

Η Ν-ακετυλο-b-D-γλυκοζοαμιनिδάση στα ούρα ασθενών με μη ινσουλινοεξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη

Περίληψη

Ζ. Τσιταμίδου*
Ε.Μ. Πάγκαλος**
Χ. Φυτίλη*
Σ. Τσούκρη*
Σ. Θεοδωρίδης**

Στη παρούσα μελέτη μετρήθηκε η δραστηριότητα του ενζύμου Ν-ακετυλο-b-D-γλυκοζοαμιनिδάση (NAG) στα ούρα σε ασθενείς με μη ινσουλινοεξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη (ΜΙΣΔ) και σε υγιείς μάρτυρες. Συσχετίστηκαν δε τα επίπεδα αυτά με τα επίπεδα της λευκωματινής των ούρων, με σκοπό να εκτιμηθεί εάν η δραστηριότητα της NAG στα ούρα μπορεί να θεωρηθεί χρήσιμος δείκτης της πρώιμης νεφρικής βλάβης σε ασθενείς με ΜΙΣΔ. Στη μελέτη πήραν μέρος 33 ασθενείς (7 άνδρες και 26 γυναίκες) με ΜΙΣΔ, ηλικίας $54,41 \pm 6,93$ χρόνια, με διάρκεια διαβήτη $8,46 \pm 5,46$ χρόνια και HbA_{1c} $10,78 \pm 2,23\%$ και 25 υγιείς μάρτυρες ίδιας περίπου ηλικίας με τους διαβητικούς ασθενείς. Οι διαβητικοί ασθενείς είχαν στατιστικά σημαντικά αυξημένη δραστηριότητα της NAG σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες ($p < 0,01$). Οι ασθενείς χωρίς μικρολευκωματινουρία είχαν υψηλότερα επίπεδα NAG από τους μάρτυρες που δεν έφθαν όμως τα επίπεδα της σημαντικότητας. Ενώ στους ασθενείς με μικρολευκωματινουρία η δραστηριότητα της NAG στα ούρα ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη τόσο από τους μάρτυρες ($p < 0,01$) όσο και από τους ασθενείς χωρίς μικρολευκωματινουρία ($p < 0,01$). Από τα ανωτέρω μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι η αυξημένη δραστηριότητα της NAG στα ούρα μπορεί να χρησιμεύσει σαν ένας επιπρόσθετος δείκτης αρχόμενης νεφρικής βλάβης στους ασθενείς με μη ινσουλινοεξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη.

Ένας από τους στόχους της θεραπείας, τόσο στον ινσουλινοεξαρτώμενο όσο και στον μη ινσουλινοεξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη (ΜΙΣΔ), είναι η πρώιμη διάγνωση των διαβητικών επιπλοκών. Η αυξημένη απέκκριση λευκωματινής στα ούρα είναι δείκτης σπειραματικής βλάβης και δείκτης αρχόμενης νεφρικής βλάβης τόσο στον τύπου I^{1,2} όσο και στον τύπου II^{3,4} σακχαρώδη διαβήτη.

Μια εναλλακτική μέθοδος ελέγχου της νεφρικής λειτουργίας είναι η μέτρηση της δραστηριότητας του ενζύμου Ν-ακετυλο-b-D-γλυκοζοαμιनिδάση (NAG). Η NAG είναι ένζυμο των λυσοσωμάτων και λαμβάνει μέρος στον καταβολισμό των γλυκοπρωτεϊνών. Η αυξημένη απέκκριση της NAG στα ούρα είναι δείκτης κυτταρικής βλάβης στο εγγύς εσπειραμένο νεφρικό

*Βιοχημικό εργαστήριο και
**Διαβητολογικό ιατρείο
Γ.Π.Ν. «Γ. Παπανικολάου»
Θεσσαλονίκης

σοληνάριο και παρατηρείται σε πολλές νεφρικές παθήσεις⁵. Αυξημένη απέκκριση NAG έχει βρεθεί τόσο στον τύπον I^{6,7} όσο και στον τύπου II⁸⁻¹⁰ σακχαρώδη διαβήτη.

Σκοπός της παρούσης μελέτης ήταν να μετρηθεί η δραστικότητα της NAG στα ούρα ασθενών με ΜΙΣΔ και να συσχετισθούν τα επίπεδα αυτά με τα επίπεδα της λευκωματινής των ούρων στους ασθενείς αυτούς, για να εκτιμηθεί εάν η δραστικότητα της NAG μπορεί να θεωρηθεί δείκτης της πρώιμης νεφρικής βλάβης σε ασθενείς με ΜΙΣΔ.

Υλικό - Μέθοδος

Στη μελέτη πήραν μέρος 33 ασθενείς (7 άνδρες και 26 γυναίκες) με ΜΙΣΔ, ηλικίας $54,51 \pm 6,93$ χρόνια, με διάρκεια διαβήτη $8,46 \pm 5,46$ χρόνια και HbA1 $10,78 \pm 2,23\%$ και 25 υγιείς μάρτυρες ίδιας περίπου ηλικίας με τους διαβητικούς ασθενείς.

Τόσο οι ασθενείς όσο και οι μάρτυρες είχαν φυσιολογική νεφρική λειτουργία, δεν είχαν ιστορικό νεφρικής πάθησης και είχαν αρνητική καλλιέργεια ούρων.

Η λευκωματινή και η δραστικότητα της NAG μετρήθηκαν σε νυκτερινή συλλογή ούρων 10 ωρών. Η λευκωματινή προσδιορίστηκε με ανοσοθολομετρική μέθοδο και υπολογίστηκε σε $\mu\text{g}/\text{min}$. Οι ασθενείς με λευκωματινή ούρων μεταξύ 25 και 200 $\mu\text{g}/\text{min}$ θεωρήθηκε ότι έχουν μικρολευκωματινουρία. Η NAG προσδιορίστηκε με χρωματομετρική μέθοδο με υπόστρωμα 3 cresolfulfonthaleny-N-acetyl-b-d-glucosaminide. Η HbA1 προσδιορίστηκε με στήλες χρωματογραφίας και η κρεατινίνη ορού και ούρων σε αναλυτή Rx 1000.

Επειδή αφενός ο αριθμός των παρατηρήσεων ήταν σχετικά μικρός και αφετέρου ορισμένες μετρήσεις δεν είχαν κανονική κατανομή για την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκαν μη παραμετρικές δοκιμασίες, όπως το Mann-Whitney U test και η συσχέτιση Spearman. Θεωρήθηκε ότι υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά όταν το p ήταν μικρότερο από 0,05.

Αποτελέσματα

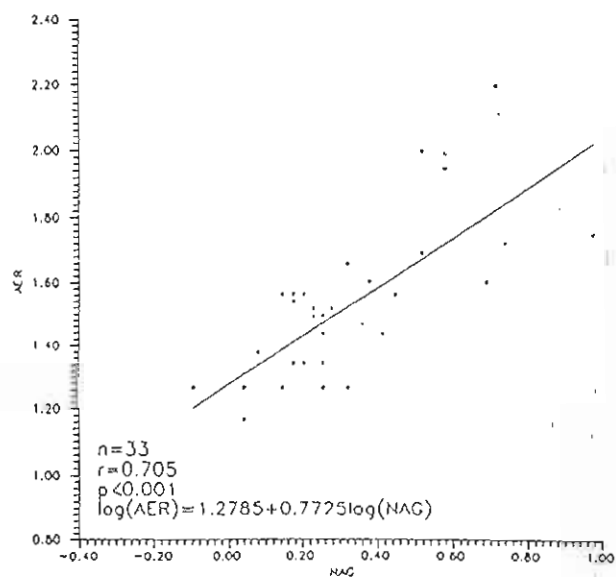
Οι διαβητικοί ασθενείς είχαν αυξημένη δραστικότητα NAG σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες που ήταν στατιστικά σημαντική ($p <$

0,01). Τα επίπεδα της NAG στους ασθενείς χωρίς μικρολευκωματινουρία δεν παρουσίαζαν στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με τους μάρτυρες. Ενώ στους ασθενείς με μικρολευκωματινουρία η δραστικότητα της NAG στα ούρα ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη τόσο από τους μάρτυρες ($p < 0,001$) όσο και από τους ασθενείς χωρίς μικρολευκωματινουρία ($p < 0,01$) (Πίν. 1).

Βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της δραστικότητας της NAG και της απέκκρισης της λευκωματινής στα ούρα ($r = 0,705$, $-p < 0,001$), η λογαριθμική συσχέτιση των οποίων παριστάνεται στην εικόνα 1. Ενώ δεν

Πίνακας 1. Η δραστικότητα της NAG στα ούρα (μέσος όρος και σταθερά απόκλιση) σε υγιείς μάρτυρες (Μάρτυρες), στο σύνολο των διαβητικών ασθενών (ΜΙΣΔ), στους διαβητικούς με μικρολευκωματινουρία (ΜΙΣΔ με ΜΙΚΡ) και στους διαβητικούς χωρίς μικρολευκωματινουρία (ΜΙΣΔ χωρίς ΜΙΚΡ)

	Αριθμός	NAG(U/L)
Μάρτυρες	25	$1,38 \pm 0,25$
ΜΙΣΔ	33	$2,51 \pm 1,72$
ΜΙΣΔ με ΜΙΚΡ	22	$3,01 \pm 1,93$
ΜΙΣΔ χωρίς ΜΙΚΡ	11	$1,5 \pm 0,42$



Εικ. 1. Λογαριθμική συσχέτιση της δραστικότητας της NAG και της απέκκρισης της λευκωματινής (AER) στα ούρα σε ασθενείς με μη ινσουλινοεξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη.

βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ HbA1 και δραστικότητας της NAG ($r = 0,02$) και διάρκειας διαβήτη και δραστικότητας της NAG ($r = 0,02$).

Αξίζει να σημειωθεί ότι δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ασθενών με ή χωρίς μικρολευκωματινουρία όσο αφορά την ηλικία, την διάρκεια του διαβήτη και την HbA1 (Πίν. 2).

Συζήτηση

Τα αποτελέσματα μας δείχνουν ότι οι ασθενείς με μη ινσουλινοεξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη και μικρολευκωματινουρία έχουν αυξημένη δραστικότητα NAG στα ούρα σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες και με τους ασθενείς με μη ινσουλινοεξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη χωρίς μικρολευκωματινουρία. Σε αντίθεση οι τελευταίοι ενώ παρουσιάζουν υψηλότερες τιμές NAG από τους υγιείς μάρτυρες εν τούτοις η διαφορά αυτή δεν είναι στατιστικά σημαντική. Αν λάβουμε δε υπόψη ότι υπάρχει θετική συσχέτιση μεταξύ έκκρισης λευκωματινής με NAG στα ούρα τότε μπορεί να λεχθεί ότι η NAG θα μπορούσε να είναι ένας άλλος δείκτης πρώιμης νεφρικής βλάβης σε ασθενείς με μη ινσουλινοεξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη.

Οι μηχανισμοί που είναι υπεύθυνοι για την αυξημένη δραστικότητα του ενζύμου δεν είναι γνωστοί. Μελέτες αναφέρουν ότι η μεταβολική απορρύθμιση μπορεί να επιδρά απευθείας στην δραστικότητα της NAG¹⁰ γεγονός που δεν αποδείχθηκε τόσο από την δική μας μελέτη όσο και από άλλες^{8,11}.

Τα κύτταρα του εγγύς εσπειραμένου σωληναρίου έχουν υψηλή συγκέντρωση του ενζύμου

και απελευθερώνουν αυτό όταν καταστρέφονται, όπως σε διάφορες παθήσεις που προσβάλλουν το σωληναριακό επιθήλιο^{5,12}. Η σωληναριακή προέλευση του ενζύμου δε μπορεί να αποκλεισθεί στους ασθενείς μας.

Από την άλλη μεριά είναι πιθανό ότι οι ανώμαλίες της μεμβράνης του σπειράματος που είναι υπεύθυνες για την αύξηση της απέκκρισης της λευκωματινής στους ασθενείς αυτούς μπορεί να παίζουν ρόλο στην αύξηση της δραστικότητας της NAG στα ούρα. Είναι γνωστό ότι η πάχυνση της βασικής μεμβράνης μπορεί να οφείλεται σε εναπόθεση γλυκοπρωτεϊνών^{13,14}. Η NAG είναι ένζυμο απαραίτητο για την διάσπαση των γλυκοπρωτεϊνών, αυξημένη δε εναπόθεση αυτών συνεπάγεται αυξημένη δραστικότητα του ενζύμου.

Από τα ανωτέρω μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι οι ασθενείς με μη ινσουλινοεξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη και αρχόμενη νεφρική βλάβη, όπως αυτή αποδεικνύεται με την ύπαρξη μικρολευκωματινουρίας, έχουν αυξημένη δραστικότητα NAG στα ούρα. Αν και οι αιτιολογικοί μηχανισμοί απαιτούν περαιτέρω έρευνα, εν τούτοις μπορεί να λεχθεί ότι η αυξημένη δραστικότητα της NAG στα ούρα μπορεί να χρησιμεύσει σαν ένας επιπρόσθετος δείκτης αρχόμενης νεφρικής βλάβης στους ασθενείς με μη ινσουλινοεξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη.

Summary

Tsitamidou Z, Pangalos EM, Fiti C, Tsulfa S, Theodoridis S. Urinary N-acetyl-b-D-glucosaminidase excretion in non-insulin dependent diabetes mellitus. Hellen Diabetol Chron 1994; 2: 137-140.

Urinary N-acetyl-b-D-glucosaminidase (NAG) and albumin excretion (AER) was measured in 33 non-insulin dependent diabetic patients (NIDDM) and 25 non diabetic controls. There was a correlation between NAG and AER ($r = 0,705$, $p < 0,001$) and a statistical significant difference between NAG of the diabetic patients with microalbuminuria and NAG of the controls ($p < 0,001$). We conclude that elevated urinary NAG excretion in NIDDM appears to be associated with early diabetic nephropathy.

Βιβλιογραφία

1. Wiseman MJ, Viberti GC, Mackintosh D, et al. Glycemia, arterial pressure and microalbuminuria in type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia* 1984; 26: 401-5.

Πίνακας 2. Χαρακτηριστικά των διαβητικών ασθενών (μέσος όρος και σταθερά απόκλιση) με μικρολευκωματινουρία (ΜΙΣΔ χωρίς ΜΙΚΡ) και χωρίς μικρολευκωματινουρία (ΜΙΣΔ χωρίς ΜΙΚΡ).

	ΜΙΣΔ με ΜΙΚΡ	ΜΙΣΔ χωρίς ΜΙΚΡ
Αριθμός	22	11
Ηλικία	55,04 ± 7,08	52,66 ± 6,4
Διάρκεια διαβήτη	9,04 ± 5,37	7 ± 5,67
HbA1	11,05 ± 2,45	10 ± 1,56

2. Mathiesen ER, Oxenboll B, Johansen K, et al. Incipient nephropathy in type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia* 1984; 26: 406-10.
3. Schmitz A, Veith M. Microalbuminuria a major risk factor for non insulin dependent diabetes. A 10 years follow up study of 503 patients. *Diabetic Med* 1987; 4: 126-134.
4. Gathing W, Mullee MA, Knight C, et al. Microalbuminuria in diabetes: relationship between urinary albumin excretion rate and diabetes related variables. *Diabetic Med* 1988; 5: 348-51.
5. Price RF. Measurement of NAG and its isoenzymes in urine. Methods and clinical applications. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1992; 30: 693-705.
6. Agarath CD, Agarath E, Isakson A, et al. Association between urinary NAG and its isoenzymes patterns and microangopathy in type 1 diabetes mellitus. *Clin Chem* 1991; 37: 1696-9.
7. Skrha J, Haas T, Sperl M, et al. A six years follow up of the relationship between NAG and albuminuria in relation to retinopathy. *Diabetic Med* 1991, 8: 817-21.
8. Perdichizzi G, Cuninota D, Fera R, et al. Correlation between urinary activity of NAG and albumin excretion rate in type 2 diabetic subjects. *Acta Diabetol Lat* 1987; 24: 149-55.
9. Martin P, Hampton KK, Wolton C, et al. Microproteinuria in type 2 diabetes mellitus from diagnosis. *Diabetic Med* 1990, 7: 315-8.
10. UK prospective diabetes study. Relationships of urinary albumin and NAG to glycaemia and hypertension at diagnosis of type 2 diabetes mellitus and after 3 months dietary therapy. *Diabetologia* 1993; 36: 835-42.
11. Watts GF, Viltos MAJ, Morris RW, et al. Urinary N-acetyl-b-d-glucosaminidase excretion in IDDM: relation to microalbuminuria, retinopathy and glycaemic control. *Diabetes and Metabolism* 1988; 14: 654-8.
12. Stolarek I, Howey J, Fraser CG. Biological variation of urinary NAG: practical and clinical implications. *Clin Chem* 1989; 35: 560-3.
13. Williamson JR, Kilo C. Capillary basement membrane in diabetes. *Diabetes* 1983; 32: 96-8.
14. Brownlee M, Vlassara H, Gerani A. Nonenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic complications. *Ann Intern Med* 1984; 101: 527-37.

Λέξεις - Κλειδιά
 μη ινσουλινοεξαρτώμενος
 σακχαρώδης διαβήτης
 μικρολευκωματοουρία
 N-ακέτυλο-b-D-γλυκοζοαμιनिδάση (NAG)

Key words
 Non-insulin dependent diabetes mellitus
 N-acetyl-b-D-glucosaminidase (NAG)
 Albumin excretion rate (AER)
 Microalbuminuria