



Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis

Scientific and Practical, Medical Journal

Founders:

- State Institution «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine»
- National Kidney Foundation of Ukraine

ISSN 2304-0238;
eISSN 2616-7352

Journal homepage: <https://ukrjnd.com.ua>

Research Article

I.V. Bagdasrova, L.V. Korol, O.V. Lavrenchuk, L.Ya. Migal

doi: 10.31450/ukrjnd.3(63).2019.05

Activity of lysosomal urine enzymes in children after acute kidney injury

¹ State Institute «Institute of Nephrology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»

Citation:

Bagdasrova IV, Korol LV, Lavrenchuk OV, Migal LYa. Activity of lysosomal urine enzymes in children after acute kidney injury. Ukr J Nephrol Dial. 2019;3(63):31-39. doi: 10.31450/ukrjnd.3(63).2019.05

Abstract. *The importance of the problem of acute kidney injury in children is due to the high risk of developing chronic kidney disease as a consequence. Lysosomal enzymes of β -galactosidase (GAL) and N-acetyl- β -D-hexosaminidase (NAG) in urine are considered to be informative markers of renal parenchyma damage. The objective of this study - to determine the activity of lysosomal enzymes in urine as markers of progression of interstitial nephritis in children after acute kidney injury.*

Methods. 41 children were examined after acute kidney injury, achievement of self-diuresis and improvement. Group I included 22 patients with a disease period of up to 2 years after acute kidney injury, group II - 19 patients with a disease period of 2 years or more. The control (reference) group consisted of 28 children who were conditionally healthy, without kidney disease, as well as without acute diseases and severe metabolic disorders and anatomical defects.

Results. NAG and GAL activity were found to exceed 8 and 3 times parameters in the reference group of healthy children, respectively, in patients who had acute kidney injury during the year ($p < 0.001$). In patients with a history of 2 years or more, enzyme levels decreased, but remained higher than normal up to 4 times ($p < 0.001$). The highest level of NAG activity was observed in patients of group I with the combination of hemolytic-uremic syndrome with hemolytic anemia, and the lowest - in children with toxic kidney.

Determination of the activity of lysosomal enzymes NAG and GAL is a more informative marker of torpid course of interstitial nephritis with a progressive decrease in renal function than indicators of glomerular filtration rate. In twelve months after acute kidney damage in 75% of children, the level of NAG and GAL activity remained significantly elevated at normal glomerular filtration rate. A correlation between glomerular filtration rate and NAG activity ($r = -0.473$) and GAL ($r = -0.333$) and a direct correlation between NAG and GAL activity ($r = 0.845$) were observed.

Conclusions. The levels of lysosomal enzymes of NAG and GAL were found to be 8 and 3 times higher than normal, respectively, in patients who suffered acute kidney injury during the year, and in patients with a history of 2 years or more, enzyme activity levels decreased, but remained higher than normal 4-fold ($p < 0.001$). In a year after acute kidney damage in 75% of children, the level of NAG and GAL activity remained significantly elevated despite of normal glomerular filtration rate. Therefore, the detection of NAG and β -galactosidase in the urine of children after acute kidney injury are informative markers of renal parenchyma damage, which may serve as objective criteria for progressive decline in renal functional status, and the lack of normalization of their levels is not a sign of progression of interstitial nephritis in corresponding group of children.

Key words: acute kidney injury, children, lysosomal enzymes, urine, β -galactosidase, N-acetyl- β -D-hexosaminidase.

Conflict of interest statement: the authors declared no competing interests.

Article history:

Received May 25, 2019

Received in revised form
July 07, 2019

Accepted July 14, 2019

© I.V. Bagdasrova, L.V. Korol, O.V. Lavrenchuk, L.Ya. Migal, 2019.

Correspondence should be addressed to Lesya Korol: lesyakorol@meta.ua



© Багдасарова І. В., Король Л. В., Лавренчук О. В., Мигаль Л. Я., 2019

УДК: 616.61 – 008.6 – 036.11 – 053.2-037

І.В. Багдасарова, Л.В. Король, О.В. Лавренчук, Л.Я. Мигаль

Активність лізосомальних ензимів сечі у дітей, які перенесли гостре пошкодження нирок

ДУ «Інститут нефрології НАМН України»

Резюме. Актуальність проблеми гострого пошкодження нирок (ГПН) у дітей обумовлена високим ризиком розвитку хронічної хвороби нирок. Інформативними маркерами ушкодження паренхіми нирок на сьогодні вважаються лізосомальні ензими β -галактозидази (ГАЛ) і N-ацетил- β -D-гексозамінідази (НАГ) у сечі.

Мета: визначення активності лізосомальних ензимів ГАЛ і НАГ у сечі як маркерів прогресування інтерстиціального нефриту у дітей після ГПН.

Методи. Обстежено 41 дитину після перенесеного гострого пошкодження нирок (ГПН), в стадії відновлення діурезу. Група I – 22 хворих з терміном захворювання до 2 років після ГПН, група II – 19 пацієнтів з терміном захворювання від 2 років та більше. Контроль склали 28 умовно здорових дітей. Контрольну (референтну) групу склали 28 дітей, які були умовно-здоровими, без захворювань нирок, а також без гострих захворювань і тяжких метаболічних порушень та анатомічних вад.

Результати. Встановлено, що активність НАГ і ГАЛ перевищує показники у референтній групі практично здорових дітей у 8 і 3 рази у хворих, що перенесли ГПН протягом року ($p < 0,001$). У пацієнтів з катамнезом від 2 і більше років рівні ензимів знижуються, але залишаються вищими за норму до 4 раз ($p < 0,001$). Найвищий рівень активності НАГ спостерігали у хворих I групи при поєднанні гемолітико-уремічного синдрому з гемолітичною анемією, а найнижчий – у дітей з токсичною ниркою. Визначення активності лізосомальних ферментів НАГ і ГАЛ є більш інформативним маркером тодного перебігу інтерстиціального нефриту з прогресуючим зниженням функції нирок, ніж показники швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ). Через 12 місяців після перенесеного ГПН у 75% дітей рівень активності НАГ і ГАЛ залишався значно підвищеним при нормальних показниках ШКФ. Відмічено зворотній кореляційний зв'язок між показниками ШКФ та показниками активності НАГ ($r = -0,473$) і ГАЛ ($r = -0,333$) та прямий зв'язок між показниками активності НАГ і ГАЛ ($r = 0,845$).

Висновки. Встановлено, що рівні активності лізосомальних ферментів НАГ і ГАЛ були вище за норму в 8 і 3 рази, відповідно, у хворих, що перенесли ГПН протягом року, а у пацієнтів з катамнезом від 2 і більше років, рівні активності ензимів знижувались, але залишались вищими за норму в 4 рази ($p < 0,001$). Через 12 місяців після перенесеного ГПН у 75% дітей рівень активності НАГ і ГАЛ залишався значно підвищеним при нормальних показниках ШКФ. Отже, визначення НАГ та ГАЛ у сечі дітей після перенесеного ГПН є інформативними маркерами ураження паренхіми нирок, котрі можуть слугувати об'єктивними критеріями прогресуючого зниження функціонального стану нирок, а відсутність нормалізації їх рівнів є ознакою прогресування інтерстиціального нефриту у даної групи хворих дітей.

Ключові слова: гостре пошкодження нирок, діти, лізосомальні ензими, сеча, β -галактозидаза і N-ацетил- β -D-гексозамінідаза

Вступ. В галузі дитячої нефрології та педіатрії проблема гострого пошкодження нирок стає актуальною через подальше зростання випадків цього стану і відсутності єдиного підходу до діагностичних та лікувально-профілактичних заходів при подальшому спостереженні за цими хворими.

На сьогодні актуальним є пошук найбільш інформативних лабораторних маркерів гострого раннього виявлення ураження нирок [1-3]. Більшість з потенційних біомаркерів розроблені для раннього виявлення діабетичного ушкодження або втягнення їх до патологічного процесу [4-5].

Зазвичай для характеристики ступеня ушкодження нирок або залучення їх до патологічного процесу розраховують швидкість клубочкової філь-

трації (ШКФ), використовуючи для цього креатинін або інші ендogenous метаболіти [6, 7]. За останні роки з'явилися публікації про необхідність більш точних емпіричних формул для оцінки швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) у дітей, ніж запропонована в 1970-х роках формула Шварца, яка підвищує показник ШКФ. Групою вчених з США під керівництвом George J. Schwartz в 2009 р. була запропонована емпірична формула для підрахунку ШКФ у дітей (1-16 років), де враховується рівень цистатину С, креатиніну і сечовини в сироватці крові [8]:

$$\text{GFR} = 39.1 \times [\text{height}/\text{Scr}]^{0.516} \times [1.8/\text{cystatin C}]^{0.294} \times [30/\text{BUN}]^{0.169} \times 1.099^{\text{male}} \times [\text{height}/1.4]^{0.188}$$

де GFR – швидкість клубочкової фільтрації (мл/мін/1,73м); height – зріст (м);

Scr – креатинін сироватки (мг/дл); cystatin C – цистатин-С сироватки (мг/л); BUN – азот сечовини крові (мг/дл); male – використовувати коефіцієнт 1,099 для дітей чоловічої статі.

Король Леся Вікторівна
lesyakorol@meta.ua

Крім того, актуальним є пошук інформативних і доступних лабораторних маркерів для моніторингу функції нирок в динаміці у реконвалесцентів гострого пошкодження нирок (ГПН). Біомаркери необхідні для своєчасного визначення трансформації ГПН в хронічну хворобу нирок (ХХН). На сучасному етапі це, у більшості випадків, використовуються біомаркери ГПН [9].

Останнім часом для виявлення тубулоінтерстиціального пошкодження нирок широкого поширення набули лабораторні тести, засновані на визначенні в сечі білків-біомаркерів, які продукуються клітинами проксимальних каналців у відповідь на різні пошкоджуючі чинники (ліпокалін-2 (NGAL), молекула ушкодження нирок-1 (KIM-1), кластерін, ω -глутатіон S-трансфераза, β 2-мікроглобулін, остеоопонтин, цистатин С, нетрін-1, IL-18, HGF, CYR61, NHE-3, фетуїн-А, ванін-1, альбумін). За місцем і характером синтезу біомаркери є каналцевими і клубочковими; конституціональними (цистатин С, α - і ω -глутатіон S-трансфераза) і індукційними (KIM-1 і NGAL) [9-13]. Так, цистатин С є біомаркером для функції фільтрації, в той час як 2-мікроглобулін, IL-18, ліпокалін-2, нетрін-1, KIM-1, кластерін, і фетуїн А є біомаркерами каналцевої реабсорбції [10].

Цікавими є й вимоги до біомаркерів, що застосовуються в клініці для визначення трансформації ГПН в ХХН, запропоновані авторами [14]. Це впливає з того, що їх присутність у крові або сечі визначається механізмами, що беруть участь у патогенезі як гострого, так і хронічного ураження нирок. В інших дослідженнях, пропонують біомаркери функції нирок (креатинін сироватки крові, цистатин С і ШКФ) визначати як середні результати (від 7 днів до 3 місяців), а довгострокові результати, - летальність і виживаність без діалізу, розцінювались як вторинні результати (для їх прогнозування можливо використовувати маркери пошкодження або дисфункції нирок) [1, 2, 15]. В огляді літератури [2, 3] аналізуються вимоги до біомаркерів як до діагностичних тестів не тільки для раннього визначення ГПН, але і для визначення ступеня пошкодження нирок в динаміці спостереження за пацієнтами, що перенесли ГПН. Підвищення концентрації цистатину С вважається достатньо інформативним маркером для оцінки ушкодження нирок, та порушення фільтраційної функції. Екскреція цистатину С з сечею є ендogenous маркером ренальної дисфункції і корелює з тяжкістю гострого тубулярного пошкодження. Оскільки рівень цистатину С крові істотно не залежить від віку, статі, раси та загальної маси, він може бути адекватним маркером гломерулярної функції у пацієнтів з раннім ГПН, коли показники креатиніну сироватки можуть недооцінювати справжню ступінь порушення функції нирок [12, 16, 17].

Комбінації біомаркерів необхідні для підвищення точності діагностики в умовах ГПН або

його трансформації. Зокрема, KIM-1 та NGAL вважаються найбільш інформативними біомаркерами у сечі та плазмі для раннього прогнозування ГПН. Показники тканинного інгібітора металопротеїназ TIMP-2 та інсуліноподібного білка, який зв'язує фактор росту 7 (IGFBP7) в сечі є більш інформативними для прогнозування розвитку помірного або важкого рівня ГПН. NGAL, цистатин С та FGF-23 є перспективними та точними біомаркерами для виявлення ХХН. Поєднання креатиніну, цистатину С та альбуміну сечі та креатиніну в сечі покращує стратифікацію ризику прогресування захворювань нирок та смертності [18].

Визначення рівнів активності ензимів в сечі також є раннім і досить інформативними діагностичними тестами, що дозволяє оцінити ступінь пошкодження каналцевого апарату, активність захворювання і його прогноз. Для диференційної діагностики ураження нирок рекомендують визначати в сечі активність аланін-амінотрансферази, лужної фосфатази, лейцин амінотрансферази, що переважно локалізуються в епітелії проксимального відділу нефрону і пов'язані з цитоплазматичною мембраною тубулярного епітелію; лактатдегідрогенази – цитоплазматично локалізованого ензиму, β -галактозидази (ЕС 3.2.1.23, ГАЛ) і N-ацетил- β -D-гексозамінідази (ЕС 3.2.1.30, НАГ), що локалізовані в лізосомах, а також малатдегідрогенази - мітохондріального ензиму. Визначення активності НАГ, ГАЛ, α -глікозидази, γ -глутамілтранспептидази, лужної фосфатази в сечі використовують для характеристики ушкодження певних типів клітин нирок [11, 19-23].

Відомо, що лізосоми деяких клітин виконують функції, які властиві тільки цим клітинам. Так, лізосоми клітин тубулярного епітелію нирок відповідальні за реабсорбцію речовин із первинної сечі, приймаючи, таким чином, участь у сечоутворенні. Лізосоми як субклітинні структури оточені одношаровою ліпідною мембраною та містять більш, ніж 30 гідролітичних ензимів у латентному стані. Найбільше діагностичне значення серед них мають НАГ та ГАЛ, що розташовані переважно у клітинах каналцевого епітелію у проксимальному відділі нефрону [7, 20, 24, 25]. Така локалізація цих ензимів насамперед пов'язана з їх функціональною обумовленістю – реабсорбцією глікопротеїнів переважно у цій частині каналцевого апарату. В умовах розвитку ішемії, що неодмінно супроводжує виникнення та прогресування патологічного процесу у паренхімі нирок, активація цих лізосомальних гідролаз настає у першу чергу. Це зумовлено їх метаболічною, фізіологічною та функціональною роллю у процесах формування первинної сечі, а саме безпосередньою участю у складних процесах реабсорбції речовин із первинної сечі [21].

НАГ є білок великого розміру (приблизно 140 кДа). Це лізосомальний ензим, що секретується

епітелієм проксимальних каналців і бере участь в деградації мукополісахаридів і глікопротеїнів. Фермент розщеплює хімічні глікозидні і амінокислотні зв'язки цукрів, які утворюють структурні компоненти в багатьох тканинах. Це необхідно для утилізації різних частин клітини, включаючи клітинну мембрану. Він виявляється переважно в проксимальних каналцях, тому збільшення активності цього ензиму в сечі свідчить про пошкодження клітин даних каналців [24, 26]. НАГ корелює з гістологічним підтвердженням пошкодження проксимальних каналців нирок. [18]. Завдяки високій молекулярній масі фільтрація НАГ блокується в клубочках. У пацієнтів з захворюваннями нирок активність НАГ в сечі підвищується, що може свідчити як про пошкодження клітин каналців, так і про збільшення активності лізосом без пошкодження клітин [20]. Збільшення екскреції НАГ з сечею зафіксовано при ГПН, інших гострих захворюваннях нирок різної етіології, впливі токсинів, після серцево-судинних операцій та трансплантації [1, 8, 25]. Підвищена екскреція НАГ може відзначатися при захворюваннях клубочків, наприклад, у разі розвитку діабетичної нефропатії [7, 26]. С. Vazzi [27] та інші вчені обстежили 136 пацієнтів з первинним гломерулонефритом і виявили, що екскреція НАГ в сечі може розглядатися як надійний маркер тубулотоксичної протеїнурії на ранніх стадіях захворювання.

Аналіз літератури свідчить, що всі дослідження проводилися у дорослих хворих на ХХН різного походження, але практично немає подібних досліджень серед дітей. Крім того, більшість пацієнтів дитячого віку випадає з поля зору нефролога після покращення їх стану, але за даними світової літератури, перенесений стан призводить до розвитку ХХН з прогресивним безсимптомним погіршенням функції нирок до ХНН [14]. Все викладене вище визначило актуальність даного дослідження.

Метою дослідження було вивчити можливість використання визначення активності лізосомальних ензимів сечі у якості маркерів прогресування інтерстиціального нефриту у дітей після гострого пошкодження нирок

Матеріал і методи дослідження. Для вирішення поставленої мети проведено дослідження з використанням зразків сечі 41 хворого, що перебували на лікуванні у відділенні дитячої нефрології ДУ «Інститут нефрології НАМН України» (клінічна база – відділення нефрології ДКЛ №7 м. Києва:). Попередньо усі пацієнти знаходились у відділенні замісної терапії НСДЛ «Охматдит», де на підставі комплексного обстеження згідно критеріям локального протоколу, встановлювався діагноз ГПН та призначалось лікування. Після досягнення самостійного діурезу і поліпшення стану діти переводились у відділення дитячої нефрології ДУ «Інститут нефрології НАМН України», де про-

водилось комплексне клініко-лабораторне обстеження і лікування згідно Наказу МОЗ №627 від 3.11.2008 «Про затвердження протоколу лікування дітей з інфекціями сечової системи і тубулоінтерстиціальним нефритом». Отриманий біологічний матеріал досліджували у лабораторії біохімії ДУ «Інститут нефрології НАМН України». Клінічний діагноз встановлювався на основі стандартних методів обстеження пацієнтів згідно з класифікацією хвороб нирок та протоколів ведення пацієнтів. Всі дослідження виконані із дотриманням положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину і рекомендацій Комітету з біоетики при Президії НАМН України (Київ 2014, 2016).

Всі пацієнти були розподілені на 2 групи залежно від терміну захворювання. До 1 групи віднесено 22 пацієнтів, що хворіли впродовж року, в 2 групу увійшло 19 дітей з терміном захворювання від 2 років і більше. Контрольну (референтну) групу склали 28 дітей, які були умовно-здоровими, без захворювань нирок, а також без гострих захворювань і тяжких метаболічних порушень та анатомічних вад. Структуру обстежених хворих представлено в табл. 1.

Таблиця 1

Характеристика хворих у дослідженні (n/%)

Нозологічна форма	1 група	2 група
Кількість хворих, n	22	19
Гемолітико-уремічний синдром (ГУС)	4/21,0	5/27,8
ГУС+ синдром поліорганної недостатності (СПОН)+сепсис	9/10,5	8/22,2
Гемолітична анемія	5/26,3	5/27,8
Токсична нирка	4/15,7	-

Функціональний стан нирок оцінювали за показниками швидкості клубочкової фільтрації (за Шварцом), концентраційної функції (за Зимницьким), альбумінурії. В зразках уранішньої сечі пацієнтів проводили визначення активності НАГ і ГАЛ [22]. Визначали активність ензимів та перераховували на ммоль креатиніну у зразках сечі. Отриманий матеріал опрацьовано з використанням методів варіаційної статистики за допомогою пакету “STATISTICA for Windows S.O.”, “SigmaPlot2000” та непараметричних статистичних підходів – вивчено критерій Колмогорова-Смірнова (критерій континуальних статистик) в поєднанні з точним методом Фішера (критерій дискретних статистик).

Результати дослідження. У всіх дітей, які перенесли ГПН, визначалося підвищення активності лізосомальних гідролаз НАГ і ГАЛ в сечі (табл. 2).

Таблиця 2

Показники активності лізосомальних ензимів у хворих після ГПН (Ме [25;75%])

Клінічна група	НАГ	ГАЛ
	мкмоль/год/ммоль креатиніну сечі	
Група 1	87 [46;193]*	34 [22;45]*
Група 2	49 [31;109]*	35 [25;44]*
Референтна група (група умовно здорових дітей)	15 [11;18]	10 [6;13]

Примітка. * $p < 0,001$ порівняно з контрольною групою.

Порівняння рівнів лізосомальних ферментів за нозологічними формами визначило найвищий рівень співвідношення НАГ/креатинін в сечі у хворих 1 групи спостереження при поєднанні гемолітико-уремічного синдрому з гемолітичною анемією (ГУС+ГА), а найнижчий – у дітей з токсичною

ниркою. В 2 групі спостереження документовано зростання рівнів НАГ/креатинін в сечі у дітей з ГУС і зменшення рівнів НАГ/креатинін в сечі і ГАЛ/креатинін в сечі у групі хворих з наявністю ГУС+СПОН+сепсис та ГУС+ГА.

Таблиця 3

Рівень лізосомальних ензимів у сечі хворих після ГПН (Ме[25;75%])

Нозологічна форма		1 група		2 група	
		НАГ/креатинін в сечі	ГАЛ/креатинін в сечі	НАГ/креатинін в сечі	ГАЛ/креатинін в сечі
ГУС	1	58 [54;106]	40 [32;43]	107 [23;157]	18 [17;88]
ГУС+СПОН+сепсис	2	87 [51;338]	69 [31;82]	49 [31;63]	38 [26;44]
ГУС+гемолітична анемія	3	165 [147;333]	68 [66;72]	37 [36;38]	35 [35;38]
Токсична нирка	4	31 [21;48]	20 [17;31]	-	-
Референтна група	5	15 [11;18]	10 [6;13]		
		$p_{1-5}=0,002$, $p_{2-5}<0,001$, $p_{3-5}=0,002$	$p_{1-5}=0,002$, $p_{2-5}<0,001$, $p_{3-5}<0,001$, $p_{4-5}=0,025$	$p_{1-5}=0,002$, $p_{2-5}=0,001$, $p_{3-5}=0,012$	$p^{2-5}=0,003$, $p_{3-5}<0,001$

У 8 пацієнтів рівень ензимів сечі був визначений в динаміці спостереження, у 4 дітей на висоті ГПН і через 6 місяців в стані відновлення діурезу, у 4 хворих – в катмнезі спостереження, але з інтервалом в 12 місяців і більше. Для визна-

чення інформативності лізосомальних ферментів як маркерів функціонального стану нирок показники рівнів НАГ та ГАЛ співставлено з показниками ШКФ у пацієнтів через рік після ГПН (табл. 4).

Таблиця 4

Показники функціонального стану нирок у реконвалесцентів ГПН

Пацієнти	Показник		
	ШКФ	НАГ	ГАЛ
	мл/хв	мкмоль/год/ммоль креатиніну сечі	
1.1	88	104	41
1.2	90	78	59
1.3	102	392	43
1.4	135	24	20
1.5	97	54	32
1.6	91	195	176
1.7	93	19	12

<i>Продовження таблиці 4</i>			
Пацієнти	Показник		
	ШКФ	НАГ	ГАЛ
	мл/хв	мкмоль/год/ммоль креатиніну сечі	
1.8	117	58	40
1.9	77	1019	260
1.10	133	20	16
1.11	59	306	87
1.12	80	107	22
1.13	84	89	36
1.14	106	107	45
1.15	97	66	32
1.16	150	30	59
1.17	118	38	21
1.18	59	192	45
1.19	93	28	28
1.20	119	12	9

За результатами дослідження ШКФ була знижена у 20,0% хворих а підвищений рівень активності лізосомальних ензимів спостерігався у 75,0% дітей через 12 місяців після ГПН.

Обговорення. Представлена робота проводиться вперше в Україні. Нами встановлено, що активність НАГ і ГАЛ перевищувала показники у 8 і 3 рази у хворих що перенесли ГПН протягом року порівняно з референтною групою практично здорових дітей. У пацієнтів з катамнезом від 2 і більше років рівні ензимів знижуються, але залишаються вищими за норму до 4 разів. Безумовно, відсутність нормалізації рівнів лізосомальних ензимів є ознакою прогресування інтерстиціального нефриту у цієї групи хворих. Визначення активності лізосомальних ферментів НАГ і ГАЛ є більш інформативним маркером торпідного перебігу інтерстиціального нефриту з прогресуючим зниженням функції нирок, ніж показники ШКФ. Через 12 місяців після перенесеного ГПН у 75% дітей рівень активності НАГ і ГАЛ залишався значно підвищеним при нормальних показниках ШКФ. Виявлено зворотній кореляційний зв'язок між показниками ШКФ та показниками активності НАГ і ГАЛ та прямий зв'язок між показниками активності НАГ і ГАЛ.

Як відомо, НАГ і ГАЛ є лізосомальними ензимами, що виявляються переважно в проксимальних каналцях, тому збільшення активності цих ензимів в сечі свідчить про пошкодження клітин каналців нирок [21]. При захворюванні нирок активність НАГ і ГАЛ в сечі підвищується, що може свідчити як про пошкодження клітин каналців, так і про збільшення активності лізосом без пошкодження клітин [20]. Оскільки НАГ та ГАЛ є ферментами, що виділяються пошкодженими клітинами каналців, то ці протеїни секретуються у відповідь на ішемію або токсичне по-

шкодження, гостре або хронічне запалення та фіброз [28]. ГПН та ХХН мають деякі загальні шляхи, але, хоча перший є гострим станом, другий має хронічний та прогресуючий характер. Зрештою, ГПН призводить до токсичного або ішемічного гострого некрозу каналців; останні можуть розвиваються в різних патомеханізмах: порушення функції нирок, перфузія та звуження судин нирок, втрата цілісності та полярності цитоскелетів. Також раннє токсичне або ішемічне пошкодження є пов'язаним з місцевим запаленням і виділенням численних прозапальних медіаторів [29]. НАГ та ГАЛ лізосомальні ензими, що першими реагують у відповідь на розвиток локального запалення, як було нами показано в раніше [30]. Запальні механізми також беруть участь у патогенезі ХХН внаслідок прогресуючого руйнування ниркової паренхіми і повторних епізодів ГПН або наявності хронічних супутніх захворювань (наприклад, артеріальна гіпертензія, діабет цукровий), які впливають на структуру нирок і сприяють втраті функціональних нефронів. Це врешті-решт призводить до ураження нирок. Так, користь визначення активності НАГ в сечі як маркера гострого або хронічного пошкодження нирок була описана більше 30 років тому). У наступні роки активність НАГ в сечі вимірювали для виявлення легкого субклінічного пошкодження ниркових каналців [31]. Пізніше було показано, що каналцева ензимурія, включаючи екскрецію НАГ з сечею, має діагностичне значення для раннього виявлення ГПН [32]. НАГ є найбільш активною глікозидазою, що виявлена в лізосомах епітеліальних клітин проксимальних каналців, і збільшення активності цього ензиму в сечі є чутливим і досить специфічним показником ушкодження ниркових каналців, оскільки його відносно велика молекулярна маса (> 130 кДа) перешкоджає фільтрації клубочками. Активність НАГ в сечі залишається підвищеною про-

тягом активного захворювання нирок. Виходячи з цих ознак, в більш ранніх повідомленнях передбачалося, що НАГ в сечі може бути маркером раннього виявлення і прогнозування ушкодження нирок [33]. Оскільки даний показник є стабільним, не залежить від бактеріального забруднення сечі, від рівнів лейкоцит- і еритроцитурії, його прийнято вважати найбільш точним і широко поширеним маркером тубулярного пошкодження нирок.

Збільшення екскреції лізосомальних ензимів з сечею зафіксовано в інших дослідженнях при ГПН, інших гострих захворюваннях нирок різної етіології, впливі токсинів, після серцево-судинних операцій та трансплантації [13, 23, 25, 34-38]. Описані дані щодо підвищення екскреції цих ензимів при захворюваннях з ураженням клубочків, наприклад, при діабетичній нефропатії, гломерулонефриті [6, 7, 21, 27]. L. Orfeas і ін. [33] виявили, що пацієнти, які мають підвищену активність НАГ в сечі, мали значно більше високу поширеність сепсису, олігурії і фракційну екскрецію натрію в порівнянні з тими, хто мав нижчі значення НАГ. У дослідженні J. Westhuyzen і ін. [31] було показано, що концентрація в сечі НАГ є досить чутливим тестом ГПН у дорослих. Активність НАГ в сечі значно підвищується при первинному і вторинному пошкодженні нирок, отруєнні важкими металами, трансплантації нирок, пухлини нирок, гіпертензії, прееклампсії задовго до зміни показників тестів, застосовуваних для оцінки функцій нирок [18, 22, 26, 31, 34, 37, 38].

У дослідженні Park HC та співавторів [39] було показано, що показник співвідношення НАГ/креатинін в сечі був найкращим показником для розрізнення пацієнтів зі зниженою ШКФ (<60 мл / хв / 1,73 м²) від пацієнтів з консервативною функцією нирок, демонструючи найбільшу AUC (0,794) Чутливість і специфічність співвідношення НАГ / креатинін в сечі становили 75,2% і 81,2%, співвідношення НАГ/креатинін в сечі може бути корисним сурогатним маркером оцінки ниркової функції у пацієнтів з полікістозною хворобою нирок.

Отже, прогнозування пацієнтів з високим ризиком несприятливих наслідків, пов'язаних із ГПН, являє собою серйозну проблему для нефрологів на практиці. Оцінка прогнозу нирок і відновлення ни-

рок після ГПН це актуальна проблема для хворих, які перенесли ГПН. Метою численних клінічних стратегій є запобігання прогресування ХХН шляхом зниження рівня травми або сприяння загоєнню і відновленню пошкодженої нирки і контролю факторів ризику. Травма, однак, знижує функціонуючу ниркову масу і функціональний резерв. Цей процес є ключовим для розвитку ХХН. Оскільки каналцеві епітеліальні клітини відіграють вирішальну роль в патогенезі прогресування ХХН, очікується, що ензимні маркери каналцевих ушкоджень, такі як НАГ та ГАЛ, є корисними для клінічної оцінки ступеня їх ушкодження та патофізіологічного механізму впливу ГПН і прогнозування розвитку ХХН. Виявлені нами особливості змін активності НАГ та ГАЛ також можуть бути використані для оцінки прогнозу відновлення нирок після ГПН і допоможуть в розробці терапевтичних стратегій з індивідуальним підходом до лікування з метою запобігання прогресуванню ХХН.

Висновки. Встановлено, що рівні активності лізосомальних ензимів НАГ і ГАЛ були вище за норму в 8 і 3 рази, у хворих, що перенесли ГПН протягом року, а у пацієнтів з катамнезом від 2 і більше років, рівні активності ензимів знижувались, але залишались вищими за норму в 4 рази. Через 12 місяців після перенесеного ГПН у 75% дітей рівень активності НАГ і ГАЛ залишався значно підвищеним при нормальних показниках ШКФ. Таким чином, визначення рівнів активності лізосомальних ензимів НАГ і ГАЛ в сечі хворих після ГПН є інформативним методом для діагностування одужання або трансформації в ХХН з прогресуючим зниженням функції нирок. Крім того, це дослідження не інвазивне, відносно дешеве і просте в застосуванні.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Інформація про внесок кожного учасника.

І.В. Багдасарова: концепція та дизайн дослідження,

Л.В. Король: дизайн дослідження, аналіз отриманих результатів, статистичний аналіз даних та підготовка статті до друку.

Л.Я. Мигаль: визначення активності ензимів,

О.В. Лавренчук: спостереження та лікування хворих, збір та формування бази даних, формулювання висновків.

Література (References):

1. Smirnov AV, Dobronravov VA, Rumjancev ASH., Shilov E.M., Vatazin A..., Kayukov I.G., Kucher A.G., Yesayan M.A. Nacional'nye rekomendacii. Ostroe povrezhdenie pochek: osnovnye principy diagnostiki, profilaktiki i terapii. Chast' I Nefrologija. 2016; 20(1): 79–104. doi: 10.24884/1561-6274-2016-20-1-8-15
2. Savenkova ND, Pankov EA. Nereshennye problemy ostrogo povrezhdenija pochek u detej Nefrologija. 2015; 19(3): 9-19.
3. Savenkova ND, Pankov EA, Chemodanova MA. Ostroe povrezhdenie pochek u detej. Nefrologija. 2013;17(4):26-35. doi: 10.24884/1561-6274-2013-17-4-26-35.
4. Wong CJ, Moxey-Mims M, Fluker JJ, Warady, BA Furth SL. CKiD (CKD in children) prospective cohort study: a review of current findings. Am. J. Kidney Dis. 2012;60:1002-11. doi: 10.1053/j.ajkd.2012.07.018

5. *Coca SG, Singanamala S, Parikh CR.* Chronic kidney disease after acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Kidney Int.* 2012;81:442–8. doi: 10.1038/ki.2011.379.
6. *Hellemons ME, Kerschbaum J, Bakker SJ.* Validity of biomarkers predicting onset or progression of nephropathy in patients with Type 2 diabetes: a systematic review. *Diabet Med.* 2012; 29(5):567–77. doi: 10.1111/j.1464-5491.2011.03437.
7. *Tramonti G, Kanwar Y.S.* Review and discussion of tubular beomarkers in the diagnosis and management of diabetic nephropathy *Endocrine.* 2013; 43: 494–503. doi: 10.1007/s12020-012-9820-y
8. *Baldan-Martin M, Cuesta F, Alvarez-Llamas G.* Prediction of development and maintenance of high albuminuria during chronic renin-angiotensin suppression by plasma proteomics. *Int.J.Cardiol.* 2015;196:170–177. doi: 10.1016/j.ij-card.2015.05.148.
9. *Furth SL, Cole SR, Moxey-Mims M, Kaskel F, Mak R, Schwartz G, Wong C, Mu oz A, Warady BA.* Design and methods of the Chronic Kidney Disease in Children (CKiD) prospective cohort study. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2006;1:1006–15; doi: 10.2215/CJN.01941205
10. *Adiyanti SS, Loho T.* Acute Kidney Injury (AKI) Biomarker. *Acta Medica Indonesiana.* 2012;44(30):246–255.
11. *Nguyen MT, Devarajan P.* Biomarkers for the early detection of acute kidney injury. *Pediatr Nephrol.* 2011; 23(2):194–200. doi: 10.1007/s00467-007-0470-x.
12. *Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Hsing J, Gring F, Pietruck F, Janssen O, Philipp T, Kribben A.* Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney Int.* 2004;66:1115–22. doi: 10.1111/j.1523-1755.2004.00861.x
13. *Zheng J, Xiao Y, Yao Y, Xu G, Li C, Zhang Q, Li H, Han L.* Comparison of urinary biomarkers for early detection of acute kidney injury after cardiopulmonary bypass surgery in infants and young children. *Pediatr. Cardiol.* 2013;34(4):880–6. doi: 10.1007/s00246-012-0563-6.
14. *Goldstein SL.* Acute kidney injury in children and its potential consequences in adulthood. *Blood Purif.* 2012;33:131–7. doi: 10.1159/000334143.
15. *Khwaja A.* KDIGO Clinical Practice Guidelines for Acute Kidney Injury. *Nephron Clin Pract* 2012;120:c179–c184. doi: 10.1159/000339789.
16. *Volpon LC, Sugo EK, Carlotti AP.* Diagnostic and prognostic value of serum cystatin C in critically ill children with acute kidney injury. *Pediatr Crit Care Med.* 2015;16(5):e125–31. doi: 10.1097/PCC.0000000000000403
17. *Bagshaw SM, Bellomo R.* Cystatin C in acute kidney injury. *Curr Opin Crit Care.* 2010;16(6):533–9. doi: 10.1097/MCC.0b013e32833e8412
18. *Wasung ME, Chawla LS, Madero M.* Biomarkers of renal function, which and when? *Clin Chim Acta.* 2015;1(438):350–7. doi: 10.1016/j.cca.2014.08.039.
19. *Fergjuson MA, Vajkar SS.* Ustanovlenne i vnov' predlagaemye markery pochek. *Klinicheskaja laboratornaja diagnostika.* 2013;11:3–11.
20. *Liangos O, Perianayagam MC, Vaidya VS, Han WK, Wald R, Tighiouart H, et al.* Urinary N-acetyl-beta-(d)-glucosaminidase activity and kidney injury molecule-1 level are associated with adverse outcomes in acute renal failure. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007;18: 904–12. doi: 10.1681/ASN.2006030221
21. *Bazzi C, Rizza V, Olivieri G, Casellato D, D'Amico G.* Tubular reabsorption of high, middle and low molecular weight proteins according to the tubulo-interstitial damage marker N-acetyl- -D-glucosaminidase in glomerulonephritis. *J Nephrol.* 2015; 28(5):541–8. doi: 10.1007/s40620-014-0139-z.
22. *Kolesnyk MO, Korol LV, Myhal LYa, Stepanova NM, Kundin VYu, Romanenko OA.* Topichna diahnosty-ka retsydyvuiuchoi infektsii sechovoi systemy (za enzymurychnymy kryteriiamy). *Ekspyrymentalna ta klinichna fizioloheia i biokhimiia.* 2014;3(1):102–4.
23. *de Geus HR, Betjes MG, Bakker J.* Biomarkers for the prediction of acute kidney injury: a narrative review on current status and future challenges. *Clin Kidney J.* 2012;5(2):102–8. doi:10.1093/ckj/sfs008
24. *Mohkam M, Ghafari A.* The Role of Urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase in Diagnosis of Kidney Diseases. *Ped. Nephrology.* 2015;3(3): 84–91.
25. *Sherman RL, Drayer DE, Leyland-Jones BR, Reidenberg MM.* N-Acetyl-beta-glucosaminidase and beta2-microglobulin. Their urinary excretion in patients with renal parenchymal disease. *Arch Intern Med.* 1983;143:1183–5. doi:10.1001/archinte.143.6.1183
26. *Price RG.* The role of NAG (N-acetyl-beta-D-glucosaminidase) in the diagnosis of kidney disease including the monitoring of nephrotoxicity. *Clin Nephrol.* 1992;38:S14–9.
27. *Bazzi C, Petrini C, Rizza V, Arrigo G, Napodano P, Paparella M, D'Amico G.* Urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase excretion is a marker of tubular cell dysfunction and a predictor of outcome in primary glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17:1890–6. doi: 10.1093/ndt/17.11.1890
28. *Lobato GR, Lobato MR, Thomé FS, Veronese FV.* Performance of urinary kidney injury molecule-1, neutrophil gelatinase-associated lipocalin, and N-acetyl- -D-glucosaminidase to predict chronic kidney disease progression and adverse outcomes. *Braz J Med Biol Res.* 2017;30;50(5):e6106. doi: 10.1590/1414-431X20176106
29. *Dobrek L, Thor P.* Novel biomarkers of acute kidney injury and chronic kidney disease. *Polish an-*

- nals of medicine. 2017;24:84–91. doi: 10.1016/j.poamed.2016.10.002
30. Korol LV, Mygal L Y, Stepanova NM. Intensity of oxidative stress and activity of angiotensin converting enzyme in blood of patients with uncomplicated pyelonephritis. *Ukr.Biochem.J.* 2017;89(2):99–105. doi: 10.15407/ubj89.02.099.
 31. Kang HK, Kim DK, Lee BH, Om AS, Hong JH, Koh HC, Lee CH, Shin IC, Kang JS: Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase and malondialdehyde as a markers of renal damage in burned patients. *J Korean Med Sci.* 2001;16:598–602. doi: 10.3346/jkms.2001.16.5.598
 32. Westhuyzen J, Endre ZH, Reece G, Reith DM, Saltissi D, Morgan TJ. Measurement of tubular enzymuria facilitates early detection of acute renal impairment in the intensive care unit. *Nephrol Dial Transplant.* 2003;18:543–51. doi: 10.1093/ndt/18.3.543
 33. Liangos O, Perianayagam MC, Vaidya VS, Han WK, Wald R, Tighiouart H, MacKinnon RW, Li L, Balakrishnan VS, Pereira BJG, Bonventre JV, Jaber BL. Urinary N-Acetyl- β -(D)-Glucosaminidase Activity and Kidney Injury Molecule-1 Level Are Associated with Adverse Outcomes in Acute Renal Failure. *Clinical Nephrology JASN.* 2007;18(3): 904–12; doi: 10.1681/ASN.200603022
 34. Raghad J. Ali, Firyal H. Al-Obaidi, Hala S. Arif. The Role of Urinary N-acetyl Beta-D-glucosaminidase in Children with Urological Problems. *Oman Med J.* 2014; 29(4): 285–288. doi: 10.5001/omj.2014.74
 35. Jungbauer CG, Uecer E, Stadler S, Birner C, Buchner S, Maier LS, Luchner A. N-acetyl- β -D-glucosaminidase and kidney injury molecule-1: New predictors for long-term progression of chronic kidney disease in patients with heart failure. *Nephrology (Carlton).* 2016; 21(6):490–8. doi: 10.1111/nep.12632.
 36. Jungbauer CG, Birner C, Jung B, Buchner S, Lubnow M, von Bary C, Endemann D, Banas B, Mack M, Böger CA. Kidney injury molecule-1 and N-acetyl- β -D-glucosaminidase in chronic heart failure: possible biomarkers of cardiorenal syndrome. *Eur J Heart Fail.* 2011; 13(10):1104–10. doi:10.1093/eurjhf/hfr102
 37. Park M, Hsu CY, Go AS, Feldman HI, Xie D, Zhang X, Mifflin T, Waikar SS, Sabbisetti VS, Bonventre JV. Urine Kidney Injury Biomarkers and Risks of Cardiovascular Disease Events and All-Cause Death: The CRIC Study. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2017; 12(5):761–71. doi: 10.2215/CJN.08560816.
 38. Konukoglu Dildar. Biomarkers for acute kidney injury / DOI: 10.14744/ijmb.2018.09719 *Int J Med Biochem* 2018;1(2):80–7. doi: 10.14744/ijmb.2018.09719
 39. Park HC, Hwang JH, Kang AY, Ro H, Kim MG, An JN, In Park J, Kim SH, Yang J, Oh YK, Oh KH, Noh JW, Cheong HI, Hwang YH, Ahn C. Urinary N-acetyl- β -D glucosaminidase as a surrogate marker for renal function in autosomal dominant polycystic kidney disease: 1 year prospective cohort study. *BMC Nephrol.* 2012;13:93.. doi: 10.1186/1471-2369-13-93.