ПРОТОКОЛЫ ЗАСЕДАНИЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКОГО НАУЧНОГО ОБЩЕСТВА НЕФРОЛОГОВ

Заседание от 22 декабря 2000 г.

Председатель: з. д. н. проф. С.И.Рябов
Секретарь: канд. мед. наук И.Ю.Панина

Доклад

А.Н.Шишкин, Т.Н.Варясина. **Ультраструктурные особенности лимфомикроциркуляторного русла почек у больных с протеинурией.**

Было изучено 30 пациентов с нефротическим синдромом (НС) различной этиологии: гломерулонефриты — 23; вторичный амилоидоз почек (АП) — 5; диабетический гломерулосклероз — 2. Кроме того, отдельную группу составили больные без НС, с протеинурией до 1,0 г в сутки — 15 человек (гломерулонефриты — 12, АП — 1). Функциональная способность почек была сохранена у всех пациентов. Длительность заболевания у всех больных превышала 3 года. Давность НС колебалась от 1 мес до 7 лет. Всем проводили стандартное клинико-лабораторное обследование в нефрологическом стационаре. Биоптаты почек подвергались светооптическому и электронно-микроскопическому исследованию (ЭМ). Использовали электронный микроскоп JEM-7A.

При светооптической микроскопии биоптатов у всех пациентов отмечались разной степени выраженности тубулоинтерстициальные, сосудистые и склеротические изменения. При ЭМ биоптатов у всех пациентов с НС выявлена деструкция малых отростков подоцитов от признаков их гипертрофии. свидетельствующей о функциональной гиперактивности, до их слияния. ЭМ-исследование показало широкую вариабельность изменений эндотелиоцитов лимфатических капилляров. При ЭМ лимфатических капилляров у больных с давностью НС до 3-х мес в перитубулярных лимфатических капиллярах отмечалась высокая и равномерная электронная плотность цитоплазмы, вакуолизация митохондрий, пиноцитозные пузырьки в стадии загрузки, миелоидные тельца. Эндотелиоциты таких капилляров характеризовались признаками повышенной функциональной активности. У больных с большой давностью НС лимфатические капилляры выглядели как бы «вмурованными» в интерстиций длинными цитоплазматическими отростками. На люминальной поверхности эндотелиоцитов также располагались отростки, длина которых превышала ширину цитоплазмы эндотелиальных клеток. В цитоплазме этих отростков содержались митохондрии, пиноцитозные пузырьки, вакуоли. Обращала на себя внимание выраженная трехслойность цитолеммы эндотелиоцитов, а также ее зернистость. Проведенные исследования позволяют высказать мысль о многоэтапности изменений в лимфатических капиллярах почки в условиях нарастания протеинурии и развития НС. Не было отмечено ультраструктурных особенностей в зависимости от этиологии НС.

Вопросы

Д. м. н. А.Ш.Румянцев. Согласно полученным Вами данным ультраструктурные изменения эндотелиоцитов лимфатических капилляров почек зависят от давности нефротического синдрома. Наблюдалась ли зависимость выраженности повреждений этих клеток от степени протеинурии?

Ответ. Естественно, основываясь на результатах электронномикроскопического исследования очень трудно выявить четкие количественные связи между морфологическими изменениями и таким параметром, как протеинурия. Однако, создается впечатление, что определенная зависимость здесь прослеживается, хотя и не абсолютно строгая. Действительно, несколько чаще большей потере белка соответствовали более тяжелые повреждения эндотелиоцитов. Однако встречались случаи сочетания весьма высокой протеинурии со сравнительно умеренными изменениями этих клеток.

Д. м. н. В.А.Добронравов. Аналогичный вопрос о зависимости состояния эндотелиоцитов лимфатических капилляров почек от уровня гиперлипидемии?

Ответ. Четкую зависимость выявить не удалось.

Прения

Д. м. н. А.М.Есаян. Работа очень интересна тем, что состоянию почечного лимфооттока уделяется весьма мало внимания при различной патологии почек. Представленные здесь данные во многом новы и иногда трудно поддаются интерпретации. Тем не менее, они могут достаточно существенно изменить наши представления о механизмах развития протеинурии.

Д. м. н. И.Г.Каюков. Следует согласиться с мнением предыдущего выступающего о новизне представленных данных. Несмотря на то, что почки являются органом, обладающим очень мощным лимфооттоком, его физиологическое значение очень редко становится предметом исследований. О роли изменений лимфомикроциркуляторного русла почек в патологии известно еще меньше. Скорее всего, результаты представленные авторами позволяют предположить гораздо более сложный механизм ренального транспорта крупномолекулярных соединений, чем принято считать. Для дальнейшего выяснения роли изменений почечного лимфооттока в физиологии и патологии почек нужны дополнительные исследования.

Заключительное слово председателя

Действительно, представленные авторами данные очень оригинальны и могут служить основанием для серьезного пересмотра ряда представлений о механизмах развития протеинурии. К сожалению, приходится признать, что на современном уровне знаний невозможно сформировать хотя бы самую общую концепцию о роли изменений почечного лимфооттока в развитии патологии органа. Следует пожелать авторам продолжить исследования в этом направлении.

Заседание от 23 марта 2001 г.

Председатель: проф. Б.Г.Лукичев
Секретарь: канд. мед. наук И.Ю.Панина

Доклад

А.В.Папаян, Н.А.Лисовая. **Перспективы использования новых лабораторных технологий для оценки тяжести патологического процесса и эффективности проводимой терапии при заболеваниях почек у детей.**

Разработка и внедрение в практику интегральных методов диагностики, сочетающих высокую информативность с доступностью для клинико-диагностических лабораторий, является важной задачей детской нефрологии. Лазерная корреляционная спектроскопия (ЛКС) основана на опреде-

лении гидродинамических размеров частиц любых биожидкостей в диапазоне от 1 до 10 000 нм, что позволяет изучать многопараметровые сдвиги в нативных биологических средах. В настоящем исследовании представлена попытка оценки тяжести патологического процесса и контроля за эффективностью проводимой терапии при заболеваниях почек у детей на основе исследования сыворотки крови и мочи методом ЛКС, а также установление связи уропротеинов с отдельными светорассеивающими субфракциями.

Обнаружено, что при гломерулонефрите (ГН) выявлено преобладание (78%) процессов катаболизма с повышенным накоплением в спектре низкомолекулярных частиц (размером от 1 до 30 нм). В тоже время при пиелонефрите (ПН) в большинстве случаев (55%) регистрировались ЛКС-сдвиги, характеризующиеся увеличением содержания в спектре высокомолекулярных частиц (размером от 71 до 150 нм). Однако вне зависимости от этиопатогенеза и при ГН и при ПН тяжесть заболевания характеризовалась нарастанием катаболических процессов. У детей с нефротическим синдромом с минимальными изменениями (НСМИ) на фоне патогенетической терапии глюкокортикоидами (ГК) отмечалось достоверное снижение содержания в сыворотке крови низкомолекулярных частиц размером от 11 до 30 нм с одновременным нарастанием уровня средне- и крупномолекулярных (30–50 нм).

При исследовании мочи методом ЛКС обнаружено, что при ГН в моче доминировали (71%) ЛКС-сдвиги, связанные с повышенной экскрецией низкомолекулярных частиц (размером до 75 нм), что существенно выше, чем при пиелонефрите (41%). При этом встречаемость данных сдвигов еще больше увеличивалась в случаях наиболее тяжелого течения гломерулонефрита (до 95%). Вместе с тем, при пиелонефрите с наибольшей частотой (39%) выявлялись ЛКС-сдвиги мочи, характеризующиеся повышенной экскрецией высокомолекулярных частиц (размером от 221 до 1500 нм). При этом у пациентов с НСМИ на фоне ГК терапии наблюдалось исчезновение протеинурии, уменьшение экскреции с мочой низкомолекулярных частиц размером до 75 нм ($p<0,01$) на фоне увеличения процентного содержания частиц среднемолекулярной фракции (76–220 нм; $p<0,04$), что свидетельствует о восстановлении зарядно-селективной функции клубочкового фильтрационного барьера.

При проведении исследования с нативными образцами мочи и после осаждения в них белковых ингредиентов 0,58 М раствором NaCl выявлено, что не зависимо от наличия или отсутствия почечной патологии, наиболее существенное снижение светорассеивания наблюдалось в области высокомолекулярных (221–1500 нм) и сверхвысокомолекулярных (>1500 нм) субфракций при ЛКС-сдвигах мочи, характеризующихся повышенным накоплением в спектре высокомолекулярных частиц (или макромолекулярных сдвигах). Т. е. природа высокомолекулярных субфракций мочи, регистрируемых методом ЛКС, представлена преимущественно гликопротеином Тамма-Хорсфалла (ТХП).

При этом в контрольной группе детей по мере нарастания осмоляльности мочи увеличивалась встречаемость макромолекулярных сдвигов ($\chi^2=10,2$, $p<0,05$). Учитывая, что в этих случаях ТХП осаждался из высокомолекулярной зоны спектра, можно утверждать, что их обнаружение у здоровых детей связано с полимеризацией гликопротеина по мере концентрирования мочи. Противоположная картина наблюдалась при мочекаменной болезни (МКБ): макромолекулярные ЛКС-сдвиги в моче встречались преимущественно при осмоляльности до 600 ммоль/кг H_2O (61%), тогда как при осмоляльности выше 600 ммоль/кг H_2O регистрировались предпочтительно ЛКС-сдвиги мочи, связанные с повышенной экскрецией низкомолекулярных частиц (72%). Можно предположить, что обнаружение макромолекулярных сдвигов у детей с МКБ при более низких значениях осмоляльности мочи может быть связано с изменением структуры самого белка Тамма-Хорсфалла и полимеризацией его при более низкой концентрации мочи. Отсюда следует, что коллоидная стабильность мочи зависит не только от белкового спектра мочи, но и от степени полимеризации уропротеинов. В свою очередь, структурные изменения макромолекул мочи могут быть связаны как с изменением физико-химических свойств мочи, так и с первичным нарушением структуры макромолекул, являющимся результатом тубулярных дисфункций.

Результаты клинической апробации ЛКС сыворотки крови и мочи у детей с ГН и ПН позволяют утверждать, что при изученных заболеваниях почек регистрируемые ЛКС-сдвиги соответствуют характеру основного патологического процесса и зависят от его тяжести. При этом ЛКС исследование сыворотки крови дает информацию о характере патологического процесса и тяжести его для всего организма, а ЛКС мочи — о характере местного процесса. Кроме того, исследование мочи методом ЛКС позволяет установить степень полимеризации макромолекул мочи, что при одновременном определении осмоляльности дает возможность дифференцировать механизмы структурных изменений уропротеинов, а, следовательно, прогнозировать развитие мочекаменной болезни и рецидивирующее течение уролитиаза. Все это указывает на перспективность использования ЛКС для диагностики и мониторинга различных заболеваний почек у детей.

Вопросы

Проф. Б.Г.Лукичев. При гломерулонефрите наблюдались ЛКС-сдвиги, связанные с экскрецией низкомолекулярных частиц, в то же время у этих пациентов имела место протеинурия, т. е. выделение с мочой белков, которые, как известно, имеют высокую молекулярную массу, а экскреция среднемолекулярных частиц была невысокой. Чем это можно объяснить?

Ответ. Исчерпывающего объяснения на сегодняшний день дать невозможно. По-видимому, речь может идти о выведении компонентов фильтрационных мембран, связанных с утратой их зарядно-селективной функции у больных гломерулонефритом. Это, возможно, определяет отмеченные ЛКС-сдвиги.

Проф. Н.Н.Смирнова. Какова на Ваш взгляд нозологическая значимость результатов лазерной корреляционной спектроскопии?

Ответ. Имеются довольно четкие различия в ЛКС-сдвигах, например, при гломерулонефрите и пиелонефрите. Эти данные, по-видимому, могут учитываться в дифференциальной диагностике данных заболеваний. Тем не менее, метод ЛКС скорее может иметь больше перспектив для мониторинга течения различных заболеваний почек у детей.

Заключительное слово председателя

Представленные данные чрезвычайно интересны. По-видимому, методы, испытанные авторами, могут занять свое место в диагностике заболеваний почек, причем не только у детей. Следует согласиться с тем, что большее значение может иметь применение этих способов в контроле за течением заболевания и эффективностью терапии. Тем не менее, необходимо проведение еще очень большого количества исследований, чтобы более четко определить их клинико-диагностическую значимость.