

УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ“  
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ- СКОПЈЕ  
КАТЕДРА ПО БИОХЕМИЈА И КЛИНИЧКА БИОХЕМИЈА

**ПРОЕКТ:**

**„РАНИ УРИНАРНИ МАРКЕРИ ЗА РЕНАЛНА ЛЕЗИЈА КАЈ ОБЕЗНИ  
ДЕЦА И АДОЛЕСЦЕНТИ“**

Септември, 2021 година

**Наслов на проект: Рани уринарни маркери за ренална лезија кај обезни деца и  
адолесценти**

**Раководител на проект: Проф. д-р Светлана Цековска**

**Учесници во проект:**

**Проф. д-р Велибор Тасиќ**

**Проф. д-р Зоран Гучев**

**Доц. Д-р Александра Јанчевска**

**Проф. д-р Јасна Богданска**

**Проф. д-р Даница Лабудовиќ**

**Проф. д-р Марија Крстевска**

**Проф. д-р Соња Топузовска**

**Проф. д-р Катерина Тошеска-Трајковска**

**Доц. д-р Ирена Костовска**

**Виш науч.сop. д-р Јулијана Брезовска-Кавракова**

**Ас. Гордана Босилкова**

*Голема благодарност до деканот на Медицинскиот факултет во Скопје проф. д-р Соња Топузовска и до деканската управа за моралната и материјална поддршка за изработката на овој проект*

*Голема благодарност до сите истражувачи вклучени во проектот, за нивниот придонес во разните етапи во реализација на овој проект. Особена благодарност до колегите од Универзитетската клиника за детски болести за нивното големо залагање околу собирање на примероците, изработката на дел од анализите и стручната поддршка*

## Рани уринарни маркери за ренална лезија кај обезни деца и адолесценти

### Апстракт

**Вовед:** Најновите податоци укажуваат дека прекумерната телесна тежина и обезност придонесуваат кон порастот на инциденцата на хронична бубрежна болест (СКД) кај деца и адолесценти. **Цел:** Испитување на неколку маркери за рана детекција на ренална лезија кај обезни и со прекумерна телесна тежина деца и адолесценти. **Материјал и методи:** Во студијата беа вклучени вкупно 64 обезни и со прекумерна телесна тежина деца и адолесценти и 50 здрави деца и адолесценти со нормална телесна тежина, на возраст од 5-19 години, споредливи по пол и возраст. За секој испитаник спроведени се антропометриски мерења и мерење на крвниот притисок. Во примерок на втора утринска урина кај сите испитаници е одредувана концентрацијата на КИМ-1 (kidney injury molecule-1) со ELISA метод, активноста на ензимот NAG (N-acetyl-beta-D-glucosaminidase) со спектрофотометриски метод и концентрацијата на микроалбуминот со хемилуминесцентен метод. Серумските концентрации на креатинин, уреа, уратна киселина, глукоза на гладно, инсулин на гладно и параметрите од липидниот статус беа одредени со стандардни биохемиски методи. За пресметување на инсулинската резистенција е користен хомеостатскиот модел (НОМА-IR). Хематолошкиот статус беше одредуван на хематолошки анализатор. Електрофоретска сепарација на уринарните протеини беше направена со примена на хоризонтална 4-22% градиентна SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfat poliacylamid gel electrophoresis). Вкупните уринарни протеини беа одредувани со турбидиметрискиот метод по Meulemans. **Резултати:** Не е утврдена сигнификантна разлика меѓу двете групи испитаници за евалуираните параметри од хематолошкиот статус (број на еритроцити, концентрација на хемоглобин и хематокрит), серумскиот креатинин, глукоза, уреа, уратна киселина и за параметрите од липидниот статус ( $p > 0,05$ ). Утврдени се сигнификантно повисоки нивоа на КИМ-1/креатинин и NAG/креатинин соодносот во групата на обезни и деца со прекумерна телесна тежина. Умерена сигнификантана корелација е утврдена меѓу уринарниот микроалбумин/креатинин сооднос и КИМ-1/креатинин соодносот ( $r=0,53$ ,  $p<0,05$ ) во групата на обезни и со прекумерна телесна тежина деца и адолесценти. Сигнификантна корелација е утврдена и меѓу КИМ-1/креатинин и NAG/креатинин ( $r=0,83$ ,  $p<0,05$ ) и меѓу микроалбумин/креатинин и NAG/креатинин соодносот ( $r = 0,76$ ,  $p<0,05$ ). Инсулинска резистенција е детектирана кај 53% од групата на обезни и деца со прекумерна телесна тежина, но не е утврдена сигнификантна разлика за КИМ-1, NAG и микроалбуминот меѓу испитаниците со и без инсулинска резистенција. Анализата на електрофоретските профили покажа присуство на селективна гломеруларна протеинурија кај два испитаника од групата на обезни и со прекумерна телесна тежина, од кои еден со инсулинска резистенција. **Заклучок:** Резултатите покажуваат дека уринарните КИМ-1, NAG и микроалбуминот претставуваат маркери за детекција на рана ренална лезија кај обезни деца и адолесценти, со цел да се превенира развојот и прогресијата на хроничната бубрежна болест.

**Клучни зборови:** обезни деца и адолесценти, Kidney injury molecule-1, N-acetyl-beta-D-glucosaminidase, микроалбумин, рана ренална лезија

## Early urinary markers for renal injury in obese children and adolescents

### Abstract

**Introduction:** Recent data indicate that overweight and obesity contribute to increase of chronic kidney disease (CKD) incidence in children and adolescents. **Aim:** To examine of several markers for early detection of renal injury in overweight and obese children and adolescents. **Material and methods:** In total 64 overweight and obese children and adolescents and 50 healthy children and adolescents with normal body weight, 5-19 years old, matched for gender and age, were enrolled in the study. Anthropometric measurements and blood pressure measurements were conducted for each subject. In the second morning urine levels of KIM-1 (kidney injury molecule-1) were determined with ELISA method, the activity of the enzyme NAG (N-acetyl-beta-D-glucosaminidase) with spectrophotometric method and microalbumin with chemiluminescent method. Serum concentrations of creatinine, urea, uric acid, fasting glucose and insulin, and parameters of lipid profile, were determined by using of standard biochemical methods. Insulin resistance was estimated using homeostasis model (HOMA-IR). Hematological status was measured on hematological analyzer. Electrophoretic separation of urinary protein was performed by applying of horizontal 4-22% gradient SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate gel electrophoresis). Total urinary proteins were measured with turbidimetric method of Meulemans. **Results:** No significant difference were found between two groups of subjects for the evaluated parameters of hematological status (Erythrocyte number, Haemoglobin and hematocrit), serum creatinine, glucose, urea, uric acid and for lipid profile parameters ( $p > 0.05$ ). Urine KIM-1/Cr and NAG/Cr ratio were found significantly higher in the group of overweight and obese children and adolescents. The modest significant correlation was detected in this group between urinary microalbumin/Cr ratio and KIM-1/Cr ( $r=0.53$ ,  $p<0.05$ ). There was also significantly high correlation ( $r=0.83$ ,  $p<0.05$ ) between KIM-1/Cr and NAG/Cr ratio, as well as between microalbumin/Cr and NAG/Cr ratio ( $r=0.76$ ,  $p<0.05$ ). Insulin resistance was detected in 53% of overweight and obese children and adolescents. No significant difference was detected between subjects with or without insulin resistance for KIM-1, NAG and microalbumin. Analysis of electrophoretic profiles have shown the presence of selective glomerular proteinuria in two subjects from the group of overweight and obese children, one of them presented insulin resistance. **Conclusion:** The results have shown that urinary KIM-1, NAG and microalbumin are promising markers for detection of early renal injury in overweight and obese children and adolescents, that could be used with aim to prevent development and progression of chronic kidney disease.

**Key words:** obese children and adolescents, Kidney injury molecule-1, N-acetyl-beta-D-glucosaminidase, microalbumin, early renal injury

## Содржина

1. Вовед -----	7
2. Цели на проектот -----	9
3. Материјал и методи -----	9
4. Статистичка анализа -----	11
5. Резултати -----	11
6. Дискусија -----	16
7. Заклучоци -----	17
8. Литература -----	18

## 1. ВОВЕД

Според достапните податоци се смета дека на планетата земја повеќе од 2,1 милијарди возрасни и деца имаат прекумерна тежина или се дебелите (1). Процентата застапеност на дебелината кај деца и адолесценти на возраст од 2 до 19 години во светски рамки изнесува 5%, или околу 110 милиони (2).

Во колку кај возрасен човек е проценет **Индекс на телесна маса (ВМИ)** помал од  $18,5 \text{ kg/m}^2$  се смета за таа личност дека е со недоволна тежина, ако ВМИ е  $18,5\text{-}24,9 \text{ kg/m}^2$ , тогаш таа личност има нормална тежина, прекумерна тежина има ако ВМИ е  $25\text{-}29,9 \text{ kg/m}^2$ , дебелите се тие лица со  $\text{ВМИ} \geq 30 \text{ kg/m}^2$  и ВМИ над  $40 \text{ kg/m}^2$  имаат екстремно дебелите луѓе (според класификацијата на СЗО) (3).

За децата, **ВМИ z-скорот** за соодветниот пол, возраст и етничка припадност е попрецизна алатка и почесто се користи од ВМИ. Децата со индекс на телесна маса (ИТМ/ВМИ) на или над 95 проценти се сметаат за „деца со прекумерна тежина“ (според СЗО за 2007 година). Неодамнешните направени студии се фокусирале на асоцијацијата помеѓу породилната тежина (ПТ) и телесната градба во поодмината возраст. Имено, ако се има предвид дека породилната тежина е одраз на феталната нутриција, тогаш сосема оправдана е сугестијата на некои извештаи дека исхраната на фетусот во текот бременоста, има негативен програмен ефект на абдоминалниот тип на здебеленост конкретно кај децата родени мали за возраста, подоцна во текот на животот. Оваа инверзна асоцијација помеѓу ПТ и абдоминалниот тип на здебеленост кај возрасните се смета за одговорен фактор за појавата на инсулинска резистенција во адултна доба.

Mathews и колегите уште во 1995 година, го препорачале компјутерскиот модел на ХОМА за определување на инсулинската секреција и резистенција и следење на пореметувања на гликозниот метаболизам (4). Денес, компјутерски определениот ХОМА2 моделот базиран на нелинеарни раствори е нашироко прифатен за сметка на едноставниот ХОМА модел (5). Притоа треба да се има предвид дека добиените вредности на ХОМА-ИР се зависни од неколку фактори: етницитет, пол, возраст, метаболичката состојба на испитуваниот пациент и клиничките методи на калкулација. Поради тоа, многуте реализирани студии покажале дека постојат големи варијабилности и разлики во нивното cut-off ниво меѓу државите каде што се користат (6, 7).

Појавата и разликите во преваленцијата на метаболичките нарушувања кај децата се директно поврзани со нивната гестациска старост при раѓање. Тие метаболни пореметувања биле согледани и кај децата кои потекнувале од сиромашни подрачја, но и кај децата кои живеат во индустријализираните и земјите со високи примања. Ова особено се однесува на децата кои се родени во термин, но со мала родилна тежина или должина, за кои постојат повеќе објаснувања и хипотези.

Во една компаративна студија објавен е трикратно зголемен број на метаболни нарушувања кај дебелите деца родени во термин со нормална породилна тежина и должина (АГА), два пати повеќе во групата на децата со мала родилна тежина или должина (СГА), во споредба со групата на АГА родени деца кои не биле дебелите (8).

Денг и сор. (9) откриле значително повисоки вредности на ХОМА-ИР кај СГА деца кои постигнале раст на дофат до 2 години, споредено со децата родени како АГА. Инсулинската резистенција се зголемува со зголемување на висината и зголемување на ВМІ кај децата родени како СГА. Вредностите на ХОМА-ИР индексот кај децата родени како СГА, кои не постигнале раст на дофатот, одговарале со добиените вредностите на ХОМА-ИР кај деца родени како АГА.

Дијагностицирањето на метаболниот синдром (МетС) наидува на многу тешкотии, а тие се детално разгледувани и дискутирани (10). Секогаш треба да се имаат во предвид дијагностичките критериуми на метаболниот синдром. Имено, најмалку 3 од нив треба да бидат исполнети за да може да се постави дијагноза на МетС кај некое дете или возрасен пациент (10). Неверојатно, во една студија само 2% од пациентите (11) ги исполниле критериумите, иако вкупната преваленција на МетС кај деца и адолесценти се движела помеѓу 6% и 39% (11).

Обезноста кај деца и адолесценти претставува глобален епидемиолошки проблем, којшто е поврзан со есенциелната хипертензија и тип-2 дијабетот, најзначајни причини за терминалната бубрежна болест. Со зголемување на зачестеноста на обезноста, преваленцата на терминалната бубрежна болест исто така порасна драматично во последната декада (12,13). Во студиите направени во последната декада се забележува голем интерес за испитување на уринарната албуминска екскреција, како ран предиктор на хипертензивната и дијабетската нефропатија (14,15). Исто така сè поголем е интересот за испитување на уринарните ензими за проценка на лезиите во реналните тубули, како на пр. ензимот NAG (N-acetyl-beta-D-glucosaminidase), лизозомален ензим, којшто се користи за да се одреди степенот на тубуларното оштетување предизвикано од протеинуријата, нефролитијазата, хипергликемијата, трансплантацијата на бубрег и нефротоксичните лекови (16). Во последните години, два маркери се посочени како извонредни биомаркери за акутни и хронични бубрежни лезии. Тоа се NGAL (neutrophil gelatinase-associated lipocalin) и KIM-1 (kidney injury molecule-1). NGAL е мал протеин којшто припаѓа на lipocalin семејството, а KIM-1 е тип-1 клеточен мембрански гликопротеин. Нивоата на овие два маркери во урината се зголемуваат како одговор на оштетување на клетките во реналните проксимални тубули (17,18). Кон оваа палета на посочени маркери за испитување на рана ренална лезија, се приклучува и испитувањето на електрофоретските профили на уринарните протеини со SDS-PAGE (натриум додецил сулфат полиакриламид гел електрофореза), кои овозможуваат панорамски преглед на екскретираниите протеини во урината и идентификација на типот на протеинуријата (гломеруларна, тубуларна или комплетна) врз основа на молекуларната маса на излачените протеини (19,20).

Резултатите од голем број студии покажуваат дека обезноста е асоцирана со зголемен ризик од ренална лезија кај децата (21,22). Извесен степен на нарушување на реналната функција, поврзано со обезноста, се смета дека започнува рано во детството, долго време пред појавата на хипертензијата, дијабетот и други асоцирани коморбидитети кои придонесуваат кон појава на бубрежната болест (23). Постои постепена појава на бубрежна болест кај обезни деца и адолесценти, која на почетокот е асимптоматска. Затоа се потребни веродостојни биомаркери за рана детекција и превенција.



## 2. ЦЕЛИ

Мотив за реализација на една студија во која би биле испитувани горенаведените биомаркери е високата процентуална застапеност на обезни деца и адолесценти во нашата популација, а со тоа и коморбидитетите на обезноста, вклучувајќи ја инсулинската резистенција, нарушената толеранција кон гликоза, хипертензијата и хроничната бубрежна болест.

Со оглед дека досега во нашата држава концентрацијата на КИМ-1 не се одредува рутински во клиничко-биохемиските лаборатории, дополнителен мотив на оваа студија е да се воведат и стандардизира методот за одредување на концентрацијата на КИМ-1 во урината.

Цели на оваа пресечна студија (cross-sectional) беа:

- Да се утврди дали концентрацијата на биохемиските маркери кои ќе бидат одредени во серумот и урината кај обезните деца и адолесценти може да овозможи идентификација на испитаници со висок ризик за развој на хронична бубрежна болест;
- Да се издвојат маркери кои би претставувале најчувствителни и ветувачки маркери за детекција на рана ренална лезија и истите да бидат предмет на некоја идна проспективна студија;
- Врз основа на добиените резултати од студијата да се предложи динамика за следење на биохемиските ренални маркери, со цел да се превенира развојот и прогресијата на хроничната бубрежна болест.

## 3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

Во испитувањето беа вклучени 64 деца со прекумерна телесна тежина (со индекс на телесна маса ИТМ  $> 25 \text{ kg/m}^2$ ) и обезни деца и адолесценти (со индекс на телесна маса ИТМ  $> 30 \text{ kg/m}^2$ ) на возраст од 5-19 години, со подеднаква застапеност на двата пола (33/29 м/ж), а во контролната група беа опфатени 50 здрави деца и адолесценти (26/24 м/ж) со нормална телесна тежина, врсници по возраст со децата со прекумерна телесна маса и обезните деца. Обезните деца и адолесценти беа регрутирани во амбулантскиот дел од Универзитетската клиника за детски болести во Скопје. Деца и адолесценти чија обезност има ендокринолошка причина како на пример Cushing синдром или хипотироидизам беа исклучени. Исто така и испитаници со системски болести, како на пр. болест на црн дроб, беа исклучени. При прегледот на испитаниците на Клиниката за детски болести беа нотирани податоци за телесната тежина, висина и крвниот притисок.

### 1. Клинички преглед и следење на пуберталниот развој:

Кај сите деца при влез во студијата се определуваше пуберталниот развој според Tanner, а потоа и при следните прегледи се контролираше истиот;

### 2. Антропометриските податоци ги сочинуваат вредностите на параметрите за процена на растот: висина, тежина, body mass index (BMI) и BMI z-скорот.

Процената на ауксолошките параметри беше направена со прецизна опрема специјализирана за педијатриската популација.

- За мерењето на висината на испитаниците користевме Harpenden-ов стадиомер, дигитален мерач закачен на сидот;
- Мерењето на телесната тежина беше реализирано на специјални ваги наменети исклучиво за педијатриска популација;
- Body mass index (индексот на телесна маса) беше определен по стандардната формула:  $\text{kg/m}^2$  соодветен за полот и возраста на пациентот. Притоа беа земени во предвид стандардните категории на ВМІ, и тоа: потхранетост < 18,5; нормална тежина = 18,5–24,9; прекумерна тежина = 25–29,9 и обезност ако ВМІ е 30 или поголем.
- Body mass z-score, уште попрецизен податок за нутритивната состојба кај децата.

**3. Проценка на инсулинската несензитивност** беше направено кај сите деца.

Тоа особено беше значајно кај децата кои имаа изразена акантоза и стрии.

- Инсулинската инсензитивност беше проценета преку нарушена вредност на гликемијата на гладно и нарушена гликозна толеранција. Дијагнозата на нарушена вредност на гликемијата на гладно се поставува кога вредностите на гликемијата на гладно е > 6,1 и < 7,0 mmol/l. Дијагноза на нарушена гликозна толеранција се дефинира како состојба кога гликемијата на гладно е < 7,0 mmol/l и 2 часа по јадење изнесува > 7,8 mmol/l, а < 11,1 mmol/l.
- Инсулинската секреција и сензитивност беше проценета преку Homeostasis Model Assessment (НОМА) проценета преку компјутерскиот модел на НОМА. Стандардна-та верзија на т.н. НОМА Calculator©The University of Oxford 2013 со примена на НОМА2 моделот, се користи за процена на  $\beta$ -клеточната функција (%B) и инсулинската сензитивност (%S) од веќе измерена гликемија на гладно и инсулински концентрации. Овој НОМА2 модел е калибриран да ги проценува вредностите на %B и %S во рамките на 100%. Резултатите од компјутерскиот модел на НОМА кореспондираат со вредностите проценети со примена на стандардните формули за Инсулинска резистенција: (нормално = 1; патолошко > 1) при што инсулинемијата на гладно беше изразена во mU/ml, а гликемијата на гладно во mmol/l и панкреатичната  $\beta$ -клеточната функција: (нормално = 100%; патолошко < 100%);

**4. Проценка на крвниот притисок** беше направена со примена на стандардна процедура, со апарат со живин манометар.

**5. Биохемиски анализи**- од сите испитаници беше земен примерок на венска крв на гладно (одделно во вакутајнер со K<sub>3</sub>EDTA и во вакутајнер без антикоагуланс за одвојување серум). Во лабораторијата на Клиниката за детски болести беше направена диференцијална крвна слика на хематолошки бројач Sysmex XS 1000, а во примерокот серум е одредена концентрацијата на уреа, креатинин, уратна киселина,

гликоза, холестерол, триацилглицероли, HDL и LDL холестерол, со примена на стандардни спектрофотометриски методи, како и концентрација на инсулин на гладно, со ECLIA метод (Enzyme chemiluminiscence immuno assay) на хемилуминесцентен анализатор Immulite 2000. Исто така во примерок на втора утринска урина, на сите испитаници им е одредена концентрацијата на креатининот со спектрофотометриски метод и микроалбуминот со хемилуминесцентен метод. На Институтот за медицинска и експериментална биохемија на сите испитаници испратени од Клиниката за детски болести, во примерок на втора утринска урина им е одредена концентрацијата на каталитичката активност на ензимот NAG (N-acetyl beta-D-glucosaminidase) и концентрацијата на KIM-1, на автоматизиран биохемиски анализатор ChemWell Awareness Technologies. Исто така за сите испитаници беа направени електрофоретски профили на уринарните протеини со примена на хоризонтална 4-22% градиентна SDS-PAG електрофореза (натриум додецил сулфат полиакриламид гел електрофореза) во три примероци урина (прва утринска урина, втора урина и урина излачена по физички напор). Активноста на ензимот NAG е одредувана со спектрофотометриски метод (Diazyme Labs, USA), а концентрацијата на KIM-1 со ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay) метод (Cusabio, USA).

#### 4. СТАТИСТИЧКА АНАЛИЗА

По завршување на експерименталниот дел на проектот собраните податоци беа статистички обработени, со примена на статистичкиот програм Statistica 10, верзија 14. Категоричните податоци беа презентирани како број и проценти додека квантитативните податоци беа изразени како аритметичка средина и стандардна девијација. Student t-тест и Spearman-ов коефициент на корелација (r) беа употребени тестови за испитување сигнификантност. За сигнификантна разлика беше земена вредност на  $p < 0,05$  ( $p < 0,05$ , CI 95%).

#### 5. РЕЗУЛТАТИ

Клиничките и биохемиските податоци на децата и адолесцентите со прекумерна телесна тежина и обезните деца и адолесценти, како и на испитаниците од контролната група, се презентирани во Табелите 1 и 2. Двете групи испитаници се споредливи по возраст. Систолниот и дијастолниот притисок се сигнификантно повисоки кај групата деца и адолесценти со прекумерна телесна тежина и обезни, во споредба со контролната група ( $p < 0,05$ ).

Не е утврдена статистичка сигнификантна разлика меѓу двете групи испитаници за евалуираните параметри од хематолошкиот статус (број на еритроцити, хемоглобин и хематокрит), серумската концентрација на глукоза, уреа, креатинин и уратна киселина и за параметрите од липидниот статус. Утврдена е сигнификантна разлика за концентрацијата на каталитичката активност на U-NAG и концентрацијата на U-KIM-1 меѓу двете групи испитаници.

Табела 1. Клинички карактеристики на децата и адолесцентите со прекумерна телесна тежина и со обезност и необезни испитаници од контролната група

	прекумерна телесна тежина и обезни (n=64)	необезни (n=50)	р вредност
Возраст (год.)	11,71 ± 3,91	12,1 ± 4,54	н.с.
ВМI (Kg/m <sup>2</sup> )	31,11 ± 5,16	19,54 ± 4,67	< 0,001
Систолен КП (mmHg)	119,05 ± 15,05	105,9 ± 16,09	< 0,05
Дијастолен КП (mmHg)	74,33 ± 10,19	65,21 ± 4,82	< 0,05

КП – крвен притисок

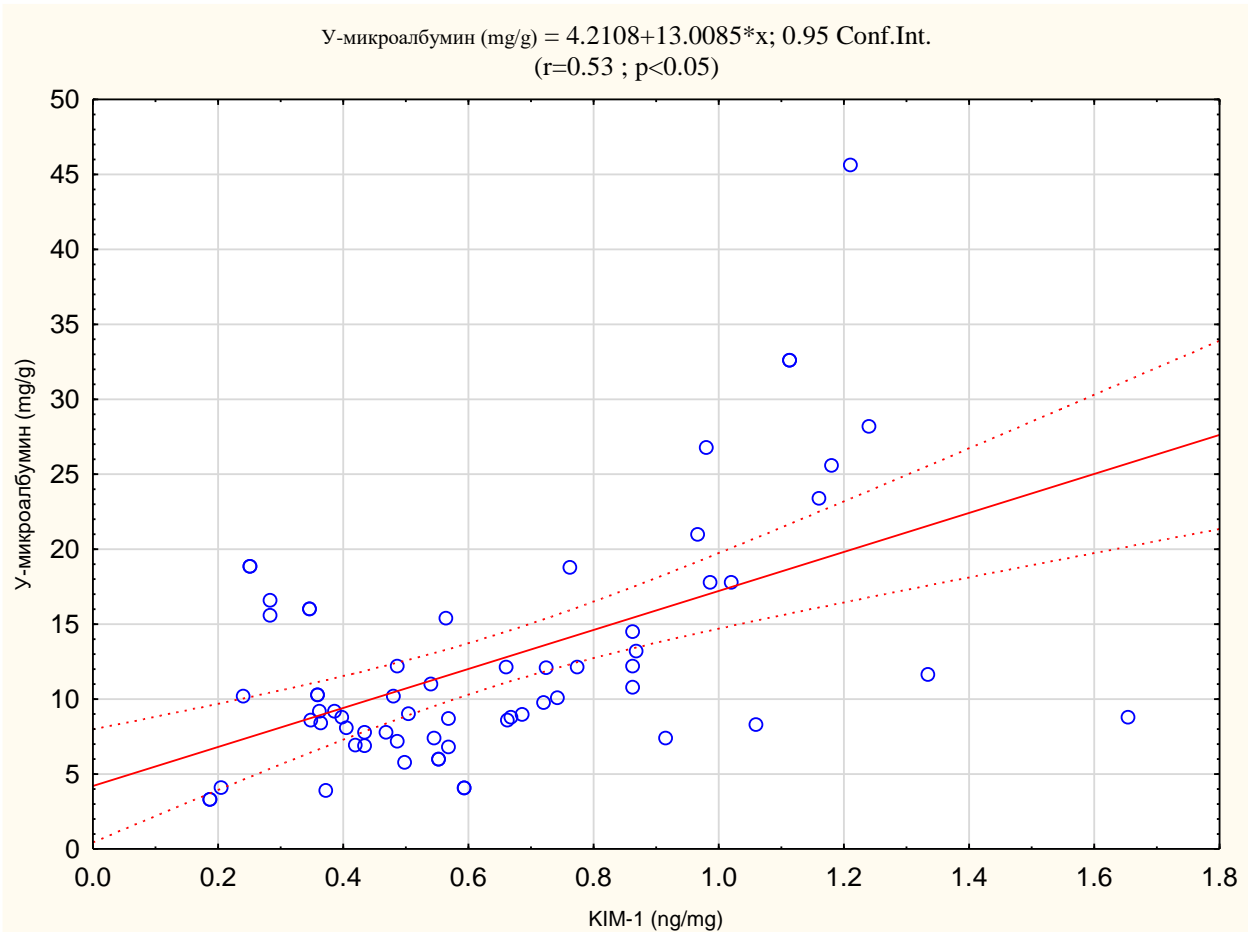
Табела 2. Биохемиски податоци на децата и адолесцентите со прекумерна телесна тежина и со обезност и необезни испитаници од контролната група

	прекумерна телесна тежина и обезни (n=64)	необезни (n=50)	р вредност
Еритроцити (10 <sup>6</sup> /μL)	4,69 ± 0,73	4,63 ± 0,32	>0,05
Хемоглобин (g/L)	12,96 ± 1,56	13,31 ± 0,61	>0,05
Хематокрит (%)	38,27 ± 4,06	39,6 ± 2,02	>0,05
Глукоза (mmol/L)	4,35 ± 0,36	4,27 ± 0,42	>0,05
Креатинин-С (μmol/L)	58,33 ± 12,08	59,82 ± 9,64	>0,05
Уреа-С (mmol/L)	4,13 ± 0,78	4,01 ± 0,39	>0,05
Уратна киселина-С (mmol/L)	286,91 ± 78,46	256,27 ± 33,28	>0,05
У-Микроалбумин/Cr (mg/g Cr)	12,54 ± 7,96	10,49 ± 5,01	>0,05
У-КИМ-1/Cr (ng/mg)	0,66 ± 0,31	0,43 ± 0,23	<0,05
У-NAG/Cr (U/g)	17,1 ± 8,65	10,94 ± 4,21	< 0,05
Вкупен холестерол (mmol/L)	4,26 ± 0,51	4,18 ± 0,58	>0,05
Триацилглицероли (mmol/L)	1,23 ± 0,62	1,21 ± 0,59	> 0,05
HDL-холестерол (mmol/L)	1,12 ± 0,21	1,08 ± 0,19	> 0,05
LDL-холестерол (mmol/L)	2,74 ± 0,41	2,62 ± 0,42	>0,05

Креатинин-С (серумски креатинин); Уреа-С (серумска уреа);  
Уратна киселина-С (серумска уратна киселина); У-микроалбумин (микроалбумин  
во урина); У-КИМ-1 (КИМ-1 во урина); У-NAG (NAG во урина)

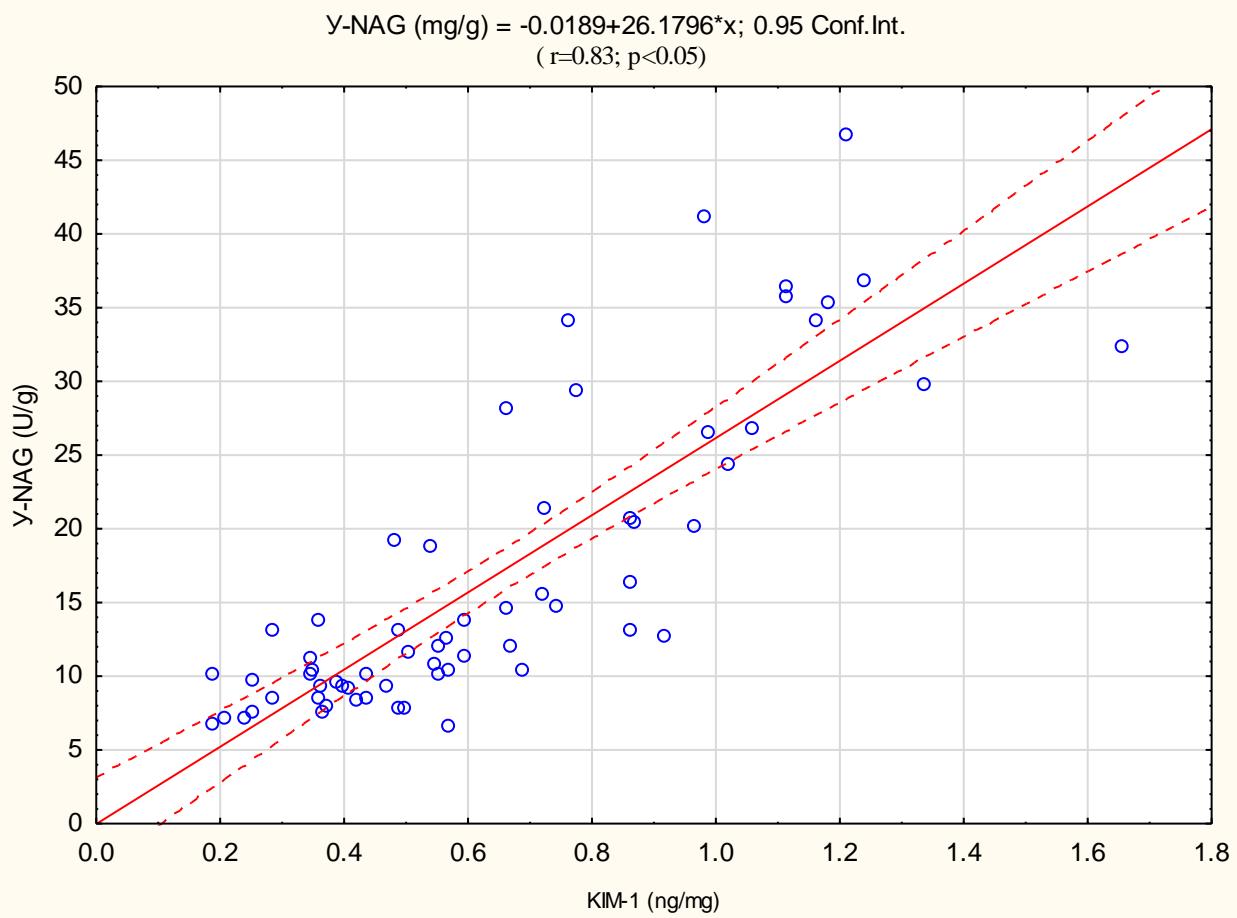
Во однос на евалуираните параметри од хематолошкиот статус (број на еритроцити, хемоглобин и хематокрит), како маркери за анемија, само кај еден испитаник (0,64%) од групата деца и адолесценти со прекумерна телесна тежина и обезни се утврдени вредности за концентрација на хемоглобинот и хематокритот, пониски од долната граница на референтниот интервал.

Утврдена е умерена статистичка сигнификантна корелација меѓу У-микроалбумин и У-КИМ-1 ( $r=0,53$ ,  $p<0,05$ ) во групата деца и адолесценти со прекумерна телесна тежина и обезни (Слика 1).



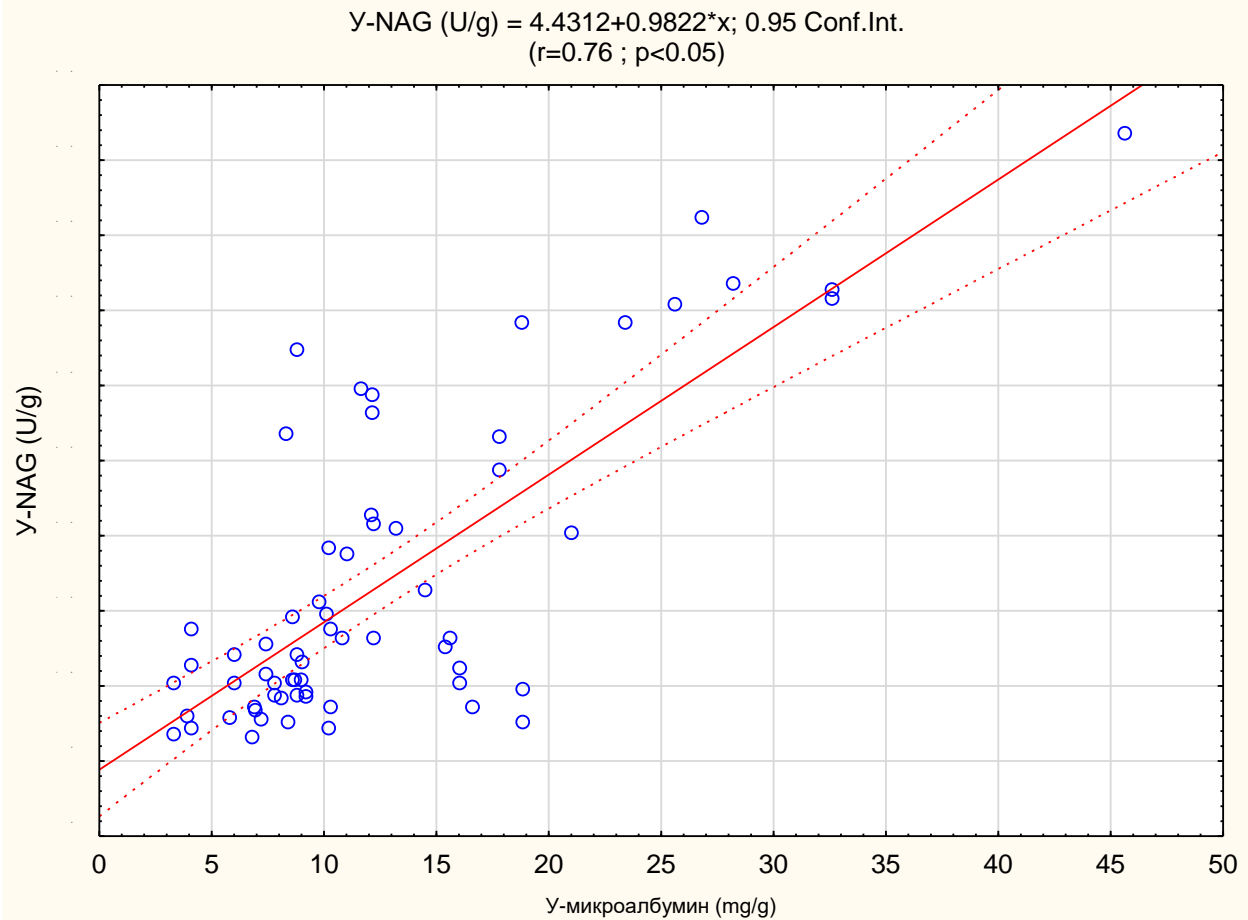
Слика 1. Корелација меѓу концентрацијата на У-КИМ-1 и концентрацијата на У-микроалбумин во групата на деца и адолесценти со прекумерна телесна тежина и обезни

Утврдена е висока статистички сигнификантна корелација меѓу концентрацијата на У-КИМ-1 и У-NAG ( $r=0,83$  ;  $p < 0,05$ ) во групата деца и адолесценти со прекумерна телесна тежина и обезност (Слика 2).



Слика 2. Корелација меѓу концентрацијата на У-КИМ-1 и концентрацијата на У-NAG во групата на деца и адолесценти со прекумерна телесна тежина и обезни

Статистички сигнификантна корелација е утврдена и меѓу концентрацијата на У-микроалбумин и активноста на ензимот NAG во урина, кај деца и адолесценти со прекумерна телесна тежина и обезни (Слика 3).



Слика 3. Корелација меѓу концентрацијата на У-микроалбумин и концентрацијата на У-NAG во групата на деца и адолесценти со прекумерна телесна тежина и обезни

Со примена на хомеостатскиот модел за проценка на инсулинската резистенција (НОМА-IR), со пресметка врз основа на серумската концентрација на глукоза на гладно и концентрацијата на инсулин на гладно, во групата деца и адолесценти со прекумерна телесна тежина и обезност, утврдена е инсулинска резистенција кај 53% од испитаниците, односно кај 34 од вкупно 64 испитаници. Кај ниту еден од двете групи испитаници не е детектирана нарушена вредност на гликемијата на гладно. Не е утврдена сигнификантна разлика меѓу испитаниците со прекумерна телесна тежина и обезни со инсулинска резистенција и оние без инсулинска резистенција, за У-NAG/Cr ( $17,1 \pm 8,65$  vs.  $15,67 \pm 7,06$  U/g креатинин,  $p>0,05$ ), У-KIM-1/Cr ( $0,68 \pm 0,24$  vs.  $0,61 \pm 0,21$  ng/mg креатинин,  $p>0,05$ ) и за У-микроалбумин ( $12,52 \pm 10,39$  vs.  $11,92 \pm 5,02$ ).

Врз основа на добиените електрофоретски профили од хоризонталната градиентна SDS-PAG електрофореза, утврдено е присуство на селективна гломеруларна протеинурија само кај два испитаника од групата деца и адолесценти со прекумерна телесна тежина и обезни (1,28%) и тоа кај еден испитаник со прекумерна телесна тежина со екскреција од 40 mg/L вкупни уринарни протеини и кај еден обезен испитаник со протеинска екскреција од 80 mg/L. Еден од овие два испитаници е со детектирана инсулинска резистенција.

## 6. ДИСКУСИЈА

Зголемувањето на инциденцата на обезноста кај децата и адолесцентите претставува глобален проблем во целиот свет. Прекумерната телесна тежина во детството го зголемува ризикот за обезност во адултното доба и претставува значаен ризик фактор за кардиоваскуларни заболувања. Обезноста во детството е поврзана со есенцијалната хипертензија и тип 2 дијабетот, најважни ризик фактори за развој на хронична бубрежна болест (24). Потенцијалните механизми меѓу обезноста и бубрежната болест постојано се истражуваат, со цел да се овозможи поставување на превентивни стратегии за спречување на развојот на СКД и нејзината прогресија. Се прават истражувања на значењето на одредени биомаркери, кои често се користат во клиничката пракса за рана детекција на ренална лезија кај обезни деца и адолесценти со или без присуство на коморбидитети, како што се хипертензијата, дислипидемијата или инсулинската резистенција, за кои е познато дека придонесуваат во нарушување на реналната функција.

Во нашата студија утврдивме статистички повисоки нивоа за маркерите KIM-1 и NAG кај обезните и децата со прекумерна телесна тежина. Беше утврдена и сигнификантна корелација меѓу овие два маркери, како и нивна корелација со уринарниот микроалбумин, што е во согласност и со резултатите од студијата на Goknar и сор. кои исто утврдиле повисоки нивоа за KIM-1 и NAG кај обезни деца во споредба со деца со нормален BMI (25). Од друга страна, други автори не утврдиле сигнификантна разлика за KIM-1 меѓу обезни и необезни деца, а утврдиле разлика во уринарниот микроалбумин, што не е случај со резултатите од нашата студија (26). Разликите се должат веројатно на поголемиот број испитаници вклучени во нивната студија. Во нашата студија не беше утврдена сигнификантна разлика за серумскиот креатинин, уреа и уратна киселина, што е во согласност и со други студии, но во тие студии е утврдена разлика за LDL и HDL-холестеролот меѓу обезните и необезните, со сигнификантно пониски нивоа за HDL-холестеролот и повисоки нивоа за LDL-холестеролот кај обезните деца во споредба со децата од контролната група (26, 27). Во нашата студија не утврдивме сигнификантна разлика



за параметрите од липидниот статус меѓу двете групи испитаници. Резултатите од нашето истражување покажаа дека кај 53% од групата на деца и адолесценти со прекумерна телесна тежина и обезни е присутна инсулинска резистенција, што се совпаѓа со резултатите од претходно спомнатите студии. И во нашата студија и во студијата на Goknar и сор. не е утврдена сигнификантна разлика за KIM-1 и NAG меѓу испитаниците со или без инсулинска резистенција, иако нивоата на овие два маркери се повисоки кај обезните и со прекумерна телесна тежина деца и адолесценти. Резултатите од електрофоретските профили на уринарните протеини во нашата студија покажаа присуство на селективна протеинурија само кај два од испитаниците од групата со обезни деца и адолесценти, што одговара на литературните податоци, кои говорат во прилог дека пред појава на протеинурија се јавуваат тубуларни промени (28).

## 7. ЗАКЛУЧОЦИ

Резултатите од спроведеното истражување покажуваат дека два маркери за тубуларно оштетување, уринарните NAG и KIM-1, беа покачени сигнификантно кај групата обезни и со прекумерна телесна тежина деца и адолесценти, споредено со здрави деца и адолесценти со нормален ВМІ. Овие два биомаркери, заедно со уринарниот микроалбумин како маркер за гломеруларно оштетување, претставуваат ветувачки маркери за детекција на рана ренална лезија кај обезни деца. Потребно е спроведување на подолги проспективни студии кај пациенти со зголемен ризик со цел да се анализира раниот ренален ефект на обезноста и нејзините коморбидитети кај одредени испитаници, со цел да се имплементираат рани стратегии за превенција и борба против обезноста во детството и адолесцентниот период, и да се оптимизира третманот кај обезните деца со цел да се превенира развојот и прогресијата на хроничната бубрежна болест.

## 8. ЛІТЕРАТУРА

1. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19.2 million participants. 2016;387: 1377–1396.
2. World Health Organization. Obesity and overweight. 2015.
3. González-Muniesa P, Martínez-González MA, Hu FB, Després JP, Matsuzawa Y, Loos RJJ et al. Obesity. Nat Rev Dis Primers. 2017;3: 17034.
4. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. Diabetologia. 1985 Jul;28(7):412-419.
5. Nolan JJ, Færch K. Estimating insulin sensitivity and beta cell function: perspectives from the modern pandemics of obesity and type 2 diabetes. Diabetologia 2012;55(11):2863-2867.
6. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modelling. Diabetes Care. 2004;27(6):1487-1495.
7. Scheen AJ. Evaluation of insulin secretion and insulin sensitivity. Therapie. 2007;62(4):311-318.
8. Blusková Z, Košťálová L, Celec P, Vitáriušová E, Pribilincová Z, Maršáľková M et al. Evaluation of lipid and glucose metabolism and cortisol and thyroid hormone levels in obese appropriate for gestational age (AGA) born and non-obese small for gestational age (SGA) born prepubertal Slovak children. J Pediatr Endocrinol Metab 2014;27(7-8):693-699.
9. Deng HZ, Deng H, Su Z, Li YH, Ma HM, Chen HS et al. Insulin resistance and adiponectin levels are associated with height catch-up growth in pre-pubertal Chinese individuals born small for gestational age. Nutrition & Metabolism 2012, 9:107.
10. Bussler S, Penke M, Flemming G, Elhassan YS, Kratzsch J, Sergejev E et al. Novel Insights in the Metabolic Syndrome in Childhood and Adolescence. Horm Res Paediatr. 2017 Aug 28.
11. Reinehr T, de Sousa G, Toschke AM, Andler W. Comparison of metabolic syndrome prevalence using eight different definitions: a critical approach. Arch Dis Child 2007; 92: 1067–1072.
12. Henegar JR, Bigler SA, Henegar LK, Tyagi SC, Hall JE. Functional and structural changes in the kidney in the early stages of obesity. J Am Soc Nephrol 2001; 12: 1211-1217.

13. Duzova A, Yalcinkaya F, Baskin E, Bakkaloğlu A, Soylemezoglu O. Prevalence of hypertension and decreased glomerular filtration rate in obese children: results of a population-based field study. *Nephrol Dial Transplant* 2013; 28: 166-171.
14. Tagle R, Gonzales F, Acevedo M. Microalbuminuria and urinary albumin excretion in clinical practice. *Rev Med Chil* 2012; 140: 797-805.
15. Redon J, Martinez F. Microalbuminuria as surrogate endpoint in therapeutic trials. *Curr Hypertens Rep* 2012; 14: 345-349.
16. Kavukçu S, Soylu A, Türkmen M. The clinical value of urinary N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase levels in childhood group. *Acta Med Okayama* 2002; 56: 7-11.
17. Nielsen SE, Schjoedt KJ, Astrup AS, Tarnow L, Lajer M, Hansen PR, Parving HH, Rossing P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and kidney injury molecule-1 (KIM-1) in patients with diabetic nephropathy: a cross-sectional study and the effects of lisinopril. *Diab Med* 2010; 27: 1144-1150.
18. Bonvente JV. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a urinary biomarker and much more. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 3165-3168.
19. Tasic V, Korneti P, Gucev Z, Korneti B. Stress tolerance test and SDS-PAGE for analysis of urinary proteins in children and youths. *Clin Chem Lab Med* 2001; 39(6): 478-483.
20. Tasic V, Korneti P. SDS-PAGE of urinary proteins for detection of nonglomerular hematurias. *Nephron* 2001; 88(4): 387-388.
21. Correia-Costa L, Azevedo A, Caldas Afonso A. Childhood obesity and impact on the kidney. *Nephron* 2019; 143(1): 8-11.
22. Role of urinary NGAL and KIM-1 as biomarkers for early kidney injury in obese prepubertal children. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2020; 33(9): 1183-1189.
23. Wahba IM, Mak RH. Obesity and obesity- initiated metabolic syndrome: mechanistic links to chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007; 2:550-562.
24. Henegar JR, Bigler SA, Henegar LK, Tyagi SC, Hall JE. Functional and structural changes in the kidney in the early stages of obesity. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 1211-1217.
25. Goknar N et al. Determination of early urinary renal injury markers in obese children. *Pediatr Nephrol* 2015; 30:139-144.
26. Gayret et al. Are there any reliable markers to detect renal injury in obese children? *Renal Fail* 2018; 40: 416-22.

27. Gul A et al. Assessment of renal function in obese and overweight children with NGAL and KIM-1 biomarkers. *Nutr Hosp* 2020; 34(3): 436-442.
28. Thomas MC, Burns WC, Cooper ME. Tubular changes in early diabetic nephropathy. *Adv Chronic Kidney Dis* 2005; 12: 177-186.