

was determined by the method of the isoelectric focusing (IEF) in a capillary, cation exchange chromatography, boronate affinity chromatography and photocolometry. IEF method carried out a test in the polyacrilamide gel in the narrow pH — gradient, which proper for isoelectrical point of HbA<sub>1c</sub>. It was proved that the method of IEF in a capillary is a specific way for determination of glycated hemoglobin. Definition of it is important both patients of DM and at the diseases with absence of DM.

УДК 616.617-007.272-078.839-053.2

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

### ДІАГНОСТИЧНА ІНФОРМАТИВНІСТЬ ЕНЗИМОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ЛІЗОСОМНОГО ПОХОДЖЕННЯ У СЕЧІ ДІТЕЙ З ВРОДЖЕНОЮ ОБСТРУКЦІЄЮ ВЕРХНІХ СЕЧОВИХ ШЛЯХІВ

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

Вроджені вади розвитку (ВВР) верхніх сечових шляхів (ВСШ), до яких переважно відносяться гідронефроз (ГН) та обструктивний мегауретер (ОМУ), на сьогодні займають одне з провідних місць в структурі всіх ВВР [7, 10]. Виникнення та прогресування обструктивного процесу у ВСШ внаслідок розладу уродинаміки та гемодинаміки супроводжується розвитком гіпоксії [4, 7], виявити яку можна при дослідженні у сечі активності ензимів каналцевого нефротелію [3, 11–13]. Найбільш діагностично значущим є дослідження у сечі активності N-ацетил-β-D-глюкозамінідази (НАГ) та β-галактозидази (β-ГАЛ) лізосомного походження (НАГ — частково пов'язана з мембраною лізосом, β-ГАЛ — розчинена у матриксі цієї органели), які мають певні реноспецифічні властивості, що підтверджено високим вмістом цих ензимів у нирках — переважно у тубулярному епітелії, високою молекулярною масою, що набагато перевищує нирковий поріг, подібністю співвідношення ізоферментів НАГ у сечі здорових осіб із їх співвідношенням у тканині нирок, а не у сироватці крові тощо [5, 9, 11–13].

Мета роботи — оцінити за математичними розрахунками діагностичну інформативність визначення НАГ та β-ГАЛ у сечі дітей з ГН та ОМУ.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Обстежено 115 дітей (від 3 міс. до 16 років): 74 дитини з ГН, з них 56 хворих з одnobічною та 18 хворих з двобічною патологією, 24 дитини з ОМУ, з них з 13 хворих з одnobічною та 11 хворих з двобічною патологією, 17 дітей з вродженою одnobічною уропатією ВСШ, у яких пренатально була діагностована уретеропієлокалікоектазія, та 20 практично здорових дітей того ж віку з нормальними аналізами крові та сечі та без захворювань нирок і сечовивідних шляхів в анамнезі (контроль). Сечу для аналізу брали з сечового міхура (до операції) та з ниркової миски або сечоводу (під час операції). Пацієнтів було поділено на групи залежно від особливостей діагнозу (ГН чи ОМУ), розповсюдженості патологічного процесу (одно- або двобічного) та залежно від рівня забору сечі (з сечового міхура чи з ниркової миски або сечоводу).

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

За загальноприйнятими формулами розраховували такі показники:

- *діагностичну чутливість* (ДЧ, %) — вірогідність того, що у хворої особи буде одержано позитивний результат тесту,

$$ДЧ = \frac{ІП}{(ІП + ХН)} \cdot 100\%$$

де ІП — істинно позитивні результати, ХН — хибно негативні результати;

- *діагностичну специфічність* (ДС, %) — вірогідність того, що у здорових осіб буде одержано негативний результат тесту:

$$ДС = \frac{ІН}{(ІН + ХП)} \cdot 100\%$$

де ІН — істинно негативні результати, ХП — хибно позитивні результати;

- поєднуючи ці показники, розраховували *діагностичну ефективність* (ДЕ, %), або точність методу — вірогідність правильного виявлення хворих та здорових осіб:

$$ДЕ = \frac{(ІП + ІН)}{(ІП + ХП + ІН + ХН)} \cdot 100\%$$

Крім того, розраховували такі допоміжні критерії, що характеризують надійність, з якою результати дослідження можуть бути оцінені як

позитивні у хворих осіб, та негативні у здорових осіб — це:

- *передбачувана цінність позитивного результату* (ПЦ+) — вірогідність того, що у того, хто обстежується з позитивним результатом тесту, є захворювання:

$$(ПЦ+) = \frac{ІП}{(ІП + ХП)} \cdot 100\%$$

- та *передбачувана цінність негативного результату* (ПЦ-) — вірогідність того, що у того, хто обстежується з негативним результатом тесту, нема захворювання:

$$(ПЦ-) = \frac{ІН}{(ІН + ХН)} \cdot 100\% [2, 6].$$

Для розрахунку меж поміж здоровими та хворими дітьми, за даними ензимологічних досліджень, користувалися формулою:

$$M + 1,5\sigma,$$

де M — середня арифметична величина;  $\sigma$  — середнє квадратичне відхилення [1].

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За результатами визначення сечової активності НАГ та  $\beta$ -ГАЛ з урахуванням рівня взяття біоматеріалу для дослідження було проведено діагностичну оцінку вищезазначених ензимологічних тестів сечі за переліченими вище формулами. У порівняльному аспекті всі діагностичні величини, що стосувалися визначення активності НАГ сечі були вищими, ніж аналогічні показники, що стосувалися визначення активності  $\beta$ -ГАЛ сечі. Виняток складає показник діагностичної специфічності — для  $\beta$ -ГАЛ він дорівнює 90%, для НАГ — 85%, передбачувана цінність позитивного результату на рівні дослідження сечі з ниркової миски або сечоводу для обох ферментів є однаково високою — 90% (табл. 1).

Як довів аналіз отриманих результатів, для обох ферментів всі досліджувані критерії діагностичної оцінки були вищими за умови визначення рівня ензимологічної активності у сечі з ниркової миски, ніж у сечі з сечового міхура (табл. 1). Але цей факт ніяк не применшує значення цих діагностичних критеріїв для визначення активності ферментів у сечі з сечового міхура як неінвазивний та можливий у лабораторних умовах тест, тим більш, що ці діагностичні показники є достатньо суттєвими величинами, особливо для визначення НАГ (66–94%) (табл. 1).

Підкреслимо, що діагностична важливість визначення активності НАГ та  $\beta$ -ГАЛ у сечі з сечового міхура особливо має значення для поліклінічних умов, а визначення цих же ензимологічних показників у сечі з ниркової миски або сечоводу — для умов стаціонару. Так, діагностична чутливість визначення активності ферментів на рівні ниркової миски або сечоводу для НАГ дорівнює 95%, а для  $\beta$ -ГАЛ — 64%. Це означає, що на 100 хворих дітей з вродженими обструктивними вадами ВСШ можуть бути отримані помилково-негативні результати у 5 хворих при визначенні активності НАГ сечі та у 36 хворих при визначенні активності  $\beta$ -ГАЛ сечі. Інший діагностичний показник — передбачувана цінність позитивного результату на цьому ж рівні забору сечі вказує на вірогідність наявності захворювання у дітей, що досліджувалися з позитивним результатом, для рівнів активності НАГ сечі у 90% випадків, для рівня активності  $\beta$ -ГАЛ сечі — також у 90% випадків (табл. 1).

Тест на діагностичну ефективність ще називають індексом точності дослідження [1, 2, 6]. Це індекс, що зважає частку істинних ре-

Таблиця 1

#### Діагностична інформативність показників активності N-ацетил- $\beta$ -D-глюкозамінідази і $\beta$ -галактозидази у сечі дітей із вродженими обструктивними уropатіями верхніх сечових шляхів

Критерії оцінки, %	N-ацетил- $\beta$ -D-глюкозамінідаза		$\beta$ -галактозидаза	
	Сечовий міхур	Ниркова миска або сечовід	Сечовий міхур	Ниркова миска або сечовід
Діагностична чутливість	71	95	43	64
Діагностична ефективність	77	91	62	73
Передбачувана цінність позитивного результату	87	90	86	90
Передбачувана цінність негативного результату	66	91	52	64
Специфічність (контрольна група)	85	—	90	—

зультатів у загальній кількості досліджень, для рівня активності НАГ у сечі з ниркової миски або сечоводу дорівнює 91%, а для рівня активності  $\beta$ -ГАЛ — 73%. Відсутність стовідсоткового результату діагностичних ензимологічних тестів, на наш погляд, можливо є наслідком впливу неврахованих нами чинників на лізосомний апарат нирки (НАГ та  $\beta$ -ГАЛ — ферменти, що мають лізосомну локалізацію, але по-різному пов'язані зі структурними компонентами цієї органели), можливо є наслідком особливостей дитячого організму, можливо причина криється у самих ферментативних тестах [3–5]. Безумовно, що комбінування даних ензимологічних тестів разом або з іншими діагностичними тестами, тобто застосування комплексного інтегрального аналізу, допоможе у подальшому в одержанні ще більшого підвищення діагностичних та інформативних можливостей у дитячій урологічній практиці. Так, одночасне визначення діагностичної інформативності показників активності НАГ та  $\beta$ -ГАЛ у сечі із сечового міхура, що одержана під час фізіологічного сечовипускання, в динаміці спостереження у 17 дітей з вродженою однобічною уропатією ВСШ, що була діагностована пренатально, значно підвищило їх діагностичні характеристики: діагностична чутливість одночасного визначення у сечі з сечового міхура цих двох ферментів досягла 87%, діагностична специфічність — 92%, діагностична ефективність — 88% [8]. Тобто, перелічені діагностичні критерії при одночасному визначенні рівня активності НАГ та  $\beta$ -ГАЛ були зареєстровані нами як достатньо

високі та значущі, що дозволяє об'єктивно та цілеспрямовано відображати навіть незначні зміни стану обструктивної нефропатії у дітей з вродженою патологією верхніх сечових шляхів. Отже, комплексне дослідження обох ферментів у сечі із сечового міхура є надійним критерієм діагностичної інформативності щодо вродженої однобічної уропатії ВСШ, діагностованої пренатально, у зв'язку з тим, що воно підвищує вірогідність діагнозу та дозволяє скоротити число хибнопозитивних результатів.

Діагностична чутливість, як відомо, не є величиною стабільною, а залежить як від терміну впливу патологічного чинника, так і від тяжкості стану хворого. У зв'язку з цим ми урахували наведені діагностичні критерії для рівнів сечової активності НАГ та  $\beta$ -ГАЛ у залежності від одно- або двобічного обструктивного ураження верхніх сечових шляхів (табл. 2).

Як бачимо з наведених в табл. 2 даних, величини діагностичної чутливості та відповідно діагностичної ефективності для рівня сечової активності НАГ та  $\beta$ -ГАЛ у дітей з двобічним обструктивним процесом підвищуються, що підкреслює доцільність використання показників сечової активності НАГ та  $\beta$ -ГАЛ як діагностичних критеріїв ураження нирок за даної патології дитячого віку.

У порівняльному аспекті залежно від особливостей діагнозу застосування перелічених критеріїв діагностичної оцінки ензимологічних тестів, що досліджувалися, у сечі дітей з вродженою обструктивною уропатією ВСШ засвідчило,

Таблиця 2

**Діагностична інформативність показників активності N-ацетил- $\beta$ -D-глюкозамінідази і  $\beta$ -галактозидази у сечі дітей із вродженими обструктивними уропатіями верхніх сечових шляхів у залежності від одно- або двобічної розповсюдженості патологічного процесу**

Критерії оцінки, %	N-ацетил- $\beta$ -D-глюкозамінідаза		$\beta$ -галактозидаза	
	Сечовий міхур	Ниркова миска, сечовід	Сечовий міхур	Ниркова миска, сечовід
Діагностична чутливість	68/73	90/100	42/43	51/76
Діагностична ефективність	74/79	88/93	57/66	65/60
Передбачувана цінність позитивного результату	90/84	92/88	90/82	90/89
Передбачувана цінність негативного результату	57/74	81/100	43/60	50/78
Діагностична специфічність (контрольна група)	85	—	90	—

**Примітка:** чисельник дробу — критерій діагностичної оцінки у хворих з однобічною патологією; знаменник дробу — критерій діагностичної оцінки у хворих з двобічною патологією.

що діагностична чутливість у хворих з ОМУ більш виражена для активності НАГ (76% у сечі з сечового міхура та 100% у сечі з сечоводу), у хворих з ГН, навпаки, — для активності  $\beta$ -ГАЛ (44% у сечі з сечового міхура та 64% у сечі з ниркової миски). Більш значущі критерії діагностичної ефективності реєструються у хворих з ОМУ, ніж у дітей з ГН (81% — у сечі з сечового міхура та 91% у сечі з сечоводу проти 73% і 89% у хворих з ГН — для активності НАГ та відповідно 62% і 74% для активності  $\beta$ -ГАЛ проти 58% і 72% у хворих з ГН). У той же час передбачувана цінність позитивного результату для обох ферментів була більш вираженою у хворих з ГН (91–93%), передбачувана цінність негативного результату — у хворих з ОМУ (62–100%). Тобто, чисельні вирази критеріїв діагностичної оцінки ензимологічних тестів, що нами досліджувалися, певною мірою залежать також від особливостей локалізації вродженої обструкції ВСШ — на рівні уретеро-міхурового сегменту вони реєструються дещо вищими, ніж на рівні мисково-уретерального.

Таким чином, як показали результати наших досліджень, математичний розрахунок діагностичних критеріїв та аналіз на їх основі діагностичної цінності обраних нами ензимологічних тестів — рівня активності лізосомних гідролаз N-ацетил- $\beta$ -D-глюкозамінази та  $\beta$ -галактозидази у сечі засвідчили, що ці показники є достатньо інформативними та діагностично значущими для виявлення незначних, самих початкових ушкоджень функціонального стану проксимального нефротелію паренхіми нирки у дітей з пренатально діагностованою уретеропієлокалікоектазією. Перелічені ензимологічні тести при обстеженні дітей з обструктивними уропатіями ВСШ характеризуються високою чутливістю, діагностичною інформативністю, безпечністю для хворого та доступністю (біологічною рідиною слугує сеча), а також достатньою простотою технічного виконання.

## ВИСНОВКИ

1. Встановлена залежність кількісних виразів критеріїв діагностичної інформативності активності НАГ та  $\beta$ -ГАЛ у дітей з ГН та ОМУ від місця забору сечі — у сечі з ниркової миски або сечоводу вони є більш значущі, ніж у сечі з сечового міхура; та від тяжкості ураження паренхіми нирки — у хворих з двобічною патологією вони є значно вищими, ніж у хворих з однією

патологією та мають певні особливості залежно від локалізації обструктивного процесу.

2. Виявлено, що показники критеріїв діагностичної оцінки для активності НАГ сечі є більш значущими, ніж для активності  $\beta$ -ГАЛ сечі, але одночасне визначення цих ензимів у комплексі значно підвищує їх діагностичні характеристики.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Власов В.В. Эффективность диагностических исследований. — М.: Медицина, 1988. — 256 с.
2. Делекторская Л.Н., Пименова Л.М., Кадашева О.Г. Оценка диагностической информативности лабораторных тестов (методические рекомендации) // Лаб. дело. — 1992. — № 1–2. — С. 49–58.
3. Диагностическое значение энзимурии (обзор литературы) / Г.В. Фоменко, И.Я. Липицкая, Г.Г. Арабидзе, В.Н. Титов // Клиническая лабораторная диагностика. — 1994. — № 4. — С. 3–7.
4. Энзимологічні 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. Энзимологічні можливості діагностики ступеня активності запального процесу у дітей, хворих на пієлонефрит / Л.Я. Мигаль, І.В. Багдасарова, О.О. Дащенко, Л.В. Король, О.В. Лавренчук, С.П. Фомина, // Лаб. диагностика. — 2009. — № 1 (47). — С. 15–18.
6. Методика диагностической оценки клинических лабораторных исследований / В.В. Меньшиков, О.Г. Кадашева, Л.Н. Делекторская, Л.М. Пименова // Лаб. дело. — 1988. — № 6. — С. 67–70.
7. Патогенетические основы формирования и принципы лечения обструктивных уропатий 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.
8. Спосіб оцінки функціонального стану паренхіми нирки у дітей з пренатально діагностованою уретеропієлокалікоектазією / В.Ф. Петербургський, Д.А. Сеймівський, Л.Я. Мигаль, Г.Г. Нікуліна // Декларацийний патент на КМ № 10736, Україна, МПК 7 G 01 N 33/48; N u 2005 05562, 10.06.2005; Опуб. 15.11.2005. Бюл. № 11. — 5 с.
9. Ферменти лізосом у сечі дітей з вродженими вадами розвитку верхніх сечових шляхів / Г.Г. Нікуліна, Л.Я. Мигаль, І.Є. Сербіна, Д.А. Сеймівський, В.Ф. Петербургський, О.А. Каліщук // Лаб. диагностика. — 2011. — № 2 (56). — С. 3–7.
10. Хворостов И.Н., Зоркин С.Н., Смирнов И.Е. Обструктивная уропатия // Урология. — 2005. — № 4. — С. 73–76.
11. 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.
12. Skalova S., Rejtar P., Kutilek S. Increased urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase activity in children with hydronephrosis // Int. Braz. J. Urol. — 2007. — Vol. 33, № 1. — P. 80–86.
13. Urinary levels of the renal tubular enzyme N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in unilateral obstructive uropathy / M.C. Carr, C.A. Peters, A.B. Retik, J. Mandell // J. Urology. — 1994. — Vol. 151, № 2. — P. 442–445.



## ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ИНФОРМАТИВНОСТЬ ЭНЗИМОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИЗОСОМНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В МОЧЕ ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННОЙ ОБСТРУКЦИЕЙ ВЕРХНИХ МОЧЕВЫХ ПУТЕЙ

Л.А. Мигаль, Г.Г. Никулина, И.Е. Сербина,  
Д.А. Сеймивский, В.Ф. Петербургский

Диагностическая информативность (специфичность, чувствительность, эффективность, предсказательная ценность положительного и отрицательного результата) определения N-ацетил-β-D-глюкозаминидазы (НАГ) и β-галактозидазы (β-ГАЛ) была оценена в моче 115 детей с врожденной обструкцией верхних мочевых путей. Перечисленные критерии в моче из почечной лоханки (мочеточника) были более значимыми, чем в моче из мочевого пузыря; с двусторонней патологией — более высокими, чем с односторонней; для активности НАГ — более значимыми, чем для β-ГАЛ, одновременное определение этих энзимов в комплексе значительно повышает их диагностические характеристики.

## DIAGNOSTIC INFORMATIVITY OF ENZYMOLOGIC INDICES OF LYSOSOMIC ETIOLOGY IN URINE OF CHILDREN WITH CONGENITAL OBSTRUCTION IN URINARY TRACTS

L. Ya. Myhal, G. G. Nikulina, I. Ye. Serbina,  
D. A. Seimivsky, V. F. Peterburgsky

The diagnostic informativity (specificity, sensitivity, efficacy, prognostic value of positive and negative result) in determining N-acetyl-β-D-glucosaminidase (NAG) and β-galactosidase (β-GAL) was measured in urine of 115 children having congenital obstruction in upper urinary tracts. The above criteria in urine from renal pelvic (ureter) were higher than those from urinary bladder; in case of bilateral pathology they were higher than with unilateral; for NAG activity — more important than for β-GAL. The simultaneous determination of these enzymes in complex elevates considerably their diagnostic characteristics.

УДК 612.112.3:577.7:576.852.211

І.Ф. Ільїнська, О.М. Зубрійчук

## ВПЛИВ ІНТОКСИКАЦІЇ НА АПОПТОЗ ФАГОЦИТУЮЧИХ КЛІТИН ПРИ ТУБЕРКУЛЬОЗІ

ДУ “Національний інститут фтизіатрії  
і пульмонології імені Ф.Г. Яновського  
Національної академії медичних наук України”,  
м. Київ, Україна

Апоптоз фагоцитуючих клітин при туберкульозі (ТБ), як і більшість імунологічних механізмів, має дуалістичне патогенетичне значення: з одного боку, він виступає головним регулятором

імуної відповіді на збудник, а з іншого призводить до імунологічної недостатності [9] та сприяє розповсюдженню мікобактерій туберкульозу (МБТ) в макроорганізмі і забезпечує їх тривалу персистенцію [1, 5]. Дослідженнями останніх років було встановлено, що інтенсивність програмованої смерті (ПС) нейтрофілів (Нф), моноцитів (Мц) і макрофагів при ТБ залежить як від біологічних властивостей МБТ, таких як вірулентність, життєздатність та бактеріальне навантаження [4, 5, 12] так і від стану організму хазяїна, в першу чергу його генетичної сприйнятливості до цієї інфекції [2, 3, 14].

Ще одним фактором, який може істотно впливати на апоптоз фагоцитуючих клітин при ТБ є інтоксикація. Відомо, що МБТ самі не виділяють екзотоксинів, ендотоксинів чи гістолітичних ферментів, тому при первинному інфікуванні явища інтоксикації та ушкодження тканин, як правило, відсутні [7, 8]. Саме імунні механізми лежать в основі деструктивних процесів, лихоманки та втрати ваги у хворих. Вважається, що вони відносяться до патологічних ефектів фактору некрозу пухлини-альфа (TNF-α), продукція якого залежить від балансу Т-хелперів I та II типів [13]. Відомо, що TNF-α виступає одним з головних цитокінів, який запускає ПС багатьох типів клітин (так званий АРО-1 шлях), у т.ч. фагоцитуючих [12]. Тому метою даної роботи, виконаної за кошти держбюджету, було вивчення особливостей апоптозу Нф та Мц крові у хворих на ТБ в залежності від наявності та виразності інтоксикації.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

В дослідженні використовували Нф та Мц периферичної крові (ПК) 160 хворих на ТБ легень віком від 18 до 82 років (з них 81 чоловік та 69 жінок), котрі перебували на стаціонарному лікуванні в ДУ “Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф.Г. Яновського Національної академії медичних наук України” і перед початком лікування проходили обстеження у лабораторії клінічної імунології, а також фагоцитуючі клітини ПК 28 волонтерів без клінічних ознак інфекційної та соматичної патології віком від 20 до 56 років.

Ступінь інтоксикації хворих (0, I, II, III) визначали математичним методом В.М. Фрайта [11] за такими клінічними ознаками, як наявність та характер кашлю і мокротиння, слабкість, пітливість, анорексією, зниженням ваги тіла,