Н.В. Габбасова

ПРОТЕОМНЫЙ СПЕКТР МОЧИ И КАЧЕСТВО САМОКОНТРОЛЯ САХАРНОГО ДИАБЕТА 1 ТИПА У ДЕТЕЙ

ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России

Резюме. Многочисленные клинические исследования продемонстрировали, что улучшение гликемического контроля обусловливает значительное снижение риска микро- и макрососудистых осложнений сахарного диабета, в том числе развитие диабетической нефропатии.

Целью работы было изучение влияние качества самоконтроля сахарного диабета 1 типа у детей на функциональное состояние нефрона, определяемому по протеомному профилю мочи.

Материалы и методы. Было обследовано 308 пациентов с сахарным диабетом 1 типа. В зависимости от качества самоконтроля (регулярность введения инсулина, контроль гликемии, соблюдение диеты и режима физических нагрузок) было выделено 4 группы больных: от неудовлетворительного до отличного качества самоконтроля. Уропротеинограммы изучены методом автоматизированного электрофореза в градиентном 8 – 25% полиакриламидном геле.

Результаты**.** Было подтверждено благоприятное влияние хорошего самоконтроля на течение диабета: была установлена обратная корреляционная зависимость между уровнем самоконтроля и гликемией, липидемией, средними цифрами артериального давления, наличием протеинурии в общеклинических анализах мочи и других показателей. В то же время анализ состава уропротеинограмм у больных с сахарным диабетом 1 типа в зависимости от уровня контроля не показал каких-либо значимых различий белкового профиля мочи. Проведенное исследование состояния нефрона подтверждает возможность развития диабетической нефропатии даже при отличном самоконтроле заболевания.

Ключевые слова: диабетическая нефропатия, протеомный профиль мочи, самоконтроль.

Актуальность. Диабетическая нефропатия является одной из ведущих причин хронической почечной недостаточности во многих странах Европы и Америки [4]. В большинстве случаев заболевания почек длительное время протекают латентно без каких-либо субъективных и объективных симптомов. Рутинные методы лабораторной диагностики, используемые в повседневной клинической практике, не дают возможности выявлять ранние стадии диабетической нефропатии, когда экскреция альбумина с мочой остается нормальной. Появление персистирующей протеинурии свидетельствует уже о необратимой стадии диабетической нефропатии, когда остановить гломерулосклероз невозможно, возможно лишь замедление темпов прогрессирования хронической болезни почек.

Дебют инсулинозависимого сахарного диабета (СД1) чаще наблюдается в детском возрасте, дебют клинической стадии диабетической нефропатии – во взрослом. Поэтому закономерности возникновения и развития почечной патологии следует изучать у детей. В недавнем исследовании уропротеинограмм у детей с сахарным диабетом 1 типа (СД1) с помощью метода автоматизированного электрофореза были показаны возможности оценки функционального состояния почек на основании анализа белкового профиля мочи [1]. При наличии протеинурии в

общеклинических анализах (при клинической стадии диабетической нефропатии) в 100% случаев определялись патологические типы уропротеинограмм, представленные преимущественно смешанной протеинурией, свидетельствующей о вовлечении в патологический процесс, как клубочков, так и канальцев нефрона. При отсутствии белка в общеклинических анализах мочи более чем в половине процентов случаев белковые профили мочи больных СД 1 были патологическими.

Главным фактором, определяющим развитие и прогрессирование диабетических микроангиопатий, является длительность гипергликемии. Еще более четверти века назад многочисленные международные клинические исследования продемонстрировали, что улучшение гликемического контроля обусловливает значительное снижение риска микро- и макрососудистых осложнений сахарного диабета [9]. В крупнейшем исследовании DCCT (Diabetes Control and Complications Trial) по контролю инсулинозависимого сахарного диабета и его осложнений в группе интенсивного контроля гликемии было продемонстрировано снижение риска развития нефропатии на 50%.

Эффективность лечения диабета и его осложнений напрямую зависит от настроенности пациентов к самоконтролю: контролю гликемии, соблюдению диеты, дозированным физическим нагрузкам.

Целью работы было изучение протеомного профиля мочи, отражающего функциональное состояние нефрона, в зависимости от качества самоконтроля сахарного диабета 1 типа у детей.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования явились 308 пациентов с сахарным диабетом I типа в возрасте 5 – 17 лет, мальчиков/девочек – 156/152, наблюдавшихся в 1995 – 2006 г.г. в областной детской клинической больнице № 1 г. Воронежа. Почти 90% детей были препубертатного и пубертатного возраста (старше 7 лет). Все пациенты ежегодно проходили клинико-лабораторное обследование, было проанализировано 578 карт больных с диабетом и проведена оценка самоконтроля, под которым подразумевали качество участия пациентов в лечении СД1: контроль гликемии, регулярность введения инсулина, соблюдение диеты и режима физических нагрузок.

Количество белка мочи измеряли турбидиметрическим методом с сульфосалициловой кислотой. Качественный состав белка мочи (n=448) был изучен у 243 больных (у большинства неоднократно) методом автоматизированного электрофореза в градиентном 8 – 25% полиакриламидном геле с детергентом додецилсульфатом натрия на аппарате PhastSystem, (фирмы Pharmacia, Швеция). Разрешающая способность метода – 0,3 мг/л.

Контрольную группу составили 20 здоровых детей от 3 до 16 лет. Белковый профиль мочи у детей контрольной группы был представлен изолированной экскрецией альбумина до 26 мг/л - физиологическим типом уропротеинограмм. Маркерами клубочковой протеинурии являются белки с молекулярной массой более 60 кДа (альбумин, пре- и постальбумины, трансферрин, гаптоглобин, димерный

альбумин, иммуноглобулин G). Маркерами канальцевой протеинурии являются белки с молекулярной массой менее 60 кДа (рибонуклеаза, лизоцим, β2-микроглобулин, легкие цепи IgG, α1-микроглобулин, α1-кислый гликопротеид). Присутствие в уропротеинограмме клубочковых и канальцевых протеинов свидетельствовало о смешанной протеинурии.

При статистической обработке результатов для определения достоверности различий среднеарифметических и частотных показателей использовали критерий t Стьюдента, критический уровень значимости p принимался равным 0,05.

Полученные результаты и их обсуждение. В зависимости от качества самоконтроля (регулярность введения инсулина, контроль гликемии, соблюдение диеты и режима физических нагрузок) было выделено 4 группы больных: I группа – с неудовлетворительным самоконтролем, n=51; II – с удовлетворительным, n=217; III – с хорошим, n=276; IV – с отличным качеством самоконтроля, n=34. Характеристика больных приведена в таблице 1.

Таблица 1.

Характеристика больных СД1 в зависимости от уровня самоконтроля

Показатели	I группа n=51	II группа n=217	III группа n=276	IV группа n=34
Возраст, лет M±m	13,21±0,39	13,07±0,19	12,08±0,20	13,68±0,90
Стаж СД1, лет, M±m	5,09±0,44	4,60±0,18	4,39±0,21	5,15±0,47
Б/х ан.крови, M±m: общ.белок, г/л холестерин, мМ/л В-липопр-ды, мг% Мочевина, мМ/л Креатинин, мг% Глюкоза, мМ/л миним. максим.	 73,09±1,40 5,72±0,26 598,8±35,2 5,29±0,27 0,96±0,04 9,13±0,65 20,14±0,69	 71,85±0,51 4,81±0,09 425,2±9,52 5,38±0,10 0,91±0,01 7,63±,27 17,84±0,30	 71,97±0,53 4,73±0,08 404,5±8,63 5,20±0,08 0,89±0,01 6,82±0,22 15,74±0,32	 73,60±1,28 4,53±0,29 412,0±25,2 5,38±0,42 0,97±0,03 5,44±0,65 14,22±0,98
АД, мм рт.ст., M±m систолич. диастолич.	 114,2±2,68 71,8±2,27	 110,5±0,96 67,8±0,78	 109,5±0,82 67,4±0,68	 104,38±2,92 65,0±2,37
КОК, мл/мин/1,73 M±m	146,9±17,3	168,2±9,7	151,1±6,7	155,6±17,37
Изменения на гл.дне, n - %	31 – 60,78	70 – 32,25	97 – 35,14	11 – 32,35
Изменения на ЭКГ, n - %	25 – 49,02	51 – 23,50	75 – 27,17	11 – 32,35
Потребность в инсулине, Ед/кг	0,88±0,03	0,83±0,01	0,77±0,01	0,76±0,04

Больные в выделенных группах были сопоставимы по возрасту и стажу СД1. Средний возраст исследованных больных 12 – 13 лет и стаж диабета 4,5 – 5 лет отражали период становления диабетической нефропатии. Серьезным биологическим и психоэмоциональным изменениям в организме подростков часто сопутствовало

лабильное течение диабета, связанное с несоблюдением принципов самоконтроля и нарушению режимов инсулинотерапии.

Уровень самоконтроля оказывал влияние на большинство изучаемых показателей. Обратная корреляционная зависимость была установлена между гликемией и уровнем самоконтроля (r=-0,73, p=0,008); изменения минимального и максимального уровня гликемии во время нахождения в стационаре в исследованных группах больных представлены на рисунке 1, различия между группами были достоверны (p<0,05-0,001).

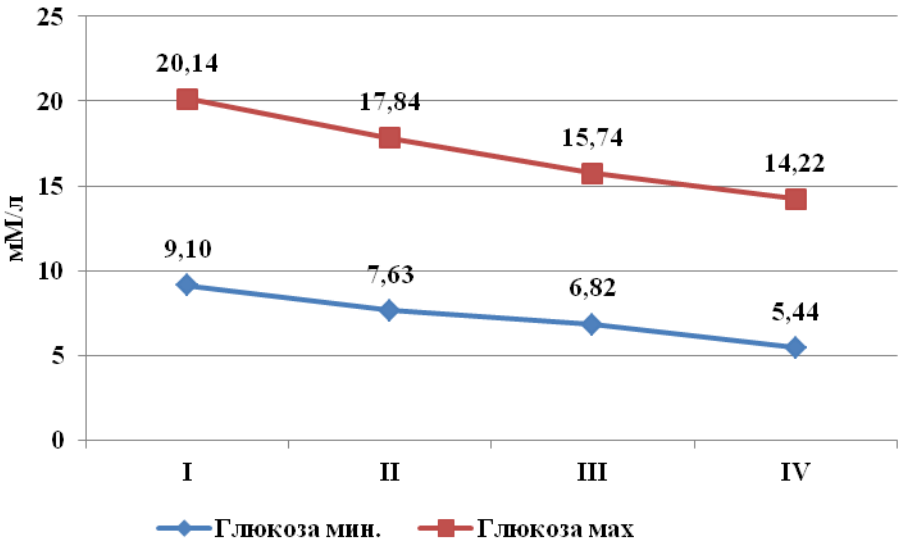

Рис. 1. Уровень гликемии в исследованных группах больных СД1.

У пациентов 1 группы (с неудовлетворительным уровнем самоконтроля) концентрация в крови холестерина, β-липопротеидов была значимо выше по сравнению с 2й – 4й группами (p<0,05-0,001). Липидному профилю у больных с сахарным диабетом придается большое значение. И, хотя большинство исследований относится к диабету 2 типа, несомненна роль дислипидемии в развитии микро- и макроангиопатий у больных с СД1 [6, 7, 10]. Несмотря на то, что концентрация холестерина и β-липопротеидов превышали нормативы всего в 15% случаев, корреляционная зависимость слабой силы наблюдалась между гликемией и концентрациями холестерина (r=0,20) и β-липопротеидов (r=0,38), p<0,05. Между уровнем самоконтроля и концентрациями холестерина и β-липопротеидов получена обратная корреляционная зависимость (теснота связи слабая), r=-0,17-0,26; p<0,05.

Показатели артериального давления (систолического, диастолического) с увеличением оценки по самоконтролю планомерно уменьшались, однако достоверные различия были выявлены только между Iой и IVой группами пациентов. Изменения на глазном дне и на ЭКГ достоверно чаще наблюдались у пациентов Iй группы по сравнению с остальными (p<0,05). С улучшением контроля значимо уменьшалась потребность в инсулине (r=-0,5, p=0,045), табл. 1.

У детей IV группы (с отличным самоконтролем), по сравнению с остальными, достоверно чаще определялось состояние субкомпенсации (p=0,00001; ОР=16,97; ДИ

7,47 – 38,57). С улучшением самоконтроля достоверно уменьшались эпизоды декомпенсаций с кетозом (p<0,05-0,001), рис. 2.

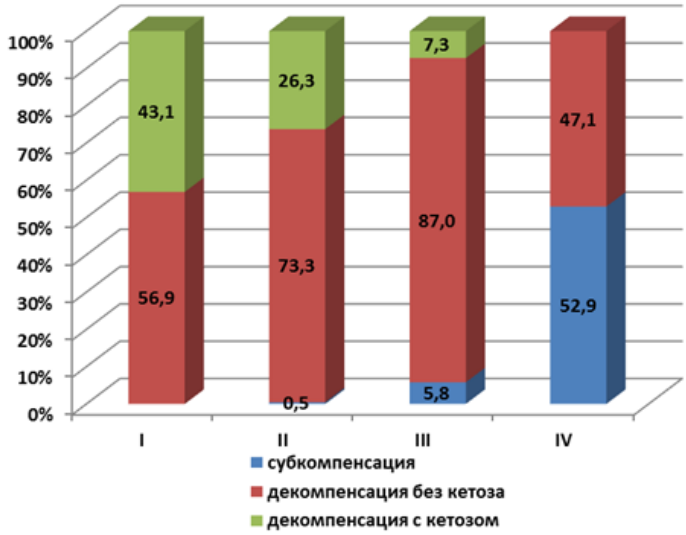

Рис. 2. Стадии СД1 в исследованных группах больных, %.

Протеинурия в общеклинических анализах наблюдалась почти у половины (47,06%) пациентов Iй группы, что было значимо чаще и по частоте, и по концентрации по сравнению с другими группами (p<0,05), в которых протеинурия наблюдалась в 31,34% - 26,47% случаев, табл. 2. Патологическая бактериурия определялась достоверно чаще у больных с неудовлетворительной оценкой по контролю СД1 по сравнению другими группами (50,98% против 6,45 – 0%, p<0,001).

Таблица 2.

Характеристика мочевого синдрома в исследованных группах больных СД1

Показатели	I группа n=51	II группа n=217	III группа n=276	IV группа n=34
Белок мочи n - % г/л, M±m	24 – 47,06 0,472±0,12	68 – 31,34 0,155±0,02	81 – 29,35 0,373±0,13	9 – 26,47 0,183±0,09
Снижение ф-ции концентрирования n - %	19 – 37,25	92 – 42,40	99 – 35,87	10 – 35,71
Бактериурия (патологич.), n - %	26 – 50,98	14 – 6,45	17 – 6,16	-

Сопоставление клинико-лабораторных показателей в настоящем исследовании свидетельствовало о значимой эффективности самоконтроля диабета у детей. На момент исследования белкового профиля мочи в большинстве случаев протеинурия в общеклинических анализах мочи отсутствовала – 77,78% - 88,89%. Был проведен анализ 448 уропротеинограмм: 36 в I-й группе, 154 во II-й, 221 в III-й и 27 в IV-й. Средние цифры концентрации белка мочи и частота протеинурии, определяемые в общеклинических анализах, представлены на рисунке 3. Значимо различались только показатели протеинурии у пациентов III и IV групп (p<0,05).

Результаты анализа уропротеинограмм представлены на рисунке 4.

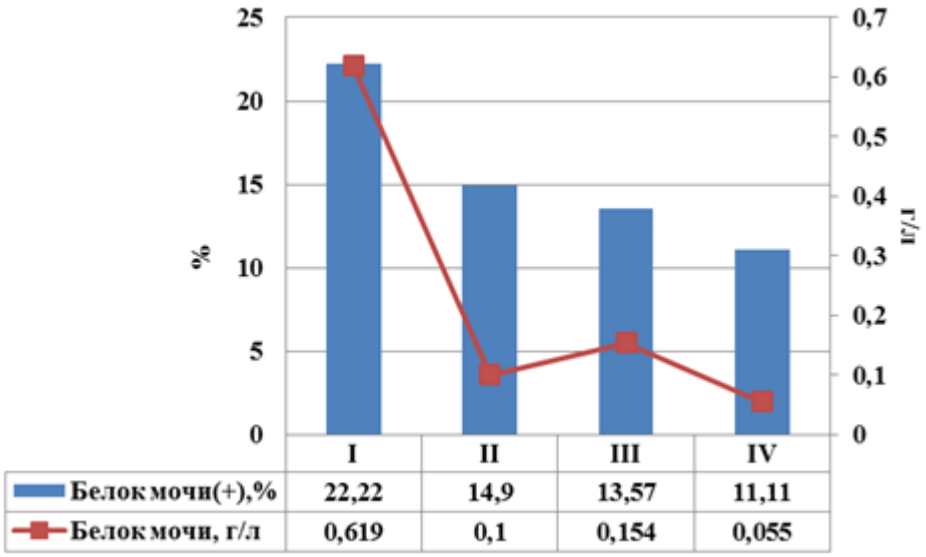

Рис. 3. Частота и величина протеинурии в исследованных группах больных СД1 на момент исследования уропротеинограмм.

Результаты анализа уропротеинограмм представлены на рисунке 4.

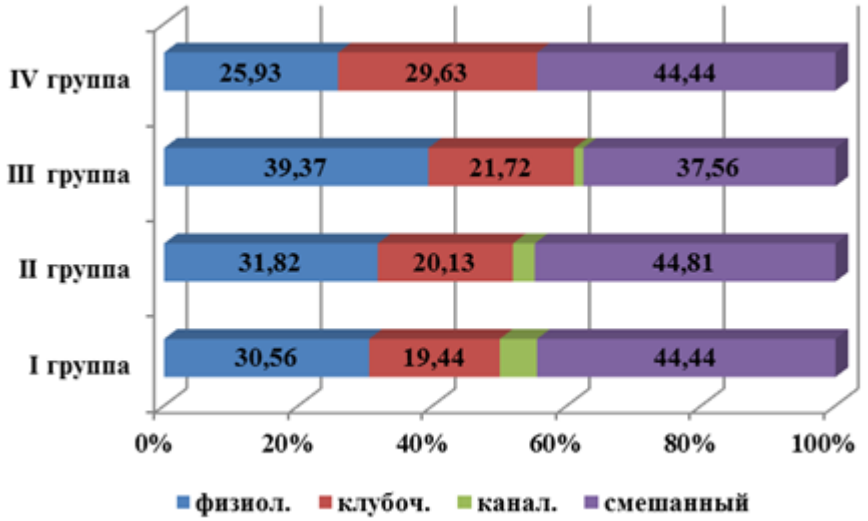

Рис. 4. Частота встречаемости различных типов протеинурии в исследованных группах больных СД1.
Использованные сокращения: физиол. – физиологический, клубоч. – клубочковый, канал. – канальцевый.

Как видно из рисунка 4, частота встречаемости физиологической протеинурии у больных 5й группы (с отличным самоконтролем) была наименьшей (25,93% против 30,56% - 39,37%), смешанный тип протеинурии наблюдался одинаково часто во всех исследованных группах (37,56% - 44,81%) без достоверных различий друг с другом. По отношению к частоте встречаемости выделенных типов протеинурии значимых различий не наблюдалось.

Оценку качественного состава белка мочи целесообразно проводить отдельно при отсутствии белка в общеклинических анализах мочи и при его наличии, что было показано в нашем недавнем исследовании [1]. Поэтому ожидаемым результатом было бы то, что у пациентов IV группы (с отличным самоконтролем), у которых частота

определяемой общеклиническим методами протеинурии была наименьшей, частота встречаемости физиологического типа протеинурии должна была бы быть наибольшей. Однако, полученные в настоящем исследовании результаты протеомных профилей мочи у детей в зависимости от уровня самоконтроля СД1 свидетельствуют об отсутствии различий в типах протеинурии. Не было различий и при отдельном анализе степеней дисфункции клубочков и канальцев нефрона при отсутствии белка в анализах мочи и при его наличии у пациентов с различным качеством самоконтроля диабета.

Многочисленные исследования свидетельствуют о том, что осложнения при сахарном диабете имеются как у пациентов с нормальной экскрецией альбумина, так и с повышенной, а также то, что микроальбуминурию нельзя рассматривать как маркер других микроангиопатий [8]. Настоящее исследование подтверждает возможность развития изолированной нефропатии даже при отличном самоконтроле заболевания и отсутствии изменений со стороны большинства клинико-лабораторных показателей.

В последние годы повышенное внимание уделяется изучению генетической обусловленности СД1, а также иммунным механизмам поражения нефрона [2, 3, 5]. Протеомный профиль мочи позволяет выявлять признаки диабетической нефропатии еще при небольшом стаже заболевания при отсутствии изменений клинико-лабораторных показателей, что может отражать генетическую обусловленность поражения почек. Возможно, такая предрасположенность проявляется индивидуальной низкой резистентностью почечной ткани к гипергликемии.

Выводы. Изучение протеомного профиля мочи относится к приоритетным направлениям биомедицинских исследований. Протеомные технологии позволяют не только осуществлять раннюю диагностику нефропатий, но и дают возможность мониторировать эффективность лечения и самоконтроля сахарного диабета. Проведенное исследование состояния нефрона в зависимости от уровня самоконтроля продемонстрировало развитие диабетической нефропатии даже у детей с отличным уровнем самоконтроля заболевания и при отсутствии изменений со стороны большинства клинико-лабораторных показателей. Патологический протеомный профиль мочи у пациентов с СД1 позволяет не только уточнить уровень поражения нефрона, но и может отражать генетическую предрасположенность к формированию почечной патологии и осуществлять персонализированный подход к пациентам.

Литература.

1. Габбасова Н.В. Исследование белкового спектра мочи у больных сахарным диабетом 1 типа / Н.В. Габбасова, Н.П. Куприна // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2008. – Т.87, № 5. – С. 11-16.

2. Иммуногенетика сахарного диабета 1-го типа / Р.А. Хаитов, Л.П. Алексеев, И.И. Дедов, А.И. Болдырева, М.В. Шестакова, Д.Ю. Трофимов, Т.Л. Кураева, В.А. Петеркова // Иммунология. - 2008. - Т. 29, № 4. - С. 233-237.

3. Клиническая значимость определения HLA-DRB1-генотипов, ассоциированных с предрасположенностью или устойчивостью к сахарному диабету 1 типа, в различных этнических группах России / Л.П. Алексеев, И.И. Дедов, Р.М. Хаитов, М.Н. Болдырева, М.В. Шестакова, В.А. Петеркова, Т.Л. Кураева, С.А. Прокофьев // Сахарный диабет. - 2007. - № 2. - С. 2-5.

4. Хроническая болезнь почек и нефропротективная терапия: методическое руководство для врачей / М.Ю. Швецов [и др.] ; под ред. Е.М. Шилова. – Москва, 2012. – 83 с.

5. Шамхалова М.Ш. Факторы тубулоинтерстициального поражения почек при сахарном диабете / М.Ш. Шамхалова, К.О. Курумова, М.В. Шестакова // Сахарный диабет. - 2009. - № 4. - С.61 – 64.

6. Шестакова М.В. Диабетическая нефропатия: прорывы в диагностике, профилактике и лечении / М.В. Шестакова, Л.А. Чугунова, М.Ш. Шамхалова // Клиницист. - 2007. - № 2. - С. 30-34.

7. Nesto RW. Beyond low-density lipoprotein: addressing the atherogenic lipid triad in type 2 diabetes mellitus and the metabolic syndrome. / RW. Nesto // Am J Cardiovasc Drugs. – 2005. – Vol. 5(6). – P. 379-87.

8. Systematic review on urine albumin testing for early detection of diabetic complications / Newman DJ1, Mattock MB, Dawnay AB, Kerry S, McGuire A, Yaqoob M, Hitman GA, Hawke C. // Health Technol Assess. - 2005. - 9(30). P. iii-vi, xiii-163.

9. The Diabetes Control and Complications Research Group: Effect of intensive therapy on the development and progression of diabetic nephropathy in the Diabetes control and Complications Trial. Kidney Int. - 1995. – Vol. 47. – P. 1703-1720.

10. Usefulness of the triglyceride to high-density lipoprotein cholesterol ratio for predicting mortality risk in type 2 diabetes: role of kidney dysfunction. / Zoppini G, Targher G, Negri C, Stoico V, Gemma ML, Bonora E. // Atherosclerosis. – 2010. – Vol. 212 (1). – P. 287-91.

Abstract.

N.V. Gabbasova

PROTEOMNY RANGE OF URINE AND QUALITY OF SELF-CHECKING OF THE DIABETES MELLITUS OF 1 TYPE AT CHILDREN

Voronezh State Medical University

Numerous clinical trials showed that improvement of glycemic control causes appreciable depression of risk of micro and macrovascular complications of a diabetes mellitus, including development of a diabetic nephropathy.

The purpose of work children had a studying influence of quality of self-checking of a diabetes mellitus of 1 type on a functional condition of a nephron, determined by a proteomny profile of urine.

Materials and methods. 308 patients with a diabetes mellitus of 1 type were examined. Depending on quality of self-checking (regularity of administration of insulin, control of a glycemia, keeping of a diet and regimen of exercise stresses) 4 groups of patients were allocated: from self-checking, unsatisfactory to excellent quality. Uroproteinogramma are studied by method of the automated electrophoresis in gradient 8 – 25% poliakrilamidny gel.

Results. The beneficial effect of good self-checking on the course of diabetes was confirmed: the inverse correlation relation between the level of self-checking and a glycemia, a lipidemiya, average digits of arterial blood pressure, existence of a proteinuria in all-clinical analyses of urine and other indicators was established. At the same time the analysis of structure уропротеинограмм at patients with a diabetes mellitus of 1 type depending on the level of control didn't show any significant differences of an albuminous profile of urine. The conducted research of a condition of a nephron confirms a possibility of development of a diabetic nephropathy even at excellent self-checking of a disease.

Keywords: diabetic nephropathy, proteomny profile of urine, self-checking.

References.

1. Gabbasova N.V. A research of an albuminous range of urine at patients with a diabetes mellitus of 1 type / N.V. Gabbasova, N.P. Kuprina//Pediatrics. The magazine of G.N. Speransky. – 2008. – T.87, No. 5. – Page 11-16.

2. Immunogenetics of a diabetes mellitus of the 1st type / P.A. Haitov, L.P. Alekseev, I.I. Dedov, A.I. Boldyreva, M.V. Shestakova, D.Yu. Trofimov, T.L. Kurayeva, V.A. Peterkova//Immunology. - 2008. - T. 29, No. 4. - Page 233-237.

3. The clinical importance of definition of the HLA-DRB1-genotypes associated with predisposition or fastness to a diabetes mellitus of 1 type in various ethnic groups of Russia/L. P. Alekseev, I.I. Dedov, R.M. Haitov, M.N. Boldyreva, M.V. Shestakova, V.A. Peterkova, T.L. Kurayeva, S.A. Prokofiev//Diabetes mellitus. - 2007. - No. 2. - Page 2-5.

4. Chronic illness of kidneys and nefroprotektivny therapy: the methodical management for doctors / M.Yu. Shvetsov [etc.]; under the editorship of E.M. Shilov. – Moscow, 2012. – 83 pages.

5. Shamkhalova M.Sh. Factors of a tubulointerstitsialny lesion of kidneys at a diabetes mellitus / M.Sh. Shamkhalova, K.O. Kurumova, M.V. Shestakova//the Diabetes mellitus. - 2009. - No. 4. - Page 61 – 64.

6. Shestakova M.V. Diabetic nephropathy: breaks in diagnostics, prophylaxis and treatment / M.V. Shestakova, L.A. Chugunova, M.Sh. Shamkhalova//the Clinician. - 2007. - No. 2. - Page 30-34.

7. Nesto RW. Beyond low-density lipoprotein: addressing the atherogenic lipid triad in type 2 diabetes mellitus and the metabolic syndrome. / RW. Nesto // Am J Cardiovasc Drugs. – 2005. – Vol. 5(6). – P. 379-87.

8. Systematic review on urine albumin testing for early detection of diabetic complications / Newman DJ1, Mattock MB, Dawnay AB, Kerry S, McGuire A, Yaqoob M, Hitman GA, Hawke C. // Health Technol Assess. - 2005. - 9(30). P. iii-vi, xiii-163.

9. The Diabetes Control and Complications Research Group: Effect of intensive therapy on the development and progression of diabetic nephropathy in the Diabetes control and Complications Trial. Kidney Int. - 1995. – Vol. 47. – P. 1703-1720.

10. Usefulness of the triglyceride to high-density lipoprotein cholesterol ratio for predicting mortality risk in type 2 diabetes: role of kidney dysfunction. / Zoppini G, Targher G, Negri C, Stoico V, Gemma ML, Bonora E. // Atherosclerosis. – 2010. – Vol. 212 (1). – P. 287-91.

Сведения об авторе: Габбасова Наталия Вадимовна – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры эпидемиологии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, natalia_gabb@mail.ru