

© З.Р. Баширова, 2019

УДК [616.61-006.31:577.152.34]-036.8-053.2

Для цитирования: Баширова З.Р. Клинико-прогностическое значение факторов протеолиза у детей с аутосомно-доминантной поликистозной болезнью почек. *Нефрология* 2019; 23 (2): 91-99. DOI:10.24884/1561-6274-2019-23-2-91-99

For citation: Bashirova Z.R. Clinical and prognostic value of proteolysis factors in children with autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2019; 23 (2): 91-99 (In Rus.). DOI:10.24884/1561-6274-2019-23-2-91-99

*З.Р. Баширова\**

## КЛИНИКО-ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ФАКТОРОВ ПРОТЕОЛИЗА У ДЕТЕЙ С АУТОСОМНО-ДОМИНАНТНОЙ ПОЛИКИСТОЗНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПОЧЕК

Обособленное структурное подразделение «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. акад. Ю.Е. Вельтищева» ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И.Пирогова, отдел наследственных и приобретенных болезней почек, Москва, Россия

*Z.R. Bashirova\**

## CLINICAL AND PROGNOSTIC VALUE OF PROTEOLYSIS FACTORS IN CHILDREN WITH AUTOSOMAL DOMINANT POLYCYSTIC KIDNEY DISEASE

Veltishev Research and Clinical Institute for Pediatrics of the Pirogov Russian National Research Medical University, department of hereditary and acquired kidney disease, Moscow, Russia

### РЕФЕРАТ

**ВВЕДЕНИЕ.** Прогрессирующий почечный фиброз при различных нефропатиях, в том числе при аутосомно-доминантной поликистозной болезни почек (АДПБП), является результатом дисбаланса между механизмами образования экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ) и его деградации (протеолиза). Система матриксных металлопротеиназ (ММП) и их ингибиторов [тканевые ингибиторы ММП (ТИМП), ингибитор активатора плазминогена типа I – ПАИ-I] играет ключевую роль в этих процессах. В эксперименте показано, что рост кист является следствием увеличения синтеза компонентов ЭЦМ, при нарушении функционирования системы ММП/ТИМП, однако в клинических условиях эти вопросы не изучались. **ЦЕЛЬ:** определить экскрецию с мочой ММП-2, ММП-3 и ММП-9 и их ингибиторов ТИМП-1 и -2, ПАИ-I, установить взаимосвязь их изменений с скорректированным на поверхность тела объемом почек и функциональным состоянием почек, оценить значение нарушений в системе ММП/ТИМП в качестве дополнительного критерия прогрессирования АДПБП. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** В исследование включены 34 ребенка с АДПБП. Уровень ММП-2, ММП-3 и ММП-9 и их ингибиторов ТИМП-1 и -2, ПАИ-I определяли в моче методом ИФА. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** рСКФ у детей с суммарным объемом почек более 97 % был статистически значимо более низкой, чем в группе детей с нормальным суммарным объемом почек. В группе детей с АДПБП и суммарным объемом почек более 97 % выявлены статистически значимое повышение уровней ТИМП-1, ТИМП-2 и ПАИ-I в моче и достоверно более низкий уровень экскреции с мочой ММП-3 и ММП-9 по сравнению с группой детей с нормальным суммарным объемом почек. В группе детей с АДПБП и суммарным объемом почек более 97 % установлена обратная корреляционная взаимосвязь между уровнем рСКФ и ТИМП-2 и ПАИ-I, а также прямая корреляционная взаимосвязь между суммарным объемом почек и мочевой экскрецией ТИМП-1. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** ММП и их ингибиторы играют важную роль в почечном повреждении у детей с АДПБП, отражая выраженность накопления экстрацеллюлярного матрикса, что определяет перспективы их использования для мониторинга процессов фиброобразования в почке и в качестве предикторов прогрессирования АДПБП.

**Ключевые слова:** дети, аутосомно-доминантная поликистозная болезнь почек, матриксная металлопротеиназа-2, -9 и -3, тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ-1 и -2, ПАИ-I

### ABSTRACT

**BACKGROUND.** One of the perspectives of modern Nephrology is the study of the mechanisms of nephrosclerosis in ADPKD. Matrix metalloproteinase system (MMP/TIMP)—enzymes that play a key role in the processes of proteolysis in the kidney. **THE AIM:** to determine the expression of the urine MMP-2, MMP-3 and MMP-9 and their inhibitors TIMP-1 and 2, PAI-I, to establish their relationship with the volume of the kidney corrected to the surface of the body and the functional state of the kidneys, an additional criterion of progression. **PATIENTS AND METHODS.** The study included 34 children with ADPKD. The level of MMP-2, MMP-3 and MMP-9 and their inhibitors TIMP-1 and 2, PAI-I were determined in urine by ELISA. **RESULTS.** eGFR in children with total kidney volume greater than 97% was significantly lower than in children with normal total

\*Баширова З.Р. 125412, Москва, ул. Талдомская, д. 2. Обособленное структурное подразделение «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. акад. Ю.Е. Вельтищева» ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, отдел наследственных и приобретенных болезней почек. Тел.: 8(495)483-36-53; E-mail: Z-Bash@mail.ru. ORCID: 0000-0003-3915-8617

kidney volume. In the group of children with a total volume of the kidneys more than 97 percentile, a statistically significant increase in the level of TIMP-1 and TIMP-2 and PAI-I in the urine, and a statistically significant low level of urinary excretion of MMP-3 and MMP-9, compared with the group of children with ADPKD with normal total volume of the kidneys. In the group of children with ADPKD and total kidney volume of more than 97 percentiles of an inverse correlation relationship between the level of eGFR and TIMP-2 and PAI-I, as well as a direct correlation relationship between the total volume of kidney and the urinary excretion of TIMP-1. **CONCLUSION.** MMP and its inhibitors play an important role in renal damage in children with ADPKD. These proteolysis factors are promising to use as an indicator of the severity of the accumulation of extracellular matrix, that is, monitoring the process of fibrosis, and used as a predictor of progression.

**Keywords:** children, autosomal dominant polycystic kidney disease, matrix metalloproteinase-2,-9, and -3, tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-1 and 2, PAI-I

## ВВЕДЕНИЕ

Аутосомно-доминантная поликистозная болезнь почек (АДПБП) является наиболее распространенным наследственным заболеванием почек от 1:400 до 1:1000. На нее приходится 7–10 % всех пациентов с терминальной почечной недостаточностью (ТПН), что представляет собой серьезную социально-экономическую медицинскую проблему в мире [1–3].

АДПБП – моногенное расстройство, обусловленное мутациями в генах *PKD1*, *PKD2* или *GANAB* (*PKD3*) [4]. Мутации первых двух генов (*PKD1* и *PKD2*) составляют 80–85 и 15–20 % случаев соответственно [5–7]. По состоянию на 31 января 2018 года более 200 мутаций (2323 в *PKD1* и 278 в *PKD2*) были описаны в базе данных Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease Database (PKDB; <http://pkdb.mayo.edu>). Недавно в двух исследованиях сообщалось об ассоциации третьего гена АДПБП – *GANAB* или *PKD3* [8, 9] с распространенностью примерно 0,3 % от общего числа АДПБП [9]. Результатами мутаций являются нарушения внутриклеточной кальциевой сигнализации, пролиферация клеток и развитие заполненных жидкостью кист, искажение нормальной ткани паренхимы и потеря функции почек [10]. Хотя большинство случаев являются семейными, у 10–25 % пациентов положительный семейный анамнез отсутствует, что создает диагностическую проблему. Эти случаи объясняются болезнью *de novo* в 10–15 % [11], но могут являться следствием мозаицизма или легкой степени болезни при гипоморфных мутациях *PKD1* и *PKD2* [12].

АДПБП, являясь системным расстройством, характеризуется прогрессивным развитием и увеличением заполненных жидкостью кист в почках и других органах, прежде всего печени [13]. Экстраренальные проявления болезни включают в себя внутричерепные артериальные аневризмы, сердечные клапанные дефекты, паховую и абдоминальную грыжи и пр. [14]. У мужчин с АДПБП

может наблюдаться бесплодие, возникающее в результате кистозной дилатации семенных пузырьков [15].

Постоянный рост кист приводит к прогрессирующему увеличению размера почек, тогда как экскреторная функция почек в течение десятилетий остается стабильной в результате компенсаторной гиперфилтрации. Выделительная функция почек необратимо снижается только на поздних стадиях заболевания, когда большая часть паренхимы замещается кистозной и фиброзной тканью, а оставшаяся компенсаторная способность нефронов истощается [16–19, 21]. Способность восполнить потерю нефронов наиболее наглядно продемонстрирована после донорской нефрэктомии при трансплантации почек. Показано, что компенсаторная гиперфилтрация проявляется уже через 1 мес после нефрэктомии [20].

Характерные клинические проявления АДПБП – артериальная гипертензия, болевой синдром, гематурия, нефролитиаз или инфицирование кист – могут начинаться в детстве, когда скорость клубочковой филтрации (СКФ) еще находится в пределах нормы [22–24].

Фиброз почек является исходом различных хронических заболеваний почек и неадаптивного восстановления [25–28], характеризуется значительным накоплением и активацией интерстициальных миофибробластов, образованием миофибробластами компонентов экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ), который нарушает и заменяет функциональную паренхиму, приводя к органной недостаточности [29–31].

Компонентами ЭЦМ являются коллагены, фибронектин, ламинин и другие протеогликаны. Их накопление в клубочках и тубулоинтерстиции происходит в результате дисбаланса между процессами синтеза и деградации/протеолиза. Ключевую роль в механизмах протеолиза играют матриксные металлопротеиназы (ММП). Протеолитическая активность ММП зависит от взаимодействия факторов, способствующих активации

латентных про-ММП (плазмин, система урокиназа/рецептор урокиназы), и факторов, которые эти процессы ингибируют. Среди последних особое значение принадлежит тканевым ингибиторам матриксных металлопротеиназ (ТИМП) и ингибитору активатора плазминогена I типа (ПАИ-I) [32, 33]. В физиологических условиях в почке функционирует сбалансированная система ММП/ТИМП, нарушение же баланса в системе ММП и их ингибиторов является одним из механизмов развития ряда острых и хронических заболеваний почек [34, 35].

В последние годы активно изучается роль ММП и их ингибиторов в развитии и прогрессировании кистозных заболеваний почек. В эксперименте показано, что рост кист является следствием увеличения синтеза компонентов экстрацеллюлярного матрикса при нарушении функционирования системы ММП/ТИМП [36]. В качестве предиктора прогрессирования АДПБП широко обсуждается общий объем почек [16, 37–40], увеличение которого является более информативным, чем величина СКФ [41–45]. При увеличении суммарного объема кист значительно возрастает степень тубулоинтерстициального повреждения и фиброза, а ММП и их ингибиторы играют ключевую роль в данных процессах. Однако взаимосвязь нарушений экскреции ММП и их ингибиторов в крови и моче с клиническими признаками АДПБП и предикторами ее прогрессирования у детей не изучена.

Цель исследования: определить экскрецию с мочой ММП-2, ММП-3 и ММП-9 и их ингибиторов ТИМП-1 и -2, ПАИ-I, установить взаимосвязь их изменений с скорректированным на поверхность тела объемом почек и функциональным состоянием почек, оценить значение нарушений в системе ММП/ТИМП в качестве дополнительного критерия прогрессирования АДПБП.

#### ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 34 ребенка (20 мальчиков и 14 девочек) в возрасте от 2 до 17 лет, медиана возраста 12 (8; 15) с АДПБП. Пациенты находились в отделении наследственных и приобретенных заболеваний почек Обособленного структурного подразделения «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. акад. Ю.Е. Вельтищева» ФГБОУ ВО РНИМУ им.Н.И.Пирогова. Критерием включения в исследование являлось наличие аутосомно-доминантной поликистозной болезни почек у детей в возрасте от 1 года до 17 лет. Критерии исключения: солитарные кисты

почек, аутосомно-рецессивная поликистозная болезнь почек, поликистоз почек в рамках наследственных синдромов (синдромы Шершевского–Тернера, Хиппеля–Линдау, Барде–Бидля, туберозный склероз).

У 28 детей (82,5 %) наследственность была отягощена АДПБП, у 4 детей невозможно было уточнить родословную (11,8 %), у 2 детей (5,7 %) – выявлено *de novo*.

Медиана возраста выявления кист у пациентов – 5 лет (1,5; 8,0), из них у одного ребенка заболевание выявлено антенатально, у 3 – в неонатальный период.

Среднее количество лет наблюдения 4,7 года (1,17; 11).

Функциональное состояние почек оценивалось на основании определения СКФ, рассчитанной по формуле G. Schwartz [46], в соответствии с классификацией хронической болезни почек (ХБП) Национального почечного фонда «Инициатива качества исходов болезней почек» (K / DOQI) [47].

Всем детям проводилось ультразвуковое исследование почек на аппарате «АЛОКА SSD 5550» (Япония) и «General Electric – Voluson 730 Pro/Expert» (США) с использованием конвексных датчиков 2,5–7 МГц и линейных датчиков 6–11 МГц с оценкой размеров органов, определением суммарного объема почек, количества и размеров кист, для исключения влияния роста и веса проводилась стандартизация на поверхность тела с последующей оценкой по центильным таблицам. При расчете объема почек по результатам ультразвуковой биометрии использовали формулу усеченного эллипса: объем почек (см<sup>3</sup>) = длина × ширина × толщина × 0,53 [48]. С целью стандартизации полученных результатов, для исключения влияния роста и возраста на размеры почек, проводилась коррекция объема правой и левой почки на стандартную поверхность тела с последующей оценкой по центильным таблицам [49].

Иммуноферментным методом проводилось определение уровня экскреции с мочой ММП-2, ММП-3, ММП-9 – протеаз, которые расщепляют основные компоненты ЭЦМ, а также ингибиторов матриксных металлопротеиназ – ТИМП-1, ТИМП-2 в моче, ПАИ-I в моче (первая порция утренней мочи в количестве 10 мл). Определение ММП-2, ММП-3, ММП-9, ТИМП-1, ТИМП-2 в моче – с помощью набора реактивов «ELISA/R&D Systems Quantikine», США; PAI-1 определяли иммуноферментным методом реактивами фирмы «Technoclone» (Австрия). Исследования показателей в моче проводилось с использовани-

ем метода твердофазного энзим-связанного иммуносорбентного анализа (Elisa – enzyme-linked immunosorbent assay) на лабораторном счетчике «Wallac 1420 Multilabel Counter (Victor 2)» (Финляндия). Концентрацию медиатора в моче определяли по калибровочной кривой, которая строилась с использованием стандартных растворов с известной концентрацией, прилагаемых к набору реактивов. Для стандартизации уровня ММП и их ингибиторов в моче все показатели у исследуемых детей пересчитывались на уровень креатинина в моче в мкмоль/л и выражались в мкмоль/мкмоль креатинина.

Статистический анализ данных проводился с помощью пакета программ «STATISTICA 8.0» («StatSoft, Inc.», США). Проверка нормальности распределения осуществлялась с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. При отличии от нормального распределения признаков оценивали медиану, интерквартильный размах [25 %, 75 % процентиля]. При сравнении групп для независимых выборок по одному признаку использовался непараметрический критерий Манна–Уитни, при сравнительном анализе трех и более групп – ранговый анализ вариаций по Краскелу–Уоллису. Для оценки взаимосвязи двух переменных использовали корреляционный анализ с расчетом непараметрического коэффициента корреляции Спирмена (Rs). Нулевую гипотезу (ошибка первого рода) отвергали при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Из 34 включенных в исследование детей с АДПБП скорректированная на стандартную поверхность тела величина суммарного объема почек более 97 % отмечалась у 25 детей (73,5 %). У 9 детей (26,5 %) он оставался в пределах нормальных значений. У большинства детей выявлялось двустороннее увеличение почек, у части – преобладало увеличение размера левой почки.

Проведен анализ взаимосвязи ММП и их ингибиторов в моче детей с АДПБП в зависимости от суммарного объема почек, скорректированного на стандартную поверхность тела ( $\text{см}^3/1,73\text{м}^2, \%$ ). Группы статистически не различались по возрасту и полу (табл. 1).

На момент включения в исследование расчетная СКФ у 32 детей соответствовала ХБП 1 стадии [из них у 6 детей (18,75 %) имела место гиперфильтрация], у 2 детей – ХБП 2 стадии. Всем детям, включенным в исследование, проанализирована скорость снижения рСКФ за период наблюдения [среднее количество лет наблюдения

Таблица 1 / Table 1

### Характеристика пациентов в зависимости от суммарного объема почек, скорректированного на поверхность тела ( $\text{см}^3/1,73\text{м}^2, \%$ ) у детей с АДПБП

### Characteristics of patients depending on the total kidney volume adjusted to the body surface ( $\text{cm}^3/1,73\text{m}^2, \%$ ) in children with ADPKD

Параметры	Суммарный объем почек		p
	менее 97 %	более 97 %	
Число больных	9 (26,5 %)	25 (73,5 %)	0,6
Пол (М/Ж)	6/3	14/11	
Возраст, годы	8 (5; 12)	14 (10; 15)	0,37
Рост, см	105 (67; 155)	163 (113; 140)	0,4
Длительность наблюдения, годы	4,34 (2; 5,34)	4,75 (3; 5,84)	0,34
рСКФ, мл/мин/1,73 м <sup>2</sup>	130 (104; 138)	115 (95; 121)	0,02

Примечание. рСКФ – расчетная скорость клубочковой фильтрации. \* В таблице результаты представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25–75 процентиля). \*\* Оценка различий двух несвязанных групп проводилась с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни.

Note. eGFR – estimated glomerular filtration rate. \* The table shows the results as median and interquartile range (25–75 percentiles).

\*\* Differences between the two unrelated groups were assessed using the nonparametric Mann–Whitney test.

4,7 года (1,17–7)]. Медиана снижения рСКФ в год в группе детей с суммарным объемом почек более 97 % составила 10,8 (4,26; 15,2) мл/год, а в группе детей с нормальным суммарным объемом

Суммарный объем почек, скорректированный на стандартную поверхность тела ( $\text{см}^3/1,73\text{м}^2, \%$ )

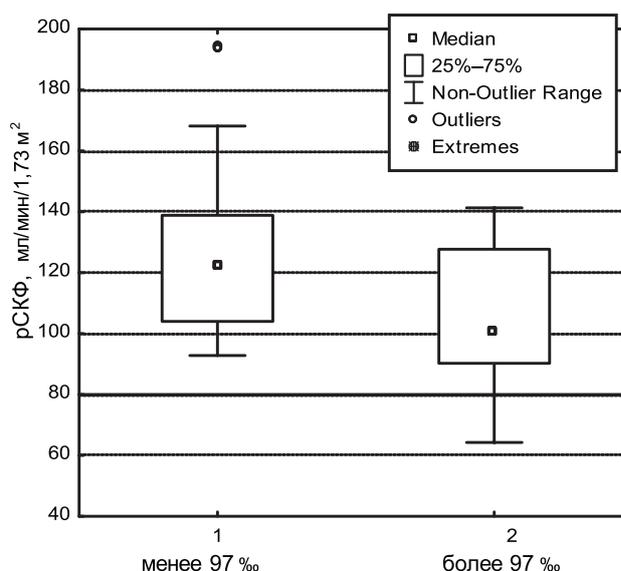


Рис. 1. Расчетная скорость клубочковой фильтрации (рСКФ) у детей с аутосомно-доминантной поликистозной болезнью почек в зависимости от суммарного объема почек, скорректированного на стандартную поверхность тела.

Figure 1. Estimated glomerular filtration rate (GFR) in children with autosomal dominant polycystic kidney disease, depending on the total kidney volume adjusted to the standard body surface.

Таблица 2 / Table 2

**Уровень ММП-2, ММП-3, ММП-9, ТИМП-1, ТИМП-2, ПАИ-1 (количество и активность) в моче у детей с АДПБП в зависимости от суммарного объема почек, скорректированного на стандартную поверхность тела ( $\text{cm}^3/1,73 \text{ m}^2$ , ‰) у детей с АДПБП**

**Levels of MMP-2, MMP-3, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2, PAI-I (number and activity) in urine in children with ADPKD depending on the total kidney volume adjusted to the standard body surface ( $\text{cm}^3/1,73 \text{ m}^2$ , ‰) in children with ADPKD**

Факторы протеолиза	Суммарный объем почек менее 97 ‰ (n=9)	Суммарный объем почек более 97 ‰ (n=25)	p
ММП-2/Сг в моче, нг/ммоль Сг	95,6 (65; 148)	70,6 (40; 114)	0,31
ММП-3/Сг в моче, нг/ммоль Сг	27 (2,4; 59)	22,2 (2,2; 55)	0,06
ММП-9/Сг в моче, нг/ммоль Сг	50,17 (9,49; 270)	16,5 (7,6; 43)	0,002
ТИМП-1/Сг в моче, нг/ммоль Сг	85 (46; 168)	113,9 (41; 219)	0,04
ТИМП-2/Сг в моче, нг/ммоль Сг	662 (440; 845)	1092 (575; 1516)	0,003
ПАИ-1 количество/Сг в моче, нг/ммоль Сг	1,28 (0,87; 15)	4,84 (1,9; 91)	0,02
ПАИ-1 /Сг, ЕД/ммоль Сг	2,4 (1,16; 15,9)	2,85 (1,0; 5,19)	0,11

Примечание. n – число обследованных. \*В таблице результаты представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25–75 перцентили). \*\*Оценка различий двух несвязанных групп проводилось с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни.

Note: n – number of surveyed. \* In the table the results are presented as the median and interquartile range (25–75 percentile). \*\* Differences between the two unrelated groups were assessed using the Mann–Whitney nonparametric test.

почек – 2,71 (0,2; 4,98) мл/год ( $p=0,04$ ). Расчетная СКФ у детей с суммарным объемом почек более 97 ‰ была статистически значимо более низкой, чем в группе детей с нормальным суммарным объемом почек – 115 (95; 121) мл/мин/ $1,73 \text{ m}^2$  против 130 (104; 138) мл/мин/ $1,73 \text{ m}^2$ ; ( $p=0,02$ ) (рис. 1). Группы сопоставимы по возрасту ( $p=0,37$ ) и росту ( $p=0,4$ ).

У детей с АДПБП и суммарным объемом почек более 97 ‰ выявлено статистически значимое повышение уровня ТИМП-1 и ТИМП-2, а также ПАИ-1 в моче и достоверно более низкий уровень

экскреции с мочой ММП-3 и ММП-9 по сравнению с группой детей с АДПБП с нормальным суммарным объемом почек (табл. 2).

В группе детей с АДПБП и суммарным объемом почек более 97 ‰ установлена обратная, умеренной силы корреляционная взаимосвязь между уровнем рСКФ и показателями экскреции с мочой ПАИ-1 и ТИМП-2 (рис. 2 и 3).

Выявлена средней силы прямая корреляционная взаимосвязь между суммарным объемом почек и мочевого экскрецией ТИМП-1 в моче (рис. 4).

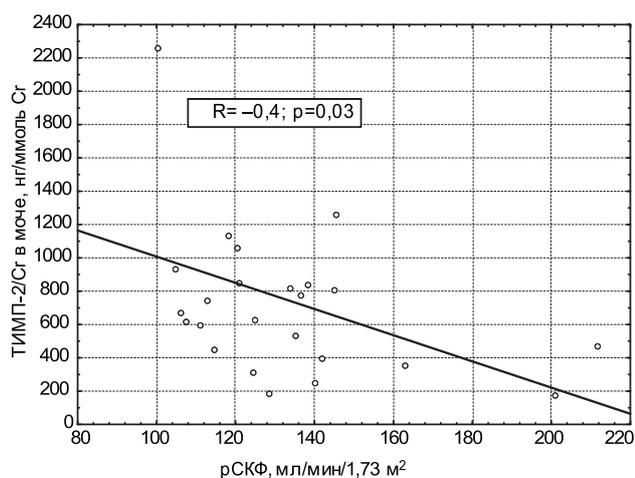


Рис. 2. Корреляция между экскрецией с мочой ТИМП-2 и рСКФ в группе детей с АДПБП с суммарным объемом почек более 97 перцентили.

Figure 2. Correlation between urinary excretion of TIMP-2 and eGFR in the group of children with ADPKD with a total kidney volume of more than 97 percentiles.

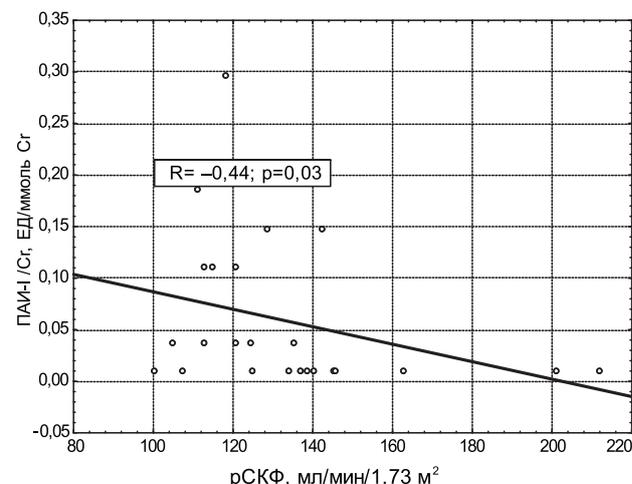


Рис. 3. Корреляция между экскрецией с мочой ПАИ-1 /Сг, ЕД/ммоль Сг и рСКФ в группе детей с АДПБП с суммарным объемом почек более 97 перцентили.

Figure 3. The correlation between urinary excretion of PAI-I /Cr, U/mmol Cr and eGFR in the group of children with ADPKD with a total kidney volume of more than 97 percentiles.

## ОБСУЖДЕНИЕ

АДПБП характеризуется медленно прогрессирующим двусторонним ростом почечных кист, что, в конечном итоге, приводит к потере экскреторной функции почек и развитию тПН. Степень прогрессирования заболевания и возраст наступления тПН варьируют в широких пределах. Поэтому терапевтические вмешательства требуют ранней стратификации риска пациентов и мониторинга темпов прогрессирования заболевания.

Формирование почечного фиброза является результатом дисбаланса между образованием ЭЦМ и его деградацией. Выявление ранних биомаркеров фиброза почек имеет большое значение для пациентов с хроническими заболеваниями почек, поскольку раннее начало нефропротективной терапии может отсрочить развитие продвинутых стадий ХБП.

ММП представляют собой большое семейство цинксодержащих протеаз. В дополнение к основной роли в ремоделировании ЭЦМ они также расщепляют ряд поверхностных белков клеток и участвуют в многочисленных клеточных процессах [34, 50, 51]. Как показали недавние исследования, ММП могут быть вовлечены в инициацию и прогрессирование фиброза почек и развитие ХБП [28, 52, 53]. ТИМП, являясь эндогенными специфическими ингибиторами ММП, снижают деградацию ЭЦМ. Наиболее важную роль в процессах ремоделирования ЭЦМ в почке играют ММП-1, -2, -9 и их ингибиторы ТИМП-1 и -2 [54, 55], а также ингибитор активатора плазминогена I типа (ПАИ-I) [32, 34]. ММП-2 и -9 являются представителями класса желатиназ, которые расщепляют денатурированный коллаген, коллаген типа IV и ламинин [56–58]. ММП-2 экспрессируется в клубочках, проксимальных канальцах [59] и собирающих протоках. Экспрессия ММП-9 была обнаружена в основном в клубочках [60, 61], хотя имеются сообщения о его экспрессии в проксимальных и дистальных канальцах и в собирательных трубочках [62]. ММП-2 также может активировать ММП-1 и -9 путем расщепления их доменов [63]. Было доказано, что ММП-2 и -9 индуцировали эпителиально-мезенхимальный переход тубулярных клеток, способствуя накоплению в тубулоинтерстиции клеток продуцентов фиброза [64, 65]. ММП-2 также может стимулировать продукцию и накопление ЭЦМ [66]. Недавние исследования продемонстрировали взаимосвязь между уровнем в моче ведущего профиброгенного цитокина – трансформирующего фактора роста  $\beta$  (ТФР- $\beta$ ) и величиной экскреции с мочой ММП-2

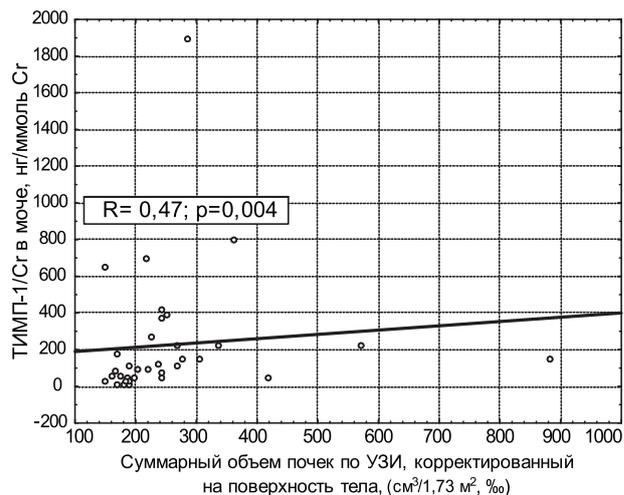


Рис. 4. Корреляция между экскрецией с мочой ТИМП-1, стандартизированной на креатинин мочи и суммарным объемом почек, скорректированным на стандартную поверхность тела. Figure 4. Correlation between urinary excretion of TIMP-1 standardized for urine creatinine and total kidney volume adjusted for standard body surface.

и -9, что подтверждает роль данных факторов в механизмах фиброгенеза в почке [67].

По результатам нашего исследования расчетная СКФ у детей с суммарным объемом почек более 97 % была статистически значимо более низкой, чем в группе детей с нормальным суммарным объемом почек, хотя в обеих группах не было значительного (ниже ХБП 2 стадии) снижения фильтрационной функции почек, что соотносится с данными многочисленных исследований о длительном сохранении фильтрационной функции почек за счет гиперфильтрации [16–19, 21, 68].

Увеличение кист является следствием активации синтеза компонентов ЭЦМ. Так, в исследованиях *in vitro* было показано, что клетки почечных канальцев при АДПБП содержат большее количество компонентов ЭЦМ по сравнению со здоровой почкой [69], а в регуляции синтеза ЭЦМ, как показали экспериментальные работы, участвует система ММП/ТИМП.

У детей с АДПБП и суммарным объемом почек более 97 % нами было выявлено статистически значимое повышение уровня ТИМП-1, ТИМП-2, а также ПАИ-I в моче, и статистически значимое снижение уровня экскреции с мочой ММП-2 и ММП-9 по сравнению с группой детей с АДПБП с нормальным суммарным объемом почек, что согласуется с современными представлениями о роли данных ингибиторов в механизмах фиброза в почке. Установлено, что активное образование ТИМП и ПАИ-1, стимуляторами которого являются ангиотензин II и ТФР- $\beta$ , приводит к сниже-

нию ферментативного расщепления компонентов ЭЦМ с последующим накоплением их в ткани почки, развитием тубулоинтерстициального и гломерулярного фиброза [34, 50].

В группе детей с АБПБП и суммарным объемом почек более 97 %, в отличие от пациентов с нормальным объемом почек, установлена обратная умеренной силы корреляционная взаимосвязь между уровнем рСКФ и ингибиторами матриксных металлопротеиназ в моче – ТИМП-2 и ПАИ-I, а также средней силы прямая корреляционная взаимосвязь между суммарным объемом почек и мочевой экскрецией ТИМП-1 в моче, что также может отражать выраженность фиброза у детей с повышенным объемом почек, связанного с ростом кист.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на основании данных литературы и представленных результатов, можно говорить о том, что ММП и их ингибиторы играют важную роль в почечном повреждении у детей с АДПБП. Данные факторы системы протеолиза перспективно использовать в качестве маркеров выраженности накопления ЭЦМ для неинвазивного мониторинга процесса фиброобразования почек. Предикторами прогрессирования АДПБП являются снижение в моче уровня ММП и увеличение ТИМП и ПАИ-1. Результаты нашего исследования обосновывают разработку новых направлений нефропротекции у больных с АДПБП путем воздействия на факторы системы протеолиза с целью коррекции их дисбаланса.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Ong AC, Devuyt O, Knebelmann B, Walz G. Autosomal dominant polycystic kidney disease: the changing face of clinical management. *Lancet* 2015;385(9981):1993–2002. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)60907-2
- Wong ATY, Mannix C, Grantham JJ et al. Randomised controlled trial to determine the efficacy and safety of prescribed water intake to prevent kidney failure due to autosomal dominant polycystic kidney disease (PREVENT-ADPKD). *BMJ Open* 2018 Jan 21;8(1):e018794. DOI: 10.1136/bmjopen-2017-018794
- Gabow PA. Autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* (1993) 329:332–342. DOI: 10.1056/NEJM199307293290508
- He WB, Xiao WJ, Tan YQ et al. Novel mutations of PKD genes in Chinese patients suffering from autosomal dominant polycystic kidney disease and seeking assisted reproduction. *J BMC Med Genet* 2018 Oct 17;19(1):186. DOI:0.1186/s12881-018-0693-7
- De Rechter S, Breysen L, Mekahli D. Is Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease Becoming a Pediatric Disorder? *Front Pediatr* 2017;20;5:272. DOI:10.3389/fped.2017.00272
- Kimberling WJ, Kumar S, Gabow PA et al. Autosomal dominant polycystic kidney disease: localization of the second gene to chromosome 4q13-q23. *Genomics* 1993;18(3):467–472. DOI: 10.1016/S0888-7543(11)80001-7
- Audrézet MP, Cornec-Le Gall E, Chen JM et al. Autosomal dominant polycystic kidney disease: comprehensive mutation analysis of PKD1 and PKD2 in 700 unrelated patients. *Hum Mutat* 2012;33(8):1239–1250. DOI: 10.1002/humu.22103
- Iliuta IA, Kalatharan V, Wang K et al. Polycystic kidney disease without an apparent family history. *J Am Soc Nephrol* 2017;28(9):2768–2776. DOI: 10.1681/ASN.2016090938
- Porath B, Gainullin VG, Cornec-Le Gall E et al. Mutations in GANAB, encoding the glucosidase IIalpha subunit, cause autosomal-dominant polycystic kidney and liver disease. *Am J Hum Genet* 2016;98(6):1193–1207. DOI: 10.1016/j.ajhg.2016.05.004
- Alam A. Risk factors for progression in ADPKD. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2015;24(3):290–294. DOI: 10.1097/MNH.0000000000000113
- Reed B, McFann K, Kimberling WJ et al. Presence of de novo mutations in autosomal dominant polycystic kidney disease patients without family history. *Am J Kidney Dis* 2008;52:1042–1050. DOI: 10.1053/j.ajkd.2008.05.015
- Iliuta IA, Kalatharan V, Wang K et al. Polycystic kidney disease without an apparent family history. *J Am Soc Nephrol* 2017;28:2768–2776. DOI:10.1681/ASN.2016090938
- Rossetti S, Consugar MB, Chapman AB et al. Comprehensive molecular diagnostics in autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2007;18(7):2143–2160. DOI: 10.1681/ASN.2006121387
- Grantham JJ. Clinical practice. Autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* (2008)359:1477–1485. DOI: 10.1056/NEJMcp0804458
- Mieusset R, Fauquet I, Chauveau D et al. The spectrum of renal involvement in male patients with infertility related to excretory-system abnormalities: phenotypes, genotypes, and genetic counseling. *J Nephrol* 2017;30(2):211–218. DOI: 10.1007/s40620-016-0286-5
- Alam A, Dahl N, Lipschutz JH et al. Total Kidney Volume in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease: A Biomarker of Disease Progression and Therapeutic Efficacy. *Am J Kidney Dis* 2015;66(4):564–576. DOI: 10.1053/j.ajkd.2015.01.030
- Imed H, Berenice R, Kim McFann et al. Glomerular Hyperfiltration and Renal Progression in Children with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 6(10): 2439–2443. DOI: 10.2215/CJN.01010211
- Wong H, Vivian L, Weiler G, Filler G. Patients with autosomal dominant polycystic kidney disease hyperfiltrate early in their disease. *Am J Kidney Dis* 2004;43(4):624–628. PMID: 15042539
- Grantham JJ. Rationale for early treatment of polycystic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 2014;30:1053–1062. DOI:10.1007/s00467-014-2882-8
- Velosa JA, Griffin MD, Larson TS et al. Can a transplanted living donor kidney function equivalently to its native partner? *Am J Transplant* 2002;2(3):252–259. DOI:10.1034/j.1600-6143.2002.20310.x
- Klahr S, Breyer JA, Beck GJ et al. Modification of Diet in Renal Disease Study Group: Dietary protein restriction, blood pressure control, and the progression of polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 1995;5(12):2037–2047. PMID: 7579052
- Grantham JJ. Clinical practice. Autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 2008;359(14):1477–1485. DOI:10.1056/NEJMcp0804458
- McEwan P, Bennett Wilton H, Ong ACM et al. A model to predict disease progression in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD): the ADPKD Outcomes Model. *BMC Nephrol* 2018;19(1):37. DOI:10.1186/s12882-017-0804-2
- Irazabal MV, Rangel LJ, Bergstralh EJ et al. Imaging classification of autosomal dominant polycystic kidney disease: a simple model for selecting patients for clinical trials. *J Am Soc Nephrol* 2015 Jan;26(1):160–172. DOI: 10.1681/ASN.2013101138
- Rockey DC, Bell PD, Hill JA. Fibrosis—a common pathway to organ injury and failure. *N Engl J Med* 2015;373(1):96. DOI: 10.1056/NEJMc1504848
- Eddy AA. Can renal fibrosis be reversed? *Pediatr Nephrol* 2005;20(10):1369–1375. DOI: 10.1007/s00467-005-1995-5
- Meguid E, Nahas A, Bello AK. Chronic kidney disease: the

- global challenge. *Lancet* 2005;365(9456):331–340. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)17789-7
28. Eddy AA. Molecular basis of renal fibrosis. *Pediatr Nephrol* 2000 Dec;15(3-4):290–301. PMID: 11149129
29. Bicer A, Guclu B, Ozkan A et al. Expressions of angiogenesis associated matrix metalloproteinases and extracellular matrix proteins in cerebral vascular malformations. *J Clin Neurosci* 2010;17(2):232–236. DOI: 10.1016/j.jocn.2009.06.008
30. Jeremy S. Duffield. Cellular and molecular mechanisms in kidney fibrosis. *J Clin Invest* 2014 Jun;124(6):2299–2306. DOI: 10.1172/JCI172267
31. Norman J. Fibrosis and progression of autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD). *Biochim Biophys Acta* 2011;1812(10):1327–1336. DOI: 10.1016/j.bbdis.2011.06.012
32. Nagase H, Woessner JF. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999;274(31):21491–21494. PMID: 10419448
33. Бобкова ИИ, Козловская ЛВ, Ли ОА. Роль матричных металлопротеиназ в патогенезе заболеваний почек. *Тер арх* 2008; 6: 86–90 [Bobkova IN, Kozlovskaya LV, Li OA. The role of matrix metalloproteinases in pathogenesis of renal disease. *Ter Arkh* 2008;80(6):86–90 (In Russ.)]
34. Catania JM, Chen G, Parrish AR. Role of matrix metalloproteinases in renal pathophysiology. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007;292(3): F905–911. DOI: 10.1152/ajprenal.00421.2006
35. Keeling J, Herrera GA. Human matrix metalloproteinases: characteristics and pathologic role in altering mesangial homeostasis. *Microsc Res Tech* 2008 May;71(5):371–379. DOI: 10.1002/jemt.20565
36. Sternlicht MD. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001;17:463–516. DOI: 10.1146/annurev.cellbio.17.1.463
37. Woon C, Bielinski-Bradbury A, O'Reilly K, Robinson P. A systematic review of the predictors of disease progression in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *BMC Nephrol* 2015;16:140. DOI: 10.1186/s12882-015-0114-5
38. Grantham J, Torres V, Chapman AB et al. Volume progression in polycystic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006;1(1):148–157. DOI: 10.2215/CJN.00330705
39. Chapman AB, Bost JE, Torres VE et al. Kidney volume and functional outcomes in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2012;7(3):479–486. DOI: 10.2215/CJN.09500911
40. Chapman AB, Guay-Woodford LM, Grantham JJ et al. Renal structure in early autosomal-dominant polycystic kidney disease (ADPKD): the Consortium for Radiologic Imaging Studies of Polycystic Kidney Disease (CRISP) cohort. *Kidney Int* 2003;64:1035–1045. DOI: 10.1046/j.1523-1755.2003.00185.x
41. Lacquaniti A, Chirico V, Lupica R et al. Apelin and copeptin: two opposite biomarkers associated with kidney function decline and cyst growth in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Peptides* 2013;49:1–8. DOI: 10.1016/j.peptides.2013.08.007
42. Thong KM, Ong ACM. The natural history of autosomal dominant polycystic kidney disease: 30-year experience from a single centre. *QJM* 2013;106:639–646. DOI: 10.1093/qjmed/hct082
43. Higashihara E, Nutahara K, Okegawa T et al. Kidney volume and function in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Clin Exp Nephrol* 2014;18:157–165. DOI: 10.1007/s10157-013-0834-4
44. Griveas I, Bishop K, World M. Adult polycystic kidney disease: who needs hospital follow-up? *Artif Organs* 2012;36(7):594–599. DOI: 10.1111/j.1525-1594.2012.01441.x
45. Perrone RD, Mouksassi MS, Romero K et al. Total kidney volume is a prognostic biomarker for worsening of kidney function in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *Kidney Int Rep* 2017;2(3):442–450. DOI: 10.1016/j.ekir.2017.01.003
46. Schwartz GJ, Brion LP, Spizer A. The use of plasma creatinine concentration in for estimating glomerular filtration rate in infants, children and adolescents. *Pediatr Clin North Am* 1987; 34: 571–590. PMID: 3588043
47. National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiatives K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease Evaluation Classification Stratification. *Am J Kidney Dis* 2002; 39: 1–266
48. Singer E, Golijanni D, Davis R et al. What's new in urologic ultrasound? *Urol Clin North Am* 2006; 3: 279–286. DOI: 10.1016/j.ucl.2006.03.004
49. Scholbach Th, Weitzel D. Body-Surface-Area Related Renal Volume: A Common Normal Range from Birth to Adulthood. *Scientifica. Scientifica (Cairo)*. 2012;2012:949164. DOI: 10.6064/2012/949164
50. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function and biochemistry. *Circ Res* 2003;92:827–839. DOI: 10.1161/01.RES.0000070112.80711.3D
51. Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res* 2006;69(3):562–573. DOI: 10.1016/j.cardiores.2005.12.002
52. Tan TK, Zheng G, Hsu TT et al. Macrophage matrix metalloproteinase-9 mediates epithelial-mesenchymal transition in vitro in murine renal tubular cells. *Am J Pathol* 2010;176:1256–1270. DOI: 10.2353/ajpath.2010.090188
53. Aresu L, Benali S, Garbisa S et al. Matrix metalloproteinases and their role in the renal epithelial mesenchymal transition. *Histol Histopathol* 2011;26(3):307–313. DOI: 10.14670/HH-26.307
54. Okada Y, Gonoji Y, Naka K et al. Matrix metalloproteinase 9 (92-kDa gelatinase/type IV collagenase) from HT 1080 human fibrosarcoma cells: purification and activation of the precursor and enzymic properties. *J Biol Chem* 1992;267:21712–21719. PMID: 1400481
55. Toth M, Sado Y, Ninomiya Y et al. Biosynthesis of alpha2(IV) and alpha1(IV) chains of collagen IV and interactions with matrix metalloproteinase-9. *J Cell Physiol* 1999;180(1):131–139. DOI: 10.1002/(SICI)1097-4652(199907)180:1<131::AID-JCP15>3.0.CO;2-S
56. Morrison CJ, Butler GS, Rodriguez D et al. Matrix metalloproteinase proteomics: substrates, targets, and therapy. *Curr Opin Cell Biol* 2009;21:645–653. DOI: 10.1016/j.ceb.2009.06.006
57. Overall CM. Molecular determinants of metalloproteinase substrate specificity: matrix metalloproteinase substrate binding domains, modules, and exosites. *Mol Biotechnol* 2002;22(1):51–86. DOI: 10.1385/MB:22:1:051
58. Schaefer L, Han X, Gretz N et al. Tubular gelatinase A (MMP-2) and its tissue inhibitors in polycystic kidney disease in the Han: SPRD rat. *Kidney Int* 1996;49:75–81. PMID: 8770951
59. Ronco C, Lelongt B, Piedagnel R et al. Matrix metalloproteinases in kidney disease progression and repair: a case of flipping the coin. *Semin Nephrol* 2007;27(3):352–362. DOI: 10.1016/j.semnephrol.2007.02.006
60. Inkinen KA, Soots AP, Krogerus LA et al. Fibrosis and matrix metalloproteinases in rat renal allografts. *Transpl Int* 2005;18(5):506–512. DOI: 10.1111/j.1432-2277.2004.00053.x
61. Kuroda T, Yoshida Y, Kamiie J et al. Expression of MMP-9 in mesangial cells and its changes in anti-GBM glomerulonephritis in WKY rats. *Clin Exp Nephrol* 2004;8(3):206–215. DOI: 10.1007/s10157-004-0289-8
62. Ogbureke KU, Fisher LW. Renal expression of SIBLING proteins and their partner matrix metalloproteinases (MMPs). *Kidney Int* 2005 Jul;68(1):155–166. DOI: 10.1111/j.1523-1755.2005.00389.x
63. Toth M, Chvyrkova I, Bernardo MM et al. Pro-MMP-9 activation by the MT1-MMP/MMP-2 axis and MMP-3: role of TIMP-2 and plasma membranes. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;308(2):386–395. PMID: 12901881
64. Tan TK, Zheng G, Hsu TT et al. Matrix metalloproteinase-9 of tubular and macrophage origin contributes to the pathogenesis of renal fibrosis via macrophage recruitment through osteopontin cleavage. *Lab Invest* 2013;93(4):434–449. DOI: 10.1038/labinvest.2013.3
65. Pawlak K, Mysliwiec M, Pawlak D. Peripheral blood level alterations of MMP-2 and MMP-9 in patients with chronic kidney disease on conservative treatment and on hemodialysis. *Clin Biochem* 2011;44(10-11):838–843. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2011.03.143

66. Marti HP. Role of matrix metalloproteinases in the progression of renal lesions. *Presse Med* 2000;29:811–817. PMID: 10816726

67. Musiał K, Bargenda A, Zwolińska D. Urine survivin, E-cadherin and matrix metalloproteinases as novel biomarkers in children with chronic kidney disease. *Biomarkers* 2015;20(3):177–182. DOI: 10.3109/1354750X.2015.1061598.

68. Jared J Grantham, Vicente E Torres. The importance of total kidney volume in evaluating progression of polycystic kidney disease. *Nat Rev Nephrol* 2016;12(11): 667–677. DOI: 10.1038/nrneph.2016.135

69. Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001; 17: 463–516. DOI: 10.1146/annurev.cellbio.17.1.463

#### Сведения об авторе

Баширова Зиля Рамилевна

125412, Москва, ул. Талдомская, д. 2. Обособленное структурное подразделение «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. акад. Ю.Е. Вельтищева» ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, отдел наследствен-

ных и приобретенных болезней почек, научный сотрудник. Тел.: 8(495) 483-36-53; E-mail: Z-Bash@mail.ru. ORCID: 0000-0003-3915-8617

Zilya R. Bashirova, MD

Affiliations: 125412, Russia, Moscow, Taldomskaya 2. Veltischev Research and Clinical Institute for Pediatrics of the Pirogov Russian National Research Medical University, department of hereditary and acquired kidney disease, research assistant. Phone: 8(495) 483-36-53; E-mail: Z-Bash@mail.ru. ORCID: 0000-0003-3915-8617

*Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.*

Поступила в редакцию: 28.12.2018

Принята в печать: 01.02.2019

Article received: 28.12.2018

Accepted for publication: 01.02.2019