

УДК 616.633.1: 616.61-089.843

РЕНОСПЕЦИФІЧНІ ФЕРМЕНТИ СЕЧІ - МАРКЕРИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ПЕРЕСАДЖЕНОЇ НИРКИ

Мигаль Л.Я., Король Л.В., Нікуліна Г.Г.

Інститут нефрології АМН України, Київ.

Алотрансплантація нирки – це надзвичайно необхідний ефективний замісний альтернативний метод лікування незворотних змін та ушкоджень цього життєво важливого органа, зокрема лікуванні хворих на кінцевій (термінальній) стадії розвитку хронічної ниркової недостатності (ХНН на III-IV стадії) [1]. Незважаючи на позитивні зрушення у вирішенні деяких суто клінічних проблем пересащеної нирки, число ускладнень після цієї операції все ще залишається досить значущим, отже в цілому ця проблема все ще не може вважатися вирішеною. Під впливом патологічної дії багатьох чинників – метаболічних, імунологічних, інфекційних та інших порушується, у першу чергу, функціональний стан ниркового трансплантата. У свою чергу чутливим та, що особливо важливо, неінвазивним методом діагностики функціонального стану трансплантованого органа на сьогодні є визначення змін активності умовно реноспецифічних ферментів сечі, що справедливо вважаються маркерами ураження ниркової паренхіми, зокрема нефротелію проксимальних каналців нефрону [2]. Одним з найбільш надійних з-посеред таких маркерів є активність лісомного ферменту N-ацетил-в-Д-глюкозамінідази (НАГ). Показано підвищення активності НАГ в сечі при розвитку епізодів відторгнення ниркового трансплантата або нефротоксичної дії імуносупресивних препаратів [3,4]. До ферментів, що здатні охарактеризувати функціональний стан паренхіми нирок, належить також ще й лізосомний фермент в-галактозидаза (в-гал) та термостабільний ізофермент НАГ (НАГ В). Також одним з найбільш цікавих маркерів функціонального стану нирки є визначення активності мітохондріальнозв'язаного ферменту L-канаванін: орнітин амідинотрансферази (КОАТ), який є міцно зв'язаним з мембраною мітохондрій, а в нормальних фізіологічних умовах активність КОАТ ні в сироватці крові, ні в сечі не виявляється. Поява КОАТ в цих біологічних рідинах є вельми чутливим тестом ураження тканини нирки, що відображає стан та досить серйозну ступінь ушкод-

ження паренхіми нирок. Доцільність визначення НАГ, НАГ В, в-гал та КОАТ у сечі хворих з ХНН на III-IV стадії та після трансплантації нирки зумовлена: по-перше, досить високим вмістом ферментів у тубулярному нефротелію проксимального відділу нефрону; по-друге, здатністю лізосомних гідролаз проникати у позаклітинний простір (сечу) без ушкодження цілісності епітеліальних клітин шляхом внутрішньоклітинної секреції та екзоцитозу, що характеризують переважно функціональні зміни у нефроні; по-третє, відсутністю залежності рівня ферментурії від величин ферментемії, протеїн-, лейкоцит- та еритроцитурії, в-четверте, наявністю вельми доступної для дослідження рідини – сечі, що безпосередньо контактує з нефротелієм, та, по-п'яте, високою чутливістю та інформативністю як самих ферментних показників, так і методів їх визначення. Метою даного дослідження було виявлення можливості використання визначення активності НАГ, НАГ В, в-гал та КОАТ в сечі як маркерів функціонального стану нирки в ранньому післяопераційному періоді.

Матеріали та методи.

Обстежено 25 хворих з ХНН на III-IV стадії до трансплантації та у динаміці раннього післяопераційного періоду: через 5-7 днів, 10-14 днів, на 20 та 30 добу після алотрансплантації нирки. Залежно від функціонального стану трансплантованої нирки та перебігу раннього післятрансплантаційного періоду усі пацієнти були розподілені на дві групи: I група (11 пацієнтів) – із задовільною функцією пересащеної нирки (креатинін крові не досягав 0,35 ммоль/л) та II група (14 пацієнтів) – з незадовільною функцією трансплантата (креатинін крові перевищував 0,35 ммоль/л). Результати порівнювали з контрольними даними, отриманими при обстеженні 22 практично здорових осіб.

Активність ферментів лізосомного походження - загальної НАГ та в-Гал, що визначали у разовій порції ранкової сечі за методом [5] у нашій модифікації. Активність

термостабільного ізоферменту НАГ В в сечі визначали так само, як і визначення загальної активності НАГ, але після термоінактивації при 50°C при рН 5.0 протягом 3 годин термолабільної ізофракції НАГ А сечі згідно рекомендацій [6]. Ферментативну активність сечі виражали у відносних одиницях -в мкмоль утвореного р-нітрофенолу із розрахунку на 1 ммоль креатиніну сечі за одну годину інкубації. Метод визначення активності КОАТ заснований на реакції переносу амідинової групи з 1-канаваніну на 1-орнітин з утворенням аргініну, що визначають колориметричним методом за утворенням забарвленого комплексу з 8-оксихіноліном у присутності гіпоброміду натрію [7]. Ферментативну активність виражали у абсолютних одиницях – ммоль/л сечі за 1 годину інкубації. Статистичну обробку даних виконували за допомогою програмного забезпечення Excel.

Результати та їх обговорення.

В результаті проведеного дослідження встановлено, що показники активності НАГ, НАГ В та в-гал в сечі у хворих з ХНН на III-IV стадії перевищували показники активності ферментів у здорових осіб з високим ступенем вірогідності (Таблиця). Також майже у всіх хворих в сечі виявлено активність міцно пов'язаної з мембраною мітохондрій КОАТ, що відсутня в сечі практично здорових осіб.

Після трансплантації нирки у пацієнтів I групи (з задовільною функцією трансплан-

тата) у цілому за середніми даними виявлено позитивну динаміку показників активності лізосомних гідролаз сечі порівняно з показниками до операції, але не до рівня показників у здорових людей (див. таблицю). Більш детальний аналіз показників активності лізосомних гідролаз сечі показав, що у хворих з задовільною функцією трансплантата (група I) вже на 5-7 добу після операції відмічається зниження активності НАГ. При подальшому спостереженні за цими пацієнтами з'ясувалося, що показники загальної активності НАГ більш-менш стабілізуються протягом місяця після операції. Проте не зареєстровано паралелізму змін показників активності загальної НАГ та її реноспецифічного термостабільного ізоферменту НАГ В. Якщо активність НАГ статистично знижується у перші 5-7 діб після операції, то активність НАГ В знижується тільки через місяць після пересадки органа.

Показники активності в-гал в сечі у пацієнтів I групи як через 5-7 діб, так і протягом усього періоду спостереження вірогідно не змінювалися.

Середні показники активності КОАТ в сечі хворих при задовільній функції ниркового трансплантата на 5-7 добу практично не змінювалися проти рівня до операції, а надалі спостерігалось поступове зниження показників активності ферменту протягом місяця. Відмічено також, що паралельно з цим знижувалася й частота виявлення фер-

Таблиця

Показники реноспецифічної ферментурії у хворих з ХНН на III-IV стадії до та після алотрансплантації нирки (функція трансплантата задовільна)

№	Групи хворих	Концентрація креатиніну в крові ммоль/л	Активність			
			НАГ <i>п</i> -нітрофенолу із розрахунку на 1 ммоль креатиніну сечі за 1 годину інкубації	НАГ В	β-гал	КОАТ ммоль/л за 1 годину
1	I	0,729±0,027	290,72±20,07	28,89±5,58	23,35±2,73	0,255±0,025
2	II	0,274±0,021	120,71±4,92	34,58±3,41	29,10±2,49	0,25±0,017
3	III	0,258±0,032	126,42±3,94	32,67±3,31	33,40±2,43	0,124±0,022
4	IV	0,190±0,013	132,60±3,74	33,35±3,62	35,77±2,65	0,060±0,021
5	V	0,183±0,021	124,39±3,07	16,06±1,64	43,17±3,32	0,065±0,020
6	VI	0,099±0,005	13,39±1,68	1,85±0,28	10,62±1,90	0±0
	p 1-2	0,01	0,001	-	-	-
	p 1-3	-	0,001	-	0,02	0,05
	p 1-4	-	0,01	-	0,02	0,02
	p 1-5	0,01	0,001	0,01	0,01	0,02
	p 1-6	-	0,001	,001	0,001	0,001
	p 4-5	-	-	0,001	0,05	-

менту в сечі хворих. Так, на 10-14 добу після операції активність ферменту виявлялася у 80% та не виявлялася у 20% хворих в сечі. Вже на 20 добу активність ферменту виявлена тільки у 30% хворих, а на 30 добу – лише у одного з 11 хворих.

Динаміка змін показників активності лізосомних ферментів сечі у пацієнтів із незадовільною функцією трансплантата (II група) констатує вірогідне їх підвищення порівняно зі станом до операції вже в перші дні після пересадки нирки (загальна активність НАГ – $450,71 \pm 49,54$, НАГ В – $210,47 \pm 19,92$, в-гал- $83,84 \pm 11,13$ мкмоль утвореного р-нітрофенолу із розрахунку на 1 ммоль креатиніну сечі за одну годину інкубації). Надалі, протягом місяця, активність всіх лізосомних гідролаз сечі у хворих цієї групи дещо коливалася, проте залишалася вірогідно вищою за показники до операції. Так, на 30 добу після пересадження нирки загальної активність НАГ становила $416,00 \pm 23,02$; НАГ В- $147,85 \pm 17,90$; в-гал- $57,87 \pm 3,07$ відповідно.

Активність КОАТ в сечі у пацієнтів з незадовільним функціонуванням ниркового трансплантата (переважно з розвитком гострої постішемічної ниркової недостатності трансплантата) статистично достовірно не відрізнялася від показників у хворих з ХНН на III-IV стадії до операції.

Кореляційний аналіз між показниками активності лізосомних гідролаз сечі та показниками креатинінемії обох груп хворих виявив прямий помірний та високий зв'язок ($r=0,65-0,83$, $p<0,02-0,01$).

Отже, аналіз отриманих результатів показав, що навіть у хворих з задовільною функцією трансплантата показники активності реноспецифічних ферментів, незалежно від терміну спостереження, залишалися набагато вищими за аналогічні показники у здорових людей. Цей факт, на наш погляд, ймовірно може бути наслідком ушкоджень клітинних та субклітинних структур, що розвинулися у процесі ішемізації трансплантованої нирки до та після її ревазуляризації. Можливо також, що це є наслідком латентного перебігу нефропатії відторгнення, що у деяких хворих не мала клінічних проявів.

Таким чином, виявлене нами вірогідне підвищення активності реноспецифічних ферментів в сечі у хворих I групи (порівня-

но зі здоровими людьми) дозволяє припустити наявність певних зрушень у функціональному стані канальцевого епітелію трансплантата навіть за умов збереження гомеостатичних функцій пересаженого органа. Встановлена чітка залежність між функціональним станом трансплантованого органа та екскрецією реноспецифічних ферментів, що мала більш низькі значення при задовільному функціонуванні трансплантата та більш високі величини - при незадовільному його функціонуванні.

Висновки

Встановлено, що комплексне визначення активності лізосомних гідролаз та мітохондріальнозв'язаної КОАТ дозволяє діагностувати: по-перше, приховані ураження ниркової паренхіми у пацієнтів з відновленою функцією ниркового трансплантата, по-друге, більш серйозні ураження ниркової паренхіми у пацієнтів з незадовільним функціонуванням ниркового трансплантата, що вказує на наявність поширеної деструкції нефротелію канальцевого відділу нефрону. Поступове зниження активності КОАТ у пацієнтів з задовільною функцією трансплантата може свідчити про досить повільне відновлення ушкоджень, що набуті трансплантованим органом ще в організмі донора або після його ревазуляризації. В цілому, отримані дані вказують на можливість використання цих ферментних показників як маркерів контролю за функціональним станом пересаджених нирок, зокрема за станом лізосомних та мітохондріальних мембран клітин тубулярного відділу нефрону при прогнозуванні перебігу раннього післятрансплантаційного періоду.

Література

1. Баран Є.Я. Сучасні вимоги до відбору і підготовки реципієнтів для трансплантації донорської нирки// Трансплантологія.- 2002.- Т.3, №1.- С.3-6.
2. Фоменко Г.В., Липицкая И.Я., Арабидзе Г.Г., Титов В.Н. Диагностическое значение энзимурии (обзор литературы)// Клин. лабор. Диагностика.-1994.- №4.- С.37-41.
3. Bornstein B., Arenas J., Morales J., et al/ Cyclosporine nephrotoxicity and rejection criss-diagnosis by urinary enzyme excretion // Nephron.- 1996.- V. 72.- N3.- P.402-406.
4. Kotanko H., Margeiter R., Pfaller W. Graft

ischemia correlates with urinary excretion bisphosphatase in human kidney-transplantation // *Nepron.*- 1997.- V.77.- N1.- P. 62-67.

5. Покровский А.А., Кравченко Л.В., Тутельян В.А.. Исследование активности ферментов лизосом при действии афлатоксина и митомицина // *Биохимия.*- 1971.-Т.36, №4.-С.690-696.
6. Цветкова И.В., Козина А.Б., Методы определения N-ацетил-в-Д-гексозаминидазы А для пренатальной диагностики болезни Тея-Сакса и выявления гетерозиготных носителей заболевания // *Современные методы в биохимии.*- М.: Медицина, 1974.-С.132-176.
7. Карпенко В.С., Колесников Г.Ф., Петрунь Н.М. и др.. Функциональная диагностика в урологии и нефрологии.- Киев, "Здоров'я".- 1977.- 224с.

Резюме

РЕНОСПЕЦИФІЧНІ ФЕРМЕНТИ СЕЧІ -
МАРКЕРИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ
АЛОТРАНСПЛАНТОВАНОЇ НИРКИ

Мигаль Л.Я., Король Л.В., Нікуліна Г.Г.

Рівні лізосомних ферментів N-ацетил-в-Д-глюкозамінідази (НАГ), її ізоферменту НАГ В, бета-галактозидази та мітохондріальної L-канаванін: орнітин амідотрансферази (КОАТ) визначали в сечі пацієнтів на кінцевій стадії хронічної ниркової недостатності та після алотрансплантації нирки в ранньому післяопераційному періоді. У реципієнтів з задовільною функцією ниркового трансплантата спостерігалось зниження

активності НАГ на 5 добу, а активності НАГ В та КОАТ- протягом 30 днів після операції. При незадовільній функції нирок у реципієнтів відмічено підвищення реноспецифічної ензимурії. Отже, визначення реноспецифічних ферментів в сечі може використовуватися в якості маркерів функціонального стану ниркового алотрансплантата.

Ключові слова: функція нирки, ферменти, сеча, нирковий алотрансплантат

Summary

THE RENAL SPECIFIC ENZYMES OF URINE
- MARKERS OF FUNCTION OF STATE OF
ALLOTRANSPLANTATED KIDNEY

Migal L.Yu., Korol L.V., Niculina G.G.

The levels of lysosomal enzyme N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG), its isoenzyme NAG B, beta-galactosidase and mitochondrial enzyme L-canavanine: ornithine amidinotransferase were determined in urine of patients with end-stage chronic renal failure before and after renal allotransplantation in the early postoperative period. The recipients with satisfactory function of renal allotransplantate showed significant decrease of NAG activity on the 5 day, NAG B and COAT activity - on the 30 day after operation. The recipients with unsatisfactory function of renal allotransplantate showed significant increase of the renal specific enzymuria. So, investigation of the renal specific enzymes in urine may be used as markers for diagnostics of functional state of allotransplantated kidney.

Key words: function of kidney, enzyme, urine, allotransplantate of kidney.

УДК 616.988.7-053.2-097+616-018.2—007.17

КОРЕКЦІЯ ПОРУШЕНЬ ІМУНІТЕТУ У ДІТЕЙ ПРАЦІВНИКІВ ЗАЛІЗНИЧНОГО ТРАНСПОРТУ, ЩО МАЮТЬ ОЗНАКИ НЕДИФЕРЕНЦІЙОВАНОЇ ДИСПЛАЗІЇ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ТА СТРАЖДАЮТЬ НА ЧАСТІ ГРВІ

Починок Т.В., Тяжка О.В., Безпалько Ю.М., Братусь О.П.

Національний медичний університет ім. О.О.Богомольця

Дорожня клінічна лікарня № 1, ст. Київ

Вступ

Діти, що часто хворіють на повторні гострі респіраторні захворювання (ГРЗ), відносяться до другої групи здоров'я, при певних умовах можуть залишатися здоровими, а при дії несприятливих факторів хворіти, в тому числі гострими респіратор-

ними вірусними інфекціями (ГРВІ) з формуванням хронічної бронхолегеневої та інших видів соматичної патології [1]. Незважаючи на значну кількість досліджень із цієї проблеми, її не можна вважати остаточно вирішеною в зв'язку з ростом в Україні числа дітей, які часто хворіють на ГРВІ, що, можливо, пов'язано з погіршенням соціаль-