкова, колкото в пълни хора, недиабетици. Това показва, че наред с резистентността може да има и недостатъчност на β-клетките и често се налага прилагане на външен инсулин за да се намали хипергликемията.

Затлъстяването често предхожда развитието на диабет от II тип и се явява главен допринасящ фактор. Скоросни данни показват, че увеличената експресия в адипоцити на фактора на туморната некроза (TNF-  $\alpha$ ) и един нов белтък резистин са причина за резистентността към инсулин, тъй като увреждат функцията на инсулиновите рецептори.

В табл. 18-2 диабет от II тип е сравнен с диабет I тип по някои показатели.

**Табл. 18-2.** Разлики в метаболизма при диабет от I и II тип.

Метаболитен ефект	Диабет I тип	Диабет II тип
Отделяне на инсулин от панкреаса	-	+
Хипергликемия	+	+
Увеличено ниво на ВМК в кръвта	+	+
Кетоацидоза	+	-
Хиперхолестеролемия и хипертриглицеридемия (натрупват се ЛПМНП)	+	+
Хиперхиломикронемия	+	-

#### 18.4.2. Усложнения (хипергликемична хиперосмоларна кома)

За разлика от по-млади пациенти с диабет I тип, развиващи диабетна кетоацидоза, при по-възрастни пациенти с диабет тип II често се развива хипергликемична хиперосмоларна кома [11-13]. По различни причини (инфекциозни заболявания, сърдечен инфаркт, забравяне) тези пациенти не са в състояние да поемат инсулин или лекарства, снижаващи кръвната глюкоза. Това влошава хипергликемията и води до загуба на вода, глюкоза и електролити с урината. Намалява се циркулиращият кръвен обем, което от своя страна влошава инсулиновата резистентност и хипергликемията. Освен това по-възрастните пациенти имат по-слабо усещане за жажда и не поемат течности. За няколко дни могат да станат свръххипергликемични (глюкоза > 1000 мг%), дехидратирани и накрая изпадат в кома. Кетоацидоза не се развива, вероятно защото свободните мастни киселини не са толкова увеличени и защото все пак има инсулин в кръвта, който инхибира липолизата и кетогенезата, но не и глюконеогенезата. Смъртността от този синдром е значително по-висока, отколкото при диабетна кетоацидоза. Терапията цели възстановяване на водния и електролитен баланс и корекция на хипергликемията с инсулин.

#### 18.4.3. Редки случаи при диабет тип II

Приведените по-долу примери, макар и редки, са от значение за разбиране причините и механизма на диабет тип II.

#### **Лепрехаунизъм при новородено [16]**

Английската дума leprachain означава елф (миниатюрно митично създание). При новородено бебе, само няколко часа след раждането, се наблюдава дихателна недостатъчност. Бебето е доносно, но е много малко, като миниатюрно елфче, тежи само 1,7 kg. Родителите са здрави без кръвно родство помежду си. В семейството няма диабетици. Бебето подмокря пеленките си свръхнормата. Концентрацията на глюкоза е 40 mM (норма 3.5 - 6 mM); високи са и стойностите на кетоновите тела, pH е 7.0 (норма 7.40 - 7.45). Бебето се рехидратира и му се инжектира голямо количество инсулин, но

състоянието му се влошава прогресивно с повишаваща се глюкоза. Умира след 6 часа, като рН достига до 6.5. Малко преди да умре е направен тест за инсулин. Резултатът, получен след смъртта му е 6 nM (норма на гладно < 0.1 nM). Посмъртните изследвания на кожни фибробласти от детето показват, че рецепторите са дефектни.

При други пациенти липсват инсулинови рецептори.

### **Инсулинова резистентност с Acanthosis nigricans [17]**

Описан е случай на млада 23 годишна жена, която се оплаква от силна жажда и изобилно уриниране. Има добър апетит, но въпреки това е отслабнала с 11 кг. По ставите на пръсти, лакти, слабини и на врата отзад има копринено-кадифени петна, наречени acanthosis nigricans. Кръвната глюкоза е 34 mM (норма 3.5 -6 mM), инсулинът на гладно е 67 mU/ml -(норма < 0.1). За да се разбере дали е активен инсулинът или срещу него има резистентност, пациентката се третира със 7 единици инсулин интравенозно. Ефект няма, а в здрав човек това би снизило кръвната глюкоза наполовина. Следователно при пациентката има резистентност спрямо инсулина. Други хормони, които биха предизвикали инсулинова резистентност, са нормални. Няма антитела срещу инсулин.

За да се разбере има ли клетъчни дефекти в инсулиновото действие, чрез биопсия са извадени мастни клетки и са третирани с инсулин. Те не са чувствителни към инсулин, въпреки че инсулиновите рецептори са нормални. Т. е. тук е налице пострецепторен дефект.

18.5. Усложнения, възможни и при двата типа диабет

18.5.1. Хипогликемия

#### **Хипогликемична криза**

Диабетик на 70 години в добро общо състояние веднъж дневно си инжектира инсулин. По невнимание при смяна на спринцовките си поставя двойно количество. Наскоро след инжекцията му става зле - дъщеря му наблюдава изпотяване, треперене, произволни движения с ръцете и краката, загуба на членоразделната реч. Веднага го откарва в близката болница. Експресно определената глюкоза е 2 mM (норма 3 - 6 mM). Инжектират му венозно две ампули глюкоза. Възвръща способността си да говори и се оправя. Всичко завършва благополучно. Но при забавяне би могъл да умре. Поемане на нещо сладко през устата е полезно за предотвратяване на хипогликемична криза.

#### **Хипогликемична кома [18-20]**

27-годишна медицинска сестра е приета в болницата с хипогликемия и в безсъзнание. Придружена е от майка си, която е свидетел на няколко такива хипогликемични епизоди. Те са ставали веднъж седмично за изминалата година, но напоследък са особено тежки. Първоначално е имало само леки смущения, отпусналост, които преминават след нахранване. При последния се стига до кома. Кръвната глюкоза е 1 mM (норма 3.5 - 6 mM). Поставя й се глюкоза интравенозно. След като идва на себе си, тя казва, че преди подобни кризи тя се чувства много гладна, разтреперва се, поти се и усеща сърцебиене. Ако яде, може да предотврати кризата. Тя няма диабет, отрича употреба на инсулин, не пие. Всички други лабораторни изследвания са нормални, с изключение за инсулин и С пептид. (С пептид, упоменат в т. 2.3.5 и в т. 2.2.2 - фиг. 2-7, е част от проинсулин; той свързва инсулиновите вериги А и В и се отделя в еквимоларно количество с инсулин при превръщането на проинсулин в инсулин.) В случая при два от хипогликемичните епизоди инсулинът надвишава нормата почти три пъти, а същевременно пептид С не се установява. Компютърните томограми на гръдния кош, корема и таза са нормални.

Хипогликемия се получава при дисбаланс в глюкозната продукция и използване. Увеличено глюкозно използване може да има при:

а) увеличено действие на инсулин при тумор на панкреаса, инсулинови инжекции, сулфонилуреа или липса на антагонисти хормони;

б) увеличено производство на инсулин-подобен растежен фактор II (ИПРФ II) от тумор;

в) много голям тумор или рак, който използва глюкоза като енергетичен източник.

Намалена глюкозна продукция може да има при:

а) увреждане на черен дроб и бъбрек (главни органи за глюконеогенеза);

б) алкохолни запои (етанолът редуцира повечето от клетъчните НАД и НАДФ и пречи на глюконеогенезата);

в) гликогенози в черен дроб или мускули - не се разгражда гликоген до глюкоза.

Физическото състояние и изследванията на пациентката са нормални - отхвърля се наличието на голям тумор, произвеждащ ИПРФ II, или използващ глюкоза. Нормалните бъбреци и черен дроб показват, че няма проблеми с глюконеогенезата и че няма злоупотреба с алкохол. Следователно или има малък неопределяем тумор, произвеждащ в повече инсулин, или тя използва сулфонилуреа, или си инжектира инсулин.

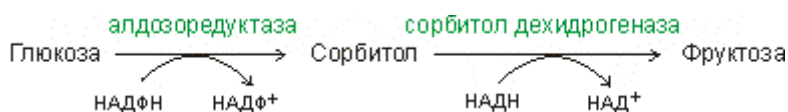
В случая помагат данните за С-пептида, който се секретира в еквимоларно количество с инсулина. Ако имаше тумор, произвеждащ повече инсулин, трябваше да има и С-пептид. А такъв не се определя - следователно логичното заключение на лекуващия екип, е било, че тя си инжектира инсулин. След интензивна психотерапия, тя си признава, че това е така.

18.5.2. Значение на полиоловия път и гликозилирането на белтъци за микро- и макроваскуларни увреждания

Дори при спазване на всички предписания, дори при редовно инжектиране на инсулин или вземане на специални таблетки, стимулиращи панкреаса, като цяло животът на диабетици се съкращава с 10-20 години. Обикновено 10-15 години след отключването на диабета при пациентите се развиват усложнения. Нарушава се биосинтезата на базалната мембрана на кръвоносните капиляри. Усложненията включват микроваскуларни увреждания (ретинопатия и нефропатия) и невропатии, а също и макроваскуларни увреждания - засягат се сърдечни, мозъчни и периферни съдове. Засягат се и периферните нерви. В късните стадии на нелекуван диабет се развива слепота и бъбречна недостатъчност. Последната, наред с миокарден инфаркт са водещи причини за смъртта при диабетици, особено с ИЗД.

### Полиолов път

Лещите, периферните нерви, бъбречните папили, гломерулите и ретиналните капиляри съдържат два ензима, участващи в полиоловия път (фиг. 18-4). Първият е алдозоредуктаза, НАДФН-изискващ ензим, който редуцира глюкоза до сорбитол. Сорбитолът по-нататък се окислява до фруктоза от НАД<sup>+</sup>-зависима сорбитол дехидрогеназа.



Фиг. 18-4. Полиолов път.

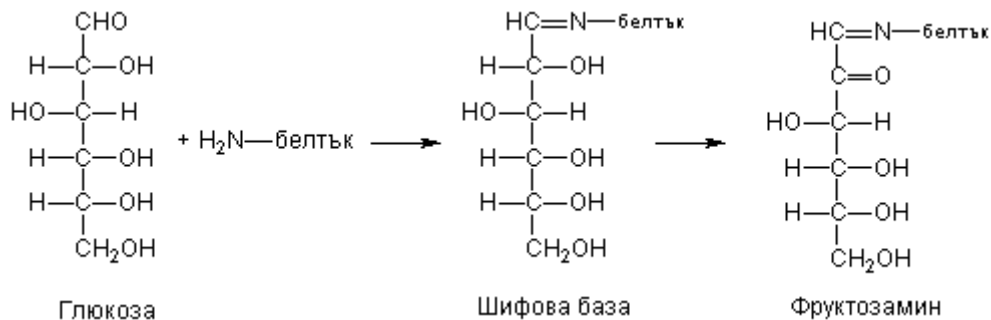
Известно е, че в диабетни животни съдържанието на сорбитол в лещите, нерви и бъбречни гломерули, е увеличено. Това уврежда тъканите - причинява набъбването им (сорбитолът не дифундира лесно през клетъчните мембрани, натрупва се и причинява осмотично увреждане).

Друго метаболитно увреждане в нервите е намалението на мио-инозитол, който е компонент на мембранните фосфолипиди фосфатидилинозитол и на вторичния посредник инозитол-трифосфат.

Инхибитори на алдозоредуктазата предотвратяват натрупването на сорбитол, намалението на мио-инозитол и развитието на диабетични катаракти.

### Гликозилиране на белтъци

Високите концентрации на глюкоза в пациенти със захарен диабет благоприятстват спонтанното гликозилиране на белтъци - получават се гликозилирани белтъци чрез свързване на лизилови и крайните NH<sub>2</sub>-групи с алдехидната група на глюкоза. Първо се получава Шифова база между амино-групата и глюкоза, която после се превръща в по-стабилен кетоамин - фруктозамин (фиг. 18-5).



**Фиг. 18-5.** Гликозилиране на белтъци и превръщане на глюкозните остатъци във фруктозамин.

Предполага се, че увеличеното гликозилиране на белтъци при хипергликемия допринася за усложнения, съпътстващи диабета: инфаркт, ретинопатия, нефропатия, невропатия. Освен хемоглобин, белтъци като колаген, фибрин, антитромбин III (инхибитор на кръвосъсирването) могат да бъдат гликозилирани и да претърпят промени във физичните и ензимни свойства. Възможно е тези промени да ускоряват разрушаването на кръвоносните съдове в диабетичи. Също възможно е гликозилирането на белтъка на лещите алфа-кристалин да допринася за развитието на диабетни катаракти.

### 18.6. Тестове за проследяване развитието на диабета

Чрез тях се постига:

- 1) ефикасен контрол на кръвната глюкоза, така че да не се проявяват симптомите и пациентът да води нормален живот.
- 2) предотвратяване на усложненията - чрез добър контрол на глюкозата наред с отстраняване на други рискови фактори като пушене, хипертензия, затлъстяване и др.

Ако усложненията са вече налице, ранното им третиране е от значение - напр. 70% от слепотата от ретинопатия може да се избегне с лазерова терапия в началния стадий. Невропатични язви по краката, развиващи се незабелязано от малки рани и инфекции,

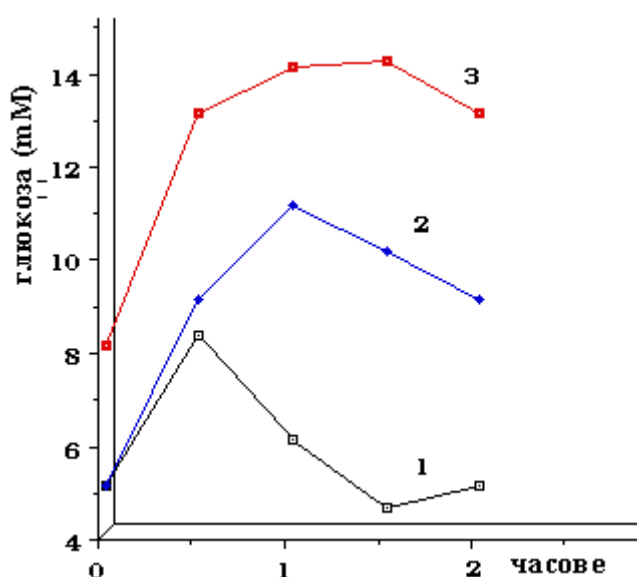
вкл. гъбички в нечувствителните крака, могат да се третират с антибиотици и да се предотврати ампутация. Бъбречните увреждания могат да се предотвратят или забавят чрез подходяща диета.

Рутинните тестове включват определяне на глюкоза, кетонони тела, уреа, артериална концентрация на  $H^+$ , рН и креатинин, които се изучават в упражненията по биохимия и клинична химия.

### Специални тестове

#### 1. Тест за толерантност към глюкоза. Кръвно-захарни криви.

Този тест се прилага при пациенти, които нямат хипергликемия сутрин на гладно (лек диабет). Състои се в измерване на кръвната глюкоза на гладно и в интервали 30-60 min след поемане на 50 - 100 g глюкоза в продължение на 2 и повече часа - фиг. 18-6.



Фиг. 18-6. Кръвно-захарни криви в здрав човек (1), при лек диабет (2) и тежък диабет (3).

В нормален индивид кръвната глюкоза се връща към нормални стойности до втория час. При здрав човек максимумът не надвишава 9-10 ммол/л, в 90-тата минута има хипогликемична фаза (отделя се малко повече инсулин). Такава липсва при диабетици. Максимумът при диабетици е много по-висок и нормализиране до втория час не се наблюдава. Чрез този тест се установяват леки случаи на диабет, които сутрин на гладно не показват увеличение на кръвната глюкоза. Този тест е евтин, достъпен и лесен (кръв се взема от пръстта).

Трябва обаче да се има предвид, че много фактори (инфекции, чернодробни увреждания, стрес, някои лекарства, наличие на атеросклероза и др. могат да допринесат за аномален тест за глюкозна поносимост.

#### Гликозилиран хемоглобин (Hb)

Високите концентрации на глюкоза в пациенти със захарен диабет благоприятстват спонтанното гликозилиране на HbA в еритроцитите - получава се гликозилиран Hb чрез свързване на лизинови и крайните  $NH_2$ -групи на валин от  $\alpha$ -веригите с алдехидната група на глюкоза. Първо се получава Шифова база между валин и глюкоза, която после



се превръща в по-стабилен кетоамин - фруктозамин. При фракциониране този гликозилиран Hb се означава като HbA<sub>1c</sub>.

Реакцията се благоприятства от високи глюкозни нива. Определеният HbA<sub>1c</sub> е добър индекс за това колко висока е била средната кръвна концентрация на глюкозата през последните 2-3 месеца.

При продължителна хипергликемия концентрацията на HbA<sub>1c</sub> достига или надвишава 18 % от общия HbA. Промените в концентрацията на HbA<sub>1c</sub> се използват за проследяване ефективността на лечението. Националният институт по здравето в САЩ предлага следния стандарт: 1 % промяна в гликозилирания хемоглобин отговаря на промяна в средната плазмена концентрация на глюкоза с 1.7 mM. Въпреки, че е скъп тест (използва се йонообменна хроматография или електрофореза за разделяне на гликозилирания Hb от нормалния, този тест понастоящем е най-сигурният тест за гликемичен контрол за предходните три месеца. Стойностите на гликозиран Hb в % са: в здрав човек 5.2 , при добре контролиран диабет - 8.8; при диабет - 12.3; при зле контролиран диабет - 18.1.

### **Фруктозамин**

Определянето на фруктозамин чрез спектрофотометрична реакция е много по-евтино и дава подобна информация, но само за последните 1 -2 седмици. Това пък може да е предимство при необходимост от по-краткосрочен контрол (например при бременност).

Фруктозаминът в алкална среда редуцира и разтваря пръстенната структура на багрилото нитроблу тетразолиум хлорид, променяйки абсорбционния спектър пропорционално на концентрацията на гликозилирания белтък в пробата.

#### 18.7. Материали за самостоятелна работа

##### 1. Изберете **симулацията на клиничен случай "Росица"**

2. Опитайте се да разработите подобен сценарий за клиничния случай с хипогликемична кома, описан в т. 18.5.1. Изпратете сценария на адрес: [kossekov@medfac.acad.bg](mailto:kossekov@medfac.acad.bg).

#### 18.8. Литература

1. Foster, D. W. (1998) Diabetes mellitus. In: Harrison's Principles of Internal Medicine, 14th ed. fauci A. S. et al. (editors), McGraw-Hill.
2. Taylor, S. I. (1995) Diabetes mellitus. In: Scriver, C.R., Beaudet, A. L., Sly, W. S., Valle D., eds, "The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease", 7th edn., McGraw-Hill, Inc., New York, 843-896.
3. Murray, R., Granner, D., Mayes, P., Rodwell, V. (2000) Harper's Biochemistry, Prentice-Hall International, Inc., Twenty-Fifth Edition.
4. Foster, D. W. (1998) Diabetes mellitus. In: Harrison's Principles of Internal Medicine, 14th ed. fauci A. S. et al. (editors), McGraw-Hill.
5. Taylor, S. I. (1995) Diabetes mellitus. In: Scriver, C.R., Beaudet, A. L., Sly, W. S., Valle D., eds, "The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease", 7th edn., McGraw-Hill, Inc., New York, 843-896. 1995.
6. Tisch, T. and H. McDevitt (1996) Insulin-Dependent diabetes Mellitus. Cell 85, 291-297.

7. Atkinson M. A, N. K. Maclaren (1990) What causes diabetes? *Sci. Am.* 263, No.1, 62-3, 66-71. Review.
8. Winter, E., C. Takeshi, S. Desmond (1993) The genetics of autoimmune diabetes. Approaching a solution to the problem, *AJDC* 147, 1282-1290.
9. Dotta F., S. Dionis , L. Farilla, U. D. Mario (1996) The use of immunological markers in IDDM after more than 20 years from ICA description. Review. *Diabetes / Metabolism Reviews.*;12 (2):121-126.
10. Scherbaum, W. A. (1994) Cytoplasmic islet cell antibodies (ICA): towards a molecular understanding of the antigens. *Clinical Endocrinology* 40, 15-18.
11. Healey, D. (1995) Comment. Beta-cell antigens and insulin-dependent diabetes mellitus. *Eur. Med. Lit.* 12, 99-102
13. Lorber, D. (1995) Nonketotic hypertonicity in diabetes mellitus. *Med. Clin. North. Am.* 79, 39.
14. Kahn, B. B. and Filer, J. S. (2000) Obesity and insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 106, 473.
- Steppan, C. M., S. T. Baily, S. Bhat, E. J. Brown, R. R. Banerjee, C. M. Wright, H. R. Patel, R. S. Shima, M. A. Lazar (2001) The hormone resistin links obesity to diabetes, *Nature*, 409, 307.
15. Genuth, S. M. (1997) Diabetic ketoacidosis and hyperglycemic hyperosmolar coma. *Curr. Ther. Endocrinol. Metab.* 6, 438.
16. Schilling, E. E., M. M. Rechler, C.Grunfeld, A. M. Rosenberg (1979) Primary defect of insulin receptors in skin fibroblasts cultured from an infant with leprechaunism and insulin resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76 (11), 5877-5881.
17. Truglia, J. A., J. N. Livingston, D. H. Lockwood (1985) Insulin resistance: receptor and post-binding defect in human obesity and non-insulin dependent diabetes mellitus. *Am. J. Med.* 79 (suppl. 2B), 13-22. Review. .
18. Horwitz, D. L. (1989) Factitious and artifactual hypoglycemia, *Endocrinol. Metab. Clin. North. Am.* 18 (1), 203.
19. Service, F. J. (1995) Hypoglycemia. *Med. Clin. North. Am.* 79 (1), 1.
20. Forman, D. T. (1988) The effect on ethanol and its metabolism on carbohydrates, protein and lipid metabolism. *Ann clin. Lab. Sci.* 18 (3), 18.