

Міністерство освіти та науки України
Міністерство охорони здоров'я України
Сумський державний університет
Медичний інститут

УДК 616.61-053.32:577.118(043.3)

Тишлієва Інна Григорівна

*Диференціально-діагностичне значення ферментурії у
дітей, хворих на гломерулонефрит та пієлонефрит*

14.01.10-підіатрія

Робота на здобуття кваліфікаційного ступеня магістра

Науковий керівник:
доктор медичних наук, професор,
завідувач кафедри педіатрії
з курсом медичної генетики
Маркевич Віталій Едуардович

Суми-2011

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень.....	3
Розділ 1. Огляд літератури.....	4
Розділ 2. Методи дослідження	
2.1. Клінічні методи.....	28
2.2. Лабораторні методи.....	29
2.3. Статистичний метод.....	31
Розділ 3.Клінічна характеристика обстежених дітей	
3.1. Характеристика групи порівняння.....	32
3.2. Характеристика дітей з гострим та хронічним гломерулонефритом.....	35
3.3 . Характеристика дітей з гострим та хронічним пієлонефритом.....	44
Розділ 4. Оцінка ензимурії та енергетичного забезпечення при запальних захворюваннях нирок	
4.1. Дослідження вмісту маркерних ферментів у дітей з пієлонефритом.....	56
4.2.Дослідження вмісту маркерних ферментів у дітей з гломерулонефритом.....	62
Висновки.....	67
Список використаних джерел.....	68

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ГН- гломерулонефрит

ПН- пієлонефрит

ЛДГ - лактатдегідрогеназа

ГГТП- γ -глутамілтранспептидаза

АС-А - арилсульфатаза

β –ГЛ - β -глюкоронідаза

МДГ - малатдегідрогеназа

АЛД - альдолаза

СДГ - сукцинатдегідрогеназа

ВСТУП

Нирки являють собою один з головних регулюючих та виконуючих органів підтримки системи гомеостазу людського організму. Мембранна патологія відіграє провідну роль у виникненні та прогресуванні більшості хвороб нирок, що супроводжуються імунозапальними процесами та гіпоксією.

Гломерулонефрит (ГН) – гетерогенна група імуно- запальних захворювань переважно клубочкового апарату нирок з різною клініко-морфологічною картиною, перебігом та наслідками. Серед набутих захворювань нирок у дітей гломерулонефрит є другим за розповсюдженістю після інфекції сечовивідних шляхів, його частота складає 0,7-14 на 1000 дітей. Механізм розвитку захворювання зумовлений, переважно, формуванням імунних комплексів з антитілами до власної тканини нирки і осіданням цих комплексів на мембрані клітин ниркових клубочків. Це призводить до зміни функції клубочків, порушенню процесів фільтрації білка, солей, порушення продукції нирковою тканиною різних біологічно активних речовин. При гломерулонефриті, незалежно від ушкодження клубочків, можливе також ушкодження каналців, що проявляється в порушенні концентраційної функції нирок і появі ензимурії.

Але набагато частіше діти хворіють на пієлонефрит. За поширеністю він займає друге місце після захворювань органів дихання. Пієлонефрит (ПН) - неспецифічне мікробно-запальне захворювання нирок з переважним вогнищевим інфекційно-запальним ушкодженням тубулоінтерстиційної тканини, пов'язане з інфекцією сечових шляхів. Розвиток пієлонефриту супроводжується виникненням гомеостатичного дисбалансу внаслідок порушення функції біологічних мембран та процесів енергетичного обміну нефрону.

Маркером вказаних порушень є поява ферментурії. Рекомендується одночасно вивчати активність декількох ферментів для посилення їх діагностичного значення.

При патології нирок найбільш чутливими ферментами вважаються цитозольні, зокрема лактатдегідрогеназа (ЛДГ), а також ензими, які локалізуються у внутрішньоклітинних органелах, – γ -глутамілтранспептидаза (ГГТП).

Висока активність процесів енергетичного обміну, характерна для метаболізму нирок, обумовлена високими потребами в енергії, необхідній для виконання видільної функції. Найбільш повно вказані процеси характеризує активність ЛДГ та сукцинатдегідрогенази (СДГ).

Підвищений рівень ферментів (ЛДГ, ГГТП) може свідчити про певну топографію ураження нефрону, ступінь пошкодження та швидкість відновлення нефротелію, що важливо для науково обґрунтованого патогенетичного лікування.

Визначення СДГ може бути використане в клінічній практиці для підвищення точності, спрощення способу, а також скорочення тривалості діагностики стадії гострого пієлонефриту. Сукцинатдегідрогеназа може застосовуватися в якості лабораторного маркера загального біоенергетичного статусу організму.

Таким чином, вивчення активності ферментів в сечі, у дітей з ураженням органів сечової системи дозволяє провести диференційну діагностику різних захворювань нирок. Виявлення ферментів в сечі можна також використовувати для розпізнавання типу ушкодження нефрону та для встановлення локалізації ураження.

Мета дослідження – дослідити вміст ферментів (лактатдегідрогенази, γ -глутамілтранспептидази) у сечі та активність сукцинатдегідрогенази у лімфоцитах периферичної крові дітей, хворих на пієлонефрит та гломерулонефрит.

Встановлена мета реалізована шляхом вирішення таких завдань:

1. Дослідити рівень ЛДГ у сечі дітей, хворих на пієлонефрит та гломерулонефрит.

2. Дослідити рівень ГГТП у сечі дітей, хворих на пієлонефрит та гломерулонефрит.

3. Дослідити рівень СДГ у лімфоцитах периферичної крові дітей, хворих на пієлонефрит та гломерулонефрит.

Пропонується вирішити поставлені завдання за допомогою детального обстеження дітей, хворих на пієлонефрит та гломерулонефрит, на базі нефрологічного відділення Сумської обласної дитячої клінічної лікарні.

Об'єкт дослідження: пієлонефрит та гломерулонефрит у дітей.

Предмет дослідження: рівень ферментурії у дітей, хворих на пієлонефрит та гломерулонефрит.

Критерії включення хворих у клінічне дослідження:

1. Інформована згода батьків хворої дитини на участь у дослідженні та дотримання всіх призначень лікаря.
2. Вік хворих дітей від 6 міс. до 17 років.

Критерії виключення хворих із клінічного дослідження :

1. Відмова батьків хворої дитини від участі у дослідженні.
2. Наявність гострих запальних інфекційних та супутніх тяжких соматичних захворювань в стадії декомпенсації патологічного процесу.
3. Хронічна ниркова недостатність.
4. Вроджена та спадкова патологія нирок.

Методи дослідження:

1. Клінічні.
2. Лабораторні: загальний аналіз крові і сечі, аналіз крові на глюкозу, біохімічний аналіз крові: загальний білірубін крові та його фракції, загальний білок і його фракції, рівень холестерину, сечовини, креатиніну, залишкового азоту, рівень кальцію, натрію, калію, хлору; аналіз сечі за Нечипоренко, Зимницьким, проба Реберга, бактеріологічний аналіз сечі. Активність ЛДГ досліджували кінетичним методом за швидкістю зниження оптичної щільності

НАДН₂ при довжині хвилі 340 нм та температурі 37°C на напівавтоматичному фотометрі з використанням наборів реактивів фірми “Ольвекс”. Активність ГТПП визначали уніфікованим методом за „кінцевою точкою” за швидкістю утворення 5-аміно-2-нітробензоату при довжині хвилі 405 нм та температурі 37°C на напівавтоматичному фотометрі з використанням наборів реактивів фірми “Ольвекс”. Активність СДГ у лімфоцитах периферичної крові визначали кількісним цитохімічним методом, запропонованим Нахласом у модифікації Р.П. Нарцисова із застосуванням реактивів фірми «SIGMA-ALDRICH» (Швейцарія).

3. Аналіз медичної документації (медичні карти стаціонарних хворих з пієлонефритом та гломерулонефритом).

4. Статистичні.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

Нефрит - первинне захворювання нирок з пошкодженням усього нефрону, в основі якого лежать імунні механізми. При переважному ушкодженні гломерул діагностують гломерулонефрит, тубулоінтерстиційної тканини – тубулоінтерстиційний нефрит (при абактеріальному характері останнього встановлюють діагноз інтерстиційного нефриту, при виявленні бактеріального агента – пієлонефриту). Загальне ушкодження нефрону (гломерул і тубулоінтерстиція) фігурує в діагнозі, як гломерулонефрит із тубулоінтерстиційним компонентом.

Гломерулонефрит (ГН) – гетерогенна група імуно-запальних захворювань переважно клубочкового апарату нирок з різною клініко-морфологічною картиною, перебігом та наслідками. Серед набутих захворювань нирок у дітей гломерулонефрит є другим за розповсюдженістю після інфекції сечовивідних шляхів. Актуальність цього захворювання визначається його розповсюдженістю – гломерулонефрит спостерігається у 0,7-14 з 1000 дітей, важкістю визначення активності патологічного процесу в нирках, прогнозом – не завжди вдається своєчасно встановити правильний діагноз за рахунок наявності екстраренальних проявів, стертих і атипичних форм захворювання, у частини хворих захворювання супроводжуються розвитком швидко прогресуючої хронічної ниркової недостатності (ХНН), а також недостатньою ефективністю медикаментозної терапії.

Гострий ГН – це гостре пошкодження нирок, що виникає після бактеріального, вірусного, паразитарного захворювання або з інших причин через певний проміжок часу (2-6 тижні) і має, зазвичай, циклічний перебіг. За міжнародними стандартами гострий ГН виникає спорадично після стрептококової інфекції, підтвердженої висівом із зівів стрептокока, наявністю в сироватці стрептококових антигенів та антитіл. Тривалість гострого ГН обмежується 1 роком від початку захворювання. При давності процесу більше 3-х місяців говорять про тенденцію до затяжного перебігу,

більше 6-ти місяців – про затяжний перебіг, більше 1 року – про перехід в хронічний ГН. Швидкопрогресуючий (злякисний) ГН характеризується надвисокою активністю захворювання, що супроводжується прогресуючим падінням функції нирок, гіпертензією, анемією, розвитком термінальної уремії в строк до декількох місяців.

Гломерулонефрит за механізмом розвитку відноситься до групи інфекційно-алергічних захворювань. Термін “інфекційно-алергічний” відображає формування інфекційної алергії разом з низкою не імунних пошкоджень органів. Існують і аутоімунні форми захворювання, які зумовлені ушкодженням ниркової тканини аутоантитілами.

Механізм розвитку захворювання зумовлений, переважно, формуванням імунних комплексів з антитілами до власної тканини нирки і осіданням цих комплексів на мембрані клітин ниркових клубочків. Це призводить до зміни функції клубочків, порушення процесів фільтрації білка, солей, утворення нирковою тканиною різних біологічно активних речовин, особливо тих, які впливають на рівень артеріального тиску. Має також значення безпосередній вплив токсичних речовин, які виробляються стрептококами, на клубочки нирок.

Хронічний ГН може бути наслідком гострого ГН або самостійним захворюванням. Часто хворобу діагностують за наявністю білка в сечі при обстеженні з приводу інших захворювань. Небезпека хронічного ГН полягає в поступовому зниженні функціональної активності нирок з формуванням хронічної ниркової недостатності.

Але набагато частіше діти хворіють на пієлонефрит (ПН). Пієлонефрит – одне із захворювань органів сечової системи, що найчастіше зустрічаються у дітей. У дітей пієлонефрит займає друге місце після захворювань органів дихання.

Частіше хворіють дівчата і жінки молодого та середнього віку – в 6 разів частіше за хлопчиків та чоловіків. Відповідно епідеміологічним дослідженням, розповсюдженість пієлонефриту у дітей коливається від 0,4% до 5,4%.

Впродовж останніх років частота пієлонефриту має тенденцію до зростання, особливо у дітей раннього віку. Актуальність цього захворювання визначається не тільки його розповсюдженістю, а й схильністю до рецидивного перебігу з розвитком незворотних пошкоджень паренхіми нирок, формуванням хронічної ниркової недостатності, великою варіабельністю клінічної картини, складністю проведення інвазивних методів діагностики.

Пієлонефрит в дитячому віці, як правило, пов'язаний з такими захворюваннями, як гідронефроз, уретерогідронефроз і міхурово-сечовідний рефлюкс. Основний патологічний процес, що прогресує при обструкції, – це тубулоінтерстиціальний фіброз, атрофія каналців, погіршення функції нирок. Функціональні наслідки обструктивних уропатій – це ранній розвиток гіперфільтрації інтактних нефронів, за якою йде прогресивне зменшення рівня клубочкової фільтрації. Велике рубцювання може вести до гіпертензії, нирковій недостатності і навіть до термінальної стадії ХНН.

Хронічний пієлонефрит – це деструктивний запальний процес, що зачіпає ниркову паренхіму і чашково-мискову систему. Ушкодження ниркової паренхіми складається з атрофії каналців, інтерстиціального запалення і фіброзу. Не дивлячись на те, що етіологія і патогенез гострого пієлонефриту досить вивчені, перехід з гострої фази в хронічну при пієлонефриті залишається до кінця не дослідженим.

В результаті ішемії ниркової тканини, внаслідок обструкції і/або бактерійної інвазії відбувається активація макрофагів, виділення цитокінів і хемотаксичних чинників. В результаті фагоцитозу вивільняються лізосомальні ферменти, "кисневий вибух" продукує реактивні радикали, які токсичні не лише для бактерій, але і для клітин. Відбувається стимуляція фібробластів, що сприяє розвитку фіброзу і рубцювання. При збільшенні активності "кисневого вибуху" через гіперпродукцію реактивних радикалів і дисрегуляцію антиоксидантних ферментів відбувається запуск гіперекспресії фіброгенних цитокінів і хемоатрактантів, збільшується транскрипція і синтез

білків позаклітинного матриксу, що веде до наступної редукції каналців і фіброзу ниркової тканини. Таким чином, створюється "порочне коло".

Численні дослідження, присвячені пієло- та гломерулонефриту, акцентують увагу на порушенні ниркової функції. Систематичне дослідження клубочкової фільтрації і ниркового плазмотоку виявили значні порушення у дітей, які мали в анамнезі декілька епізодів пієлонефриту у віці до 3-х років. Проте, ці зміни з'являються зазвичай при процесі, що далеко зайшов. На ранній стадії захворювання певною діагностичною ознакою є дослідження протеїнурії, яка рано виявляється у вигляді мікроальбумінурії. Остання в межах 20-200 нг/хв. розглядається як ранній маркер нефропатії.

Високу цінність для діагностики порушень ниркової функції має визначення рівня β_2 -мікроглобуліну. Підвищення рівня в крові спостерігається внаслідок збільшення його синтезу або через зниження швидкості гломерулярної фільтрації. Наростання рівня β_2 -мікроглобуліну в сечі спостерігається тільки при тубулярних дисфункціях – порушенні реабсорбції і катаболізму в проксимальних каналцях нирок.

Dommergues M. et al. нещодавно виявили, що рівні β_2 - мікроглобуліну в сироватці плода корелюють з рівнем ниркової функції у новонароджених в постнатальному періоді. Цей низькомолекулярний білок є легким ланцюгом HLA - комплексу і його постійною субодиницею. Основний шлях виведення і метаболізму β_2 -мікроглобуліну здійснюється через нирки. Він повністю фільтрується через базальну мембрану гломерул і на 99,9% реабсорбується клітинами проксимальних каналців шляхом піноцитозу.

Статевих відмінностей в концентрації β_2 -мікроглобуліну не виявлено, але встановлена чітка залежність від віку дітей. Найбільш високий рівень β_2 -мікроглобуліну в сечі спостерігається у новонароджених, особливо в перші 7-10 днів життя. У грудних дітей він поступово знижується, на 2-му і 3-му роках життя досягає мінімальної відмітки (0,1 мг/л), хоча залишається в 2-3 рази вищим, ніж у дітей старшого віку і у дорослих. Ймовірно, це

пояснюється морфофункціональною незрілістю нирок, переважно тубулярного відділу, у новонароджених.

Доведено, що при пієлонефриті в сечі може відбуватися, не залежне від характеру протеїнурії, підвищення активності ряду ферментів (N – ацетилглюкомінідази, лактатдегідрогенази та ін.). Причому зміна рівня ферментурії при пієлонефриті є досить ранньою ознакою залучення нирок в патологічний процес, яка є специфічною ще до появи протеїнурії і інших ознак ураження, у тому числі і морфологічних, і може розглядатися як рання стадія нефропатії.

Визначення рівня ензимів у сироватці крові та сечі є одним з допоміжних лабораторних методів діагностики пієлонефриту (згідно Протоколу лікування пієлонефриту у дітей – наказ МОЗ України від 20.07.2005 № 365).

Виявлення ферментів в сечі можна також використовувати для розпізнавання типу ушкодження нефрону. Чутливим методом ранньої діагностики каналцевої дисфункції вважають виявлення екскреції ферментів з мембран, лізосом і цитоплазми епітеліальних клітин проксимальних каналців нирок. Ензими мають високу молекулярну масу (більше 140 кілодальтон), що не дозволяє їм профільтруватися через неушкоджений клубочковий фільтр. При незначному ушкодженні ниркової тканини в сечі зростає активність ферментів, пов'язаних з плазматичною мембраною, при вираженому ушкодженні підвищується активність цитоплазматичних і лізосомальних ферментів, значне підвищення активності мітохондріальних ферментів відповідає некрозу клітин при морфологічному дослідженні.

При гломерулонефриті, незалежно від ушкодження клубочків, можливе також ушкодження каналців, що проявляється в порушенні концентраційної функції нирок і в збільшенні ензимурії.

Визначення активності різних ферментів сечі перспективне для діагностики захворювань нирок, оскільки основним джерелом ферментурії є клітини нефротелія, вплив інших причин – незначний. Особливого значення

при піелонефриті набуває топічне визначення вогнища інфекції та з'ясування інтенсивності запального процесу в нирках. Встановлення локалізації та характеру запалення можливе шляхом дослідження активності низки органоспецифічних ферментів у біологічних рідинах. Цей метод сучасної лабораторної діагностики ураження нирок набуває важливого значення при виборі тактики ведення пацієнтів.

Ферментурія може спостерігатися навіть у здорових дітей. Потрапляння ферментів в сечу у них відбувається в процесі оновлення цитоплазматичних мембран.

Визначення рівня ферментів в сечі необхідне для діагностики рівня ураження при інфекції сечовивідної системи (піелонефрит або цистит), оскільки залежно від глибини і рівня ураження паренхіми нирок в сечі виявляються ферменти, які мають регіональну субклітинну локалізацію. Ферменти розподілені нерівномірно по відділам нефрону, тому при ураженні різних структур в сечу потрапляють різні ферменти або їх групи.

Активність лужної фосфатази (ЛФ) підвищується при ураженні проксимальних звивистих каналців нирок, у яких вона міцно фіксована на мембрані «щитинкової» облямівки нефротелію. Виявлено, що вміст ЛФ у сечі дітей першого півріччя життя складає $13,48 \pm 2,29$ МО/г креатиніну, в подальшому відбувається його зниження.

Підвищення активності γ -глутамілтранспептидази (ГГТП) в сечі виявлено на ранніх стадіях ураження нирок. Для пацієнтів, резистентних до терапії, характерна повільна нормалізація активності ГГТП в сечі. Нормативною концентрацією даного ензиму в сечі дітей першого року життя слід вважати $46,18 \pm 2,77$ МО/г креатиніну. Арилсульфатаза-А (АС-А) відноситься до лізосомальних гідролаз, її основним джерелом є дистальні каналці. Її вміст в сечі може бути індикатором глибини ураження ниркової тканини. Нормальним рівнем АС-А в сечі дітей перших 6 місяців життя слід вважати $0,46 \pm 0,05$ МО/г креатиніну. У дітей більш старшого віку її вміст знижується приблизно на 30%. β -глюкоронідаза (β -ГЛ) переважно

відображає функцію дистальних каналців. Активність β -ГЛ у сечі малюків знаходиться в межах $0,39 \pm 0,07$ МО/г креатиніну, в другому півріччі життя зменшується вдвічі. Холінестераза – єдиний фермент, який відображає ураження клубочкового апарату. Вміст даного ензиму в сечі – $6,82 \pm 0,75$ МО/г креатиніну і є сталим протягом першого року життя дитини.

Лактатдегідрогеназа (ЛДГ) знаходиться в цитоплазмі клітин. В кірковому шарі нирок переважають ізоферменти ЛДГ₁ і ЛДГ₂, в мозковому шарі і сосочках – ЛДГ₄ і ЛДГ₅. Загальна активність ЛДГ в сечі малюків складає $26,35 \pm 4,58$ МО/г креатиніну.

При пієлонефриті у дітей раннього віку спостерігається швидка нормалізація вмісту ЛДГ в сечі ще до закінчення запального процесу і зберігається підвищені рівні ГГТП і ЛФ в період стихання захворювання. Показники ЛФ повертаються до норми тільки в період ремісії.

Лактатдегідрогеназа (КФ 1.1.1.27; L-лактат: НАД-оксидоредуктаза; ЛДГ) – фермент, що каталізує окислення L-молочної кислоти (МК) до піровиноградної кислоти (ПВК) при участі НАД. Реакція зворотня, і рівновага реакції зрушена у бік утворення молочної кислоти з піровиноградної (ПВК > МК).

Лактатдегідрогеназа виявляється в цитоплазмі усіх клітин організму. Найбільша активність ЛДГ (Од/г) виявлена в печінці, серцевому та скелетних м'язах, нирках. Вміст ферменту в більшості тканин набагато вищий, ніж в плазмі крові. В зв'язку з цим, вихід ферменту навіть з невеликої за масою ділянки пошкодженої тканини може призводити до значного підвищення його активності в крові. Значна активність ЛДГ в еритроцитах (36 Од/г гемоглобіну) вимагає використання сироватки або плазми крові без слідів гемолізу.

У сироватці крові виявляють зазвичай усі п'ять ізоферментів ЛДГ. В утворенні ізоформ ЛДГ можуть брати участь імуноглобуліни IgA або IgG, іноді IgM, IgG або IgA/IgG. Зв'язування імуноглобулінів з молекулою ЛДГ призводить до зниження її активності.

Зважаючи на те, що перетворення пірувату на лактат, яке каталізується ізоферментом ЛДГ₁, значно пригнічується надлишком пірувату, слід було б чекати, що в тканині, багатій на цей ізофермент, наприклад, в серці не може накопичуватися молочна кислота і відбуватиметься повне окислення глюкози через цикл Кребса. З іншого боку, висока активність ізоферменту ЛДГ₅, малочутливого до надлишку пірувату в тканинах, що черпають енергію за рахунок гліколізу, забезпечує швидке перетворення пірувату на кінцевий продукт гліколізу – молочну кислоту. Усе це дало основу висловити припущення, що ізоферментний спектр тканини визначається характером вуглеводного обміну. Зокрема, в тканинах з переважно аеробним шляхом обміну (серце, головний мозок, нирки) активність ЛДГ пов'язана з ізоферментами ЛДГ₁ і ЛДГ₂. В тканинах з вираженою здатністю до анаеробного обміну (печінка, скелетна мускулатура) в ізоферментному спектрі переважає ЛДГ₅. У ряді тканин (міометрій, наднирники, селезінка, легені) активність ЛДГ рівномірно розподілена між усіма ізоферментами. У мітохондріях в основному виявляються ізоферменти ЛДГ₁ і ЛДГ₂, що є ще одним доказом участі цих ізоферментів в аеробному обміні речовин.

У тканинах ембріона людини виявляються усі п'ять ізоферментів ЛДГ, серед яких переважає ЛДГ₃. В процесі розвитку зростає відносний вміст ЛДГ₁ і ЛДГ₅, після народження картина розподілу ізоферментів стає такою ж, як у дорослої людини. Вважають, що після біосинтезу певного набору субодиниць, відбувається їх випадкова рекомбінація, в результаті якої і утворюється специфічний для цієї тканини спектр ізоферментів ЛДГ. Ймовірно, в клітині окрім генної регуляції біосинтезу субодиниць існують і альтернативні механізми, що регулюють певний порядок рекомбінації субодиниць.

З сечі людини були виділені пептиди, здатні інгібувати активність ЛДГ. Один з них в концентрації 10^{-3} моль/л значною мірою пригнічував активність тільки ЛДГ-М4, інший пептид інгібував активність ЛДГ-Н4. Ці пептиди були виявлені в м'язах і плазмі крові людини. Вважають, що вони здатні

утворювати лабільні зв'язки з відповідним ізоферментом, регулюючи, таким чином активність кожного ізофермента. ЛДГ інгібується сполуками, що блокують SH - групи ферменту (іони ртуті і п-хлормеркурібензоат), активність може бути частково відновлена цистеїном і глутатіоном. Оксалат, конкуруючи з лактатом за ділянки зв'язування в активному центрі ферменту, інгібує активність ферменту. Надлишок субстратів – пірувату і лактату – інгібує ферментативну активність, хоча ефект пірувату більш виражений.

Активність різних ізоферментів ЛДГ може регулюватися і іншими механізмами. Цілий ряд субстратів циклу трикарбонових кислот в певних межах концентрацій здатні виявляти різну дію на ізоферменти ЛДГ. Збільшення концентрації шавлево-оцтової кислоти на 30% призводить до швидкої втрати активності ЛДГ₄, в цих умовах активність ЛДГ₅ пригнічується незначно.

Найнадійніше характеризує активність ЛДГ в крові сироватка, а не плазма, оскільки деякі антикоагулянти, зокрема оксалат, втручаються в реакцію. У зразках плазми, порівняно з сироваткою крові, зниження результатів може складати до 40%. Це пояснюється видаленням тромбоцитарної ЛДГ при підготовці плазми. Заміна скляних пробірок на пластикові призводить до невеликого, але істотного зниження активності ЛДГ в плазмі крові. Стабільність ферменту залежить від температури. Оскільки стійкість ізоферментів ЛДГ при різній температурі неоднакова, при зберіганні зразків відбувається втрата частини активності. Особливо швидко знижується активність ізоферментів ЛДГ₄ і ЛДГ₅. Втрата активності ферменту відбувається в циклі заморожування-відтавання.

Гемоліз призводить до виходу ЛДГ з еритроцитів в позаклітинну рідину, призводячи до помилкового завищення результатів.

Ізоферментний спектр ЛДГ при захворюваннях нирок майже не змінюється. Підвищення активності ЛДГ в сечі в 3-6 разів порівняно з нормою може бути пов'язане з хронічним пієло- та гломерулонефритом,

системним вовчаком, діабетичним нефросклерозом і пухлинами сечового міхура і нирок.

Визначення ЛДГ і особливо її ізоензимного спектру використовують для оцінки активності процесу у хворих на гломерулонефрит. Підвищення активності ферменту в крові спостерігається у хворих з нефротичним синдромом. При гломерулонефриті підвищується вміст в сечі 1-ї і 2-ї фракції ЛДГ, а при пієлонефриті — 4-ї і 5-ї фракції. При тубулярному некрозі, інфаркті нирок підвищується активність ЛДГ₅. Загальна активність ЛДГ в сечі хворих на пієлонефрит в середньому досягає $37,5 \pm 3,5$ одиниці, але будь-якої залежності її від форми і ступеня тяжкості пієлонефриту не відмічено.

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. Тому високий вміст даного ензиму може призводити до швидкого вичерпання енергетичних резервів клітин.

ГГТП виявляють в основному в мембранах клітин, що володіють високою секреторною або поглинальною здатністю. Активність ферменту в епітелії проксимальних ниркових каналців є найвищою в організмі людини, перевищуючи таку в клітинах печінки в 25 разів, а в сироватці крові – в декілька тисяч разів. Завдяки γ -глутаміловому циклу через механізм транслокації в проксимальних ниркових каналцях відбувається реабсорбція амінокислот з первинної сечі.

Не дивлячись 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. Існують вікові особливості вмісту ферменту у дітей. Активність ГГТП в сироватці крові дітей перших місяців життя перевищує таку у дітей старшого віку.

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

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

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

Гострий ПН супроводжувався значним зростанням концентрації ГГТП в сироватці крові. Для загострення хронічного ПН властивим є високий вміст ГГТП в сироватці крові (більше, ніж в 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 в 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, 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.

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

Оскільки близько 2/3 ГГТП локалізовано в щітинковій каймі звивистих каналців нефрону, тому ураження саме цих відділів буде супроводжуватися появою ферментурії. Близько 1/3 ферменту має внутрішньоклітинну локалізацію в комплексі Гольджі та лізосомах, тому висока активність ГГТП в сечі може бути проявом вираженого ушкодження епітеліальних клітин ниркових каналців.

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 ушкодженням щітинкової кайми.

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.

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

Визначення активності ГГТП і ЛДГ в сечі дозволяє підвищити точність диференціальної діагностики циститу і пієлонефриту. При їх збільшенні в 1,5-3 рази порівняно з нормою діагностують цистит, у 5 і більше разів - пієлонефрит, що може служити диференціально-діагностичним критерієм відмінності циститу від пієлонефриту.

Перспективними для вивчення при запальних захворюваннях нирок є ферменти малатдегідрогеназа (МДГ) і альдолаза (АЛД). МДГ відноситься до ферментів циклу Кребса, який каталізує зворотну реакцію окислення яблучної кислоти в щавлевооцтову за участю коферменту НАД.

Встановлено, що МДГ знаходиться в усіх тканинах організму, у тому числі і нирковій, у вигляді двох клітинних форм: мітохондріальної (М-МДГ) та цитоплазматичної (Ц-МДГ).

Вважають, що катодні фракції МДГ за походженням є мітохондріальними, а анодні – цитоплазматичними. У здорових дітей обидві фракції виявляються в незначній кількості з переважанням катодних (М-МДГ), рідше визначається одна фракція (катодна).

Загальна активність МДГ в сечі складає $1,43 \pm 0,11$ Од/мл. При пієлонефриті в спектрі МДГ сечі в більшості випадків знаходиться від 2 до 4 фракцій (2 анодні і 2 катодні). Абсолютна величина катодних фракцій МДГ при обструктивному пієлонефриті в 25 разів перевищує показники здорових дітей і в 8 разів – у хворих на необструктивний пієлонефрит. Загальна активність МДГ в сечі порівняно із здоровими дітьми – в 20 разів вища.

При вивченні пієлонефриту представляє інтерес дослідження АЛД – ферменту, що каталізує розщеплення 1,6-дифосфорного ефіру фруктози на фосфотріозу.

Встановлено, що спектр ізоферментів АЛД в сечі здорових дітей характеризується двома фракціями: анодною - АЛД- 1 і катодною - АЛД- 3. У багатьох здорових дітей фракції АЛД повністю відсутні. У хворих на гострий пієлонефрит в активній фазі хвороби загальна активність АЛД підвищується в 2 рази порівняно із здоровими дітьми.

Спектр ізоферментів АЛД при гострому пієлонефриті характеризується збільшенням активності АЛД- 1 і АЛД- 2 (остання відсутня у здорових дітей). При хронічному пієлонефриті виявляється АЛД- 4, яка відсутня при гострому пієлонефриті.

При хронічній нирковій недостатності загальна активність ЛДГ і МДГ знижується. Менш активні також катодні фракції. У деяких дітей спектр ізоферментів не відрізняється від такого у здорової дитини, що можна пояснити рядом причин: загальним зменшенням числа діючих нефронів, в яких різко порушується каналцева функція; інактивацією ферментів на тлі поліурії, що є наслідком різкого розладу видільної функції нирок; пригніченням синтезу катодних фракцій внаслідок різких порушень обмінних процесів в патологічно змінених нирках.

Сукцинатдегідрогеназа (СДГ) – фермент класу оксидоредуктаз. СДГ широко розповсюджена в рослинних і тваринних клітинах, де локалізована у внутрішній мембрані мітохондрій. СДГ – один з найважливіших ферментів енергетичного обміну: в циклі трикарбонових кислот каталізує зворотне окислення янтарної кислоти (сукцинату) до фумарової кислоти. Окислення 1 моля янтарної кислоти призводить до синтезу 2 молей аденозинтрифосфату (АТФ). При цьому електрони від СДГ передаються в дихальний ланцюг на кофермент Q.

СДГ за хімічною структурою є флавопротеїдом, білкова частина ковалентно пов'язана з коферментом – флавінаденіндинуклеотидом (ФАД).

Підвищення активності сукцинатдегідрогенази в сироватці крові і сечі виявлене при пієлонефриті. Визначення СДГ може бути використане в клінічній практиці для підвищення точності, спрощення способу, а також скорочення тривалості діагностики стадії гострого пієлонефриту.

Діагностика стадій гострого пієлонефриту включає визначення активності лактатдегідрогенази, сукцинатдегідрогенази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази. При значеннях ЛДГ від 1,70 і вище, СДГ від 1,60 і вище, глюкозо-6- фосфатдегідрогенази від 22,20 і вище судять про розвиток

гострого гнійного пієлонефриту, а при зміні питомої активності ЛДГ від 1,62 і нижче, СДГ від 1,58 і нижче, глюкозо-6- фосфатдегідрогенази від 21,10 і нижче – про розвиток серозної стадії гострого пієлонефриту.

Також визначення СДГ використовується для діагностики мітохондріальних захворювань. Мітохондріальні порушення - це велика група патологічних станів, пов'язаних з дефектами мітохондріального або ядерного генома. Мітохондріальні хвороби складні для діагностики через неспецифічність окремих клінічних проявів, вимагають розробки і впровадження нових програм діагностики, заснованих на клінічних, біохімічних, молекулярно-генетичних і морфологічних критеріях.

Сучасна клінічна діагностика мітохондріальної патології вимагає проведення пошуку з використанням найскладнішої технології - хромато-масс-спектрометрії, електронно-оптичного, гістохімічного досліджень матеріалу біопсії тощо.

Доступними і інформативними для динамічної оцінки інтенсивності аеробних окислювальних процесів в організмі виявилися цитохімічні тести на активність сукцинатдегідрогенази лімфоцитів периферичної крові (кількісний цитохімічний метод модифікований Нарцисовим, 1969), а також інших мітохондріальних ферментів: лактатдегідрогенази, гліцерофосфатдегідрогенази.

Характерними гістологічними ознаками мітохондріальних розладів при світловій мікроскопії із застосуванням різних методів забарвлення є наявність "рваних" червоних волокон (RRF) у біоптатах м'язів, накопичення глікогену і ліпідів, вакуолізація і перерозподіл волокон 1-го і 2-го типів, дефіцит мітохондріальних ферментів циклу Кребса і дихального ланцюга (цитохром С - оксидаза, сукцинатдегідрогеназа, НАДН-оксиредуктаза та ін.), некрози поодиноких груп м'язових волокон.

Е.Л. Вишнівський показав роль мітохондріальних порушень в розвитку нейрогенної дисфункції сечового міхура, а також в прогнозуванні розвитку енурезу. Проведений цитохімічний аналіз параметрів активності ферментів

енергетичного метаболізму сукцинатдегідрогенази і лактатдегідрогенази лімфоцитів периферичної крові у дітей з гіперактивним сечовим міхуром. Найпоширенішим типом мітохондріальних порушень стала депресія аеробного метаболізму без напруги гліколізу. Визначено, що мітохондріальні дисфункції мають помітний вплив на формування, клінічні прояви а також динаміку розладів сечовипускання. При аналізі цитохімічних параметрів активності ферментів лімфоцитів периферичної крові найбільш чутливим показником у дітей з гіперактивним сечовим міхуром виявилася активність ферменту сукцинатдегідрогенази. Відзначено зворотну залежність між ступенем зниження активності сукцинатдегідрогенази і резервуарною функцією сечового міхура.

О.В. Комарова, Т.В. Сергєєва визначили зниження функціональної активності мітохондріальних ферментів в лімфоцитах у дітей з хронічним гломерулонефритом при дії пульс-терапії стероїдами.

Ультраструктура нефрону така, що найбільш багаті мітохондріями клітини знаходяться в проксимальних і дистальних звивистих каналцях кіркового шару нирок, а також у висхідній частині петлі Генле, що лежить в зовнішній частині мозкової речовини. У зв'язку з цим діагностичним орієнтиром ниркової мітохондріальної дисфункції, передусім, служить порушення діяльності саме цих структур нефрону, що важливо для ранньої діагностики патології. Ураження мітохондрій різних відділів нирок може бути як первинним (при мітохондріальних цитопатіях), так і вторинним – внаслідок різних ниркових захворювань та токсичної дії важких металів і деяких лікарських засобів.

Виділено чотири основні клініко-морфологічні варіанти нефропатій з мітохондріальною дисфункцією:

- тубулопатії з ураженням епітелію проксимальних і (чи) дистальних каналців;
- тубулоінтерстиціальний нефрит ;

- змішані нефропатії, що проявляються фокально-сегментарним гломерулосклерозом;
- дизметаболичні нефропатії (частіше з оксалатно-кальцієвою кристалурією).

У невеликого числа пацієнтів з первинними мітохондріальними порушеннями спостерігається ураження гломерул, що проявляється нефротичним синдромом, який на декілька років може випереджати розвиток типових проявів мітохондріальної міопатії. При біопсії нирок у цих хворих виявляються мезангіальна проліферація і фокально-сегментарний гломерулосклероз, який не піддається лікуванню преднізолоном. При електронній мікроскопії відмічено відкладення електронно-щільних депозитів (підепітеліальних, підендотеліальних, внутрішньомембранних), осмофільних внутрішньоцитоплазматичних мезангіальних включень і потовщення базальної мембрани зі зміною подоцитів, що характеризується злиттям педикул. Є припущення про те, що відкладення електронно-щільного матеріалу є вільними імунними комплексами.

Нині в якості лабораторного маркера загального біоенергетичного статусу організму широко застосовується цитохімічна оцінка активності сукцинатдегідрогенази і лактатдегідрогенази лімфоцитів периферичної крові. Через винятковий топологічний зв'язок активності сукцинатдегідрогенази тільки з мітохондріями цей фермент використовується як їх цитохімічний маркер. Цитозольний фермент лактатдегідрогеназа відбиває інтенсивність гліколізу. Отже, цитохімічний аналіз виявляє міру дисфункції клітинного енергообміну.

Нещодавно Е.А. Terentieva et al. виявили у дітей з діабетом підвищені рівні екскреції біотинідази в сечі, що було розцінено авторами як ознака, яка ілюструє розвиток діабетичної нефропатії. Фермент біотинідаза регулює обмін біотину і відіграє важливу роль в його метаболізмі.

Біотин, або вітамін Н, є необхідним ростовим чинником. Він присутній в дуже малій кількості в кожній клітині, приймає участь в реакціях карбоксилювання. Біотин в організмі функціонує як компонент ряду

специфічних ферментів, таких як піруваткарбоксилаза, ацетил-СоА-карбоксилаза, пропіоніл-СоА-карбоксилаза. Зменшена активність біотин-залежних ферментів може бути причиною порушення метаболізму поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) і простагландинів та сприяти збільшенню активності вільнорадикальних реакцій. Відомо, що пролиферуючі клітини акумулюють біотин в 5 разів швидше ніж клітини, що знаходяться у спокої.

Підвищена екскреція біотину у хворих на пієлонефрит може бути пов'язана з основним захворюванням. Відомо, що кліренс біотину у здорових дітей складає 50 мл/хв/1,73 м², що дорівнює приблизно 40% від кліренсу креатиніну. Невідомо, чи є це наслідком канальцевої реабсорбції біотину або ж причина полягає в неповній клубочковій фільтрації через зв'язування біотину біотинідазою.

Реабсорбція біотину в нирках людини Na⁺-залежний, електронейтральний процес. У дослідженні дітей з діабетичною нефропатією було виявлено значне підвищення вмісту біотинідази в сечі з підтвердженням її ниркового походження. Функція біотинідази в тканині нирок, можливо, полягає в реабсорбції безпосередньо біотину, а також біоцитину з його наступним гідролізом з метою вивільнення з нього біотину.

У більшості дітей, як з діабетичною, так і обструктивною нефропатіями, при дефіциті біотинідази в тканині нирок внаслідок підвищених її втрат з сечею, відбувається втрата біотину і біоцитину. Дефіцит біотину в різних тканинах і середовищах організму дитини негативно позначається на показниках вуглеводного і ліпідного обміну, що порушує функціональний стан нирок. Крім того, підвищення рівня біоцитину в сечі може посилювати тубулярну дисфункцію, оскільки він має токсичну дію на клітини канальцевого епітелію.

Таким чином, не виключено, що підвищена екскреція біотину з сечею у дітей з обструктивним пієлонефритом безпосередньо пов'язана з ушкодженням канальцевого апарату нирок. Подальші дослідження в цьому

напрямі можуть виявитися корисними в ранній діагностиці і лікуванні захворювань нирок у дітей.

Останніми роками зросла увага дослідників до проблеми ниркової патології у новонароджених, що пов'язано із зростанням числа нефропатій у дітей в неонатальному періоді, збільшенням частоти природжених і спадково обумовлених форм, що призводять до швидкої хронізації процесу. Більшість дослідників вважають що саме дія ушкоджуючих агентів на ранніх етапах онтогенезу складає найбільший ризик для здоров'я і розвитку людини. Нерідко антенатальні морфологічні і функціональні ушкодження тканин і органів відіграють найважливішу роль в патогенезі хронічних захворювань.

У зв'язку з цим потрібна настороженість педіатрів в плані можливості розвитку у новонароджених, особливо у тих, які перенесли реанімаційні заходи, нирковій патології, що вимагає обов'язкового проведення дітям нефрологічного обстеження з використанням сучасних скринінг-тестів. У якості останніх для виключення важкої нефрологічної патології (гідронефрозу, полікістозу нирок, мультикістозу та ін.) рекомендується усім новонародженим, що перенесли реанімаційні заходи, використовувати при обстеженні сучасні мікрометоди - дослідження ферментурії і рівня β_2 -мікроглобуліну в крові і сечі.

Таким чином, вивчення активності ферментів в сечі, біотину і рівня β_2 -мікроглобуліну у дітей з ураженням органів сечової системи дозволяє провести диференційну діагностику різних захворювань нирок. Виявлення ферментів в сечі можна також використовувати для розпізнавання типу ушкодження нефрону та для встановлення локалізації ураження. Підвищення активності в сечі ГГТП, лужної фосфатази і ЛДГ свідчить про ураження проксимальних відділів нефрону. Високі рівні арилсульфатази-А і β -глюкуронідази властиві для пошкодження дистальних каналців, при порушенні клубочкового апарату нирок зростає активність холіноестерази.

Проксимальний відділ нефрону характеризується найбільшою активністю енергетичних процесів, тому найпершим ушкоджується при

запальних захворюваннях нирок. Зростання активності ензимів (ЛДГ, ГГТП) в сечі дітей може бути раннім маркером ушкодження даного відділу нефрону, свідчити про глибину ушкодження нефротелію і вираженість мембранної патології. Визначення активності ферментів, що відповідають за аеробну (СДГ) та анаеробну ланку (ЛДГ) отримання енергії є важливим для діагностики наявних енергетичних порушень і виявлення мітохондріальної дисфункції.

РОЗДІЛ 2

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Клінічні методи

Робота виконана на кафедрі педіатрії з курсом медичної генетики (зав. кафедри – проф. В.Е.Маркевич) медичного інституту Сумського державного університету (ректор – А.В. Васильєв), клінічною базою якої є Сумська обласна дитяча клінічна лікарня.

Під наглядом знаходилося 110 дітей, що перебували на стаціонарному лікуванні в нефрологічному відділенні Сумської обласної дитячої клінічної лікарні протягом 2009-2010 років. Вони були поділені на 2 групи: I – пацієнти з гломерулонефритом (19 дітей з гострим гломерулонефритом та 10 з хронічним гломерулонефритом), II – діти з пієлонефритом (47 осіб з гострим пієлонефритом та 34 з хронічною формою захворювання). Контрольну групу склали 18 дітей без патології нирок.

Клінічні методи дослідження включали оцінку загального стану, соматичного та неврологічного статусу, щоденне спостереження за станом здоров'я. У дітей досліджували загальний аналіз крові і сечі, аналіз крові на глюкозу, біохімічний аналіз крові: загальний білірубін крові та його фракції, загальний білок і його фракції, рівень холестерину, сечовини, креатиніну, залишкового азоту, рівень кальцію, натрію, калію, хлору; оцінювали аналіз сечі за Нечипоренко, Зимницьким, пробу Реберга. Проводили бактеріологічний аналіз сечі, ультразвукове дослідження нирок, а також рентгенологічні дослідження (мікційну цистографію, урографію за необхідності).

Клінічне обстеження проводилося з урахуванням скарг, анамнезу захворювання, анамнезу життя, об'єктивного статусу дітей, даних лабораторних та інструментальних методів дослідження. Особлива увага приділялася скаргам та клінічним проявам, що стосувалися ураження сечовивідної системи у дітей.

2.2. Лабораторні методи

Матеріалом для дослідження була сеча, забір якої проводився 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 ЛДГ досліджували кінетичним методом за швидкістю зниження оптичної щільності НАДН₂ при довжині хвилі 340 нм та температурі 37°C на напівавтоматичному фотометрі з використанням наборів реактивів фірми “Ольвекс”.

Принцип методу полягає в наступній реакції:
Піруват+НАДН+H⁺←ЛДГ→лактат+НАД.

Швидкість окислення НАДН в НАД пропорційна активності ЛДГ.

Розрахунок активності ферменту (Од/л) проводили за формулою:
$$\text{Од/л} = 16030 \times \Delta E_{340\text{нм}} / \text{хв.}$$

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

Принцип методу ілюструє реакція: L-γ-глутаміл-3-карбокси-4-нітроанлід+гліцилгліцин – γ-ГТФ→ L-γ-глутамілгліцилгліцин + 5-аміно-2-нітробензоат.

Активність ферменту пропорційна кількості 5-аміно-2-нітробензоату, Вміст 5-аміно-2-нітробензоату, який утворився внаслідок реакції, визначається фотометрично.

Розрахунок активності ГГТП проводили за калібровочною кривою.

Рівень енергетичного обміну у дітей оцінювали за показниками активності сукцинатдегідрогенази (СДГ) в лімфоцитах.

Активність СДГ у лімфоцитах периферичної крові визначали кількісним цитохімічним методом, запропонованим Нахласом у модифікації Р.П. Нарцисова із застосуванням реактивів фірми «SIGMA-ALDRICH»

(Швейцарія). Метод заснований на властивості нітросинього тетразолію $C_{40}H_{30}N_{10}O_6 \times 2Cl$ при відновленні у процесі реакції, яку каталізують дегідрогенази, утворювати у місцях локалізації ферменту нерозчинні у воді гранули формазану.

Для визначення активності СДГ під час забору крові на загальний клінічний аналіз робили тонкий мазок крові.

Мазки фіксували ацетоном при кімнатній температурі протягом 30 с, ополіскували дистильованою водою та висушували. Далі витримували в інкубаційному середовищі 1 годину при $37^{\circ}C$, промивали водою та фарбували метиленовим синім 5-10 хвилин. Після чого мазки промивали та додатково фіксували парами формаліну 30 хвилин.

Підрахунок гранул формазану здійснювався у 50 лімфоцитах під світловим мікроскопом «Біолам», окуляр 10×40 із масляною імерсією без покривного скла. Активність ферменту виражали у середній кількості гранул формазану на клітину. Підраховували загальну кількість гранул у клітині, загальну кількість лімфоцитів із гранулами формазану, а також визначали показник співвідношення загальної кількості гранул до загальної кількості клітин із гранулами формазану. Активність СДГ визначали шляхом кількісного вивчення активності цього ферменту в лімфоцитах периферичної крові, а розподіл клітин щодо активності проводили за методикою Р.П. Нарцисова. Ферментну активність (індекс активності) популяції лімфоцитів визначали у вигляді долі клітин із високою активністю до низької та помірної:

$$I = a + 2b + 3c,$$

де a — клітини з низькою активністю;

b — клітини з помірною активністю;

c — клітини з високою активністю.

Лімфоцити з низькою активністю містили до 9 гранул, із помірною активністю — 10–19 гранул, із високою активністю — 20 та більше.

2.3. Статистичний метод

Статистична обробка результатів досліджень здійснювалася за допомогою програм Excel та Statistica 6.0. Використовувалися методи варіаційної статистики, придатні для медико - біологічних досліджень. Визначали середньоарифметичне (M), похибку середньоарифметичного (m). За допомогою критерію Ст'юдента (t) визначали показник достовірності (P).

Цифрові значення наведені в таблицях та графіках.

РОЗДІЛ 3

КЛІНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСТЕЖЕНИХ ДІТЕЙ

3.1 Характеристика дітей групи порівняння

Групу порівняння склали 18 дітей, які не мали патології нирок (10 дівчаток (56%) і 8 хлопчиків (44%)).

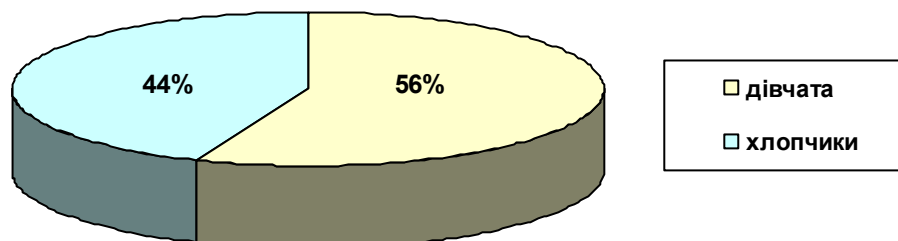


Рис 3.1.1. Розподіл дітей групи порівняння за статтю

Вік дітей склав від 6 до 17 років. До 10 років оглянуто 2 дітей (11%), віком від 11 до 17 років – 16 дітей (89%).

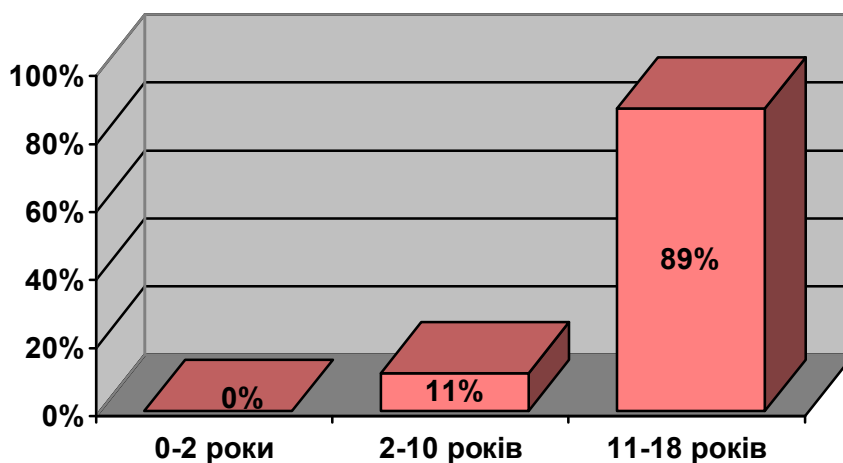


Рис 3.1.2. Розподіл дітей групи порівняння за віком

Обтяжена спадковість була виявлена у 5 дітей (27,8%). Виразкову хворобу шлунка (ВХШ) у спадковому анамнезі було виявлено у 2 дітей (11,1%), ожиріння – у 1 дитини (5,5%), полікістоз – у 1 дитини (5,5%), цукровий діабет (ЦД)- у 1 дитини (5,5%).

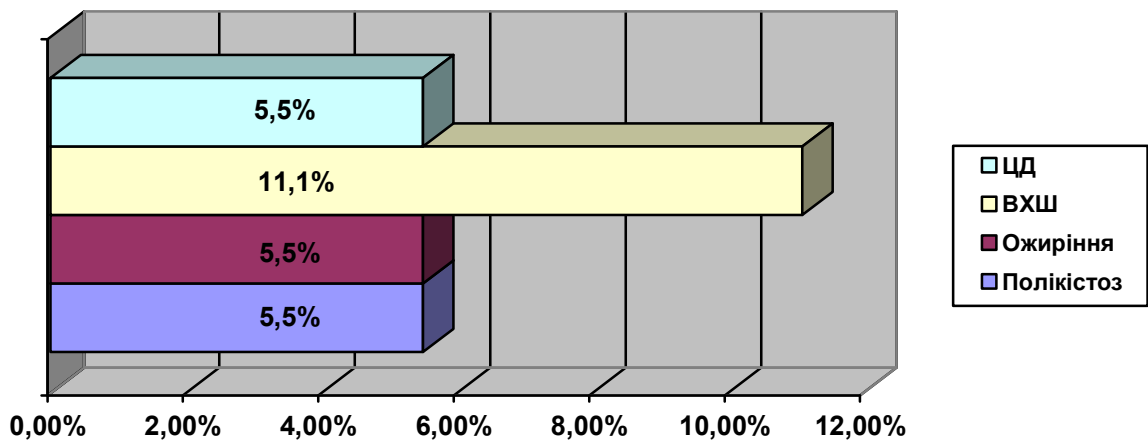


Рис 3.1.3. Частота обтяженої спадковості у дітей групи порівняння

Супутня патологія спостерігалася у 11 дітей (61,1%): остеохондроз у 6 дітей (33,3%), хронічний гастродуоденіт – у 5 дітей (27,7%), хронічний тонзиліт – у 3 дітей (16,6%), дифузний зоб – у 3 дітей (16,6%).

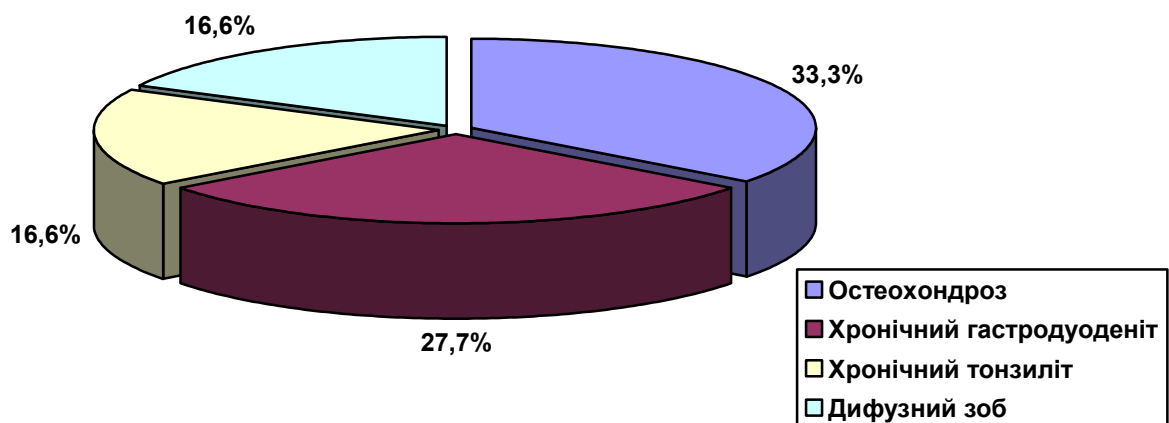


Рис 3.1.4. Частота супутньої патології у дітей групи порівняння

У відділенні всі діти оглядалися нефрологом. Шкірні покриви і видимі слизові були чистими і мали блідо-рожевий колір. Патологічних відхилень з боку сечовивідної системи не виявлено. Перкуторно над легенями відзначали ясний легеневий звук, аускультативно – везикулярне дихання. Межі серцевої тупості – вікові, тоні серця ритмічні, гучні. Печінка та селезінка не збільшені. Патології шлунково-кишкового тракту не спостерігалася.

Одночасно з клінічним обстеженням у всіх дітей визначали загальний рівень білка, білірубину, АЛТ, АСТ, рівень холестерину, креатиніну, сечовини, рівень кальцію, натрію, калію, хлору; показники гемоглобіну, еритроцитів та лейкоцитів, рівень цукру в крові. Досліджували рівень білка,

еритроцитів та лейкоцитів, питому вагу сечі. Проводили бактеріальний посів сечі.

Таблиця 3.1.1

Середні рівні ($M \pm m$) гемоглобіну, еритроцитів, лейкоцитів та ШОЕ у периферичній крові дітей без патології нирок

Показник, n=18	Гемоглобін, г/л	Еритроцити, $*10^{12}/л$	Лейкоцити, $*10^9/л$	ШОЕ, мм/год
	131,94 \pm 2,95	3,46 \pm 0,17	5,69 \pm 0,35	6,22 \pm 0,89

Встановлено, що зазначені гематологічні показники не мали у дітей групи порівняння відхилень від фізіологічної норми.

Таблиця 3.1.2

Середні рівні ($M \pm m$) показників лейкоцитарної формули у периферичній крові дітей без патології нирок

Показник, n=18	Еозинофіли, %	Паличкоядерні, %	Сегментоядерні, %	Моноцити, %	Лімфоцити, %
	2,68 \pm 0,45	3,2 \pm 0,37	49,44 \pm 2,15	4 \pm 0,59	40,38 \pm 1,75

Змін відносної кількості окремих субпопуляцій лейкоцитів при аналізі лейкоцитарної формули не спостерігалось.

Таблиця 3.1.3

Середні рівні ($M \pm m$) білка, АЛТ, АСТ, креатиніну, сечовини, холестерину у венозній крові дітей без патології нирок

Показник, n=18	Загальний білок, г/л	АЛТ, ммоль/л	АСТ, ммоль/л	Креатинін, мкмоль/л	Сечовина, ммоль/л	Холестерин, ммоль/л
	78,93 \pm 1,81	0,35 \pm 0,03	0,31 \pm 0,026	78,63 \pm 5,68	5,15 \pm 0,26	4,09 \pm 0,33

Визначені біохімічні показники знаходилися в межах нормативних значень.

Таблиця 3.1.4

Середні рівні ($M \pm m$) макроелементів (Ca, Cl, K, Na) у венозній крові дітей без патології нирок

Показник, n=16	Ca, ммоль/л	Cl, ммоль/л	K, ммоль/л	Na, ммоль/л
	2,4 \pm 0,01	104,5 \pm 0,99	4,06 \pm 0,04	140,34 \pm 0,23

Макроелементний вміст сироватки венозної крові був властивим для здорових дітей, будь-яких патологічних змін не виявлено.

Таблиця 3.1.5

Середні рівні ($M \pm m$) білка в сечі, лейкоцитів та еритроцитів в сечі за Нечипоренко у дітей без патології нирок

Показник, n=18	Білок, г/л	Еритроцити, $\cdot 10^3$ /л	Лейкоцити, $\cdot 10^3$ /л
	0	0,42 \pm 0,08	1,47 \pm 0,21

Патологічні зміни в сечі (протеїнурія, еритроцитурія, лейкоцитурія) не були властивими для дітей групи порівняння.

Таблиця 3.1.6

Середні рівні ($M \pm m$) відносної густини сечі у дітей без патології нирок

Показник, n=18	ρ середня	ρ min	ρ max
	1015,76 \pm 0,74	1012,1 \pm 1,94	1021,4 \pm 1,904

За показником відносної густини сечі не зафіксовано патологічних змін концентраційної функції нирок у дітей групи порівняння.

За даними нашого дослідження показники клінічного, біохімічного аналізів крові, рівень білка, лейкоцитів та еритроцитів в сечі, концентраційна функція нирок у дітей групи порівняння були в межах вікової норми.

3.2 Характеристика дітей з гострим та хронічним гломерулонефритом

Обстежено 19 дітей з гострим гломерулонефритом (6 дівчаток (32%) і 13 хлопчиків (68%)), 10 пацієнтів з хронічним гломерулонефритом (7 дівчаток (70%), 3 хлопчика (30%).

Гострий гломерулонефрит

Хронічний гломерулонефрит

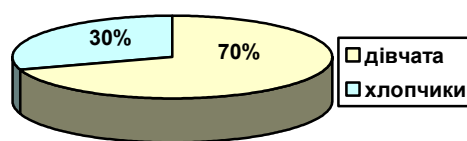
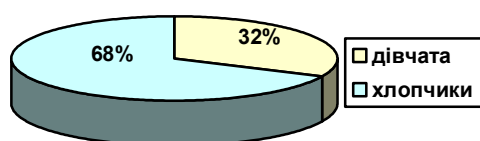


Рис 3.2.1. Розподіл дітей з гломерулонефритом за статтю

Гострий гломерулонефрит з нефритичним синдромом спостерігався у 11 дітей (57,9%), з нефротичним синдромом – у 7 дітей (36,8%). При хронічному гломерулонефриті найчастіше спостерігалися пацієнти з гематуричною формою – 7 дітей (70%), з нефротичною формою – 2 дітей (20%), змішана форма спостерігалася у 1 дитини (10%).

Вік дітей при гострому гломерулонефриті складав від 2 до 18 років (від 2-10 років – 10 дітей (53%); 11-18 років – 9 дітей (47%)), при хронічному гломерулонефриті вік дітей був від 2 до 17 років (2-10 років – 4 дітей (40%), 11-18 років – 6 дітей (60%)).

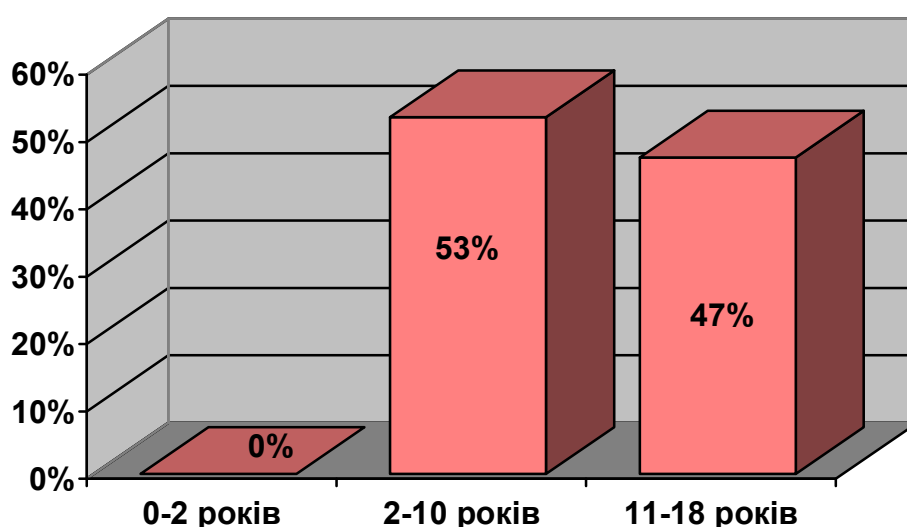


Рис 3.2.2. Розподіл дітей з гострим гломерулонефритом за віком

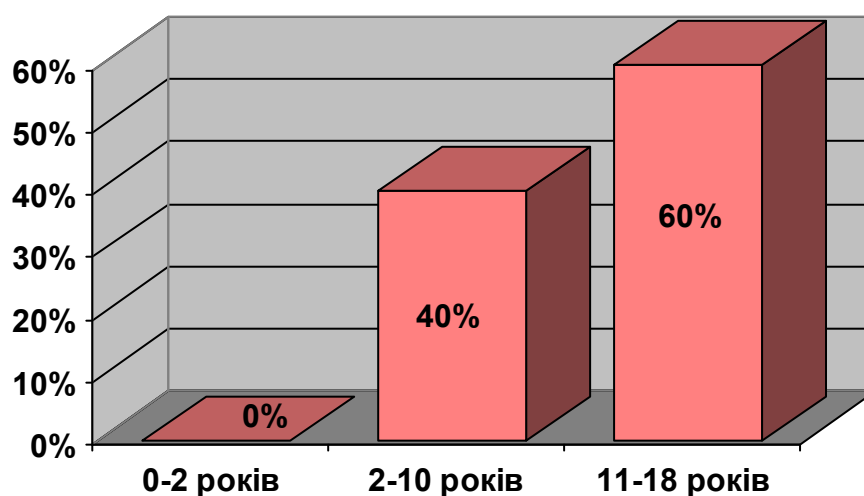


Рис 3.2.3. Розподіл дітей з хронічним гломерулонефритом за віком

Обтяжену спадковість було виявлено у 8 дітей з гломерулонефритом (27,5%). Сечокам'яну хворобу (СКХ) в спадковому анамнезі виявлено у 3 дітей (10,3%), виразкову хворобу шлунка (ВХШ) у 3 дітей (10,3%), гіпертонічну хворобу (ГХ) у 1 дитини (3,4%), хронічний бронхіт у 1 дитини (3,4%).

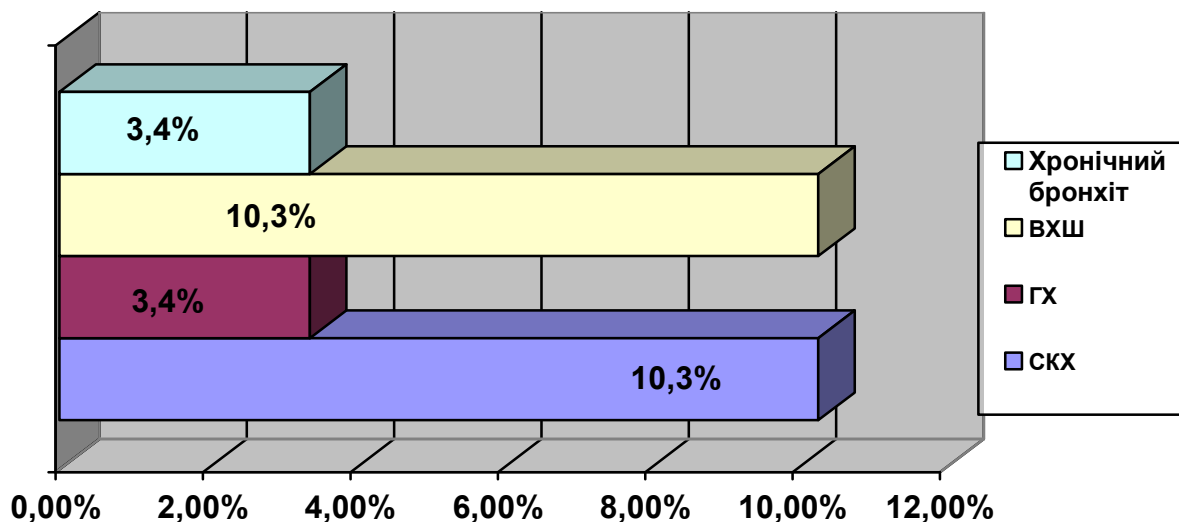


Рис 3.2.4. Частота обтяженої спадковості у дітей з гострим та хронічним гломерулонефритом

Супутня патологія при гострому і хронічному гломерулонефриті спостерігалася у 11 дітей (38%): дизметаболічна нефропатія у 1 дитини (3,4%), хронічний тонзиліт у 5 дітей (17,2%), хронічний гастродуоденіт у 5 дітей (17,2%).

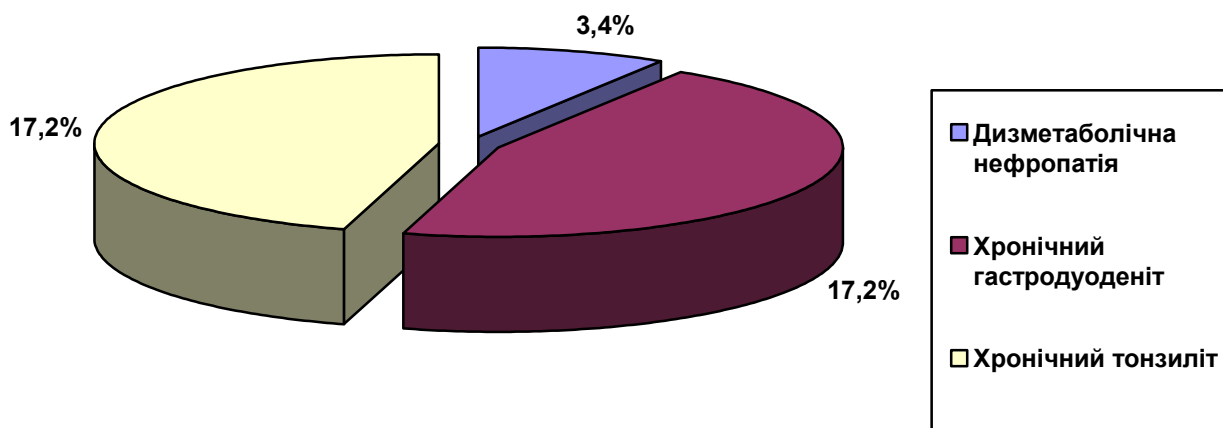


Рис 3.2.5. Частота супутньої патології у дітей з гострим та хронічним гломерулонефритом

Паралельно з клінічним обстеженням у всіх дітей проводили лабораторне обстеження – визначали загальний рівень білка, АЛТ, АСТ, рівень холестерину, креатиніну, сечовини, основних макроелементів (кальцію, натрію, калію, хлору); показники гемоглобіну, еритроцитів та лейкоцитів, рівень цукру в крові. Проводили також бактеріологічне дослідження сечі.

Таблиця 3.2.1

Середні рівні ($M \pm m$) гемоглобіну, еритроцитів, лейкоцитів та ШОЕ у периферичній крові дітей з гострим та хронічним гломерулонефритом

Показник	Гемоглобін, г/л	Еритроцити *10 ¹² /л	Лейкоцити *10 ⁹ /л	ШОЕ, мм/год
Гострий гломерулонефрит, n=19	136,21±3,39	4,035±0,13, p ₁	6,84±0,77	10,05±2,39
Хронічний гломерулонефрит, n=10	129,3±7,08	3,93±0,28	6,09±0,56	12,8±5,401
Група порівняння, n=18	131,94±2,95	3,46±0,17	5,69±0,35	6,22±0,89

Таблиця 3.2.2

Середні рівні ($M \pm m$) показників лейкоцитарної формули у периферичній крові дітей з гострим та хронічним гломерулонефритом

Показник	Еозинофіли, %	Паличкоядерні, %	Сегментоядерні, %	Моноцити, %	Лімфоцити, %
Гострий ГН, n=19	4,13±0,63	3,17±0,51	47,57±2,79	7,33±2,35	41,42±2,78
Хронічний ГН, n=10	2,62±0,62	3,37±0,84	50,3±4,36	5,2±1,14	39,4±4,509
Група порівняння, n=18	2,68±0,45	3,2±0,37	49,44±2,15	4±0,59	40,38±1,75

Таким чином, встановлено, що основні показники клінічного аналізу крові при гострому та хронічному гломерулонефриті відповідали таким у пацієнтів групи порівняння.

Таблиця 3.2.3

Середні рівні ($M \pm m$) білка, АЛТ, АСТ, креатиніну, сечовини, холестерину у венозній крові дітей з гломерулонефритом

Показник	Загальний білок, г/л	АЛТ, ммоль/л	АСТ, ммоль/л	Креатинін, мкмоль/л	Сечовина, ммоль/л	Холестерин, ммоль/л
Гострий ГН, n=19	71,1±3,07, р	0,32±0,014	0,34±0,023	96,59±6,5, р	7,35±0,89, р	5,14±0,402
Хронічний ГН, n=10	72,06±4,02	0,349±0,034	0,301±0,017	84,25±6,66	6,195±1,31	4,4±0,64
Група порівняння, n=18	78,93±1,81	0,35±0,03	0,31±0,026	78,63±5,68	5,15±0,26	4,09±0,33

Примітка. р– достовірність різниці показників у дітей з гострим ГН відносно групи порівняння ($p < 0,05$).

Таблиця 3.2.4.

Середні рівні ($M \pm m$) макроелементів (Са, Сl, К, Na) у венозній крові дітей з гострим та хронічним гломерулонефритом

Показник	Са, ммоль/л	Сl, ммоль/л	К, ммоль/л	Na, ммоль/л
Гострий ГН, n=18	2,24±0,03, р	104,93±0,97	4,27±0,19	138,77±0,19
Хронічний ГН, n=9	2,27±0,03, р ₁	105,76±1,18	4,08±0,12	141,73±0,82
Група порівняння, n=16	2,4±0,01	104,5±0,99	4,06±0,04	140,34±0,23

Примітки: р– достовірність різниці показників у дітей з гострим ГН відносно групи порівняння ($p < 0,05$);

р₁–достовірність різниці показників у дітей з хронічним ГН відносно групи порівняння ($p < 0,05$).

При аналізі біохімічних показників з'ясовано, що гострий гломерулонефрит супроводжується достовірним зниженням загального білка в сироватці крові, хоча це зниження не сягає рівня гіпопротеїнемії. Крім того, відзначено статистичне зростання азотистих сполук в крові (сечовини та креатинину) при гострому гломерулонефриті та тенденція до зростання рівня холестерину. При хронічному гломерулонефриті основні біохімічні параметри наближалися до таких у дітей без патології нирок.

Оцінка макроелементного забезпечення виявила достовірне зниження рівня кальцію, як у пацієнтів з гострим, так і у дітей з хронічним гломерулонефритом. При цьому середні рівні кальцію знижувалися до нижньої межі норми. Зниження сироваткового рівня кальцію у дітей з гломерулонефритом вірогідно пов'язане з порушенням метаболізму вітаміну Д в нирках і зниженням утворення його біологічно активних форм.

Таблиця 3.2.5

Середні рівні ($M \pm m$) білка в сечі, лейкоцитів та еритроцитів в сечі за Нечипоренко у дітей з гломерулонефритом

Показник	Білок, г/л	Еритроцити, $\cdot 10^3$ /л	Лейкоцити, $\cdot 10^3$ /л
Гострий ГН, n=19	$3,48 \pm 1,82$, p, p ₂	$11,05 \pm 5,44$ p	$5,84 \pm 2,28$
Хронічний ГН, n=10	$0,075 \pm 0,053$, p ₁	$13,61 \pm 4,79$, p ₁	$2,91 \pm 0,708$
Група порівняння, n=18	0	$0,42 \pm 0,08$	$1,47 \pm 0,21$

Примітки: p— достовірність різниці показників у дітей з гострим ГН відносно групи порівняння ($p < 0,05$);

p₁—достовірність різниці показників у дітей з хронічним ГН відносно групи порівняння ($p < 0,05$);

p₂—достовірність різниці показників у дітей з гострим ГН відносно пацієнтів з хронічним гломерулонефритом ($p < 0,05$).

Рівень білка в сечі при гострому ГН був в 3 рази вищий, ніж у дітей з хронічним ГН та в групі порівняння. Гострий та хронічний гломерулонефрит супроводжується достовірним підвищенням рівня еритроцитів в сечі ($p < 0,05$). Показник рівня еритроцитів у сечі при хронічному гломерулонефриті майже в 13 разів, при гострому ГН майже в 11 разів вищий, ніж у дітей групи порівняння. При цьому коливання вмісту еритроцитів в сечі у хворих на хронічний гломерулонефрит складали від 0,25 до 38,7, на гострий ГН від 0 до 70,5. Показник рівня лейкоцитів у сечі при хронічному гломерулонефриті майже в 2 рази, при гострому ГН майже в 4 рази вищий, ніж у дітей групи порівняння.

Отже, для гострого та хронічного перебігу гломерулонефриту властивим є достовірна протеїнурія та гематурія, що пов'язано з підвищеною проникністю гломерулярного фільтра.

Таблиця 3.2.6

Середні рівні ($M \pm m$) відносної щільності сечі у дітей з гострим та хронічним гломерулонефритом

Показник	ρ загальний	ρ min	ρ max
Гострий ГН, n=19	1015,33 \pm 1,28	1007 \pm 1,16, p	1021,81 \pm 1,31
Хронічний ГН, n=10	1014,67 \pm 1,97	1008 \pm 0,97	1018,57 \pm 1,13
Група порівняння, n=18	1015,76 \pm 0,74	1012,1 \pm 1,94	1021,4 \pm 1,904

Примітка. p – достовірність дітей з гострим ГН відносно дітей групи порівняння ($p < 0,05$).

У дітей з гострим ГН відзначається достовірне зниження мінімальної відносної щільності сечі, що свідчить про схильність до гіпостенурії.

При бактеріологічному дослідженні сечі у 11 дітей з гострим ГН (57,8%) було виявлено мікроорганізми: *St.epidermidis* у 5 дітей (26,4%), *E.cloacea* у 2 дітей (10,6%), *Mor.atlante* у 1 дитини (5,2%), *E.coli* – у 1 дитини (5,2%), *Prot.mirabilis* – у 1 дитини (5,2%), *Str.mitis* у 1 дитини (5,2%). У

пацієнтів з хронічним перебігом захворювання був знайдений *St.epidermidis* лише у 1 випадку (10%).

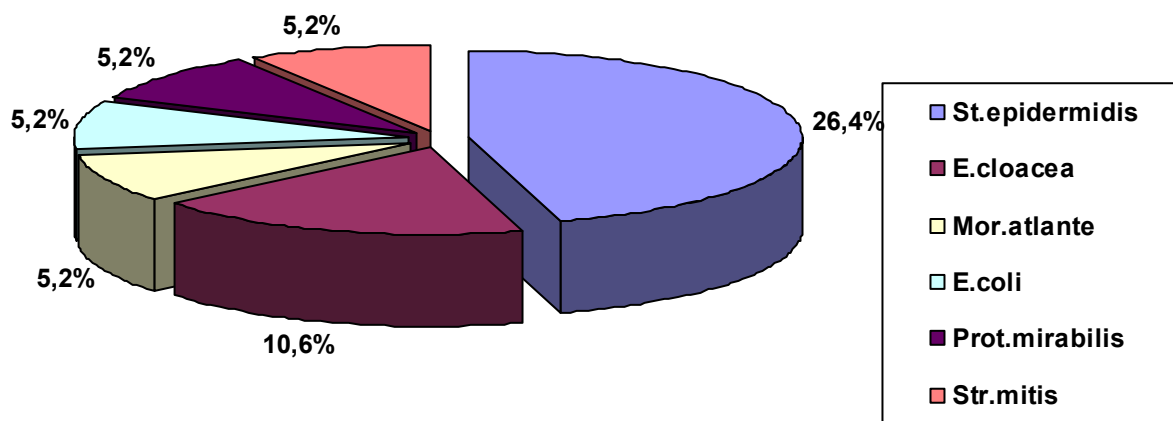


Рис.3.2.6. Частота виявлення мікроорганізмів при бактеріальному посіві сечі у дітей з гострим гломерулонефритом

Досліджено чутливість виявлених мікроорганізмів до антибіотиків у пацієнтів з гострим ГН. *St.epidermidis* був чутливим у 15,8% до тієнаму, у 10,6% до фурамагу, гентаміцину, нетроміцину, меронему, у 5,2% до цефтріаксону, цефазоліну, ципрофлоксацину, цефепіму. Стійкість даного збудника до амікацину, цефазоліну, цефотаксиму, гентаміцину виявлено у 10,6%, до цефтріаксону, ципрофлоксацину, ванкоміцину, оксациліну – у 5,2%.

E. cloacea була чутливою до цефотаксиму у 10,6%, до гентаміцину, цефтріаксону, тієнаму, нетроміцину, імipенему у 5,2%. Стійкість мікроорганізму до амікацину, левоміцетину, цефазоліну, цефтріаксону, меронему спостерігали у 5,2%.

E. coli чутлива до левоміцетину, гентаміцину, імipенему у 5,2%, стійка до амікацину, цефазоліну, канаміцину у 5,2% випадків.

Виявлений у пацієнтів з хронічним ГН *St.epidermidis* був чутливим до гентаміцину, тієнаму у 10%. Стійкість до оксациліну, цефтріаксону, цефотаксиму, меронему мала місце у 10%.

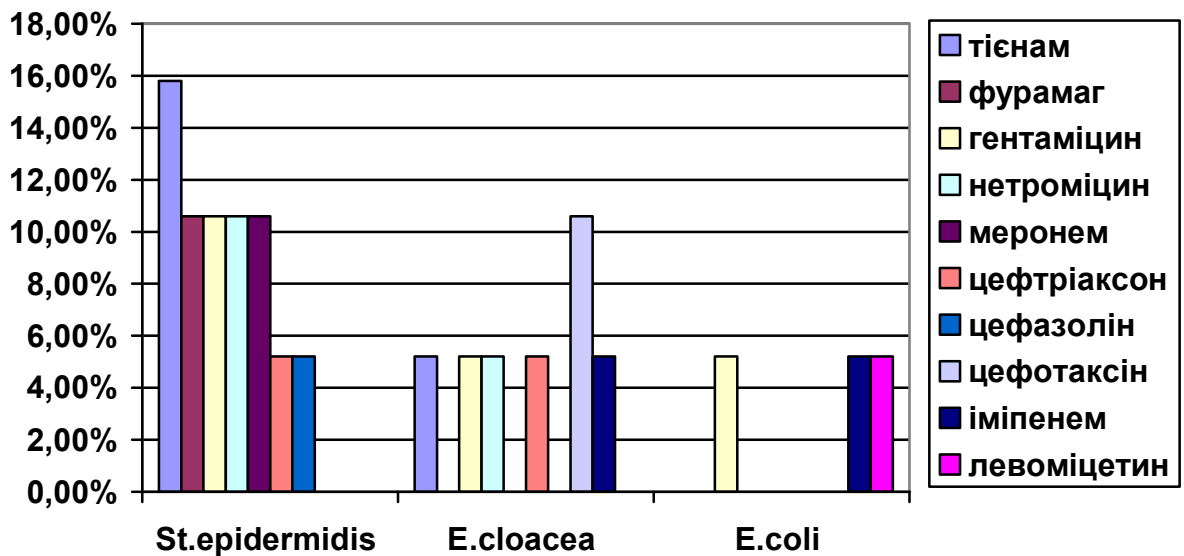


Рис.3.2.7. Чутливість мікроорганізмів до антибіотиків при бактеріальному посіві сечі у дітей з гострим ГН

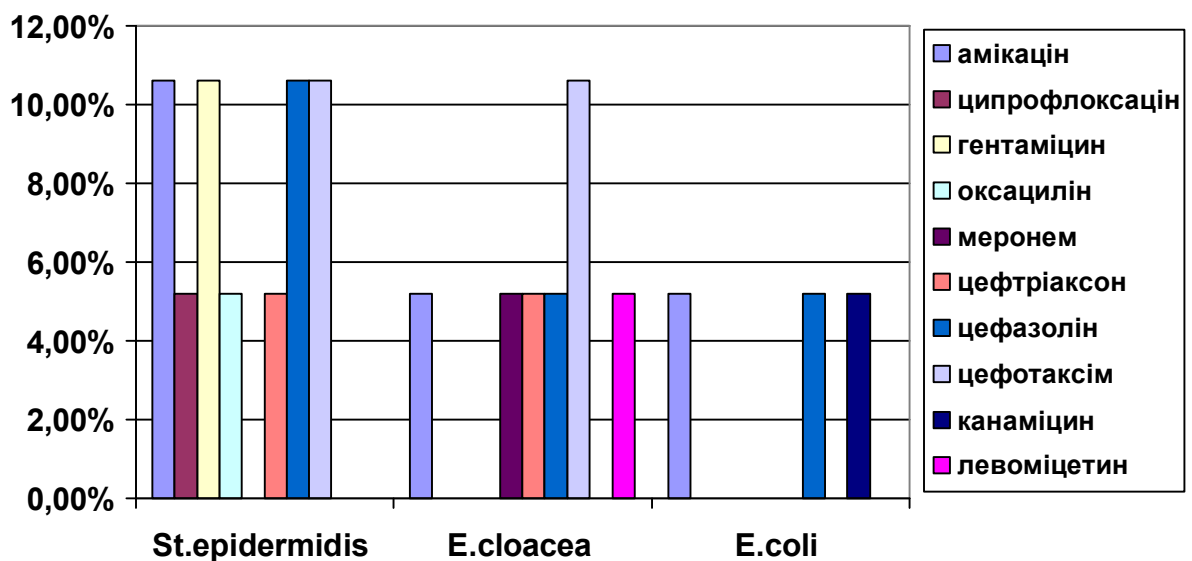


Рис.3.2.8. Стійкість мікроорганізмів до антибіотиків при бактеріальному посіві сечі у дітей з гострим ГН

Таким чином, на гострий гломерулонефрит частіше хворіють хлопчики, а на хронічний – дівчата. Це може бути пов’язано з переважанням імунотоксичних механізмів у хлопчиків, аутоімунних механізмів – у дівчаток. Серед пацієнтів з гострим гломерулонефритом переважають діти до 10 років, хронічний гломерулонефрит частіше зустрічається у дітей віком 11-18 років. Кожна 10 дитина з гломерулонефритом має обтяжену спадковість

по захворюванням нирок. Супутня патологія, що могла сприяти розвитку чи обтяжувати перебіг гломерулонефриту, властива близько 20% дітей. Статистичне зниження рівня білка та зростання азотовмісних сполук (сечовини, креатиніну) свідчить про значні метаболічні зрушення у дітей з гострим ГН. Ушкодження нирок при ГН викликає порушення фосфорно-кальцієвого обміну, що проявляється достовірно нижчими рівнями кальцію у хворих дітей. Проявом ураження гломерулярного фільтру є наявність протеїнурії та гематурії у пацієнтів з гострим та хронічним ГН. Не дивлячись на те, що при гломерулонефриті переважають імунні механізми ураження нирок, бактеріологічне дослідження сечі було позитивним у 57,8% дітей з гострим ГН і у 10% з хронічним ГН.

3.3 Характеристика дітей з гострим та хронічним пієлонефритом

Обстежено 47 дітей з гострим пієлонефритом (8 хлопчиків (17%), 39 дівчаток (83%)), 34 пацієнти з хронічним пієлонефритом (7 хлопчиків (21%), 27 дівчаток (79%).

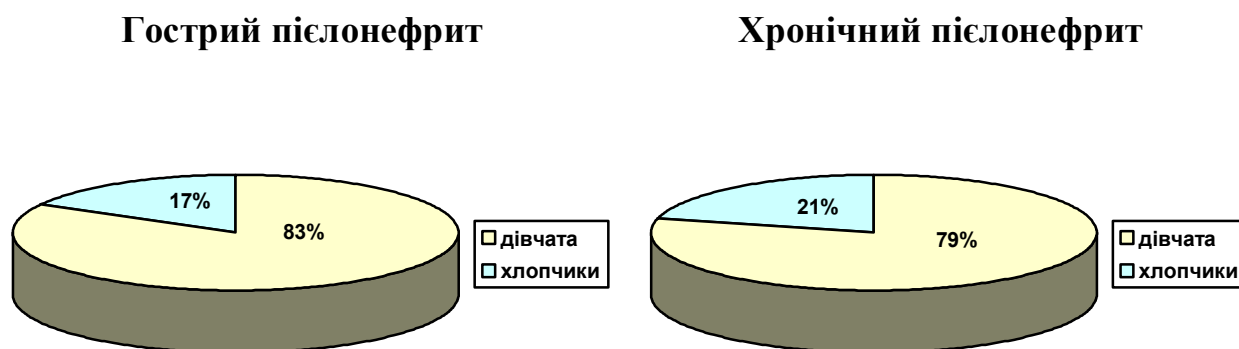


Рис 3.3.1. Розподіл дітей з гострим та хронічним пієлонефритом за статтю

Вік дітей при гострому пієлонефриті складав від 5 місяців до 17 років. Серед них пацієнтів віком від 0 до 2 років було 34% (16 дітей), від 2 до 10 років – 43% (20 дітей), 11-18 років – 23% (11 дітей). При хронічному пієлонефриті вік хворих складав від 1 до 17 років. Віковий розподіл при

цьому був наступним: пацієнтів віком 0 - 2 роки було 9% (3 дитини), 2-10 років – 29% (10 дітей), 11-18 років – 62% (21 дитина).

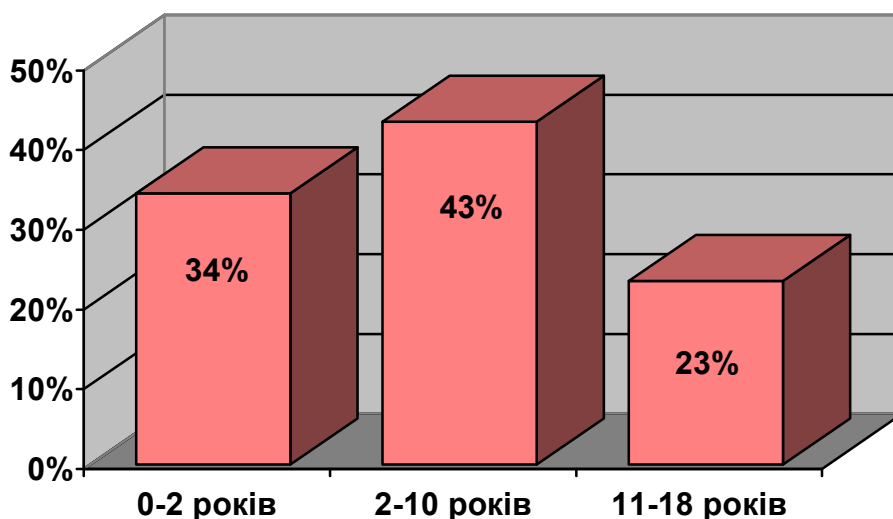


Рис 3.3.2. Розподіл дітей з гострим пієлонефритом за віком

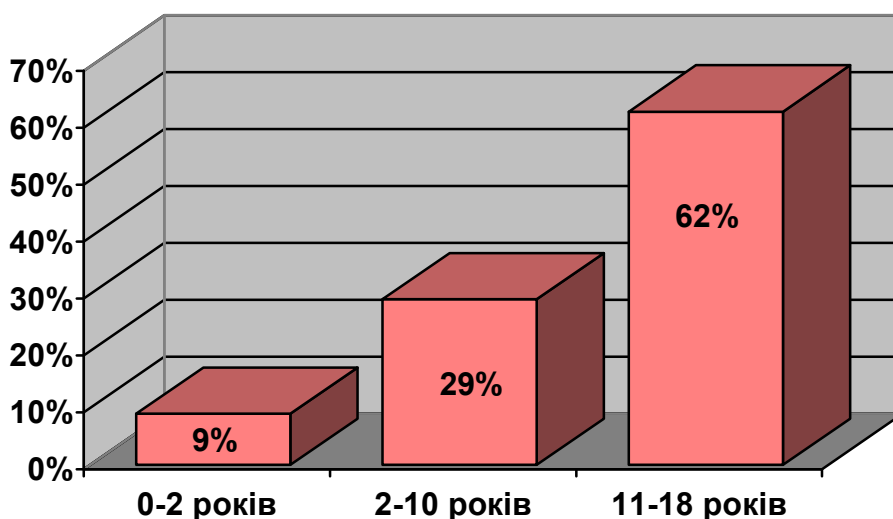


Рис 3.3.3. Розподіл дітей з хронічним пієлонефритом за віком

Обтяжену спадковість у дітей з гострим і хронічним пієлонефритом виявлено у 32 дітей (39,5%). Патологію нирок (сечокам'яна хвороба, пієлонефрит) мали в анамнезі батьки у 18 дітей (22,2%), цукровий діабет – у 5 дітей (6,2%), виразкову хворобу шлунка – у 4 дітей (4,9%), гіпертонічну хворобу – у 3 дітей (3,7%), жовчнокам'яну хворобу – у 3 дітей (3,7%), гіпербілірубінемію – у 2 дітей (2,5%), батьки 1 дитини були учасниками ліквідації аварії на ЧАЕС (1,2%).

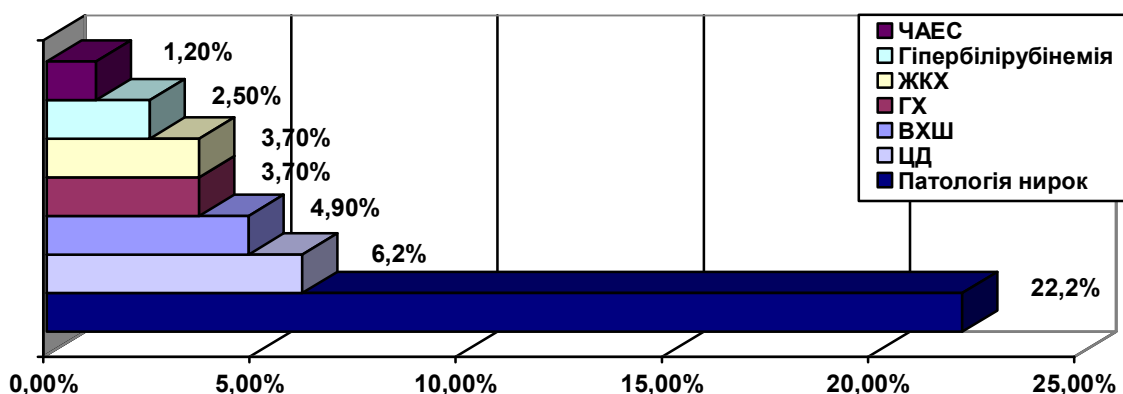


Рис 3.3.4. Частота обтяженої спадковості у дітей з пієлонефритом

Супутню патологію при гострому і хронічному пієлонефриті зафіксовано у 44 дітей (54,3%). Захворювання сечовивідної системи відзначалися у 36 пацієнтів (44,4%). Досить часто (19,8%, 16 осіб) пієлонефрит виникав на тлі порушення уродинаміки внаслідок сечоводо - міхурового рефлюксу – 8 дітей (9,8%), нейрогенної дисфункції сечового міхура – 3 дитини (3,7%), гіпорексії сечового міхура – 2 дитини (2,5%), гіперрефлексії сечового міхура – 2 дитини (2,5%), дистонії сечового міхура – 1 дитина (1,2%). Аномалії структури або положення нирок склали 18,5% (15 осіб). Гідронефроз виявлено у 2 дітей (2,5%), пієлоектазію – у 2 дітей (2,5%), подвоєння нирки – у 2 дітей (2,5%), єдина нирка була у 4 дітей (4,9%), гіпоплазія нирки встановлена у 1 дитини (1,2%), підковоподібна нирка – у 1 дитини (1,2%), нефроптоз діагностовано у 1 дитини (1,2%), поперекова ектопія – у 2 дітей (2,5%). Дизметаболичну нефропатію зафіксовано у 6,2% (5 дітей).

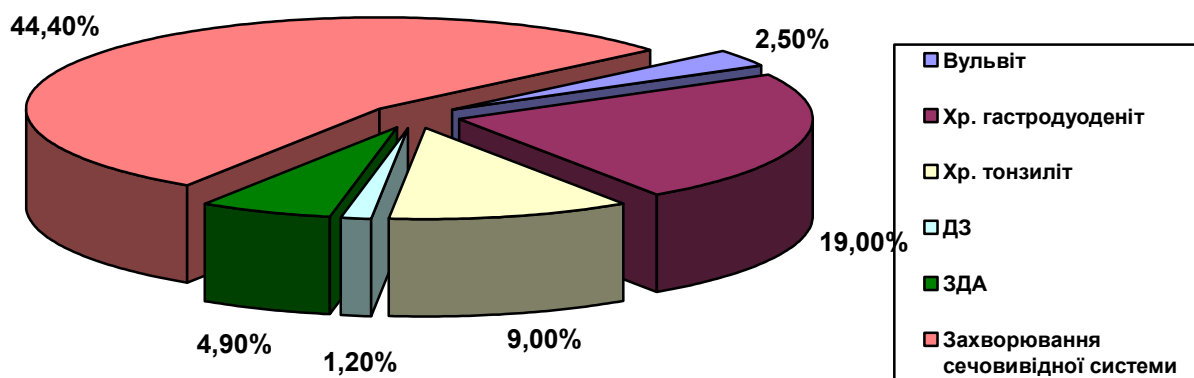


Рис 3.3.5. Частота супутньої патології у дітей з пієлонефритом

Запальні захворювання статеві системи (вульвіт) були у 2 дітей (2,5%). Хронічна патологія інших органів виявлена у 22 дітей (27,2%): хронічний тонзиліт – 7 дітей (9%), хронічний гастродуоденіт – 15 дітей (19%). Ендокринні та метаболічні порушення діагностовано у 5 дітей (6,2%): дифузний зоб – 1 дитина (1,2%), залізодефіцитна анемія – 4 дитини (4,9%).

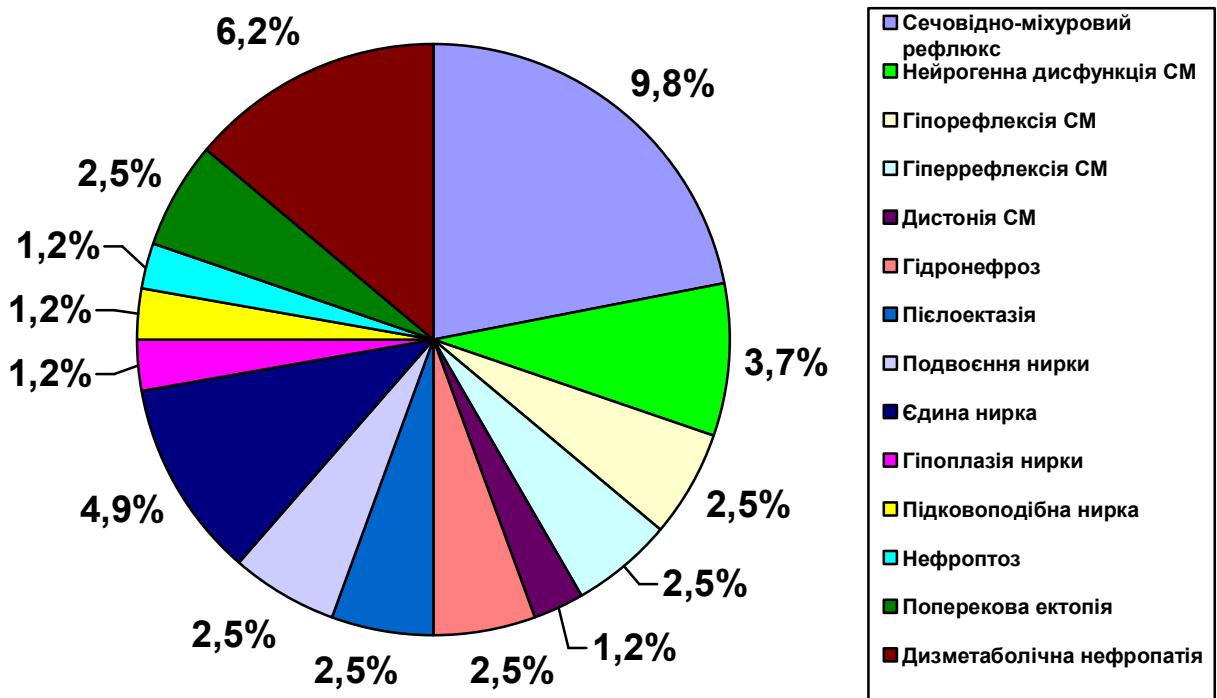


Рис 3.3.6. Частота захворювань сечовивідної системи, як супутньої патології, у дітей з пієлонефритом

Одночасно з клінічним обстеженням у всіх дітей визначали загальний рівень білка, АЛТ, АСТ, рівень холестерину, креатиніну, сечовини, вміст макроелементів (кальцію, натрію, калію, хлору), показники гемоглобіну, еритроцитів та лейкоцитів, рівень цукру в крові. Проводили бактеріологічне дослідження сечі.

Встановлено, що гострий пієлонефрит супроводжується достовірним лейкоцитозом та підвищенням ШОЕ ($p < 0,001$). Рівень лейкоцитів в крові у пацієнтів з гострим ПН був в 1,7 разів вищим, ніж у дітей групи порівняння, а ШОЕ в 2,7 разів вищою. При цьому коливання рівня лейкоцитів у хворих на гострий пієлонефрит складали від $4,2$ до $29,7 \cdot 10^9/\text{л}$, коливання рівня ШОЕ складали від 2 до 44 мм/год.

Таблиця 3.3.1

Середні рівні ($M \pm m$) гемоглобіну, еритроцитів, лейкоцитів та ШОЕ у периферичній крові дітей з гострим та хронічним пієлонефритом

Показник	Гемоглобін, г/л	Еритроцити * 10^{12} /л	Лейкоцити * 10^9 /л	ШОЕ, мм/год
Гострий ПН, n=47	122,4±1,76, р	3,96±0,08	10,18±0,88, р, р ₂	17,1±1,97, р, р ₂
Хронічний ПН, n=34	127,47±1,85	3,73±0,08	6,66±0,33	9,55±1,73
Група порівняння, n=18	131,94±2,95	3,46±0,17	5,69±0,35	6,22±0,89

Примітки: р – достовірність різниці показників у дітей з гострим ПН відносно групи порівняння ($p < 0,001$);

р₂ – достовірність різниці показників у дітей з гострим ПН відносно дітей із хронічним ПН ($p < 0,001$).

Таблиця 3.3.2

Середні рівні ($M \pm m$) показників лейкоцитарної формули у периферичній крові дітей з гострим та хронічним пієлонефритом

Показник	Еозинофіли, %	Паличкоядерні, %	Сегментоядерні, %	Моноцити, %	Лімфоцити, %
Гострий ПН, n=47	2,74±0,34	6,46±0,72, р	51,27±2,02, р ₂	5,38±0,4	34,74±2,32
Хронічний ПН, n=34	4,05±0,77	3,83±0,61	46,88±2,22	4,58±0,43	40,79±2,29
Група порівняння, n=18	2,68±0,45	3,2±0,37	49,44±2,15	4±0,59	40,38±1,75

Примітки: р – достовірність різниці показників у дітей з гострим ПН відносно групи порівняння ($p < 0,001$);

р₂ – достовірність різниці показників у дітей з гострим ПН відносно дітей із хронічним ПН ($p < 0,001$).

Крім того, для пацієнтів з гострим ПН властивим було статистичне зниження рівня гемоглобіну, який сягав нижньої межі норми. При хронічному ПН показники клінічного аналізу крові були наближеними до таких у дітей групи порівняння.

Аналіз лейкоцитарної формули у пацієнтів з гострим ПН дозволив з'ясувати, що лейкоцитоз у даної категорії осіб мав нейтрофільний характер із зсувом лейкоцитарної формули вліво. Відсоток паличкоядерних нейтрофілів при гострому ПН був достовірно вищим, ніж у дітей групи порівняння. Лейкоцитарна формула дітей з хронічним перебігом ПН не мала суттєвих відмінностей від здорових дітей.

Таблиця 3.3.3

Середні рівні (M±m) білка, АЛТ, АСТ, креатиніну, сечовини, холестерину у венозній крові дітей з пієлонефритом

Показник	Загальний білок, г/л	АЛТ, ммоль/л	АСТ, ммоль/л	Креатинін, мкмоль/л	Сечовина, ммоль/л	Холестерин, ммоль/л
Гострий ПН, n=47	71,8±1,51, р, р ₂	0,32±0,01	0,34±0,02	89,94±3,67	5,19±0,27	3,63±0,13
Хронічний ПН, n=34	76,22±1,35	0,36±0,016	0,3±0,012	93,07±5,13	5,1±0,22	3,67±0,15
Група порівняння, n=18	78,93±1,81	0,35±0,03	0,31±0,026	78,63±5,68	5,15±0,26	4,09±0,33

Примітки: р – достовірність різниці показників у дітей з гострим ПН відносно групи порівняння (р<0,001);

р₂ – достовірність різниці показників у дітей з гострим ПН відносно дітей із хронічним ПН (р<0,001).

Встановлено значне (р<0,001) зниження вмісту загального білка в сироватці крові у дітей з гострим ПН. В той же час, даний показник при хронічному ПН не відрізнявся від рівня дітей групи порівняння. Можливо, значне зниження загального білка в крові у разі гострого ПН відбувається внаслідок суттєвого порушення каналцевої реабсорбції протеїнів з первинної сечі. Інші біохімічні показники сироватки крові при гострому ПН,

а також всі показники у дітей з хронічним ПН відповідали таким у дітей групи порівняння.

Таблиця 3.3.4

Середні рівні ($M \pm m$) макроелементів (Ca, Cl, K, Na) у венозній крові дітей з гострим та хронічним пілонефритом

Показник	Ca, ммоль/л	Cl, ммоль/л	K, ммоль/л	Na, ммоль/л
Гострий ПН, n=42	2,26±0,019	103,57±0,7	4,17±0,06	138,25±0,75
Хронічний ПН, n=32	2,3±0,022	103,1±0,76	4,11±0,068	138,18±0,77
Група порівняння, n=16	2,4±0,01	104,5±0,99	4,06±0,04	140,34±0,23

Показники макроелементної забезпеченості крові у пацієнтів з гострим та хронічним ПН не відрізнялися від показників дітей групи порівняння.

Таблиця 3.3.5

Середні рівні ($M \pm m$) білка в сечі, лейкоцитів та еритроцитів в сечі за Нечипоренко у дітей з пілонефритом

Показник	Білок, г/л	Еритроцити, *10 ³ /л	Лейкоцити, *10 ³ /л
Гострий ПН, n=46	0,11±0,02, p, p ₂	1,25±0,28, p	12,24±1,84, p
Хронічний ПН, n=34	0,044±0,01 p ₁	0,67±0,12	12,00±2,36 p ₁
Група порівняння, n=18	0	0,42±0,08	1,47±0,21

Примітки: p – достовірність різниці показників у дітей з гострим ПН відносно групи порівняння ($p < 0,001$);

p₁ – достовірність різниці показників у дітей з хронічним ПН відносно групи порівняння ($p < 0,001$);

p₂ – достовірність різниці показників у дітей з гострим ПН відносно дітей з хронічним ПН ($p < 0,001$).

Гострий і хронічний пієлонефрити супроводжуються достовірною лейкоцитурією та протеїнурією ($p < 0,001$). Рівень лейкоцитів у сечі при гострому та хронічному пієлонефриті був у 8 разів вищим, ніж у дітей групи порівняння. Значно більші втрати білка були властивими для хворих на гострий пієлонефрит, але в обох групах хворих вони не перевищували 1 г/л. Кількість еритроцитів в сечі у осіб з хронічним ПН не відрізнялася від групи порівняння, гострий пієлонефрит характеризувався вираженою еритроцитурією.

Таблиця 3.3.6

Середні рівні ($M \pm m$) відносної щільності сечі у дітей з гострим та хронічним пієлонефритом

Показник	ρ загальний	ρ min	ρ max
Гострий ПН, n=41	1015,58±0,73	1010,57±1,04	1019,68±1,17
Хронічний ПН, n=33	1015,56±0,76	1009,23±0,96	1020,55±1,3
Група порівняння, n=18	1015,76±0,74	1012,1±1,94	1021,4±1,904

Не встановлено суттєвої різниці між групами обстежених дітей з ПН та групою порівняння при дослідженні відносної щільності сечі.

При бактеріологічному посіві сечі у 19 дітей з гострим ПН (40,4%) були висіяні мікроорганізми: *St.epidermidis* у 6 дітей (12,8%), *E.cloacea* у 1 дитини (2,1%), *E.coli* – у 4 дітей (8,6%), *Proteus vulgaris* – у 1 дитини (2,1%), *Enterococcus faecalis* у 3 дітей (6,4%), *Kl.pneumoniae* у 1 дитини (2,1%), *Citrobacter* у 1 дитини (2,1%), *Candida* у 1 дитини (2,1%), *Ps.aeruginosa* у 1 дитини (2,1%).

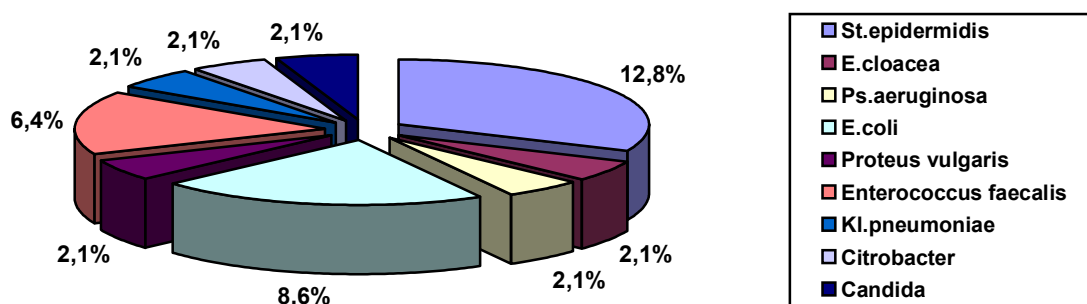


Рис.3.3.7. Частота виявлення мікроорганізмів при бактеріальному посіві сечі у дітей з гострим ПН

У 17 пацієнтів (50%) з хронічним ПН в сечі також були знайдені мікроби, з них: *St.epidermidis* у 7 дітей (20,5%), *E.coli* у 8 дітей (23,5%), *Kl.pneumoniae* у 1 дитини (2,9%), *Enterococcus aerogenes* у 2 дітей (5,8%), *Pr.retferi* у 1 дитини (2,9%) .

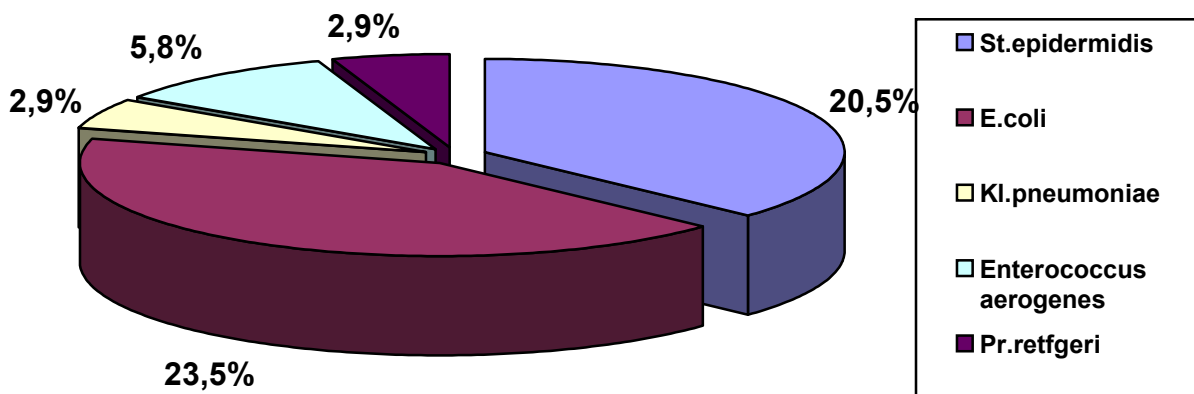


Рис.3.3.8. Частота виявлення мікроорганізмів при бактеріальному посіві сечі у дітей з хронічним ПН.

Чутливість мікроорганізмів до антибіотиків у пацієнтів з гострим ПН була наступною. *St.epidermidis* був чутливим до тієнаму у 6,3%, до цефазоліну, ципрофлоксацину, цефотаксиму, нетроміцину у 4,2%, до гентаміцину, меронему, цефтріаксону, фурамагу у 2,1%. Стійкість до бензилпеніциліну виявлена у 8,5%, до гентаміцину, цефтріаксону, оксациліну у 6,3%, до тієнаму, меронему, цефотаксиму, нетроміцину у 4,2%, до амікацину, ампіциліну у 2,1%.

Enterococcus був чутливим до ванкоміцину у 6,3%, до ампіциліну у 2,1%, стійким до лінкоміцину, цефтріаксону, меронему, цефотаксиму, гентаміцину, бензилпеніциліну, тієнаму у 4,2%, до нетроміцину у 2,1%.

E.coli була чутливою до цефепіму, тієнаму у 4,2%, до левоміцетину, фурамагу, норфлоксацину, цефазоліну, цефтріаксону, меронему у 2,1%; стійкою до амікацину, цефазоліну, цефоперазону у 4,2%, до ципрофлоксацину, гентаміцину, цефтріаксону, цефотаксиму, канаміцину, левоміцетину у 2,1%.

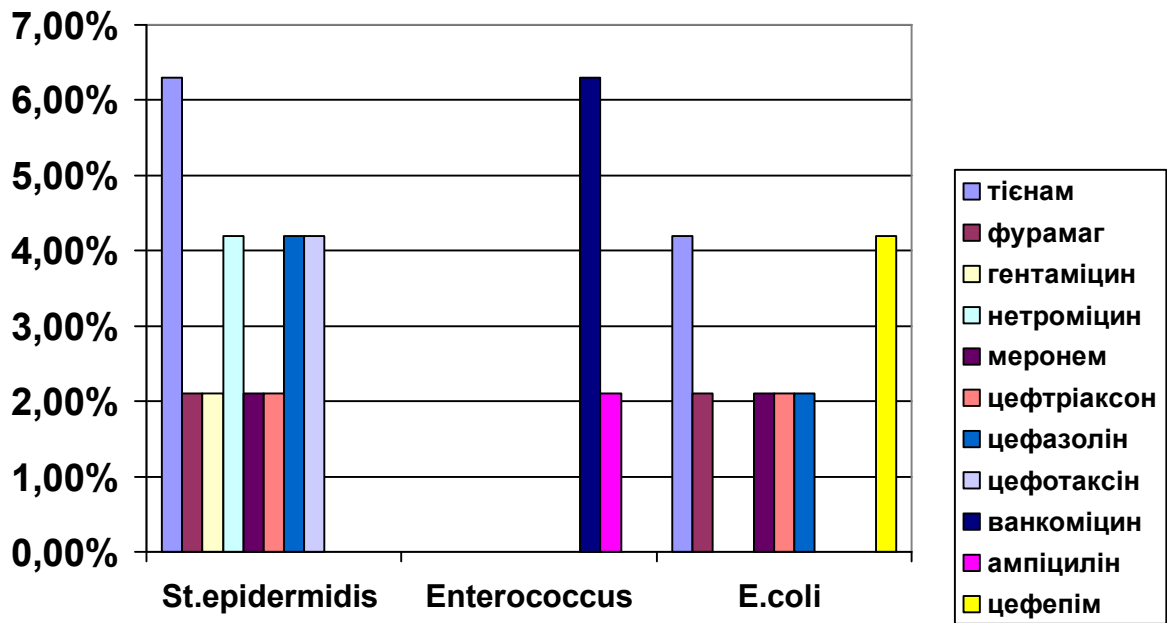


Рис.3.3.9. Чутливість мікроорганізмів до антибіотиків при бактеріальному посіві сечі у дітей з гострим ПН

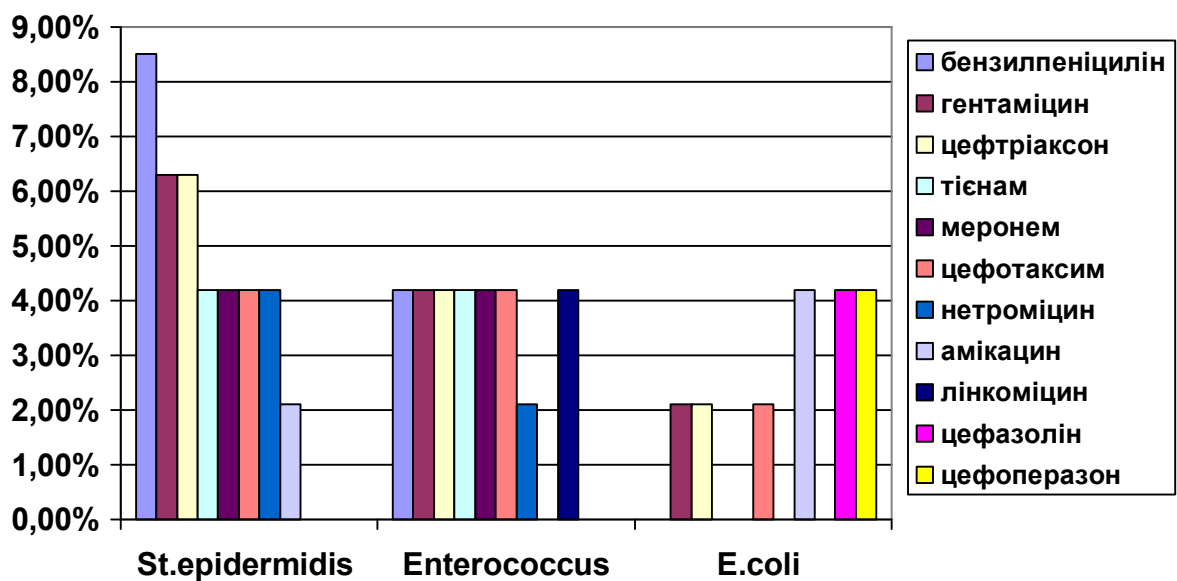


Рис.3.3.10. Стійкість мікроорганізмів до антибіотиків при бактеріальному посіві сечі у дітей з гострим ПН

Виявлено, що чутливість мікроорганізмів до антибіотиків у пацієнтів з хронічним ПН була наступною. E.coli чутлива до меронему у 14,7%, до гентаміцину у 11,7%, до імпенему, цефепіму у 8,8%, до левоміцетину у 5,8%, до фурамагу, канаміцину, ванкоміцину, цефазоліну, тіснаму у 2,9%. Стійкість збудника до цефтріаксону, цефотаксиму, цефазоліну,

ципрофлоксацину спостерігалася у 8,8%, до амікацину, цефепіму уа 5,8%, до меронему, оксациліну, левоміцетину, канаміцину, гентаміцину у 2,9%.

St.epidermidis був чутливим до гентаміцину, фурамагу, тієнаму у 11,7%, до ванкоміцину, цефазоліну, цiproфлoксацину у 8,8%, до меронему, цефтріаксону, цефепіму у 5,8%, до лінкоміцину, амікацину, цефотаксиму у 2,9%. Стійким вказаний мікроорганізм був до оксациліну у 8,8%, до амікацину, цефтріаксону, цефотаксиму, амоксициліну у 5,8%, до цефтазидиму, цефазоліну, цiproфлoксацину, гентаміцину, ампіциліну у 2,9%.

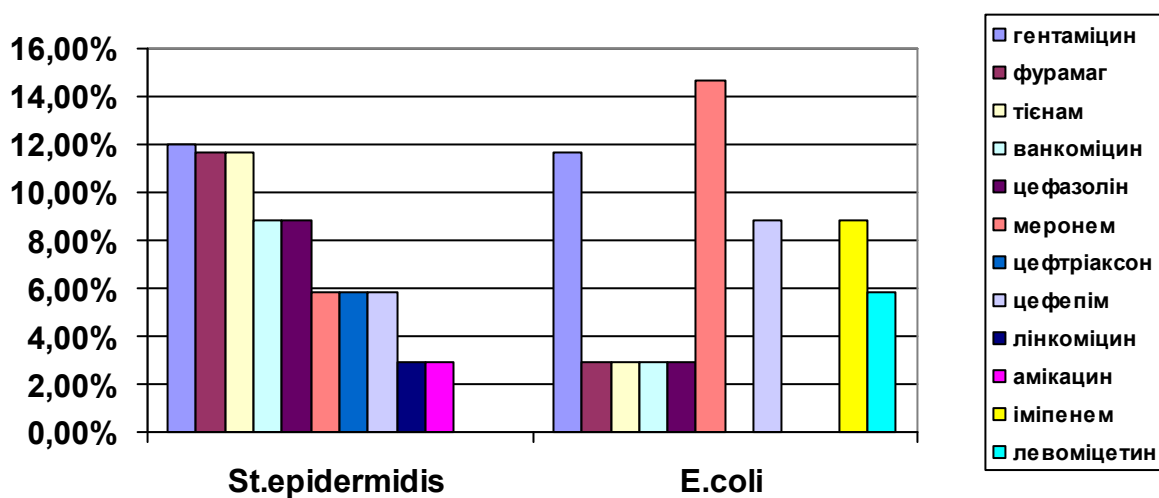


Рис. 3.3.11. Чутливість мікроорганізмів до антибіотиків при бактеріальному посіві сечі у дітей з хронічним ПН

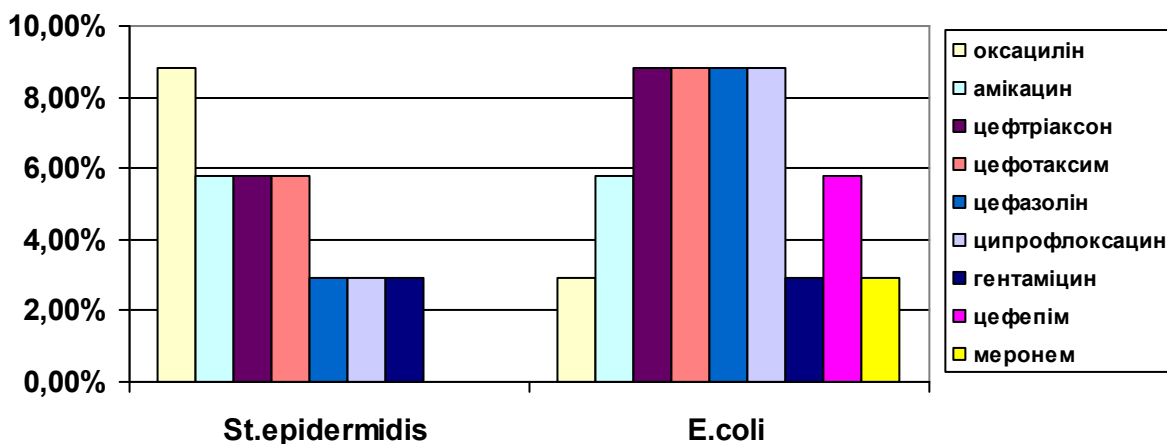


Рис.3.3.12. Стійкість мікроорганізмів до антибіотиків при бактеріальному посіві сечі у дітей з хронічним ПН

Близько 80% серед хворих на пієлонефрит склали дівчатка, що може бути пояснено анатомічними особливостями жіночої сечовидільної системи. Виявлено, що пік захворюваності на гострий пієлонефрит припадає на вік від 3 до 10 років, при хронічному пієлонефриті віковий пік зміщується до більш старшої групи (11-18 років). Обтяжена спадковість по захворюванням нирок спостерігалася у кожного п'ятого хворого. Супутня патологія нирок властива 44% дітей. Для гострого ПН при лабораторному обстеженні характерним був лейкоцитоз, зсув лейкоцитарної формули вліво, прискорення ШОЕ та зниження рівня гемоглобіну та загального білка в сироватці. При дослідженні сечі виявлено наявність протеїнурії та лейкоцитурії у пацієнтів, як з гострим, так і з хронічним ПН. При бактеріальному посіві сечі збудника верифікували у 40,4% дітей з гострим ПН і у 50% з хронічним ПН. Найчастішими патогенами при гострому та хронічному ПН були *St.epidermidis* та *E.coli*.

РОЗДІЛ 4

ОЦІНКА ЕНЗИМУРІЇ ТА ЕНЕРГЕТИЧНОГО ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ПРИ ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ НИРОК

4.1. Дослідження вмісту маркерних ферментів у дітей з пієлонефритом

Визначення рівня ферментів в сечі необхідно для діагностики рівня ураження при інфекції сечовивідної системи (пієлонефрит або цистит), оскільки залежно від глибини і рівня ураження паренхіми нирок в сечі виділяються ферменти, які мають регіональну субклітинну локалізацію. Ферменти розподілені нерівномірно по відділам нефрону, тому при ураженні різних структур в сечу потрапляють різні ферменти або їх групи.

Рівень ензимурії дослідили у 47 дітей з гострим ПН, 23 пацієнтів з хронічним ПН в періоді загострення, 11 - з хронічним ПН в періоді ремісії та 18 здорових дітей.

Найбільш повно енергетичний метаболізм у нирках характеризує активність лактатдегідрогенази (ЛДГ). ЛДГ є цитозольним ферментом, який приймає участь у процесах анаеробного перетворення глюкози з утворенням молочної кислоти.

Активність ЛДГ визначалася в сечі 42 хворих (89,3%) на гострий пієлонефрит. Серед дітей групи порівняння невисокий вміст ЛДГ знайдено лише у 5 (27,7%) дітей ($p < 0,001$). Поява даного ферменту в сечі здорових дітей пояснюється не повною реабсорбцією його білкових компонентів в каналцях нирок. При фізіологічній протеїнурії в сечу можуть надходити слідові кількості білків як низької, так і високої молекулярної маси.

Встановлено, що гострий пієлонефрит супроводжується достовірним підвищенням рівня ЛДГ в сечі ($p < 0,001$). Активність ЛДГ у пацієнтів з гострим ПН була майже в 5 разів вищою, ніж у дітей групи порівняння. При цьому коливання вмісту ЛДГ в сечі у хворих на гострий пієлонефрит складали від 3,2 до 25,6 Од/л.

Показник активності ЛДГ у сечі при загостренні хронічного пієлонефриту був таким же, як у пацієнтів з гострим ПН. При цьому у сечі фермент визначався у всіх обстежених пацієнтів.

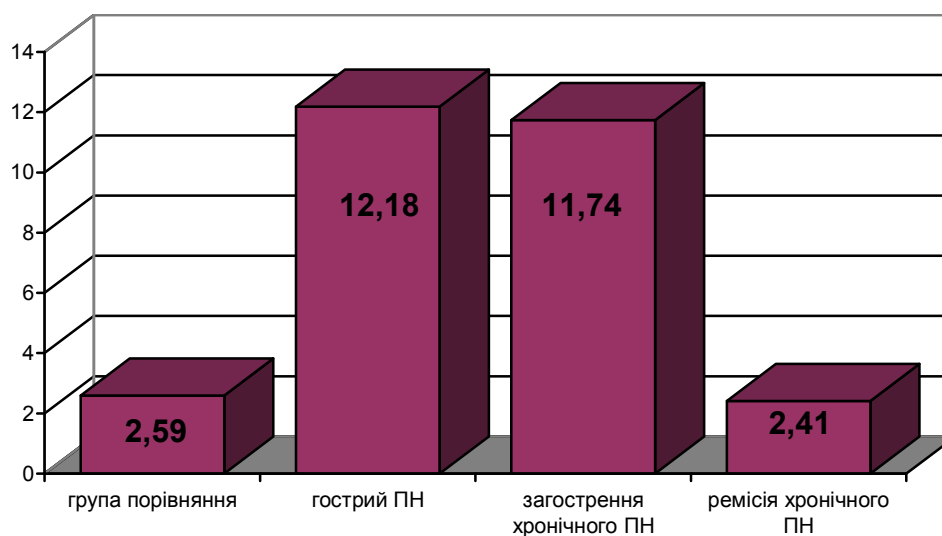


Рис. 4.1.1 Концентрація лактатдегідрогенази в сечі дітей з пієлонефритом (Од/л)

Ремісія пієлонефриту супроводжується нормалізацією рівня ЛДГ у сечі. При цьому нульовий вміст ферменту встановлено у 2/3 обстежених дітей. Активність ензиму у решти пацієнтів склала $2,41 \pm 0,52$ Од/л, що було достовірно нижче ($p < 0,001$), ніж при загостренні захворювання та при його гострому перебігу.

Оскільки близько 70% ЛДГ надходить в сечу з проксимального та дистального відділів нефрону, значне ураження саме цих його відділів має супроводжуватися підвищенням її рівня. Зважаючи на цитозольну локалізацію ензиму, висока активність його в сечі є проявом вираженого ушкодження епітеліальних клітин ниркових каналців. Потрапляння ЛДГ в сечу відбувається лише внаслідок значного ураження апікальної мембрани епітеліальних клітин ниркових каналців.

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.

Активність ферменту в епітелії проксимальних ниркових каналців є найвищою в організмі людини, перевищуючи таку в клітинах печінки в 25 разів, а в сироватці крові – в декілька тисяч разів. Завдяки γ -глутаміловому циклу через механізм транслокації в проксимальних ниркових каналцях відбувається реабсорбція амінокислот з первинної сечі.

Не дивлячись 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. Період напівжиття ГГТП у здорових людей складає 7-10 діб, при порушенні кліренсу ферменту він збільшується до 28 діб. Завдяки цьому, а також високій органоспецифічності щодо ниркової тканини, гаммаглутамілтрансфераза може бути використана для діагностики при захворюваннях нирок.

Концентрація ГГТП визначалася в сечі 36 хворих (76%) на гострий ПН. Серед дітей групи порівняння вміст ГГТП знайдено лише у 7 (38%) 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.

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

При загостренні хронічного ПН у всіх обстежених пацієнтів було знайдено 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 більш, ніж в 3 рази була вищою від вмісту даного ензиму при гострому перебігу захворювання, та майже в 9 разів перевищувала активність у здорових дітей.

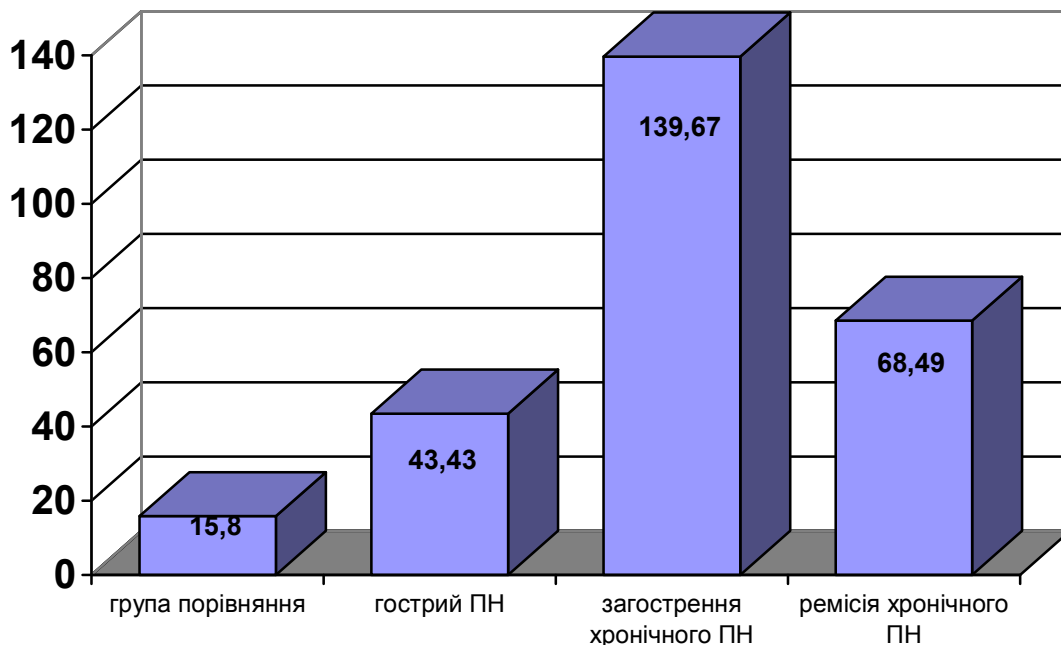


Рис. 4.1.2 Концентрація γ -глутамілтранспептидази в сечі дітей з пієлонефритом нмоль/(сек*л)

З'ясовано, що в період ремісії хронічного ПН виділення ГГТП з сечею зменшується в 2 рази, досягаючи значення $68,49 \pm 7,42$ нмоль/(сек*л). Але вказане значення все ж достовірно перевищує ($p < 0,001$) показники, характерні для дітей з гострим ПН та рівень групи порівняння.

Оскільки близько 2/3 ГГТП локалізовано в щітинковій каймі звивистих каналців нефрону, тому ураження саме цих відділів буде супроводжуватися появою ферментурії. Близько 1/3 ферменту має внутрішньоклітинну локалізацію в комплексі Гольджі та лізосомах, тому висока активність ГГТП в сечі може бути проявом вираженого ушкодження епітеліальних клітин ниркових каналців.

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.

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, не зважаючи на відсутність інших клінічних та лабораторних ознак активності процесу. Наявність вказаних змін може вимагати продовження застосування терапевтичних заходів до нормалізації рівня ГГТП. Визначення активності ГГТП у сечі може застосовуватися для встановлення глибини та стійкості ремісії у дітей з хронічним пієлонефритом.

Сукцинатдегідрогеназа – фермент класу оксидоредуктаз. СДГ – один з важливих ферментів енергетичного обміну: в циклі трикарбонових кислот каталізує зворотне окислення янтарної кислоти (сукцинату) до фумарової кислоти.

Активність СДГ визначили у 20 хворих на гострий ПН, у 10 дітей з хронічним ПН та у 10 дітей групи порівняння.

Виявлено, що гострий пієлонефрит супроводжується достовірним зниженням загальної кількості гранул, показника активності, середньої кількості гранул в клітині ($p < 0,001$). Загальна кількість гранул у пацієнтів з гострим ПН була майже в 1,7 рази нижчою, ніж у дітей групи порівняння та пацієнтів з хронічним ПН. Показник активності у пацієнтів з гострим ПН був майже в 1,4 рази нижчим, ніж у дітей групи порівняння та пацієнтів з хронічним ПН. Середня кількість гранул в клітині у пацієнтів з гострим ПН була майже в 1,5 рази нижчою, ніж у дітей групи порівняння.

При хронічному ПН у обстежених пацієнтів загальна кількість гранул, показник активності не відрізнялися від відповідних показників у здорових дітей. А показник кількості лімфоцитів з гранулами у дітей з хронічним ПН був в 1,3 рази вище, ніж у дітей групи порівняння та пацієнтів з гострим ПН. Середня кількість гранул в клітині у пацієнтів з хронічним ПН була майже в 1,3 рази нижчою, ніж у дітей групи порівняння.

Концентрація сукцинатдегідрогенази в лімфоцитах у дітей з ПН

	Група порівняння (n=10)	Гострий пієлонефрит (n=20)	Хронічний пієлонефрит (n=10)
Загальна кількість гранул	338,778±34,55	190,5±19,58 p ₁ , p ₂	340±12,58
Показник активності	52,22±6,46	35,25±3,76 p ₁ , p ₂	45,8±1,11
Кількість лімфоцитів з гранулами	32,11±3,82	30,33±2,58 p ₂	42±0,707 p ₁
Середня кількість гранул в клітині	10,927±0,57	7,108±0,39 p ₁	8,112±0,41 p ₁

Примітки: p₁ – достовірність відносно групи порівняння (p<0,001)

p₂ – достовірність відносно дітей із хронічним пієлонефритом (p<0,001)

Як відомо, лімфоцити – це клітини, що виконують не тільки спеціальні функції імунного захисту, але є й елементами єдиної інформаційної системи, яка точно відображає стан організму в певний проміжок часу або під дією тих чи інших факторів та дозволяє оцінити терапевтичну дію медикаментозного препарату. Захворювання, що є стресом для дитини, викликають короточасну активацію СДГ із поступовим зниженням активності надалі. Вивчення активності СДГ показало, що у пацієнтів з гострим ПН є вірогідно нижчим, ніж у дітей групи порівняння (p < 0,001) та у дітей з хронічним ПН (p < 0,001).

Таким чином, підвищений рівень ЛДГ та ГГТП в сечі у дітей з ПН може свідчити про певну топографію ураження нефрону, ступінь пошкодження та швидкість відновлення нефротелію, що важливо для науково обґрунтованого патогенетичного лікування. Активність ЛДГ в сечі дозволяє оцінити вираженість ушкодження епітелію проксимального та

дистального відділів нефрону та наявність порушень їх енергетичного забезпечення. Дослідження рівня ЛДГ та загальної активності СДГ як маркерів енергетичного обміну показало напруження процесів окислювального фосфорилування й анаеробного гліколізу у дітей з ПН.

4.2. Дослідження вмісту маркерних ферментів у дітей з гломерулонефритом

Вміст ензимів у сечі дослідили у 19 дітей з гострим гломерулонефритом, 10 пацієнтів з хронічним гломерулонефритом в періоді загострення та 18 здорових дітей. Визначення ЛДГ використовують для оцінки активності процесу у хворих на гломерулонефрит. Підвищення активності ферменту в крові і поява в сечі трансамінідази, що є в певній мірі органоспецифічним ферментом, спостерігається у хворих з нефротичним синдромом. Активність ЛДГ визначили в сечі 18 хворих (94,7%) на гострий гломерулонефрит. Встановлено, що гострий гломерулонефрит супроводжується достовірним підвищенням рівня ЛДГ в сечі ($p < 0,001$). Активність ЛДГ у пацієнтів з гострим ГН була майже в 5 разів вищою, ніж у дітей групи порівняння. При цьому коливання вмісту ЛДГ в сечі у хворих на гострий гломерулонефрит складали від 6,4 до 18,5 Од/л.

Таблиця 4.2.1

Концентрація лактатдегідрогенази в сечі дітей з гломерулонефритом (Од/л)

Група порівняння (n=5)	Гострий гломерулонефрит (n=18)	Загострення хронічного гломерулонефриту (n=9)	Гострий пієлонефрит (n=42)	Загострення хронічного пієлонефриту (n=23)
2,59±0,71	11,8±0,89 p ₁ , p ₂	5,88±0,63 p ₁ , p ₃	12,18±1,53 p ₁	11,74±1,98 p ₁

Примітки: p₁ – достовірність відносно групи порівняння ($p < 0,05$);

p₂ – достовірність відносно дітей із хронічним гломерулонефритом ($p < 0,05$);

p₃ – достовірність відносно дітей з пієлонефритом у відповідну стадію хвороби ($p < 0,05$).

Концентрація ЛДГ в сечі при гострому гломерулонефриті була такою ж, як у дітей, що хворіли на гострий пієлонефрит. Лактатдегідрогеназа — фермент, що відображає стан енергетичного обміну клітин і тканин, а також корелює з морфологічними змінами в них. Слід відзначити, що ступінь, локалізація уражень нефротелію та вираженість порушень енергетичного обміну при гострому перебігу пієло- та гломерулонефрит мають подібний характер. Ушкодження каналців та поява ферментурії при пієлонефриті може бути пов'язана з первинним ушкодженням тубуло-інтерстиційної тканини, при гломерулонефриті – спричинена вторинними процесами на тлі ішемії, набряку, порушень мікроциркуляції тощо.

Загострення хронічного гломерулонефриту також супроводжується статистичним підвищенням рівня ЛДГ в сечі ($p < 0,01$). Показник активності ЛДГ у сечі при хронічному гломерулонефриті був у 2 рази вищим, ніж у дітей групи порівняння. При цьому коливання вмісту ЛДГ в сечі у хворих на хронічний гломерулонефрит складали від 2,7 до 8,2 Од/л. В той же час, рівень ЛДГ у них був вдвічі меншим ($p < 0,01$), ніж при загостренні хронічного пієлонефриту. Таким чином, каналцеві порушення мають місце і при хронічному гломерулонефриті, але їх вираженість є значно меншою порівняно з гострим перебігом захворювання та пацієнтами, що мали хронічний пієлонефрит.

Гаммаглутамілтрансфераза – фермент, що розташований в цитоплазматичній мембрані. Зростання активності ензиму свідчить про навіть незначне пошкодження епітелію каналців нефрону, порушення транспорту амінокислот та наявність оксидативного стресу.

Концентрація ГГТП визначалася в сечі 17 хворих (89,4%) на гострий ГН. Виявлено, що гострий гломерулонефрит супроводжується достовірним підвищенням рівня ГГТП в сечі ($p < 0,001$). Активність ГГТП у пацієнтів з гострим ГН була майже в 3,8 рази вищою, ніж у дітей групи порівняння. При цьому коливання вмісту ГГТП в сечі у хворих на гострий гломерулонефрит складали від 19,5 до 84,9 нмоль/(сек*л).

Концентрація γ -глутамілтранспептидази в сечі дітей з
гломерулонефритом нмоль/(сек*л)

Група порівняння (n=7)	Гострий гломерулонефрит (n=17)	Загострення хронічного гломерулонефриту (n=9)	Гострий пієлонефрит (n=42)	Загострення хронічного пієлонефриту (n=23)
15,7±2,83	59,8±4,23	24,5±3,32	43,43±2,41	139,67±5,36
	p ₁ , p ₂ , p ₃	p ₃	p ₁ , p ₂	p ₁

Примітки: p₁ – достовірність відносно групи порівняння (p<0,05);

p₂ – достовірність відносно дітей із хронічним перебігом захворювання (p<0,05);

p₃ – достовірність відносно дітей з пієлонефритом у відповідну стадію хвороби (p<0,05).

З'ясовано, що гострий ГН супроводжується статистично більшою втратою ГГТП з сечею, ніж гострий ПН. Середній вміст ферменту в сечі при ГН був на 30% більшим порівняно з дітьми, що страждали на гострий ПН. Традиційно вважається, що канальцеві ураження є характерними для перебігу пієлонефриту. Визначення активності ГГТП засвідчило наявність більш вираженої мембранної дисфункції при ГН.

При загостренні хронічного ГН рівень ГГТП не відрізняється від показника групи порівняння, що свідчить про стабільність мембран епітеліальних клітин канальців. Коливання вмісту ГГТП в сечі у хворих на гострий гломерулонефрит складали від 13 до 45,6 нмоль/(сек*л). Порівняння показника з групою дітей із загостренням хронічного ПН дозволило виявити переважання більш, ніж в 4 рази активності ГГТП при ПН над ГН.

Отже, гострому перебігу ГН властива виражена мембранна дисфункція за показником ГГТП, при хронічному перебігу захворювання вона є мінімальною.

Сукцинатдегідрогеназа належить до сукцинатоксидазної системи ферментів мітохондрій. Вміст ензиму відображає енергетичний потенціал

клітини та є показником активності окислювального метаболізму. Оскільки нирки є досить енергетично залежними, найменше порушення процесів утворення енергії, наприклад, внаслідок запального процесу, може призвести до порушення видільної функції.

Таблиця 4.2.3

Концентрація сукцинатдегідрогенази в лімфоцитах у дітей з
гломерулонефритом

	Група порівняння (n=18)	Гострий гломерулонефрит (n=19)	Хронічний гломерулонефрит (n=10)	Гострий пієлонефрит (n=20)	Хронічний пієлонефрит (n=10)
Загальна кількість гранул	338,78±34,55	209,33±24,73 p ₁ , p ₂	402,5±21,21 p ₃	190,5±19,58 p ₁ , p ₂	340±12,58
Показник активності	52,22±6,46	37±3,35 p ₂	61,5±2,98 p ₃	35,25±3,76 p ₁ , p ₂	45,8±1,11
Кількість лімфоцитів з гранул.	32,11±3,82	32,66±3,48	39,5±1,5	30,33±2,58 p ₂	42±0,71 p ₁
Середня кількість гранул в клітині	10,93±0,57	6,56±0,23 p ₁ , p ₂	10,18±0,39 p ₃	7,11±0,39 p ₁	8,11±0,41 p ₁

Примітки: p₁ – достовірність відносно групи порівняння (p<0,05);

p₂ – достовірність відносно дітей із хронічним перебігом захворювання (p<0,05);

p₃ – достовірність відносно дітей з пієлонефритом у відповідну стадію хвороби (p<0,05).

Виявлено, що гострий гломерулонефрит супроводжується достовірним зниженням загальної кількості гранул, показника активності, середньої кількості гранул в клітині (p<0,05). Загальна кількість гранул у пацієнтів з гострим ГН була майже в 1,6 рази нижчою, ніж у дітей групи порівняння та в 2 рази нижчою, ніж у пацієнтів з хронічним ГН. Показник активності у

пацієнтів з гострим ГН був майже в 1,4 рази нижчим, ніж у дітей групи порівняння та в 1,6 рази нижчим, ніж у пацієнтів з хронічним ГН. Середня кількість гранул в клітині у пацієнтів з гострим ГН була майже в 1,6 рази нижчою, ніж у дітей групи порівняння та у пацієнтів з хронічним ГН. При цьому не встановлено достовірної різниці з групою пацієнтів, що хворіли на гострий ПН. Отже, як при гострому ГН, так і при гострому ПН спостерігаються подібні порушення енергетичного забезпечення, тобто ці зміни мають універсальний характер.

При хронічному ГН у обстежених пацієнтів всі показники не відрізнялися від відповідних показників у здорових дітей. Не дивлячись на майже однакову кількість лімфоцитів з гранулами при хронічному ГН та ПН, показники енергетичного забезпечення суттєво відрізнялися. Статистично нижчими вони були у дітей з хронічним ПН, що свідчить про більшу вираженість вказаних порушень у даній категорії пацієнтів.

Гломерулонефрит характеризується ураженням переважно клубочкового апарату нирок. Механізм розвитку захворювання зумовлений формуванням імунних комплексів з антитілами до власної тканини нирки і осіданням цих комплексів на мембрані клітин ниркових клубочків. Це призводить до зміни функції клубочків, порушення процесів фільтрації білка, солей, продукції нирковою тканиною біологічно активних речовин, енергетичного балансу в клітинах нефротелію. При гломерулонефриті, незалежно від ушкодження клубочків, можливе також ушкодження каналців, що проявляється в порушенні концентраційної функції нирок і в збільшенні ензимурії. Підвищення рівня ЛДГ та ГГТП в сечі може свідчити про певну топографію ураження нефрону та ступінь пошкодження нефротелію у хворих на гострий та хронічний гломерулонефрит. Зниження активності СДГ в гострий період при запальних захворюваннях нирок та при хронічному ПН можна трактувати як виснаження процесів окислювального фосфорилування.

ВИСНОВКИ

1. Канальцеві порушення та активація процесів анаеробного отримання енергії, ознакою чого є наявність високого рівня ЛДГ та ГГТП в сечі, є властивими не тільки для ПН, але і для ГН.

2. Дестабілізація клітинних мембран найбільш виражена у пацієнтів з хронічним пієлонефритом. Навіть у ремісію захворювання спостерігається висока активність ГГТП, що може бути показником збереження мембранної патології. Визначення активності ГГТП може бути новим маркерним показником досягнення ремісії у пацієнтів з хронічним ПН.

3. Енергетичні порушення за показником СДГ найбільш властиві дітям з хронічним ПН, що свідчить про виснаження процесів окислювального фосфорилування.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Шабалов Н.П. Детские болезни том 2 / Н.П. Шабалов — К.: Санкт-Петербург 2006—153 с.
2. Коровина Н. А. Диагностика и лечение пиелонефрита у детей (пособие для врачей)/ Коровина Н. А., Захарова И. Н., Мумладзе Э. Б., Гаврюшова Л. П. — Журнал "Нефрология и диализ" Т. 5, 2003 г., №2
3. Коровина Н. А. Современные подходы к лечению пиелонефрита у детей/ Н. А. Коровина И. Н. Захарова Э. Б. Мумладзе Али Ахмед аль-Макрамани — Журнал Лечащий Врач №11/2002
4. Трейнор Д. Как оценить почечную функцию в клинической практике?/ Трейнор Д., Мактиер Р., Геддес К.Г., Фокс Д.Г. — Реферативный журнал Русский Медицинский Журнал том 16, № 20 2008 г.
5. Lamb EJ Clinical Sciences Reviews Committee of the Association for Clinical Biochemistry. Estimating kidney function in adults using formulae/ Lamb EJ, Tomson CR, Roderick PJ— Ann Clin Biochem 2005;42:321-45.
6. Van Biesen W The importance of standardization of creatinine in the implementation of guidelines and recommendations for CKD: implications for CKD management programmes/ Van Biesen W, Vanholder R, Veys N, Verbeke F, Delanghe J, De Bacquer D, et al. — Nephrol Dial Transplant 2006;21:77-83.
7. Levey AS Expressing the MDRD study equation for estimating GFR with IDMS traceable (gold standard) serum creatinine values. / Levey AS, Coresh J, Greene T, Marsh J, Stevens LA, Kusek J, et al. — Am Soc Nephrol 2005; 16:69 A.
8. Verhave JC Estimation of renal function in subjects with normal serum creatinine levels: influence of age and body mass index/ Verhave JC, Fesler P, Ribstein J, Du CG, Mimran A. — Am J Kidney Dis 2005;46:233-41.
9. Poge U MDRD equations for estimation of GFR in renal transplant recipients/ Poge U, Gerhardt T, Palmedo H, Klehr HU, Sauerbruch T, Woitas RP. — Am Transplant 2005;5:1306-11.

10. Zuo L Application of GFR-estimating equations in Chinese patients with chronic kidney disease/ Zuo L, Ma YC, Zhou YH, Wang M, Xu GB, Wang HY. — [See comment] Am J Kidney Dis 2005;45:463-72.
11. Mahajan S Assessing glomerular filtration rate in healthy Indian adults: a comparison of various prediction equations./ Mahajan S, Mukhiya GK, Singh R, Tiwari SC, Kalra V, Bhowmik DM, et al. — Nephrol 2005;18:257-61.
12. Anandarajah S The validity of searching routinely collected general practice computer data to identify patients with chronic kidney disease (CKD): a manual review of 500 medical records./ Anandarajah S, Tai T, De Lusignan S, Stevens P, O'Donoghue D, Walker M, et al. —Nephrol Dial Transplant 2005;20:2089-96.
13. Наточин Ю. В. Введение в нефрологию / Ю. В. Наточин, Н. А. Мухин. — ООО Аргумент, ГЭОТАР–МЕДИА, ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА, 2007 г. — 160 с.
14. Зоркин С. Н. Экскреция биотина с мочой у детей с хроническим обструктивным пиелонефритом / С. Н. Зоркин, М. И. Баканов, Р. Т. Батрутдинов, С. П. Яцык – Медицинский научный и учебно - методический журнал N 4 [октябрь 2001 года] СТР. с 129 по 143
15. Возианов А. Ф. Основы нефрологии детского возраста./ Возианов А. Ф., Майданник В. Г., Бидный В. Г., Багдасарова И. В– Киев: Книга плюс, 2002. С. 22–100.
16. Малкоч А. В. Пиелонефрит/ Малкоч А. В., Коваленко А. А. – В кн. «Нефрология детского возраста»/под ред. В. А. Таболина и др.: практическое руководство по детским болезням (под ред. В. Ф. Коколиной, А. Г. Румянцева). М.: Медпрактика, 2005. Т. 6. С. 250–282.
17. Сафина А.И. Современные особенности клиники и диагностики пиелонефрита у детей раннего возраста /Сафина А.И – Журнал Практическая медицина 06 (08) .
18. Белобородов Н.В. Тест на прокальцитонин: алгоритмы применения и новые возможности. Пособие для врачей./ Белобородов Н.В., Попов Д.А. — М., 2008. — 74 с.

19. Гасилина Е.С. Пиелонефрит у детей раннего возраста. / . Гасилина Е.С., Маковецкая Г.А., Мазур Л.И III Российский конгресс педиатров-нефрологов России. / Материалы конгресса. — С-Пб., 2003. — С.99-100.
20. Галеева А.В. Клинико-лабораторные особенности пиелонефрита у детей раннего возраста с учетом антенатального анамнеза. / Галеева А.В. — Автореф. дисс. ... канд.мед.наук. — Казань., 2007. — 25 с.
21. Зайцева О.В. Течение и исход инфекций мочевых путей у детей первых трех лет жизни. / Зайцева О.В— Автореф. дисс. ... канд.мед.наук. — М., 2003. — 28 с.
22. Зыкова Л.С. Особенности пиелонефрита у детей грудного возраста. / Зыкова Л.С., Тухватуллина Э.М., Мотыженкова О.В., Любимова О.К. — Рос. педиатрический журнал. — 2003. — №2. — С.8-10.
23. Коровина Н.А. Диагностика и лечение пиелонефрита у детей: пособие для врачей./ Коровина Н.А., Захарова И.Н., Мумладзе Э.Б., Гаврюшова Л.П. — 4-е изд., испр. и доп. — М., 2003. — 71 с.
24. Нежданова М.В. Диагностические возможности теста на микроальбуминурию у детей с лейкоцитурией./ Нежданова М.В., Сергеева Т.В., Московская Е.Ф. — Нефрология и диализ. — 2005. — Т.7, №2. — С.153-156.
25. Чугунова О.Л. Клинические особенности, ранняя диагностика и лечение заболеваний почек у новорожденных детей. / Чугунова О.Л. — Автореф. дисс. ... канд.мед.наук. — М., 2005. — 27 с.
26. Юрьева Э.А. Диагностический справочник нефролога. /Юрьева Э.А., Длин В.В — М.: «Оверлей», 2007. - 355 с.
27. Ghiro L. Retrospective study of children with acute pyelonephritis: Evaluation of bacterial etiology, antimicrobial susceptibility, drug management and imaging studies. / Ghiro L., Crasso A.T., Sartor M., Comacchio S. et al. — Nephron. — 2002. — Vol.90. — P.8-16.

28. Harmsen M. Management of children's urinary tract infections in Dutch family practice: a cohort study. / Harmsen M., Wensing M., Braspenning J. et al — BMC Fam. Pract. — 2007. №13. — P.8-9.
29. Jakobsson B. Minimum incidence and diagnostic rate of first urinary tract infection. / Jakobsson B., Hansson S. — Pediatrics. — 1999. Vol.104, №2. — P.222-226.
30. Zork J. Diagnosis and Management of Pediatrics urinary tract infections. / Zork J., Kiddoo D., Shau K — Clin. Microbiol. Rew. — 2005. — Vol.18, №2. — P.417-422.
31. Борисов И. А. Пиелонефрит/ Борисов И. А. /В кн. «Нефрология»/под ред. И. Е. Тареевой. М.: Медицина, 2000. С. 383–399.
32. Возианов А. Ф Основы нефрологии детского возраста. / Возианов А. Ф., Майданник В. Г., Бидный В. Г., Багдасарова И. В. —Киев: Книга плюс, 2002. С. 22–100.
33. Игнатова М. С. Детская нефрология./Игнатова М. С., Вельтищев Ю. Е Л.- Медицина, 1989. 432 с.
34. Кириллов В. И. Иммунокорректирующая терапия инфекций мочевой системы у детей/ Кириллов В. И. /В кн. «Нефрология»/под ред. М. С. Игнатовой: руководство по фармакотерапии в педиатрии и детской хирургии (под ред. А. Д. Царегородцева, В. А. Таболина). М.: Медпрактика-М, 2003. Т. 3. С. 171–179.
35. Коровина Н. А. Рациональный выбор антимикробной терапии инфекции мочевой системы у детей/ Коровина Н. А., Захарова И. Н., Мумладзе Э. Б., Заплатников А. Л./В кн. «Нефрология»/под ред. М. С. Игнатовой: руководство по фармакотерапии в педиатрии и детской хирургии (под ред. А. Д. Царегородцева, В. А. Таболина). М.: Медпрактика-М, 2003. Т. 3. С. 119–170.
36. Малкоч А. В. Пиелонефрит/ Малкоч А. В., Коваленко А. А. /В кн. «Нефрология детского возраста»/под ред. В. А. Таболина и др.: практическое

- руководство по детским болезням (под ред. В. Ф. Коколиной, А. Г. Румянцева). М.: Медпрактика, 2005. Т. 6. С. 250–282.
37. Малкоч А. В. Пиелонефрит у детей: классификация, течение, диагностика и лечение/ А. В. Малкоч В. А. Гаврилова Ю. Б. Юрасова – Симпозиум Уронефрология Ледащий Врач #07/06
38. Семидоцкая Ж.Д. Хроническая болезнь почек и факторы прогрессирования Ж.Д. Семидоцкая, Т.С. Оспанова, И.А. Чернякова, О.С. Бильченко, Т.В. Бездетко, О.И. Мисюра, Е.В. Авдеева, Т.Ю. Химич, О.И. Ромаданова, А.В. Сиваш, Е.А. Красовская. / Справочник специалиста новости медицины и фармации - 8(321) 2010
39. Чучеліна О.О. Особливості клітинно-мембранного пошкодження нирок при хронічному гломерулонефриті та їх корекція/ Чучеліна О. О. — автореф. дис... канд. мед. наук:— Харків 2006. Физическое описание: 167 стр.
40. Ярова К.К. Клініко-патогенетична характеристика гломерулонефриту у дітей на фоні сучасних методів лікування (клініко-експериментальне дослідження)/ Ярова К. К. — автореф. дис... канд. мед. наук:— Х., 2004
41. Клембовский А. И. Митохондриальная дисфункция при нефропатиях у детей/ Клембовский А. И. — Журнал "Нефрология и диализ" Т. 2, 2000 г., №4
42. 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. – №4. – С. 30- 33.
43. 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.
44. Ходырева Л.А. Клинико-лабораторные аспекты диагностики, течения и прогноза мочевой инфекции: автореф. дис. на соискан. ученой. степени док. мед. наук: спец. 14.00.40 "Урология" / Л.А. Ходырева; Научно-исследовательский институт урологии Росмедтехнологий. – Москва, 2007. – 38 с

45. Okada T. Crystal structures of gamma-glutamyltranspeptidase from *Escherichia coli*, a key enzyme in glutathione metabolism, and its reaction intermediate / Okada T., Suzuki H., Wada K. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2006. – Vol.103, №17. – P.6471-6476.
46. 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.
47. Whitfield J.B. Gamma glutamyltransferase / J.B. Whitfield // *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* –2001. – Vol. 38, №4. – P. 263-355.
48. 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.
49. Справочник по лабораторным методам исследования / под ред. Л.А.Даниловой. – СПб.: Питер, 2003. – 736 с.
50. Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry / Ed. Pamela C. Champe, Richard A. Harvey. – 3rd ed. – Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins. – 2005. – 534 p.