

# ОСОБЛИВОСТІ МЕТАБОЛІЗМУ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ У ДІТЕЙ З ДІАБЕТИЧНОЇ НЕФРОПАТІЄЮ

Цимбал В.М.

Харківський національний медичний університет, м. Харків, Україна

**Ключові слова:** сполучна тканина, цукровий діабет, діабетична нефропатія, діти.

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) на сьогоднішній день 347 мільйонів людей у всьому світі хворі на цукровий діабет (ЦД), а до 2030 року діабет стане сьомою за значимістю причиною смерті [1,2]. За даними експертів ВООЗ більше 80% випадків смертей серед хворих на ЦД виникають внаслідок судинних ускладнень. Одним з найбільш частих, тяжких та прогностично несприятливих ускладнень ЦД є діабетична нефропатія (ДН). У багатьох країнах ДН найбільш поширена причина термінальної стадії хронічної ниркової недостатності (ХНН) [3,4]. Кожен третій хворий на ЦД 1-го типу та кожен четвертий хворий ЦД 2-го типу помирає від термінальної стадії ХНН (International Diabetes Federation, 2007). Очікується, що до 2020 року число хворих з термінальною нирковою недостатністю внаслідок ДН подвоїться.

Основним морфологічним субстратом для формування судинних ускладнень ЦД на тканинному рівні є сполучна тканина. Незважаючи на інтенсивні дослідження, багато аспектів формування ДН, особливо її допротейнуретичних стадій, недостатньо вивчені. Раннє виявлення порушень метаболізму сполучної тканини може скласти основу профілактики прогресування ДН у напрямку ХНН у пацієнтів хворих на ЦД. А також дозволить визначити прогностичне значення показників обміну колагену у хворих на ЦД, їх зв'язок з метаболічними порушеннями та ризик розвитку судинних ускладнень.

**Мета роботи:** вивчити особливості обміну сполучної тканини у дітей, що страждають на ЦД 1-го типу.

**Об'єкт і методи дослідження.** Обстежено 67 дітей (34 хлопчики і 33 дівчинки), хворих на ЦД 1-го типу віком від 6 до 17 років. Залежно від тривалості захворювання, пацієнти були розділені на групи: 1-а група (n=12, середній вік 14,64 ± 1,63 років) з тривалістю захворювання до 1 року, 2-а група (n=25, середній вік 12,09 ± 0,93 років) з тривалістю захворювання від 1 до 5 років, 3-я група (n=14, середній вік 13,21 ± 0,89 років) з тривалістю ЦД понад 5 років і нормальбумінурією, 4-а група (n=15, середній вік 15,46 ± 0,57 років) з тривалістю захворювання більше 5 років та ДН в стадії мікроальбумінурії (МАУ). До групи контролю включені 20 практично здорових дітей аналогічного віку, які не мали скарг, клінічних ознак, анамнестичних даних, які б свідчили про наявність якогось-небудь хронічного захворювання та протягом останніх двох місяців гострих.

Пацієнти були обстежені згідно з протоколами діагностики та лікування дітей, хворих на ЦД [5]. Визначення

рівня МАУ в добовій сечі проводили шляхом осаду поліетиленгліколю комплексом "антиген-антитіло" методом кінцевої точки за допомогою стандартного набору виробництва I.S.E.S.r.l. (Італія). Визначення швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) – проводили розрахунковим шляхом за формулою Шварца. Додатково визначали вміст глікозаміногліканів (ГАГ), оксипроліну (ОП), вітаміну С, колагенази таколагенолітичну активність (КЛА) у сечі. Визначення КЛА проводили за сумарною кількістю (при ферментативному гідролізі) вільного та пептидно-зв'язаного оксипроліну в пробі, що діагностується; ГАГ – за методом Gold (1981) у модифікації (Пауль, 1995) визначали в сироватці крові з використанням трихлороцтової кислоти і відомої карбазольної реакції, яка забезпечує фіолетово-рожеве забарвлення. Фотометрування досліджуваних зразків проб здійснювали при довжині хвилі 530нм. Вітамін С визначали за біохімічним методом, який заснований на спроможності вітаміну С відновлювати 2,6-дихлорфеноліндофенол. Статистичний аналіз даних проводили за допомогою статистичних пакетів "Excell for Windows" та "Statistica 7.0. for Windows". В якості характеристики групи для ознак з розподілом відповідним до закону Гаусса визначали середнє арифметичне значення ( $\bar{x}$ ), його статистичну похибку (S), стандартне відхилення (S). Для вибірок з розподілом відмінним від нормального визначали медіану (Me) та інтерквартильний розмах (Lq – нижній квартиль; Uq – верхній квартиль). Для порівняння двох вибірок використовували непараметричний U-критерій Манна-Уїтні (MW). Різницю параметрів, що порівнювали за двома точками, вважали статистично значущою при  $p < 0,05$ . При порівнянні показників, які характеризувалися порівнянням більше 2 точок, використовували H критерій дисперсійного аналізу Краскла-Уолліса (KW), а відмінності вважали вірогідними з урахуванням поправки Бонферроні (при порівнянні декілької груп із загальним контролем  $p' = p/m-1$ , де m – кількість груп в експерименті). Оцінку зв'язку між рядами показників визначали за допомогою методу рангової кореляції Спірмана (r).

**Результати та їх обговорення.** У дітей всіх груп встановлено наявність тривалої гіперглікемії, що підтверджує високий рівень глікозильованого гемоглобіну (HbA1c), без групових відмінностей (всі  $p < 0,05$ ) (табл. 1).

У 20% пацієнтів 1-ї групи (ШКФ – 136 ± 3,9 мл/хв) та 32% хворих 2-ї групи (ШКФ – 143 ± 4,75 мл/хв), спостерігалася тенденція до гіперфільтрації. У 30% пацієнтів 3-ї групи та

40% хворих 4-ї групи зафіксовано зниження ШКФ ( $88 \pm 3,4$  мл/хв та  $85 \pm 4,8$  мл/хв відповідно). Щодо вочевидь, пов'язано з виснаженням фізіологічних компенсаторних механізмів та прогресуванням ДН.

Результати статистичного аналізу показників обміну сполучної тканини в сечі у дітей хворих на ЦД 1-го типу представлені в табл. 2.

Після проведеного множинного порівняння статистичних характеристик показників обміну сполучної тканини відзначимо, що критерій Краскла-Уолісса (H) за всіма параметрами високо значущий (табл. 3). Це дає право стверджувати, що статистичні характеристики відповідних показників різних груп значуще відрізняються між собою, а рівень лабораторних показників, які досліджувалися, залежить від приналежності пацієнта до тієї чи іншої групи.

Дослідження вмісту оксипроліну в сечі визначило статистично значуще підвищення його рівня, в порівнянні з контролем, у дітей всіх груп (відповідно  $p_k-1=0,0028$ ,  $p_k-2=0,0000$ ,  $p_k-3=0,0000$ ,  $p_k-4=0,0000$ ). При попарному порівнянні визначені достовірні відмінності між відповідними показниками дітей всіх груп (див. табл. 3). При дослідженні рівня колагенази визначено статистично значуще підвищення цього показника у хворих всіх груп в порівнянні з групою контролю (відповідно  $p_k-1=0,0000$ ,  $p_k-2=0,0000$ ,  $p_k-3=0,0000$ ,  $p_k-4=0,0000$ ). При попарному порівнянні визначені достовірні відмінності між відповід-

ними показниками дітей всіх груп (див. табл. 3). Рівні КЛА в порівнянні з контролем, у пацієнтів всіх груп були достовірно вище (відповідно  $p_k-1=0,0000$ ,  $p_k-2=0,0000$ ,  $p_k-3=0,0000$ ,  $p_k-4=0,0000$ ). При попарному порівнянні визначені достовірні відмінності між відповідними показниками дітей всіх груп (див. табл. 3).

При дослідженні рівнів ГАГ визначено статистично значуще підвищення рівня цього показника у пацієнтів 2-ї та 4-ї груп, у порівнянні з групою контролю (відповідно  $p_k-2=0,0000$ ,  $p_k-4=0,0000$ ). Показник ГАГ достовірно не відрізнявся у дітей 1-ї та 3-ї групи в порівнянні з контролем (відповідно  $p_k-1=0,135$  та  $p_k-3=0,318$ ). При попарному порівнянні визначені достовірні відмінності між відповідними показниками дітей всіх груп (див. табл. 3). Рівні вітаміну С в сечі, в порівнянні з контролем, у пацієнтів всіх груп були достовірно нижче (відповідно  $p_k-1=0,0000$ ,  $p_k-2=0,0000$ ,  $p_k-3=0,0000$ ,  $p_k-4=0,0000$ ). При попарному порівнянні визначені відмінності (відповідно  $p_1-2=0,0000$ ,  $p_1-3=0,0002$ ,  $p_1-4=0,0000$ ,  $p_2-3=0,0000$ ,  $p_3-4=0,0000$ ). Показник вітаміну С достовірно не відрізнявся у пацієнтів 2-ї та 4-ї груп ( $p_2-4=0,135$ ).

**Обговорення.** Проведене дослідження показало, що розвиток діабетичної нефропатії характеризується якісними кількісними змінами складу колагену нирок, порушенням рівноваги між синтезом та розпадом колагену, складними порушеннями обміну сульфатованих глікозаміногліканів. Зафіксоване підвищення КЛА сечі в хворих

Таблиця 1.

## Статистичні характеристики деяких показників перебігу ЦД

Показник	Статистичні показники	Діти, хворі на ЦД			
		1-а гр. (n=12)	2-а гр. (n=25)	3-а гр. (n=14)	4-а гр. (n=15)
Hb1Ac, %	Me	11,86	11,41	12,28	12,65
	Lq	8,13	8,9	10,45	9,98
	Uq	14,41	14,4	13,32	13,82
ШКФ, мл/хв	Me	128	122	104	106
	Lq	124	108	69	77
	Uq	136	138	124	117
МАУ, мг/добу	Me	8,6	12,3	11,9	46,8
	Lq	6,0	6,2	7,0	35,6
	Uq	10,9	20,4	19,7	57,4

Таблиця 2.

## Статистичні характеристики показників обміну сполучної тканини сечі у дітей хворих на ЦД 1-го типу

Показник	Статистичні показники	Діти, хворі на ЦД				Контроль (n=20)
		1-а гр. (n=12)	2-а гр. (n=25)	3-а гр. (n=14)	4-а гр. (n=15)	
Оксипролін, мкмоль/л	Me	16,71*	22,75*	17,55*	20,35*	16,31
	Lq	16,47	21,8	17,35	19,7	16,24
	Uq	16,8*	24,12	17,7*	21,35	16,45
ГАГ, мг ГАГ/ммоль креат	Me	5,87	8,66*	6,57	8,95*	6,47
	Lq	5,81	8,35	6,38	8,75	5,82
	Uq	5,94	8,85	6,80	9,2	6,67
КЛА, мкмоль оксипроліна/л • год	Me	17,45*	19,75*	18,25*	21,5*	8,01
	Lq	16,69	19,33	17,8	20,95	7,8
	Uq	18,2	20,12	19,15	22,1	8,17
Вітамін С, мг %	Me	0,36*	0,27*	0,32*	0,26*	0,38
	Lq	0,35	0,25	0,31	0,25	0,37
	Uq	0,37	0,28	0,34	0,27	0,39

Примітка. \* –  $p < 0,05$  при порівнянні з показниками групи контролю.

Статистичні характеристики множинного та попарного порівняння показників обміну сполучної тканини в сечі в обстежених дітей з ДН

Статистичні критерії порівняння та рівень їх значущості		ОП	ГАГ	КЛА	Вітамін С
KW	H	74,2255	68,53199	75,26073	71,6282
	p	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
MW	p*	p1-2 =0,0000	p1-2 =0,0000	p1-2 =0,0000	p1-2 =0,0000
		p1-3 =0,0000	p1-3 =0,0000	p1-3 = 0,04	p1-3 =0,0002
		p1-4 =0,0000	p1-4 =0,0000	p1-4 =0,0000	p1-4 =0,0000
		p2-3 =0,0000	p2-3 =0,0000	p2-3 =0,0000	p2-3 =0,0000
		p2-4 =0,0004	p2-4 =0,0017	p2-4 =0,0000	p2-4 =0,135
		p3-4 =0,0000	p3-4 =0,0000	p3-4 =0,0000	

Примітка.\* – Згідно поправки Бонферроні достовірність відмінностей при  $p < 0,0125$ .

з ЦД можна розглядати з двох позицій. Відомо, що сумарна КЛА складається з активності ферментів лізосомального й нелізосомального походження, насамперед матричних металопротеїназ (колагеназ, желатиназ) і катепсинів [6]. Вочевидь, високий рівень КЛА в сечі зв'язаний із підвищенням КЛА в сироватці крові, дія якої спрямована на попередження експансії екстрацелюлярного матриксу. З іншого боку, якщо взяти до уваги вірогідне зростання рівнів ГАГ у сечі хворих можна розцінити високий рівень КЛА сечі як втрату колагенолітичних ферментів крізь пошкоджений нирковий бар'єр. Підвищення рівню ГАГ можливе за умов посилення катаболізму протеогліканів базальної мембрани та мезангія клубочків [7]. Тому вірогідне зростання екскреції ГАГ у дітей, хворих на ЦД, можна пояснити збільшенням проникності ниркового бар'єру й зменшенням ступеня його селективності. Таким чином, скидання колагенолітичних ферментів крізь пошкоджений бар'єр у сечу буде призводити до дефіциту в сироватці крові ферментів, які розщеплюють колаген, що, в свою чергу, буде сприяти надмірній акумуляції екстрацелюлярного матриксу, розвитку склерозу в нирці [8]. На посилення склеротичних процесів у тубулярному відділі нирки може вказувати підвищений рівень вільного ОП. Імовірно, підвищений вміст цієї амінокислоти в сечі пов'язаний з порушенням внутрішньоклітинного метаболізму в проксимальному відділі нефрону, що призводить до збільшення рівня реабсорбції оксипроліну [6,9]. Визначений дефіцит вітаміну С у сечі обстежених дітей з ЦД лише поглиблює порушення метаболізму сполучної тканини. Аскорбінова кислота виконує роль відновника, сприяючи підтримці заліза в двухвалентному стані, що, в свою чергу, є умовою для гідроксилювання проліну й лізину. Гідроксилювання проліну необхідно для створення стабільної трьохспіральної структури колагену, а лізину – для створення ковалентних зв'язків між молекулами колагену під час продукції колагенових структур. При недостатності вітаміну С синтез колагену порушується на стадії гідроксилювання. У результаті цього утворюються менш міцні й стабільні колагенові волокна, що призводить до великої крихкості та ламкості кровоносних судин [7, 10].

Таким чином, проведене дослідження з'ясувало, що в дітей із ЦД 1-го типу спостерігаються глибокі порушення

метаболізму сполучної тканини. Наявність зв'язку між рівнями показників обміну сполучної тканини та тривалістю ЦД, високий ступінь дискримінації за цими показниками дозволяють ці параметри використовувати в ролі тестів для клінічного моніторингу під час об'єктивного оцінювання структурно-функціональних змін у нирці, прогнозу прогресування ДН у напрямку ХНН, здійснення контролю за ефективністю патогенетичної терапії.

**Перспективи подальших досліджень.** Ураховуючи, що формування та прогресування ДН відбувається ще до появи МАУ, потребує подальших досліджень пошук ранніх біомаркерів тубулоінтерстиційних пошкоджень та їх зв'язок з показниками метаболізму сполучної тканини, що дозволить вивчити механізми формування та прогресування ДН та обґрунтувати засоби адекватної ренопротекції.

Рецензент: д.мед.н., професор Тяжка О.В.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Інформаційний бюлетень ВООЗ №312, вересень 2012 р.
2. Сенаторова А.С. Сахарный диабет от ребенка до взрослого / А.С. Сенаторова, Ю.И. Караченцев и др. – Монография. – Харьков: Изд-во ХНМУ, 2009. – С. 94-96.
3. Stevens PE, Levin A. Evaluation and management of chronic kidney disease: synopsis of the kidney disease: improving global outcomes 2012 clinical practice guideline / PE. Stevens, A. Levin. – *Ann Intern Med.* – 2013. – V. 158. – P. 825–830.
4. John Chan. Diabetic Nephropathy / Chan John. – *InTech, Published: April 20, 2012.* – P. 3-5.
5. Про затвердження протоколів надання медичної допомоги дітям за спеціальністю "Дитяча ендокринологія": протокол надання медичної допомоги дітям хворим на цукровий діабет. Наказу МОЗ України № 254 від 27.04.2006.
6. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Основы общей патологии. Основы патохимии / А.Ш. Зайчик, Л.П. Чурилов. – Санкт-Петербург: Изд-во ЭЛБИ – 2000. – 688 с.
7. Курникова И.А., Маслова И.С. Дисплазия соединительной ткани: прогностическое значение в диабетологии / И.А. Курникова, И.С. Маслова. – Монография. – LAMBERT Academic Publishing. – 2011. – 116 с.
8. Tolouian R., Hernandez G. Prediction of diabetic nephropathy: The need for a sweet biomarker / R. Tolouian, G. Hernandez. – *Nephrothol.* – 2013. – V. 2(1). – P. 4-5.
9. Ziyadeh FN, Wolf G. Pathogenesis of the podocytopeny and proteinuria in diabetic glomerulopathy / FN.Ziyadeh, G.Wolf. – *Current Diabetes Reviews.* – 2008. – V. 4(1). – P. 39–45.
10. Kanwar Y.S., Wada J. Diabetic nephropathy: mechanisms of renal disease progression / Y.S. Kanwar, J. Wada [et al.]. – *E. Biol. Med. (Maywood).* – 2008. – V. 233(1). – P. 4–11.

**ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА  
СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ У ДЕТЕЙ  
С ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕФРОПАТИЕЙ**

Цымбал В.Н.

Харковский национальный медицинский  
университет, г. Харьков, Украина

**Резюме.** С целью выяснения особенностей метаболизма соединительной ткани обследовано 67 детей больных сахарным диабетом. Определяли уровни коллагенолитической активности, гликозаминогликанов, оксипролина и витамина С в моче. Выявлены глубокие нарушения метаболизма соединительной ткани у детей всех групп. Установлены связи между уровнями показателей обмена соединительной ткани и длительностью заболевания. Предложено использовать эти параметры в качестве тестов клинического мониторинга для объективной оценки структурно-функциональных изменений в почке, прогноза прогрессирования диабетической нефропатии.

**Ключевые слова:** соединительная ткань, сахарный диабет, диабетическая нефропатия, дети.

**METABOLISM FEATURES OF CONNECTIVE  
TISSUE AT CHILDREN WITH DIABETIC  
NEPHROPATHY**

V. Tsybal

Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine

**Summary.** 67 children with diabetes mellitus type 1 were examined for finding out of metabolism features of connective tissue. The levels of collagenolytic activity, glycosaminoglycans, oxypoline, vitamin C in urine were investigated. The metabolism disorders of connective tissue were exposed for the children of all groups. Connections between the levels of connective tissue indexes and duration of disease were revealed. It was proposed to use these parameters as the clinical monitoring tests for the objective estimation of structural and functional changes in kidney, prognosis of diabetic nephropathy progress.

**Key words:** metabolism of connective tissue, diabetes mellitus, diabetic nephropathy, children.