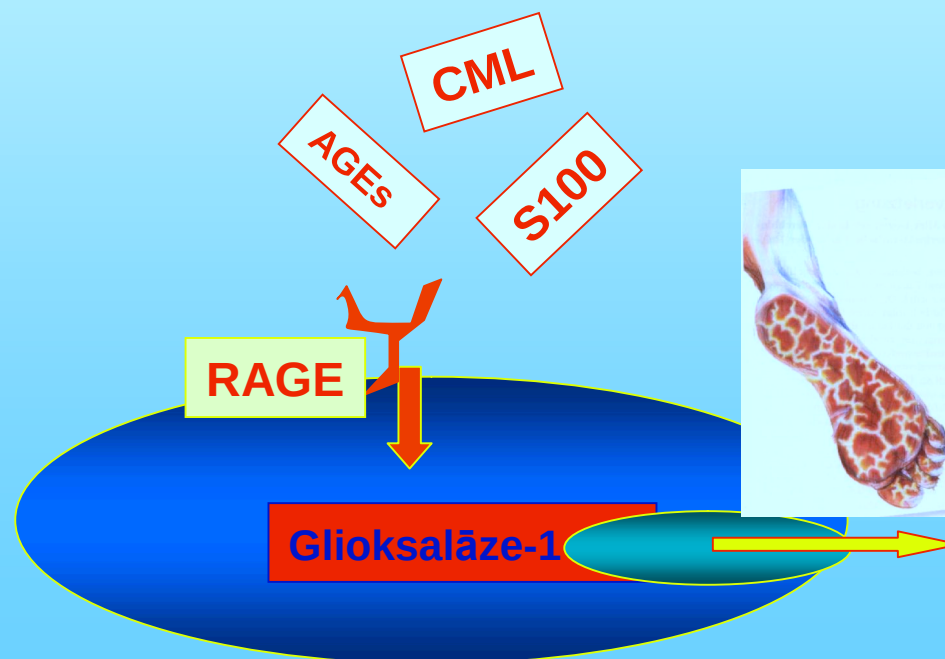




Glioksalāžu enzīmu pētījumi cukura diabēta mikrovaskulāro komplikāciju aspektā

Dr. pharm. Maija Dambrova,
Dr. med. Ilze Konrāde
Dr. Chem. Osvalds Pugovičs
Dr. Chem. Solveiga Grīnberga
doktorante Elīna Škapare

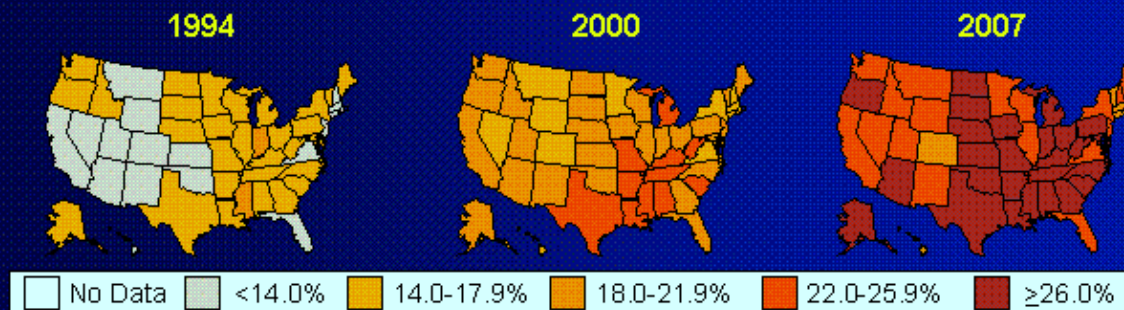




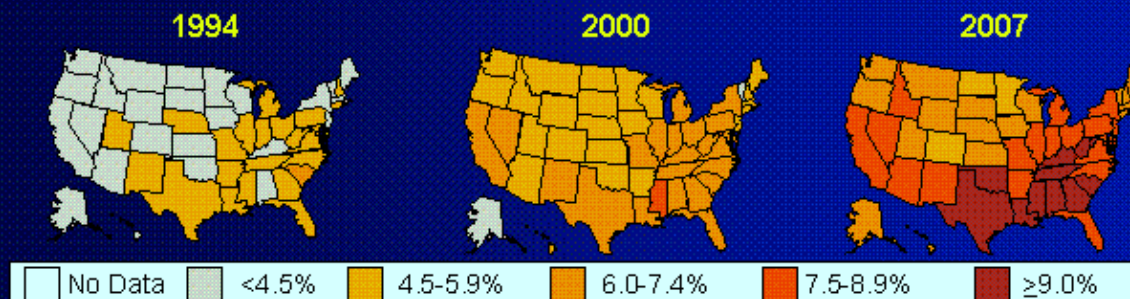
Diabēta – aptaukošanās epidēmija

Age-adjusted Percentage of U.S. Adults Who Were Obese or Who Had Diagnosed Diabetes

Obesity (BMI ≥ 30 kg/m²)



Diabetes



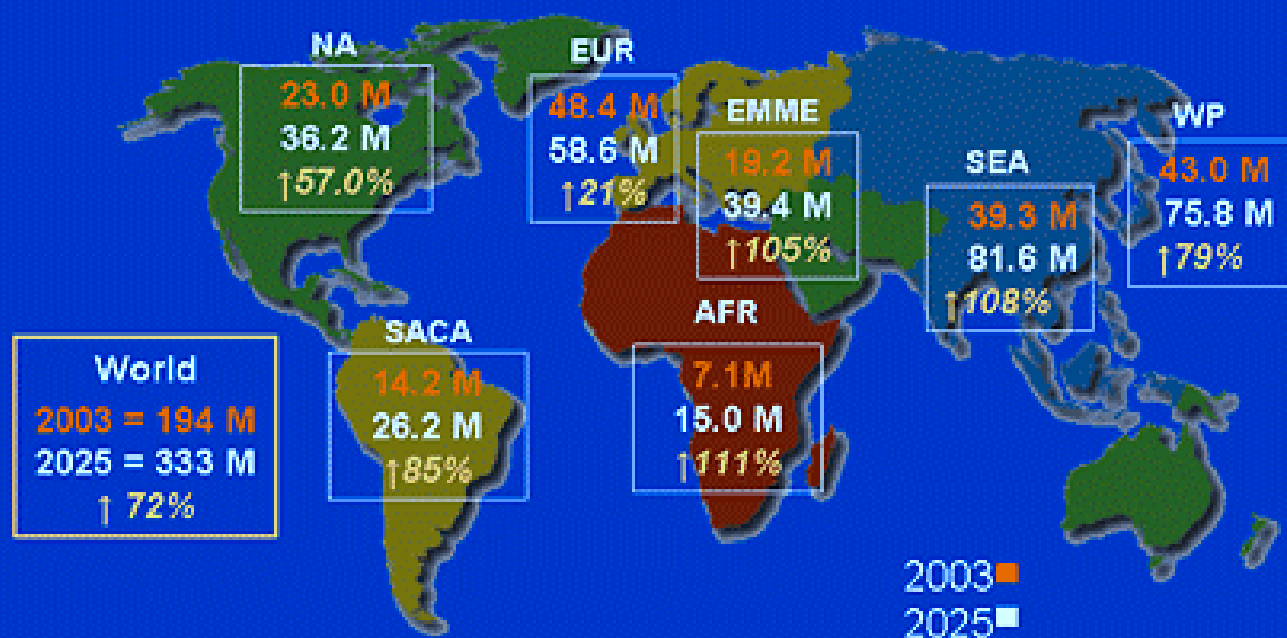
Cukura diabēts ir heterogēna vielmaiņas slimību grupa, kuras raksturīgākā pazīme ir hroniska hiperglikēmija.

Hroniska hiperglikēmija ilgākā laika posmā saistīta ar specifisku audu bojājumu attīstību, kas rada skarto orgānu-nieru, acu, nervu, sirds un asinsvadu disfunkciju vai mazspēju (*ADA Expert Committee, 1997*).



Prognozes “saldai” nākotnei

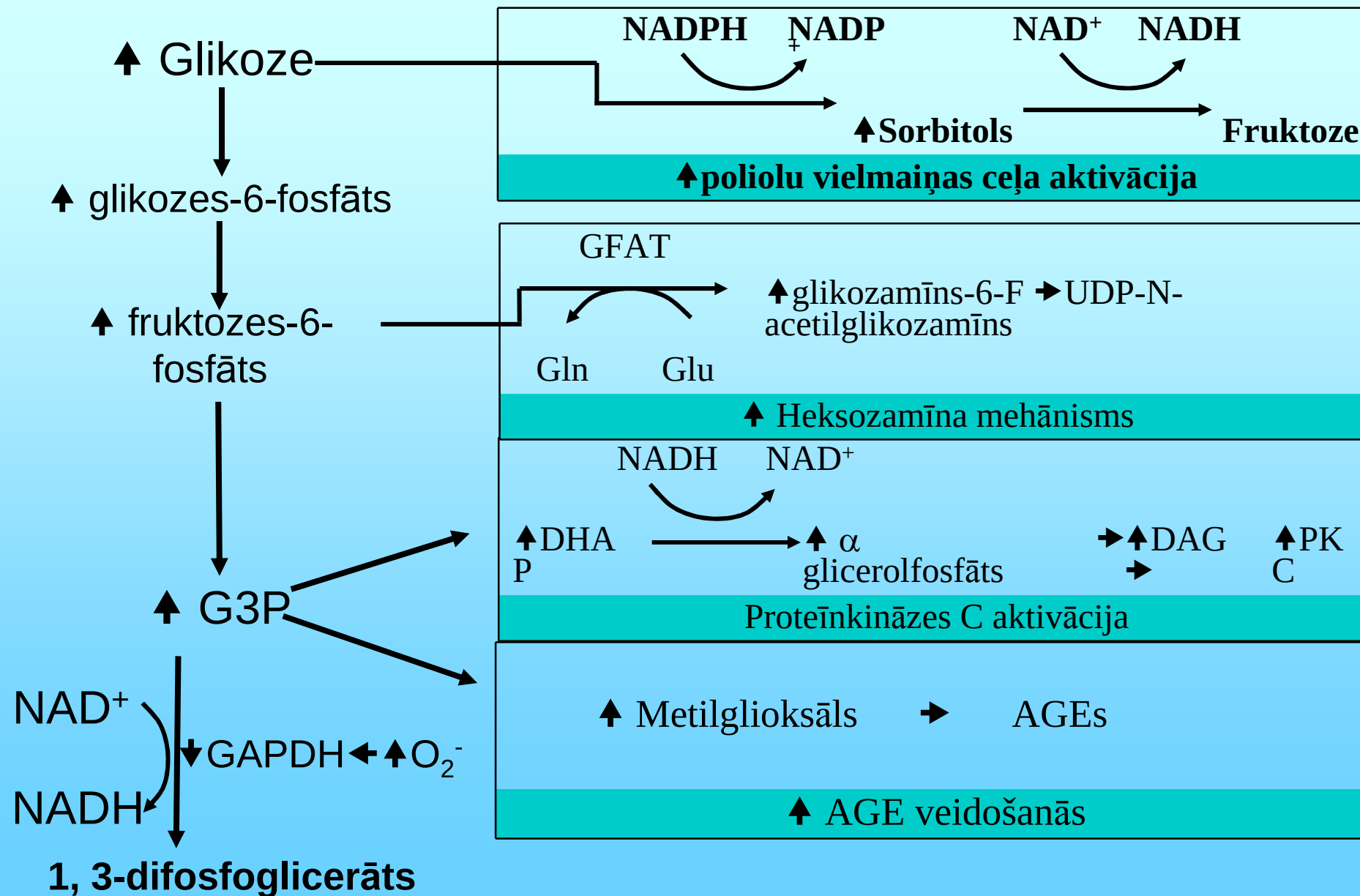
Global Projections for the Diabetes Epidemic: 2003-2025



M = million; AFR = Africa; NA = North America; EUR = Europe;
SACA = South and Central America; EMME = Eastern Mediterranean and Middle East;
SEA = South-East Asia; WP = Western Pacific
Diabetes Atlas Committee. *Diabetes Atlas 2nd Edition*: IDF 2003.



CD vēlino komplikāciju patoģenētiskie mehānismi





Diabēts



Hroniska hiperglikēmija



Dzīlās glikēšanās galaprodukti – AGE (Neatgriezeniski glikēti proteīni)



Diabēta vēlīnās komplikācijas



Nefropātija

Neiropātija

Retinopātija

**Kardiovaskulārās
slimības**

**Diabētiskās
pēdas sindroms**



Metabolās hiperalgēzijas teorija

- Vispārpieņemts, ka hiperglikēmijai ir izšķirošā loma mikroangiopātiju patoģenēzē, **bet**
 - tas kontrastē ar klīnisko pētījumu rezultātiem, kuros ar intensificēto insulīna terapiju iespējams panākt tikai daļēju efektu uz diabētisko neiropātiju 1. tipa CD pacientiem
 - Vēl lielāku vilšanos sagādā pētījumu rezultāti 2. tipa CD pacientiem, kuri skaidri pierāda, ka bez hiperglikēmijas dolorozas polineirpātijas patoģenēzē loma ir arī citiem faktoriem

DCCT, 1993; Siegelaar et al., 2009

Duckworth et al., 2009; Gaede t al., 2003



Metabolās hiperalgēzijas teorija

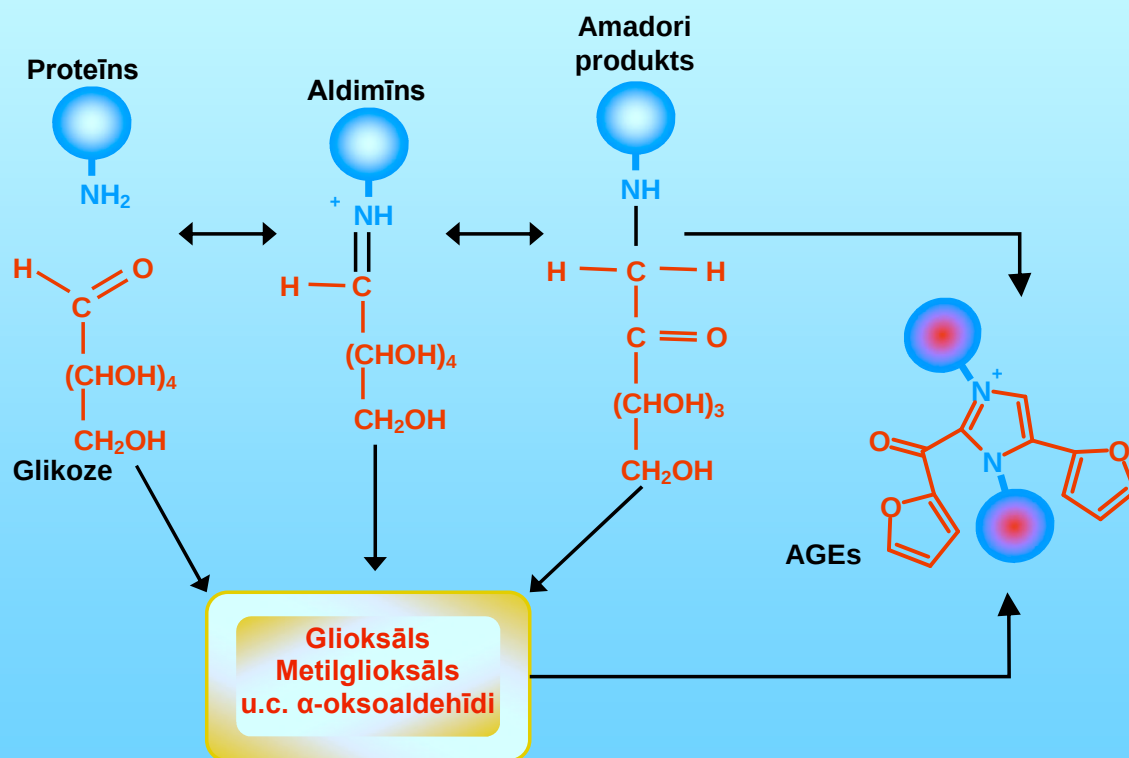
- Cita hipotēze neiropātisko sāpju patoģenēzes izskaidrošanai balstīta uz ekstarcelulārās matricēs un Švāna šūnu proteīnu neenzimātisko glikēšanos;

Šobrīd ne hiperglikēmija viena pati, ne AGE-RAGE ass aktivācija nevar izskaidrot, kādēļ daži, bet ne visi CD pacienti izjūt neiropātisko sāpju simptomus



Neenzimātiskās glikēšanās vispārīgā shēma

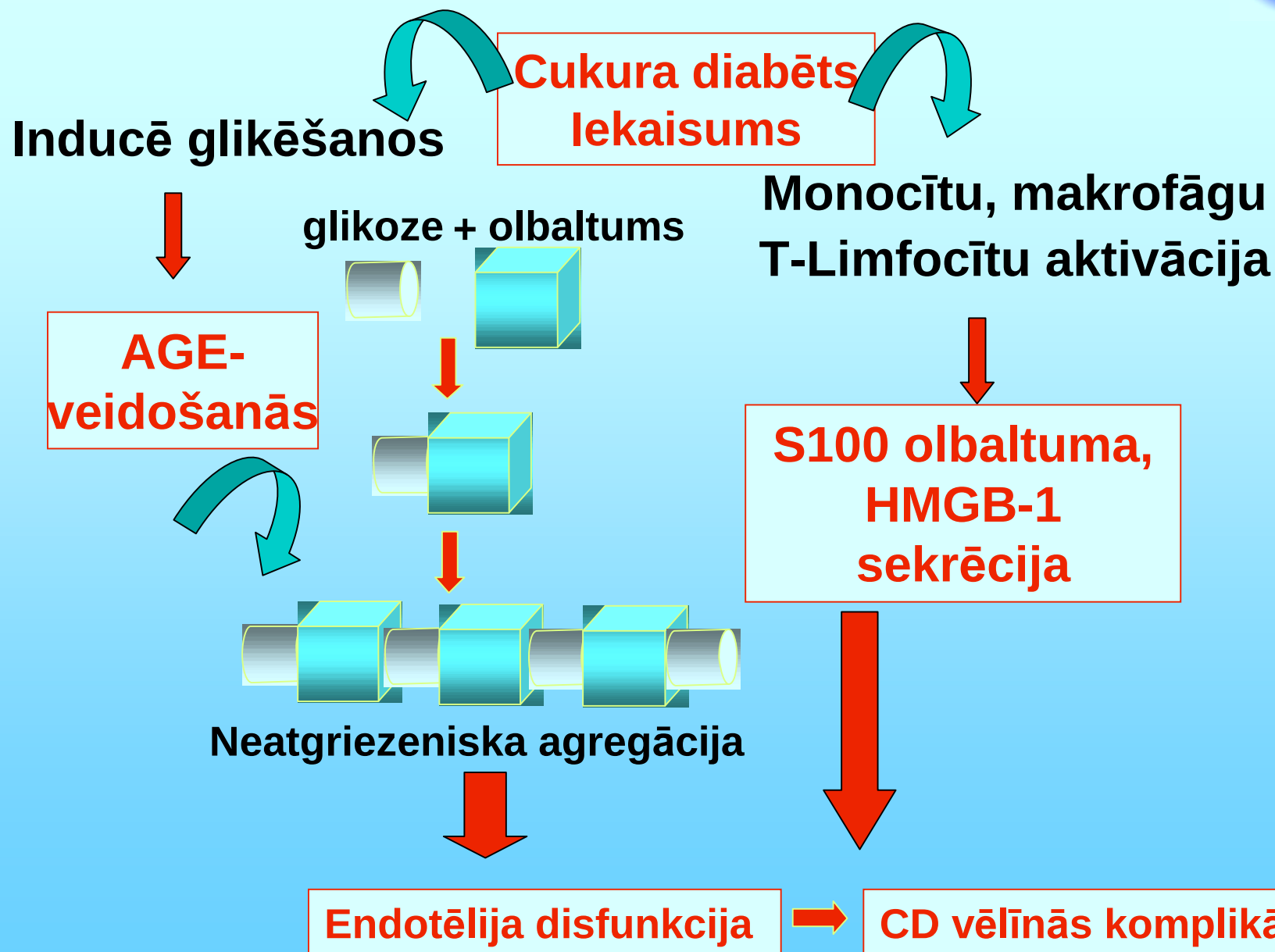
Glikēšanās ir glikozes vai citas cukura molekulas neenzimātiska piesaistīšanās pie olbaltumiem lipīdiem un nukleīnskābēm nejauši kādā no molekulas aminogrupām.



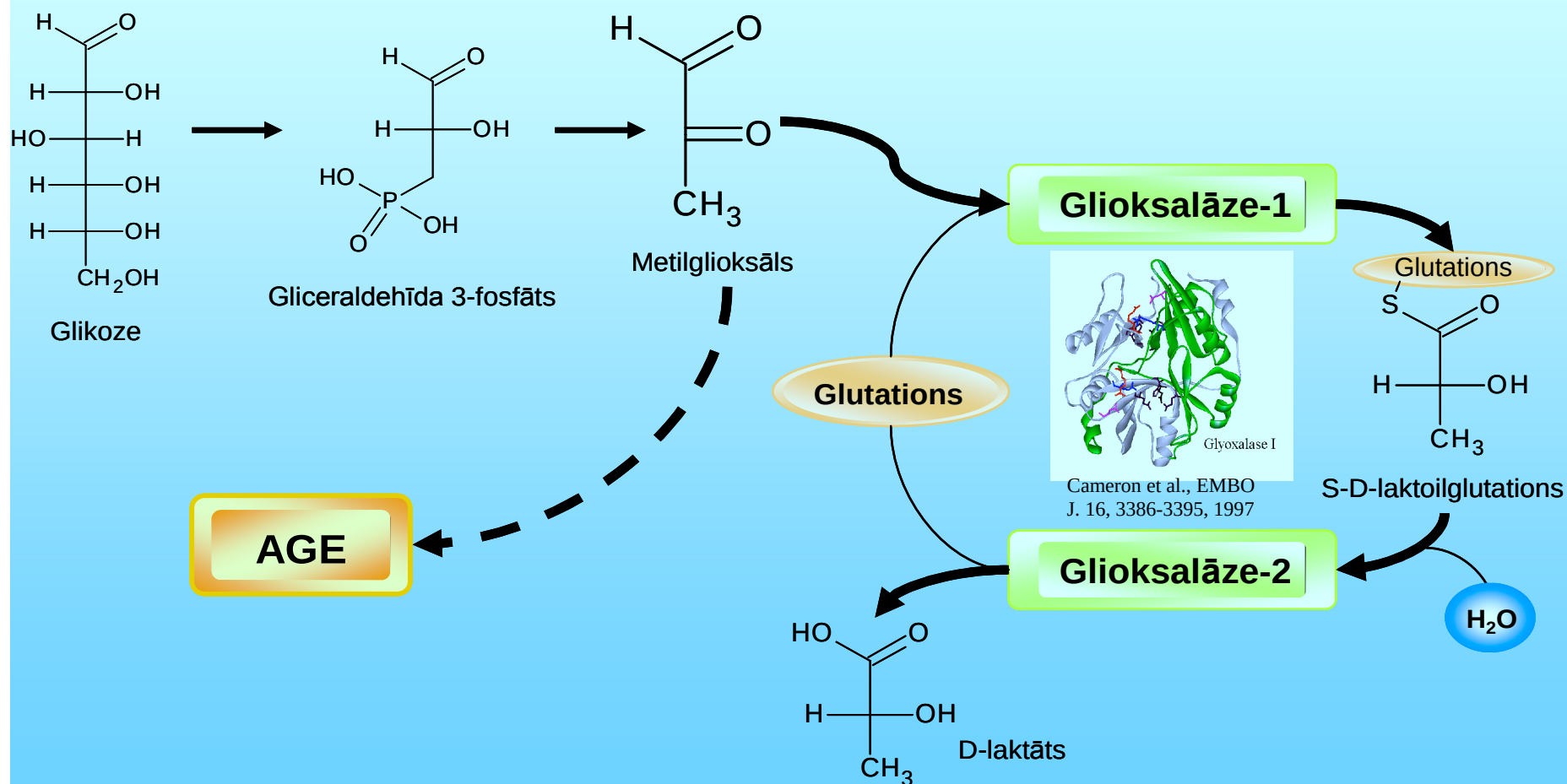
Minēto reakciju rezultātā rodas ļoti reaģēt spējīgi starpprodukti, kas sākotnēji ir reversibli, bet gala rezultātā var veidot neatgriezeniskus savienojumus, sauktus AGEs



Dziļās glikēšanās galaproduktu (AGE) principiāla veidošanās

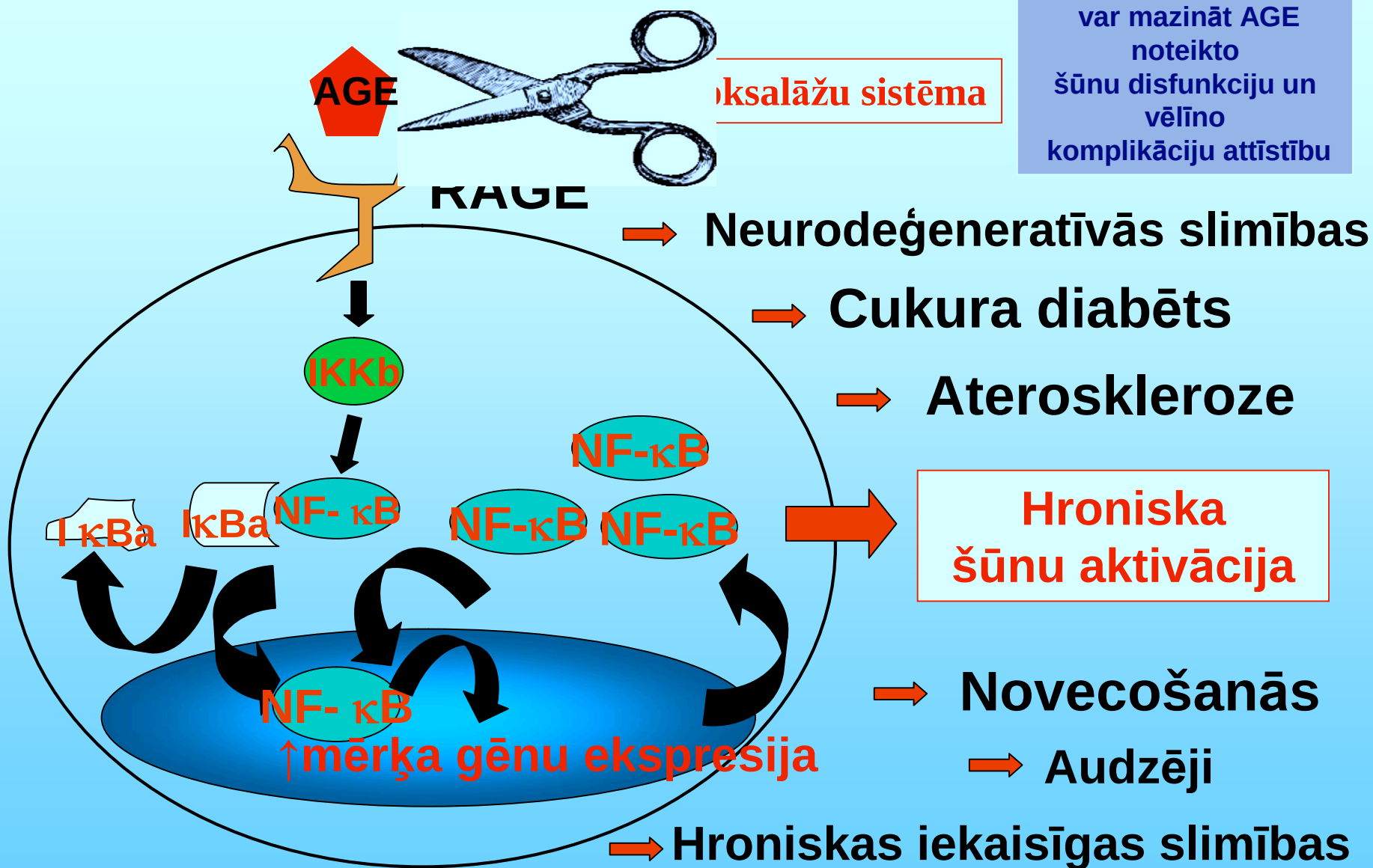


Glioksalāžu sistēmas katalizētā metilglioksāla detoksificēšanas reakcija



Glikēšanās un RAGE aktivācija kā universāls patofizioloģisks mehānisms

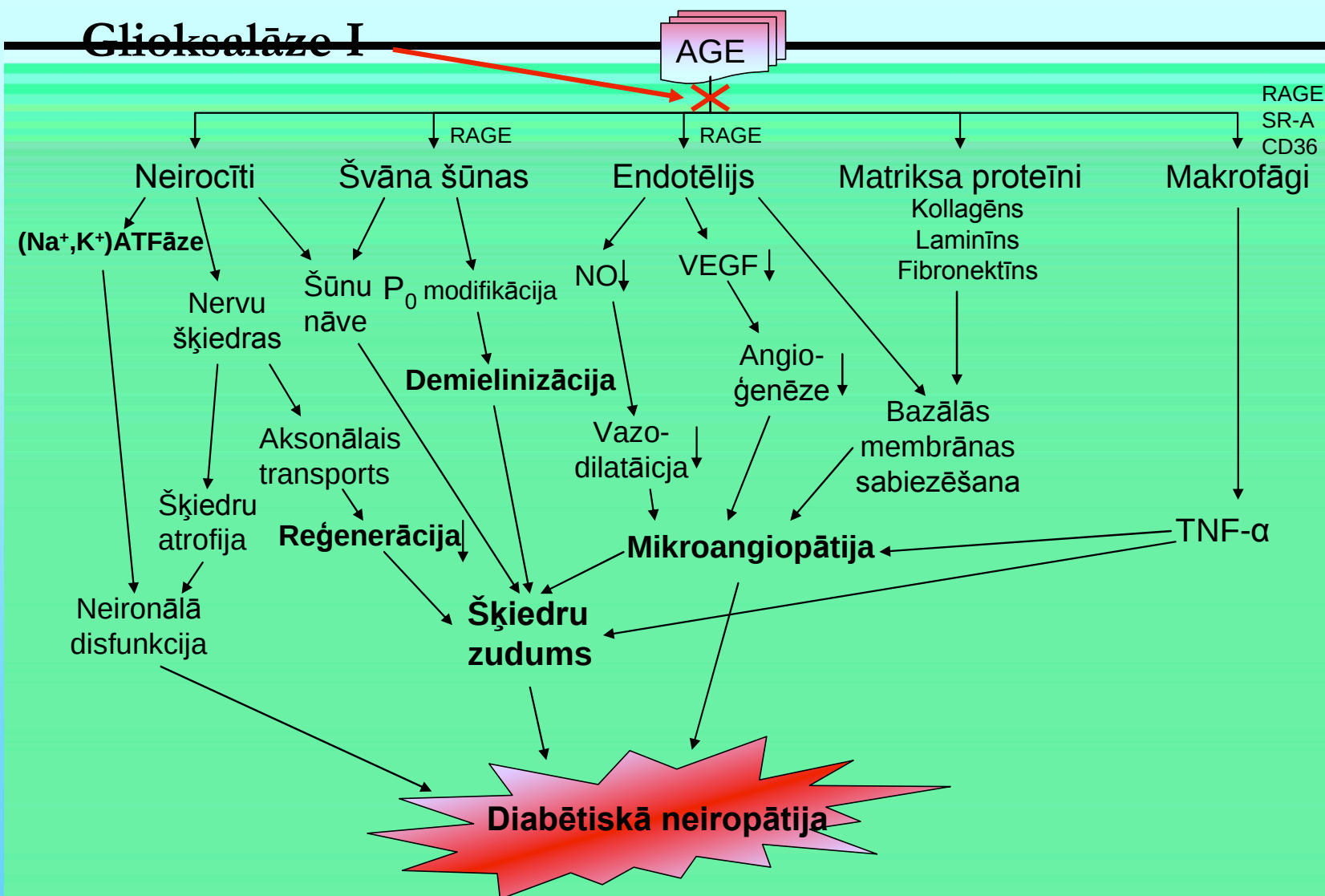
Glioksalāžu sistēma, kas novērš AGE veidošanos, var mazināt AGE noteikto šūnu disfunkciju un vēlino komplikāciju attīstību





Diabēta vēlīno komplikāciju attīstība

Glikosalāze I

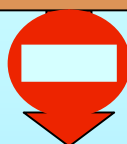




Diabēts



Hroniska hiperglikēmija



Glioksalāze I

Dzīlās glikēšanās galaprodukti – AGE (Neatgriezeniski glikēti proteīni)



Diabēta vēlīnās komplikācijas



Nefropātija

Neiropātija

Retinopātija

**Kardiovaskulārās
slimības**

**Diabētiskās
pēdas sindroms**



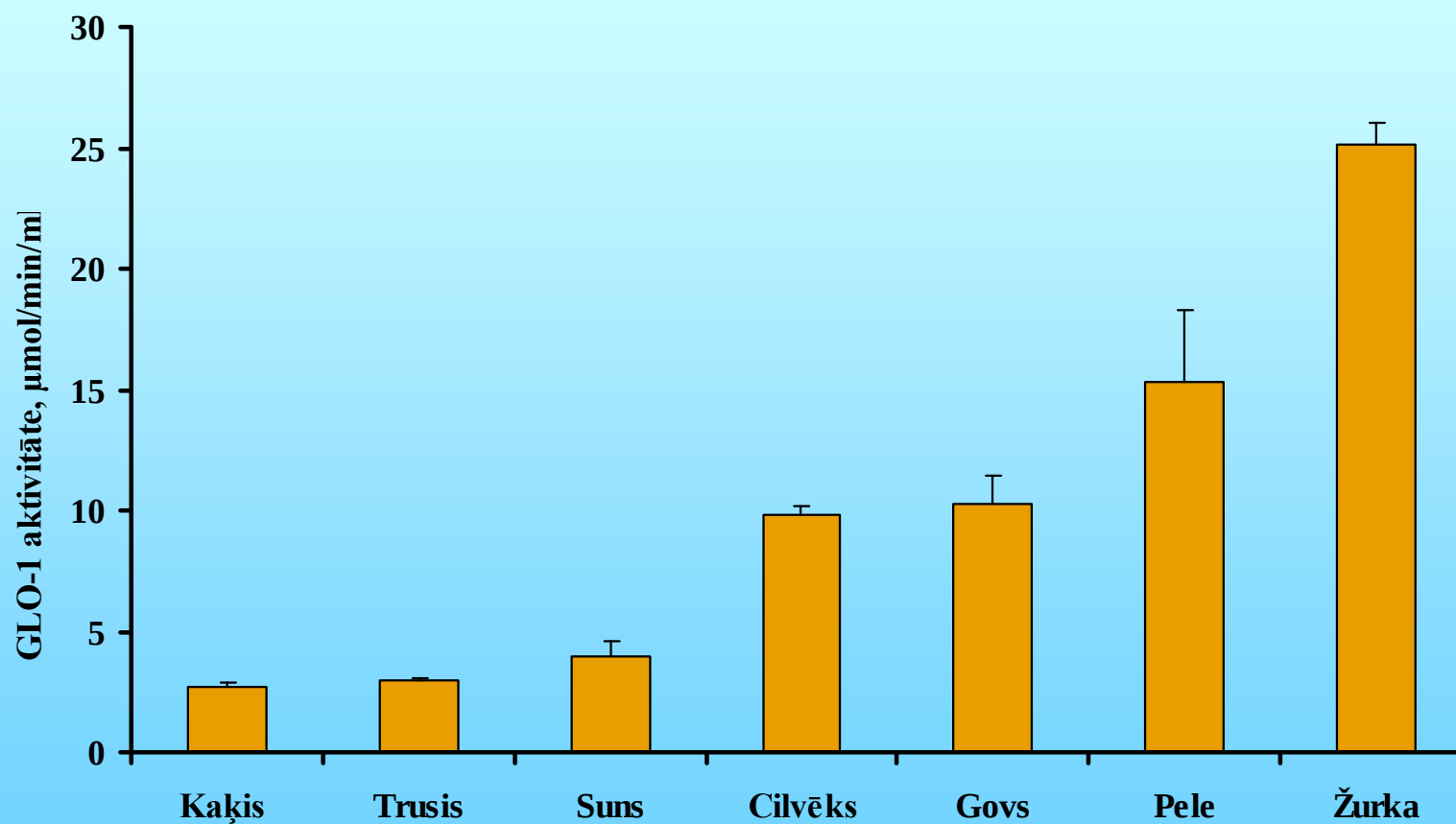
Pētījuma mērķi

- Pētīt glioksalāzes aktivitātes korelāciju ar diabētiskās polineuropātijas izpausmēm 1. un 2. tipa diabēta slimnieku asins paraugos:
 - 1. tipa diabēta diabēta neiropātijas patoģenēzē galvenā loma varētu būt glikozes līmeņa kontrolei
 - 2. tipa cukura diabēta gadījumā varētu būt kompleksāka patoģenēze, kur bez glikozes līmeņa svarīgu lomu spēlē arī iekaisuma procesi un faktori (C-peptīds u.c.)
- Izstrādāt plūsmas citometrijas metodi, kas ļautu noteikt glioksalāzes ekspresijas izmaiņas glikēšanās stresa ietekmē



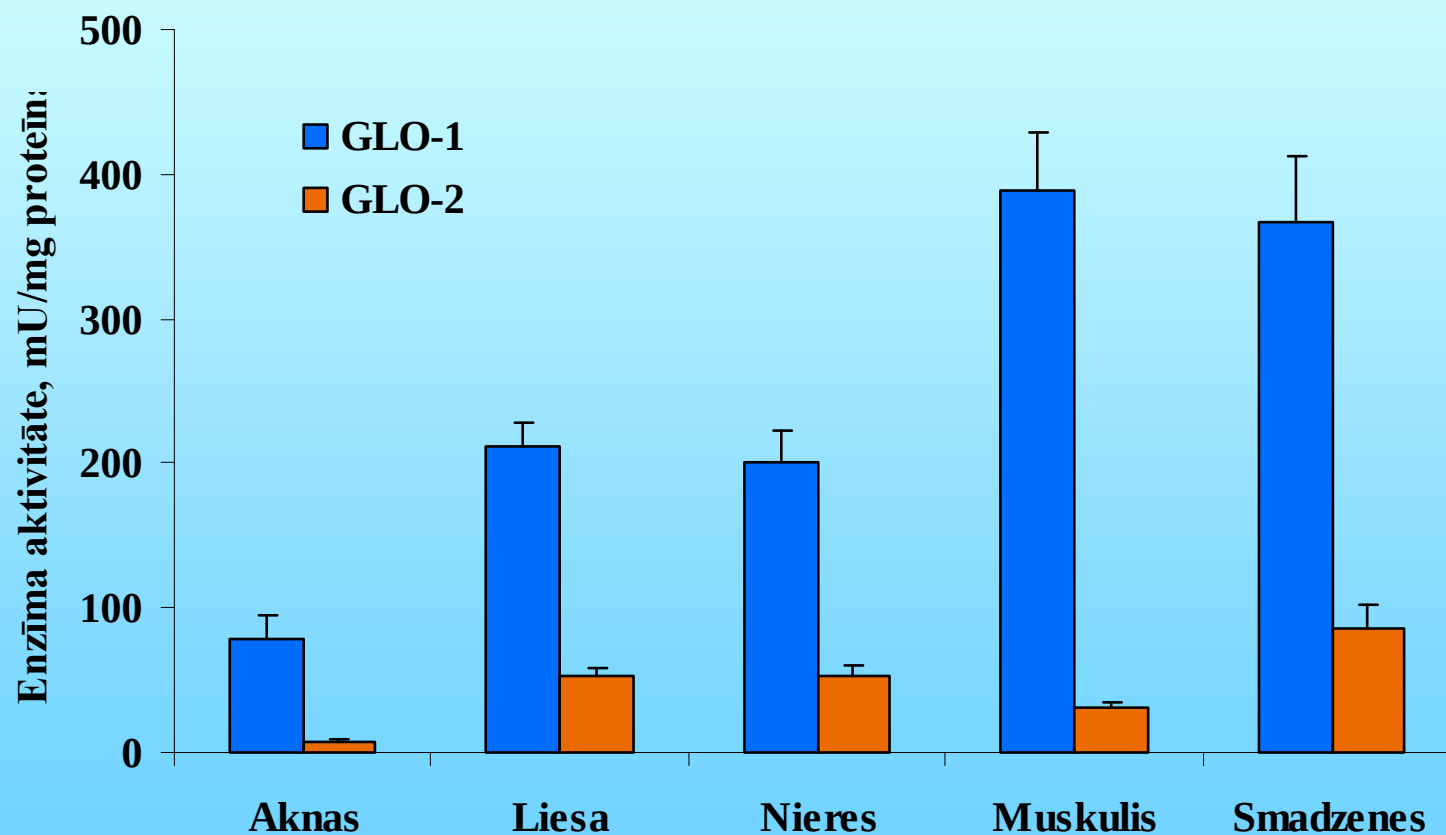


GLO-1 aktivitātes dažādu sugu asins paraugos



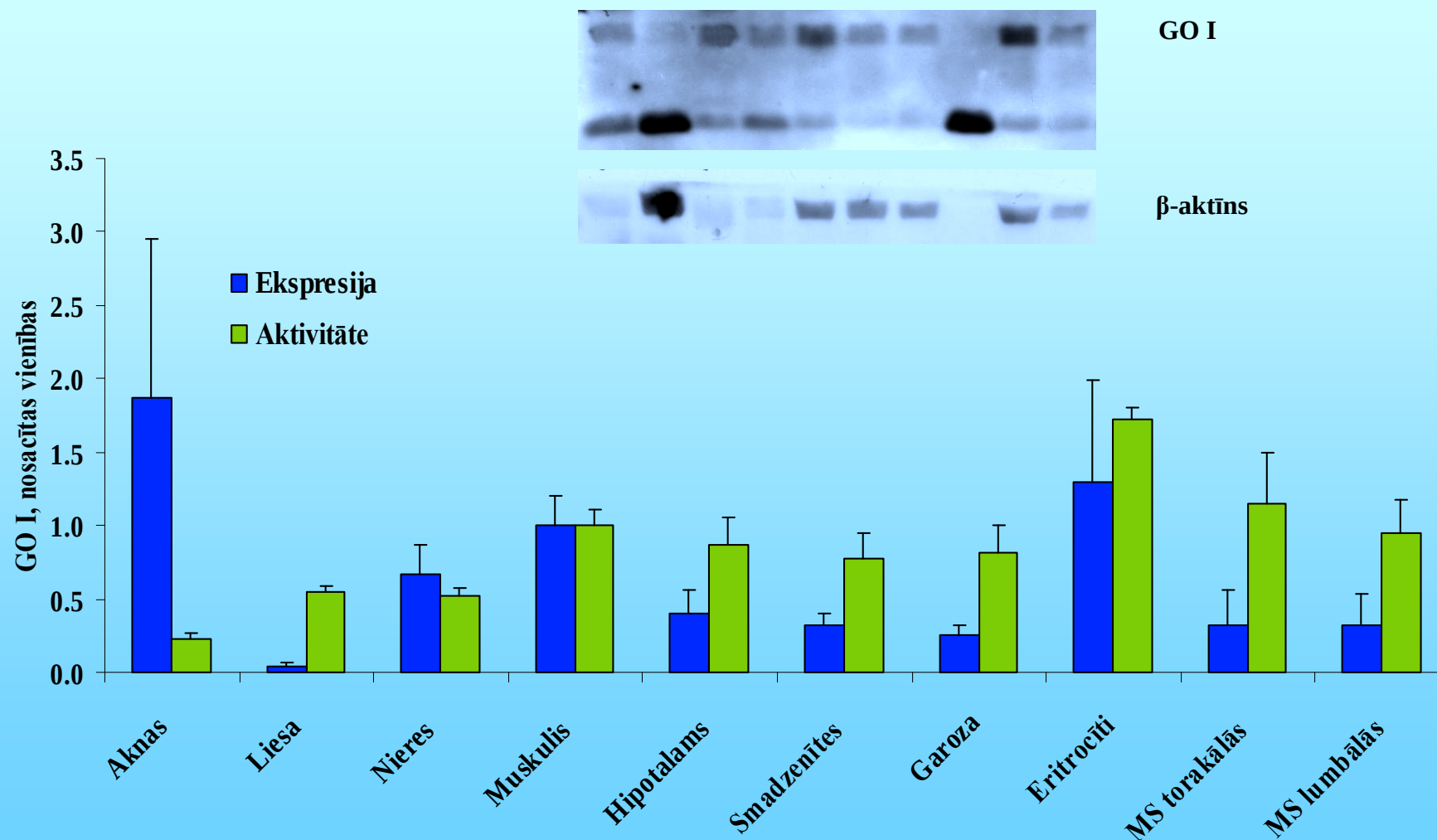


GLO-1 un GLO-2 aktivitāte dažādos žurku audos



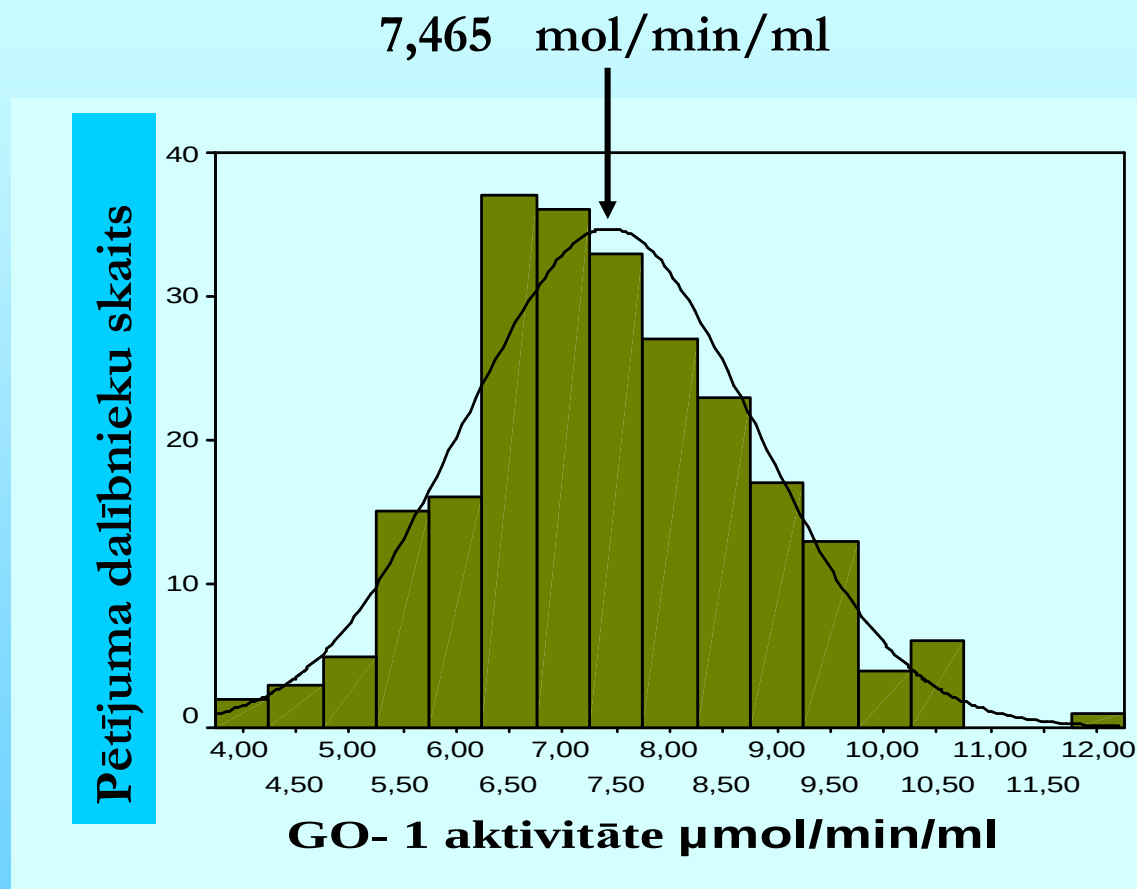


GLO-1 ekspresija dažādos žurku audos





GLO-1 aktivitāte cilvēku asins paraugos





Dalībnieku raksturojums – 1. tipa DM

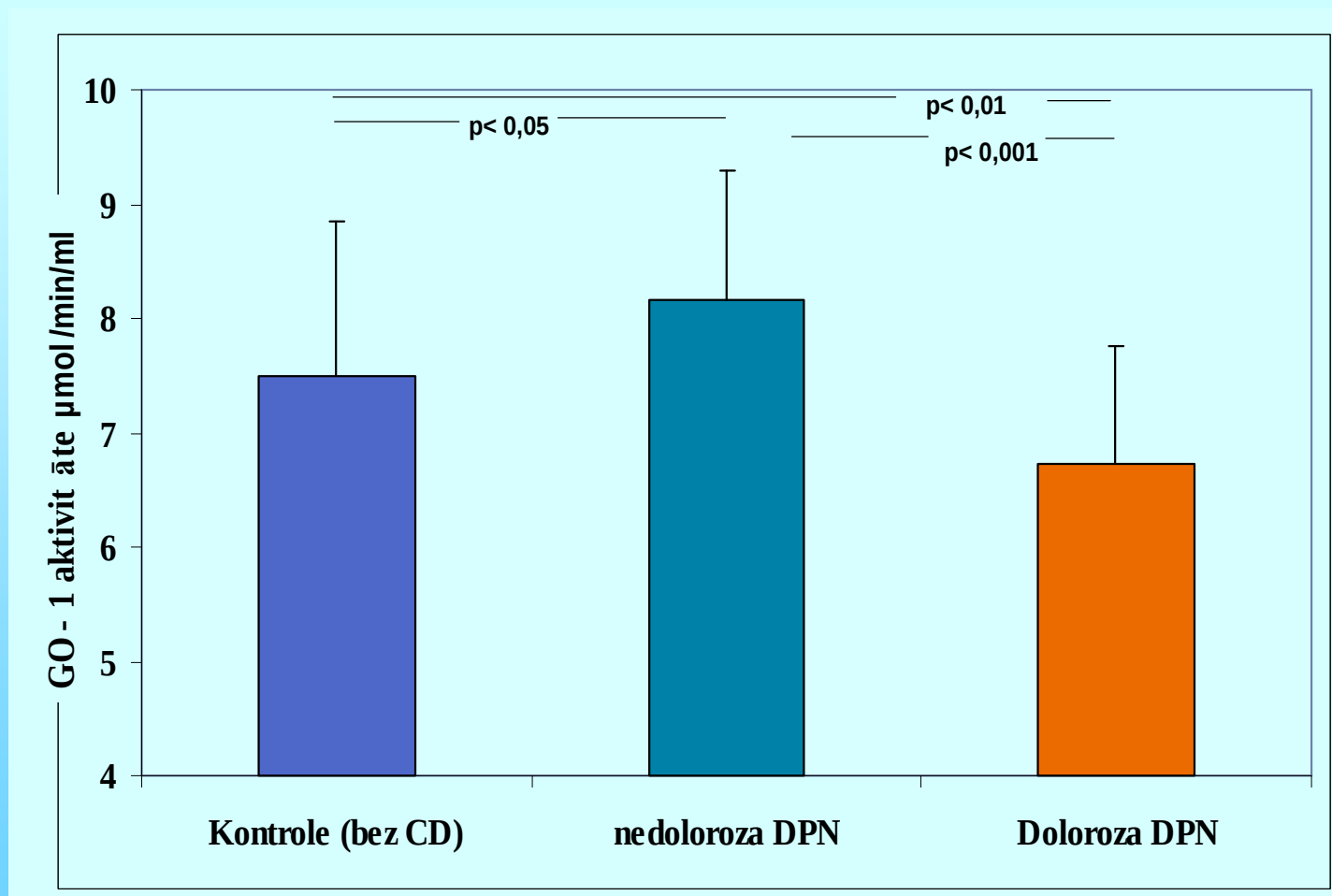
Raksturojums	Kontroles grupa (67)	Nedoloroza DPN (35)	Doloroza DPN (35)	P vērtība
vīrieši/ sievietes (n)	31 / 36	16 / 19	15 / 20	
Vecums (gados)	35,2 ± 7,4	35,1 ± 12,3	39,1 ± 11,2	NS
CD ilgums (gadi)	-	14,9 ± 7,95	16,0 ± 6,95	NS
HbA _{1c} (%)	-	9,06 ± 2,15	9,13 ± 1,95	NS
Albumīnūrija	-	18 (51%)	20 (57%)	NS
ACEI/ARB	28 (42%)	24 (68,6%)	22 (63%)	NS
Statīnu terapija	6 (9%)	9 (26%)	7 (20%)	NS
Smēķētāji	25 (37%)	13 (37%)	12 (34%)	NS
Alkohola lietošana	29 (43%)	15 (43%)	15 (43%)	NS



Raksturojums	Nedoloroza DPN (35)	Doloroza DPN (35)	p-vērtība	
Glikēmija (mmol/l) t.d.	9,29 ± 3,03	9,6 ± 3,92	0,003	
Glikēmija 2 h pp. (mmol/l)	11,93 ± 3,03	12,62 ± 2,71	NS	
Kopējais holesterīns (mmol/l)	5,37 ± 1,09	5,4 ± 0,9	NS	
Triglicerīdi	1,56 ± 1,32	1,71 ± 1,27	0,005	
ABL-holesterīns	1,4 ± 0,46	1,3 ± 0,58	NS	
ZBL-holesterīns	3,31 ± 0,88	3,43 ± 0,9	NS	
Sistoliskais TA (mmHg)	136 ± 16,9	143,1 ± 17,3	0,007	
Diastoliskais TA (mmHg)	77,0 ± 8,9	76,0 ± 10,4	NS	
BMI (kg/m ²)	24,5 ± 4,23	25,7 ± 3,3	0,013	
V-G attiecība	0,92 ± 0,19	0,89 ± 0,11	0,034	
hsCRP (mg/l)	2,56 ± 1,94	2,47 ± 1,53	NS	
C-peptīds (ng/ml)	0,37 ± 0,21	0,34 ± 0,16	NS	
GFR (ml/min)	93 ± 17,7	95,5 ± 14,8	NS	
GO-1 aktivitāte (μmol/min/ml)	8,16 ± 1,13	6,73 ± 1,03	<0,001	β =0,45



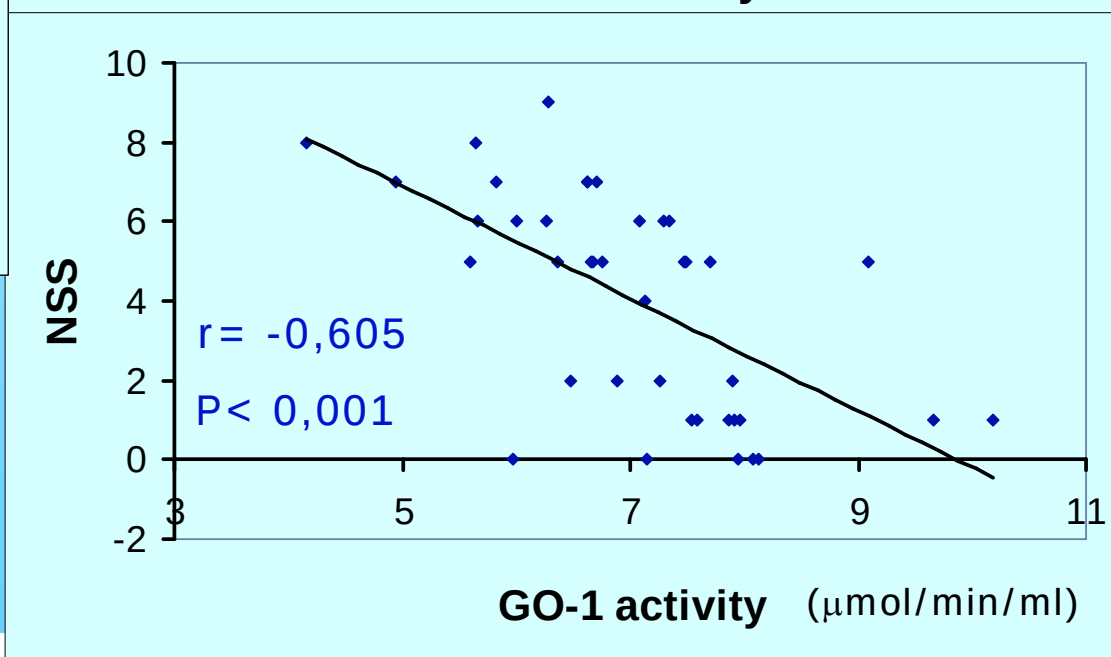
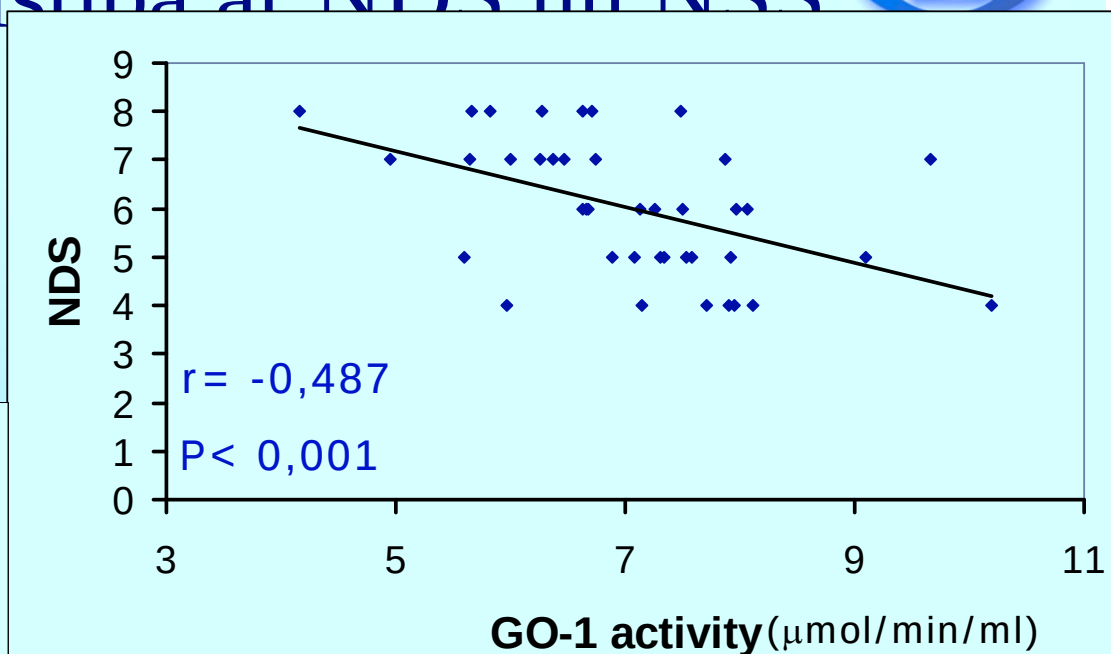
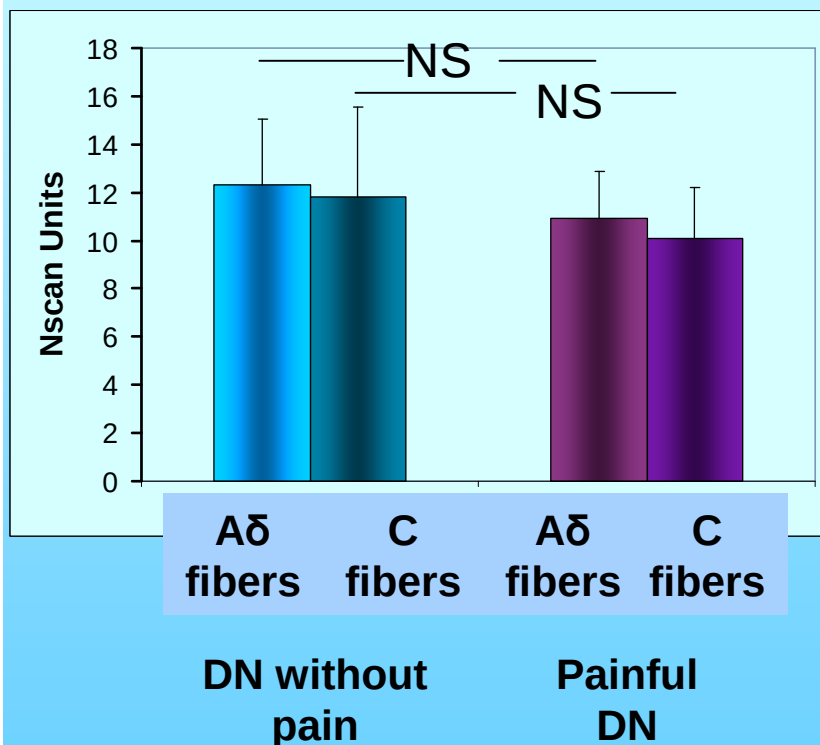
GO I aktivitāte saistībā ar DPN formu 1. tipa CD pacientiem un kontroles grupai





GO-1 aktivitātes saistība ar NDS un NSS

Sensory nerve conduction threshold testing





Dalībnieku raksturojums – 2. tipa DM

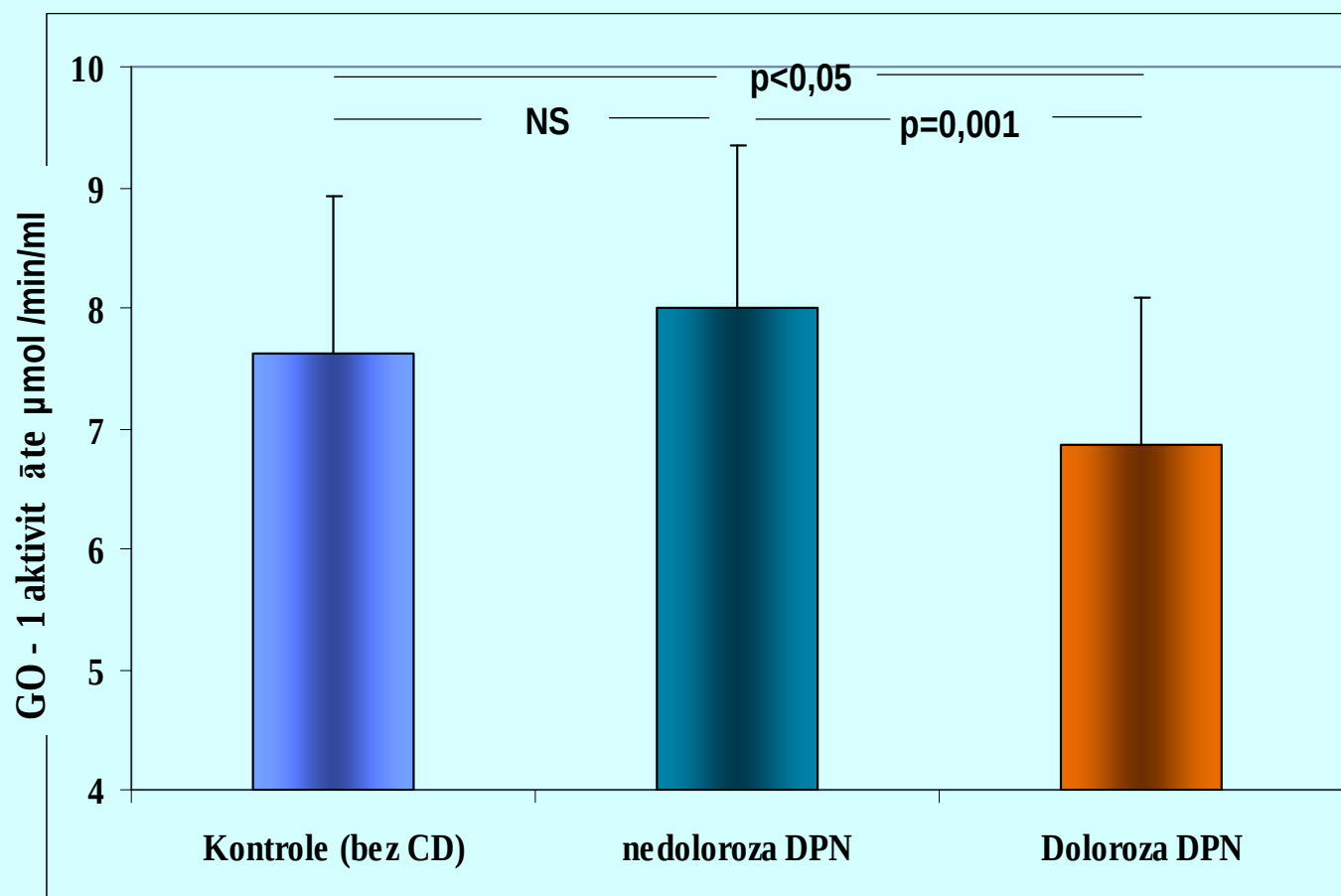
Raksturojums	Non-diabetic controls (48)	DN without pain (37)	Painful DN (30)	P value
vīrieši/ sievietes (n)	31 / 36	16 / 19	15 / 18	
Vecums (gados)	57,3 ± 9,1	55,6 ± 9,8	56,1 ± 9,2	NS
CD ilgums (gadi)	NA	8,4 ± 5,8	8,9 ± 6,7	NS
HbA _{1c} (%)	NA	8,31 ± 1,97	8,04 ± 1,67	NS
Albumīnūrija	NA	21 (57%)	18 (60%)	NS
ACEI/ARB	24 (50%)	22 (60%)	20 (67%)	NS
Statīnu terapija	12 (25%)	11 (30%)	9 (30%)	NS
Smēķētāji	15 (31%)	13 (35%)	10 (33%)	NS
Alkohola lietošana	21 (44%)	16 (43%)	13 (43%)	NS



Raksturojums	Nedoloroza DPN (37)	Doloroza DPN (30)	P- vērtība	
Glikēmija (mmol/l) t.d.	8,36 ± 3,03	8,43 ± 2,9	NS	
Glikēmija 2 h pp. (mmol/l)	11,42 ± 2,93	12,8 ± 3,9	0,007	
Kopējais holesterīns (mmol/l)	5,78± 1,0	6,05 ± 1,2	NS	
Triglicerīdi	2,24 ± 2,06	2,69 ± 1,66	0,027	
ABL-holesterīns	1,36 ± 0,39	1,2 ± 0,35	0,05	
ZBL-holesterīns	3,34 ± 0,88	3,53 ± 0,9	NS	
Sistoliskais TA (mmHg)	149 ± 20,9	135 ± 19	0,03	
Diastoliskais TA (mmHg)	76 ± 8,9	78 ± 10	NS	
BMI (kg/m ²)	32,95 ± 5,64	31,6 ± 5,5	NS	
V-G attiecība	1,1 ± 0,14	0,92 ± 0,19	0,034	
hsCRP (mg/l)	2,59 ± 1,64	2,04 ± 1,38	NS	
C-peptīds (ng/ml)	3,39 ± 1,77	1,99 ± 2,01	0,005	
GFR (ml/min)	102 ± 19,7	98,5 ± 14,5	NS	
GO-1 aktivitāte (μmol/min/ml)	8,0 ± 1,23	6,87 ± 1,21	P< 0,001	β= 0,45



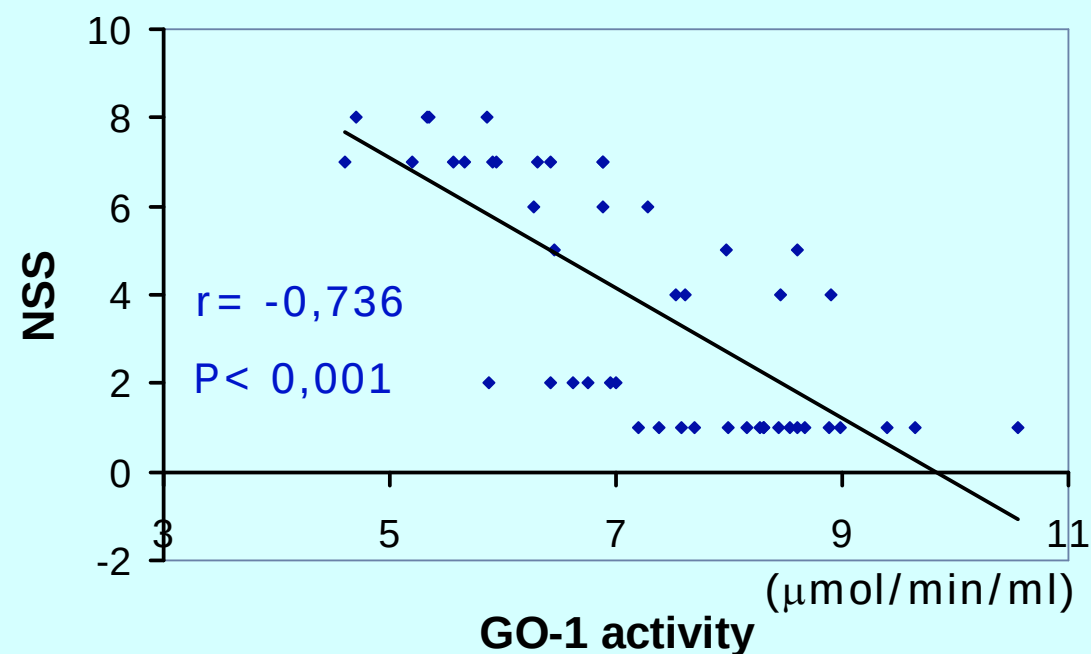
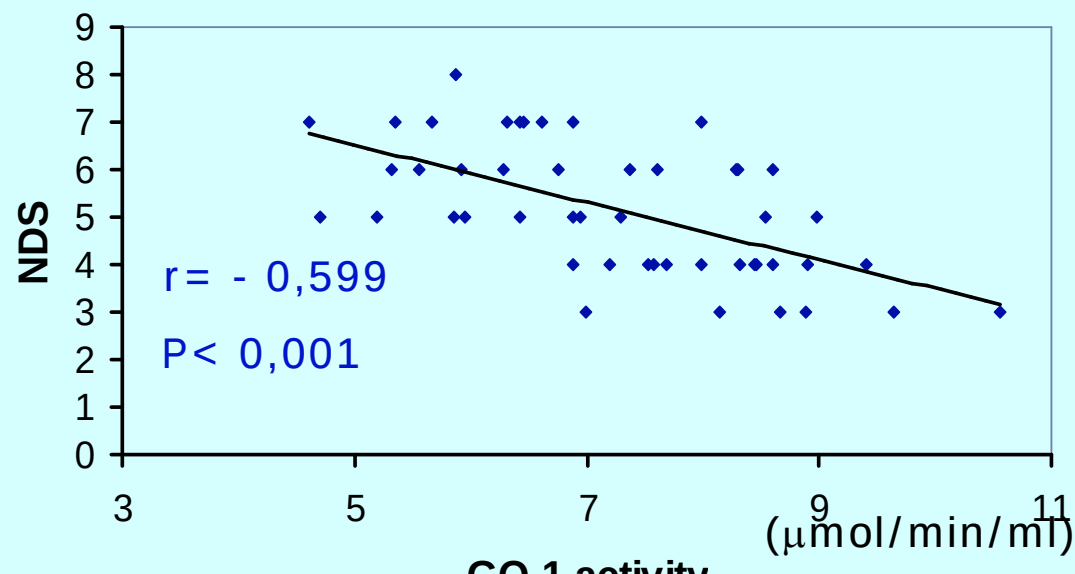
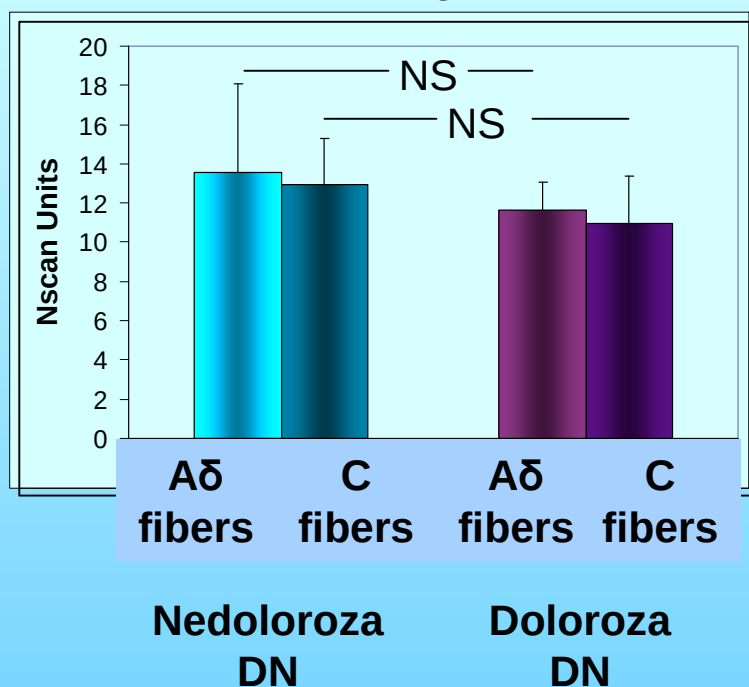
GO I aktivitāte saistībā ar DPN formu 2. tipa CD pacientiem un kontroles grupai





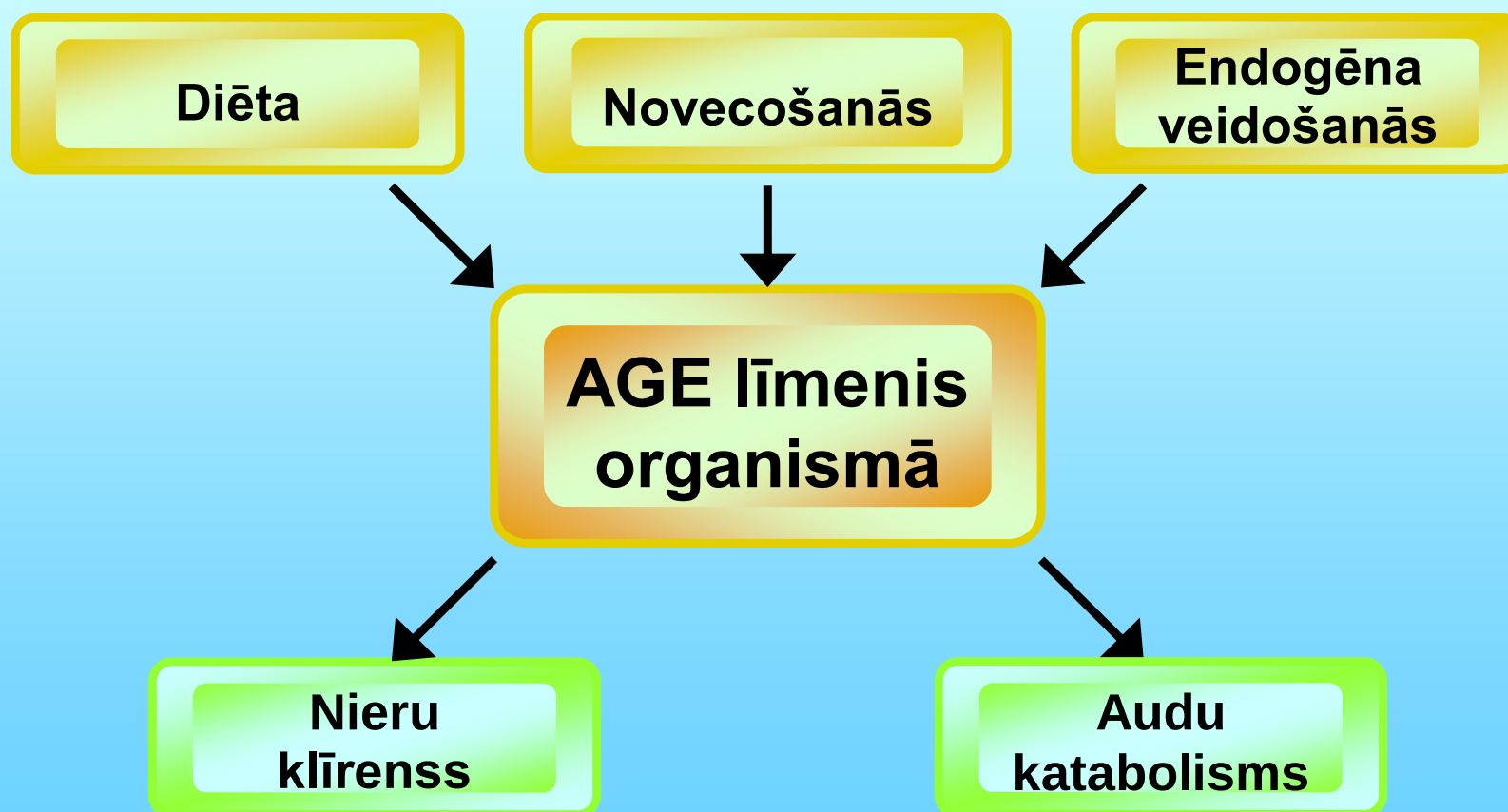
GO-1 aktivitātes saistība ar NDS un NSS 2. tipa CD

Sensory nerve conduction threshold testing





Faktori, kas nosaka cirkulējošo AGE koncentrāciju





AGE veidošanās pārtikā

- AGE **veidošanos veicina** produktu pagatavošana augstā temperatūrā:
 - cepšana, grilēšana, fritēšana,
- AGE saturu uzturā **var samazināt**, izmantojot zemāku temperatūru, lielāku ūdens daudzumu vai skābas marinādes
 - tvaicējot, vārot vai sutinot, izmantojot citrona sulu vai etiķi





Ēdiena pagatavošanas veidu efekts

- No vienādiem produktiem: 200 g cāļa krūtiņas, 250 g kartupeļu, 100 g burkānu, 200 g tomātu un 15 g olīveļļas (kopumā 580 kcal)
- varam pagatavot maltīti gan ar augstu AGE saturu (**cepot 230° 20 minūtes**),
- gan ar nelielu AGE saturu (**tvaicējot 100°/15 min**).





Pārtikas efekti

Cilvēkiem, kuri uzturā bija lietojuši maltīti ar augstu AGE saturu, konstatēja:

- par 30% samazinātu plūsmas atkarīgo vazodilatāciju lielajos asinsvados,
- par 67% sliktāku mikrovaskulāro funkciju un
- statistiski ticami augstākus endoteliālo disfunkciju un oksidatīvo stresu raksturojošos marķieru līmeņus.



Tāds izskatots McDonald's Happy Meal komplekts, kas uz galda nostāvējis sešus mēnešus. Māksliniece un fotogrāfe Sallija Deivisa uzņēmusi tā attēlus katru dienu, lai redzētu, kā ēdiens sabojājas. Taču joprojām tas neesot ne sapelējis, ne sapuvis. Autors: AFP/SCANPIX

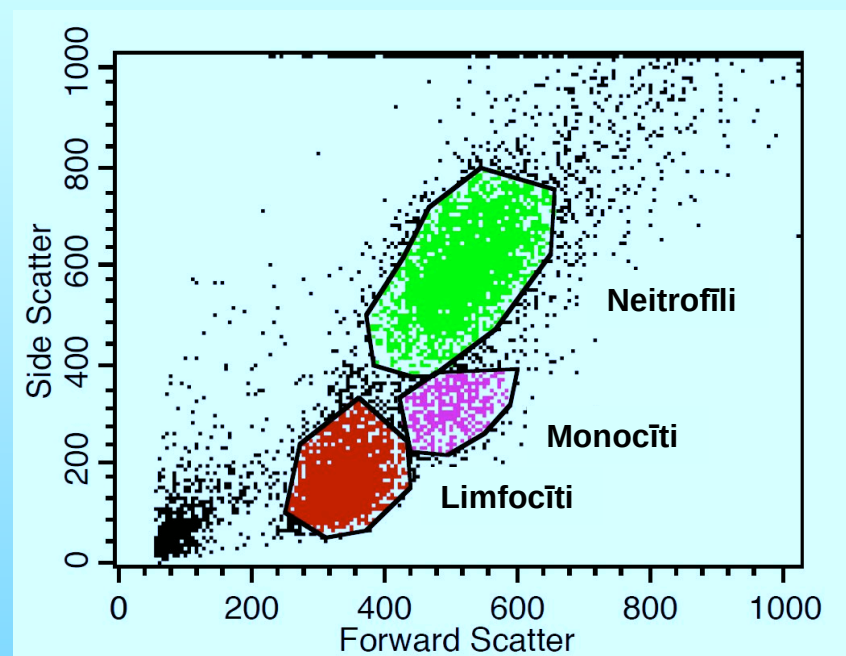
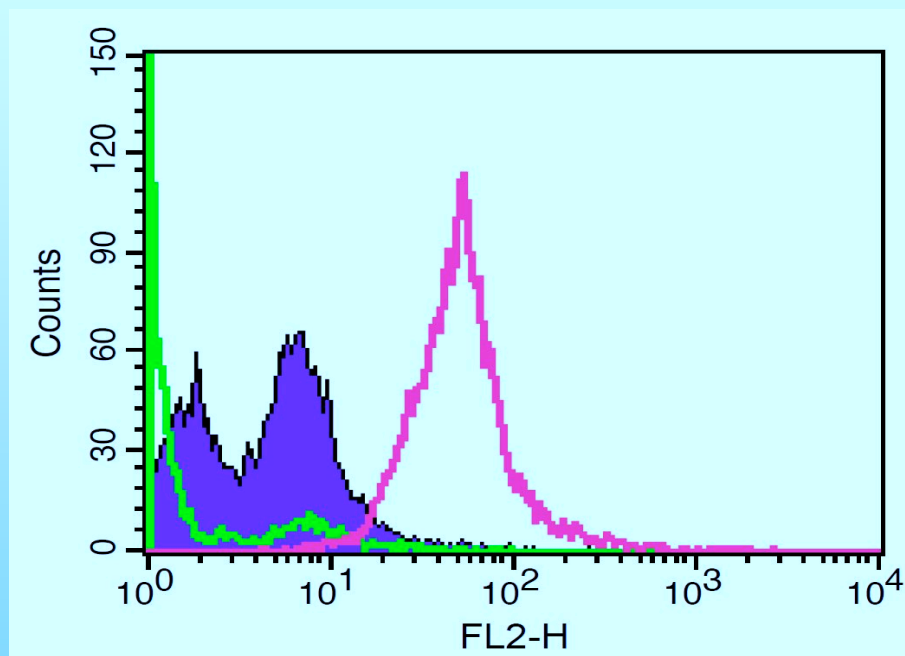


AGE saturs pārtikā

Dominējošā uzturviela	Uzturprodukts	AGE saturs, kU/g
Tauki	Sviests cepšanai	265
	Olīveļļa	120
	Grauzdētas mandeles	67
Olbaltumvielas	Cepta cāļa krūtiņa	58
	Cepta liellopu gaļa (100°/60 min)	22
	Cepta liellopu gaļa (230°/15 min)	60
	„Brie” siers	56
Ogļhidrāti	Pilngraudu maize	0,5
	Pankūkas	10
	Ābols	0,13

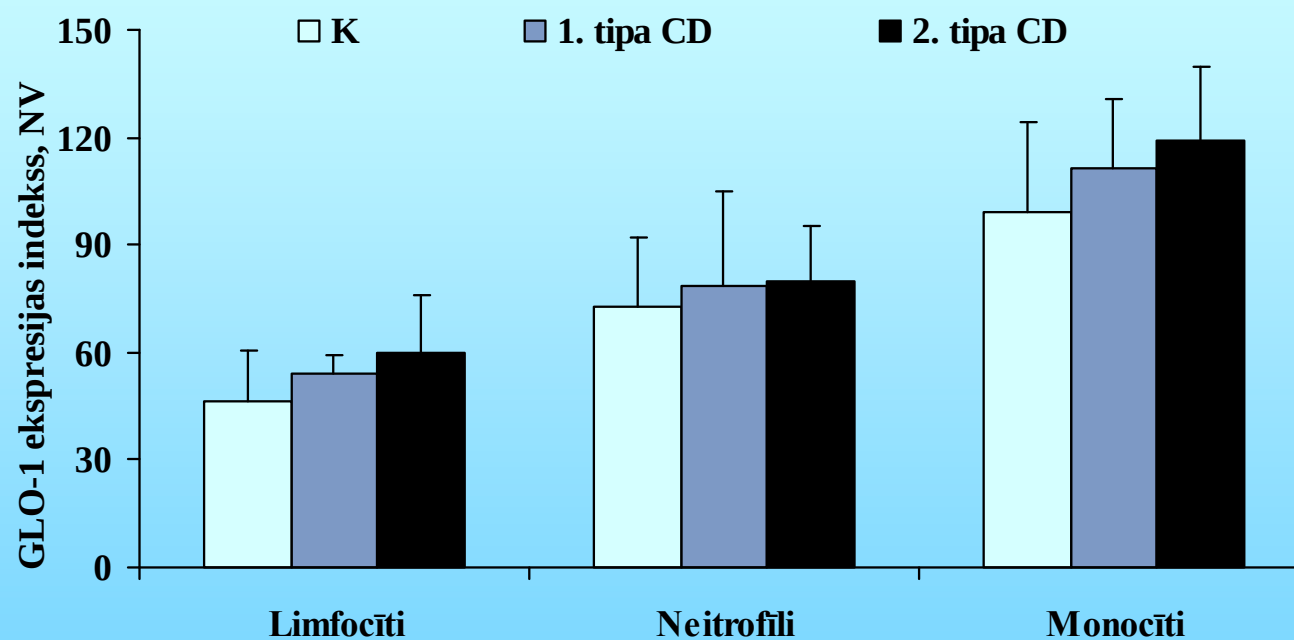


Glioksalāzes-1 FACS eksperimenti





Rezultāti





Secinājumi

- 1. un 2. tipa diabēta pacientu asins paraugu samazināta glioksalāzes 1 aktivitāte korelē ar diabēta dolorozas polineuropātijas formu
- Glioksalāžu enzīmu eksperimentālie pētījumi apstiprina to lomu glikēšanās produktu izsaukto deģeneratīvo procesu samazināšanā
- Personalizētās ārstēšanas kontekstā mūsu tālākie pētījumi ietvers glioksalāzes gēnu variāciju izpēti, kā arī pārtikas lomu glioksalāžu enzīmu aktivitātes un ekspresijas regulēšanā

