

Abstract

Babintseva A.G.

*Bukovinian state medical
university, 2, Theatralna sq.,
Chernivtsi-city, 58002, Ukraine*

**ENZYMATIC MARKERS OF RENAL LESIONS IN TERM
NEWBORNS WITH PERINATAL PATHOLOGY**

Introduction. Considering universality of hypoxic lesions of various systems of organs, morpho-functional immaturity of the body, absence of specific clinical manifestation of renal lesions in newborns and the necessity to use potentially nephrotoxic therapeutic means in sick newborns, the study of enzymuria and interrelations between separate components in general cohort of children with disturbed process of early postnatal adaptation is topical. It will enable further laboration of diagnostic-therapeutic algorithm of management of such children considering severity of perinatal pathology but not a separate nosologic unit.

Purpose: to detect activity of enzymes in the urine of newborns with perinatal pathology of various severity with the aim to find the depth of lesion of the structural-functional elements of the kidneys and localization of pathological process.

Materials and Methods.

A **comprehensive** clinical-paraclinical examination of 121 term newborns was conducted. The children were distributed according to the degree of severity of the processes of early neonatal adaptation. The first main group included 36 newborns with severe disorders of general condition (IA group), these condmain group – 48 children with disorders of adaptive processes of moderate severity (IB group). The control group included 37 healthy newborns (II group). The degree of severity of clinical-paraclinical signs of perinatal pathology was detected by means of neonatal scale of acute physiology (Score for Neonatal Acute Physiology Perinatal Extension – SNAP-PE). Exception criteria were gestation term less than 37 weeks, body weight less 2500 g, congenital defects of the urinary system.

Absolute activity of the following enzymes was examined: cholinesterase (EC 3.1.1.7), aspartate aminopeptidase (EC 2.6.1.1), alanine aminopeptidase (EC 2.6.1.2), alkaline phosphatase (3.1.3.1), lactate dehydrogenase (EC 1.1.1.27), gamma-glutamyltransferase (EC 2.3.2.2) of urine by means of biochemical methods as well as correlation of activity of these enzymes to the level of creatinine in urine.

Discussion. Term newborns with clinical signs of perinatal pathology were indicated to constitute the high risk group concerning functional disorders of the urinary system, and traditional methods of their confirmation are of not high diagnostics value. Term children with intensification of the degree of severity of perinatal pathology show are liable increase of enzymatic activity (alkaline phosphatase, gamma-glutamyltransferase), cytosol (alanine aminopeptidase) and mitochondria (aspartate aminopeptidase, lactate dehydrogenase) which is indicative of deep lesions of the nephrothelial structure and requires a certain correction of therapeutic measures. At the same time, under conditions of perinatal pathology in term newborns the canalicular structures are

mostly disturbed against the ground of a high risk of development of glomerular filter dysfunction, which under unfavourable conditions may result in the formation of terminal renal lesions – acute renal failure. Timely prognosis and diagnostics of functional disorders of the urinary system in general cohort of sick newborns in the first days of life considering classical criteria and activity of urinary enzymes will enable to prevent the formation of severe renal pathology, to decrease levels of morbidity and mortality of children of this group.

Keywords: newborn, enzymuria, cholinesterase, alkaline phosphatase, gamma-glutamyltransferase, aminopeptidases, lactate dehydrogenase.

Corresponding author: *langust76@mail.ru

Резюме

Бабінцева А.Г.

*Буковинський державний
медичний університет,
Театральна пл., 2, м. Чернівці,
58002, Україна*

ЕНЗИМАТИЧНІ МАРКЕРИ ПОШКОДЖЕННЯ НИРОК У ДОНОШЕНИХ НОВОНАРОДЖЕНИХ З ПЕРИНАТАЛЬНОЮ ПАТОЛОГІЄЮ

Метою роботи було визначення активності ферментів у сечі новонароджених дітей з перинатальною патологією різного ступеня тяжкості для встановлення глибини пошкодження структурно-функціональних елементів нирок та локалізації патологічного процесу. Проведено комплексне клініко-параклінічне обстеження 36 новонароджених з порушеннями загального стану тяжкого ступеня, 48 дітей з порушеннями процесів адаптації середнього ступеня тяжкості та 37 здорових новонароджених дітей на 48-72 годині життя. Показано, що доношені новонароджені діти з клінічними проявами перинатальної патології складають групу високого ризику щодо порушень функціонування сечовидільної системи, традиційні методи підтвердження яких мають недостатньо високу діагностичну цінність. У доношених дітей з наростанням ступеня тяжкості перинатальної патології спостерігається достовірне підвищення активності ферментів «щіткової облямівки» (лужної фосфатази, гамма-глутамілтрансферази), цитозолі (аланінамінотрансферази) та мітохондрій (аспартатамінотрансферази, лактатдегідрогенази), що свідчить про глибокі пошкодження структур нефротелію та вимагає проведення відповідної корекції лікувальних заходів. При цьому, за умов перинатальної патології у доношених новонароджених переважно порушуються каналцеві структури на фоні високого ризику розвитку дисфункції гломерулярного фільтру, що за несприятливих умов може призвести до формування термінального пошкодження нирок – гострої ниркової недостатності. Своєчасне прогнозування та діагностика порушень функціонування сечовидільної системи у загальній когорті хворих новонароджених у перші доби життя з урахуванням класичних критеріїв та активності ферментів сечі надасть змогу попередити формування тяжкої ниркової патології, знизити рівні захворюваності та смертності дітей даної групи.

Ключові слова: новонароджений, ензимурія, холінестераза, лужна фосфатаза, гамма-глутамілтрансфераза, амінотрансферази, лактатдегідрогеназа.



Резюме**Бабінцева А.Г.***Буковинський державний
медичинський університет,**Театральна пл., 2, г. Чернівці,
58002, Україна***ЭНЗИМАТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК У
ДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ С ПЕРИНАТАЛЬНОЙ
ПАТОЛОГИЕЙ**

Целью работы было определение активности ферментов в моче новорожденных детей с перинатальной патологией разной степени тяжести для установления глубины повреждения структурно-функциональных элементов почек и локализации патологического процесса. Проведено комплексное клинико-параclinical обследование 36 новорожденных с нарушениями общего состояния тяжелой степени, 48 детей с нарушениями процессов адаптации средней степени тяжести и 37 здоровых новорожденных детей на 48-72 часу жизни. Показано, что доношенные новорожденные дети с клиническими проявлениями перинатальной патологии составляют группу высокого риска развития нарушений функционирования мочевыделительной системы, традиционные методы выявления которых имеют недостаточно высокую диагностическую ценность. У доношенных детей при возрастании степени тяжести перинатальной патологии наблюдается достоверное повышение активности ферментов «щеточной каемки» (щелочной фосфатазы, гамма-глутамилтрансферазы), цитозоля (аланинаминотрансферазы) и митохондрий (аспартатаминотрансферазы, лактатдегидрогеназы), что свидетельствует о глубоких повреждениях структур нефротелия и требует проведения соответствующей коррекции лечебных мероприятий. При этом, при перинатальной патологии у доношенных новорожденных преимущественно поражаются канальцевые структуры почек на фоне высокого риска развития дисфункции гломерулярного фильтра, что при неблагоприятных условиях может привести к формированию терминального повреждения почек – острой почечной недостаточности. Своевременное прогнозирование и диагностика нарушений функционирования мочевыделительной системы в общей когорте больных новорожденных в первые сутки жизни с учетом классических критериев и активности уринарных ферментов позволит предупредить формирование тяжелой почечной патологии, понизить уровни заболеваемости и смертности детей данной группы.

Ключевые слова: новорожденный, энзимурия, холинэстераза, щелочная фосфатаза, гамма-глутамилтрансфераза, аминотрансферазы, лактатдегидрогеназа

Автор, відповідальний за листування: * langust76@mail.ru

Вступ

Оцінка активності ферментів у біологічних рідинах є традиційним методом лабораторної діагностики різноманітних патологічних процесів в організмі людини. З більшою частотою вивчається активність ферментів у сироватці/плазмі та клітинах крові, а також тканинах біопсійного матеріалу. Натомість визначення активності ферментів у сечі є простим у використанні неінвазивним методом оцінки функцій нирок як у дорослих, так і у дитячій когорті пацієнтів [1-5].

Найбільш активна увага науковців до вивчення саме уринарних ферментів розпочалася наприкінці 50-х років минулого століття, коли

Rosalki and Wilkinson (1959) визначили у сечі людей з патологією нирок підвищення активності таких ферментів як лактатдегидрогеназа та алкаліфосфатаза. Пізніше були проведені чисельні дослідження активності більше 40 ферментів у комплексі діагностики ренальних захворювань [1;2].

Вивчення активності ферментів у сечі є перспективним напрямком діагностики захворювань нирок, оскільки основним джерелом ферментурії є клітини нефротелію. За нормальних умов лише декілька ферментів з малою молекулярною масою можуть проникати через неушкоджений гломерулярний бар'єр (амілаза, лізоцим тощо). При пошкодженні різних струк-



тур каналців та клубочків збільшується проникливість клітинних мембран та руйнуються клітини, що індукує екскрецію різних ферментів з клітин у сечу. Показана специфічність деяких ферментів щодо діагностики клітинного рівня та анатомічної локалізації ренальних пошкоджень [1-7].

У педіатричній когорті висока діагностична цінність ферментурії показана при обструктивних уропатіях, інфекційних захворюваннях сечовидільної системи, а також гіпоксично-ішемічній та гіпоксично-травматичній енцефалопатії, асфіксії різного ступеня тяжкості, діабетичній та ішемічній нефропатії новонароджених [5-9].

Враховуючи універсальність гіпоксичного пошкодження різних систем органів, морфофункціональну незрілість організму, відсутність специфічної клінічної картини ренальних пошкоджень у новонароджених дітей та необхідність використання потенційно нефротоксичних засобів терапевтичного втручання у хворих новонароджених дітей, актуальним є вивчення ферментурії та взаємозв'язків між окремими компонентами саме у загальній когорті дітей з порушеним процесом ранньої постнатальної адаптації. У подальшому це надасть змогу розробити діагностично-лікувальний алгоритм ведення таких дітей з урахуванням ступеня тяжкості перинатальної патології, а не окремої нозологічної одиниці. Результати дослідження даного характеру у науковій літературі відсутні.

Мета дослідження: визначення активності ферментів у сечі новонароджених дітей з перинатальною патологією різного ступеня тяжкості для встановлення глибини пошкодження структурно-функціональних елементів нирок та локалізації патологічного процесу.

Матеріали та методи дослідження.

Проведено проспективне когортне дослідження на базі міських комунальних медичних установ «Клінічний пологовий будинок» №1 та №2 м.Чернівці у період з грудня 2013 р. по березень 2015р. Проведено комплексне клініко-параклінічне обстеження 121 доношеної новонародженої дитини, які були розподілені за ступенем тяжкості порушень процесів ранньої неонатальної адаптації. Першу основну групу обстеження склали 36 новонароджених з порушеннями загального стану тяжкого ступеня (ІА група), другу основну групу обстеження – 48 дітей з порушеннями процесів адаптації середнього ступеня тяжкості (ІБ група). Групу конт-

ролю склали 37 здорових новонароджених дітей (ІІ група). Ступінь тяжкості клініко-параклінічних проявів перинатальної патології встановлювали з використанням неонатальної шкали гострої фізіології (Score for Neonatal Acute Physiology Perinatal Extension – SNAP-PE). Порушення тяжкого ступеня встановлювали при загальній сумі більше 50 балів, середнього ступеня тяжкості – менше 50 балів [10]. Критеріями виключення з дослідження були гестаційний вік менше 37 тижнів, маса тіла менше 2500г, вроджені вади розвитку сечовидільної системи.

Збір сечі проводили на 48-72 годинах життя дітей, зранку з 6-00 по 9-00 у стерильні пластикові сечоприймачі для новонароджених, відстоювали при температурі +4⁰С протягом 3 годин, центрифугували протягом 15 хвилин при 3000 об./хв. Підготовлену сечу досліджували у день забору матеріалу або зберігали протягом 1 тижня при температурі +4⁰С. Досліджували активність ферментів: холінестерази (ХЕ, ЕС 3.1.1.7), аспаратамінотрансферази (АсАТ, ЕС 2.6.1.1), аланінамінотрансферази (АлАТ, ЕС 2.6.1.2), лужної фосфатази (ЛФ, 3.1.3.1), лактатдегідрогенази (ЛДГ, ЕС 1.1.1.27), γ -глутаміл-трансферази (ГГТ, ЕС 2.3.2.2), та рівень креатиніну у сечі за допомогою біохімічних методів з використанням стандартних наборів реактивів фірми «Філісіт-діагностика» (Дніпропетровськ, Україна). Дослідження виконано на базі лабораторії кафедри біоорганічної і біологічної хімії та клінічної біохімії (зав. кафедри – професор, д.мед.н. Геруш І.В.) Буковинського державного медичного університету.

Для проведення статистичного аналізу отриманих результатів дослідження використано програму Statistica 8 (StatSoft Inc., USA). Вірогідність відмінностей між відносними величинами визначалася за методом кутового перетворення Фішера « ϕ ». За умов нормального розподілу величин (критерій Шапіро-Уїлка >0,05) використано параметричні методи статистики з розрахунком середньої арифметичної величини (М) та похибки репрезентативності середньої величини (m). При відсутності нормального розподілу величин (критерій Шапіро-Уїлка <0,05) застосовано непараметричні методи статистики з визначенням медіани (Me) й інтерквартильного розмаху [Lq – нижній кuartиль; Uq – верхній кuartиль]. Порівняння кількісних показників з нормальним розподілом проводили з використанням t-критерію Ст'юдента. Для порівняння трьох вибірок з ненормальним розподі-

лом використовували непараметричний Kruskal-Wallis test (KW) з подальшим проведенням пост-хокового тесту для визначення достовірної різниці показників між окремими групами обстеження. Оцінку зв'язку між рядами показників з ненормальним розподілом проводили за допомогою методів рангової кореляції Spearman (r). Різницю параметрів вважали статистично значущою при $p < 0,05$.

Дослідження проведено з дотриманням основних положень GCP (1996 р.), Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1997 р.), Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю лю-

дини (1964 - 2008 рр.), Наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. (зі змінами, внесеними згідно з Наказом МОЗ України №523 від 12.07.2012 р.) та схвалено Комісії з питань біомедичної етики Буковинського державного медичного університету. Перед включенням новонароджених у групу обстежень отримано письмову згоду батьків.

Результати дослідження.

Результати клінічного обстеження дітей показали однорідність груп, про що свідчить відсутність достовірної різниці між групами обстеження щодо гестаційного віку, антропометричних показників та гендерних ознак (табл.1).

Таблиця 1.

Клінічна характеристика дітей груп обстеження, n(%), M±m

Показник	IA група	IB група	II група
Кількість пацієнтів, n(%)	36 (100,0)	48 (100,0)	37 (100,0)
Гестаційний вік, тиж.	38,28±1,15	38,78±1,34	38,14±1,96
Стать (хлопчики), n (%)	24 (66,7)	26 (54,2)	25 (67,5)
Стать (дівчатка), n (%)	12 (33,3)	22 (45,8)	12 (32,5)
Маса тіла, г	3286,8±504,76	3320,42±468,34	3374,87±442,87
Довжина тіла, см	53,68±2,33	53,38±2,54	53,24±2,54

Вивчення результатів оцінки оптимальності перебігу вагітності та пологів показало, що ступінь тяжкості порушень загального стану доно-

шених дітей після народження залежить більше від складності перебігу інтранатального періоду, ніж антенатального розвитку (табл.2).

Таблиця 2.

Особливості анамнезу, соматичної та гінекологічної патології, перебігу вагітності та пологів у матерів дітей груп обстеження, n(%)

Показник	IA група (n=36)	IB група (n=48)	II група (n=37)
Вагітність перша	19 (52,8)	20 (42,1)	17 (45,9)
Пологи перші	25 (69,4)	26 (54,2)	18 (48,6)
Пізні первістки	15 (41,7)*	16 (33,3)	5 (13,6)
Нейроциркуляторна дистонія	13 (36,1)	17 (35,4)	11 (29,7)
Патологія щитоподібної залози	12 (33,3)	17 (35,7)	8 (21,6)
Патологія сечовидної системи	12 (33,3)	9 (18,9)	13 (35,1)
Патологія травної системи	4 (11,1)	10 (21,0)	3 (8,2)
Патологія дихальної системи	2 (5,6)	4 (8,4)	1 (2,7)
Патологія серцево-судинної системи	1 (4,2)	1 (2,1)	3 (8,2)
Опасність	6 (16,7)*	6 (12,6)	1 (2,7)
Інфекції TORCH-комплексу (уреоплазмоз)	5 (13,9)*	3 (6,3)	1 (2,7)
Фіброміома тіла матки	3 (8,3)*	3 (6,3)*	-
Загроза самовільного викидню	30 (83,3)*	28 (58,8)	14 (37,7)
Загроза передчасних пологів	7 (19,4)*	15 (31,5)*	3 (8,2)
Прееклампсія	6 (16,7)	10 (21)	4 (10,8)
Анемія вагітних	20 (55,6)	25 (52,1)	22 (59,4)
Обтяжений акушерський анамнез	26 (72,8)*	20 (42)	8 (21,6)
Ургентний кесарський розтин	15 (41,7)*	10 (21)*	1 (2,7)
Дистрес плода в пологах, що загрожує життю	12 (33,3)*	11 (23,1)*	-
Передчасний розрив навколоплідних оболонок	12 (33,3)	6 (12,6)	6 (16,2)
Вакуум-екстракція плода	1 (2,8)*	4 (8,4)*	-
Епідуральна анестезія	1 (2,8)	6 (12,6)	4 (10,8)
Меконіальні навколоплідні води	17 (47,2)*	8 (16,8)*	-

Примітка: * – достовірна різниця показників з II-ою групою обстеження, $p < 0,05$.

Так, у матерів дітей основних груп обстеження у порівнянні з матерями дітей контрольної групи не відмічено достовірної різниці частоти діагностування соматичної патології дихальної, травної, сечовидільної, серцево-судинної систем тощо. Але у матерів ІА групи, порівняно з матерями ІІ групи, достовірно частіше діагностовано прояви метаболічного синдрому у вигляді опасистості, гінекологічної патології (фіброміоми тіла матки) та урогенітального уреоплазму. У жінок, діти яких мали порушення процесів постнатальної адаптації тяжкого ступеня, порівняно з матерями, які народили здорових дітей, достовірно частіше відмічалися ознаки загрози самовільного викидня та передчасних пологів, а також фактори обтяженого акушерського анамнезу (передчасне народження дітей, самовільні викидні, штучні аборти, мертвонародження, позаматкові вагітності тощо). Аналіз особливостей перебігу пологів показав, що приблизно половина дітей першої основної групи та одна п'ята дітей другої основної групи народилися шляхом ургентного кесарського розтину у зв'язку з дистресом плода, що загрожує життю, слабкістю або дискоординацією пологової діяльності, передчасним відшаруванням нормально розташованої плаценти. На відміну від здорових малюків, при народженні частини дітей з основних груп обстеження спостерігалися меконіальні навколоплідні води.

Аналіз структури патологічних станів, які зумовили порушення процесів постнатальної адаптації тяжкого ступеня у дітей першої основної групи, виявив, що у стані тяжкої асфіксії народилося 6 дітей (16,7%), у стані помірної асфіксії – 2 дітей (5,6%) ІА групи. Стан інших 14 дітей (38,9%) при народженні був розцінений як задовільний, але погіршився у динаміці за рахунок наростання патологічної неврологічної симптоматики з розвитком явищ набряку головного мозку. Важкі дихальні розлади на фоні синдрому аспірації меконію розвинулися у 10 дітей (27,8%), вродженої пневмонії – у 4 дітей (11,1%) даної групи. У всіх дітей першої основної групи перебіг основного захворювання був ускладнений формуванням синдрому поліорганної недостатності з розвитком дихальної та серцево-судинної невідповідностей, гастроінтестинальними розладами, порушеннями функціонування центральної та периферичної нервової системи, розладами гемостазу. Слід відмітити, що клінічна діагностика пошкодження ниркових функцій у новонароджених утруднена

у зв'язку з «маскуванням» специфічних ренальних симптомів тяжкістю порушень загального стану та наявністю значного медикаментозного навантаження. Але прояви термінальної стадії ниркових пошкоджень – гострої ниркової недостатності – було діагностовано лише у 2 дітей (5,6% випадків) ІА групи. Структура основної патології, яка зумовила порушення адаптації середнього ступеня тяжкості у новонароджених другої основної групи, була представлена асфіксією помірною ступеня у 3 дітей (6,3%), неонатальною енцефалопатією у вигляді синдрому пригнічення у 24 дітей (50%) та синдрому підвищеної нервово-рефлекторної збудливості у 5 дітей (10,4%), гемолітичною хворобою новонароджених у 14 дітей (29,2%), неонатальною жовтяницею у 2 дітей (4,2%). Перебіг ранньої неонатальної адаптації у дітей ІІ групи (контрольна група спостереження) був задовільним.

У ході дослідження була проведена оцінка медикаментозного навантаження та об'єму терапевтичних втручань у дітей основних груп. Так, 36 дітям (100%) ІА групи проводилася штучна вентиляція легень з кисневою дотацією, 26 дітям (54,1%) ІІА групи – оксигенотерапія вільним потоком. Всім дітям основних груп була призначена комплексна інфузійна терапія, у тому числі з включенням потенційно нефротоксичних препаратів: антибіотичних амноглікозидного ряду (36 дітям (100%) ІА групи та 26 дітям (54,1%) ІІА групи, $p_{IA-IIA} < 0,05$), парентерального живлення (відповідно 36 дітям (100%) та 8 (16,6%), $p_{IA-IIA} < 0,05$), інотропних (відповідно 30 дітям (83,3%) та 2 дітям (4,2%), $p_{IA-IIA} < 0,05$), сечогінних (відповідно 12 дітям (33,3%) та 1 дитині (2,1%), $p_{IA-IIA} < 0,05$). Крім того, 20 дітей (55,6%) ІА групи отримували протисудомні препарати, 9 дітей (36%) даної групи – препарати крові. Новонароджені контрольної групи знаходилися у палатах сумісного перебування з матерями, отримували виключно грудне вигодовування.

Аналіз клініко-параклінічних проявів ренальної патології показав, що лише у половини хворих новонароджених основних груп було діагностовано такі класичні ознаки як патологічна прибавка маси тіла (у 24 дітей (49,8%) ІА групи та 9 дітей (18,8%) ІІБ групи, $p_{IA-IIA} < 0,05$), набряковий синдром (відповідно у 13 дітей (36,1%) та 4 дітей (8,3%), $p_{IA-IIA} < 0,05$), оліго/анурія відповідно у 7 дітей (19,4%) та 1 дитині (2,1%), $p_{IA-IIA} < 0,05$), мікроальбумінурія (відповідно у 16 дітей (44,4%) та 5 (10,4%), $p_{IA-IIA} < 0,05$).



$p_{IB} < 0,05$), еритроцитурія (відповідно у 10 дітей (27,8%) та 3 дітей (6,3%), $p_{IA-IB} < 0,05$), лейкоцитурія (відповідно у 19 дітей (52,8%) та 21 дитини (43,8%), $p_{IA-IB} > 0,05$), оксалатурія (відповідно у 17 дітей (47,2%) та 14 дітей (29,2%), $p_{IA-IB} > 0,05$), циліндрурія (відповідно у 4 дітей (11,1%) та 1 дитини (2,1%), $p_{IA-IB} > 0,05$). У 4 дітей (10,8%) контрольної групи при проведенні загального аналізу сечі було діагностовано мікроальбумінурія, лейкоцитурія та оксалатурія, що, ймовірно, пов'язано з проявами транзиторних «перехідних» станів.

Результати додаткових методів дослідження сечі у дітей основних груп та групи контролю представлені у таблицях 3 та 4. Слід зауважити, що у ході дослідження проводилося визначення абсолютної активності ферментів у сечі, але, враховуючи нестабільність екскреції даних біологічно активних речовин протягом доби, було розраховано співвідношення до рівня креатиніну сечі, який виділяється з організму з постійною швидкістю [5;6;9].

Таблиця 3.

Активність ХЕ, АсАт та АлАт сечі дітей груп обстеження, Ме [Lq; Uq]

Показник	IA група (n=36)	IB група (n=48)	II група (n=37)	Kruskal-Wallis test	p
Креатинін сечі, ммоль/л	1,18 [0,89;1,53]	0,76 [0,63;1,3]*	1,52 [1,04;1,64]	H(2, N=99) = 21,92	0,0000
ХЕ, мкмоль/(л·сек)	21,3 [7,85;33,64]	15,03 [10,09;17,94]	17,34 [15,03;26,91]	H(2, N=90) = 5,99	0,051
ХЕ/креатинін сечі	23,22 [7,96;36,03]	21,34 [7,74;28,5]	12,47 [8,57;14,42]	H(2, N=88) = 4,85	0,0883
АсАт, мкмоль/(мл·год)	3,1 [1,9;4,1]	3,0 [1,85;3,5]	2,0 [1,75;3,0]	H(2, N=90) = 5,42	0,0664
АсАт/креатинін сечі	2,85 [2,03;3,43] [◊]	2,58 [2,19;3,28]*	1,43 [1,11;2,17]	H(2, N=87) = 26,78	0,0000
АлАт, мкмоль/(мл·год)	1,3 [0,95;4,5]	1,4 [1,1;1,8]	1,17 [0,95;1,88]	H(2, N=90) = 1,48	0,4767
АлАт/креатинін сечі	1,24 [0,95;2,2] [◊]	1,68 [0,9;2,19]*	0,98 [0,57;1,18]	H(2, N=87) = 10,89	0,0043

Примітка. [◊] – достовірна різниця показників між I-ою та III-ою групами обстеження, $p < 0,05$; * – достовірна різниця показників між II-ою та III-ою групами обстеження, $p < 0,05$.

Таблиця 4.

Активність ЛФ, ЛДГ та ГГТ сечі дітей груп обстеження, Ме [Lq; Uq]

Показник	IA група (n=36)	IB група (n=48)	II група (n=37)	Kruskal-Wallis test	p
Креатинін сечі, мкмоль/л	1188,43 [885,0;1525,65]	758,57 [632,14;1302,21]*	1517,75 [1040,84;1644,27]	H(2, N=99) = 21,92	0,0000
ЛФ, нмоль/(л·сек)	1269,11 [837,61;1548,32] [◊]	1049,4 [763,2;1345,26]	667,82 [453,16;]	H(2, N=90) = 6,76	0,034
ЛФ/креатинін сечі	1,14 [0,97;1,39] [◊]	1,01 [0,94;1,36]*	0,53 [0,3;1,06]	H(2, N=84) = 16,79	0,0002
ГГТ, нмоль/(л·сек)	1100 [800;1380] [◊]	1008 [750;1120]	780 [600;1000]	H(2, N=99) = 6,57	0,0373
ГГТ/креатинін сечі	0,85 [0,73;1,14] [◊]	0,92 [0,76;1,35]*	0,7 [0,38;0,85]	H(2, N=99) = 18,83	0,0001
ЛДГ, мОД/л	5292 [4730;5755] [◊]	5698 [6063;4707]	5852,69 [6306;5438]	H(2, N=90) = 8,24	0,0162
ЛДГ/креатинін сечі	4,45 [3,53;6,5] [◊]	7,06 [3,71;9,15]*	3,6 [3,47;3,77]	H(2, N=84) = 13,76	0,001

Примітка. [◊] – достовірна різниця показників між I-ою та III-ою групами обстеження, $p < 0,05$; * – достовірна різниця показників між II-ою та III-ою групами обстеження, $p < 0,05$.

У таблиці 5 представлено результати оцінки взаємозв'язків між коефіцієнтами співвідношення активності ферментів сечі до рівня креа-

тиніну сечі у групах обстеження, яка проведена за допомогою методів рангової кореляції Spearman (r) при $p < 0,05$.



Таблиця 5.

Характер кореляційних зв'язків між біохімічними показниками сечі дітей груп обстеження, r*

	I група (n=31)	II група (n=33)	III група (n=35)
АсАт/креатинін сечі:	-0,784	-	-
Креатинін сечі			
АсАт/креатинін сечі:	-	-	0,3819
АлАт/креатинін сечі			
АсАт/креатинін сечі:	-	-	0,4901
ЛФ/креатинін сечі			
АсАт/креатинін сечі:	-	0,4027	-
ГГТ/креатинін сечі			
АсАт/креатинін сечі:	-	-	-0,4338
ЛДГ/креатинін сечі			
АсАт/креатинін сечі:	-0,6713	-	-
ХЕ/креатинін сечі			
АлАт/креатинін сечі:	-0,3989	-0,6523	0,3806
Креатинін сечі			
АлАт/креатинін сечі:	0,5714	0,3702	-
ЛФ/креатинін сечі			
АлАт/креатинін сечі:	-	0,6027	-0,4772
ЛДГ/креатинін сечі			
АлАт/креатинін сечі:	-	0,6237	-
ХЕ/креатинін сечі			
ЛФ/креатинін сечі:	-	-0,4569	-
Креатинін сечі			
ЛФ/креатинін сечі:	-	0,4128	-
ЛДГ/креатинін сечі			
ЛФ/креатинін сечі:	-	-	0,4749
ГГТ/креатинін сечі			
ЛДГ/креатинін сечі:	-	-0,9511	-0,8293
Креатинін сечі			
ЛДГ/креатинін сечі:	-0,6239	0,6155	-
ГГТ/креатинін сечі			
ЛДГ/креатинін сечі:	-	0,7375	-
ХЕ/креатинін сечі			
ГГТ/креатинін сечі:	-0,6994	-	-0,4589
Креатинін сечі			
ГГТ/креатинін сечі:	-	0,5873	-
ХЕ/креатинін сечі			

Примітка: * - достовірна різниця коефіцієнтів кореляції, $p < 0,05$

Обговорення результатів.

ХЕ – єдиний фермент, який відображує стан гломерулярного апарату та характеризує активність процесів фільтрації та ступінь пошкодження клубочкового апарату. Холінестерази відносяться до класу гідролаз, які каталізують гідролітичне розщеплення складноефірних зв'язків. У нормі даний фермент не проходить вільно через гломерулярну мембрану, знаходиться у сечі дорослих та дітей у незначній кількості. При пошкодженні гломерулярного фільтра за різноманітних патологічних факторів у сечі значно збільшується активність даного ферменту, діагностичну значущість чого показано при запальних захворюваннях сечовидільної системи, цукровому діабеті у дорослих та дітей, ішемічній нефропатії у новонароджених на фоні

значно збільшеного рівня креатиніну сироватки крові [4;6;8]. У нашій роботі показано, що при порушеннях постнатальної адаптації різного ступеня тяжкості у загальній когорті новонароджених, порівняно зі здоровими дітьми, визначаються виражені тенденції до збільшення як абсолютної активності даного ферменту у сечі, так і співвідношення ХЕ/креатинін сечі. Це свідчить про високий ризик розвитку синдрому підвищеної гломерулярної проникливості та порушення процесів фільтрації (утворення первинної сечі) у дітей з перинатальною патологією, що може призвести до значних метаболічних порушень. Необхідно відмітити слабку позитивну кореляційну залежність між співвідношенням ХЕ/креатинін сечі у доношених ново-

народжених та ступенем тяжкості порушень постнатальної адаптації ($r=0,22$, $p<0,05$).

ЛФ – фермент, який у нирках знаходиться у корковому шарі, щільно фіксований на матриксі мембран «щіткової облямівки» нефротелію. На біохімічному рівні фермент приймає участь у функціонуванні системи транспорту глюкози через клітинну мембрану за рахунок її дефосфорилювання. Активність ЛФ у сечі збільшується при ураженні проксимальних звивистих каналців нирок, що свідчить про неглибокі пошкодження клітин нефротелію. Діагностична цінність підвищення активності даного ферменту встановлена для дітей, які народилися у стані асфіксії помірного та тяжкого ступеня [5;9;11]. У ході проведеного нами дослідження показано, що збільшення ступеня тяжкості перинатальної патології у загальній когорті хворих новонароджених супроводжується достовірним збільшенням абсолютної активності ЛФ у сечі дітей першої основної групи та співвідношення активності ЛФ/креатинін сечі у дітей обох основних груп, порівняно зі здоровими новонародженими. Між ступенем тяжкості порушень постнатальної адаптації та абсолютною активністю ЛФ у сечі встановлений слабкий позитивний кореляційний зв'язок ($r=0,27$, $p<0,05$), співвідношенням ЛФ/креатинін сечі – позитивний кореляційний зв'язок середньої сили ($r=0,41$, $p<0,05$).

ГТТ також є маркером пошкодження цілісності цитомембран клітин нефротелію проксимальних звивистих каналців та, частково, нижньої частини петлі Генле. Фермент приймає участь у транспорті амінокислот та пептидів у клітину у формі гамма-глутамілпептидів. Даний транспортний механізм характеризується високою продуктивністю, але споживає більше енергії. Крім того, ГТТ приймає участь у певних механізмах глутатіонового метаболізму. В організмі людини максимальна активність ферменту відмічається саме в епітелії проксимальних ниркових каналців та перевищує таку в клітинах печінки у 25 разів, а у сироватці крові – у декілька тисяч разів. Збільшення активності ГТТ у сечі спостерігається на ранніх етапах пошкодження нирок, оскільки даний фермент знаходиться більш поверхнево у порівнянні з іншими [5;11;12]. Результати нашого дослідження показали, що з наростанням ступеня тяжкості порушень загального стану у доношених новонароджених проходить достовірне збільшення абсолютної активності ГТТ у сечі дітей ІА групи

обстеження та співвідношення активності ГТТ/креатинін сечі у дітей обох основних груп, порівняно з новонародженими групи контролю. Кореляційні зв'язки ступеня тяжкості перинатальної патології у доношених дітей з абсолютною активністю ГТТ та співвідношенням активності ГТТ/креатинін сечі носять слабкий позитивний характер (відповідно $r=0,26$, $p<0,05$ та $r=0,32$, $p<0,05$).

АлАТ знаходиться у цитозолі клітин нефротелію та є головним ферментом, який свідчить про більш глибокі пошкодження структурних елементів проксимальних каналців [1]. Підвищення активності АлАТ пов'язано з його компенсаторною участю в аланінглюкозному шляху при помірних проявах гіпоксії, внаслідок чого утворюється піруват (приймає участь у глікогенезі) та глутамат (використовується у ліпогенезі). Ферментативна екскреція тісно пов'язана з рівнем сечового креатиніну, що підтверджено у нашій дослідній роботі. Встановлено, що при відсутності достовірної різниці абсолютної активності даного ферменту у сечі між групами обстеження, при патологічному перебігу раннього неонатального періоду у доношених дітей достовірно збільшується величина співвідношення АлАТ/креатинін сечі, порівняно з дітьми, які характеризувалися задовільною адаптацією до умов позаутробного життя. Встановлено слабкий позитивний кореляційний зв'язок між ступенем тяжкості перинатальної патології у загальній когорті доношених новонароджених та співвідношенням АлАТ/креатинін сечі ($r=0,27$, $p<0,05$).

АсАТ та ЛДГ є маркерами порушень енергетичного клітинного метаболізму, локалізовані у мітохондріях. Підвищення активності даних ферментів у сечі вказують на розвиток вираженого цитолітичного синдрому та глибокі функціональні й структурні пошкодження каналцевого апарату [6;9]. У ході нашого дослідження відмічена тенденція до збільшення абсолютної активності АсАТ у сечі та достовірне збільшення співвідношення АсАТ/креатинін сечі у дітей з перинатальною патологією середнього та тяжкого ступеня, порівняно зі здоровими новонародженими. Кореляційний зв'язок між ступенем тяжкості порушень постнатальної адаптації дітей та абсолютною активністю АсАТ носить слабкий позитивний характер ($r=0,23$, $p<0,05$), співвідношенням АсАТ/креатинін сечі – позитивний середньої сили характер ($r=0,47$, $p<0,05$).



Звертає увагу характер змін екскреції ЛДГ у дітей груп обстеження. Спостерігається достовірно зменшення абсолютної активності даного ферменту у сечі дітей на фоні поглиблення ступеня тяжкості порушень постнатальної адаптації. При цьому, співвідношення ЛДГ/креатинін сечі, порівняно з контрольною групою, достовірно збільшується у дітей ІБ групи та дещо зменшується у новонароджених ІА групи, залишаючись більш високим у порівнянні зі здоровими дітьми. Враховуючи, що активація ЛДГ має компенсаторний характер, та спрямована на підтримку гліколітичного шляху утворення енергії, можливо, представлені зміни ферментурії пов'язані з виснаженням даних механізмів на фоні значних гіпоксичних пошкоджень нефротелію. Вивчення характеру кореляційних залежностей встановила слабкий негативний зв'язок

між ступенем тяжкості перинатальної патології та абсолютною активністю ЛДГ у загальній когорті новонароджених.

Враховуючи особливості екскреції ферментів з сечею та необхідність розрахунку співвідношення їх абсолютної активності до рівня креатиніну сечі, нами були вивчені взаємозв'язки саме між даними величинами в окремих групах дослідження. Відмічено зникнення фізіологічних та формування нових, іноді з протилежним вектором, кореляційних залежностей у дітей з порушеним процесом постнатальної адаптації. Звертає увагу, що максимальна кількість нових кореляційних залежностей між ферментами спостерігається у групі дітей з перинатальною патологією помірного ступеня тяжкості, які втрачаються при поглибленні патологічного процесу.

Висновки

1. Доношені новонароджені діти з клінічними проявами перинатальної патології складають групу високого ризику щодо порушень функціонування сечовидільної системи, традиційні методи підтвердження яких мають недостатньо високу діагностичну цінність.
2. Визначення ферментурії, а саме співвідношення абсолютної активності ферментів до рівня креатиніну, у дітей з клінічними проявами перинатальної патології дозволяє встановити глибину пошкодження структурно-функціональних елементів нирок та локалізацію патологічного процесу.
3. У доношених дітей з наростанням ступеня тяжкості перинатальної патології спостерігається достовірно підвищення активності поверхневих ферментів «щіткової облямівки» (ЛФ, ГГГ), цитозолі (АсАТ) та мітохондрій (АсАТ, ЛДГ), що свідчить про глибокі пош-

кодження структур нефротелію та вимагає проведення відповідної корекції лікувальних заходів.

4. За умов перинатальної патології у доношених новонароджених переважно порушуються каналцеві структури на фоні високого ризику дисфункції гломерулярного фільтру, що за несприятливих умов може призвести до формування термінального пошкодження нирок – гострої ниркової недостатності.
5. Своєчасне прогнозування та діагностика порушень функціонування сечовидільної системи у загальній когорті хворих новонароджених у перші доби життя з урахуванням класичних критеріїв та активності ферментів сечі надасть змогу попередити формування тяжкої ниркової патології, знизити рівні захворюваності та смертності дітей даної групи.

Перспективи подальших досліджень

передбачають дослідження діагностичної цінності інших сучасних маркерів ренальної патології, вивчення їх взаємозв'язків з метою розробки диференційно-діагностичних критеріїв оцінки ступеня тяжкості та алгоритм прогнозування порушень функціонального стану сечовидільної системи у загальній когорті доно-

шених новонароджених з перинатальною патологією.

Подяка. Висловлюємо подяку колективу та завідувачу кафедри біоорганічної і біологічної хімії та клінічної біохімії Буковинського державного медичного університету, професору, д.мед.н. Герушу І.В.

References (список літератури)

1. Spasovski D. Renal markers for assessment of renal tubular and glomerular dysfunction. *J. Nephroarmacol.* 2013; 2(2): 23-25.
2. Lisowska-Myjak B. Serum and Urinary Biomarkers of Acute Kidney Injury. *Blood Purif.* 2010; 29: 357-365.



3. De Loor J, Daminet S, Smets P, Maddens B, Meyer E. Urinary Biomarkers for Acute Kidney Injury in Dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 2013; 27: 998-1010.
4. Davidovic-Plavic B, Vujic T, Uletilovic S, Predojevic-Samardzic J, Malcic D, Sanicanin Z. Urinary Activities Of Proximal Tubule Enzymes In Neonates Treated With Gentamicin. *JMB.* 2010; 29 (1): 44-47. DOI: 10.2478/v10011-010-0002-2
5. Kulikova NYu, Mozhaeva AN, Chasha TV, Sitnikova OG. [Diagnostic Value of Determination of Enzymuria in Neonates with Ischemic Nephropathy] *Voprosyi diagnostiki v pediatrii.* 2010; 2(4): 25-29.
6. Pleten MV, Trailin AV, Efimenko NV, Ostapenko TI. [Diagnostic Value of Enzymemia and Enzymuria in Recipients with Chronic Kidney Allograft Dysfunction] *Eksperymentalna ta klinichna fiziolohiya i blohImIya.* 2013; 2:90-95.
7. Myhal LA, Serbina IYe, Nikulina GG, Drannyk GN, Kalinina NA, Poroshina TV, Seimivskiy D A, Peterburgskiy VF, Kalischuk OA. [Peculiarities of Changes of Profibrogenic Cytokines Tgf-B1 and Conditionally Renospecific Enzymes in Urine of Children with Various Clinical Variants Megaureters] *Imunologiya ta alergologiya: nauka i praktika.* 2009; 4: 77-83.
8. Fomina SP, Bagdasarova IV, Migal LA. [Prediction of Unfavorable Course of Glomerulonephritis with Nephrotic Syndrome in Children: Enzymuric Criteria] *Ukrayinskiy zhurnal nefrologiyi ta dializu.* 2013; 4 (40): 14-19.
9. Krishtafovich AA, Vilchuk KU. [Characterization of Functional Disorders of the Kidneys in Neonates with Hypoxic Encephalopathy] *Izvestiya natsionalnoy akademii Belarusi. Seriya meditsinskih nauk.* 2012; 4: 54-63.
10. Richardson DK, Gray JE, McCormick MC, Workman K, Goldmann DA. Score for Neonatal Acute Physiology: a physiologic severity index for neonatal intensive care. *Pediatrics.* 1993; 91(3): 617-623.
11. José AM De Carvalho, Sílvia J Piva, Bruna S Hausen, Guilherme V Bochi, Michelle Kaefer, Adriane C Coelho, Marta MMF Duarte, Rafael N Moresco. Assessment of urinary γ -glutamyltransferase and alkaline phosphatase for diagnosis of diabetic nephropathy *Clinica Chimica Acta.* 2011; 412 (15–16): 1407–1411. doi:10.1016/j.cca.2011.04.015
12. Loboda AN, Markevich VE. The Gamma-Glutamyl Transpeptidase Contents in Serum and Urine in Newborn as an Indicator of Disturbance Kidney Function Due to Asphyxia *CTM.* 2014; 6(4): P.102-106.

(received 11.09.2015, published online 30.09.2015)

(отримано 11.09.2015, опубліковано 30.09.2015)

