

ДІАГНОСТИЧНА ЦІННІСТЬ ВИЗНАЧЕННЯ РІВНЯ ФЕРМЕНТУРІЇ У ДІТЕЙ З ПІЕЛОНЕФРИТОМ

А.М. Лобода, доцент

Медичний інститут Сумського державного університету, м. Суми

Статья посвящена изучению активности ферментов – лактатдегидрогеназы и γ -глутамилтранспептидазы в моче детей, страдающих острым и хроническим пиелонефритом. Установлено, что методы определения концентрации указанных энзимов обладают высокой чувствительностью при диагностике острого и обострения хронического пиелонефрита. Высокий уровень ферментурии может свидетельствовать об определенной топографии поражения нефрона и степени повреждения нефротелия.

Ключевые слова: пиелонефрит, моча, ферменты.

Стаття присвячена вивченню активності ферментів – лактатдегідрогенази та γ -глутамілтранспептидази у сечі дітей, хворих на гострий та хронічний піелонефрит. Встановлено, що визначення концентрації зазначених ензимів є чутливим методом діагностики гострого та загострення хронічного піелонефриту. Високий рівень ферментурії може свідчити про певну топографію ураження нефрону та ступінь пошкодження нефротелію.

Ключові слова: піелонефрит, сеча, ферменти.

ВСТУП

Нирки являють собою один з головних регулювальних 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.

Піелонефрит (ПН) - неспецифічне мікробно-запальне захворювання нирок з переважним вогнищевим інфекційно-запальним ушкодженням тубулоінтерстиціальної тканини, пов'язане з інфекцією сечових шляхів. Розвиток піелонефриту супроводжується виникненням гомеостатичного дисбалансу внаслідок порушення функції біологічних мембран та процесів енергетичного обміну нефрону. Маркером вказаних порушень є поява ферментурії [1]. Визначення рівня ензимів в сечі – один з допоміжних лабораторних методів діагностики ПН (згідно з Протоколом лікування ПН у дітей – Наказ МОЗ України від 20.07.2005 № 365). Рекомендується одночасно вивчати активність декількох ферментів для посилення їх діагностичного значення при ПН [2].

При патології нирок найбільш чутливими ферментами вважаються цитозольні, зокрема лактатдегідрогеназа (ЛДГ), а також ензими, які локалізуються у внутрішньоклітинних органелах, – γ -глутамілтранспептидаза (ГГТП) [1].

Висока активність процесів енергетичного обміну, характерна для метаболізму нирок, обумовлена високими потребами в енергії, необхідній для виконання видільної функції. Найбільш повно названі процеси характеризує активність ЛДГ [1].

Лактатдегідрогеназа (К.Ф.1.1.1.27) належить до найважливіших клітинних ферментів, що беруть участь у процесі гліколізу, і каталізує зворотну реакцію відновлення пірвіноградної кислоти (пірватату) в молочну (лактат). За своєю структурою є металоензимом – містить у своєму складі 3 атоми цинку [3].

Діагностична цінність визначення ГГТП обумовлена його органоспецифічністю – активність ензиму в нирках у 7000 разів вища, ніж у сироватці крові. У нирках людини фермент локалізований в лізосомах, комплексі Гольджі, цитоплазматичній мембрані [1].

Гамма-глутамілтранспептидаза (К.Ф.2.3.2.2.) належить до класу трансфераз і активно бере участь в азотистому обміні. Фермент каталізує перенесення глутамінової групи з γ -глутамінового залишку на акцепторний пептид або L-амінокислоту. За допомогою ГГТП відбувається реабсорбція амінокислот з первинної сечі. Біологічна роль ферменту також пов'язана з регуляцією рівня глутатіону в тканинах [4].

МЕТА РОБОТИ

Мета роботи – дослідити вміст ферментів (лактатдегідрогенази, γ -глутамілтранспептидази) у сечі дітей, хворих на пієлонефрит.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Для визначення активності ферментів у сечі проводили її забір в стерильний посуд під час сечовипускання після туалету зовнішніх статевих органів. Для виключення впливу на екскрецію ферментів сечі добових ритмів досліджували лише ранкову порцію сечі, яку збирали о 8-10 годині ранку.

Активність 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 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”.

Статистичну обробку результатів досліджень здійснювали за допомогою програм Excel та Statistica 6.0. Використовувалися методи варіаційної статистики, придатні для медико-біологічних досліджень [5]. Визначали середньоарифметичне (M), похибку середньоарифметичного (m). За допомогою критерію Стьюдента (t) визначали показник достовірності (P).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Обстежено 48 дітей з гострим пієлонефритом, 23 пацієнти з хронічним пієлонефритом у періоді загострення та 15 - з хронічним пієлонефритом у періоді ремісії, що перебували на лікуванні у нефрологічному відділенні Сумської обласної дитячої клінічної лікарні. Вік дітей становив від 2 до 17 років. Групу порівняння склали 20 дітей, що не мали клінічних чи лабораторних ознак патології нирок.

Активність ЛДГ визначалася в сечі 42 хворих (87,5%) на гострий пієлонефрит. Серед дітей групи порівняння вміст ЛДГ виявлено лише у 5 (25%) дітей ($p < 0,05$). Поява даного ферменту в сечі здорових дітей може бути пояснена неповною реабсорбцією білкових компонентів у каналцях нирок. При фізіологічній протеїнурії в сечу можуть надходити слідові кількості білків як низької, так і високої молекулярної маси [6].

Встановлено, що гострий пієлонефрит супроводжується достовірним підвищенням рівня ЛДГ в сечі ($p < 0,001$). Активність ЛДГ у пацієнтів з гострим ПН була майже у 5 разів вищою, ніж у дітей групи порівняння ($(12,18 \pm 1,53)$ проти $(2,59 \pm 0,71)$ Од/л відповідно). При цьому коливання

вмісту ЛДГ в сечі у хворих на гострий пієлонефрит становили від 3,2 до 25,6 Од/л.

Показник активності ЛДГ в сечі при загостренні хронічного пієлонефриту був практично на такому самому рівні, що і у пацієнтів з гострим ПН. При цьому вміст ферменту визначався у всіх 23 обстежених пацієнтів і становив $(11,74 \pm 1,98)$ Од/л.

Ремісія пієлонефриту супроводжується зниженням рівня ЛДГ в сечі до показника здорових дітей. При цьому нульовий вміст ферменту встановлено у 2/3 обстежених дітей. Активність ензиму у решти пацієнтів становила $(2,41 \pm 0,52)$ 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 буде супроводжуватися підвищенням її рівня [1,6]. Висока активність ЛДГ в сечі може бути проявом вираженого ушкодження епітеліальних клітин ниркових каналців, зважаючи на цитозольну локалізацію даного ензиму.

Таким чином, визначення концентрації ЛДГ є досить чутливим неінвазивним методом діагностики гострого пієлонефриту (більше 85% позитивних результатів), а також загострення хронічного ПН (100% позитивних результатів). Вища чутливість при загостренні хронічного ПН можливо пов'язана з більш глибокими морфологічними змінами ниркового бар'єру у даної групи пацієнтів, ілюстрацією чого і є ферментурія. Крім того, відсутність вмісту ЛДГ в сечі може бути показником глибини ремісії хронічного пієлонефриту, оскільки у більшості пацієнтів на цій стадії захворювання його активність відповідає такій у здорових дітей.

Концентрація ГГТП визначалася в сечі 36 хворих (75%) на гострий пієлонефрит. Серед дітей групи порівняння вміст ГГТП виявлено лише у 7 (35%) дітей ($p < 0,05$). Наявність даного ензиму в сечі здорових дітей пояснюється його локалізацією у щетинковій каймі епітелію каналців. Внаслідок цього у процесі оновлення цитоплазматичних мембран можливе потрапляння ферменту в сечу [1, 7].

Виявлено, що гострий пієлонефрит супроводжується достовірним підвищенням рівня ГГТ в сечі ($p < 0,001$). Активність ГГТП у пацієнтів з гострим ПН була майже у 3,2 раза вищою, ніж у дітей групи порівняння ($(43,43 \pm 2,41)$ проти $(15,8 \pm 2,83)$ нмоль/(с*л) відповідно).

При загостренні хронічного пієлонефриту у всіх обстежених пацієнтів було виявлено високий рівень ГГТП ($(139,67 \pm 5,36)$ нмоль/(с*л)), який був достовірно вищим ($p < 0,001$) від відповідного показника у осіб з гострим ПН та у здорових дітей. Концентрація ГГТП в сечі при загостренні ПН більше, ніж у 3 рази була вищою від вмісту даного ензиму при гострому перебігу захворювання та майже у 9 разів перевищувала активність у здорових дітей.

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

Для ГГТП характерна найвища активність в нирковій тканині, але через велику молярну масу в сечі здорових осіб він майже не визначається. Близько 2/3 ГГТП локалізовано у щетинковій каймі звивистих каналців нефрону, тому ураження саме цих відділів буде супроводжуватися появою ферментурії. Близько 1/3 ферменту має внутрішньоклітинну локалізацію у комплексі Гольджі та лізосомах, тому висока активність ГГТП в сечі може бути проявом вираженого ушкодження епітеліальних клітин ниркових каналців [1,6,7].

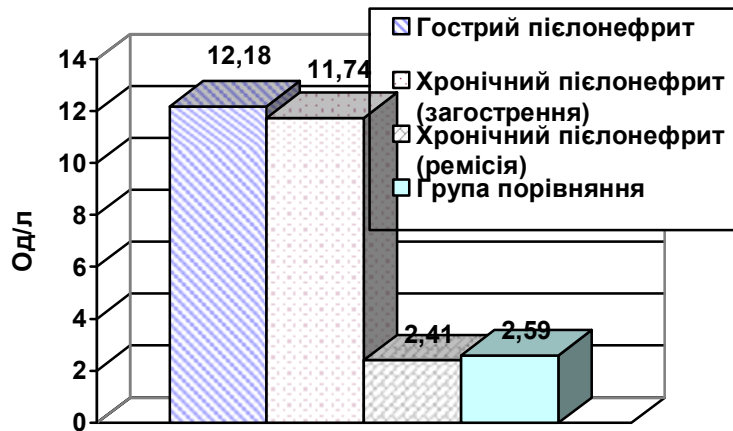


Рисунок 1 - Активність ЛДГ в сечі дітей, хворих на пієлонефрит

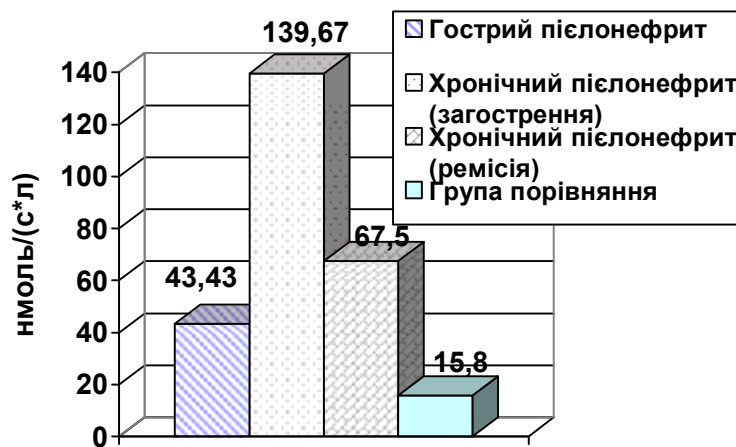


Рисунок 2 - Активність ГГТП в сечі дітей, хворих на пієлонефрит

Чутливість кількісного визначення ГГТП в сечі при гострому ПН дещо нижча (75%), ніж для ЛДГ. Це не дивно, зважаючи на внутрішньоклітинне розміщення ферменту у структурах комплексу Гольджі і лізосомах. Напевно, підвищення рівня ензиму при гострому ПН визначається переважним ушкодженням щетинкової кайми. У той самий час при хронічному ПН метод визначення даного ферменту в сечі має високу чутливість (100% позитивних результатів). Значна концентрація біосполуки при загостренні хронічного ПН обумовлена дестабілізацією клітинних мембран з подальшим виходом у сечу внутрішньоклітинних органел, що містять даний ензим. При цьому активність ГГТП зберігається на високому рівні навіть в ремісію захворювання, що може бути показником збереження мембранної патології.

Отже, підвищений рівень ЛДГ та ГГТП може свідчити про певну топографію ураження нефрону та ступінь пошкодження нефротелію, що важливо для науково обґрунтованого патогенетичного лікування. Перспективним є вивчення взаємозв'язку між вмістом ЛДГ та концентрацією цинку в сечі, зважаючи на цинкозалежність названого

ферменту. Крім того, цікавим є визначення залежності ферментної активності від тривалості перебігу ПН та стану ниркової функції.

ВИСНОВКИ

1 Визначення концентрації ЛДГ в сечі є чутливим неінвазивним методом діагностики гострого та загострення хронічного ПН.

2 Ремісія хронічного ПН характеризується відсутністю вмісту ЛДГ в сечі.

3 Значна активність ГГТП в сечі при хронічному ПН є проявом мембранної патології нирок.

4 Підвищений рівень ЛДГ та ГГТП може свідчити про певну топографію ураження нефрону та ступінь пошкодження нефротелію.

SUMMARY

DIAGNOSTIC VALUE OF DEFINITION OF ACTIVITY OF ENZYMES AT CHILDREN WITH A PYELONEPHRITIS

A.M. Loboda

Sumy State University

The article is devoted to the study of activity of enzymes - lactatdehydrogenase and α -glutamyltransferase in urine of children, suffering on an acute and chronic pyelonephritis. It is set that methods of determination of concentration of the indicated enzymes possess a high sensitiveness at diagnostics of acute and exacerbation of chronic pyelonephritis. The high level of enzymes in urine can testify to the topography of defeat of nephron and degree of damage of nefrotelium.

Keywords: chronic pyelonephritis, urine, enzymes.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. 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.
2. Камышников В.С. Справочник по клинико - биохимической лабораторной диагностике: В 2 т. / В.С. Камышников. – Минск: Беларусь, 2002. – Т.1.–495 с.
3. Назаренко Г.И. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований // Г.И. Назаренко, А.А. Кишкун. – М.: Медицина, 2000. – 544 с.
4. 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.
5. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel // С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – К.: МОРИОН, 2001. – 408 с.
6. Oxford Textbook of Clinical Nephrology / Ed. A.M.A. Davison, J. S. Cameron, J.-P. Grunfeld et al. – 3rd ed. – Oxford University Press, 2005. – 3048 p.
7. Evidence-Based Nephrology / Ed. D. A. Molony, J. C. Craig. – 2nd ed. –Wiley-Blackwell, 2009. – 844 p.

Надійшла до редакції 4 червня 2009 р.