

14. **Timoșco Maria, Florea Natalia, Perde Diana.** Dismicrobismul intestinal cauzat de acțiunea unor factori ai mediului ambiant asupra macroorganismului – consecință negativă în sănătate. *Anale științifice ale UȘMF N.Testemițanu* – 2013 ediția XIV. vol .2. p.54-60;

15. **Тимошко М.А., Струтинский Ф.А, Богдан В.К., Федаш В.В.** Микробиота кишечника и ее роль в поддержании оптимального уровня здоровья организма. Матер международной заочной научной конференции. Киев. – 2016. p. 33-37.

© Angela Ciuntu

Angela Ciuntu

IMPORTANȚA DIAGNOSTICĂ A DETERMINĂRII NIVELULUI ZINCULUI ȘI AL CUPRULUI SERIC LA COPIII CU GLOMERULONEFRITĂ

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

DIAGNOSTIC VALUE OF DETERMINING THE CONCENTRATION OF ZN AND CU IN THE BLOOD OF CHILDREN WITH GLOMERULONEPHRITIS

It was studied Zn and Cu concentration in the blood of 80 children with primary glomerulonephritis (GN) in different clinical stages of disease development. In children with various forms of GN in the acute phase of the disease was reported a significant reduction in the concentration of Zn and increase of Cu in the blood level.

In the acute phase of clinical manifestations in patients with steroid-sensitive nephrotic syndrome (SSNS) Zn levels in the blood significantly decreased by 2, 8 times and in steroid-resistant nephrotic syndrome (SRNS) - by 3.4 times, compared to the control group. In remission Zn level in the blood is increased as compared with the initial level, but is still reduced as compared to the control group.

In the acute phase SSNS Cu level in the blood rises by 2, 8-times, while SRNS – rises by 4.2 times compared with the control group. In remission Cu level in the blood practically remains at the normal level.

Determination of the concentration of Zn and Cu in the blood can be used to monitor the activity of a pathological process in children with various variants GN, and monitoring the effectiveness of therapeutic measures.

РЕЗЮМЕ

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ZN И CU В КРОВИ У ДЕТЕЙ С ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТОМ

Была изучена концентрация Zn и Cu 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 снижение концентрации Zn и повышения уровня Cu в крови. В острой фазе клинических проявлений у больных с стероид-чувствительным нефротическим синдромом (СЧНС) уровень Zn в крови достоверно снижается в 2,8 раза, а при стероид-резистентном нефротическом синдроме (СРНС) - в 3,4 раза. В период ремиссии уровень Zn в крови повышается по сравнению с исходным уровнем, но остается сниженным по сравнению с контрольной группой. В острой фазе СЧНС уровень Cu в крови повышается в 2, 8 раза, а при СРНС – в 4,2 раза по сравнению с группой контроля. В период ремиссии уровень Cu в крови практически нормализуется. Определение концентрации Zn и Cu в крови может быть использовано для мониторинга активности патологического процесса у детей с различными вариантами ГН, и контроля эффективности лечебных мероприятий.

Introducere. Procesele homeostazice în condiții normale, dar și în cele definite de stările patologice sunt dirijate de numeroși factori, printre care un rol cardinal îl joacă microelementele, în special, cele de tranziție, cum ar fi zincul și cuprul.

Zincul și cuprul sunt două dintre metalele esențiale ce fac parte din unul dintre cele mai importante subgrupuri de micronutrienți în nutriția și sănătatea umană.

Cuprul este un cofactor comun pentru mai multe enzime, inclusiv oxidazele și oxigenazele cu impact în generarea de specii reactive de oxygen (SRO). De notat că citocromoxidaza, monoaminoxidaza, tirozinaza și superoxidismutaza (SOD) sunt metalo-enzime ce conțin cupru. SOD exercită proprietăți antioxidante puternice față de acțiunea toxică a ionilor superoxizi, pe care îi convertește în O_2 și H_2O_2 . Activitate enzimatică de tip oxidazic manifestă proteina plasmatică - ceruloplasmina, deosebit de bogată în cupru [5].

Zincul este un microelement esențial fiind implicat în structura multor enzime asociate cu diferite procese metabolice, inclusiv metabolismul acizilor nucleici, glucidelor și proteinelor. Zincul este necesar pentru funcționarea normală a sistemului imunitar; deficitul de Zn poate deprima imunitatea și afecta mecanismele de apărare ale organismului.

Zincul stabilizează membranele celulare prin scăderea peroxidării lipidelor. Deficiența de zinc determină creșterea producției de H_2O_2 , precum și creșterea NADPH-citocrom P450 reductazei și a concentrației de fier în plămâni și microzomii ficatului [5]. Există puține studii în care s-a investigat nivelul de microelemente în sindromul nefrotic (SN), iar rezultatele acestor studii sunt contradictorii în ceea ce privește unele microelemente [2,6,7,10].

Lipsește informații complexe privind modificările acestor microelemente în variantele clinico- evolutive ale glomerulonefritei (GN).

Scopul studiului constă în evaluarea concentrației de Zn și de Cu în serul sanguin 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 copii cu glomerulonefrită primară, inclusiv 25 copii cu sindromul nefrotic, 20 copii cu sindromul nefrotic steroid-sensibil (SNSS) și 15 copii cu sindromul nefrotic steroid-rezistent (SNSR), 20 copii cu glomerulonefrită cronică forma nefrotică. Copiii cercetați au fost repartizați în 2 grupuri în funcție de răspunsul la tratamentul cu glucocorticoizi: SNSS și SNSR. Pacienții cu SNSS și SNSR au fost divizați în 2 subgrupuri în raport de activitatea maladiei (SNSS recidivă, SNSS remisiune, SNSR recidivă, SNSR remisiune). Grupul de control l-au constituit 20 copii practic sănătoși.

Diagnosticul GN s-a bazat pe criteriile clinico-pa- raclinice și explorări biochimice special selectate.

Sindromul nefrotic (SN) a fost diagnosticat în prezența edemelor, proteinuriei masive ($>40 \text{ mg/m}^2/\text{h}$ sau raportului proteină/creatinină urinară $> 2,0 \text{ mg/mg}$) și hipoalbuminemiei ($<2,5 \text{ mg/dl}$)[4].

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

Sindromul nefrotic steroid-rezistent (SNSR) a fost dominat în cazul menținerii proteinuriei până la un ni- vel $< 3 \text{ g/dl}$ pe parcursul a 6-8 săptămâni de tratament cu prednisolon în doză de $2 \text{ mg/kg}/24 \text{ h}$ și efectuarea ulterioară a pulsterapieii cu prednisolon în doză $20-30 \text{ mg/kg}/24 \text{ h}$ N 3 (dar nu mai mult de 1 g pe parcursul unei cure) [4].

Determinarea Zn și Cu în urină s-a efectuat cu ajutorul seturilor de analiză ale firmei Elitech, Franța, conform instrucțiunilor anexate la set.

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 softwa- re, version 1.9.5, 2001).

Rezultate: Vârsta medie a debutului GNA sind- rom nefrotic a fost de $9,1 \pm 0,36$ ani, pentru sindromul nefrotic SS – $6,27 \pm 0,62$ ani, sindromul nefrotic SR – $8,4 \pm 1,34$ ani.

Tabelul 1

Rezultatele investigațiilor de laborator la pacienții cu glomerulonefrită

Parametrii de laborator	Sindrom nefrotic	Sindrom nefrotic SS	Sindrom nefrotic SR
Proteina totală, g/l	$68,0 \pm 0,57$	$53,30 \pm 1,27$	$51,13 \pm 1,49$
Colesterol, mmol/l	$4,9 \pm 0,18$	$7,43 \pm 0,34$	$10,05 \pm 0,95$
β -lipoproteide, mmol/l	$49,7 \pm 1,21$	$95,07 \pm 3,64$	$107,23 \pm 6,88$
Urea, mmol/l	$6,2 \pm 0,25$	$6,84 \pm 0,80$	$5,12 \pm 0,48$

Creatinină, mmol/l	0,072 ±0,022	0,064± 0,006	0,054 ± 0,037
Proteină, în urină timp de 24/h (g/l)	0,8± 0,08	3,79± 0,66	4,55± 0,99

Datele tabelului 1 indică o reducere a nivelului proteinei totale până la 53,30 ±1,27g/l în SNSS și până la 51,13±1,49 g/l în SNSR, precum și creșterea indicilor metabolismului lipidic: colesterolul seric a sporit până la 7,43± 0,34 mmol/l, β-lipoproteidele au crescut până la 95,0±3,64 mmol/l în SNSS, și până la

10,05±0,95 mmol/l și 107,23 ±6,88 mmol/l, respectiv, în SNSR. S-a depistat o creștere a proteinuriei până la 3,79 ±0,66 g/l în SNSS și 4,55 ± 0,99 g/l în SNSR.

În tabelul 2 sunt expuse rezultatele de evaluare a nivelului de Zn și de Cu în serul sangvin la pacienții cu GN în diferite etape clinico- evolutive ale maladii.

Tabelul 2

Conținutul de Zn și de Cu în serul sangvin la pacienții cu glomerulonefrită

Grupurile de studiu	Zinc (μmol/l)		Cupru (μmol/l)	
	acutizare	remisiune	acutizare	remisiune
Control (n=20)	15,19±0,77		10,7±1,2	
GNA sindrom nefritic (n=25)	8,72±0,95***	11,12±0,50*** p ₁ <0,05	33,1±3,7***	11,6±0,09 p ₁ <0,001
GNA sindrom nefrotic SS (n=20)	5,41±0,80*** p ₃ >0,05	9,94±0,81*** p ₁ <0,01 p ₃ <0,01	29,8±4,6** p ₃ >0,05	11,1±1,12 p ₁ <0,001 p ₃ >0,05
GNA sindrom nefrotic SR (n=15)	4,51±0,38*** p ₂ >0,05 p ₃ <0,01		44,5±0,41*** p ₂ <0,05 p ₃ <0,01	
GNC forma nefrotică (n=20)	8,60±1,40**	13,34±0,98 p ₁ <0,01	24,0±4,7**	11,3±1,4 p ₁ <0,05

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.

p₂- autenticitatea la compararea GNA SN SS cu GNA SN SR.

p₃- autenticitatea la compararea GNC forma nefrotică cu SN SS și GNA SN SR.

Conform datelor obținute, conținutul de microelemente în cele patru forme ale GN suferă modificări de orientare și intensitate diferită. Astfel, nivelul de Zn în serul sangvin în toate variantele clinice ale GN s-a redus, pe când conținutul de Cu în serul sangvin a crescut comparativ cu valorile grupului de control.

Modificări mai pronunțate ale nivelului de Zn în serul sangvin s-au înregistrat la pacienții cu GNA sindrom nefrotic SR în perioada de debut, unde concentrația acestui element s-a redus de 3,4 ori – până la (4,51±0,38 μmol/l), pe când în grupul cu sindrom nefrotic SS s-a redus de 2,8 ori (5,41±0,80 μmol/l), comparativ cu grupul de control (15,19±0,77μmol/l).

În perioada de remisiune nivelul Zn în serul sangvin a crescut comparativ cu valorile inițiale, dar a rămas inferior valorilor martorului.

Studiile efectuate au demonstrat creșterea nivelului de Cu în serul sangvin în toate variantele clinice ale GN în perioada de acutizare.

Modificări statistic semnificative ale concentrației de Cu seric s-au înregistrat în GNA sindrom nefrotic SR, comparativ cu sindromul nefrotic SS. Astfel, în SNSR, perioada de debut, nivelul de Cu în serul sang-

vin s-a majorat de 4,2 ori, pe când în SNSS a crescut de 2,8 ori comparativ cu grupul de control.

În grupul GNA sindrom nefritic, perioada manifestărilor clinice, nivelul Cu în serul sangvin a sporit de 3,1 ori față de valorile martorului. În perioada de remisiune nivelul Cu seric practic se normalizează în toate variantele clinice ale GN.

Discuții: În acest studiu am obținut valori semnificativ scăzute ale Zn seric în toate variantele clinice ale GN, comparativ cu lotul martor, rezultate similare cu alte studii.

Astfel, Dwivedi și Sarkar au raportat nivele scăzute de zinc în timpul fazei active a sindromului nefrotic, cu o creștere semnificativă ulterioară a indicilor ca urmare a tratamentului antioxidant aplicat [2].

Într-un alt studiu Mumtaz Asim et al.au demonstrat că nivelul de Zn seric și nivelul de Cu în SN se reduce semnificativ comparativ cu controlul [7]. Conform acestui studiu, nivelul de Zn seric a avut o corelație negativă cu proteina urinară timp de 24 h, care a fost statistic semnificativă (r = -0.442, p = 0,021). Astfel, dacă proteinuria crește, nivelul zincului seric scade. Cel mai probabil, acest fapt se datorează pier-

derii de proteine care leagă metalele (metals binding proteins). Observații similare au fost făcute de Tulpar S et al. [10]. În același timp, conform studiului [6], nivelul Zn s-a redus, pe când nivelul Cu a crescut la copiii cu SN, dar fără diferență statistică în perioada activă și de remisiune.

În studiul de față, noi am obținut date care demonstrează creșterea marcantă a valorilor Cu seric în faza de acutizare cu revenirea la normal în remisiune în toate loturile de pacienți. Acest fapt s-ar putea explica prin aceea că, în exacerbarea procesului inflamator crește nivelul proteinelor fazei acute, inclusiv al ceruloplasminei, deosebit de bogate în cupru.

Aceste rezultate concordă cu datele unor autori care au observat nivele serice crescute ale cuprului în recidive, în contrast cu constatările anterioare de scădere a cuprului seric la pacienții copii și adulți cu sindrom nefrotic activ [6,7].

Nivelele de cupru se pot schimba dinamic în timpul fazei active a bolii. Nivele scăzute de cupru, așa cum au fost raportate anterior, pot avea loc în faza precoce a bolii, din cauza pierderii de ceruloplasmă cu urina. Nivelele plasmatice crescute ar putea reflecta stresul oxidativ, deoarece cuprul joacă un rol decisiv în producerea de SRO și provoacă oxidarea hidrocchinonei la benzochinonă citotoxică [5]. Conform datelor acestor autori, cuprul a scăzut ulterior, în mod semnificativ în remisiune și la cei cu remisiune pe termen lung. Mai mult ca atât, s-a observat că dialdehida malonică (MDA) și cuprul au arătat o scădere semnificativă în remisiune comparativ cu faza activă, indicând reducerea stresului oxidativ [6].

O altă cauză a hipo-Zn-emiei stabilită în cercetările noastre s-ar putea datora pierderilor de acest microelement pe cale urinară. Mai multe studii au arătat pierderi crescute urinare de Zn în GN. Potrivit lui Shah KN et al., aceste pierderi de Zn au loc chiar și în absența proteinuriei, ceea ce înseamnă că modificările secreției tubulare renale sau ale reabsorbției pot contribui la creșterea pierderilor de Zn [8]. După cum se știe, 90% din cuprul seric este legat de ceruloplasmă (sursă majoră de proteine de legare a Cu) și 10% – cu albumină. Ito S et al. au sugerat că în sindromul nefrotic hipocupremia a fost consecința pierderii ceruloplasminei cu urină [3]. Concentrația scăzută a Zn plasmatic la pacienții cu SN poate fi, eventual, cauzată de aportul alimentar restricționat. Recent, s-a observat că suplimentarea cu Zn în monoterapie sau cu combinația de seleniu și zinc la șobolanii diabetici a îmbunătățit statusul antioxidant și a redus peroxidarea lipidelor, atât în ficat, cât și în țesuturile renale [11]. Mai mult, s-a observat că suplimentarea cu Zn reduce numărul de recidive în SN la copii [1,9]. Astfel, determinarea

conținutului de Zn și de Cu seric poate fi folosită pentru monitorizarea procesului patologic renal la copii în diferite variante ale GN și pentru controlul eficacității tratamentului aplicat.

Concluzii:

1. Nivelul zincului seric s-a redus în toate grupurile de pacienți cu glomerulonefrită în perioada de acutizare, pe când nivelul cuprului în aceeași perioadă a crescut în toate grupurile, comparativ cu grupul de control. Cea mai pronunțată reducere a Zn seric s-a determinat în SNSR perioada de acutizare, cu o creștere mai pronunțată a Cu seric în SNSR perioada de acutizare.

2. Cauzele hipo-Zn-emiei au fost hipoproteinemia și creșterile pierderii de proteine urinare timp de 24 h.

Bibliografie

- 1. Arun S, Bhatnagar S, Menon S et al.** Efficacy of zinc supplements in reducing relapses in steroid-sensitive nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 2009;24(8):1583-6.
- 2. Dwivedi J, Sarkar PD.** Study of oxidative stress, homocysteine, copper & zinc in nephrotic syndrome: Therapy with antioxidant, minerals and B-complex vitamins. *J Biochem Tech* 2009;4:104-7.
- 3. Ito S, Fujita H, Narita T et al.** Urinary copper excretion in type 2 diabetic patients with nephropathy. *Nephron* 2001;88:307-12.
- 4. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Glomerulonephritis Work Group.** KDIGO clinical practice guideline for Glomerulonephritis. *Kidney* .2012, *Int. Suppl* 2:139-274.
- 5. Li Y, Trush MA.** Oxidation of hydroquinone by copper chemical mechanism and biological effects. *Arch Biochem Biophys* 1993; 300:346-355.
- 6. Mishra OP, Gupta AK, Prasad R et al.** Antioxidant status of children with idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 2011;26(2):251-6.
- 7. Mumtaz A, Anees M, Fatima S et al.** Serum Zinc and Copper levels in nephrotic syndrome patients. *Pak J Med Sci* 2011;27(5):1173-1176.
- 8. Shah KN, Yan AC.** Acquired zinc deficiency acrodermatitis associated with nephrotic syndrome. *Pediatr Dermatol* 2008;25:56-9.
- 9. Sherali AR, Moorani KN, Chishty SH et al.** Zinc supplement in reduction of relapses in children with steroid sensitive nephrotic syndrome. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2014;24(2):110-3.
- 10. Tulpar S, Gunduz Z, Sahin U et al.** Trace elements in children suffering from idiopathic nephrotic syndrome. *Eurasian J med.* 2014;46 (3):187-91.
- 11. Ukperoro JU, Offiah N, Idris T, Awogoke D.** Antioxidant effect of zinc, selenium and their combination on the liver and kidney of alloxan-induced diabetes in rats. *Mediterr J Nutr Metab.* 2010;3:25-30.