

ВМІСТ γ -ГЛУТАМІЛТРАНСПЕПТИДАЗИ ЯК ІНДИКАТОР СИНДРОМУ ЦИТОЛІЗУ НЕФРОТЕЛІУ ПРИ ПІЕЛОНЕФРИТІ У ДІТЕЙ

В.Е. Маркевич, д-р мед. наук, професор;

А.М. Лобода, канд. мед. наук, доцент

Медичний інститут Сумського державного університету, м. Суми

Статья посвящена исследованию активности γ -глутамилтранспептидазы в сыворотке крови и моче детей с пиелонефритом. Активность фермента определяли унифицированным методом по „конечной точке“. Установлено, что высокая концентрация фермента в сыворотке и моче свойственна детям со всеми вариантами течения заболевания. Содержание энзима характеризует выраженность синдрома цитолиза нефротелия у пациентов с патологией почек и свидетельствует об определенной топографии повреждения.

Ключевые слова: пиелонефрит, дети, ферменты, сыворотка, моча.

Стаття присвячена дослідженню активності γ -глутамілтранспептидази в сироватці крові та сечі у дітей з піелонефритом. Активність ферменту визначали уніфікованим методом за „кінцевою точкою“. Встановлено, що висока концентрація ферменту в сироватці та сечі є властивою для дітей з усіма варіантами перебігу захворювання. Вміст ензиму характеризує вираженість синдрому цитолізу нефротелію у пацієнтів із патологією нирок та свідчить про певну топографію ушкодження.

Ключові слова: піелонефрит, діти, ферменти, сироватка, сеча.

ВСТУП

Піелонефрит (ПН) - неспецифічне мікробно-запальне захворювання з ураженням ниркової миски, чашечок і паренхіми нирок. ПН являє собою послідовні етапи інфекційно-запального процесу, обумовленого проникненням патогенних мікроорганізмів в сечові шляхи, паренхіму нирки з розвитком локального запалення чи синдрому системної запальної реакції.

Топічне визначення вогнища інфекції та з'ясування інтенсивності запального процесу в нирках набуває особливого значення при виборі тактики ведення пацієнтів. Одним з актуальних методів сучасної лабораторної діагностики ураження нирок є визначення рівня органоспецифічних ферментів у біологічних рідинах [1].

Фермент, який може використовуватися з діагностичною метою при захворюваннях нирок, повинен мати декілька ознак:

- Міститися у підвищеній концентрації у нирковій тканині, але бути відсутнім в нижніх сечових шляхах;
- мати високу молекулярну масу;
- вплив сечового осаду та мікрофлори сечі на активність ферменту має бути мінімальним;
- активність ензиму повинна зберігатися протягом декількох діб;
- сеча не повинна містити активаторів чи інгібіторів даного ферменту [2].

Вищеперелічені властивості повною мірою притаманні такому ензиму, як γ -глутамілтранспептидаза.

Гаммаглутамілтрансфераза, або γ -глутамілтранспептидаза (ГГТП), – фермент, що каталізує переміщення γ -глутамілової групи від пептиду або сполук, що містять дану групу, до акцепторного пептиду або амінокислоти. Завдяки цьому, ГГТП сприяє транспортуванню амінокислот через мембрану клітини. Даний транспортний механізм

характеризується високою продуктивністю, хоча і споживає більше енергії порівняно з іншими [3]. Тому високий вміст даного ензиму може призводити до швидкого вичерпання енергетичних резервів клітин.

ГГТП виявляють в основному в мембранах клітин, що мають високу секреторну або поглинальну здатність. Активність ферменту в епітелії проксимальних ниркових каналців є найвищою в організмі людини, вона перевищує таку в клітинах печінки у 25 разів, а в сироватці крові – у декілька тисяч разів.

Незважаючи на високу активність ГГТП в нирковій тканині, через велику молярну масу в сечі здорових осіб вона майже не визначається. Підвищення активності ферменту в сечі спостерігають у пацієнтів з гострими інфекційними захворюваннями сечостатевої системи і хворобами, при яких відбувається руйнування ниркової тканини [4]. Існують вікові особливості вмісту ферменту у дітей. Активність ГГТП в сироватці крові дітей перших місяців життя перевищує таку у дітей старшого віку [5].

Даний ензим є досить стійким, активність ГГТП в сироватці крові не змінюється при зберіганні зразка при кімнатній температурі або при 4°C протягом 7 днів і протягом 2 міс. при заморожуванні.

Період напівжиття ГГТП у здорових людей становить 7–10 днів, при порушенні кліренсу ферменту він збільшується до 28 днів. Завдяки цьому, а також високій органоспецифічності щодо ниркової тканини, гаммаглутамілтрансфераза може бути використана для діагностики при захворюваннях нирок [6].

Окрім того, зміни сироваткового рівня ГГТП тісно корелюють з рівнем С-реактивного пептиду. Таким чином, цей ензим може бути маркером оксидативного стресу. Високий рівень ГГТП викликає зниження забезпеченості глутатионом, що може індукувати продукцію вільних радикалів та провокувати оксидативний стрес. Останній є одним з ключових елементів багатьох реакцій, пов'язаних з хронічним запаленням [7, 8].

МЕТА РОБОТИ

Мета роботи – дослідити вміст γ -глутамілтранспептидази в сироватці крові та сечі дітей, хворих на пієлонефрит.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Матеріалом для дослідження була периферійна венозна кров дітей з пієлонефритом, яку брали шляхом венепункції зранку натщесерце для виключення впливу добових коливань та вживання їжі на рівень ферментів. Для визначення активності ферментів у сечі проводили її забір в стерильний посуд під час сечовипускання після туалету зовнішніх статевих органів. Для виключення впливу на екскрецію ферментів сечі добових ритмів досліджували лише ранкову порцію сечі, яку збирали о 8-10 годині ранку.

Активність ГГТП визначали уніфікованим методом за „кінцевою точкою” за швидкістю утворення 5-аміно-2-нітробензоату при довжині хвилі 405 нм і температурі 37°C на напівавтоматичному фотометрі з використанням наборів реактивів фірми “Ольвекс”.

Статистична обробка результатів досліджень здійснювалася за допомогою програм Excel та Statistica 6.0. Використовувалися методи варіаційної статистики, придатні для медико - біологічних досліджень [9]. Визначали середньоарифметичне (M), похибку середньоарифметичного (m). За допомогою критерію Стьюдента (t) визначали показник достовірності (P).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Обстежено 60 дітей з гострим ПН, 30 пацієнтів з хронічним ПН в періоді загострення та 15 - з хронічним ПН в періоді ремісії, які перебували на лікуванні в нефрологічному відділенні Сумської обласної дитячої клінічної лікарні. Вік дітей становив від 2 до 17 років. До групи порівняння увійшли 30 дітей, які не мали клінічних чи лабораторних ознак патології нирок.

Встановлено, що у обстежених дітей групи порівняння показник ГГТП в сироватці крові не відрізнявся від референтного рівня (0-23 нмоль/(с*л)) [10]. Ймовірніше за все, такий фоновий вміст ферменту у здорових дітей має позаниркове походження.

Гострий ПН супроводжувався значним зростанням концентрації ГГТП в сироватці крові. Активність ензиму у обстежених дітей зростала більше ніж у 20 разів ($p < 0,001$) та була максимальною відносно всіх інших обстежених груп дітей.

*Таблиця 1 - Концентрація γ -глутамілтранспептидази в сироватці дітей з пієлонефритом, нмоль/(с*л)*

	Група порівняння (n=30)	Гострий пієлонефрит (n=60)	Загострення хронічного пієлонефриту (n=30)	Ремісія хронічного пієлонефриту (n=15)
ГГТП	18,57 ± 1,64	442,7 ± 33,3, p ₁ , p ₂ , p ₃	217,9 ± 12,25, p ₁ , p ₃	115,53 ± 9,23, p ₁ , p ₂
<i>Примітки:</i> p ₁ – достовірність відносно групи порівняння ($p < 0,001$); p ₂ – достовірність відносно дітей із загостренням хронічного пієлонефриту ($p < 0,001$); p ₃ – достовірність відносно дітей із ремісією хронічного пієлонефриту ($p < 0,001$)				

Для загострення хронічного ПН властивим є високий вміст ГГТП в сироватці крові (більше ніж у 10 разів вищий від показника у здорових дітей), але все ж нижчий від рівня у дітей з гострим ПН. Для ремісії хронічного ПН властиве достовірне зниження ферментемії. Рівень ГГТП у стадії ремісії перевищував відповідне значення у групі порівняння більше ніж у 6 разів, хоча і був значно нижчим від показника у разі загострення.

Отже, висока концентрація ГГТП є властивою для дітей з усіма варіантами перебігу захворювання, досягаючи максимальних значень при гострому пієлонефриті. Значна ферментемія пов'язана із високою швидкістю вивільнення ензимів з клітин ниркових каналців внаслідок ушкодження клітинної мембрани на тлі запалення, ішемії, дистрофії чи некрозу. Зважаючи на цитозольну локалізацію ферменту [2, 7], лише значна деструкція мембрани або загибель клітини буде призводити до зростання його концентрації в сироватці крові. Таким чином, визначення активності даного ензиму може характеризувати ступінь вираженості синдрому цитолізу нефротелію у пацієнтів із патологією нирок. Синдром цитолізу найбільш властивий для гострого пієлонефриту або загострення хронічного. Ремісія захворювання супроводжується зменшенням його вираженості.

Таким чином, визначення сироваткового вмісту ГГТП є найбільш чутливим індикатором глибини ураження нефротелію та швидкості його відновлення.

Рівень ензимурії дослідили у 48 дітей з гострим ПН, 23 пацієнтів з хронічним ПН в періоді загострення, 15 - з хронічним ПН в періоді ремісії та 20 здорових дітей.

Концентрація ГГТП визначалася в сечі 36 хворих (75%) на гострий ПН. Серед дітей групи порівняння вміст ГГТП виявлено лише у 7 (35%) дітей ($p < 0,05$). Наявність даного ензиму в сечі здорових дітей пояснюється його локалізацією в щітинковій каймі епітелію каналців. Внаслідок цього в процесі оновлення цитоплазматичних мембран можливе потрапляння ферменту в сечу [2].

Таблиця 2 - Концентрація γ -глутамілтранспептидази в сечі дітей з пієлонефритом, нмоль/(с*л)

	Група порівняння (n=7)	Гострий пієлонефрит (n=36)	Загострення хронічного пієлонефриту (n=23)	Ремісія хронічного пієлонефриту (n=15)
ГГТП	15,8±2,83	43,43±2,41, P ₁ , P ₂ , P ₃	139,67±5,36, P ₁ , P ₃	67,5±5,9, P ₁ , P ₂
Примітки: p ₁ – достовірність відносно групи порівняння ($p < 0,001$); p ₂ – достовірність відносно дітей із загостренням хронічного пієлонефриту ($p < 0,001$); p ₃ – достовірність відносно дітей із ремісією хронічного пієлонефриту ($p < 0,001$)				

Виявлено, що гострий пієлонефрит супроводжується достовірним підвищенням рівня ГГТП в сечі ($p < 0,001$). Активність ГГТП у пацієнтів з гострим ПН була майже у 3,2 раза вищою, ніж у дітей групи порівняння.

При загостренні хронічного ПН у всіх обстежених пацієнтів було виявлено високий рівень ГГТП, який був достовірно вищим ($p < 0,001$) від відповідного показника у осіб з гострим ПН та у здорових дітей. Концентрація ГГТП в сечі при загостренні ПН, більше ніж у 3 рази, була вищою від вмісту даного ензиму при гострому перебігу захворювання та майже у 9 разів перевищувала активність у здорових дітей.

З'ясовано, що в період ремісії хронічного ПН виділення ГГТП із сечею зменшується у 2 рази, досягаючи значення 67,5±5,9 нмоль/(с*л). Але вказане значення все ж достовірно перевищує ($p < 0,001$) показники, характерні для дітей з гострим ПН, та рівень групи порівняння.

Оскільки близько $\frac{2}{3}$ ГГТП локалізовано в щітинковій каймі звивистих каналців нефрону, тому ураження саме цих відділів буде супроводжуватися появою ферментурії. Близько $\frac{1}{3}$ ферменту має внутрішньоклітинну локалізацію в комплексі Гольджі та лізосомах, тому висока активність ГГТП в сечі може бути проявом вираженого uszkodження епітеліальних клітин ниркових каналців [2,7].

Чутливість кількісного визначення ГГТП в сечі при гострому ПН досить висока. Це не дивно, враховуючи частково внутрішньоклітинне розміщення ферменту в структурах комплексу Гольджі і лізосомах. Напевно, підвищення рівня ензиму при гострому ПН визначається переважним uszkodженням щітинкової кайми. Крім того, для пацієнтів з гострим ПН властивою є висока ферментемія (див. табл. 1). Вона може бути пов'язана зі значною деструкцією базальної мембрани епітелію ниркових каналців при гострому запаленні, що спричиняє надходження лівової частки ензиму саме в сироватку, а не в сечу.

При хронічному ПН метод визначення даного ферменту в сечі має високу чутливість. Значна концентрація біосполуки при загостренні хронічного ПН обумовлена дестабілізацією клітинних мембран з подальшим виходом в сечу внутрішньоклітинних органел, що містять даний ензим. Але навіть у ремісію захворювання спостерігається висока активність ГГТП, що може бути показником збереження мембранної патології. При хронічному ПН, напевно, залишаються і зміни базальної мембрани проксимальних каналців, ілюстрацією чого є певна

ферментемія. Відзначимо, що у осіб з хронічним ПН рівень екскреції ензиму із сечею становить приблизно половину від його вмісту в сироватці крові.

Таблиця 3 - Показники парної кореляції r_{xy} вмісту ГГТП в сироватці та сечі

	Група порівняння	Гострий пієлонефрит	Загострення хронічного пієлонефриту	Ремісія хронічного пієлонефриту
r_{xy}	0, 443	- 0,652 ($p < 0,05$)	0,204	- 0,359

Дослідження показників парної кореляції активності ГГТП в сироватці та сечі дозволило встановити, що для здорових дітей властивим є позитивний зв'язок середньої сили. У той самий час гострий інфекційний процес в нирках спричиняє значну зміну кореляційного зв'язку. Він стає сильним негативним ($p < 0,05$). При цьому низька екскреція ГГТП із сечею достовірно пов'язана з високим рівнем ферменту в сироватці крові, що обумовлене більш вираженим порушенням стабільності базальної мембрани порівняно з мембраною щітинкової кайми. Враховуючи тісну залежність між концентрацією ферментів сечі та сироватковими ензимами, при гострому ПН для оцінки патологічних змін можна рекомендувати дослідження ферментурії як скринінгового, неінвазивного та інформативного методу.

Слабка позитивна кореляція характеризує загострення хронічного ПН. У дітей з ремісією хронічного пієлонефриту, не зважаючи на тенденцію до зниження ферментемії та ферментурії, відзначається поява негативного зв'язку середньої сили. Відсутність достовірних взаємозв'язків між концентрацією ензимів сироватки та сечі вимагає застосування дослідження їх вмісту в обох цих середовищах для комплексної оцінки ступеня ураження нирок.

У пацієнтів з клініко - лабораторними ознаками ремісії вміст ГГТП залишався на високому рівні. Підвищена концентрація ензиму свідчить про збереження мембранної патології, структурно - функціональних та метаболічних порушень епітелію проксимального відділу нефрону, незважаючи на відсутність інших клінічних та лабораторних ознак активності процесу. Наявність переличених змін може вимагати продовження застосування терапевтичних заходів до нормалізації рівня ГГТП. Визначення активності ГГТП у сироватці крові та сечі може застосовуватися для встановлення глибини та стійкості ремісії у дітей з хронічним пієлонефритом.

Отже, підвищений рівень ГГТП може свідчити про певну топографію ураження нефрону, ступінь пошкодження та швидкість відновлення нефротелію, що важливо для науково обґрунтованого патогенетичного лікування.

Перспективним є визначення залежності ферментної активності від тривалості перебігу ПН та стану ниркової функції.

ВИСНОВКИ

1. Активність ГГТП характеризує вираженість синдрому цитолізу нефротелію у пацієнтів із патологією нирок.

2. Дослідження рівня ГГТП в сироватці крові та сечі є необхідним компонентом комплексного лабораторного обстеження для підтвердження ремісії у дітей з хронічним пієлонефритом.

SUMMARY

CONTENTS OF GAMMA-GLUTAMYLTRANSPEPTIDASE AS A INDICATOR OF SYNDROME OF CYTOLYSIS OF NEPHROTHELIUM AT CHILDREN WITH PYELONEPHRITIS

V.E. Markevich, A.M. Loboda

Medical Institute of Sumy State University, Sumy

Article is devoted to research of activity of gamma-glutamyltranspeptidase in the serum and urine of children with pyelonephritis. Enzyme activity was determined by the compatible method „to the eventual point”. High concentration of enzyme in serum and urine is specific for children with all variants of disease. Enzyme content characterizes expressed of syndrome of cytolysis of nephrothelium at patients with kidney pathology and testifies about definite topography of damage.

Key words: pyelonephritis, children, enzymes, serum of blood, urine.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ходырева Л.А. Клинико-лабораторные аспекты диагностики, течения и прогноза мочевой инфекции: автореф. дис.... д-ра мед. наук: 14.00.40 "Урология" / Л.А. Ходырева; [Научно-исследовательский институт урологии Росмедтехнологий]. – Москва, 2007. – 38 с.
2. Нікуліна Г.Г. Ферменти маркери патології клітинних мембран при захворюваннях нирок / Г.Г. Нікуліна, Л.В. Король, Л.А. Мигаль // Український журнал нефрології та діалізу. – 2004. – №1. – С. 30 -33.
3. Okada T. Crystal structures of gamma-glutamyltranspeptidase from Escherichia coli, a key enzyme in glutathione metabolism, and its reaction intermediate / T. Okada, H. Suzuki, K. Wada et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2006. – Vol.103, №17. – P.6471-6476.
4. Ларичева Е.С. Методы определения активности гаммаглутамилтрансферазы / Е.С. Ларичева, А.В. Козлов, М.Д. Балясина // Terra Medica Nova. – 2007. – №4 (16). – С. 4-8.
5. Calbrera-Abreu J.C. γ -Glutamyltransferase: value of its measurement in paediatrics / J.C. Calbrera-Abreu, A. Green // Ann. Clin. Biochem. – 2002. – Vol. 39. – P. 22–25.
6. Loeb W.F. The measurement of renal injury / W.F. Loeb // Toxicol. Pathol. –1998. – Vol. 26, №1. – P. 26-28.
7. Whitfield J.B. Gamma glutamyltransferase / J.B. Whitfield // Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. – 2001. – Vol. 38, №4. – P. 263-355.
8. Lee D.H. Association between serum gamma-glutamyltransferase and C-reactive protein / D.H. Lee, D.R. Jacobs Jr. // Atherosclerosis. – 2005. – Vol.178, №2. – P. 327-330.
9. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel // С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – К.: МОРИОН, 2001. – 408 с.
10. Справочник по лабораторным методам исследования / под ред. Л.А. Даниловой. – СПб.: Питер, 2003. – 736 с.

Надійшла до редакції 26 листопада 2009 р.