

## **ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НИРКОВИХ КАНАЛЬЦІВ У РАЗІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 1-го ТИПУ У ДІТЕЙ**

**Н. В. Глуценко, аспірант**

*Медичний інститут Сумського державного університету, м. Суми*

*Статья посвящена исследованию функционального состояния проксимальных почечных канальцев у детей, больных сахарным диабетом 1-го типа (СД-1). Установлено, что при СД-1 еще до появления клинических и лабораторных признаков диабетической нефропатии возникают тубулярные дисфункции, которые зависят от уровня гликемического контроля.*

**Ключевые слова:** сахарный диабет 1-го типа, дети, ферменты, моча.

*Стаття присвячена дослідженню функціонального стану проксимальних ниркових канальців у дітей, хворих на цукровий діабет 1-го типу (ЦД-1). Встановлено, що у разі ЦД-1 досить рано, ще до появи клінічних та лабораторних ознак діабетичної нефропатії, виникають тубулярні дисфункції, які залежать від рівня глікемічного контролю.*

**Ключові слова:** цукровий діабет 1-го типу, діти, ферменти, сеча.

### **ВСТУП**

Одним із ускладнень, що лімітує тривалість та якість життя дітей із цукровим діабетом 1-го типу (ЦД-1), є діабетична нефропатія (ДН), яка досить швидко призводить до розвитку хронічної ниркової недостатності (ХНН) [1]. ДН виникає у 31 випадків у разі тривалості ЦД-1 до 10 років і у 100 випадків – понад 20 років [2]. Від моменту виникнення перших клінічних ознак ДН і ХНН середня тривалість життя пацієнтів із ЦД-1 становить 4,8 року із коливанням від 2 до 7 років [3]. На сучасному етапі залишаються недостатньо вивченими фактори, що сприяють прогресуванню ДН до стадії ХНН. Відомо, що при появі клінічних ознак (протеїнурія, азотемія, артеріальна гіпертензія), які з'являються через 10-25 років від початку ЦД-1, зміни, які відбуваються в нирках, вже незворотні. Гіпертрофія та гіперфункція клубочків при діабетичній нефропатії (ДН) можуть бути вторинними, викликаними підвищеним осмолярним навантаженням на тубулярні клітини у разі гіперглікемії за механізмом тубулогломерулярного зворотнього зв'язку [4]. Тому пошук нових методів діагностики ДН ще на доклінічній стадії є актуальним. У цьому плані важливе значення має ензимодіагностика, особливо аналіз ферментів сечі [5].

У сечі досліджено приблизно 40 ферментів, але активність лише деяких із них має діагностичне значення [6]. До них належать ензими гамма-глутамілтрансфераза та лактатдегідрогеназа.

Гаммаглутамілтрансфераза або -глутамілтранспептидаза (ГГТП, -ГТП) – фермент, що каталізує переміщення -глутамілової групи від пептиду або сполук, що містять цю групу, до акцепторного пептиду або амінокислоти. Завдяки цьому ГГТП сприяє транспортуванню амінокислот через мембрани клітин [7]. ГГТП виявляють в основному в мембранах клітин, що мають високу секреторну або поглинальну здатність. Активність ферменту в епітелії проксимальних ниркових канальців є найвищою в організмі людини. Незважаючи на високу активність ГГТП у нирковій тканині, через велику молярну масу в сечі здорових осіб вона майже не визначається. Підвищення активності ферменту в сечі спостерігають у пацієнтів із гострими інфекційними захворюваннями

сечостатевої системи і хворобами, що супроводжуються руйнуванням ниркової тканини [8].

Лактатдегідрогеназа (ЛДГ) – цитозольний цинковмісний фермент. У сечі в нормі він практично відсутній, тому його поява є відображенням патологічного стану сечовидільної системи. Відомо, що приблизно 50 ЛДГ надходить у сечу із проксимального відділу нефрону, 18 – із дистального, 21 – із мозкової речовини, 5 - із ниркового тільця. Склад ізоферментів ЛДГ у нирковій тканині має свої особливості. У кірковому шарі переважають ізоферменти ЛДГ-1 та ЛДГ-2, у мозковому шарі та сосочках – ЛДГ-4 та ЛДГ-5 [9]. Отже, його можна використовувати як маркер пошкодження епітелію проксимальних каналців для діагностики ниркової патології у дітей [10].

Крім ферментів, маркером дисфункції каналців є підвищена екскреція низькомолекулярних білків, до яких відносять 2-мікроглобулін. Через низьку молекулярну масу 2-мікроглобулін фільтрується в ниркових клубочках і майже повністю реабсорбується епітелієм проксимальних каналців нирок шляхом піноцитозу. Тому визначення даного білка рекомендують використовувати як індикатор ушкодження саме проксимальних ниркових каналців [11].

### МЕТА РОБОТИ

За показниками ензимурії, вмісту 2-мікроглобуліну та цинку у сечі оцінити функціональний стан проксимальних ниркових каналців дітей, хворих на цукровий діабет 1-го типу.

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Спостерігали 68 дітей, хворих на ЦД-1. Діагноз ЦД-1 ставився згідно з Протоколом надання медичної допомоги дітям за спеціальністю "Дитяча ендокринологія" [12]. Стан компенсації ЦД-1 оцінювався згідно з ISPAD (Consensus for the Management of Type 1 Diabetes Mellitus in Children and Adolescents, 2000). Оптимальний рівень глікемічного контролю (ГК) мали 9 дітей (група I), субоптимальний – 25 (група II), рівень ГК із високим ризиком для життя (ГКВР) – 34 хворих (група III). Групу порівняння (ГП) склали 30 практично здорових дітей. Усі хворі на ЦД-1 не мали клінічних та лабораторних ознак діабетичної нефропатії.

Матеріалом для дослідження була ранкова порція сечі (8-9 год. ранку), яку забирали після туалету зовнішніх статевих органів у стерильний посуд.

Для визначення вмісту 2-мікроглобуліну у сечі використовували набір реактивів "Microglobulin (beta-2) (EIA-1789)" фірми "DRG International, Inc." (США) на автоматичному аналізаторі "Multiscan Plus" фірми "Labsystems" (Фінляндія).

Активність ГГТП досліджували уніфікованим методом за „кінцевою точкою”, активність ЛДГ - кінетичним методом на напівавтоматичному фотометрі "MIKROLAB 300" (США) за допомогою наборів реактивів фірми "Ольвекс Діагностікум" (Росія).

Для визначення вмісту цинку у сечі використовували метод атомно-абсорбційної мас-спектрофотометрії на спектрофотометрі С-115М1 виробництва НВО «Selmi» (Україна), оснащеному комп'ютерною приставкою для автоматичного обчислювання вмісту мікроелементів (МЕ). Визначали загальну концентрацію МЕ (мкмоль/л) у ранковій порції сечі.

Статистичну обробку результатів досліджень здійснювали за допомогою програми Excel. Використовували методи варіаційної статистики, придатні для медико-біологічних досліджень [13]. Показники

парної кореляції використовували для оцінки характеру та ступеня взаємозв'язку між різними параметрами.

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що у дітей I групи вміст  $\beta 2$ -мікроглобуліну у сечі не відрізнявся від групи порівняння. Проте у пацієнтів II групи його рівень був удвічі більшим стосовно здорових дітей. В обстежених III групи виділення  $\beta 2$ -мікроглобуліну із сечею було найвищим. Зокрема, у них вміст цього білка був у 5,8 раза більшим стосовно групи порівняння та у 2,9 раза – стосовно хворих із субоптимальним рівнем ГК (табл. 1). Слід зауважити, що  $\beta 2$ -мікроглобулін визначався у частини хворих. Так, у дітей із оптимальним рівнем ГК він був виявлений у 7 (77,78) випадках. У разі субоптимального рівня глікемічного контролю він був наявний у сечі 19 (76) обстежених. У випадку ГКВР  $\beta 2$ -мікроглобулін визначали у сечі 29 (85,29) хворих. У здорових він реєструвався у 16 (72,73) випадках. Відсутність цього білка у сечі частини обстежених можна розцінювати як повну реабсорбцію його проксимальними нирковими каналцями.

Таблиця 1 – Вміст  $\beta 2$ -мікроглобуліну та глюкози у сечі дітей, хворих на ЦД-1

Показник	ГП (n=22)	I група (n=9)	II група (n=25)	III група (n=34)
2-мікроглобулін, мкг/мл	0,045±0,016	0,045±0,019	0,09±0,031	0,26±0,068; p**, p1**, p2*
Глюкозурія, г/добу	0±0	1,84±0,835; p*	26,91±2,841; p***, p1***	36,95±3,023; p***, p1***, p2*
Примітки: p – достовірність показників стосовно групи порівняння; p1 – достовірність показників стосовно хворих I –ї групи; p2 – достовірність показників стосовно хворих II групи; * - p<0,05, ** - p<0,01, *** - p<0,001				

Рівень глюкозурії у хворих на ЦД-1 коливався в межах від 1,84 до 36,95 г/добу, причому у дітей III групи він був майже у 20 разів більшим порівняно із пацієнтами I групи та в 1,4 раза вищим порівняно із глюкозурією у хворих II групи (табл. 1).

Саме тому було проаналізовано кореляцію між рівнем 2-мікроглобуліну у сечі та глюкозурією у хворих на ЦД-1. Нами встановлена пряма кореляція середньої сили у дітей I групи ( $r = +0,5$ ), проте у хворих II та III груп вона була досить слабкою ( $r = +0,2$ ).

Дослідження вмісту ГГТП у сечі встановило, що серед дітей групи порівняння він визначався у 8 (40) випадках. У хворих на ЦД-1 дітей цей фермент реєструвався у 57 (83,82) пацієнтів незалежно від рівня глікемічного контролю та характеризувався досить широким діапазоном коливань, який становив 0,1-63,2 нмоль/(с\*л). Поява -глутамілтранспептидази у невеликій кількості у сечі здорових можлива внаслідок репаративних процесів нефротелію. Проте велика концентрація, навпаки, є свідченням мембранної деструкції, оскільки ензим розміщується у плазматичній мембрані епітеліоцитів ниркових каналців [14].

Серед хворих на ЦД-1 найвищий вміст ГГТП мали діти III групи. У них рівень ферменту у 9 разів перевищував показник здорових та у 4,6 раза був більшим стосовно хворих I та II груп (рис. 1). У хворих із субоптимальним рівнем ГК концентрація ГГТП була майже у

2 рази вищою стосовно групи порівняння ( $1,71 \pm 0,747$ ) проти ( $0,86 \pm 0,038$ ) нмоль/(с\*л) відповідно). Найнижчий вміст ферменту ( $1,14 \pm 0,353$ ) нмоль/(с\*л) виявлений у пацієнтів із оптимальним рівнем ГК, де він був у 1,3 разу більшим порівняно зі здоровими.

ГТП є єдиним ферментом, який розщеплює значні кількості відновленого глутатіону (GSH) і кон'югатів GSH у ході циклу -глутамілу. Тому, високий рівень ГТП спричиняє зменшення забезпеченості глутатіоном, що може індукувати продукцію вільних радикалів та провокувати оксидативний стрес [8]. Останній є одним із ключових елементів багатьох реакцій, пов'язаних із порушенням вуглеводного обміну у разі ЦД-1 [5].

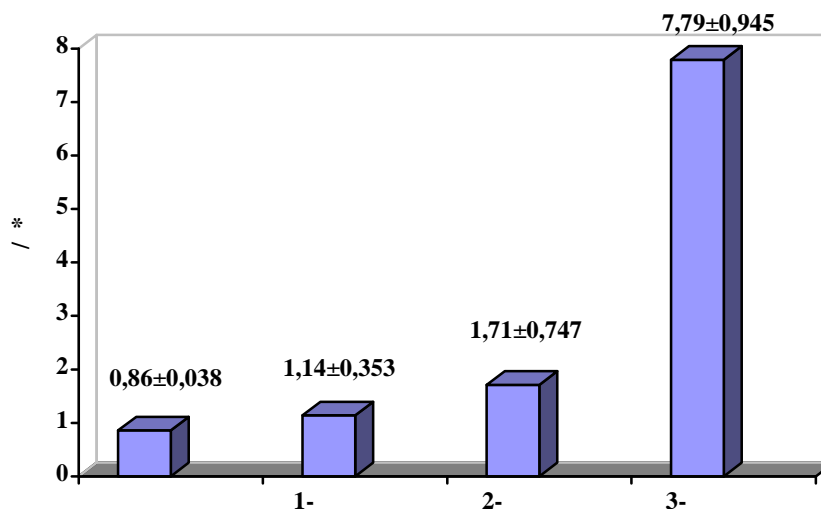


Рисунок 1 – Вміст ГТП у сечі дітей, хворих на ЦД-1

Вміст ЛДГ у сечі хворих на ЦД-1 був стабільно високим (табл. 2). Деякі автори стверджують, що у дітей із ураженням нирок у разі ЦД будь-якого генезу (діабетичного чи вторинних обмінних порушень) першою на зміни у нирковій тканині реагує ЛДГ, а в міру збільшення тривалості хвороби – ГТП [15]. Цим можна пояснити 100 наявність ензиму у сечі всіх хворих на відміну від ГТП.

Встановлено, що вміст ЛДГ у разі оптимального рівня ГК був на 14,56 більшим відносно групи порівняння. У пацієнтів із субоптимальним рівнем ГК та ГКВР сечова концентрація ферменту не відрізнялася та була на 22,83 вищою порівняно зі здоровими.

До складу активного центру ЛДГ входить 3 атоми цинку [14]. Тому поряд із визначенням рівня ензимурії було проведено дослідження загальної концентрації МЕ (мкмоль/л) у ранковій порції сечі.

Виявлено, що вміст Zn у сечі дітей I групи був навіть на 25 меншим відносно групи порівняння. Проте у пацієнтів групи II він був на 25, а у хворих III групи на 42 більшим порівняно зі здоровими дітьми (табл. 2). В експерименті на тваринах встановлено, що реабсорбція цинку здійснюється у всіх відділах нефрону за допомогою білка-транспортера двовалентного металу [16]. Таким чином, підвищена концентрація Zn у сечі може бути однією з ознак ураження ниркових каналців, зумовлених глюкозурією та гіперглікемією у разі цукрового діабету. Підтвердженням зазначеного припущення може бути виявлена пряма кореляція середньої сили між рівнем ЛДГ та вмістом цинку у сечі у кожній групі обстежених ( $r = +0,6$ ,  $p < 0,05$ ).

Функціональний стан епітелію ниркових каналців, перш за все, залежить від цілісності клітинних мембран. За результатами власних досліджень можна стверджувати, що у хворих із оптимальним рівнем глікемічного контролю він не порушений, оскільки пацієнти даної групи мають у сечі практично однаковий зі здоровими вміст 2-мікроглобуліну, а рівень ГГТП збільшений у них лише на 5. Поява ЛДГ у сечі цих дітей може бути пов'язана з її виходом із цитоплазми внаслідок підвищеної проникності цитоплазматичних мембран, яку зумовлює спотворений вуглеводний обмін.

У разі субоптимального рівня глікемічного контролю відзначається порушення функціонального стану проксимальних ниркових каналців. Підтвердженням є виявлене нами одночасне підвищення вмісту у сечі 2-мікроглобуліну та рівня ензимурії.

Таблиця 2 - Вміст ЛДГ та цинку у сечі дітей, хворих на ЦД-1

Показник	ГП	I група	II група	III група
ЛДГ, од/л	38,2±1,212, n=20	44,59±2,553 n=9; p*	49,57±2,587, n=25; p***	49,01±3,796, n=34; p**
Zn, мкмоль/л	8,84±0,861 n=30	7,52±0,75 n=10	11,8±1,039, n=28; p*, p1**	12,67±1,242, n=22; p*, p1**

Примітки: p - достовірність показників стосовно групи порівняння;  
p1 - достовірність показників стосовно хворих I групи;  
p2 - достовірність показників стосовно хворих II групи;  
\* - p<0,05, \*\* - p<0,01, \*\*\* - p<0,001

Відомо, що важливу роль у патогенезі хронічних діабетичних ускладнень відіграє неферментативне глікозилювання білків, у тому числі й білків клітинних мембран. Воно найбільш виражене у разі високих показників глікемії та глюкозурії. Можливо, саме тому у пацієнтів із глікемічним контролем високого ризику зміни з боку каналців були найбільш виражені. Зокрема, у них вміст β2-мікроглобуліну у сечі перевищував показник здорових майже у 6 разів, ГГТП - у 9 разів, проте ЛДГ - в 1,3 раза.

Виявлена посилена екскреція цинку у хворих може бути зумовлена порушенням процесів реабсорбції та сприяти розвитку цинкового дефіциту у них.

#### ВИСНОВКИ

1. У хворих на цукровий діабет 1-го типу ще до появи клінічних та лабораторних ознак діабетичної нефропатії виникають тубулярні дисфункції. Функціональний стан проксимальних ниркових каналців суттєво залежить від рівня глікемічного контролю.

2. Одночасне збільшення вмісту у сечі 2-мікроглобуліну, лактатдегідрогенази, гамма-глутамілтрансферази та цинку служить маркером раннього ураження проксимальних ниркових каналців у разі цукрового діабету 1-го типу.

#### ПЕРСПЕКТИВА ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Для більш детальної характеристики ступеня пошкодження епітелію ниркових каналців перспективним є вивчення сечового вмісту лізосомальних ( -глюкуронідази, -галактозидази, -N-ацетилглюкозамінідази) та мітохондріальних (глутаматдегідрогенази, малатдегідрогенази, сукцинатдегідрогенази) ферментів. Цікавим є дослідження впливу сечової екскреції токсичних мікроелементів (свинцю

та кадмію) на функціональний стан нефротелію у разі цукрового діабету 1-го типу у дітей.

## SUMMARY

### FUNCTIONAL STATE OF RENAL TUBULAR OF CHILDREN WITH TYPE 1 DIABETES MELLITUS

*N.V. Gluschenko*

*Medical Institute of Sumy State University, Sumy*

*The article deals with the functional state of the proximal renal tubular function in children with diabetes mellitus of type 1 (DM-1). It is established that in case of DM-1, rather early, before the advent of clinical and laboratory signs of diabetic nephropathy, there occur tubular disfunctions, which depend on the level of glycemic control.*

**Key words:** *type 1 diabetes mellitus, children, enzymes, urine.*

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Radovan Bogdanovi Diabetic nephropathy in children and adolescents / Radovan Bogdanovi // *Pediatric nephrology*. – 2008. – Vol. 23, №4. – P. 507-525.
2. Маркевич В. Е. Клініко-епідеміологічні особливості перебігу цукрового діабету 1-го типу у дітей та підлітків / В. Е. Маркевич, Н. В. Глущенко, І. П. Радченко // *Вісник СумДУ. Серія Медицина*. – 2011. – Т.1, №1. – С. 129-135.
3. Диагностика диабетической нефропатии у детей и подростков / М. В. Пермитина, В. А. Воробьева, Г. В. Бабаш [и др.] // *Российский педиатрический журнал*. – 2005. – № 6. – С. 44-47.
4. Красовська К. О. Канальцеві дисфункції при діабетичній нефропатії: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.02 “Внутрішні хвороби” / К. О. Красовська. – Харків, 2005. – 19 с.
5. Активність канальцевих ензимів та процесів ліпопероксидації у разі прогресування діабетичної нефропатії / Л. Я. Мигаль, Л. В. Король, І. О. Дудар [та ін.] // *Врачебное дело*. – 2006. – №1-2. – С. 18-22.
6. Делекторская Л. Н. Ферменты в моче: диагностические и методические аспекты / Л.Н. Делекторская, И.Д. Ертанов, Д.Ю. Окунев // *Лабораторное дело*. – 1988. – С. 3-7.
7. Calbrera-Abreu J. C. -Glutamyltransferase: value of its measurement in paediatrics / J.C. Calbrera-Abreu, A. Green // *Ann. Clin. Biochem*. – 2002. – Vol. 39. – P. 22-25.
8. Маркевич В. Е. Вміст  $\alpha$ -глутамілтранспептидази як індикатор синдрому цитолізу нефротелію при пієлонефриті у дітей / В. Е. Маркевич, А. М. Лобода // *Вісник СумДУ. Серія Медицина*. – 2010. – Т. 1., №1. – С. 129-135.
9. Диагностическая роль органоспецифических изоформ лактатдегидрогеназы плазмы крови / Е. В. Васильева, О. Н. Лопаткин, А. В. Копылев [и др.] // *Судебно – медицинская экспертиза*. – 2005. – №3. – С. 23-26.
10. Determination of Urinary Enzymes as a Marker of Early Renal Damage in Diabetic Patients / Ali Mohammadi-Karakani, Solmaz Asgharzadeh-Haghighi, Mahmoud Ghazi-Khansari [et al.] // *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. – 2007. – Vol. 21. – P. 413-417.
11. Urinary clusterin, cystatin C,  $\alpha$ 2-microglobulin and total protein as markers to detect drug-induced kidney injury / Frank Dieterle, Elias Perentes, André Cordier [et al.] // *Nature Biotechnology*. – 2010. – №28. – P. 463-469.
12. Про затвердження Протоколів надання медичної допомоги дітям за спеціальністю “Дитяча ендокринологія”: Наказ МОЗ України № 254 від 27. 04. – К.: МОЗ України, 2006.
13. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. - К.: МОРИОН, 2001. - 408 с.
14. Лобода А. М. Діагностична цінність визначення рівня ферментурії у дітей із пієлонефритом / А. М. Лобода // *Вісник СумДУ. Серія Медицина*. – 2009. – Т.1, № 2. – С. 93-97.
15. Ферментативные признаки раннего поражения почек у детей с инсулинзависимым сахарным диабетом / Е. В. Мелехина, В. А. Таболин, И. Э. Волков [и др.] // *Южно-Российский медицинский журнал*. – 1999. – № 4-5. – С. 25-27.
16. Acute study of interaction among cadmium, calcium, and zinc transport along the rat nephron in vivo / O. Barbier, G. Jacquillet, M. Tauc [et al.] // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol*. – 2004. – Vol. 287(5). – P. 1067-1075.

*Надійшла до редакції 30 травня 2011 р.*