

УДК:616-074:616-43

**ПРОБЛЕМЫ ИНФОРМАТИВНОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛЮКОЗЫ В МОЧЕ:
ОТ ИСТОРИИ ДО СОВРЕМЕННОСТИ**

Д.В. Лещенко, М.Б. Белякова, М.А. Горшкова, И.В. Наместникова

Кафедра биохимии с курсом клинической лабораторной диагностики
ФГБОУ ВО Тверской государственной медицинской университет Минздрава РФ

e-mail: dvleshchenko@mail.ru

В данном обзоре приведены сведения о развитии методов анализа сахара в моче, современные представления о биохимических, физиологических и патологических механизмах глюкозурии, рассмотрены преимущества и ограничения основных применявшихся методов качественного и количественного анализа глюкозы в моче и проблемы интерпретации анализа.

Ключевые слова: глюкозурия, сахарный диабет, глюкозооксидазный метод, методы определения глюкозы, экспресс-тест на глюкозу мочи, история определения сахара в моче

**PROBLEMS OF INFORMATIVITY OF GLUCOSE DETERMINATION IN URINE:
FROM HISTORY TO THE PRESENT TIME**

D.V. Leshchenko, M.B. Belyakova, M.A. Gorshkova, I.V. Namestnikova

Tver State Medical University

e-mail: dvleshchenko@mail.ru

The review contains information about development of methods of urine sugar analysis, modern concepts of the biochemical, physiological and pathological mechanisms of glucosuria, discusses the advantages and limitations of the main methods of qualitative and quantitative analysis of glucose in urine and problems of the analysis interpretation.

Key words: glucosuria, diabetes mellitus, glucose oxidase method, methods of glucose determination, glucose urine express test, history of urine glucose determination

Введение

Определение концентрации глюкозы в моче является одним из важных диагностических тестов на протяжении длительного периода времени. Содержание глюкозы в моче очень незначительно в норме, т.к. в почечных канальцах она реабсорбируется почти вся (остается менее 25 мг/дл) [1,2]. Обычными качественными пробами такое количество глюкозы не обнаруживается, поэтому считается, что в общем анализе мочи ее не должно быть, а глюкозурия возникает лишь при высоком уровне глюкозы в крови из-за превышения максимального реабсорбтивного потенциала почек [3].

Глюкоза в моче определяется недорогим и неинвазивным методом, что является существенным достоинством при контроле диабетической диеты и для мониторинга

антидиабетической терапии у пациентов, скрининга на наличие гипергликемических нарушений и почечных патологий [1]. В лабораториях часто ограничиваются полуколичественным анализом содержания глюкозы в моче (показанием мочевого анализатора), не отражающим ее истинного высокого содержания, что в итоге вызвало у клиницистов затрудненную и настороженную оценку высоких количественно точных результатов определения глюкозы в моче и тем самым незаслуженно снизило популярность этого анализа.

Цель исследования: данный обзор освещает как исторические трудности внедрения теста в лабораторную и клиническую практику, так и современные представления о его информативности.

Механизмы глюкозурии. Термин глюкозурия обычно относится к состояниям, при которых количество глюкозы в моче составляет более 25 мг/дл в произвольной порции свежей мочи [2]. Глюкозурия считается специфическим показателем высокой концентрации глюкозы в крови (выше 9,9 ммоль/л), физиологической или патологической. Физиологическая глюкозурия наблюдается после поступления с пищей большого количества углеводов (алиментарная), эмоционального напряжения или стресса (эмоциональная), приёма некоторых лекарственных препаратов (кофеина, кортикостероидов и др.). Патологические глюкозурии различают панкреатогенные (диабетическая глюкозурия) и непанкреатогенные (при раздражении ЦНС, тиреотоксикозе, синдроме Иценко-Кушинга, акромегалии, феохромоцитоме и др.) [4,5]. Также глюкозурия может являться следствием нарушения почечной фильтрации и реабсорбции глюкозы (почечная глюкозурия) [6].

Почки влияют на гомеостаз глюкозы путем реабсорбции ее из клубочкового ультрафильтрата в общий кровоток [6]. Учитывая, что скорость клубочковой фильтрации около 180 л/сут, а средняя концентрация глюкозы в плазме 5,5 ммоль/л, почки способны ежедневно реабсорбировать 180 г глюкозы [7]. При почечной (ренальной) глюкозурии, которая может быть первичной или вторичной, выделение глюкозы с мочой превышает уровень физиологической экскреции (200 мг/сут) [8].

Реабсорбция глюкозы из клубочкового фильтрата происходит в проксимальных извитых канальцах. За этот процесс в эпителиальных клетках почечных канальцев отвечают три мембранных белка: котранспортеры натрия и глюкозы SGLT1 и SGLT2 в апикальной мембране, и GLUT2 унипортер в базолатеральной мембране. Блокирование этих переносчиков приводит к выведению отфильтрованной глюкозы с мочой [3]. Белок SGLT2 избирательно экспрессируется в почках, обладает низким сродством, но высокой способностью к транспорту глюкозы, располагается в S1- и S2-сегментах извитого проксимального канальца, где

происходит реабсорбция до 90% молекул глюкозы. Белок SGLT1 обладает высоким сродством к глюкозе, но низкой способностью к ее транспорту. Он расположен в S3-сегменте проксимального канальца, и с его помощью реабсорбируются остальные 10% глюкозы [7]. Таким образом, активное всасывание глюкозы из просвета канальца в его эпителиальные клетки обеспечивается в основном симпортом, за счет градиента ионов натрия. Из клеток глюкоза переходит в интерстициальную ткань и далее в кровоток уже по градиенту концентрации, благодаря пассивным белкам-переносчикам GLUT2, работающим по механизму облегченной диффузии [6].

Мутации в генах, кодирующих белки SGLT2 и SGLT1 ведут к развитию наследственной или первичной почечной глюкозурии. Мутация в SGLT1 связана с мальабсорбцией глюкозы-галактозы, мутация в SGLT2 связана с семейной почечной глюкозурией, а мутация в GLUT2 связана с синдромом Фанкони-Бикеля [9]. Вторичная почечная глюкозурия может развиваться при нарушении функции почечных канальцев вследствие хронических заболеваний почек, диабетической нефропатии и др. [4].

Развитие методов определения глюкозы в моче. Глюкоза в моче определяется качественными и количественными методами. Качественные методы чаще используют как скрининговые, они могут лишь показать наличие глюкозы, а её точное содержание можно определить с помощью количественных методов.

История определения глюкозы в моче начинается с древних времен, и на протяжении длительного времени единственным способом ее обнаружения был *органолептический метод (на вкус)*. Наличие сахара в моче использовалось для диагностики сахарного диабета, распознававшегося по ее сладкому вкусу; также обнаружение сахара мочи с помощью насекомых было известно еще в древних Египте, Греции и Индии ((I – III век н. э.) [1]. Кроме этого, ранние методы определения глюкозы в моче включали испарение мочи для выявления кристаллов сахара [10]. Впервые понятие «сахарное мочеизнурение», «сладкая моча» вводится в Древней Индии (I – II век н. э.) [1, 10].

В 1675 г. Томас Уиллис в книге «Рациональная фармацевтика» говорит о возможности дифференциальной диагностики сахарного и несахарного диабета, и описывает сладковатый вкус мочи при сахарном диабете [11]. Связь между уровнем глюкозы в крови и в моче впервые была обнаружена в XVIII веке английским врачом Мэтью Добсоном, с тех пор диабет и стал называться сахарным диабетом [12]. В течение многих лет определение уровня глюкозы в моче было основным методом контроля гликемии при сахарном диабете.

В конце XVIII века (1790 г.) определение глюкозы в моче проводили *бродильными методами*, в которых под влиянием обыкновенных пивных дрожжей глюкоза разрушалась на

этиловый алкоголь и углекислый газ, количество которого измеряли специальным прибором (бродильным сахариметром), что позволяло судить о концентрации глюкозы в моче. Таким образом, бродильный метод был первым количественным методом определения глюкозы в моче, его чувствительность составляла 0,05% [1,13]. Последующие модификации бродильного метода в начале XIX века были связаны с уменьшением времени их проведения (с 36 часов до 3 часов) и совершенствованием точности измерительных приборов (сахариметров). Однако для всех этих методов нужны были специальные навыки персонала, а также они отличались высокой трудоемкостью.

В XIX веке, в связи с бурным развитием химии как науки, широкое распространение получили *химические методы* определения глюкозы в моче, принцип которых заключался в образовании специфической окраски при взаимодействии глюкозы мочи с определенными реактивами. В данный период глюкозу в моче обнаруживали в щелочной среде с азотнокислой окисью висмута по образованию черного осадка металлического висмута (метод Böttger); с раствором цианистой ртути $\text{Hg}(\text{CN})_2$, которая давала серый осадок мелкодробленой металлической ртути (метод Knapp); с раствором соды и индигокармина, дающих изменение цвета с голубого на зеленый, а затем красный и желтый (метод Mulder) [13]. Все эти методы относились к качественному анализу. К их недостаткам можно отнести невысокую специфичность, т.к. и другие соединения с углеводным компонентом (например, муцин) или углеводной природой могут давать аналогичную окраску, и использование токсичных соединений (ртуть, висмут).

Следующим этапом развития химического определения глюкозы в моче были *редукционные пробы*, в которых глюкоза восстанавливала соединения меди в присутствии разных реагентов. В 1841 году немецкий химик Г. Фелинг опубликовал самый известный редукционный способ, в котором глюкоза в щелочной среде при нагревании, окисляясь, восстанавливала сульфат меди (Cu^{2+}) до оксида меди (Cu^+) с изменением окраски с синезеленого цвета (CuSO_4) до красного (Cu_2O) [12,14]. В том же году (1841 г.) К. Троммер модифицировал реакцию Фелинга в части приготовления реактива, а в 1909 г. американский биохимик С. Бенедикт модернизировал метод Фелинга за счет добавления в реактив лимоннокислого натрия для связывания избыточного количества гидроксида меди, что исключало образование окиси меди, мешающей определению; при этом чувствительность пробы возросла до 0,05% сахара [14]. В 1919 году американский учёный С. Ву под руководством О. Фолина стал использовать в этой редукционной пробе в качестве реактива тартрат меди и молибденовый синий, которые и сейчас применяются в данном методе [14]. Другими редукционными пробами, основанными на превращении купри-иона в купро-ион

($\text{Cu}^{2+} \rightarrow \text{Cu}^+$), являются пробы Гайнеса, Линка, Пэрди, Пави, Йонга и др. [1,15]. В 1883 году Е. Ниландер предложил еще один метод, также основанный на восстановительных свойствах глюкозы, которая восстанавливала соль висмута ($\text{Bi}(\text{OH})_2\text{NO}_3$) до свободного висмута (черный цвет) в щелочной среде и при нагревании. Чувствительность этой пробы составляла 0,1% сахара [13].

В целом, редуционные пробы относились к качественному анализу и были малоспецифичны, поскольку и другие редуцирующие сахара (лактоза, галактоза, пентозы) давали такую же реакцию, как и глюкоза, но по сравнению с предыдущими химическими методами они были проще и быстрее в исполнении. Наиболее чувствительным и специфичным из этих методов считали пробу Бенедикта, принцип которой впоследствии послужил основой для разработки полуколичественных методов определения глюкозы в моче с использованием сухих реактивов в форме таблеток или полосок фильтровальной бумаги, а также колориметрического метода Моуа F. A. и Dewar J. (1958 год) [15]. В 1957 г. J. Fischl и N. Pinto предложили сухую пробу на фильтровальной бумаге, пропитанной реактивом Бенедикта [15]. Полученную в ходе определения окраску мочи на полоске бумаги с сухим реактивом оценивали путем сравнения с прилагаемой стандартной шкалой, выражающей содержание глюкозы в моче. Такие пробы в середине XX века широко применялись в лаборатории, поскольку отличались простотой и быстротой их выполнения и стали предшественниками современных полуколичественных экспресс-методов.

Количественной разновидностью редуционных способов определения глюкозы в моче были *титриметрические методы*, основанные на измерении объема титрованного раствора, к которому добавляли мочу, содержащую глюкозу, до появления конечной окраски. Например, при титровании с использованием жидкости Фелинга (1 мл) до исчезновения ее синей окраски при нагревании требовалось 0,005 грамм глюкозы [13]. Титрование при помощи жидкости Кнаппа основывалось на способности глюкозы раскислять (восстанавливать) щелочной раствор цианистой ртути: на восстановление 1 мл такого раствора использовалось 0,0025 граммов глюкозы [13]. Эти, а также другие титриметрические методы позволяли устанавливать количество глюкозы в моче, хотя и имели ряд ограничений: содержание глюкозы должно было составлять не менее 0,5 – 1,0%. Кроме того, наличие белка в моче затрудняло титрование, поскольку он выпадал в осадок и поэтому предварительно его приходилось удалять из мочи.

Поляриметрический метод также позволял определить количество глюкозы в моче, он основан на способности глюкозы поворачивать плоскость поляризованного света вправо на определенную величину (удельное вращение $+52,8^{\circ}$). Угол поворота пропорционален

концентрации глюкозы и измерялся с помощью поляриметра (диапазон чувствительности разных моделей составлял от 0,01% до 0,2%) [15,16]. В нашей стране этот метод определения глюкозы в моче был унифицированным методом (с 1972 г) и применялся до середины 80-х гг XX века. В настоящее время в медицинских лабораториях поляриметры не применяются, так как, кроме глюкозы, на угол вращения влияют другие сахара, что изменяет истинный результат определения содержания глюкозы в большую или меньшую сторону. Описанные количественные методы многооперационны (требуется предварительное осаждение белка), для них необходимы специальное оборудование и высокая квалификация исполнителей, а также обладают низкой точностью при малой концентрации глюкозы в моче.

В 1951 г. советский ученый А.Я.Альтгаузен предложил метод количественного определения сахара в моче, основанный на взаимодействии глюкозы со щелочью при нагревании с образованием окрашенных соединений; окраску пробы сравнивали с цветной шкалой с определенным процентным содержанием глюкозы [16]. Позже метод Альтгаузена был положен в основу колориметрического метода, в котором интенсивность окраски раствора измеряли на фотоколориметре, а количество глюкозы в процентах находили по заранее построенной калибровочной кривой. Однако этот метод оказался малоспецифичным, поскольку похожую окраску давали и другие углеводы мочи.

Количественные *колориметрические энзиматические методы* для определения истинной глюкозы, основанные на глюкозооксидазной (нотатиновой) пробе, предложили в 1956 г. E.R. Froesch и A.E. Renold, хотя сам фермент глюкозооксидаза (нотатин), представляющий собой специфическую β -d-глюкозодегидрогеназу, был обнаружен и изолирован из культур плесневых грибов русским ученым Н.А. Максимовым еще в 1904 году [15]. В нашей стране *глюкозооксидазная (нотатиновая) проба* начала применяться в начале 70-х гг прошлого века и продолжает очень активно использоваться в настоящее время. Глюкозооксидазный метод основан на действии фермента глюкозооксидазы, который окисляет глюкозу в глюконовую кислоту, в результате чего образуется пероксид водорода. Перекись водорода окисляет неокрашенный субстрат с образованием окрашенного продукта, интенсивность окраски которого прямо пропорциональна концентрации глюкозы, что регистрируется с помощью обычного фотометра или автоматических биохимических или электрохимических анализаторов [17].

С середины XX века широкое распространение получил еще один энзиматический метод определения глюкозы как в крови, так и в моче — гексокиназный. Принцип гексокиназного метода заключается в том, что количество НАДФН₂, образованного в ходе

превращения глюкозы в 6-фосфоглюконолактон пропорционально содержанию глюкозы и определяется фотометрически по светопоглощению в ультрафиолетовой области [17].

На современном этапе именно глюкозооксидазный и гексокиназный методы являются высоко специфичными и широко применяемыми в лабораториях для определения глюкозы как в крови, так и в моче. Для количественного определения глюкозы в моче глюкозооксидажным методом, при использовании биохимических наборов реактивов и автоматических анализаторов, чувствительность составляет 1,6 мг/дл (0,08 ммоль/л) с линейностью определения до 500 мг/дл (27,5 ммоль/л), а гексокиназный метод показывает чувствительность 7,76 мг/дл (0,43 ммоль/л) и линейность определения до 800 мг/дл (44,4 ммоль/л). Таким образом, данные методы отличаются чувствительностью и линейностью, т. е. более высокие концентрации предпочтительнее определять гексокиназным, а более точное содержание глюкозы до 500 мг/дл – глюкозооксидажным методом.

В настоящее время для самостоятельного полуколичественного определения глюкозы в моче активно используются реагентные полоски, принцип работы которых основан на глюкозооксидазной пробе, развивающие окраску в зависимости от вида индикатора в течение 60 сек (экспресс-методы). Интенсивность окраски оценивают с помощью стандартной шкалы, выражающей концентрацию глюкозы в % или ммоль/л. Чувствительность полосок превышает обычные физиологические концентрации (0,12 – 1,8 ммоль/л), составляя от 2 – 5 ммоль/л до 55 ммоль/л. На достоверность тестов могут оказывать влияние некоторые лекарственные средства и химические вещества: налидиксовая кислота, пробенецид, хлоралгидрат, гиалуронидаза, нитрофурантоин, ПАСК, феназопиридин и йодсодержащие рентгеноконтрастные агенты и др. [1].

Проблемы оценки глюкозурии. Несмотря на популярность тест-полосок и мочевых анализаторов для измерения количества глюкозы в моче, существуют определенные трудности точного установления ее концентрации с помощью этих методов. Содержание глюкозы в моче пациентов с сахарным диабетом может достигать очень высоких цифр - до 10% (555 ммоль/л), но наиболее часто составляет 2 – 5 % (111 – 278 ммоль/л) [5,15]. Поэтому при высоких концентрациях глюкозы в моче точное количественное определение с помощью реагентных полосок или с использованием мочевых анализаторов не представляется возможным [1]. Вместе с тем, установление точной концентрации глюкозы в моче является необходимостью для оценки проведенной коррекционной терапии или степени поражения почек у больных сахарным диабетом. Решением этой проблемы может быть разведение мочи с последующим умножением полученного результата на степень разведения при количественном определении глюкозы в моче описанными способами.

Содержание глюкозы в разовой порции мочи не даёт представления об абсолютном количестве выделяемой глюкозы за сутки [1], поэтому для корректной оценки степени выраженности глюкозурии (например, у пациентов с сахарным диабетом) целесообразно рассчитывать потерю глюкозы с мочой за сутки при определении ее в каждой порции выделенной мочи, так как глюкоза довольно быстро подвергается активной редукации.

Ошибки в интерпретации результатов исследования на глюкозурию могут возникать из-за изменения почечного порога выведения глюкозы у разных людей [1,5]. При некоторых заболеваниях (почечная недостаточность, диабетический гломерулосклероз, сердечная недостаточность), а также с возрастом, почечный порог выведения глюкозы повышается, а при гипертиреозе, беременности, лихорадке — снижается. С другой стороны, при снижении уровня фильтрации у пациентов с почечной недостаточностью глюкозурия может не наблюдаться даже при гипергликемии, превышающей почечный порог [1,5]. Следовательно, снижение или повышение почечного порога для глюкозы при ряде заболеваний может привести к существенно недостоверным данным и уменьшить диагностическую ценность определения глюкозы в моче.

Заключение

Таким образом, с развитием научно-технического прогресса совершенствовались и методы определения глюкозы в моче: от простых органолептических до химических, от качественного до количественного анализа с увеличением их точности, чувствительности и специфичности. В современной практике тесты на глюкозурию основываются в основном на энзиматических методах, обеспечивающих хорошую специфичность и чувствительность. Среди них по точности экспресс-методы, популярные как в самостоятельном использовании, так и в лабораториях, уступают количественному лабораторному анализу, приводя к частой и привычной недооценке уровня глюкозурии. В связи с этим информативность уровня глюкозурии считается проблемной в диагностике, тогда как интерпретация результата определения глюкозы в моче требует от клинициста всего лишь адекватных представлений о возможностях использованного метода анализа.

Литература/References

1. Cowart, S.L., *Glucosuria* / S.L.Cowart, M.E. Stachura // In: Walker H.K., Hall W.D., Hurst J.W, editors. *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations.* – Boston, Butterworths. – 1990. – Text: visual.
2. Ferrannini, E. *Learning from glycosuria* / E. Ferrannini. – Text: neposredstvennyj // *Diabetes.* – 2011. – Vol. 60. – №. 3. – P. 695–696.

3. DeFronzo, R.A. *The role of the kidneys in glucose homeostasis: a new path towards normalizing glycaemia* / R.A. DeFronzo, J.A. Davidson, S. Del Prato. – Text: neposredstvennyj // *Diabetes Obes. Metab.* – 2012. – Vol. 14. – №.14. – P. 5–14.
4. Liman, M.N.P. *Physiology, Glycosuria* / M.N.P. Liman, I. Jialal // In: *StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.* – Text: visual.
5. Кишкун, А. А. *Клиническая лабораторная диагностика: учебник: в 2 т.* / А. А. Кишкун, Л. А. Беганская. – М.:, 2021. – 784 с. – Текст: непосредственный.
6. Мкртумян, А.М. *Роль почек в гомеостазе глюкозы* / А.М. Мкртумян, Т.Н. Маркова, Н.К. Мищенко. – Текст: непосредственный. // *Проблемы Эндокринологии.* – 2017. – Т. 63. – №.6. – С. 385-391.
7. Wright, E.M. *Active sugar transport in health and disease* / E.M. Wright, B.A. Hirayama, D.F. Loo. – Text: neposredstvennyj // *J. Intern. Med.* – 2007. – Vol. 261. – №. 1. – P. 32–43.
8. *Renal glucosuria* / A. Rohlfleisch, G. Nseir, H. Chehade [et al.] – Text: neposredstvennyj // *Rev. Med. Suisse.* – 2013. – Vol. 9(378). – P. 636–640.
9. *A novel sodium–glucose co-transporter 2 gene (SGLT2) mutation contributes to the abnormal expression of SGLT2 in renal tissues in familial renal glucosuria* / L. Yu, P. Hou, J.C. Lv [et al.] – Text: neposredstvennyj // *Int. Urol. Nephrol.* – 2014. – Vol. 46. – P. 2237–2238.
10. Ritu, L. *The History of Diabetes Mellitus* / L. Ritu. – Text: neposredstvennyj // *Sultan Qaboos University medical journal.* – 2013. – №. 13. – P. 368–370.
11. Решетняк, Д.В. *История становления лабораторной диагностики (лекция I)* / Д.В. Решетняк, В.К. Решетняк. – Текст: непосредственный // *Патогенез.* – 2015. – Т.13. – №1. – С. 74–86.
12. Clarke, S. F. *A history of blood glucose meters and their role in self-monitoring of diabetes mellitus* / S. F. Clarke, J. R. Foster. – Text: neposredstvennyj // *British J. of Biomed. Sci.* – 2012. – Vol. 69. – №.2. – P. 83–93.
13. Гулевичъ, В. *Анализъ мочи. Руководство при практическихъ занятіяхъ въ лабораторіи* / В. Гулевичъ. – М.: Университетская типографія, 1905. – 244 с. – Текст: непосредственный.
14. Решетняк, Д.В. *История становления лабораторной диагностики (лекция II)* / Д.В. Решетняк, В.К. Решетняк. – Текст: непосредственный // *Патогенез.* – 2015. – Т.13. – №2. – С. 66–78.
15. Тодоров, Й. *Клинические лабораторные исследования в педиатрии* / Й. Тодоров. – София: Медицина и физкультура, 1963. – 874 с. – Текст: непосредственный.
16. *Справочник по клиническим лабораторным методам исследования* / Под ред проф. Е.А. Кост. – М.: Медицина, 1975. – 383 с. – Текст: непосредственный.

17. Кишкун, А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики / А.А. Кишкун. – М.: ГЕОТАР-Медиа, 2013. – 756 с. – Текст: непосредственный.