

**ВИЗНАЧЕННЯ L-АРГІНІН: ГЛІЦИН АМІДИНОТРАНСФЕРАЗИ
ПРИ ДІАБЕТИЧНОМУ УРАЖЕННІ НИРОК**

У статті наведено результати вивчення активності канальцевого ферменту L-аргінін: гліцин амідинотрансферази (АГАТ) у крові та сечі 62 хворих з діабетичним ураженням нирок. Відмічено, що для пацієнтів з діабетичним ураженням нирок характерне зростання в крові та сечі активності АГАТ. Виявлено чітку залежність рівнів активності АГАТ від функціонального стану паренхіми нирок, зокрема нефроцитів канальцевого відділу нефрону, що дає змогу вважати АГАТ маркером прогресування діабетичного процесу в нирках та використовувати для оцінки ступеня втягнення нирок у патологічний процес.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: L-аргінін: гліцин амідинотрансфераза, діабет, нирки.

ВСТУП. Останнім часом переконливо доведена важлива роль порушень структури та функцій клітинних мембран при діабетичному ураженні нирок (ДУН), що вимагає пошуку чутливих та інформативних ферментних маркерів ранньої лабораторної діагностики мембрано-деструктивних уражень клітин нирок за цієї патології. Найчастіше для цього визначають активність лізосомальних ферментів N-ацетилбета-D-глюкозамінідази та бета-галактозидази, що локалізовані переважно у проксимальних канальцях та підвищення активності яких вказує на наявність запального процесу в нирках [2, 8]. Визначення в крові або сечі більш міцно пов'язаних з біомембранами ферментів, наприклад мітохондріально локалізованої L-аргінін: гліцин амідинотрансферази (КФ 2.1.4.1 АГАТ), може свідчити про глибші пошкодження клітинних мембран нефрону, найчастіше незворотного характеру. Відомо, що у фізіологічних умовах АГАТ каталізує реакції перенесення амідинової групи з L-аргініну на гліцин з утворенням продуктів реакцій L-орнітину та гуанідиноцтової кислоти. АГАТ не має субстратної специфічності. Фермент також прискорює реакцію перенесення амідинової групи з L-канаваніну на L-орнітин з перетворенням їх в L-аргінін та L-канавалін. Згідно з даними літератури, активність АГАТ виявлено виключно у нирках та підшлунковій залозі, до того ж із тканиною підшлункової залози фермент структурно більш міцно пов'язаний та з'являється у кров'яному руслі тільки за умови розвитку некротичного процесу в залозі. У клітині АГАТ в основному міститься в мітохондріальній

© Л.В. Король, 2011.

фракції, причому фермент розміщений на внутрішній мембрані мітохондрій, а основним місцем локалізації його в нефроні вважають проксимальні канальці [5, 7]. При ДУН під впливом патологічної дії гіперглікемії та в комбінації з багатьма іншими чинниками (метаболічними, імунологічними, інфекційними) порушується перш за все функціональний стан нирок, зокрема проявляються тубулоінтерстиціальні пошкодження паренхіми [6, 9]. З огляду на вищесказане, актуальним є пошук нових підходів до діагностики тубулоінтерстиціальних порушень нирок при ДУН за допомогою оцінки змін активності АГАТ, що локалізована в епітелії проксимальних канальців нефрону.

Метою роботи було вивчення змін активності АГАТ для діагностики ступеня пошкодження нефрону при ДУН.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Проведено порівняльне вивчення активності АГАТ у крові та сечі 62 пацієнтів віком від 23 до 68 років з ДУН: 32 пацієнтів зі збереженою функцією нирок (1-ша група) та 30 – з порушеною екскреторною функцією нирок (2-га група); у 21 хворого цукровий діабет (ЦД) I типу, в 41 – II типу. Контрольна група складалась із 30 практично здорових осіб того ж віку і статі.

Активність АГАТ у крові та сечі визначали методом ван Пілсума в модифікації Мардашева і Кареліна з використанням L-канаваніну сульфату та L-орнітину гідрохлориду як субстратів. Вміст аргініну, що утворився під час реакції, визначали колориметричним методом з використанням кольорової реакції Сакагучі в нашій модифікації за калібрувальним графі-

ком. Активність ферменту виражали у ммольах L-аргініну, що утворився за 1 год інкубації при 37 °С в 1 л [5].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У всіх зразках крові та сечі обстежених пацієнтів обох груп виявлено активність АГАТ (табл.). При зіставленні показників ферментурії та ферментемії відмічено, що за ДУН активність АГАТ у крові значно вища, ніж показники в сечі. Разом із тим, встановлено, що показники активності ферменту залежать від активності процесу в нирках та їх функції (порушена чи збережена). Так, при порушенні екскреторної функції нирок у пацієнтів з ДУН (2-га група) в крові активність АГАТ зростала на 35 % порівняно з показниками при збереженій функції нирок (1-ша група, $p < 0,05$), а в сечі статистично достовірної різниці між показниками в обох групах пацієнтів не виявлено. Тобто прогресування

ДУН супроводжувалося збільшенням кількісних величин активності мітохондріального ферменту в крові, що вказує на серйозніші пошкодження клітин проксимальних каналців внаслідок їх діабетичного пошкодження. Встановлений факт, на наш погляд, свідчить про суттєво виражене тубулоінтерстиціальне ураження нирок, зокрема каналцевого відділу нефрону – основного місця локалізації АГАТ. Беручи до уваги те, що АГАТ є умовно-органоспецифічним ферментом для нирок та підшлункової залози, та враховуючи той факт, що з тканиною підшлункової залози фермент структурно більш міцно пов'язаний і з'являється у кров'яному руслі тільки за умови розвитку некротичного процесу в залозі, то логічно припустити, що активність цього ферменту в крові та сечі хворих без підозри на панкреонекроз буде виключно ниркового походження [5, 7].

Таблиця – Активність АГАТ у крові та сечі пацієнтів при ДУН

Група	Активність АГАТ, ммоль аргініну/л за 1 год інкубації	
	сироватка крові	сеча
1-ша, n=32	0,087±0,009*	0,056±0,01*
2-га, n=30	0,126±0,01*,**	0,067±0,01*
Контрольна	0,004±0,003	0,002±0,002

Примітка. * – статистично достовірна різниця порівняно з нормою; ** – статистично достовірна різниця порівняно з показниками між групами.

Проаналізувавши показники активності АГАТ у крові та сечі пацієнтів з ДУН, ми встановили, що зміни величин активності АГАТ у крові та сечі хворих з ДУН певною мірою залежали від типу ЦД (рис.). Так, виявлено, що у пацієнтів з ДУН та ЦД II типу при збереженій функції нирок активність АГАТ у сечі майже вдвічі ($p < 0,02$) перевищувала аналогічний показник у пацієнтів з ЦД I типу; при порушенні функції нирок у пацієнтів з ДУН показники активності АГАТ в сечі достовірно не відрізнялись між групами хворих з різним типом ЦД. У крові пацієнтів з ДУН статистично достовірних змін показників активності АГАТ залежно від типу ЦД не виявлено, проте спостерігалась певна тенденція до вищих показників при ЦД II типу.

Отже, пошкодження ниркової тканини під впливом імунних, запальних чи гормональних патологічних процесів викликає активацію мембранодеструктивних процесів у нирках і, як наслідок, підвищення реноспецифічної ферментурії та ферментемії. Відомо, що головну роль у розвитку та прогресуванні ДУН відіграє недостатньо корегована гіперглікемія, що запускає низку метаболічних порушень

[1, 3]. Існують дані про те, що гіпертрофія і гіперфункція клубочків нирок можуть бути викликані підвищеним осмолярним навантаженням на тубулярні клітини при гіперглікемії за механізмом тубулогломерулярного зворотного зв'язку, а також про те, що гіперфільтрація є неспецифічним компенсаторним механізмом у відповідь на розвиток інтерстиціального фіброзу. Все це дозволяє вважати, що при ЦД внаслідок дії гіперглікемії розвиваються також тубулоінтерстиціальні пошкодження нирок [6, 9]. У зв'язку з тим, що реакція каналцевого відділу нефрону на ішемію є найбільш ранньою та найбільш чутливою, вона супроводжується ініціацією підвищення проникності клітинних та субклітинних мембран і виходом у позаклітинний простір, тобто сечу, значної кількості ензимних білків [4, 6]. Виявленню при ДУН у сечі хворих активності АГАТ також сприяє своєрідна локалізація численних паличкоподібних мітохондрій поміж плазматичних клітинних мембран саме у звивистих проксимальних каналцях [5, 7]. Визначення активності АГАТ – ферменту з умовно-реноспецифічними властивостями вказує на наявність поши-

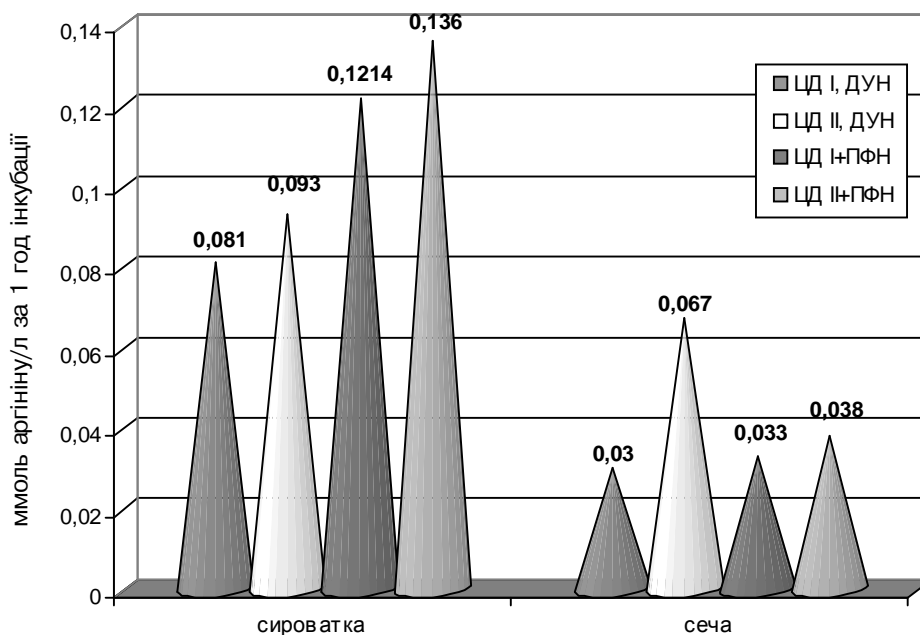


Рис. Динаміка змін активності АГАТ у крові та сечі пацієнтів з ДУН залежно від типу ЦД.

реної деструкції нефротелію канальцевого відділу нефрону при прогресуванні ДУН у хворих на ЦД. У цілому отримані дані свідчать про можливість використання цього ферментного маркера для контролю за функціональним станом при ДУН, зокрема за станом мітохондріальних мембран клітин тубулярного відділу нефрону при прогнозуванні прогресування ДУН.

ВИСНОВКИ. При ДУН у крові та сечі пацієнтів із хронічною хворобою нирок спостерігається підвищення активності АГАТ, що свідчить про

активізацію мембранодеструктивних процесів та залучення в патологічний процес тубулярного апарату нирок. Крім того, виявлено, що зміни активності АГАТ у крові та сечі залежать від функціонального стану нирок (порушена чи збережена екскреторна функція нирок). Визначення в крові та сечі активності АГАТ є надійним ферментним маркером структурно-функціональних змін клітинних мембран тубулярного апарату нефрону і може використовуватися для оцінки функціонального стану нирок при захворюваннях різного генезу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Дедов И. И. Диабетическая нефропатия / И. И. Дедов, М. В. Шестакова. – М. : Универсум Паблишинг, 2000. – 240 с.
2. Діагностичне значення реноспецифічної ферментурії при прогресуванні паренхіматозних захворювань нирок / М. Б. Величко, Л. В. Король, Г. Г. Нікуліна, Л. Я. Мигаль // Укр. журн. нефрології та діалізу. – 2004. – № 1. – С. 18–20.
3. Ефимов А. Диабетическая нефропатия / А. Ефимов, Н. Скробонская, Н. Зуева // Ліки України. – 2004. – № 12. – С. 34–38.
4. Красовская Е. А. Канальцевые дисфункции при диабетической нефропатии / Е. А. Красовская // Эксп. і клін. медицина. – 2005. – № 1. – С. 64–68.
5. Мардашев С. Р. Определение трансамидиназы в сыворотке крови и моче при поражениях почек и поджелудочной железы / С. Р. Мардашев, А.А. Карелин // В кн. : Методы исследования активности некоторых ферментов в клинике. – М., 1967. – С. 67–76.

6. Факторы риска прогрессирования диабетической нефропатии у больных с длительным течением сахарного диабета по данным ретроспективного анализа / Шестакова М. В., Кошель Л. В., Вагдин В. А., Дедов И. И. // Тер. архив. – 2006. – № 6. – С. 34–39.
7. Humm A. Crystal structure and mechanism of human L-arginine:glycine amidinotransferase: a mitochondrial enzyme involved in creatine biosynthesis / A. Humm, E. Fritsche, S. Steinbacher // EMBO J. – 1997. – **16** (12). – P. 3373–3385. doi:10.1093/emboj/16.12.3373.PMID 9218780
8. Kiyatake I. Urinary Excretion of Guanidinoacetic Acid in Rats with Diabetic Nephropathy / I. Kiyatake, T. Nakamura, H. Koide // Renal Failure. – 2006. – **28**, № 2. – P. 177–180.
9. Ziyadeh F Significance of tubulointerstitial changes in diabetic renal disease / F. Ziyadeh // Kidney Int. – 1996. – **49** (Suppl. 54). – P. 10–13.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ L-АРГИНИН: ГЛИЦИН АМИДИНОТРАНСФЕРАЗЫ ПРИ ДИАБЕТИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ПОЧЕК

Резюме

В статье представлены результаты изучения активности канальцевого фермента L-аргинин: глицин амидинотрансферазы (АГАТ) в крови и моче 62 больных с диабетическим поражением почек. Отмечено, что для пациентов с диабетическим поражением почек характерно возрастание в крови и моче активности АГАТ. Обнаружена четкая зависимость уровней активности АГАТ от функционального состояния паренхимы почек, в частности нефроцитов канальцевого отдела нефрона, что позволяет считать АГАТ маркером прогрессирования диабетического процесса в почках и использовать для оценки степени вовлечения почек в патологический процесс.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **L-аргинин: глицин амидинотрансфераза, диабет, почки.**

L.V. Korol
INSTITUTE OF NEPHROLOGY OF AMS OF UKRAINE, KYIV

THE DETERMINATION OF L-ARGININE: GLICINE AMIDINETRANSFERASE OF DIABETIC INJURY OF KIDNEYS

Summary

The article presents the results of studying the activity of tubular enzymes L-arginine: glicine amidinetransferase (AGAT) in blood and urine in 62 patients with diabetic injury of kidneys. It was noted, that for patients with diabetic injury of kidneys, an increase of AGAT activity, usually absent in urine of healthy persons, was also characteristic. The precise dependence of levels of AGAT activity on functional state of renal parenchymas was found, in particular on nephrocytes of tubular nephron, that allows to regard the given parameters as markers of progressing of diabetic process in kidneys and to use them for estimation of a degree of renal involving in pathological process.

KEY WORDS: **L-arginine: glicine amidinetransferase, diabetes, kidneys.**

Отримано 17.12.10

Адреса для листування: Л.В. Коваль, Інститут нефрології АМН України, вул. Дегтярівська, 17 В, Київ, 04050, Україна.