

Angela Ciuntu
**PRODUȘII FINALI DE GLICARE AVANSATĂ ÎN EVOLUȚIA CLINICĂ
A GLOMERULONEFRITEI LA COPII**

*Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Departamentul Pediatrie
(director – dr. hab. medicină, prof. univ. Ninel Revenco)
IMSP Institutul Mamei și Copilului (Director – dr. șt. med., conf. univ. S. Gladun)*

SUMMARY

**THE END PRODUCTS OF ADVANCED GLYCATION IN CLINICAL EVOLUTION
OF GLOMERULONEPHRITIS IN CHILDREN**

We studied the concentration of advanced glycation end products of AGEs in the blood of 80 children with primary glomerulonephritis (GN) with various clinical stages of the disease. In children with various forms of GN in the acute phase of the disease are registered a significant increase in the blood concentration of AGEs.

In the acute phase of clinical manifestations in patients with steroid-sensitive nephrotic syndrome (NS), the level of AGEs trustworthily increases by 2.3 times, and in steroid-resistant (NR) by 1.6 times as compared to the control group.

In remission the level of AGEs decreases in comparison with the initial level, and does not differ from it in the control group.

Determination of AGEs in the blood concentration can be used to monitor the activity of the disease process in children with various variants GN, as well as to monitor the effectiveness of the therapeutic interventions.

РЕЗЮМЕ

**КОНЕЧНЫЕ ПРОДУКТЫ ГЛУБОКОГО ГЛИКИРОВАНИЯ
В КЛИНИЧЕСКОЙ ЭВОЛЮЦИИ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТА У ДЕТЕЙ**

Была изучена концентрация конечных продуктов глубокого гликирования AGEs, в крови у 80 детей с первичным гломерулонефритом (ГН) в различные клинические стадии развития заболевания. У детей с различными формами ГН в острой фазе заболевания зарегистрировано значительное повышение концентрации AGEs в крови.

В острой фазе клинических проявлений у больных с стероид-чувствительным нефротическим синдромом (СЧНС) уровень AGEs достоверно повышается в 2,3 раза, а при стероид-резистентном (СРНС) в 1,6 раза по сравнению с группой контроля. В период ремиссии уровень AGEs снижается по сравнению с исходным уровнем, и практически не отличается от такового в контрольной группе.

Определение концентрации AGEs в крови может быть использовано для мониторинга активности патологического процесса у детей с различными вариантами ГН, а также для контроля эффективности проведенных лечебных мероприятий.

Produșii finali de glicare avansată (AGEs) constituie un grup eterogen de compuși ce sunt generați în urma unor reacții de glicare secvențială non - enzimatică a glucidelor cu grupările aminice-libere ale proteinelor, peptidelor sau aminoacizilor. În prezent, s-a stabilit că AGEs se pot forma prin multe alte căi, inclusiv oxidarea glucidelor, lipidelor și aminoacizilor cu generarea de aldehide reactive care se leagă covalent cu proteinele [3].

O altă cale de generare a aldehydelor reactive importante în formarea AGEs implică mieloperoxidaza și NADPH-oxidaza secretate de fagocitele activate și neutrofilele, monocitele care aderă la locul inflamației. Mai mult decât atât, se sugerează că oxidanții derivați

din aceste celule ar putea fi mai importanți, decât glucoza, pentru formarea AGEs la site-urile de inflamație [3].

AGEs sunt metabolizați și eliminați din organism de către rinichi. Deasemenea, AGEs sunt implicați în patogenia nefropatiei diabetice și a complicațiilor bolii cronice renale (BCR) terminale [7]. AGEs se acumulează în zona mezangială și peretele capilar glomerular în caz de nefropatie diabetică, fapt confirmat prin studii imunohistochemice ale țesutului renal. Intensitatea de imunocolorare a AGEs este mai mare în zonele de scleroză glomerulară extinsă, ceea ce este caracteristic nefropatiei diabetice avansate [12,15].

AGEs participă în procesele de inflamație și sinteza a fibronectinei, lamininei și collagenului de tip IV

în rinichi, intensifică scleroza glomerulară, fibroza și hipertrofia renală [4].

De asemenea, AGEs au fost depistați în glomeruli, în afectarea renală non - diabetică (glomeruloscleroză focal-segmentară, nefroscleroză hipertensivă și nefrită lupică), însă rolul AGEs în progresia bolii nu a fost, totuși, stabilit definitiv [4,6].

Pentozidina, un carbohidrat derivat din AGEs, înregistrează valori crescute considerabil la pacienții cu uremie. Acest compus nu are activități biologice, dar este foarte corelat cu nivelul precursorilor compușilor carbonil, și din acest motiv este considerat un marker sigur pentru AGEs.

Modificările proteinelor în caz de uremie nu se limitează la AGE, deoarece produșii finali de lipoxidare avansată sunt, de asemenea, depistați în componentele proteinelor plasmatice la bolnavii cu uremie. Acumularea acestor compuși nu pare a fi dependent doar de declinul funcției renale. Precursorii carbonil AGEs și produșii finali de lipoxidare avansată sunt semnificativ crescuți la pacienții cu uremie. Pe această bază, a fost formulată teoria „stresului carbonil”, conform căreia oxidarea crescută a glucidelor și lipidelor și/sau detoxifierea inadecvată a compușilor carbonil poate contribui la apariția complicațiilor pe termen lung ale bolii renale în stadiul terminal, cum ar fi amiloidoza de dializă și bolile cardiovasculare. AGEs, care sunt compuși proinflamatori și prooxidanți se acumulează la pacienții cu BCR și pot juca un rol important în prevalența crescută a disfuncției endoteliale și a bolilor cardiovasculare ulterioare [1].

În literatura de specialitate nu există informații privind modificările conținutului de AGEs în diferite variante clinico - evolutive ale glomerulonefritei (GN) la copil.

Scopul studiului constă în evaluarea concentrației AGEs în serul sangvin la copiii cu glomerulonefrită la etapele clinico-evolutive ale bolii.

Material și metode: Cercetările s-au efectuat la IMSP Institutul Mamei și Copilului (IM și C) și în Laboratorul Biochimie al IP USMF „Nicolae Testemițanu” pe baza probelor biologice colectate conform principiilor contemporane de cercetare, aprobate de Comitetul de Etică a Cercetării al IP USMF „Nicolae Testemițanu” (aviz favorabil din 13.05.2015, proces verbal nr.55). Studiul a inclus 80 de copii cu glomerulonefrită primară, inclusiv 20 copii cu sindromul nefrotic steroid-sensibil (SNSS) și 15 copii cu sindromul nefrotic steroid-rezistent (SNSR), 25 de copii cu glomerulonefrită acută (GNA) sindrom nefritic și 20 copii cu glomerulonefrită cronică (GNC) formă nefrotică. Grupul de control l-au constituit 20 copii practic sănătoși.

Diagnosticul GN a fost bazat pe criteriile clinico-paraclinice și pe explorări biochimice special selectate. Sindromul nefrotic (SN) a fost diagnosticat în prezența edemelor, proteinuriei masive ($>40 \text{ mg/m}^2/\text{h}$

sau raportul proteină/creatinină urinară $>2,0 \text{ mg/mg}$) și a hipoalbuminemiei ($<2,5 \text{ mg/dl}$) [9].

Sindromul nefrotic steroid-sensibil (SNSS) a fost dominat de normalizarea analizei de urină în decursul a 4 săptămâni, mai rar 8 săptămâni după administrarea glucocorticoizilor și instalarea remisiunii complete [9].

Sindromul nefrotic steroid-rezistent (SNSR) a fost dominat în cazul menținerii proteinuriei până la nivelul $<3 \text{ g/dl}$ pe parcursul a 6-8 săptămâni de tratament cu prednisolon în doză de 2 mg/kg/24h și efectuarea ulterioară a pulsterapie cu prednisolon în doză de $20-30 \text{ mg/kg/24h}$ N 3 (dar nu mai mult de 1 g pe parcursul unei cure) [9].

Remisiune completă s-a constatat în cazul rezoluției edemelor, normalizării albuminei serice până la $3,5 \text{ g/dl}$ și reducerii proteinuriei cu $<4 \text{ mg/m}^2/\text{oră}$ ($100 \text{ mg/m}^2/24 \text{ h}$) în 3 analize de urină consecutive.

Recăderea (recidiva) a fost definită ca o recurență a proteinuriei masive ($>40 \text{ mg/m}^2/\text{h}$ sau raportul proteină/creatinină urinară $>2,0 \text{ mg/mg}$ sau albuminurie $\geq 2+$ pe parcursul a 3 zile consecutive; de regulă cu recurența edemelor [9].

Determinarea concentrației AGEs în serul sangvin s-a efectuat conform procedurii descris de Makita Z, Bucala R, Rayfield E.J. et al.[11].

Pentru aprecierea diferenței semnificative dintre indicii studiați ai loturilor comparate au fost utilizate metode statistice cu aprecierea mărimii aritmetice medii [X], devierii medii pătrate, erorii medii a mărimii aritmetice medii [$\pm m$]. De asemenea, s-a utilizat testul statistic nonparametric „U Mann-Whitney” și pragul de semnificație $p<0,05$ (StatsDirect statistical software, version 1.9.5, 2001).

Rezultate: Rezultatele de evaluare a concentrației AGEs în serul sangvin la copiii cu diferite forme de glomerulonefrită în perioada de acutizare și remisiune sunt reflectate în tabelul 1.

Conform datelor tabelului 1, concentrația AGEs în serul sangvin a crescut în toate variantele clinice ale GN. În grupul GNA sindrom nefrotic SS perioada de debut, concentrația AGEs în serul sangvin a sporit de 2,3 ori, pe când în sindromul nefrotic SR s-a majorat de 1,6 ori, comparativ cu grupul de control. În grupul GNC forma nefrotică, concentrația AGEs în serul sangvin a crescut de 2 ori față de valorile înregistrate în grupul de control. În perioada de remisie concentrația AGEs în serul sanguin se reduce, dar nu atinge valorile grupului de control.

Discuții:

În acest studiu am obținut niveluri semnificativ crescute ale AGEs în serul sangvin în toate variantele clinice ale GNA și GNC în perioada de acutizare. Conform unor date recente, progresia maladiilor renale prin întârzierea turnover-ului proteinelor și accelerarea stresului oxidative conduc spre formarea și acumularea de AGEs [13]. Această majorare

Concentrația AGEs în serul sangvin la pacienții cu glomerulonefrită

n/o	Grupurile de pacienți	AGEs, unități convenționale	
		acutizare	remisiune
1	Control n=20	183,43±15,61	
2	GNA sindrom nefritic n=25	338,16±21,58***	147,45±10,19 p ₁ <0,001
3	GNA sindrom nefrotic SS n=20	414,89±41,73***	202,44±8,05 p ₁ <0,01
4	GNA sindrom nefrotic SR n=15	299,55±22,22***	-
5	GNC forma nefrotică n=20	374,80±83,63*	223,96±21,22

Notă: diferență statistic semnificativă în raport cu valorile grupului de control: *p<0,05; **P<0,01; ***P<0,001.
p₁-autenticitatea în comparație cu indicele respectiv înregistrat la etapa de acutizare.

a AGE se datorează nu numai proceselor de glicare neenzimatică a proteinelor, dar și exacerbării stresului oxidativ care se produce în diferite variante ale GN la copii.

AGEs sunt asociați cu modificări renale structurale, ce duc spre progresia BCR concomitent cu creșterea concentrației de AGEs [4]. În diabet s-a constatat o corelație patogenică dintre formarea și depozitarea AGEs și nefropatie. Receptorul pentru AGEs (receptor for advanced glycation end-products-RAGE) stă la baza dezvoltării glomerulosclerozei și contribuie la activarea podocitelor în dinamica nefropatiei diabetice. Practic toate structurile renale sunt susceptibile spre acumularea de AGEs, inclusiv membrana bazală, celulele mezangiale, endoteliale, podocitele și tubii renali [16].

Datorită circulației extracelulare și interacțiunii cu receptorii RAGE și alte proteine de transport AGEs contribuie la modificările celulelor renale [5,14].

AGEs modifică direct integritatea structurilor tisulare, prin cross-linking excesiv cu moleculele matricei extracelulare (MEC), cum ar fi colagenul prin distrugerea interconexiunilor celulare ale MEC. Rinichii joacă un rol important în clearance-ul și metabolismul AGEs, iar concentrațiile serice crescute ale acestora în BCR se datorează parțial intensificării stresului oxidativ și carbonilic [8,10,13].

AGEs produc injurii celulare printr-o cascadă de evenimente receptor-dependente și non-dependente care include generarea intracelulară de specii reactive de oxigen (SRO) și un proces prin care AGEs și SRO își sporesc reciproc producția.

Concluzii:

1. Concentrația produșilor finali de glicare avansată - AGEs în serul sangvin a crescut în toate variantele clinice ale glomerulonefritei (GN) în perioada de acutizare. Cea mai pronunțată creștere a AGEs s-a determinat în SNSS. În perioada de remisiune valorile serice ale AGEs tind să se normalizeze în toate variantele GN.

2. Determinarea conținutului de AGEs în serul sangvin poate fi folosită pentru monitorizarea procesului patologic la copiii cu diferite variante clinice ale GN și, de asemenea, pentru controlul eficacității tratamentului aplicat.

Bibliografie

1. **Agalou S, Ahmed N, Babaei-Jadidi R et al.** Profound mishandling of protein glycation degradation products in uremia and dialysis. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16:1471-85.

2. **Alderson NL, Chachich ME, Frizzell N et al.** Effect of antioxidants and ACE inhibition on chemical modification of proteins and progression of nephropathy in the streptozocin diabetic rat. *Diabetologia.* 2004, 47: 1385-1395.

3. **Anderson MM, Heinecke JM.** Production of N epsilon-(carboxymethyl) lysine is impaired in mice deficient in NADPH oxidase. A role of phagocyte-derived oxidants in the formation of advanced glycation end products during inflammation. *Diabetes.* 2003,52: 2137-2143.

4. **Bohlender JM, Franke S, Stein G et al.** Advanced glycation end products and the kidney. *Am J Renal Physiol.* 2005;289:F645-F659.

5. **Busch M, Franke S, Rüster C et al.** Advanced glycation end-products and the kidney. *Eur J Clin Invest.* 2010; 40(8):742-55.

6. **D'Agati V, Yan SF, Ramasamy R et al.** RAGE, glomerulosclerosis and proteinuria: Roles in podocytes and endothelial cells. *Trends Endocrinol Metab.* 2010,21: 5-56.

7. **Goh SY, Cooper ME.** Clinical review: the role of advanced glycation end products in progression and complications of diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:1143-1152.

8. **Gugliucci A, Menini T.** The axis AGE-RAGE-soluble RAGE and oxidative stress in chronic kidney disease. *Adv Exp Med Biol.* 2014;824:191-208.

9. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Glomerulonephritis Work Group. KDIGO clinical practice guideline for Glomerulonephritis. Kidney. 2012, Int. Suppl 2:139–274.

10. Linden E, Cai W, He JC et al. Endothelial dysfunction in patients with chronic kidney disease results from advanced glycation end products (AGE)-mediated inhibition of endothelial nitric oxide synthase through RAGE activation. Clin J Am Soc Nephrol. 2008;3:691–698.

11. Makita Z, Bucala R, Rayfield EJ et al. Reactive glycosylation endproducts in diabetic uraemia and treatment of renal failure. Lancet. 1994;343:1519-1522.

12. Meerwaldt R, Zeebregts CJ, Navis G et al. Accumulation of advanced glycation end products and chronic complications in ESRD treated by dialysis. J

Kidney Dis. 2009;53(1):138-50.

13. Noordzij MJ, Lefrandt JD, Smit AJ. Advanced glycation end products in renal failure: an overview. J Ren Care. 2008;34(4):207-12.

14. Sarkany Z, Ikonen TP, Ferreira-da-Silva F et al. Solution structure of the soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE). J Biol Chem. 2011;286:37525–37534

15. Yamagishi S, Matsui T. Advanced glycation end products, oxidative stress and diabetic nephropathy. Oxid Med Cell Longev. 2010;3:101–8.

16. Yamagishi S, Maeda S, Matsui T et al. Role of advanced glycation end products (AGEs) and oxidative stress in vascular complications in diabetes. Biochim Biophys Acta. 2012;1820(5):663-71.

REVIUL LITERATURII



© Cornelia Lazăr, Olga Tagadiuc, Svetlana Protopop, Ana Mișina, Valeriana Pantea

Cornelia Lazăr¹, Olga Tagadiuc¹, Svetlana Protopop¹, Ana Mișina², Valeriana Pantea³

ASPECTE ALE METABOLISMULUI ÎN ȚESUTUL OVARIAN

¹ Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Catedra de biochimie și biochimie clinică,

² IMSP Institutul Mamei și Copilului, Secția de ginecologie chirurgicală

³ Laboratorul Biochimie, USMF „Nicolae Testemițanu”

SUMMARY

ASPECTS OF OVARIAN TISSUE METABOLISM.

Ovarian pathology is diverse and frequent, so this organ metabolism research has become a priority for the scientists of the last decades. Many studies have focused on elucidating the metabolic activity of oocytes and cells surrounding them. There is a dependence for converting substrates, obtaining energy, growth and development.

РЕЗЮМЕ

АСПЕКТЫ МЕТАБОЛИЗМА ТКАНИ ЯИЧНИКОВ.

Патология яичников разнообразна и часто, поэтому исследование их метаболизма стало приоритетной задачей для учёных последних десятилетий. Многие исследования были сосредоточены на выяснении метаболическую активность ооцитов и клеток, окружающих их, и, таким образом, была обнаружена зависимость клеток для превращения субстратов, получение энергии, роста и развития.

Introducere. Studii *in vivo* și *in vitro* au relevat diferite căi metabolice ce au loc la nivelul ovarelor și diverse substraturi cu potențial energetic utilizate de ovocite, ceea ce reprezintă cheia potențialului înalt de

dezvoltare [1]. Metabolismul ovocitelor și foliculilor mamiferelor a fost studiat mai ales în foliculii antrali și în ovocitele mature. Despre metabolism cu referire la stadiile inițiale ale foliculogenezei sunt puține date.