

РОЛЬ БИОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОЦЕНКЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ ФУНКЦИИ ПОЧЕК НОВОРОЖДЕННЫХ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОЙ ГИПОКСИИ

УДК 616.61—053.31—001.8—074

Поступила 18.05.2010 г.



Г.Л. Шунькина, врач клинической лабораторной диагностики

Городская детская клиническая больница №1, Н. Новгород

Цель исследования — выявление особенностей нарушения работы почек у новорожденных на фоне перенесенной гипоксии.

Материалы и методы. Обследовано 135 новорожденных детей, поступивших на лечение в ГДКБ №1 Н. Новгорода на первой неделе жизни, с перенесенной гипоксией различной степени тяжести. По определенной схеме проводились биохимические исследования, в том числе изучалась степень ферментурии.

Результаты. Получены достоверные данные о том, что при гипоксии нарушаются функции почек: снижается скорость фильтрации, что выражается повышением уровня креатинина в сыворотке крови; страдают канальцевый и клубочковый аппараты почек, это подтверждается повышением активности гамма-глутамилтрансферазы и холинэстеразы в моче; происходят нарушения и в кальциево-фосфорном обмене.

Заключение. Детям, перенесшим гипоксию, рекомендуется проводить комплекс биохимических исследований с целью оценки повреждения почек.

Ключевые слова: гипоксия, гамма-глутамилтрансфераза, холинэстераза.

English

Role of biochemical investigations in assessment of the newborn kidney function damage after a hypoxia

G.L. Shunkina, physician of a clinical laboratory diagnosis

City infantile clinical hospital №1, N. Novgorod

Aim of investigation is revealing of the kidney work disturbance peculiarities in newborns at the background of endured hypoxia.

Materials and methods. 135 newborns, treating at a CICH №1 of N. Novgorod at the first week of life with endured hypoxia of a different degree of gravity, are examined. The biochemical investigations were conducted according to a certain scheme; a fermenturia degree was also studied.

Results. The trustworthy data is received that the kidney functions are disturbed at hypoxia: a filtration rate is decreased, which is expressed by a creatinin level increase in a blood serum; the tubular and glomerular apparatuses of kidneys suffer, which is confirmed by the gamma-glutamyltransferase and cholinesterase activity increase in urine; the disturbances in a calcium and phosphoric metabolism take place.

Conclusion. A complex of biochemical investigations for the kidney damage assessment is recommended for children endured a hypoxia.

Key words: hypoxia, gamma-glutamyltransferase, cholinesterase.

Постгипоксические поражения различных органов и систем (после перенесенной внутриутробной гипоксии плода и асфиксии в родах) в дальнейшем могут приводить к ухудшению здоровья новорожденных, появлению хронических заболеваний, в том числе заболеваний органов мочевыводящей системы [1, 2]. Поэтому на данном этапе важно правильно оценить

функциональное состояние почек для подбора адекватных схем лечения, а также — влияние интенсивной терапии на клубочковый и канальцевый аппараты почек.

Цель исследования — выявление особенностей нарушения функции почек у новорожденных на фоне перенесенной гипоксии.

Для контактов: Шунькина Галина Леонидовна, тел. раб. 8(831)465-68-23, тел. моб. +7 903-603-32-70, e-mail: galina1363@mail.ru.

Материалы и методы. Проведен анализ крови и мочи новорожденных, поступивших на лечение в отделение реанимации и интенсивной терапии ГДКБ №1 Н. Новгорода. Обследование детей проводилось в динамике на 4—7, 10—14-й дни жизни и в конце неонатального периода (28—30 дней). Дети были разделены на три группы: контрольная (n=29), основная (n=35) и группа сравнения (n=8). Биохимические исследования включали определение уровня кальция и фосфора в сыворотке крови и моче по конечной точке и креатинина в моче и сыворотке крови методом Яффе без предварительной депротеинизации. Содержание калия, натрия, ионизированного кальция в плазме крови, калия и натрия в моче определяли ионселективным методом на автоматическом анализаторе газов крови и электролитов ABL 555 (RADIOMETER, Дания). Анализ активности в моче гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ), холинэстеразы (ХЭ), щелочной фосфатазы проводили кинетическими методами на автоматическом биохимическом анализаторе FLEXOR E (VITALAB SENTIFFIC, Нидерланды).

Важной составляющей этой работы было изучение ферментативной активности мочи в зависимости от состояния больных детей. Это неинвазивный метод обследования новорожденных, что особенно актуально для недоношенных и детей с малой массой. Содержание ферментов определялось следующим образом: трехчасовая (с 6-00 до 9-00 утра) порция мочи с помощью мочевого катетера или мочеприемника собиралась в пластиковую посуду для предупреждения абсорбции фермента на стекле. Затем она охлаждалась в течение 3 ч в холодильнике и центрифугировалась на центрифуге ОПН-3 со скоростью 3000 об./мин в течение 30 мин. Потом надосадочную жидкость доводили до нейтральной pH с помощью 0,1N раствора NaOH или HCl соответственно при кислой или щелочной реакции мочи. Диализ мочи не проводили, поскольку в серии предварительных экспериментов не было выявлено его влияния на результаты определения активности ферментов. Так как для исследования использовалась не суточная, а трехчасовая порция мочи, а выделение ферментов подвержено циркадному ритму, то их активность пересчитывали на миллиграмм выделенного креатинина (одновременно в данной порции мочи определялось и содержание креатинина), так как известно, что креатинин в течение дня выделяется с постоянной скоростью.

Для оценки гломерулярной фильтрации использовалась активность ХЭ в моче, так как этот фермент в почечной ткани практически отсутствует, потому что не проходит через гломерулярный фильтр из-за высокой молекулярной массы — 348 кДа. ХЭ является единственным ферментом, отражающим поражение клубочкового аппарата почек.

Активность ХЭ определялась по реакции расщепления бутирилхолина на тиохоллин и бутират. Тиохоллин затем вступает в реакцию с гексоцианферратом (III), имеющим желтую окраску, переводя его в бесцветный гексоцианферрат (II). По интенсивности окраски и оценивалась активность ХЭ, потом она измерялась в

кед./л и пересчитывалась на миллиграмм выделенного креатинина.

Следующими для изучения выбраны ферменты, которые отражают повреждение или повышение проницаемости мембран почечных канальцев [3—5]. Таким ферментом является ГГТ. Основная каталитическая функция ее заключается в расщеплении глутатиона до глутаминовой кислоты и дипептида. Катализируя перенос остатка гамма-глутамила с одного на другой пептид, она вовлечена в транспорт аминокислот через клеточные мембраны. Для того, чтобы проникнуть в клетку, аминокислота должна вступить в реакцию с трипептидом — глутатионом. Эта реакция является ключевой в процессах включения аминокислот в клетки и протекает на клеточной мембране. Действуя как транспептидаза, ГГТ обеспечивает перенос гамма-глутамильного остатка к акцепторным аминокислотам.

Для определения активности ГГТ нами использовался референтный метод IFCC, где субстратом служит L-гамма-глутамил-2-карбоксит-4-анилид, а акцептор — глицил-глицин.

Активность ГГТ мочи особенно тесно коррелирует с активностью патологического процесса в почечной ткани, так как этот фермент частично локализован в плазматической мембране, а частично — в комплексе Гольджи. Увеличение активности ГГТ выявляется на ранних стадиях поражения почек.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы приложения Statistica 6.0. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Суточный диурез у детей, перенесших гипоксию, постепенно увеличивался к первым двум неделям жизни, а затем оставался стабильным до конца раннего неонатального периода. В течение первого месяца жизни у детей основной группы установлено статистически значимое увеличение уровня креатинина по сравнению с новорожденными из группы сравнения (1—3-и сутки: $T=2,44$, $p=0,0161$; 4—7-е сутки: $T=3,35$, $p=0,0014$; на 15—28-е сутки: $T=4,11$, $p=0,0003$). Таким образом, подтверждается предположение о том, что гипоксия патологически влияет на почечный кровоток. Отмечается снижение скорости клубочковой фильтрации, а затем постепенно происходит купирование процесса.

Увеличение активности в моче фермента холинэстеразы — маркера поражения клубочков (в основной группе (n=35) — $3,369 \pm 0,560$ ЕД/мг креатинина, в группе сравнения (n=8) — $1,412 \pm 0,510$ ЕД/мг креатинина) свидетельствует о проницаемости гломерулярного фильтра, а это, видимо, является универсальным признаком гипоксического поражения клубочкового аппарата.

Для изучения функции почечных канальцев и выявления их состояния после перенесенной гипоксии исследовалась активность ГГТ в моче. Установлено, что у детей с хронической гипоксией она составляла $93,90 \pm 15,19$ ЕД/мг креатинина, с острой асфиксией — $141,0 \pm 30,4$, а с острой асфиксией и хронической гипоксией — $146,00 \pm 59,21$.

Достоверных различий между значениями в группах детей с различными формами гипоксии не выявлено,

Значение кальций/креатининового коэффициента на первой неделе жизни (ммоль/моль выделенного креатинина)

Группы	Диапазон	Медиана	95-й перцентиль
Основная	0,068—2,350	0,457	1,14
Сравнения	0,045—7,740	0,173	0,34
Контрольная	0,004—0,169	0,037	0,076

хотя наблюдается тенденция к повышению значений при острой и смешанной асфиксии. По всей видимости, это связано с токсическим действием интенсивной терапии.

Для оценки реабсорбционной функции проксимальных канальцев изучалась экскреторная фракция натрия [6]. Полученные данные совпадают с литературными данными. Выявлено, что у детей с острой асфиксией этот показатель повышается, тем самым подтверждая повреждение канальцев при гипоксии. При этом получен высокий коэффициент корреляции по Спирмену между активностью ГГТ в моче и экскреторной фракцией натрия ($r=0,3883$; $z=2,797$; $p=0,0025$). Кроме того, установлена положительная корреляция и с экскреторной фракцией калия, что подтверждает поражение и дистальных канальцев почек.

При гипоксических поражениях страдает и кальциево-фосфорный обмен, у большинства новорожденных наблюдалась гипокальциемия, в том числе снижение уровня ионизированного кальция, что, вероятно, связано с большими объемами проводимой инфузионной терапии. Гипофосфатемия была выявлена у многих детей, особенно у новорожденных, находящихся на парентеральном питании. В конце неонатального периода происходит постепенная стабилизация показателей. При изучении выделения кальция с мочой получены следующие результаты (см. таблицу).

На основании полученных данных можно сделать

вывод: высокий уровень выведения кальция у новорожденных, находящихся в критическом состоянии, может быть связан с тяжелым гипоксическим и токсическим поражением почек, что сопровождается повреждением канальцевого эпителия. Это подтверждается высоким уровнем коэффициента корреляции между выведением кальция и уровнем ГГТ в моче: $r=0,248$; $p=0,023$. Причиной гиперфосфатурии, возможно, является состояние, подобное рахиту недоношенных детей. Оно заключается в повышении активности паратгормона на фоне недостаточного поступления кальция [7, 8].

Заключение. Биохимические исследования могут быть рекомендованы для оценки повреждений функции почек у детей, перенесших различную степень гипоксии.

Литература

1. Актуальные проблемы педиатрии: Сборник материалов XII Конгресса педиатров России. М; 2008.
2. Гипоксия плода и новорожденного. Под ред. М.Я. Студеникина, Н. Халлмана. М: Медицина; 1984; 240 с.
3. Справочник по клинико-биохимической диагностике. Т. 1—2. Минск: Беларусь; 2000.
4. Кольман Я., Рем К.Г. Наглядная биохимия. М: Мир; 2000; 469 с.
5. Ходюкова А.Б. Лабораторные критерии патологии почек и мочевыводящих путей. Медицинские знания 2001; 1: 24—27.
6. Гьери А.З. Нарушение функций канальцев. Руководство по нефрологии. Пер. с англ. М; 2000.
7. Архипова Н.Н. Фосфатно-кальциевый гомеостаз у детей в критические периоды роста, его нарушения, пути коррекции. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Н. Новгород; 2006.
8. Senterre J., Salle B. Renal aspects of calcium and phosphorus metabolism in preterm infants. Biol Neonate 1988; 53(4): 220—229.