

# Diabetes Mellitusta Dejeneratif Komplikasyon Göstergesi Olarak Transferrinüri ve İdrarda N-Asetil- Beta-D-Glukozaminidaz

## TRANSFERRINURIA AND URINE N-ACETYL-BETA-D-GLUCOSAMINIDASE AS A DEGENERATIVE COMPLICATION DETERMINANT IN DIABETES MELLITUS

İlhan YETKİN\*, Şebnem KÖSEBALABAN\*\*, Nazan ARPACIOĞLU\*\*, Gökşun AYVAZ\*

\* Dr.,Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları AD,

\*\* Dr.,SSK Ankara Eğitim Hastanesi Biokimya Kliniği, ANKARA

### Özet

Diabetik nefropati klinik olarak belirginleşmeden önce böbreklerin yapısında ve fonksiyonlarında glomerüler hiperfiltrasyon, nefromegali ve mikroalbuminüri gibi değişiklikler görülmektedir. Çalışmanın amacı, klinik diabetik nefropatinin erken tanısında mikroalbuminüriye alternatif olarak transferrinüri değerini saptamaktır. Bu amaçla 56 diabetik hasta (28 kadın, 28 erkek) ile yaş, seks ve vücut kitle indeksi benzer 30 sağlıklı kontrol grubunda idrar mikroalbumin, transferrin ve NAG seviyeleri tayin edildi. Albumin/kreatinin(A/K) ve transferrin/kreatinin(T/K) oranları hesaplandı. Hastalar buna göre Grup A: A/K oranı 2.5 mg/mmol altında, grup B: A/K oranı 2.5-26.8 mg/mmol arası, grup C: A/K oranı 26.8 mg/mmol üzeri olarak gruplara ayrıldı. A/K ve T/K yönünden grup B ve C, A ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ( $p < 0.0001$ ). Tübüler disfonksiyon göstergesi olarak tayin edilen idrar NAG/kreatinin düzeyleri ile idrar A/K düzeyleri ( $r = 0.46$ ,  $p < 0.01$ ), idrar NAG düzeyleri ile idrar transferrin düzeyleri ( $r = 0.46$ ,  $p < 0.0001$ ) ve idrar transferrin düzeyleri ile idrar albumin düzeyleri arasında ( $r = 0.86$ ,  $p < 0.0001$ ) pozitif korelasyon saptandı. Grup B'nin T/K oranı sağlıklı kontrol grubuna göre 8.4 kat, A/K oranı 4.8 kat fazla saptandı.

Sonuç olarak diabetik nefropati için mikrotransferrinüri mikroalbuminüriye göre potansiyel olarak daha duyarlı bir gösterge olabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Diabetik nefropati, Mikroalbuminüri, Transferrinüri, N Asetil beta-D-Glukozaminidaz

T Klin Tıp Bilimleri 1998, 18:255-259

### Summary

Glomerular hyperfiltration and nephromegaly have been detected and microalbuminuria has been seen before the diabetic nephropathy becomes clinically obvious. The aim of this study is to appreciate the value of transferrinuria as an alternative to microalbuminuria in early diagnosis of diabetic nephropathy. In this study, we detected the levels of microalbuminuria and transferrinuria, the levels of N Acetyl beta-D-Glycosaminidase (NAG) and creatinin in urine in 56 diabetic patients (28 male, 28 female). We also detected the levels of microalbuminuria and transferrinuria and the levels of NAG and creatinin in urine in 30 healthy subjects same as the patients compared in age, sex, and body mass index (BMI). We calculated the albumin/creatinin (A/C) ratio and the transferrine/creatinine (T/C) ratio of urine samples. According to the A/C ratio we classified the patients in three groups: as the group A (A/C: 2.5 mg/mmol), the group B (A/C: 2.5-26.8 mg/mmol), the group C (A/C: greater than 26.8 mg/mmol). When A/C ratio and T/C ratio of group B and the group C were compared with the group A, there was a significant difference ( $p < 0.001$ ). There were positive correlations between the levels of NAG in urine and the levels of albumine in urine ( $r = 0.46$ ,  $p < 0.01$ ) between the levels of NAG in urine and the levels of transferrine in urine, ( $r = 0.46$ ,  $p < 0.0001$ ) and between the levels of transferrine in urine and the levels of albumine in urine ( $r = 0.86$ ,  $p < 0.0001$ ). Where as the T/C ratio of the group B was 8.4 times higher than that of the healthy subjects, the A/C ratio of the group B was 4.8 times higher than that of the healthy subjects.

As a result, it is suggested that transferrinuria may be more sensitive as an indicator for diabetic nephropathy compared with microalbuminuria.

**Key Words:** Diabetic nephropathy, Microalbuminuria, Transferrinuria, N Acetyl-beta-D-Glycosaminidase

T Klin J Med Sci 1998, 18:255-259

**Geliş Tarihi:** 17.07.1997

**Yazışma Adresi:** Dr. İlhan YETKİN  
And Sok. No: 22/9  
Çankaya, ANKARA

T Klin J Med Sci 1998, 18

İnsülinin keşfi ile (Banting-Best 1920) diabetli hastalar daha uzun bir yaşam süresine sahip oldular. Diabetli hastalarda yaşam süresinin uzaması kliniklerde diabetin dejeneratif komplikasyon-

255

larının daha sık ve tüm boyutları ile karşılaşılmasına neden olmuştur. Bu nedenle dejeneratif komplikasyonların çok erken dönemlerde saptanıp önlenmesi konu ile ilgili hekimlerin başlıca amacı haline gelmiştir. Diabetik komplikasyonların içinde morbidite ve mortalitesi hayli yüksek olan diabetik nefropatinin erken dönemde teshisi ile ilgili çalışmalar 1960 lı yıllarda başlamıştır (1). Diabetik nefropati klinik olarak ortaya çıkmadan önce böbreklerin yapısında ve fonksiyonlarında sırası ile glomerüller hiperfiltrasyon, nefromegali ve mikroalbuminüri gibi bazı değişiklikler görülmektedir (2). Mikroalbuminüri sınırının aşılmasından sonra hızla aşikar proteinüri ile birlikte değişik derecelerde renal fonksiyon bozukluğu gelişir (3-5).

Son yıllarda diabetik nefropatinin başlangıç evresinin erken tanısında mikroalbuminüriye alternatif olarak transferrinüri gösterilmektedir (6-8). Transferrin (TRF) albuminden daha küçük molekül ağırlığına ve daha yüksek izoelektrik nokta(pI) değerine sahip olması nedeni ile glomerülden albumine göre daha kolay filtre olurken, tübüler reabsorbsiyon özelliği olmayan bir maddedir. Diabetik nefropatide esas patoloji glomerül bazal membranda olmakla birlikte çeşitli tübüler lezyonlar da görülmektedir (9). İdrarda albumin dışında daha küçük molekül ağırlıklı proteinlerin ve renal tübüler enzimlerin artışı erken tübüler harabiyeti gösterir. Beta-2-Mikroglobülin (B2M) düşük molekül ağırlıklı proteinlerden biri olup glomerüllerden tamamiyle filtre olduğundan idrarla itrahının artışı proksimal tübüllerde fonksiyon bozukluğu durumlarında görülür (10). N-Asetil-β-D-Glikozaminidaz (NAG) proksimal renal tubuli hücrelerinden menşeyini alan lizozomal bir enzim olup, proksimal tübüler hasara bağlı olarak tübüler lümenine salınır (11).

Bu çalışmanın amacı diabetik nefropatide glomerüller hasarın tanısında TRF'ürinin önemini saptamak tübüler bölgedeki hasarın göstergesi olarak idrar NAG\kreatinin ve B2M\kreatinin düzeyleri ile idrar albumin\kreatinin TNF\kreatinin düzeyleri arasındaki ilişkiyi göstermektir.

### Materyel ve Metod

Çalışmaya SSK Ankara Eğitim Hastanesi Dahiliye Polikliniğine başvuran 56 (28 kadın, 28 erkek) diabetik hasta alındı. Hastaların yaş dağılımı

kadınlarda (44±9 yıl), erkeklerde (50±12 yıl) idi. Kontrol grubu olarak seçilen 30 sağlıklı yetişkinin hasta grubu ile yaş seks ve vucut kitle indeksleri benzer olup 15'i kadın, yaş ortalamaları (45±6 yıl), 15'i erkek (52±14 yıl) idi. Retinopati yönünden göz dibi muayeneleri göz hastalıkları uzmanlarınca değerlendirildi. Periferik nöropati ise anamnez ve klinik muayene bulgularına dayanılarak "var" ya da "yok" olarak belirlendi. Hastalarda ve kontrol grubunda taze idrar örneklerinde NAG, aseton, 24 saatlik idrarda kreatinin, mikroalbumin, TRF, B2M, glukoz ayrıca kanda HbA1C, serumda glukoz, üre, kreatinin ve B2M düzeyleri çalışıldı. Hastaların idrar kültür-antibiyogramları[spesifik ve nonspesifik olarak] yapıldı. İdrar kültür-antibiyogramında mikroorganizma üreyenler çalışma dışı tutuldu.

İdrar NAG düzeyleri 3kresol sulfonftaleimyl-N-asetil-β-D glikozaminidi (MCP-NAG) substrat olarak kullanarak enzimatik kolorimetrik son nokta metodu ile tayin edildi (12). Ölçümler için Boehringer Mannheim Co tarafından deneysel amaçlı hazırlanan kit kullanıldı.

İdrar mikroalbumin tayini, Orion Diagnostica Turboks U albumin kiti ile nefalometrik likid faz immunopresipitasyon son nokta metodu ile katalog numarası 67560 olan kit kullanıldı (13).

İdrar TRF tayinini Orion Diagnostica Turboks kiti ile nefalometrik likit faz immunopresipitasyon son nokta metodu ile yapıldı ve bu amaçla katalog numarası 67564 olan kit kullanıldı (14).

Serum ve idrar β2M; IMX cihazında mikropartikül enzim immunoassay yöntemi ile çalışıldı (15). β2-Mikroglobulin pH<5.5 hemde pH>6.5 olan idrarda stabil olmadığından idrar örneklerinin 0.5 N sodyum hidroksit ile pH'ı 6' ya ayarlandı.

Kan HbA1c tayini Biyosistem iyon değiştirici reçine kullanılarak yapıldı (16). İdrar glukoz tayini heksokinaz metodu ile CL-770 spektrofotometresinde, stanbio marka kit ile (17), serum üre tayini glutamat dehidrojenaz metodu ile (sclavo marka kit ile) (18) serum ve idrar kreatinin düzeyleri kinetik Jaffe metodu (19) ile (sclavo marka kit ile) RA-XT otoanalizöründe çalışıldı. Diürezin etkisini en aza indirebilmek amacıyla idrarda çalışılan tüm parametrelerin birbiriyle istatistiksel karşılaştırılmasında 24 saatlik idrar kreatinin oranları kullanıldı. İstatistiksel sonuçlar ortalama ± SEM olarak verildi ve

**Tablo 1.** Diabetli hastaların idrar albumin/kreatinin (A/K) atılım oranına göre sınıflandırılması

Grup-A	A/K < 2.5 mg/mmol
Grup-B	A/K = 2.5-26.8 mg/mmol
Grup-C	A/K > 26.8 mg/mmol

karşılaştırmalar varyans analizi yardımıyla değerlendirildi.

### Bulgular

Hastalar albumin\kreatinin oranına göre sınıflandırıldı (Tablo 1). Diabetli hasta gruplarında [idrar albumin\kreatinin atılım oranına göre] ortalama idrar albumin\kreatinin, TRF\kreatinin, NAG\kreatinin,  $\beta$ 2M, kan HbA1c serum B2M değerleri grup B ve grup C'nin grup A ile karşılaştırılması Tablo 2'de verildi. Grup B ve C grup A ile karşılaştırıldığında hem idrar albumin\kreatinin hem de idrar TRF\kreatinin değerleri arasında sırası ile istatistiksel olarak ( $p<0.001$ ), ( $P<0.0001$ ) anlamlı fark saptandı. Grup B ve grup C de tübüler disfonksiyon göstergesi olarak tayin edilen idrar NAG\kreatinin ile TRF\kreatinin değerleri arasında sırası ile pozitif bir korelasyon ( $r=0.43$   $p<0.0001$ ), ( $r=0.46$   $p<0.0001$ ), idrar TRF\kreatinin değerleri ile idrar albumin\kreatinin değerleri arasında da sırası ile pozitif bir korelasyon saptandı ( $r=0.86$   $p<0.0001$ ), ( $r=0.86$   $p<0.0001$ ). Grup C de idrar NAG\krea-

tinin düzeyi ile idrar albumin\kreatinin oranı arasında da korelasyon saptandı ( $r=0.46$   $p<0.01$ ). Grup B ve grup C de kan HbA1c düzeyleri ile idrar TRF\kreatinin değerleri arasında sırası ile pozitif bir korelasyon ( $r=0.43$   $p<0.001$ ), ( $r=0.48$   $p<0.001$ ), kan HbA1c seviyeleri ile idrar NAG\kreatinin değerleri arasında da sırası ile ( $r=0.47$   $p<0.0001$ ), ( $r=0.51$   $p<0.0001$ ) pozitif korelasyon saptandı. Grup B ve grup C'nin idrar NAG\kreatinin değerleri ile idrar B2M değerleri arasında da pozitif bir korelasyon ( $r=0.37$   $p<0.001$ ), ( $r=0.45$   $p<0.001$ ) saptandı.

### Tartışma

Diabetes mellituslu hastalarda klinik nefropatinin erken tanısı ve takibinde mikroalbuminüri tayini son derece önemlidir. Bu sayede uygun tedavi ile ağır nefropati semptomlarının önlenmesi ya da geciktirilmesi mümkün olabilir. Son yıllarda yapılan çalışmalar diabetik nefropatinin erken tanısında, mikroalbuminüriye alternatif olarak transferrinüriyi göstermektedir (20-22). Mikroalbuminüriye göre artmış TRF itrahi, TRF'nin albumine göre daha yüksek pH'ya sahip olması nedeniyledir (23). Aynı molekül ağırlıklı proteinlerden daha az anyonik ve daha yüksek pH'ı olanlar glomerül membrandan daha kolaylıkla filtre olurlar. Proteinlerin glikozilasyonu glomerül membrandan düşük molekül ağırlıklı proteinlerin transportunu artırır. Diabetli hastalarda TRF, albumine göre daha az glikozile olurken, farklı izoelektrik noktası ve moleküler konformasyonundan dolayı

**Tablo 2.** Diabetli hasta gruplarında ortalama idrar albumin/kreatinin, idrar TRF/kreatinin, NAG/kreatinin serum ve idrar B2M ve kan HbA1c değerleri ve Grup A'nın Grup B ve Grup C ile istatistiksel değerlendirilmesi

	Kontrol (n=30)	Grup-A (n=15)	Grup-B (n=22)	Grup-C (n=19)
Albumin/kreatinin (mg/mmol)	1.05±0.43	1.82±0.82	5.09±1.04 $p<0.001$	54.3±7.12 $p<0.0001$
TRF/kreatinin (mg/mmol)	33.9±4.17	78.8±12.3	285±22.6 $p<0.001$	5368±102 $p<0.0001$
Serum B2M (mg/L)	550±23	800±97	2800±149 $p<0.001$	3400±287 $p<0.0001$
İdrar NAG/kreatinin (IU/mmol)	0.068±0.0075	0.087±0.0117	0.108±0.0203 $p<0.01$	0.145±0.0287 $p<0.0001$
İdrar B2M (mg/24 saat)	97±13	143±28	193±48 $p<0.01$	254±72 $p<0.001$
HbA1c(%) 4.2-6.2	4.7±0.917	6.9±1.03	8.6±1.87 $p<0.01$	10.8±2.12 $p<0.01$

albumin TRF'e göre daha fazla reabsorbe olmaktadır (24). Çalışmamızda diabetli hastalar (albumin\kreatinin oranına göre sınıflandırıldığında) özellikle grup B'nin idrar TRF\kreatinin oranı sağlıklı kontrol grubuna göre 8.4 kat daha fazla iken idrar albumin\kreatinin oranı 4.8 kat fazla saptandı.

Diabetes mellitusta artmış olan idrar NAG aktivitesinin kaynağı böbrek parankimidir. Proteinüri görülen durumlarda ve glomerüller bir dizi hastalıkta NAG'ın artmış olması glomerül filtrata dolaşımından geçtiğini düşündürürse de, molekül ağırlığı serbestçe filtre olmasına en büyük engeldir. Mikroalbuminürik ve metabolik kontrolün iyi olmadığı diabetlilerde idrar NAG düzeyinin artması renal tübüler harabiyeti göstermektedir (25). Çalışmamızda tübüler hasarın bir göstergesi olarak idrar NAG\kreatinin ve B2M çalışılmıştır. Proksimal renal tübüler hücrelerde oluşmuş hasardan dolayı idrar NAG'ın üriner ekskresyonu artmıştır. Özellikle grup C'de idrar B2M ve NAG\kreatinin değerleri grup A ile karşılaştırıldığında fark istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksektir ( $p < 0.001$ ). Bu bulgu bize diabetik nefropatide esas patoloji bazal membran kalınlaşması olsa da tübüler lezyonların da olabileceğini göstermektedir. Diabetin kontrolünde rutin bir parametre olarak kullanılan HbA1c düzeylerinin grup B ve grup C'de idrar TRF\kreatinin ve NAG\kreatinin düzeyleri ile pozitif korelasyon göstermesi komplikasyonların takibinde bu parametrelerin önemini ortaya çıkarmaktadır. Araştırma sonuçlarımız literatürde verilen değerlerle de paralellik göstermektedir (26).

Sonuç olarak çalışmamızda, diabetik nefropatinin erken tanısında TRF'ünün mikroalbuminüriye göre daha duyarlı bir gösterge olarak kullanılabileceği, ayrıca diabetik nefropatide glomerüller hasarın yanı sıra tubüllerde de hasar oluştuğu ve bu yönden de hastaların değerlendirilmesi gerektiği sonucuna varıldı.

#### KAYNAKLAR

- Stadler G, Schmidt R. Severe functional disorders of glomerular capillaries and renal hemodynamics in untreated diabetes mellitus during childhood. *Ann Pediatr* 1979; 193; 129-38.
- Viberty GC, Bending J. Preventive approach to diabetic kidney disease. *Contr Nephrol* 1988; 61: 91-100.
- Roberto M, Ottavio G, Guiseppa P, Giorgio O. Microalbuminuria in type-I diabetic patients with and without retinopathy. *Acta Diabetol Lat* 1989; 26 (2):163-70.
- Eunice ML, Larson RE. Introduction of insulin and prostacyclin production in the rat. *Diabetes* 1987; 31: 454-67.
- Viberty GC, Jarett RJ, Mahmut U, Hill RD. Microalbuminuria as a predictor of clinical nephropathy in insulin dependent diabetes mellitus. *Lancet* 1989; 26: 1430-2.
- Donell MJO, Watson J, Martin P, Chapman C, Barnett AH. Transferrinuria in type 2 diabetes: the effect of glycemic control. *Ann Clin Biochem* 1991; 128: 174-7.
- Bernard AM, Oueled AA, Goemaere V, Antoine JL, Lauwery Lamber Vandeleene B: Microtransferrinuria is a more sensitive indicator of early glomerular damage in diabetes than microalbuminuria. *Clin Chem* 1988; 34: 1920-1.
- Konen J, Shihabi Z, Newman J. The association of non insulin dependent diabetes mellitus and hypertension with urinary excretion of albumin and transferrin. *Am J Kidney Disease* 1993; 22 (6): 791-7.
- Shiomojo N, Kitahashi S, Naka K, Fujii S. Comparison of N-acetyl B-D glucosaminidase and alanine aminopeptidase activities for evaluation of microangiopathy in diabetes mellitus. *Metabolism* 1989; 36 (3): 277-80.
- Schardyn GHC. B2-Microglobulin its significance in the evaluation of renal function. *Kidney Int* 1987; 32: 635-41.
- Severini G, Alberti LM, Girolamo M. N-acetyl-B-D-glucosaminidase isozymes in serum and urine of patients with diabetes mellitus. *Clin Chem* 1988; 34(12): 2430-2.
- Yakata M. *Jap J. Clin Path Suppl* 1988; 56: 90-7.
- Harmoinen A, Vuorinen P. Rapid and sensitive immunoassay for albumin determination in urine. *Clin. Chem Acta.* 149 : 269-274, 1985.
- Harmonien A, Perko M, Jokela H, Korvula T: Immunoassay for transferrin using LKB 8600 reaction rate analyzer. *Scand J. Clin. Lab. Invest*, 41 : 517-519, 1981.
- Schroff RW, Foon KA, Beatty SM, Oldham RK, Morgan AC. Human anti-murine immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. *Cancer Res.* 45 : 879-85, 1985.
- Biesse E, Abraham EC. *J Chromatog* 1989; 344: 81-91.
- Caraway WT. Fundamentals of clinical chemistry. In: Tietz ED, ed. 2 nd ed. Philadelphia, London: Saunders Co, 1976: 242.
- Henry RJ. *Clinical Chemistry Principles and Technics.* New York: Harper and Row, 1974: 516.
- Young DS, Pestaner LC, Gibermann V. *Clin Chem* 1975: 211D-432D.
- Viberty G. Etiology and prognostic significance of albuminuria in diabetes. *Diabetes Care* 1991; 11: 840-5.
- Abrass CK. Diabetic proteinuria glomerular or tubular in origin. *Am J Nephrol* 1986; 12: 337-46.
- Cornick CP, Konen JC, Shihabi ZK. Microtransferrinuria and microalbuminuria. *Clin Physiol Biochem* 1990; 8: 53-8.

23. O Donnell MJ, Martin P, Topp M, Chapman C, Barnett AH. Transferrinuria precedes albuminuria in type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia* 1989; 32 : 525A-6A.
24. Martin P, Handley T, Chapman C. Urinary transferrin an early predictor of glomerular dysfunction. *Ann Clin Biochem* 1988; 25: 232-7.
25. Woolerton J, Jury DR, Dunn PJ, Speed JF. Urine albumin creatinine ratio and clinical correlation in a diabetic population. *N Z Med J* 1987; 24: 236-47.
26. Welwood JM, Ellis BG, Price RG. Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase activities in patients with renal disease. *Br Med J* 1975; 3: 408-11.