

Ензимоіндикатори ступеня активності пієлонефриту у дітей

Л.Я. Мигаль, Г.Г. Нікуліна, Л.В. Король, І.Є. Сербіна, І.В. Багдасарова, О.В. Лавренчук, С.П. Фоміна, Н.М. Малашевська

ДУ «Інститут урології НАМН України», м. Київ

ДУ «Інститут нефрології НАМН України», м. Київ

Установлено чітку залежність змін ензимологічних показників – ензиму щіткової облямівки γ -глутамілтранспептидази та лізосомного ензиму N-ацетил- β -D-глюкозамінідази В у сечі 250 дітей, хворих на пієлонефрит, від ступеня активності (I–III) запального процесу в нирках.

Ключові слова: діти, пієлонефрит, ступінь активності, сеча, ензими.

Актуальність проблеми пієлонефриту (ПН) у дітей зумовлена не тільки поширеністю хвороби, але й збільшенням за останні роки частоти її латентних та хронічних форм з більш раннім зниженням функціонального стану нирок [1, 2, 5]. Розвиток та прогресування ПН супроводжується неспецифічним мікробно-запальним ураженням чашково-мискової системи з поширенням патологічного процесу на тубулярний епітелій та інтерстиціальну тканину нирок, що підтверджено результатами морфологічних досліджень (розширення каналців та заповнення їх білковими циліндрами, перигломерулярний фіброз). Відомо, що запальний процес у паренхімі нирок у дітей, хворих на ПН, має три ступені його активності [2, 5]. Своєчасна діагностика кожного з трьох ступенів активності запального процесу у нирках дітей, хворих на ПН, є необхідною у зв'язку з тим, що від неї відповідно залежать своєчасність, обсяг та тривалість застосування лікувальних заходів. У той самий час несвоєчасна та неадекватна терапія ПН призводить до хронізації та рецидивування запального процесу з подальшим розвитком зморщування нирок та прогресування хронічної ниркової недостатності у дитячому віці [1, 5]. Для вибору оптимальних шляхів лікування ПН та відповідно зниження частоти його рецидивів уявляється важливим мати об'єктивні маркери оцінювання функціонального стану паренхіми нирок, що й зумовлює актуальність та нагальність пошуку інформативних, доступних та безпечних для дитини методів лабораторної діагностики ушкодження нирок у дітей, особливо за реноспецифічними критеріями. Саме таким вимогам на сьогодні відповідають методи визначення активності у сечі наступних ензимів – ензиму щіткової облямівки γ -глутамілтранспептидази (ГГТ, КФ 2.3.2.2), що є німічно пов'язаним з цитоплазматичною мембраною тубулярного епітелію проксимальних каналців [7], а також загальної N-ацетил- β -D-глюкозамінідази (НАГ, КФ 3.2.1.30) та її термостабільного ізоферменту НАГ В, що локалізовані переважно у лізосомах нефротелію проксимальних каналців [6]. Зазначені вище ензими мають важливі загальні характеристики – високий вміст у паренхімі нирок та високу молекулярну масу (~130–150 кД) і через неушкоджений клубочковий фільтр в сечу не потрапляють, що й зумовлює їх виражені щодо нирок органоспецифічні властивості. Зміни рівнів активності цих ферментів у сечі в бік їх підвищення, оскільки прогресування запального процесу в нирках характеризується ішемічним ураженням нирок та супроводжується активацією лізосом тубулярного відділу нефрону, свідчать

насамперед про дисфункцію каналцевого відділу нефрону та відповідно про розвиток тубулопатії. Відомо, що активність НАГ, НАГ В та ГГТ не виявлено у формених елементах крові, флора сечі також не сприяє підвищенню активності цих ензимів навіть в умовах вираженої бактеріурії, що особливо важливо для дітей, хворих на ПН [3].

Мета дослідження: вивчити особливості змін рівнів активності ензиму щіткової облямівки γ -глутамілтранспептидази (ГГТ) та ензимів лізосомного походження – N-ацетил- β -D-глюкозамінідази (НАГ) та її термостабільного ізоферменту НАГ В, у сечі дітей, хворих на пієлонефрит, та оцінити можливість їх використання як індикаторів диференціальної діагностики ступеня активності пієлонефриту у дітей.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження рівнів активності ензиму щіткової облямівки γ -глутамілтранспептидази (ГГТ) та лізосомних ферментів – загальної N-ацетил- β -D-глюкозамінідази (НАГ), її термостабільного ізоферменту НАГ В були проведені у сечі 250 хворих на ПН (переважно дівчатка віком від 2,5 до 15 років) із активною стадією запального процесу в нирках до призначення комбінованої антибактеріальної терапії. У всіх обстежених пацієнтів порушень функціонального стану нирок не діагностовано.

Діагноз ПН встановлювали на підставі комплексного клініко-лабораторного, рентгенологічного (мікційна цистографія), ультразвукового та мікробіологічного досліджень. При встановленні діагнозу ПН дотримувалися класифікації ПН у дітей, якою на сьогодні користуються в Україні [2, 5].

З активною стадією запального процесу I ступеня було 70 пацієнтів, II ступеня – 91, III ступеня – 89 пацієнтів (таблиця).

Визначення активності ГГТ сечі проводили колориметричним методом із застосуванням вітчизняного набору реактивів фірми «Реагент» [7]. За основу визначення загальної активності НАГ було взято метод О.О. Покровського та співавторів (1971), термостабільного ізоферменту НАГ В – метод І.В. Цветкової та А.Б. Козіної (1974). Наведені методи були адаптовані нами для визначення активності цих ферментів у сечі [4, 6]. Як відомо, сеча, завдяки наявності певної кількості інгібіторів, не є сприятливим середовищем для дослідження активності ензимів, але для визначення активності перелічених ензимів необхідності у проведенні попереднього діалізу сечі немає [3]. Беручи до уваги виражені коливання добового діурезу, активність ензимів, що досліджувалася в сечі, виражали із розрахунку на 1 ммоль креатиніну сечі, що не має добового ритму екскреції. Отже, активність зазначених ферментів виражали у відносних одиницях – у мкмоль продуктів реакції, що утворилися за 1 год інкубації, із розрахунку на 1 ммоль креатиніну сечі (мкмоль/ год/ммоль креатиніну) [4, 6, 7].

Група контролю – 25 практично здорових дітей того самого віку з нормальними аналізами сечі та без захворювань нирок та сечовивідних шляхів в анамнезі.

ДЕТСКАЯ УРОЛОГИЯ

Активність γ -глутамілтранспептидази (ГГТ), термостабільної N-ацетил- β -D-глюкозамінідази В (НАГ В) та загальної N-ацетил- β -D-глюкозамінідази (НАГ) (мкмоль/год/ммоль креатиніну сечі) у дітей, хворих на пієлонефрит (M \pm m)

Групи, що досліджувалися		Ензимологічний показник		
		ГГТ	НАГ В	НАГ
Хворі на пієлонефрит	1-а – з активною стадією запального процесу I ступеня (n=70)	52,10 \pm 2,53 (2,3)	4,04 \pm 0,89 (2,6)	14,68 \pm 0,97 (1,3)
	2-га – з активною стадією запального процесу II ступеня (n=91)	93,19 \pm 2,41 (4,1)	7,98 \pm 1,00 (5,1)	21,64 \pm 1,49 (1,9)
	3-я – з активною стадією запального процесу III ступеня (n=89)	185,34 \pm 19,83 (8,1)	15,40 \pm 1,09 (9,9)	49,80 \pm 2,27 (4,3)
4-а – практично здорові діти (контроль) (n=25)		22,58 \pm 1,98	1,56 \pm 0,10	11,64 \pm 0,72
P ₂₋₃ <		0,001	0,01	0,0010,
P ₁₋₃ <		0,001	0,001	001
P ₃₋₄ <		0,001	0,001	0,001
P ₁₋₂ <		0,001	0,05	0,01
P ₂₋₄ <		0,001	0,001	0,001
P ₁₋₄ <		0,001	0,01	0,05

Примітка: у дужках кратність підвищення ензимологічних показників порівняно з відповідними показниками контролю (за середніми даними).

Розраховували середню арифметичну величину, її похибку (M \pm m). Результати досліджень опрацьовували статистично, вірогідність отриманих результатів оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати досліджень сечі дітей, хворих на ПН (таблиця), свідчать, що рівні активності всіх ензимів, що досліджувалися, з одного боку, вже у пацієнтів з I ступенем активності запального процесу в нирках статистично вірогідно перевищували аналогічні показники в групі контролю (p<0,05–0,01), а з другого, – має місце статистично вірогідна відмінність рівнів активності перелічених ензимів поміж групами хворих дітей з різними ступенями активності пієлонефритичного процесу (p<0,05–0,001).

Представлені в таблиці дані свідчать, що кратність підвищення за середніми даними рівнів активності ГГТ та активності термостабільного ізоферменту НАГ В у відношенні до контрольних значень була вищою порівняно з кратністю підвищення активності загальної НАГ (у 2,3–2,6 разу у хворих з I ступенем активності ПН, у 4,1–5,1 разу у хворих з II ступенем активності ПН, у 8,1–9,9 разу у хворих з III ступенем активності ПН). Зазначене вище підкреслює більш виражену органоспецифічну щодо нирок властивість ГГТ та термостабільного лізосомного ізоферменту НАГ В та відповідно більш виражену інформативність цих показників порівняно з активністю загальної НАГ сечі у групах дітей як з I ступенем активності запального процесу, так і з більш вираженими ступенями активності пієлонефритичного процесу (II та III), що статистично вірогідно, наочно та доказово свідчить про можливість використання саме цих показників як об'єктивних та інформативних індикаторів для диференційованої діагностики ступеня активності пієлонефритичного процесу у дітей (див. таблицю).

Індивідуальний аналіз отриманих результатів визначення активності термостабільного ізоферменту ГГТ та НАГ В у сечі дітей у кожній із досліджуваних груп окремо показав, що в 1-й групі пацієнтів було зареєстровано збільшення активності цього показника вище за контрольні значення у 1,5–3,4 разу, що дозволяє діагностувати I або мінімальний ступінь активності пієлонефритичного процесу у дітей; у 2-й групі пацієнтів – у 3,5–5,4 разу, що дозволяє діагностувати II або помірний ступінь активності пієлонефритичного процесу у дітей; у 3-й групі пацієнтів – у 5,5 та більше разів, що до-

зволяє діагностувати III або максимальний ступінь активності пієлонефритичного процесу у дітей. Проведений нами кореляційний аналіз підтвердив, що між рівнями активності термостабільного ізоферменту ГГТ та НАГ В у сечі хворих дітей та ступенем активності запального процесу в нирках дітей, хворих на ПН, існує досить тісний кореляційний зв'язок (r=0,77 \pm 0,085 для ГГТ та r=0,91 \pm 0,073 для НАГ В, p<0,01–0,001).

Як відомо, єдиним вірогідним методом діагностики функціонального стану нирок залишається їхня біопсія. Однак цей травматичний метод на відміну від ензимологічних методів дослідження у педіатричній практиці широко застосовуватися не може. У нефрологічній та урологічній клініках для визначення функціонального стану нирок також має місце застосування методу реносцинтиграфії, що у дитячій практиці також має деякі обмеження через його певне радіологічне навантаження, інвазивність, необхідність мати спеціальне приміщення та обладнання тощо [5].

Діагностичну значущість щодо визначення функціонального стану нирок, згідно з сучасним уявленням, на сьогодні має визначення у сечі пацієнтів тих ензимів, що мають реноспецифічні властивості [3, 4]. Як показано у даному дослідженні, органоспецифічні щодо нирок властивості мають усі ензими, що досліджувалися, але ензим щіткової облямівки ГГТ та термостабільний ізоензим НАГ В мають більш виражені реноспецифічні властивості (див. таблицю).

Таким чином, використання ензимологічних показників, особливо це стосується визначення активності ГГТ та НАГ В сечі у якості індикаторів диференціальної діагностики ступеня активності пієлонефритичного процесу у дітей є абсолютно безпечним для хворої дитини (як біологічний матеріал використовується сеча), добре відтворюваним (\pm 5,9% та \pm 3,5% відповідно) та діагностично інформативним (87%). Визначення рівнів активності цих ензимів у сечі не потребує кошторисного обладнання (фотоелектроколометр), нескладне у виконанні (відсутність попереднього діалізу сечі) та доступне для будь-якої клініко-діагностичної лабораторії. Крім того, визначення одночасно двох ензимів, що мають однакову локалізацію в нефроні – переважно проксимальні канальці, але різну інтрацелюлярну локалізацію (цитоплазматичні мембрани щіткової облямівки та лізосоми) суттєво підвищує інформативність та об'єктивність даного дослідження.

ВИСНОВКИ

1. Показано чітку залежність змін рівнів активності ензиму щіткової облямівки ГТТ та НАГ В лізосомного походження сечі як ензимів з вираженими реноспецифічними властивостями від ступеня активності запального процесу в нирках дітей, хворих на ПН.
2. Установлено, що збільшення активності ГТТ та НАГ В у

Enzymoindicators of degree activity in inflammatory process in kidneys of children with pyelonephritis

L.A. Myhal, G.G. Nikulina, L.V. Korol, I.Ye. Serbina, I.V. Bagdasarova, O.V. Lavrenchuk, S.P. Fomina, N.M. Malashevskaya

Установлена четкая зависимость изменений энзимологических показателей – энзима щеточной каймы γ -глутамилтранспептидазы и лизосомного энзима N-ацетил- β -D-глюкозаминидазы В в моче 250 детей с пиелонефритом от степени активности (I–III) воспалительного процесса в почках.

Ключевые слова: дети, пиелонефрит, степень активности, моча, энзимы

1,5–3,4 разу відповідає I ступеню активності ПН, у 3,5–5,4 разу – II та у 5,5 та більше разів – III ступеню активності запального процесу в нирках, що дозволяє рекомендувати використання саме цих ензимологічних показників як ензімоіндикаторів щодо вдосконалення диференціальної діагностики ступеня активності ПН у дітей.

Enzymoindicators of degree activity in inflammatory process in kidneys of children with pyelonephritis
L.A. Myhal, G.G. Nikulina, L.V. Korol, I.Ye. Serbina, I.V. Bagdasarova, O.V. Lavrenchuk, S.P. Fomina, N.M. Malashevskaya

Distinct significant dependence of changes in enzymologic indexes of urine (brush border enzyme γ -glutamyltranspeptidase and lysosomal enzyme N-acetyl- β -D-glucosaminidase) was noted on the degree of activity in the inflammatory process in kidneys of 250 children with pyelonephritis.

Key words: children, pyelonephritis, degree of activity, urine, enzymes.

Сведения об авторе

Никулина Галина Григорьевна – ГУ «Институт урологии НАМН Украины», 04053, г. Киев, ул. Юрия Коцюбинского, 9а

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Багдасарова И.В. Диагностика и прогнозирование течения инфекции мочевыводящей системы у детей / И.В. Багдасарова, О.В. Лавренчук, Л.А. Мигаль // Клиническая нефрология (Россия). – 2012. – № 4. – С. 68–70.
2. Возіанов О.Ф. Сучасні аспекти класифікації пієлонефриту у дітей / О.Ф. Возіанов, В.Г. Майданник // Журн. АМН України. – 2004. – Т. 10, № 4. – С. 687–699.
3. Диагностическое значение исследования активности N-ацетил- β -D-глюкозаминидазы в моче (обзор литературы) / Н.И. Бабаева, И.Я. Липицкая, Н.Д. Творогова, В.Н. Титов // Лаб. дело. – 1991. – № 1. – С. 9–16.
4. Діагностичне значення лізосомної ферментурії у дітей з інфекцією сечової системи: Методичні рекомендації / І.В. Багдасарова, Л.Я. Мигаль, С.П. Фоміна, О.В. Лавренчук, Л.В. Король, О.О. Дашченко. – Київ, 2009. – 19 с.
5. Основи нефрології: Довідник лікаря / І.В. Багдасарова, М.Б. Велічко, Ю.І. Гончар [та інші]; За ред. проф. М.О. Колесника. – К.: Здоров'я України, 2010. – С. 183–193.
6. Патент на винахід N 82170 UA. Спосіб діагностики ступеня активності пієлонефритичного процесу у дітей / Л.Я. Мигаль, І.В. Багдасарова, О.О. Дашченко, Л.В. Король, О.В. Лавренчук, С.П. Фоміна // МПК (2006), G 01 N 33/48. N а 2007 03509, 30.03.2007. Опубл. 11.03.2008. Бюл. N 5.– 5 с.
7. Патент на КМ N 46621 UA. Спосіб визначення ступеня активності запального процесу в нирках у дітей з пієлонефритом / І.Є. Сербіна, Л.Я. Мигаль, Г.Г. Нікуліна, І.В. Багдасарова, С.П. Фоміна, О.В. Лавренчук // МПК (2009), G 01 N 33/48. N и 2009 08016, 29.07.2009. Опубл. 25.12.2009. Бюл. N 24.– 4 с.

Статья поступила в редакцию 23.11.2015