

УДК 616.617-007-053.1:616.63-078.839]-053.2

Г.Г. Нікуліна, Л.Я. Мигаль, І.Є. Сербіна,
Д.А. Сеймівський, В.Ф. Петербургський,
О.А. Каліщук

ФЕРМЕНТИ ЛІЗОСОМ У СЕЧІ ДІТЕЙ З ВРОДЖЕНИМИ ВАДАМИ РОЗВИТКУ ВЕРХНІХ СЕЧОВИХ ШЛЯХІВ

ДУ "Інститут урології АМН України", м. Київ
ДУ "Інститут нефрології АМН України", м. Київ

На сьогодні одне з провідних місць в структурі всіх вроджених вад розвитку займають вроджені вади розвитку нефроуринарної системи, зокрема — верхніх сечових шляхів (ВСШ), до яких переважно відносяться гідронефроз (ГН) та мегауретер (МУ) [11, 13]. Істинний ГН — це вроджене порушення прохідності пієло-уретерального (мисково-сечоводного) сегмента, що супроводжується стазом сечі, розширенням чашечко-мискової системи, порушенням лімфо- та кровопостачання паренхіми нирок. МУ — це вроджена дилатація сечоводу, що призводить до порушення головної функції сечоводу — забезпечення проштовхування сечі у сечовий міхур, що відповідно створює умови для порушення транспорту сечі, підвищення внутрішньомискового тиску, внутрішньониркової гемодинаміки та місцевого гомеостазу. Клінічними варіантами МУ є рефлюксуючий МУ (РМУ), що характеризується наявністю високого ступеня міхурово-сечовидного рефлюксу і ретроградним надходженням сечі із сечового міхура у напрямку нирок, та нерефлюксуючий МУ (НРМУ), що розвивається на тлі обструкції сечовидно-міхурового сегмента [11, 13].

Як відомо, порушення уродинаміки, уростаз, підвищений тиск в нирковій мисці та порушення мікроциркуляції в паренхімі нирки здійснюють негативний вплив на структуру та функцію нирки, що з часом може призвести до розвитку хронічної ниркової недостатності (ХНН) у дитячому віці [9, 12]. Тобто, з огляду на місце вроджених вад розвитку ВСШ у формуванні хронічних захворювань нирок та розвитку ХНН, проблема своєчасної, якомога найбільш ранньої оцінки функціонального стану паренхіми нирки та проведення на цій підставі своєчасного та

ефективного лікування цих пацієнтів з метою зменшення дитячої інвалідизації у соціальному аспекті є актуальною та важливою.

Відомо також, що виникнення та прогресування хронічних захворювань нирок вродженого генезу супроводжується розвитком ішемічних процесів в зоні ураження, тобто в паренхімі нирок. Отже, суттєве значення в патогенезі ушкодження паренхіми нирок у дітей з вродженими вадами розвитку (ВВР) — ГН, РМУ та НРМУ, надається гіпоксії, яка стимулює активацію каналцевих ферментів, таких як лізосомні гідролази N-ацетил- β -D-глюкозамінідаза (НАГ, КФ 3.2.1.30) та β -галактозидаза (β -Гал, КФ 3.2.1.23) — інформативних маркерів функціонального стану тубулярного нефротелію [3, 15]. З огляду на те, що у дитячому віці зворотний розвиток хронічного ушкодження нирок та відновлення функції органу потенційно є можливим [7], дослідження перелічених ензимологічних показників необхідно для своєчасного уточнення функціонального стану нирки та обґрунтування подальшої адекватної тактики ведення цих пацієнтів залежно від особливостей перебігу різних клінічних ВВР ВСШ.

Метою даної роботи було вивчення особливостей змін рівня активності умовно реноспецифічних ферментів НАГ та β -Гал у сечі дітей з ГН, РМУ та НРМУ.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Обстежено 155 хворих з ВВР ВСШ, з них — 76 дітей з ГН, 35 дітей з РМУ та 44 дитини з НРМУ віком від 6 місяців до 15 років. Серед пацієнтів з ГН та НРМУ були переважно хворі чоловічої статі, серед пацієнтів з РМУ — хворі жіночої статі. Хворі з гострим пієлонефритом, з загостренням хронічного пієлонефриту, з порушенням функції нирок, випадки, коли досліджувані показники у дітей з МУ реєструвалися у межах контрольних величин, в аналіз дослідження не включалися. Пацієнти з ГН, РМУ та НРМУ знаходилися на стаціонарному лікуванні у відділенні дитячої урології ДУ "Інститут урології АМН України", дослідження було проведено до застосування їм лікувальних заходів.

Обстежено також 25 практично здорових дітей з нормальними аналізами сечі (без протеїн-,

лейкоцит-, еритроцит- та кристалурії, слизу та бактерій) та без захворювань нирок та сечовивідних шляхів у анамнезі (група контролю). Групи, що досліджувалися, за статтю та віком вірогідно не розрізнялися.

Для діагностики ГН, РМУ або НРМУ всім хворим було проведено клініко-лабораторні та візуалізаційні дослідження в загальноприйнятому обсязі.

Активність ферментів, що досліджувалися, визначали у разовій порції ранкової сечі. За основу визначення активності НАГ та β -Гал було взято колориметричний метод О.О. Покровського зі співавт. (1971р.), адаптований нами для визначення у сечі [4]. Активність ферментів виражали у відносних одиницях — у мкмоль/год/ммоль р-нітрофенолу, що утворився протягом 1 години інкубації при 37°C, із розрахунку на 1 ммоль креатиніну сечі (мкмоль/год/ммоль креатиніну).

Розраховували середню арифметичну величину та її похибку ($M \pm m$). Статистичну вірогідність результатів досліджень оцінювали за t-критерієм

Стьюдента за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel 8.0.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Проведений аналіз результатів визначення рівнів активності НАГ та β -Гал у сечі хворих з ГН, РМУ та НРМУ (табл., загальні групи) показав, що за середніми даними рівень активності цих ензимів статистично вірогідно перевищував показники контрольної групи ($p < 0,001$), що переконливо свідчить про виражену діагностичну інформативність цих умовно реноспецифічних ензимологічних показників.

У зв'язку з тим, що порушення уродинаміки у пацієнтів з вродженими ГН, РМУ та НРМУ спостерігалось як з одного, так і з обох боків, подальший аналіз фактичного матеріалу було проведено з урахуванням розповсюдженості патологічного процесу у дітей.

У табл. продемонстровано статистично вірогідне підвищення рівня активності ферментів, що досліджувалися, у пацієнтів з ГН, РМУ та

Таблиця

Активність N-ацетил- β -D-глюкозамінідази та β -галактозидази в сечі дітей з вродженими гідронефрозом, рефлюксуючим та нерефлюксуючим мегауретером ($M \pm m$)

Групи обстежених		Активність ферментів (мкмоль/год/ммоль креатиніну)		
		НАГ	β -Гал	
1.	ГН	Загальна група (1а) (n=76)	25,97 \pm 1,53	15,44 \pm 0,98
		Однобічний (1б) (n=58)	21,97 \pm 1,33	15,74 \pm 1,68
		Двобічний (1в) (n=18)	38,75 \pm 3,98	19,10 \pm 3,04
2.	РМУ	Загальна група (2а) (n=35)	38,90 \pm 3,01	32,30 \pm 3,10
		Однобічний (2б) (n=15)	26,60 \pm 3,10	20,70 \pm 2,56
		Двобічний (2в) (n=20)	43,80 \pm 4,20	33,50 \pm 2,76
3.	НРМУ	Загальна група (3а) (n=44)	31,06 \pm 1,43	17,60 \pm 1,35
		Однобічний (3б) (n=29)	31,11 \pm 1,99	15,72 \pm 1,34
		Двобічний (3в) (n=15)	30,99 \pm 2,18	21,22 \pm 1,78
4.	Контроль (n=25)	11,64 \pm 0,72	9,58 \pm 0,68	
	$P_{1a,1b,1b-4} <$	0,001	0,01	
	$P_{2a,2b,2b-4} <$	0,001	0,001	
	$P_{3a,3b,3b-4} <$	0,001	0,001	
	$P_{1b-1b} <$	0,001	—	
	$P_{2b-2b} <$	0,01	0,05	
	$P_{3b-3b} <$	—	0,05	
	$P_{1a-2a} <$	0,001	0,001	
	$P_{1a-3a} <$	0,01	—	
	$P_{2a-3a} <$	0,01	0,001	
	$P_{1b-3b} <$	0,001	—	
	$P_{2b-3b} <$	—	0,02	
	$P_{1b-2b} <$	—	0,001	
	$P_{2b-3b} <$	0,01	0,01	

НРМУ з однобічним процесом порівняно з аналогічними даними контрольної групи ($p < 0,05 - 0,001$). Нами також встановлено факт статистично вірогідного підвищення рівня активності НАГ та β -Гал у хворих з РМУ ($p < 0,01 - 0,05$), НАГ — у хворих з ГН ($p < 0,001$) та β -Гал — у хворих з НРМУ ($p < 0,05$) з двобічним процесом порівняно з аналогічними даними у групах хворих з однобічним процесом. Одержані результати вказують на те, що дисфункціональні зміни проксимального відділу апарата нефрону у дітей з двобічною локалізацією були більш суттєво виражені, ніж у пацієнтів з однобічною локалізацією, особливо це стосується хворих з РМУ.

Отримані дані, з одного боку, додатково підкреслюють виражені реноспецифічні властивості ферментів, які досліджувалися, що дозволяє використовувати їх для об'єктивної характеристики ступеня ушкодження або функціональних зрушень каналцевого епітелію паренхіми нирок, а з другого — дають певну підставу для використання цих ензимологічних показників для більш розгорнутого та інформативного уточнення діагнозу.

Подальший аналіз результатів, отриманих нами, включав порівняння рівня активності ферментів, що досліджувалися, у сечі дітей з вродженими ГН, РМУ та НРМУ поміж цими групами. Так, незважаючи на те, що рівень активності як НАГ, так і β -Гал у всіх загальних групах статистично вірогідно перебільшує аналогічні показники контролю, у порівняльному аспекті виявлено, що найнижча активність ферментів у цих групах зареєстровано у дітей з ГН, найвища — у дітей з РМУ. Аналогічну спрямованість змін поміж групами для активності β -Гал зареєстровано також у хворих з одно- та двобічною патологією. У хворих з двобічним патологічним процесом найменшу активність НАГ зареєстровано у пацієнтів з НРМУ, найбільшу — у пацієнтів з РМУ. У більшості випадків ці зміни статистично вірогідні (табл.). Цей факт свідчить, що рівень активності як НАГ, так і β -Гал у сечі дітей з вродженими ГН, РМУ та НРМУ певною мірою також залежить від групи, що досліджувалася, тобто від нозології, що може мати значення для комплексної диференційної діагностики цих вроджених патологій.

Крім того, порівняльний аналіз поміж групами дітей з вродженими РМУ та НРМУ (загальні групи) показав, що для рівня активності лізосомних ферментів НАГ та β -Гал мало місце ста-

тистично вірогідне його підвищення у пацієнтів з РМУ порівняно з аналогічним показником у групі пацієнтів з вродженим НРМУ. Більш детальний порівняльний аналіз особливостей змін рівня активності ферментів, що досліджувалися, поміж групами пацієнтів з вродженими РМУ та НРМУ чітко продемонстрував статистично значуще його підвищення у групі дітей з вродженим двобічним РМУ у порівнянні з аналогічними показниками у групі пацієнтів з вродженим двобічним НРМУ (табл., підгрупи 2в та 3в, $p < 0,01$).

Отже, вірогідне підвищення рівня активності НАГ та β -Гал у загальній групі хворих з РМУ порівняно з аналогічними показниками у загальній групі хворих з НРМУ в основному здійснюється за рахунок підвищення рівня активності цих ензимологічних показників саме у хворих з двобічною патологією. А отримані нами результати свідчать, на нашу думку, про те, що патологічний процес, що розвивається у нирках при вродженому РМУ двобічної локалізації, сприяє більш суттєвішим ушкодженням функціонального стану паренхіми нирки, зокрема епітелію каналцевого відділу нефрону, ніж патологічний процес, що розвивається у нирках при вродженому НРМУ також двобічної локалізації. Двобічні форми міхурово-сечоводного рефлюксу, як відомо, відносяться до факторів, що більш суттєво сприяють розвитку та прогресуванню вогнищового склерозу ниркової тканини [10] завдяки постійно інтермітуючому двобічному характеру впливу на паренхіму нирки. У той же час статистично вірогідні зміни ферментативних показників у хворих з однобічною локалізацією патологічного процесу зареєстровано тільки для рівня активності β -Гал, які у дітей з вродженим однобічним РМУ був достовірно вищим порівняно з групою дітей з вродженим однобічним НРМУ (табл., підгрупи 2б та 3б, $p < 0,02$).

Слід зазначити, що у плані обговорення отриманих результатів реноспецифічні властивості сечової активності НАГ та β -Гал — ферментів лізосомного походження, доведено як морфологічно [2, 3] та експериментально [1, 3, 14], так і клінічними спостереженнями, які вказують на те, що при більш несприятливому перебігу хвороби нирок виявляється більш високий рівень активності цих ферментів [2–5, 8, 15]. Останнє підтверджують і результати даної роботи — найбільш високий у кількісному виразі рівень активності НАГ та β -Гал сечі зареєстровано саме у пацієнтів з РМУ — вродженій ваді розвитку

верхніх сечових шляхів з найбільш важким перебігом хвороби у зв'язку з тим, що у випадках несвоєчасного або неефективного лікування цієї вади розвитку та розвитку відповідної низки патологічних процесів у нирці частіш за все може стати однією із передумов формування нефросклерозу [9–10].

Отже, провідною причиною встановленої нами вираженої специфічної щодо нирок гіперферментурії є ішемічні процеси, що розвиваються в нирці дітей з вродженими ГН, РМУ та НРМУ, незважаючи на різну локалізацію первинного патологічного процесу, внаслідок порушення у першу чергу внутрішньониркової гемодинаміки, у тому числі і в паратубулярних капілярах. Як відомо, від інтенсивності кровопостачання нирок повністю залежить інтенсивність їх метаболічних процесів, навіть незначні прояви гіпоксично-ішемічних зсувів здійснюють суттєвий вплив на активність ферментів епітелію проксимальних каналців нирок, у першу чергу на активність ферментів лізосом [1, 3, 9]. Як свідчать дані літератури, а також дані наших власних досліджень, своєчасне застосування лікувальних заходів здійснює позитивний вплив на динаміку рівня активності умовно реноспецифічних ферментів НАГ та β -Гал сечі у напрямку суттєвого його зниження [6, 10, 15].

Таким чином, особливості зміни рівня активності умовно реноспецифічних ферментів НАГ та β -Гал у сечі дітей з вродженими ГН, РМУ та НРМУ як інформативних та неінвазивних маркерів функціонального стану каналцевого нефротелію доцільно використовувати для уточнення функціонального стану нирки, особливо в динаміці хвороби з метою своєчасної корекції лікувальних заходів та профілактики розвитку ХНН.

ВИСНОВКИ

1. Статистично вірогідне підвищення у сечі дітей з вродженими ГН, РМУ та НРМУ рівня активності лізосомних гідролаз НАГ та β -Гал — неінвазивних та діагностично інформативних щодо нирок показників, свідчить про погіршення функціонального стану каналцевого апарата нефрону у цих пацієнтів та про доцільність їх використання як індикаторів оцінки порушень функціонального стану нирок для своєчасного контролю за ефективністю лікувальних заходів та попередження прогресування хронічних захворювань нирок.

2. Вірогідне підвищення активності лізосомних ферментів у сечі дітей з вродженим РМУ порівняно з аналогічними показниками у дітей з вродженими ГН та НРМУ здійснюється в основному за рахунок хворих з двобічною локалізацією патологічного процесу та свідчить про більш виражені зміни функціонального стану каналцевого нефротелію саме у дітей з РМУ, встановлені відмінності доцільно враховувати для удосконалення діагностики, прогнозування перебігу хвороби та методів лікування різних клінічних варіантів вроджених вад розвитку верхніх сечових шляхів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Активність β -галактозидази як маркер розвитку ішемії паренхіми нирки в експерименті / Л.Я. Мигаль, Г.Г. Нікуліна, В. О. Пирогов, С. В. Нікітаєв // *Лаб. діагностика*. — 2009. — № 2 (48). — С. 32–35.
2. Дедов И.И., Шестакова М.В., Миленская Т.М. Сахарный диабет: ретинопатия, нефропатия. — М.: Медицина, 2001. — 176 с.
3. Диагностическое значение исследования активности N-ацетил- β -D-глюкозаминидазы в моче (обзор литературы) / Н.И. Бабаева, И.Я. Липицкая, М.Г. Творогова, В. Н. Титов // *Лаб. дело*. — 1991. — № 31. — С. 9–16.
4. Ензимологічні критерії визначення об'єму та послідовності методик діагностики вродженої обструкції сечоводу у дітей (Методичні рекомендації) / Д.А. Сеймівський, В.Ф. Петербургський, Л.Я. Мигаль, В.О. Пирогов, Г.Г. Нікуліна, І.Є. Сербіна. — К., 2005. — 22 с.
5. Ензимологічні можливості діагностики ступеня активності запального процесу у дітей, хворих на пієлонефрит / Л.Я. Мигаль, І.В. Багдасарова, О.О. Даценко, Л.В. Король, О.В. Лавренчук, С.П. Фоміна // *Лаб. діагностика*. — 2009. — № 1 (47). — С. 15–18.
6. Ефективність лікування обструктивного мегауретера у дітей / В.Ф. Петербургський, Д.А. Сеймівський, О.А. Калішук, Л.Я., Мигаль, Г.Г. Нікуліна, І.Є. Сербіна, Г.І. Гуйван // *Урологія*. — 2010, Т. 14, додаток (54) (Матеріали 3'їзду асоціації урологів України). — С. 185–187.
7. Иванов Д.Д. Фитотерапия при хронической болезни почек // *Medical Nature. Природная медицина*. — 2010. — № 4 (сентябрь). — С. 20–23.
8. Особливості змін активності лізосомних ензимів у сечі дітей, хворих на гломерулонефрит з нефротичним синдромом та з супутньою НВВ/НСВ інфекцією / Л.Я. Мигаль, І.В. Багдасарова, С.П. Фоміна, Л.В. Король, Г.Д. Сулова // *Укр. журн. нефрології та діалізу*. — 2010. — № 4 (28). — С. 11–15.
9. Патогенетические основы формирования и принципы лечения обструктивных уротатий у детей / С.Н. Зоркин, И.Н. Хворостов, И.Е. Смирнов, И.В. Дворяковский, Л.Е. Скутина // *Вісник Вінницького Нац. університету*. — 2007, Т. 11 (1/1). — С. 198–204.
10. Современные методы лечения детей первых трёх лет жизни с заболеваниями органов мочевой системы / О.Л. Чугунова, С.В. Думова, В.И. Вербицкий, Е.В. Мелехина, В.А. Таболин // *Вестник педиатрической фармакологии и нутрициологии*. — 2006. — Т. 3, № 2. — С. 18–23.
11. Хворостов И.Н., Зоркин С.Н., Смирнов И.Е. Обструк-

тивная уропатия // Урология. — 2005. — № 4. — С. 73–76.

12. Chevalier R.L. Pathogenesis of renal injury in obstructive uropathy // *Curr. Opin. Urol.* — 2006. — Vol. 18. — P. 153–160.
13. Hjorth L., Wiebe T., Karpman D. Obstructive uropathy in children // *Pediatr. Nephrol.* — 2002. — Vol. 17, № 10. — P. 847–851.
14. Multbery B., Isaksson A. Enzyme immunoassay of β -hexosaminidase isoenzymes in human urine and renal cortex with monoclonal antibodies // *Enzyme.* — 1989. — Vol. 42, № 1. — P. 25–30.
15. Obstructed versus dilated nonobstructed kidneys in children with congenital ureteropelvic junction narrowing: role of urinary tubular enzymes / M.A. Taha, A.A. Shokeir, H.G. Osman, Abd El-Aziz Ael-A, S.E. Farahat // *J. Urol.* — 2007. — Vol. 178, № 2. — P. 640–646.

ФЕРМЕНТЫ ЛИЗОСОМ В МОЧЕ ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ РАЗВИТИЯ ВЕРХНИХ МОЧЕВЫХ ПУТЕЙ

*Г.Г. Никулина, Л.А. Мигаль, И.Е. Сербина,
Д.А. Сеймицкий, В.Ф. Петербургский, О.А. Калищук*

Особенности изменения уровня активности лизосомных ферментов N-ацетил- β -D-глюкозаминидазы и β -галактозидазы в моче 155 детей с врожденными гидронефрозом, рефлюксирующим и нерефлюксирующим мегауретером могут быть использованы для оценки функционального состояния канальцевого эпителия нефрона и, соответственно, эффективности лечения.

LYSOSOME ENZYMES IN URINE OF CHILDREN WITH CONGENIAL DEFICIENCY IN THE DEVELOPMENT OF URINARY TRACTS

*G.G. Nikulina, L.A. Myhal, I.Ye. Serbina,
D.A. Seimivskiy, V.F. Peterburgskiy, O.A. Kalishchuk*

The peculiar changes in the activity level of enzymes of lysosomal N-acetyl- β -D-glucosaminidase and β -galactosidase in the urine of 155 children with congenial hydronephrosis, refluxing and non-refluxing megaureter (probable elevation against the control group, in patients with bilateral HN and RMU against the NRMU patients) can be used to assess the functional state of nephron tubular epithelium and, accordingly, efficacy of treatment.

УДК 616-002.71:616.155.34

О.М. Домашенко, А.О. Мантула

ФОСФОТАЗНА АКТИВНІСТЬ НЕЙТРОФІЛІВ КРОВІ У ХВОРИХ НА ПСЕВДОТУБЕРКУЛЬОЗ

*Донецький національний медичний університет
імені М. Горького*

Із числа різних внутрішньольоцитарних ферментів особливий інтерес для вивчення представляє лужна фосфатаза нейтрофілів (ЛФН). Цей фермент гідролізує велику кількість органічних фосфатів. Зокрема, ЛФН бере участь в обміні нуклеїнових кислот і фосфопротеїдів при передачі фосфатів для активування амінокислот. Таким чином, ЛФН бере участь у метаболізмі функціонально активних клітин і клітин, що розмножуються [8]. Присутність ЛФН необхідна для нормалізації фагоцитарної функції нейтрофілів [14, 18].

Відносна доступність визначення ЛФН в умовах клінічних лабораторій і виразні зміни активності ферменту привернули увагу до її дослідження при різних захворюваннях [1, 2, 6, 7, 11, 17, 19, 21]. При цьому було виявлено значне збільшення активності ЛФН при бактеріальних інфекціях різної етіології [3, 9, 10, 13, 20]. Є нечисленні повідомлення про динаміку змін ЛФН при ерсиніозі [4, 5, 14]. При псевдотуберкульозі цей показник практично не вивчався.

Мета дослідження — вивчити активність ЛФН у хворих на генералі зовану форму псевдотуберкульозу з урахуванням тяжкості і стадії захворювання, встановити прогностичне значення показника для оцінки ефективності лікування та прогнозування рецидивів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проведені в м. Донецьку і Донецькій області за період з 1988 по 2005 рр. на основі вивчення спорадичних випадків захворювань (хворі госпіталізувалися в інфекційні відділення ЦМКЛ № 1 м. Донецька) та епідемічних спалахів псевдотуберкульозу в 1988, 1994 і 1999 рр. Діагноз псевдотуберкульозу встановлювали на підставі клініко-епідеміологічних даних, бактеріологічного дослідження і серологічної ідентифікації при постановці реакції непрямой гемаглютинації з еритроцитарним псевдотуберкульозним діагностиком I серовара, реакції аглютина-