

Роль протеолитических систем в патогенезе диабетической нефропатии у детей

Е.И. Кондратьева, Г.А. Суханова, Л.В. Спирина, Т.В. Ваганова, Н.Г. Гулиева

*Кафедра педиатрии ФПК и ППС (зав. — докт. мед. наук Е.И. Кондратьева)
и кафедра биохимии и молекулярной биологии (зав. — проф. В.Ю. Серебров)
Сибирского государственного медицинского университета
(ректор — член-корр. РАМН, проф. В.В. Новицкий), Томск*

Диабетическая нефропатия (ДН) в различных странах в детском и подростковом возрасте регистрируется в 5-33% случаев [6, 11]. В структуре осложнений СД типа 1 у детей Томской области нефропатия наблюдается у 12,8% [7].

При сосудистой патологии большое значение имеет состояние калликреин-кининовой (ККС) и ренин-ангиотензиновой (РАС) системы. Функционирование РАС и ККС осуществляется по каскадному принципу с использованием механизмов обратной связи, имеющих существенное значение при диабете [1].

Обе системы взаимосвязаны между собой посредством калликреина и ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), которые оказывают противоположное действие на гемодинамику. Калликреин (КК), катализирующий образование брадикинина, вызывает дилатацию сосудов. АПФ, образующий ангиотензин II, обладает вазоконстрикторным действием и является основным маркером повреждения эндотелия. Ингибиторы АПФ используют в клинической практике при лечении гипертонии, ДН [5]. В регуляции активности кининовой системы принимают участие α_1 -протеиназный ингибитор (α_1 -ПИ) и α_2 -макроглобулин (α_2 -МГ).

Цель настоящего исследования заключалась в изучении роли протеолитических систем в развитии ДН при СД типа 1 у детей.

Объем и методы исследования

Обследовано 106 детей (50 мальчиков и 56 девочек) больных СД типа 1 в возрасте от 8 до 15 лет ($13,1 \pm 0,3$ года). В зависимости от длительности заболевания больных разделили на 6 групп от впервые выявленного диабета до срока заболевания более 10 лет.

Диагностику ДН осуществляли по классификации С. Mogensen [2]. Нарушение функций почек в начале заболевания характеризуется их гиперфункцией (полиурией) (1-я и 2-я стадии по классификации С. Mogensen). При длительном течении СД типа 1 развивается ДН, которая разделяется на стадии микроальбуминурии, протеинурии и хронической почечной недостаточности, последняя редко регистрируется в детском возрасте [5]. Стадию микроальбуминурии диагностировали при содержании альбумина в моче от 30 до 300 мг/сут., стадию протеинурии выявляли при уровне белка в моче более 300 мг/сут.

Диабетическая ретинопатия (ДР) имела место у 11 (10,3%) детей. Нефропатия сочеталась с ДР у 26

(22,5%) пациентов; ДН диагностирована на стадии микроальбуминурии у 15 детей (14,1%) и протеинурии с сохранной азотвыделительной функцией почек у 11 (8,4%) детей.

Были сформированы 2 группы больных: с нормальным уровнем альбумина в моче и с наличием нефропатии (микроальбуминурия и протеинурия) (табл. 1). Дети не различались по возрасту, длительности диабета, потребности в инсулине и степени компенсации СД 1 типа. Критериями исключения из изучаемых групп были наличие сопутствующей патологии мочевыделительной системы и бактериурии. Контрольную группу составили 17 здоровых детей, средний возраст $12,8 \pm 0,1$ лет.

Активность КК и его предшественника ККГ плазмы крови оценивали по скорости гидролиза N- α -бензоил-L-аргининэтилового эфира (Reanal, Венгрия), выражали в миллиединицах (МЕ/мл) [9]. Для определения активности α_1 -протеиназного ингибитора и α_2 -макроглобулина плазмы крови использовали метод В.Ф. Нартиковой и Т.С. Пасхиной [8]. Активность ингибиторов выражали в ингибиторных единицах (ИЕ/мл). Активность АПФ сыворотки крови определяли по кинетике гидролиза фурилакрилоилфенилаланилглицилглицина (FAPGG, Sigma, США) в мкмоль/мин · л [4]. Содержание белка в моче определяли иммунотурбидиметрическим методом с помощью наборов фирмы «RANDOX» (Великобритания). Статистический анализ проведен с применением программ STATISTICA 5.0, Microsoft Excel-97. При статистической обработке материала рассчитывали средние величины и ошибки средней. Различия между статистическими выборками считали достоверными при $p < 0,05$. При отклонении

Таблица 1

Характеристика больных сахарным диабетом в группах сравнения (М±m)		
Показатель	Больные с нормоальбуминурией, n=23	Больные с диабетической нефропатией, n=23
Возраст, лет	14,6±0,4	15,0±0,3
Пол, ж/м	13/10	13/10
Длительность СД, лет	7,4±0,5	7,0±0,5
HbA1c, %	15,6±0,9	15,0±0,7
Потребность в инсулине, Ед/кг	0,76±0,01	0,76±0,01

Таблица 2

Активность калликреина (КК), калликреиногена (ККГ) и ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) и ингибиторов протеиназ у больных сахарным диабетом типа 1 (М±m).

Показатель	Длительность заболевания						
	контроль n=32	манифестация, n=20	1-3 года, n=17	3-5 лет, n=27	5-7 лет, n=12	7-10 лет, n=24	Более 10 лет, n=8
КК, мЕ/мл	60,0±11,0	105,4±10,6*	102,6±15,8*	106,2±10,8*	99,3±9,6*	91,8±5,9*	88,1±10,4*, **
ККГ, мЕ/мл	373,2±22,6	272,3±27,6*	261,9±15,8*	251,0±20,0*	244,2±18,0*	247,3±24,4*	175,0±21,5*, **
АПФ, мкмоль/мин·л	33,2±3,5	36,6±2,9	36,6±2,9	42,9±3,5*	42,9±2,1*	41,2±3,5*	58,0±3,1*, **
α ₁ -ПИ, ИЕ/мл	29,5±2,1	23,2±1,5*	28,7±3,1	25,7±1,6	22,7±2,3*	22,7±2,7*	20,1±1,9*
α ₂ -МГ, ИЕ/мл	5,1±1,1	5,9±0,6	5,8±0,7	5,9±0,4	4,8±0,4	4,9±0,3	3,7±0,3**

* Достоверность различий по сравнению с контролем, $p<0,05$.

** Достоверность различий по сравнению с группой больных с манифестацией заболевания (впервые выявленный диабет), $p<0,05$.

распределения от нормального использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. В работе также использовали регрессионный и дисперсионный методы анализа.

Результаты и их обсуждение

В общей группе больных СД типа 1, включающей 106 детей, наблюдалась активация кининогенеза, о чем свидетельствовало повышение активности КК в 1,6 раза ($p<0,05$) и снижение активности ККГ на 30% ($p<0,05$) (табл. 2). При поступлении в клинику детей с впервые выявленным диабетом активация КК была еще более выраженной, с превышением уровня контроля на 75% ($p<0,05$). Повышенная активность КК при манифестации СД типа 1 сохранялась в течение 5 лет. Имеются сведения, что ККС активируется на начальных этапах развития СД типа 1 [14]. С увеличением длительности заболевания, осложненного развитием микроангиопатий (ДР и ДН), активность КК и ККГ сыворотки крови детей снижалась. Существенных изменений активности АПФ сыворотки крови в общей группе больных СД типа 1 по сравнению с контролем не выявлено (см. табл. 2). Однако с увеличением длительности заболевания активность АПФ повышалась с $36,6\pm2,9$ мкмоль/мин·л (при впервые выявленном диабете) до $58,0\pm3,8$ мкмоль/мин·л (при длительности заболевания более 10 лет).

Состояние протеолиза зависит от специфических белков-ингибиторов, которые инактивируют протеолитические ферменты. α₁-Протеиназный ингибитор (α₁-ПИ) связывает до 90% всех сериновых протеиназ плазмы человека, α₂-макроглобулин (α₂-МГ) ограничивает активность пламина, калликреина, эластазы и др. [3]. В контрольной группе активность α₁-ПИ составила $29,5\pm2,1$ ИЕ/мл, α₂-МГ — $5,1\pm1,1$ ИЕ/мл (см. табл. 2). В норме эти показатели находятся в пределах 27-34 ИЕ/мл и 4-8 ИЕ/мл соответственно [3]. В общей группе больных СД типа 1 не обнаружено значительных изменений активности обоих ингибиторов ($p>0,05$). После 10-летнего срока заболевания активность α₁-ПИ и α₂-МГ снижалась на 20 и 27% ($p<0,05$) соответственно.

При изучении активности показателей кининогенеза в зависимости от наличия осложнений выявлено, что активность КК снижалась при диабетической нефропатии в 1,5 раза ($p<0,05$) (табл. 3). Известно, что угнетение кининогенеза сопровождается развитием сосудистых осложнений при многих хронических заболеваниях [10, 13]. Активность АПФ у больных с нефропатией была достоверно повышена в 1,6 раза ($p<0,05$) по сравнению с детьми с нормоальбинурией. Активность ингибиторов протеиназ также зависела от наличия ДН. При ДН активность α₁-ПИ снижалась на 24% по сравнению с показателем больных с нормоальбинурией и контролем ($p<0,05$), без изменения активности α₂-МГ. Дефицит α₁-ПИ сопровождается активацией протеолиза, дисбалансом процессов свертывания, фибринолиза, развитием иммунодефицита [10]. Следовательно, активность α₁-ПИ может иметь существенное значение для оценки и прогнозирования развития нефропатии при СД типа 1.

Для изучения связи активности АПФ с КК, ККГ и ингибиторами протеолиза был проведен регрессионный анализ и составлены уравнения регрессии для общей группы и больных с ДН. В результате не выявлено достоверной зависимости между данными показателями в общей группе больных СД типа 1.

Таблица 3

Активность калликреина, калликреиногена, ангиотензинпревращающего фермента и ингибиторов протеолиза при диабетической нефропатии (М±m)

Показатель	Больные с нормоальбинурией, n=23	Больные с диабетической нефропатией, n=23
Калликреин, мЕ/мл	103,6±9,3	72,4±9,2*
Калликреиноген, мЕ/мл	254,7±24,3	226,6±15,0
Ангиотензинпревращающий фермент, мкмоль/мин/л	36,2±3,4	52,4±3,2*
α ₁ -Протеиназный ингибитор, ИЕ/мл	28,6±2,7	21,0±1,1*
α ₂ -Макроглобулин, ИЕ/мл	5,1±0,4	4,7±0,3

* Достоверность различий между группами детей с нормоальбинурией и диабетической нефропатией ($p<0,05$).

Вклад дисперсий исследуемых показателей в этой группе составил лишь 2% и увеличивался до 48% при нефропатии. В группе детей с нефропатией была отмечена отрицательная зависимость между активностью АПФ и α_1 -ПИ.

Таким образом, при нефропатии к наиболее значимым показателям относятся увеличение активности АПФ и снижение активности α_1 -ПИ при прогрессировании нефропатии.

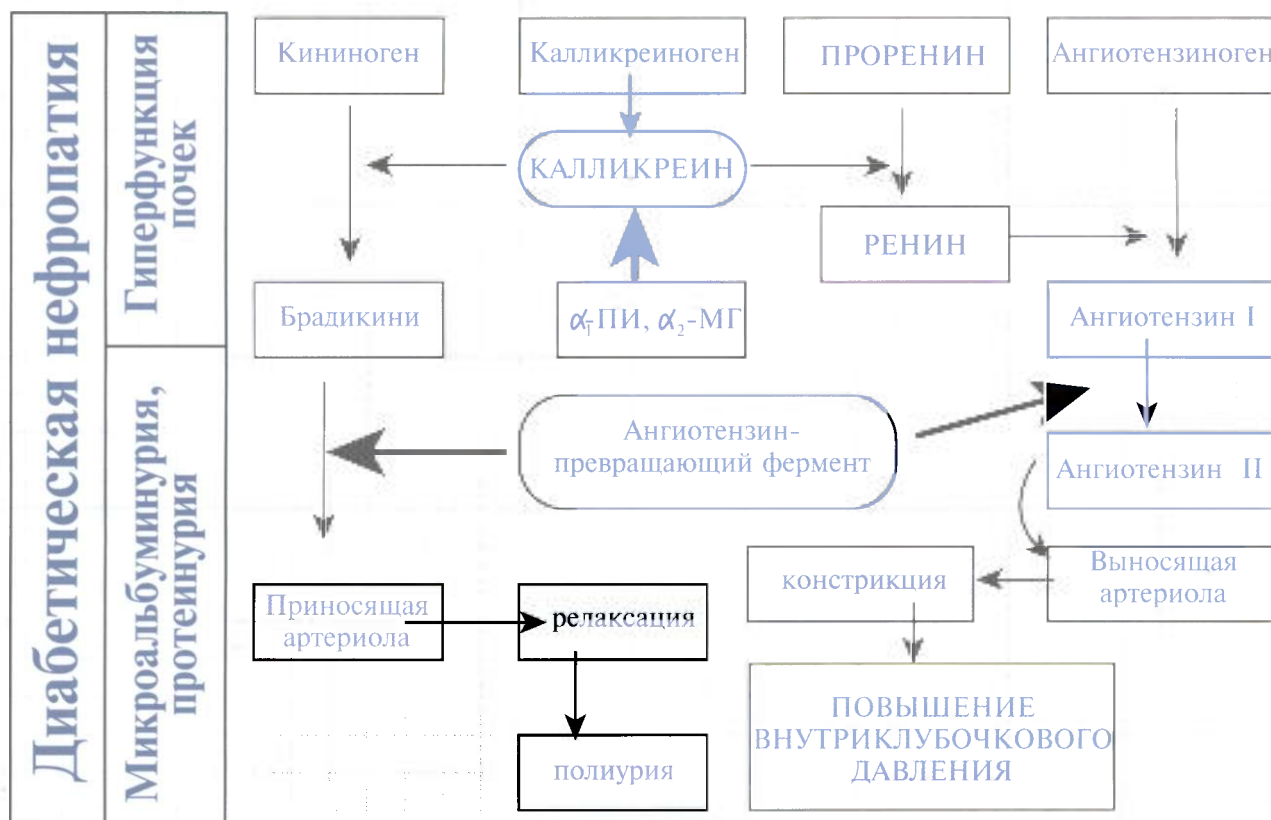
Для изучения диагностической ценности данных методов при ДН была определена их чувствительность и специфичность (табл. 4). Чувствительность методов определения активности АПФ и α_1 -ПИ составила 65%. Специфичность метода определения активности АПФ была выше, чем для α_1 -ПИ. Следует отметить высокий прогноз отрицательного результата для обоих методов. Результаты изучения чувствительности и прогностичности подтверждают мультифакториальный генез ДН и дают возможность использовать изучаемые показатели для формирования групп риска развития осложнения. Обращает внимание тот факт, что при отсутствии сосудистых осложнений у 29 детей из общей группы больных СД типа 1 обнаружена высокая активность АПФ (более 50

Таблица 4

Диагностическая ценность определения активности ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) и α_1 -протеиназного ингибитора (α_1 -ПИ) при нефропатии		
Характеристика	Активность АПФ	Активность α_1 -ПИ
Чувствительность (Se), %	65,0	65,0
Специфичность (Sp), %	78,0	63,0
Прогностичность положительного результата (PV+), %	58,0	33,0
Прогностичность отрицательного результата (PV-), % протеинурии	87,0	86,0

мкмоль/мин · л). В дальнейшем, в течение года, у 3 (10%) детей в этой группе сформировалась ДН (стадия микроальбуминурии). В другой группе (22 больных) без осложнений выявлена низкая активность α_1 -ПИ (10-26 ИЕ/мл). В течение года у 15% больных с низкой активностью α_1 -ПИ также обнаружена микроальбуминурия. Очевидно, что высокая активность АПФ и низкая активность α_1 -ПИ имеют значение для прогнозирования развития нефропатии.

Роль калликреин-кининовой и ренин-ангиотензиновой систем в нарушении функции почек при СД типа 1



Взаимосвязь всех показателей представлена на схеме. Мы полагаем, что увеличение активности КК происходит на ранних этапах развития СД. На ранних стадиях СД под влиянием гипергликемии тонус приносящей артериолы почечного клубочка снижается, она «зияет» [2, 5], а стимуляция ККС приводит к еще большему расширению ее просвета. Это способствует усилению образования первичной мочи и полиурии (1-я и 2-я стадии ДН по С. Mogensen). В более поздние сроки заболевания с развитием нефропатии (стадии микроальбуминурии и протеинурии) повышается активность АПФ сыворотки крови, накапливается ангиотензин II, в результате чего происходит сужение выносящего почечного сосуда [5]. На этом же этапе наблюдается угнетение ККС на фоне выраженного дефицита ингибиторов протеолиза. Дисбаланс вазоактивных факторов, приводящий к изменению тонуса выносящей и приносящей артериол почечного клубочка и

повышению внутриклубочкового давления, ускоряет развитие ДН у детей.

Выводы

1. Активность калликреина плазмы крови детей с СД типа 1 повышается на ранних стадиях диабетической нефропатии. Стадии микроальбуминурии и протеинурии характеризуются увеличением активности ангиотензинпревращающего фермента. Дисбаланс активности калликреина и ангиотензинпревращающего фермента является одной из причин прогрессирования диабетической нефропатии у детей.

2. Высокая активность ангиотензинпревращающего фермента и дефицит α_1 -протеиназного ингибитора плазмы крови имеют диагностическую ценность для диабетической нефропатии. Определение этих показателей позволяет прогнозировать развитие осложнения при СД типа 1 у детей.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФНФ №03-06-00457а

Литература

1. Акмаев И.Г. // Сахарный диабет.- №1.- С.2-10.
2. Балаболкин М.И. Диабетология. – М.: «Медицина» – 2000.
3. Веремеенко К.Н. // Клиническая медицина.- 1985.- №12.- С.21-27.
4. Голиков П.П., Николаева Н.Ю. // Клиническая лабораторная диагностика.- 1998.- №1.- С.11-13.
5. Дедов И.И., Шестакова М.В. Диабетическая нефропатия М.: Универсум Паблишинг, 2000.- 237 с.
6. Древаль А.В., Риманчук Г.В., Лосева В.А. и др. // Пробл. эндокринологии.- 1997.- № 2.- С. 3-5
7. Кондратьева Е.И. Клинико-генеалогические и иммуно-метаболические механизмы формирования сахарного диабета типа 1 и его осложнений у детей и подростков и их значение в выборе стратегии реабилитации: Дис. ... д-ра мед. наук – Томск, 2001.
8. Нартикова В.Ф., Пасхина Т.С. // Вопросы медицинской химии.- 1979.- № 4.- С.494-499.
9. Пасхина Т.С., Кринская А.В. // Вопросы медицинской химии.- 1974.- Т.20.- вып. 6, С.660-663.
10. Суровкина М. // Врач, 1995.- №3.- С 7-10.
11. Becker J. // J.D.F. Bulletin 3.- 1996.- vol. 41.- Sept.- p. 34-35.
12. Mogensen C.E. // Diabetologia (1999) 42: 263-285
13. Rothshild A.M., Melo V.L., Reis M.L., Foss M.C., Gallo L. // Naunyn-Schmiedberg, s Arch Pharmacol (1999) 360: 217-220
14. Zuccollo A., Navarro M., Frontera M., Cueva F., Carattino M., Catanzaro O.L. // Immunopharmacology 1999 Dec; 45 (1-3): p. 69-74