

НЕФРОЛОГИЯ NEPHROLOGY

ИЗДАТЕЛЬСТВО СПбГМУ
ИЗДАТЕЛЬСТВО «ЛЕВША»
САНКТ-ПЕТЕРБУРГ • 2007

SAINT PETERSBURG PAVLOV STATE
MEDICAL UNIVERSITY

NORTH-WEST NEPHROLOGY
AND DIALYSIS ASSOCIATION

SPC «NEPHRON»

NEPHROLOGY

SCIENTIFIC PRACTICAL JOURNAL

ESTABLISHED IN NOVEMBER 1996

Editor-in-Chief

A.V.SMIRNOV

Vice Editors

A.M.Essaian, I.G.Kayukov

Editorial Board

S.Kh.Al-Shukri, A.L.Ariev, R.V.Babakhanyan, V.A.Dobronravov,
V.L.Emanuel, V.M.Ermolenko, V.V.Levanovich, N.A.Mukhin,
A.Sh.Rumyantsev, N.D.Savenkova, E.M.Shilov, A.N.Shishkin,
A.M.Shutov, N.N.Smirnova, O.D.Yagmourov, Ya.F.Zverev

Executive Secretary

I.I.Trofimenko

Editorial advisory board

A.Gadaev (Tashkent, Uzbekistan), A.I.Gozhenko (Odessa, Ukraine), K.Ya.Gurevich (St.Petersburg, Russia), E.E.Zvartau (St.Petersburg, Russia), V.Kliem (Hanover-Muenden, Germany), N.A.Kolesnik (Kiev, Ukraine), B.G.Lukichev (St.Petersburg, Russia), A.M.Macleod (Aberdeen, United Kingdom), A.V.Nabokov (Hanover-Muenden, Germany), Yu.V.Natochin (St.Petersburg, Russia), D.N.Paskalev (Varna, Bulgaria), V.Ya.Plotkin (St.Petersburg, Russia), K.M.Sergeeva (St.Petersburg, Russia), N.A.Tkachuk (St.Petersburg, Russia), N.A.Tomilina (Moscow, Russia), D.Tsakiris (Thessaloniki, Greece), N.A.Yaitsky (St.Petersburg, Russia)

Director of enlightening non-commercial
independent organisation «Nephrology»

A.G.KUCHER

Volume 11 • № 2 • 2007

ИЗДАТЕЛЬСТВО СПбГМУ
ИЗДАТЕЛЬСТВО «ЛЕВША»
ST.PETERSBURG • 2007

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ им. акад. И.П.ПАВЛОВА

СЕВЕРО-ЗАПАДНАЯ АССОЦИАЦИЯ
НЕФРОЛОГОВ И ВРАЧЕЙ ДИАЛИЗА

НПО «НЕФРОН»

НЕФРОЛОГИЯ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

ОСНОВАН В НОЯБРЕ 1996 года

Главный редактор

А.В.СМИРНОВ

Заместители главного редактора

А.М.Есян, И.Г.Каюков

Редакционная коллегия

С.Х.Аль-Шукри, А.Л.Арьев, Р.В.Бабаханян,
В.А.Добронравов, В.М.Ермоленко, Я.Ф.Зверев,
В.В.Леванович, Н.А.Мухин, А.Ш.Румянцев, Н.Д.Савенкова,
Н.Н.Смирнова, Е.М.Шилов, А.Н.Шишкин,
А.М.Шутов, В.Л.Эмануэль, О.Д.Ягмуров

Ответственный секретарь

И.И.Трофименко

Редакционный совет

А.Гадаев (Ташкент, Узбекистан), А.И.Гоженко (Одесса,
Украина), К.Я.Гуревич (Санкт-Петербург, Россия), Э.Э.Звартау
(Санкт-Петербург, Россия), Ф.Клим (Гановер-Мюнден,
Германия), Н.А.Колесник (Киев, Украина), Б.Г.Лукичев (Санкт-
Петербург, Россия), А.М.Маклеод (Абердин, Великобритания),
А.В.Набоков (Гановер-Мюнден, Германия), Ю.В.Наточин
(Санкт-Петербург, Россия), Д.Н.Паскалев (Варна, Болгария),
В.Я.Плоткин (Санкт-Петербург, Россия), К.М.Сергеева (Санкт-
Петербург, Россия), В.Н.Ткачук (Санкт-Петербург, Россия),
Н.А.Томилина (Москва, Россия), Д.Тзакирис (Фессалоники,
Греция), Н.А.Яицкий (Санкт-Петербург, Россия)

Директор просветительской автономной
некоммерческой организации «Нефрология»

А.Г.КУЧЕР

ИЗДАТЕЛЬСТВО СПбГМУ
ИЗДАТЕЛЬСТВО «ЛЕВША»
САНКТ-ПЕТЕРБУРГ • 2007

Том 11 • № 2 • 2007

ВНИМАНИЮ ЧИТАТЕЛЕЙ

Дорогие коллеги!

Напоминаем вам, что наш журнал выходит 4 раза в год – в конце каждого квартала. Теперь для вас имеется новая возможность оформления подписки на наш журнал.

С 2006 года вы можете воспользоваться услугами нашего официального представителя – интернет-магазина Setbook.ru, принимающего заказы на подписку и приобретение отдельных номеров журналов нашего издательства.

Оформить заказ можно прямо на сайте <http://www.setbook.ru>, по электронной почте info@setbook.ru (приобретение отдельных номеров), pelena@setbook.ru (подписка), а также по телефонам в Москве: подписка и приобретение отдельных номеров журналов – (495)160-58-56, (495)160-58-48/47, (495)974-02-09/10.

Различные формы оплаты и удобные способы доставки, в т.ч. для Москвы и Санкт-Петербурга – курьерская доставка и самовывоз.

Как и раньше, вы можете оформить подписку на журнал в почтовых отделениях по каталогам «Роспечати».

Подписные индексы прежние:

- для индивидуальных подписчиков: на полугодие; индекс 45860
- для индивидуальных подписчиков: годовая; индекс 47959
- для организаций: индекс 45861

Зав. редакцией О.А.Новикова
Корректор Л.В.Ворченко
Переводчик Л.К.Волынская
Художественное оформление обложки А.И.Приймак
Компьютерная верстка Н.В.Горожий

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору
за соблюдением законодательства в сфере
массовых коммуникаций и охране культурного наследия.
Свидетельство ПИ № ФС77-21632 от 22.08.2005.
Сдан в набор 03.05.2007. Подписан в печать 07.06.2007.
Формат бумаги 60х90^{1/8}. Бумага офсетная.
Печать офсетная. Печ. л. 8. Тираж 600 экз.

Адрес редакции: 197089, Санкт-Петербург, ул.Льва Толстого, 17,
СПбГМУ им.акад.И.П.Павлова, Нефрокорпус, журнал «Нефрология»
Тел.: (812) 346-39-26; факс: (812) 234-91-91, E-mail: kaukov@pochtamt.ru

Оригинал-макет и печать издательства «Левша. Санкт-Петербург».
197376, Санкт-Петербург, Аптекарский пр., 6,
тел./факс (812) 234-54-36, 234-13-00. E-mail: levsha@levshaprint.ru

© НЕФРОЛОГИЯ, 2007

Никакая часть настоящего издания ни в каких целях не может быть воспроизведена в какой бы то ни было форме и какими бы то ни было средствами, будь то электронные или механические, включая фотокопирование и запись на магнитный носитель, если на то нет письменного разрешения редакции. Точка зрения авторов может не совпадать с мнением редакции. Редакция не несет ответственности за рекомендации по диагностике и лечению, данные авторами.

ПЕРЕДОВАЯ СТАТЬЯ

КЛИМ Ф.
Такролимус при трансплантации почки. Сообщение I

ОБЗОРЫ И ЛЕКЦИИ

ПОДГАЕЦКАЯ О.Ю., ВАЛЮХОВ В.П., ЛУКИЧЕВ Б.Г.,
ЮРИН Б.В.
О природе уремического запаха при хронической
почечной недостаточности. Перспективы определения
аммиака в выдыхаемом воздухе

КУЗНЕЦОВА Е.Г., ШИЛЯЕВ Р.Р., ГРОМОВА О.А.,
ФАДЕЕВА О.Ю.
Токсичные микроэлементы и их роль в развитии
нефропатий у детей

ЛАЗАРОВА М., ПАСКАЛЕВ Д., КИЕМЕНИ Б.
Таинственная сущность балканской эндемической
нефропатии

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ**Клинические исследования**

ПИМЕНОВ Л.Т., КИРШИНА Н.С.
Клинико-функциональное состояние почек и анемия у
больных с хронической сердечной недостаточностью

ВОЛКОВ М.М., ДОБРОНРАВОВ В.А., ЛАРИОНОВА В.И.,
ГЛАЗКОВ П.В.
Факторы, ассоциированные со снижением минеральной
плотности костей различных отделов скелета у больных
на гемодиализе

КАРАБАЕВА А.Ж., ЕСАЯН А.М., КАЮКОВ И.Г.,
ТИМОФЕЕВ М.М., ВОЛКОВА О.В., ХРИСТЕНКО А.Д.
Влияние терапии спиронолактоном на уровень
альдостерона и дисфункцию эндотелия у больных
на программном гемодиализе

МУХИН И.В.
Результаты проспективного исследования
прогностического значения гипертонии у
нормотензивных больных хроническим мезангиальным
пролиферативным гломерулонефритом

ВОЛКОВ М.М., ЗУБИНА И.М., ЛЕВЫКИНА Е.Н.,
СПИРИДОНОВ В.Н., СУГЛОБОВА Е.Д.
Опыт использования капиллярного электрофореза для
определения концентрации фосфатов в отработанном
диализирующем растворе

Экспериментальные исследования

ЮЛДАШЕВ А.Ю., РАХМАНОВ Р.Р., ЮЛДАШЕВ А.А.,
ТАРИНОВА М.В.
Гистофизиология поверхностных и юкстамедуллярных
сосудистых клубочков почек после острой массивной
кровопотери

БАРАБАНОВА С.В., АНДРЕЕВА Ю.В., АРТЮХИНА З.Е.,
ОВЧИННИКОВА К.Т., ПЕРЕКРЕСТ С.В., РОДЖЕРС В.,
КОРНЕВА Е.А.
Клеточный состав крови и костного мозга крыс после
введения циклофосамида и облучения кожи
электромагнитными волнами крайне высокой частоты

LEADING ARTICLE

KLIM F.
Tacrolimus in transplantation of the kidney.
Communication 1

REVIEWS AND LECTURES

PODGAETSKAYA O.Yu., VALYUKHOV V.P.,
LUKICHEV B.G., YURIN B.V.
On the nature of uremic smell in chronic renal failure.
Perspectives of determination of ammonia in exhaled air

KUZNETSOVA E.G., SHILYAEV R.R., GROMOVA O.A.,
FADEEVA O.Yu.
Toxic microelements and their role in the development of
nephropathies in children

LAZAROVA M., PASKALEV D., KIEMENI B.
Mysterious essence of Balkan epidemic
nephropathy

ORIGINAL ARTICLES**Clinical investigations**

PIMENOV L.T., KIRSHINA N.S.
Clinico-functional state of the kidneys and anemia in
patients with chronic heart failure

VOLKOV M.M., DOBRONRAVOV V.A., LARIONOVA V.I.,
GLAZKOV P.V.
Factors associated with the decreased mineral density
of bones of different parts of the skeleton in
hemodialysis patients

KARABAEVA A.Zh., ESSAIAH A.M., KAYUKOV I.G.,
TIMOFEEV M.M., VOLKOVA O.V., KHRISTENKO A.D.
The influence of spironolactone therapy on the level of
aldosterone and dysfunction of the endothelium in
program hemodialysis patients

MUKHIN I.V.
Results of prospective investigation of the prognostic
value of hypersympathicotonia for normotensive patients
with chronic mesangial proliferative
glomerulonephritis

VOLKOV M.M., ZUBINA I.M., LEVYKINA E.N.,
SPIRIDONOV V.N., SUGLOBOVA E.D.
Experience with using capillary electrophoresis for
determination of the concentration of phosphates in the
used dialysing solution

Experimental investigations

YULDASHEV A.Yu., RAKHMANOV R.R., YULDASHEV A.A.,
TARINOVA M.V.
Histophysiology of the superficial and juxtamedullary
vascular renal glomeruli after acute
massive blood loss

BARABANOVA S.V., ANDREEVA Yu.V., ARTYUKHINA Z.E.,
OVCHINNIKOVA K.T., PEREKREST S.V., ROGERS V.,
KORNEVA E.A.
Cellular composition of blood and bone marrow of rats
after administration of cyclophosphamide and
irradiation of skin with extremely high frequency waves

ЖУРНАЛ В ЖУРНАЛЕ**Актуальные проблемы урологии**

АЛЬ-ШУКРИ С.Х., РЫБАКОВА М.Г., КОРНЕЕВ И.А.,
НУТФУЛИНА Г.М., ЗАВЬЯЛОВА Е.С.
Применение компьютерного кариометрического
анализа для изучения переходно-клеточных карцином
мочевого пузыря

СТЕПАНОВА Н.М.
Диагностика инфекций мочевой системы: хронический
цистит – реальность или миф?

**ПРОГРАММА НЕПРЕРЫВНОГО
ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
ПО НЕФРОЛОГИИ**

ГРЕНЕ Г.-Й., КИСС Е.
Нефротический синдром: гистопатологическая
дифференциальная диагностика.
Часть 1: определение, классификация,
патофизиология, генетические формы

ИСТОРИЯ МЕДИЦИНЫ

РУМЯНЦЕВ А.Ш., СМІРНОВ А.В., КАЮКОВ И.Г.
Этапы становления клинической нефрологии
в Санкт-Петербурге

JOURNAL IN THE JOURNAL**Actual problems of urology**

78 AL-SHUKRI S.Kh., RYBAKOVA M.G., KORNEEV I.A.,
NUTFULINA G.M., ZAVIYALOVA E.S.
Use of a computed karyometric analysis for studying
transitional cell carcinomas of the urinary bladder

82 STEPANOVA N.M.
The diagnostics of urinary tract infections: chronic
cystitis – reality or myth?

**PROGRAMME OF CONTINUOUS
POSTGRADUATE EDUCATION ON
NEPHROLOGY**

88 GRENE G.J., KISS E.
Nephrotic syndrome: histopathologic differential
diagnostics. Part 1: Definition, classification,
pathophysiology, genetic forms

HISTORY OF MEDICINE

94 RUMYANTSEV A.Sh., SMIRNOV A.V., KAYUKOV I.G.
Stages of the formation of clinical nephrology
in Saint Petersburg

© Ф.Клим, 2007
УДК 616.61-089.843]-08

Ф. Клим

ТАКРОЛИМУС ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ. СООБЩЕНИЕ I

F. Klim

TACROLIMUS IN TRANSPLANTATION OF THE KIDNEY. COMMUNICATION 1

Нефрологический центр Нижней Саксонии, Ганновер-Мюнден, Германия

Ключевые слова: такролимус, почечная недостаточность, трансплантация почки.

Key words: tacrolimus, renal failure, kidney transplantation.

1. ВВЕДЕНИЕ

Такролимус (Програф®) – макролидный иммунодепрессант, широко используемый при трансплантации почки и печени. В настоящее время такролимус также применяется при пересадке сердца, легкого, кишечника, костного мозга и для лечения аутоиммунных расстройств.

Такролимус впервые был изолирован из культуры почвенного микроорганизма *Streptomyces tsukubaensis*, найденного в окрестности города Цукуба (Япония) в 1984 г. [1,2]. В экспериментах *in vitro* такролимус в 100 раз активнее циклоспорина подавлял пролиферацию Т-лимфоцитов [3,4]. В экспериментальных исследованиях на крысах, собаках и приматах такролимус обеспечивал профилактику отторжения трансплантата в дозах в 10–100 раз более низких, чем циклоспорин [5–10].

Первое одобрение для клинического использования с целью профилактики и/или лечения отторжения трансплантата у больных после пересадки почки и печени такролимус получил в 1993 г. в Японии, а через год – в 1994 г. – в Великобритании и США. Многолетняя клиническая практика применения препарата показала, что такролимус обеспечивает надежную профилактику острого отторжения трансплантата, в том числе резистентного к терапии кортикостероидами. Частота, интенсивность, длительность, а также тип острого отторжения тесно связаны с последующим развитием хронического отторжения. Отдаленные результаты клинических исследований указывают на то, что такролимус способен снизить частоту хронического отторжения, а также риск сердечно-сосудистых заболеваний, которые являются основными причинами утраты трансплантата на сроках более 1 года после трансплантации.

Однако применение такролимуса в повседневной практике требует глубокого понимания фарма-

кологических и клинических свойств этого препарата. Поэтому первая часть настоящего обзора сфокусирована на механизме действия, фармакокинетики, лекарственных взаимодействиях, мониторинге терапии и побочных эффектах такролимуса, которые представляют особый интерес для клиницистов.

2. МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ

Отторжение трансплантата является по сути воспалительной реакцией, регулируемой цитокинами, которые вырабатываются в ответ на стимуляцию Т-лимфоцитов-хелперов антигенами донора [11,12]. Контакт антигена с рецептором Т-клетки в сочетании с активацией молекул-костимуляторов запускает каскад внутриклеточных реакций, передающих сигнал с поверхности Т-клетки в ядро, что приводит к транскрипции генов и последующей секреции цитокинов. Одним из наиболее важных цитокинов, вырабатываемых Т-хелперами, является интерлейкин-2 (ИЛ-2), он непосредственно индуцирует пролиферацию Т-клеток, которая играет ключевую роль в патогенезе острого и хронического отторжения.

Такролимус вмешивается в процесс секреции ИЛ-2 Т-хелперами путем внутриклеточного ингибирования кальциневрина (кальций- и кальмодулин-зависимой протеинфосфатазы), который активируется при повышении внутриклеточной концентрации кальция, вызванной контактом антигена с Т-клеточным рецептором [13]. В доклинических исследованиях было установлено, что такролимус был наиболее эффективен при применении в течение первых часов развития процесса активации Т-лимфоцитов, почти полностью предотвращая их пролиферацию [14,15].

Проникая в Т-лимфоцит, такролимус связывается с цитоплазматическим рецептором – FK506-

связывающим протеином-12 (FKBP-12), который относится к иммунофилинам (циклоспорин связывается с другим иммунофилином – циклофилином) [16]. Комплекс такролимус-FKBP-12 ингибирует кальциневрин [17]. Кальциневрин отвечает за дефосфорилирование цитоплазматической субъединицы протеина, известного как ядерный фактор активированных Т-клеток (NF-AT_c). В результате эта активированная субъединица проникает в ядро и связывается с ядерным компонентом NF-AT (NF-AT_n). Сформированный из 2 субъединиц NF-AT стимулирует транскрипцию гена и последующий синтез ИЛ-2 [18]. В присутствии такролимуса блокируется дефосфорилирование NF-AT_c, и, следовательно, ключевой этап транскрипции гена ИЛ-2.

Несмотря на то, что такролимус и циклоспорин имеют в целом схожий общий механизм действия, между препаратами существует целый ряд различий. Например, такролимус ингибирует миграцию лимфоцитов в трансплантат в ответ на стимуляцию ИЛ-8 [19]. Считается, что это происходит вследствие ингибирования секреции ИЛ-8 клетками воспаления. Интерлейкин-8 играет важную роль при остром отторжении. Имеются данные, что выработка ИЛ-8 может на несколько дней предшествовать эпизоду острого отторжения [20]. Таким образом, такролимус способен уменьшить раннюю инфильтрацию трансплантата лимфоцитами, потенциально ограничивая тяжесть отторжения.

Апоптоз (генетически запрограммированная гибель клеток) иммунных клеток, вероятно, играет важную роль в защите трансплантата от отторжения. Такролимус активирует фосфатазу 1, цАМФ-зависимую протеинкиназу и NO-синтазу, которые вовлечены в процесс дегрануляции и апоптоза лейкоцитов [21,22]. Апоптоз Т-лимфоцитов может стимулироваться анти-CD3-антителами, кортикостероидами и стафилококковым энтеротоксином В. Такролимус усиливает эффект этих веществ [23-25]. Исследования показали, что такролимус обладает более высоким апоптотическим потенциалом по сравнению с циклоспирином, что наряду с другими факторами может объяснять меньшую частоту и тяжесть острого отторжения у больных, лечившихся такролимусом [26,27].

Отмечающееся после трансплантации образование антител против лейкоцитарных антигенов человека (HLA) и других антигенов играет важную роль в патогенезе хронического отторжения [28-31]. Среди пациентов, принимавших такролимус после пересадки сердца, образование антивиментиновых и анти-HLA-антител наблюдалось существенно реже, по сравнению с пациентами, принимавшими циклоспорин [32,33]. Возможно поэтому

частота хронического отторжения почечных трансплантатов, согласно недавно опубликованным результатам 5-летнего наблюдения за пациентами, участвовавшими в европейском многоцентровом исследовании, была существенно ниже при приеме такролимуса, по сравнению с циклоспирином [34].

Такролимус, в отличие от циклоспорина, более эффективно купирует уже развившиеся эпизоды острого отторжения. Оба препарата оказывают сходное влияние на ИЛ-1бета, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-12, ИФН-гамма, ФНО-альфа, но различаются по своему действию на ИЛ-10. У всех животных, которые получали такролимус, уровень ИЛ-10 был существенно снижен, тогда как при приеме циклоспорина концентрация ИЛ-10 не менялась и оставалась такой же, как у животных контрольной группы. Интерлейкин-10 способствует хемотаксису Т_c- и NK-клеток, а применение такролимуса уменьшает инфильтрацию трансплантата этими типами клеток [35]. С помощью циклоспорина удавалось в эксперименте купировать уже развившееся отторжение трансплантата только при параллельном применении нейтрализующих анти-ИЛ-10 антител.

Такролимус связывается также с другим иммунофилином, известным как FKBP-52 [36,37]. FKBP-52 образует комплекс с глюкокортикоидным рецептором (ГКР). В присутствии кортикостероидов этот комплекс распадается и ГКР проникает в ядро клетки, где вовлекается в процесс регуляции транскрипции генов цитокинов. Полагают, что механизм действия такролимуса может быть подобен кортикостероидам: связывание такролимуса с FKBP-52 высвобождает ГКР из комплекса и тем самым уменьшает потребность в стероидах («стероид-сберегающий» эффект).

Короткие курсы терапии моноклональными антителами, блокирующими корцепторные сигналы, опосредованные CD4 и CD8, способствуют формированию иммунологической толерантности [38]. В отличие от циклоспорина, комбинация такролимуса с моноклональными антителами вела к более длительной выживаемости трансплантатов (свыше 100 дней) у крыс.

Повышение агрегации тромбоцитов может играть негативную роль в патогенезе васкулопатии аллотрансплантата и атеросклероза. Такролимус обладает антитромботическим эффектом, снижая агрегацию тромбоцитов, в то время как циклоспорин увеличивает агрегацию тромбоцитов [37-41].

ТФР-бета представляет собой многофункциональный цитокин, продуцируемый различными типами клеток. В низких концентрациях ТФР-бета является хемоаттрактантом, а также обладает про-

воспалительным и иммуносупрессивным эффектом, подавляя активацию лимфоцитов. В высоких концентрациях ТФР-бета стимулирует миграцию фибробластов, повышает синтез межклеточного матрикса и ингибирует его деградацию, а также стимулирует пролиферацию клеток, способствуя заживлению ран и развитию фиброза [42–44]. Циклоспорин повышает концентрацию ТФР-бета, тогда как такролимус не влияет на уровень ТФР-бета [42,45–47]. Более того, такролимус, по-видимому, подавляет передачу сигнала через ТФР-бета-рецептор 1-го типа [48]. После перехода с терапии микроэмульсией циклоспорина на такролимус у 10 больных с пересаженным сердцем активность ТФР-бета-рецептора 1-го типа существенно снизилась [49]. Такие опосредованные ТФР-бета негативные изменения, как фиброз и атеросклероз, являются основными компонентами хронической нефропатии трансплантата [45,50,51]. Поэтому различия во влиянии такролимуса и циклоспорина на ТФР-бета имеют важное клиническое значение.

Такролимус, в отличие от циклоспорина, не повышает экспрессию Р-гликопротеина, относящегося к семейству протеинов, отвечающих за транспорт субстратов через биологические мембраны, что позволяет избежать неадекватной иммуносупрессии и тем самым снизить риск отторжения трансплантата [52–55].

3. ФАРМАКОКИНЕТИКА

3.1. Абсорбция

Такролимус – гидрофобное соединение, обладающее плохой всасываемостью из желудочно-кишечного тракта [56–58]. У части больных после приема внутрь такролимус всасывается быстро, тогда как у других абсорбция затягивается, что проявляется в уплощении кривой абсорбции [59]. У детей и взрослых после пересадки печени и почки среднее время достижения пиковой концентрации (t_{max}) такролимуса – 1–2 часа [60,61]. Всасывание такролимуса у детей и взрослых неодинаково. Средние значения максимальной концентрации (C_{max}) у взрослых около 25 нг/мл, а у детей – 30 нг/мл [61]. Биодоступность такролимуса при пероральном приеме варьирует от 19 до 25% [61–64]. В среднем после пересадки почки биодоступность составляет 19–20% [61,63]. Умеренная вариабельность биодоступности обуславливает необходимость индивидуального мониторинга концентрации препарата в крови с целью коррекции дозировки. У больных после пересадки почки наблюдается высокая корреляция ($r=0.89$) между системной экспозицией (площадь под фармакокинетической кривой «концентрация-время», AUC) и минимальной кон-

центрацией (C_0) такролимуса в цельной крови, что свидетельствует о низкой индивидуальной вариабельности и предсказуемой всасываемости такролимуса в равновесном состоянии при приеме внутрь [61,63]. Таким образом, C_0 является надежным суррогатным маркером системной экспозиции такролимуса.

Прием препарата с пищей влияет на биодоступность такролимуса у больных после пересадки печени [64]. При приеме натощак средние значения AUC и C_{max} составили соответственно 272 ± 139 нг*ч/мл и $25,6 \pm 11,4$ нг/мл. Жирная пища снижает средние показатели AUC и C_{max} до 181 ± 64 нг*ч/мл (на 33%) и $5,9 \pm 2,3$ нг/мл (на 77%) и увеличивает t_{max} в 5 раз (с $1,4 \pm 0,6$ до $6,5 \pm 3,0$ часа) [65]. Поэтому для увеличения абсорбции препарат рекомендуется принимать натощак (не менее, чем за 1 час до или через 2–3 часа после еды). Однако, в проспективном исследовании, сравнивавшем концентрацию такролимуса в крови при приеме натощак и с пищей, было показано, что у стабильных больных после пересадки почки концентрация такролимуса остается практически неизменной независимо от приема пищи [66]. Учитывая, что различия в экспозиции такролимуса между больными, принимающими препарат с пищей и натощак, на 3-й неделе после трансплантации составили только 2%, авторы рекомендовали у стабильных пациентов после пересадки почки переходить на прием препарата с пищей именно в этот период [67].

С увеличением времени после трансплантации наблюдается тенденция к снижению клиренса такролимуса (в среднем с 38,7 л/ч на 3-й неделе до 25,4 л/ч к 12-му месяцу) [67]. Причина этого неясна, однако этот факт подчеркивает необходимость тщательного наблюдения за уровнем такролимуса в крови.

3.2. Распределение

В равновесном состоянии объем распределения такролимуса, оцениваемый по содержанию вещества в плазме крови, превышает 1000 литров [68]. Наибольшее количество такролимуса сосредоточено в тканях, т.к. объем распределения, рассчитанный исходя из содержания такролимуса в цельной крови, составляет около 50 литров [68]. Такролимус прочно связывается с эритроцитами и белками плазмы (альбумин и альфа-1-кислый гликопротеин (>98%)). Соотношение количества такролимуса в цельной крови и плазме составляет 20:1 и зависит от уровня гематокрита и концентрации такролимуса в цельной крови [69,70]. Фармакологически активным компонентом является «свободная фракция» такролимуса в сыворотке крови. Считается, что снижение гематокрита и альбумина

увеличивает долю несвязанного вещества, иммуносупрессивную активность и клиренс такролимуса.

3.3. Метаболизм

На биодоступность такролимуса при «первом прохождении» существенное влияние оказывает активность изофермента кишечного цитохрома P450 (CYP3A4) и эффлюксной системы с участием Р-гликопротеина. Метаболизм ингибиторов кальциневрина в системе кишечного CYP3A4 может достигать 50% [71–73].

Такролимус, попавший в системный кровоток, метаболизируется в печени. Печеночный CYP3A4 – основной фермент, участвующий в метаболизме такролимуса [74]. Известно около 8 метаболитов такролимуса, из которых только один (МII, 3I-О-деметилованный такролимус) обладает *in vitro* иммуносупрессивным действием, сходным с исходной субстанцией [75,76]. Экскреция такролимуса в неизменном виде с желчью, мочой и калом составляет менее 1%.

Генетический полиморфизм CYP3A5 обуславливает вариабельность фармакокинетики такролимуса у разных людей. Например, пациенты с генотипом CYP3A5*3/*3 (по сравнению с CYP3A5*1) для достижения целевого уровня в крови нуждаются в меньших дозировках такролимуса [77]. Лекарственные средства, которые повышают активность CYP3A4 (например, кортикостероиды) могут ускорять метаболизм такролимуса, снижая его концентрацию в крови.

Поскольку такролимус метаболизируется в печени, у пациентов с нарушениями функции печени (например, при гепатите С) могут потребоваться меньшие дозировки препарата [78].

Таким образом, генетические особенности кишечного/печеночного CYP3A и Р-гликопротеина, функциональное состояние печени и сопутствующая лекарственная терапия определяют индивидуальные особенности метаболизма такролимуса.

3.4. Клиренс

Такролимус – вещество с низким клиренсом и периодом полувыведения около 40 часов [62]. Поэтому равновесное состояние после коррекции дозы препарата достигается через 2–4 дня. Клиренс такролимуса после пересадки почки выше, чем после пересадки печени и, в свою очередь, выше, чем у здоровых людей [62,63,79]. Этот факт может объясняться гипоальбуминемией, снижением гематокрита (что приводит к увеличению «свободной фракции» такролимуса и повышению клиренса), а также ускорением метаболизма такролимуса на фоне терапии кортикостероидами у больных после трансплантации [80]. У детей клиренс такролимуса

Ингибиторы и индукторы CYP3A4, оказывающие влияние на метаболизм такролимуса

Ингибиторы CYP3A4	Индукторы CYP3A4
Хлорамфеникол [83] Кетоконазол [112] Клотримазол [84] Флюконазол [85] Кларитромицин [86] Циклоспорин [87] Даназол [88] Дилтиазем [89] Эритромицин [90] Амфотерицин В [91]	Фенитоин [92] Рифампицин [90] Гиперикум (зверобой) [93,94] Сиролимус [95] Кортикостероиды [96] Омепразол [97]

с в 1,5–2 раза выше, чем у взрослых, а у детей до 5 лет выше, чем у детей старше 5 лет [61,79,81]. Такролимус, находящийся в системном кровотоке, выводится преимущественно с желчью и лишь в незначительной степени с мочой [68].

3.5. Лекарственные взаимодействия

В разделе 3.3 упоминалось, что метаболизм такролимуса осуществляется в системе цитохрома P450 (CYP3A4), а совместное использование его с веществами, известными как индукторы CYP3A4, может ускорять метаболизм, снижая концентрацию такролимуса в крови [82]. В то же время ингибиторы CYP3A4 подавляют метаболизм такролимуса, увеличивая его концентрацию в крови. В таблице представлены некоторые вещества и лекарственные средства, которые оказывают влияние на метаболизм такролимуса.

Лекарственные взаимодействия между такролимусом, микофенолата мофетилем, сиролимусом, эверолимусом и стероидами играют важную практическую роль и будут описаны отдельно.

3.5.1. Такролимус и стероиды

Взаимодействие между такролимусом и стероидами изучалось Е.М. Duijnhoven и соавт. [96]. Было показано, что отмена стероидов приводит к увеличению системной экспозиции такролимуса. После отмены 10 мг преднизолона экспозиция такролимуса возросла в большей степени (33–36%), чем после отмены 5 мг преднизолона (12–14%). Однако увеличение AUC не сопровождалось изменениями C_{max} и t_{max} , свидетельствуя об отсутствии влияния на процесс абсорбции. Существенная роль Р-гликопротеина в этом явлении также маловероятна. Считается, что причиной увеличения экспозиции такролимуса после отмены стероидов является снижение метаболического клиренса вследствие исчезновения вызванной стероидами индукции CYP3A4.

Увеличение C_0 такролимуса в крови иногда сопровождается ростом концентрации сывороточного креатинина, что по ошибке может быть интер-

претировано как отторжение. Поэтому всем пациентам в течение 1-2 недель после отмены стероидов необходим мониторинг уровня такролимуса в крови. В случае значительного увеличения C_0 дозу препарата следует снизить.

3.5.2. Такролимус и микофенолата мофетил (ММФ)

Различий во всасывании и экспозиции (AUC) такролимуса между группами пациентов, которые получали такролимус, такролимус в сочетании с ММФ в дозе 1 г/сут или такролимус с ММФ в дозе 2 г/сут, не отмечалось [60]. Микофеноловая кислота (МФК) и/или ее глюкуронид не оказывают существенного влияния на связывание такролимуса с белками плазмы [98]. Поэтому при приеме препарата с ММФ для достижения целевого уровня такролимуса в крови коррекция дозы не требуется. Средние AUC МФК при приеме ММФ в дозе 1 г/сут и 2 г/сут составили соответственно 25 мкг*ч/мл и 40 мкг*ч/мл, причем эти значения увеличились на 20-30% к 3-му месяцу после трансплантации. Индивидуальные показатели AUC МФК среди больных, получавших 1 г и 2 г ММФ в сутки, существенно перекрывались, указывая на то, что доза ММФ 1 г/сут в сочетании с такролимусом обеспечивает адекватную системную экспозицию МФК. Более того, увеличение AUC к 3-му месяцу после пересадки говорит о необходимости снижения дозы ММФ для поддержания приемлемой системной экспозиции МФК. Таким образом, при назначении ММФ с такролимусом для достижения системной экспозиции МФК, эквивалентной той, что наблюдается при применении циклоспорина с ММФ, в первые 2 недели после трансплантации ММФ рекомендуется использовать в дозе 2 г/сут, а в дальнейшем снизить дозу до 1 г/сут. [99].

3.5.3. Такролимус и сиролимус

Лекарственное взаимодействие между такролимусом и сиролимусом изучалось у стабильных больных после пересадки почки. Сиролимус назначался в суточной дозе 1, 2 или 5 мг [95]. Через 2 недели определялось влияние сиролимуса на AUC такролимуса. Было показано, что сиролимус в дозе 1 мг/сут практически не оказывает влияния на AUC такролимуса, а в дозе 2 мг/сут и 5 мг/сут существенно снижает среднее значение AUC (с 207 нг*ч/мл до 152 нг*ч/мл; $p < 0,05$) [95].

В другом исследовании сиролимус в дозах 0,5, 1 и 2 мг/сут назначался больным сразу после первичной трансплантации почки. Уменьшение AUC такролимуса наблюдалось при приеме любой из доз сиролимуса по сравнению с контрольной группой, не принимавшей сиролимус. При этом прослеживалась тенденция к снижению экспозиции такро-

лимуса с увеличением дозы сиролимуса [100]. Таким образом, при совместном назначении такролимуса и сиролимуса (особенно в дозе от 2 до 5 мг/сут) следует уделять особое внимание поддержанию адекватной терапевтической концентрации (C_0) такролимуса в крови. При этом, возможно, потребуется увеличение дозы такролимуса.

В представленных выше исследованиях плазменные уровни сиролимуса, назначаемого в дозе 1 и 2 мг/сут, были сравнимы с теми, что наблюдаются у больных, принимающих сиролимус без ингибиторов кальциневрина. Это указывает на отсутствие влияния такролимуса на фармакокинетику сиролимуса.

В исследовании M. Schubert и соавт. у детей после пересадки печени или тонкой кишки, получавших такролимус и сиролимус, различий в AUC сиролимуса на 12 (8–14) и 34 (21–87) дни после трансплантации не отмечалось, но период полувыведения сиролимуса существенно увеличился (с $11,2 \pm 1,0$ до $20,1 \pm 3,1$ часов; $p = 0,02$) [101]. При совокупном анализе групп после начала приема сиролимуса период полувыведения такролимуса не изменился ($11,6 \pm 3,9$ и $14,0 \pm 10,4$ часов, $p = 0,52$), но у детей после комбинированной пересадки печени и тонкой кишки соотношение AUC/доза/площадь поверхности тела существенно снизилось (с $90,9 \pm 55,3$ до $48,8 \pm 27,3$). A.D. Schachter и соавт. также сообщили о том, что концентрация сиролимуса при его использовании в сочетании с ингибиторами кальциневрина у детей после пересадки почки может повышаться. Более того, индивидуальная вариабельность фармакокинетических параметров сиролимуса также высока вне зависимости от сопутствующей терапии ингибиторами кальциневрина [102].

Учитывая имеющуюся информацию при использовании такролимуса в сочетании с сиролимусом, особенно у детей, во избежание побочных эффектов и для оптимизации терапии необходимо проводить тщательный мониторинг концентрации как такролимуса, так и сиролимуса.

3.5.4. Такролимус и эверолимус

Известно, что циклоспорин увеличивает концентрацию эверолимуса в крови в 2,7 раза [103]. В работе J.M. Kovarik и соавт. [104,105] больные получали такролимус в дозе $3,1 \pm 2,6$ мг 2 раза в день. При этом C_0 такролимуса в крови составлял $7,9 \pm 3,9$ нг/мл, а AUC 132 ± 56 нг*ч/мл. Добавление эверолимуса 1,5 мг 2 раза в сутки (C_0 эверолимуса – $3,3 \pm 1,2$ нг/мл, AUC 58 ± 20 нг*ч/мл) в 1-й период (первые 10 дней) не повлияло на экспозицию такролимуса: C_0 $8,4 \pm 4,0$ нг/мл, AUC 134 ± 70 нг*ч/мл. После снижения дозы такролимуса в среднем в 2

раза (с $3,1 \pm 2,6$ мг до $1,5 \pm 1,3$ мг) во 2-м периоде (11-й день – 3 месяца) значимых изменений контрольного уровня эверолимуса не наблюдалось (C_0 $3,0 \pm 1,1$ нг/мл, AUC 49 ± 10 нг*ч/мл). Таким образом, уменьшение экспозиции такролимуса во 2-й период ассоциируется с минимальным (13%) уменьшением экспозиции эверолимуса.

Похожие результаты были получены другими авторами [106]. Больным после первичной трансплантации почки назначался эверолимус (3-12 нг/мл) в сочетании с такролимусом в низких (группа А: первые 3 месяца: 4-7 нг/мл, 4-6 месяц: 3-6 нг/мл; $n=9$) или высоких дозах (группа В: первые 3 месяца: 8-11 нг/мл, 4-6 месяцев: 7-10 нг/мл; $n=6$) в течение 6 месяцев. AUC как эверолимуса (1-й месяц: 28,85 нг*ч/мл, 3-й месяц: 36,97 нг*ч/мл, 6-й месяц: 36,50 нг*ч/мл), так и такролимуса (1-й месяц: 60,23 нг*ч/мл, 3-й месяц: 60,61 нг*ч/мл, 6-й месяц: 58,43 нг*ч/мл) существенно не менялись. Признаков аккумуляции, а также изменений t_{max} и C_{max} эверолимуса не отмечалось. Максимальная разница AUC такролимуса между группами (А: 50,44 нг*ч/мл, В: 69,08 нг*ч/мл) наблюдалась через 6 месяцев. Однако низкая экспозиция такролимуса не ассоциировалась со снижением AUC эверолимуса (А: 40,43 нг*ч/мл, В: 31,27 нг*ч/мл). Проведенный корреляционный анализ AUC ($r^2=0,0071$) подтвердил отсутствие взаимодействия между этими препаратами.

Таким образом, влияние такролимуса (в отличие от циклоспорина) на фармакокинетику эверолимуса минимально. Поэтому для достижения аналогичной концентрации эверолимуса в крови начальные дозы эверолимуса при комбинации с такролимусом должны быть выше тех, что обычно используются в комбинации с циклоспорином.

4. ЛЕКАРСТВЕННЫЙ МОНИТОРИНГ

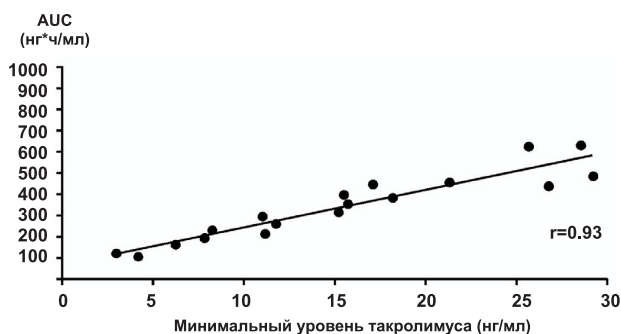
Благодаря высокой корреляции между AUC и C_0 ($r=0,89$) минимальная концентрация такролимуса в цельной крови является суррогатным маркером системной экспозиции такролимуса. Описаны также механизмы высокой индивидуальной вариабельности биодоступности такролимуса при оральном приеме. Поэтому дозирование препарата у каждого конкретного больного должно основываться на тщательном терапевтическом мониторинге уровня такролимуса в крови [107].

В подавляющем большинстве случаев для успешной терапии C_0 такролимуса в цельной крови не должна превышать 20 нг/мл. Общепринятый целевой уровень такролимуса в крови в ранний посттрансплантационный период – 10-20 нг/мл [108,109].

При поддерживающей терапии дозу препарата обычно снижают, основываясь на клинической оценке эффективности и переносимости иммуносупрессии. Терапевтический уровень такролимуса в крови следует при этом поддерживать в диапазоне от 5 до 10 нг/мл, причем в зависимости от конкретного клинического случая и применяемой схемы иммуносупрессии иногда возможно ведение больных и на более низкой концентрации (3-6 нг/мл) [106,110,111]. Важно отметить, что возможность использования таких низких доз связана со снижением риска отторжения вследствие комбинации такролимуса с другими современными иммунодепрессантами (ММФ, сиролимус, эверолимус).

В настоящее время референтным методом количественного определения уровня такролимуса в крови является высокоэффективная жидкостная хроматография с tandemной масс-спектрометрией (HPLC-MS/MS) [113,114]. Одним из наиболее часто используемых методов для рутинного терапевтического мониторинга такролимуса был иммуноферментный анализ с микрочастицами (MEIA, Abbot Laboratories, Abbott Park, IL, USA), введенный в практику в 1991 г. [115]. Однако MEIA и другие методы определения концентрации такролимуса в крови, основанные на иммуноферментном анализе (ИФА), например, ELISA, отличаются относительно низкой специфичностью и перекрестно реагируют с метаболитами, что может вести как к недооценке [116,117], так и к переоценке [118,119] концентрации исходного препарата. Оригинальный метод MEIA I обладает недостаточной чувствительностью для определения концентраций такролимуса в крови менее 5 нг/мл. Поэтому был создан метод MEIA II для анализатора IMx® (Abbott Diagnostics), который позволяет определять концентрации такролимуса до нижнего предела 2 нг/мл. MEIA II широко используется в настоящее время для рутинного мониторинга уровня такролимуса и дает результаты, сопоставимые с HPLC-MS/MS [120,121].

Два других метода для рутинного терапевтического мониторинга такролимуса – Pro-Trac™ II Tacrolimus EIA (Diasorin Ltd) и EMIT® 2000 Tacrolimus assay (Dade Behring) – отличаются друг от друга чувствительностью, продолжительностью анализа и автоматизацией процесса. Pro-Trac™ II Tacrolimus EIA проводится вручную и занимает 3-4 часа, но является наиболее чувствительным (0,2 нг/мл). MEIA II и EMIT® 2000 частично автоматизированы, занимают меньше 1 часа, но менее чувствительны (1,2-1,5 нг/мл) [114]. Так как методы, основанные на ИФА, недооценивают (или



Корреляционная зависимость между минимальным уровнем (C_0) такролимуса и AUC.

переоценивают) минимальный уровень такролимуса на 10–25% [116–119], некоторые авторы для рутинного мониторинга предлагают использовать HPLC-MS/MS [122–124], а также установить терапевтический диапазон концентраций такролимуса на основании результатов HPLC-MS/MS, а не экстраполировать данные исследований, применявших ИФА [125].

Терапевтический мониторинг такролимуса особенно важен в ранний посттрансплантационный период. Минимальная концентрация такролимуса в цельной крови (C_0) измеряется через 12 часов после перорального приема препарата, непосредственно перед приемом следующей дозы. C_0 является надежным маркером системной экспозиции препарата благодаря высокой корреляции между C_0 и AUC (рисунок) [126]. Частота, с которой проводится мониторинг, определяется клинической необходимостью. Так как такролимус – это препарат с низким клиренсом, то изменение его концентрации в крови может наблюдаться не сразу, а лишь через 2–4 дня после коррекции дозы. В ранний посттрансплантационный период мониторинг необходимо проводить не реже двух раз в неделю, а при поддерживающей терапии – периодически. Концентрация такролимуса в крови должна также контролироваться при коррекции дозировки, изменении режима иммуносупрессии, применении препаратов, влияющих на метаболизм и фармакокинетику такролимуса. В случае перехода с циклоспорина на терапию такролимусом также требуется тщательный терапевтический мониторинг такролимуса.

5. ПОБОЧНЫЕ ЭФФЕКТЫ

Перечень осложнений, ассоциированных с иммуносупрессивной терапией, довольно велик. Дисфункция почки, нарушения углеводного обмена, артериальная гипертензия, гиперлипидемия, гастроинтестинальные расстройства, инфекции, злокачественные новообразования, лимфопролиферативные заболевания, неврологические нарушения, остеопороз, гирсутизм, гиперплазия десен – вот лишь

неполный список осложнений иммуносупрессии. Косметические осложнения (гирсутизм, гиперплазия десен) не являются фатальными, но оказывают значительное влияние на «качество жизни» больных.

В ранних исследованиях использовались высокие дозы такролимуса, что повышало риск осложнений. Например, в европейском многоцентровом исследовании побочные явления привели к отмене такролимуса в 16,5% (50/303) случаев, тогда как циклоспорин был отменен только у 2,8% (4/145) пациентов ($p < 0,001$) [130]. Несмотря на первоначальное использование высоких доз и высоких концентраций в крови, преимущества такролимуса перед циклоспорином все же сохранялись: акне, гиперплазия десен, и особенно гирсутизм фактически не наблюдались у больных на терапии такролимусом [130–132]. Несмотря на высокие дозы такролимуса, у этих пациентов отмечалась тенденция к более низкому уровню холестерина ($p = 0,03$) и артериального давления, по сравнению с больными, получавшими циклоспорин [131].

В настоящее время, когда используются более низкие дозы и более низкие терапевтические концентрации такролимуса в крови, частота побочных эффектов снизилась.

5.1. Дисфункция почки

На функцию почки после трансплантации оказывает влияние множество факторов, как иммунологических, так и неиммунологических. Поэтому определить истинную причину дисфункции почки в клинике довольно сложно, а в ряде случаев она носит комплексный характер.

Влияние такролимуса на функцию почки обусловлено изменениями метаболизма простагландинов и перекисного окисления липидов клеточных мембран [133], а также увеличением секреции эндотелинов [134]. Непосредственными причинами дисфункции почки считаются вазоконстрикция почечных артериол и прямой антипролиферативный эффект на клетки эпителия проксимальных канальцев [135]. В результате вазоконстрикции уменьшаются почечный кровоток и скорость клубочковой фильтрации (СКФ) и нарастает уровень сывороточного креатинина [136,137]. Клинические проявления и морфологические признаки нефротоксичности такролимуса аналогичны описанным ранее у больных, получающих циклоспорин [138]. Один из классических признаков нефротоксичности ингибиторов кальциневрина – артериоллярный гиалиноз [135]. Однако в клинической практике после пересадки почки сложно отличить лекарственную токсичность от реакции отторжения. Согласно клиническим исследованиям, вероятность развития не-

фротоксических эффектов в целом сходна при терапии циклоспорином или такролимусом [138].

Острая почечная недостаточность, вызванная ингибиторами кальциневрина, обычно обратима после снижения дозы или временной отмены препарата [138,139]. При отсутствии надлежащего лечения процесс может стать необратимым и привести к терминальной почечной недостаточности [136,141].

В европейском многоцентровом исследовании, [130] в котором использовались высокие дозы такролимуса, повышенный уровень креатинина среди больных, получавших такролимус, отмечался чаще (35%), чем у больных на циклоспорине (27%; $p < 0,01$), однако медиана уровня сывороточного креатинина между группами существенно не отличалась. Частота канальцевого некроза (20,8% и 16,6%) и токсической нефропатии (10,2% и 4,8%) также существенно не различались между группами пациентов, получавших такролимус и циклоспорин [142]. Потребность в диализе (44,9% и 42,1%) и продолжительность диализа после трансплантации (13,7 и 21,9 дней) у больных обеих групп были практически одинаковы. Средний уровень сывороточного креатинина через 4 года после трансплантации среди больных, получавших такролимус, составил 174,8 мкмоль/л, а среди больных, получавших циклоспорин, – 196,7 мкмоль/л [143]. В американском многоцентровом исследовании повышенный сывороточный креатинин после пересадки почки наблюдался у 45,4% (93/205) больных, получавших такролимус, и у 41,5% (86/207) пациентов, принимавших циклоспорин (средний уровень составлял 146,7 мкмоль/л и 145,0 мкмоль/л) [131,144]. Отдаленные результаты были сходны с европейским исследованием: через 5 лет наблюдения средний уровень сывороточного креатинина оказался существенно ниже в группе больных, получавших такролимус (1,4 мг/дл), по сравнению с больными, получавшими циклоспорин (1,7 мг/дл; $p < 0,0014$).

В другом европейском многоцентровом исследовании, сравнивавшем такролимус с микроэмульсией циклоспорина [26,145], уровень сывороточного креатинина в группах лечения такролимусом и микроэмульсионным циклоспорином через 6 месяцев [26] составил соответственно $139 \pm 50,2$ мкмоль/л и $147 \pm 86,5$ мкмоль/л, а через 2 года – 135 мкмоль/л и 161 мкмоль/л ($p < 0,05$) [146].

Аналогичные результаты в отношении СКФ были получены в европейском многоцентровом педиатрическом исследовании [147] и в исследовании в университетском госпитале Уэльса (Кардифф, Великобритания): СКФ была существенно выше

среди больных, принимавших такролимус (62 мл/мин), чем в группе принимавших циклоспорин (43 мл/мин; $p = 0,017$) [148]. На протяжении 6 лет наблюдения после исследования в Кардиффе у больных, получавших такролимус, тенденции к снижению СКФ, как это наблюдалось при приеме циклоспорина, не отмечалось. Этот факт может объясняться более низкой частотой хронического отторжения у больных, принимавших такролимус [148]. Не наблюдалось также различий в функции почек между группами больных, принимавших такролимус изолированно, в сочетании с ММФ или сиролimusом [149-151].

По нашему опыту, после успешной терапии отторжения такролимусом может быть достигнута стабильная долговременная функция почечного трансплантата [152,153] и не было признаков хронической нефротоксичности, которые были описаны ранее у больных после пересадки печени [154].

Существуют описания клинических случаев, в которых отмечалось развитие гемолитически-уремического синдрома (ГУС) на фоне терапии такролимусом [155,156]. В то же время в других работах сообщается об успешном лечении ГУС после перехода с терапии циклоспорином на такролимус [157,158].

5.2. Нарушения углеводного обмена

Нарушения метаболизма глюкозы связаны со снижением секреции инсулина и/или с увеличением инсулинорезистентности. В 1964 г. T.E. Starzl впервые сообщил о таких нарушениях, вызванных приемом кортикостероидов [159].

Согласно опубликованным данным, частота посттрансплантационного сахарного диабета (ПТСД) на фоне терапии ингибиторами кальциневрина варьирует в широком диапазоне (5–36%) [22,160–167]. Это, возможно, объясняется неоднозначным толкованием термина ПТСД разными авторами. Например, диагноз ПТСД одними исследователями устанавливался на основании уровня глюкозы натощак $> 6,7$ ммоль/л [168], а другими – при потребности в инсулинотерапии на протяжении не менее 30 дней после трансплантации [169]. Более того, немало больных имеют латентный сахарный диабет еще до трансплантации [170–172].

Впервые возникший инсулинозависимый сахарный диабет (определяемый как необходимость в инсулинотерапии в течение > 30 дней у больных, не получавших ранее инсулин) в европейском многоцентровом исследовании, в котором применялись высокие дозы такролимуса, был диагностирован у 8,3% больных, получавших такролимус, и у 2,2% больных, лечившихся циклоспорином [130]. Однако во многих случаях потребность в инсулине но-

сила временный характер и через 12 мес. число нуждающихся в инсулине пациентов при терапии такролимусом снизилось до 5,5%, по сравнению с 2,2% в группе, получавшей циклоспорин ($p=0,189$). В течение последующих 4 лет наблюдения новых случаев ПТСД в обеих группах не было [34,143]. Последующий мультивариантный анализ показал, что факторами риска развития ПТСД являются увеличение концентрации такролимуса в крови [130] и высокие дозы кортикостероидов [131].

В американском многоцентровом исследовании больные после пересадки почки получали ингибиторы кальциневрина, кортикостероиды и азатиоприн. Частота ПТСД составила 23,8% (19,9% среди пациентов, получавших такролимус, и 4,0% – циклоспорин; $p<0,01$) [131]. В последующие 4 года наблюдения было зарегистрировано лишь 5 новых случаев сахарного диабета: 4 (2,6%) при приеме такролимуса и 1 (0,7%) – циклоспорина [146]. Частота обратного развития инсулиновой зависимости при приеме такролимуса через 5 лет наблюдения составила 41,2%. Таким образом, истинная инсулиновая зависимость при использовании такролимуса наблюдается лишь у ограниченного числа больных.

Европейские многоцентровые сравнительные исследования после пересадки почки у взрослых и детей показали, что частота ПТСД существенно не различается у пациентов, принимающих такролимус и микроэмульсионный циклоспорин [26,145,173]. Согласно данным, опубликованным R. Margreiter и соавт., общая частота сахарного диабета через 6 месяцев приема такролимуса (287 пациентов) и микроэмульсионного циклоспорина (273 пациента) составила соответственно 8,0% и 3,7% ($p=0,032$) [26]. Однако после исключения больных с предшествующим трансплантации сахарным диабетом доли больных с ПТСД (необходимость инсулинотерапии >30 дней) статистически не различались между группами (4,5% и 2,0%; $p=0,105$) [26]. Через 24 мес. после трансплантации 20 (8,5%) больных, принимавших такролимус, и 17 (7,8%) больных, получавших циклоспорин, находились на инсулинотерапии, а соответственно 2,5% и 2,3% – на терапии пероральными противодиабетическими препаратами. В течение 24 мес. наблюдения новые случаи ПТСД были диагностированы у 8 (3,6%) больных при использовании такролимуса и у 4 (1,9%) больных при терапии циклоспорином (различия статистически недостоверны) [173]. В многоцентровом сравнительном исследовании такролимуса (100 пациентов) и микроэмульсионного циклоспорина (93 пациента) у детей ПТСД был отмечен у 3 (3,0%) больных, принимавших такро-

лимус, и у 2 (2,2%) больных, лечившихся циклоспорином [173].

Различия в частоте нарушений углеводного обмена между такролимусом и циклоспорином зависят от времени, прошедшего после трансплантации. J.P. Van Hooff и соавт. [175] показали, что единственным статистически достоверным ($p<0,05$) различием между группами, принимавшими такролимус и циклоспорин, были изменения секреторной активности поджелудочной железы через 3 недели после трансплантации. Прирост секреции С-пептида на фоне приема такролимуса, по сравнению с циклоспорином, был ниже на 57%, а секреции инсулина – на 48%. С 3-й недели по 6-й месяц в обеих группах наблюдалась лишь тенденция к увеличению секреторной активности поджелудочной железы, несмотря на повышенные уровни глюкозы натощак. Через 6 месяцев статистически достоверных различий между циклоспорином и такролимусом не было.

Существуют убедительные данные, показывающие, что ранняя отмена стероидов при использовании схем иммуносупрессии, включающих такролимус, существенно снижает частоту ПТСД. В исследовании THOMAS первично диагностированный инсулинзависимый сахарный диабет встречался реже при отмене стероидов (3,2%), по сравнению с отменой ММФ (5,3%) или продолжением трехкомпонентной терапии (такролимус+ММФ+стероиды; 5,1%) [176]. Через 3 года частота ПТСД составила 4,5% при трехкомпонентной иммуносупрессии, 2,8% среди пациентов, которым были отменены стероиды, и 5,2% в группе пациентов после отмены ММФ [177].

В исследовании CARMEN, сравнивавшем две схемы иммуносупрессии (такролимус+ММФ+даклизумаб и такролимус+ММФ+стероиды), частота ПТСД была существенно ниже среди больных, не получавших стероиды (0,4% и 5,4% соответственно; $p=0,003$) [178].

Таким образом, результаты исследований, проведенных в течение последнего десятилетия, указывают на уменьшение частоты ПТСД с 20% в начале 1990-х годов до 0-5% в настоящее время. Особенно отказ от использования слишком высоких доз такролимуса и кортикостероидов привели к снижению риска развития ПТСД, не приводя при этом к уменьшению эффективности иммуносупрессии.

5.3. Сердечно-сосудистые заболевания

По данным американского почечного регистра USRDS сердечно-сосудистые заболевания являются ведущей причиной летальности после трансплантации почки. Кроме того, смерть с функционирующим трансплантатом и хроническое от-

торжение – это основные причины утраты трансплантатов на сроках более 1 года после пересадки (данные UNOS).

Общепринятыми факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний являются артериальная гипертензия и гиперлипидемия. В свою очередь, риск развития гипертензии и гиперлипидемии у больных после трансплантации почки зависит от индекса массы тела, генетической предрасположенности, первичного заболевания почек, приведшего к ХПН, наличия хронической дисфункции трансплантата, а также используемой терапии (например, кортикостероиды, некоторые иммунодепрессанты).

В ранних многоцентровых исследованиях, сравнивающих такролимус и циклоспорин, существенных различий в частоте артериальной гипертензии не было [130,131]. Общая частота сердечно-сосудистых осложнений в европейском исследовании при приеме такролимуса и циклоспорина составила соответственно 29,4% и 26,9% (различия статистически не достоверны). Приступы стенокардии в раннем послеоперационном периоде чаще наблюдались среди больных, принимавших такролимус, а аритмии – на фоне терапии циклоспорином. Частота инфаркта миокарда была сравнима между группами [130].

Однако согласно пилотным исследованиям необходимость в антигипертензивной терапии при приеме такролимуса, по сравнению с циклоспорином, была ниже [179,180]. В американском многоцентровом исследовании к концу первого года после пересадки у 39,3% больных, принимавших такролимус, и у 28,4% пациентов, получавших циклоспорин, не требовалась антигипертензивная терапия ($p=0,04$) [181]. Указанные различия сохранялись как через 2 года (28,2% и 15,5%; $p=0,007$) [181], так и спустя 5 лет (19,1% и 8,7%; $p=0,047$) после трансплантации [144].

В проспективном исследовании, сравнивавшем результаты суточного мониторинга артериального давления и необходимость в антигипертензивной терапии на фоне лечения такролимусом и циклоспорином, нами было отмечено, что лишь 13% больных, принимавших такролимус, требовали назначения антигипертензивных препаратов, в отличие от 70% пациентов, лечившихся циклоспорином ($p<0,01$) [182]. В исследованиях *in vitro* и *in vivo* отмечалось меньшее влияние такролимуса на функцию эндотелия периферических сосудов и выработку сосудосуживающих субстанций по сравнению с циклоспорином, что может объяснять более выраженную тенденцию к артериальной гипертензии при использовании циклоспорина [183].

В американском исследовании через 12 месяцев после трансплантации процент больных с гиперлипидемией на фоне приема такролимуса и циклоспорина составил соответственно 30,7% и 38,2%; гиперхолестеринемия отмечалась у 7,8% и 14,5% пациентов ($p=0,031$) [131]. Статистически достоверные различия в липидном профиле все еще сохранялись через 3 года после пересадки [184]. Через 5 лет после трансплантации лишь у 20% больных на такролимусе, по сравнению с 58,8% пациентов на циклоспорине, требовалась гиполипидемическая терапия ($p<0,001$) [144]. Терапия такролимусом ассоциировалась со значительно более низким уровнем холестерина (5,7 ммоль/л), по сравнению с циклоспорином (6,22 ммоль/л), и меньшей потребностью в гиполипидемических препаратах ($p<0,05$) [185].

В другом европейском многоцентровом исследовании, сравнивавшем такролимус с микроэмульсионным циклоспорином, через 6 месяцев после пересадки почки при приеме такролимуса артериальная гипертензия (15,7%) и гиперхолестеринемия (4,2%) также наблюдались реже ($p=0,03$), чем на фоне терапии микроэмульсионным циклоспорином (соответственно 23,2% и 8,9%) [26]. Анализ факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний, включающих артериальную гипертензию, впервые выявленный инсулинозависимый сахарный диабет и гиперхолестеринемия, через 3 месяца после трансплантации показал, что 10-летний риск ишемической болезни сердца при использовании такролимуса достоверно ниже, по сравнению с циклоспорином (10% и 13%; $p<0,05$) [186]. Результаты исследования в Кардиффе [148] и европейского многоцентрового педиатрического исследования [173] также свидетельствуют о преимуществе такролимуса перед циклоспорином с точки зрения факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний. В исследовании THOMAS ранняя отмена стероидов в схемах, основанных на такролимусе, сопровождалась снижением уровня липидов в крови [187].

В недавнем проспективном многоцентровом исследовании [188] после перевода трансплантированных больных с циклоспорина на такролимус отмечалось уменьшение выраженности или исчезновение побочных эффектов циклоспорина. В частности, средний уровень холестерина снизился с 255 до 218 мг/дл, среднее систолическое артериальное давление – со 152,9 мм рт.ст. до 137,5 мм рт.ст., а среднее диастолическое давление – с 90,7 до 85,8 мм рт.ст.

Результаты исследований, сравнивавших такролимус и микроэмульсионный циклоспорин в комбинации с ММФ, [189] АТГ, [190] или сиролимусом,

сом, [191] также подтверждают благоприятное влияние такролимуса на липидный профиль.

Гипертрофия миокарда желудочков и межжелудочковой перегородки, описываемая как кардиомиопатия, изредка встречается на фоне терапии такролимусом [192]. В частности, было описано 5 таких случаев у детей младше 5 лет, у которых концентрация такролимуса в крови достигала 40 нг/мл, т.е. была значительно выше максимально рекомендованной. В большинстве случаев после замены такролимуса на циклоспорин гипертрофия по крайней мере частично регрессировала [192]. Вероятно, этиология данного состояния носит многофакторный характер. Прямая причинно-следственная связь такролимуса с развитием кардиомиопатии не установлена.

Таким образом, схемы иммуносупрессии, включающие такролимус, отличаются от режимов иммуносупрессии, основу которых составляет циклоспорин, более благоприятным кардиоваскулярным профилем.

5.4. Неврологические нарушения

Неврологические расстройства при использовании ингибиторов кальциневрина могут носить умеренный (бессонница, головная боль, парестезии) или тяжелый (нарушение сознания, психоз, судороги, кома, афазия) характер. Чаще всего неврологические нарушения незначительны, обычно не сказываются на повседневной активности больных, чаще встречаются сразу после трансплантации и со временем имеют тенденцию к регрессии [193].

В европейском многоцентровом исследовании тремор чаще наблюдался при приеме такролимуса, по сравнению с циклоспорином (34,7% и 11,7%; $p < 0,001$), но в дальнейшем исчезал после уменьшения дозы. Бессонница (23,8% и 26,2%) и головная боль (20,5% и 13,8%) встречались одинаково часто в обеих группах [130]. Тяжелых неврологических осложнений за 5 лет наблюдения не отмечалось [34,143].

Такие же результаты были получены в американском многоцентровом исследовании [131], в котором частота тремора на фоне терапии такролимусом (54,1%) была значительно выше, чем при терапии циклоспорином (33,8%; $p < 0,001$). Однако потребность в лечении этого осложнения и снижении дозы ингибиторов кальциневрина была одинакова в обеих группах. Неврологические осложнения обычно регрессировали после снижения дозы такролимуса. Аналогичные результаты были получены в европейских сравнительных исследованиях такролимуса с микроэмульсионным циклоспорином у взрослых [26] и детей [173].

В нашем исследовании после конверсии иммуносупрессии с циклоспорина на такролимус неврологические осложнения наблюдались у 4 больных и полностью исчезли после снижения дозы такролимуса [152].

Последние исследования не выявили различий в частоте неврологических осложнений (тремор, головная боль, бессонница) между режимами иммуносупрессии, включающими такролимус в комбинации с азатиоприном, ММФ или сиролимусом, а также при использовании индукционной терапии АТГ [149–151,190]. Однако в американском многоцентровом исследовании парестезии наблюдались существенно реже на фоне терапии такролимусом в комбинации с ММФ 1 г/сут (8,5%), по сравнению со схемой такролимус+азатиоприн (16,9%) и такролимус+ММФ 2г/сут (25,9%) [150].

5.5. Осложнения со стороны пищеварительной системы

В европейском многоцентровом исследовании диарея встречалась гораздо чаще на фоне терапии такролимусом, тогда как существенных различий в частоте тошноты, рвоты, запоров, диспепсии не было [130]. В американском многоцентровом исследовании частота диареи и тошноты между группами больных, получавших такролимус и циклоспорин, была одинакова (такролимус 43,9% и 37,6%; циклоспорин 40,6% и 36,2% соответственно) [131]. Такие осложнения как мальабсорбция, гипотрофия мышц, снижение веса, гепатотоксичность изредка наблюдались у больных после пересадки печени. Снижение дозы или отмена такролимуса сопровождалась улучшением состояния больных и восстановлением функции печени [195,196]. В европейском многоцентровом сравнительном исследовании такролимуса с микроэмульсионным циклоспорином частота гастритов была выше среди больных, получавших такролимус (3,1%), по сравнению с циклоспорином (0,4%; $p = 0,021$), а частота желудочно-кишечных кровотечений реже при использовании такролимуса (0,3% и 2,6%; $p = 0,033$) [26].

Сочетание такролимуса с ММФ ассоциируется с более высоким риском диареи, причем чем выше дозы ММФ, тем чаще диарея [149,150]. Поэтому у больных, получающих такролимус, рекомендуется в отдаленные сроки после пересадки почки использовать ММФ в дозе не более 1 г/сут. В тех случаях, когда предполагается, что гастроинтестинальные осложнения связаны с ММФ, может быть полезным определение индивидуальных фармакокинетических параметров ММФ (AUC; концентрации ММФ в следующие моменты времени: 0 мин., 75 мин., 240 мин.).

5.6. Инфекционные осложнения

Инфекции – наиболее частое осложнение из тех, что наблюдались в европейском многоцентровом исследовании [130]. Общая частота инфекций на фоне лечения такролимусом (75,6%) и циклоспорином (75,2%) была одинаковой. Существенных различий в частоте инфекций, вызванных цитомегаловирусом (ЦМВ) (такролимус 13,5%, циклоспорин 16,6%), *Pneumocystis jirovecii* (2,0% и 0%), *Aspergillus* (1,3% и 0%) и вирусом Эпштейн-Барр (0,7% и 0,7%) между группами не отмечалось. Аналогичные результаты получены в американском многоцентровом исследовании: общая частота инфекций в группах составила 72,2% (такролимус) и 75,8% (циклоспорин) [131], общая частота инфекций за 5 лет наблюдения – 81,0% (такролимус) и 81,6% (циклоспорин) [144].

Поскольку в нашем первом исследовании у больных, которым назначался такролимус, наблюдалась более высокая частота пневмоний, вызванных *P. jirovecii* [197], мы в дальнейшем с успехом проводили профилактику инфекционных осложнений антибактериальными и противовирусными препаратами у больных, получавших такролимус (начальная средняя доза 0,13 мг/кг/сут) по поводу резистентного к стероидам острого отторжения [198]. В то же время в похожем исследовании, где такролимус применялся в дозе 0,3 мг/кг/сут [199], при среднем времени наблюдения 13,9 месяца было зарегистрировано 6 летальных исходов (7,8%), 2 из которых были напрямую связаны с инфекционными осложнениями. Кроме того, наблюдались 3 случая тяжелой ЦМВ инфекции и 1 случай бактериальной пневмонии [199].

В европейском многоцентровом сравнительном исследовании такролимуса и микроэмульсионного циклоспорина в течение первых 6 месяцев после трансплантации почки различий в частоте и характере инфекционных осложнений между группами не отмечалось [26]. Наиболее часто инфекционные осложнения наблюдались со стороны мочевыделительной системы (такролимус 28,3%, микроэмульсионный циклоспорин 26,2%), а среди тяжелых инфекций наиболее частой была ЦМВ инфекция (7,0% и 6,3%).

Использование такролимуса в сочетании с ММФ [149,150] или сиролимусом [151,200] не приводит к росту числа инфекционных осложнений. В исследовании THOMAS отмена ММФ и/или кортикостероидов в схемах терапии, основу которых составлял такролимус, сопровождалась снижением частоты тяжелой ЦМВ инфекции [201].

Интерстициальный нефрит, вызванный вирусом полиомы ВК и JC, встречается редко (около

5%), но представляет собой серьезное осложнение иммуносупрессивной терапии, приводящее во многих случаях (до 45%) к утрате трансплантата [202–207]. Считается, что полиомавирусная нефропатия (ПВН) связана с интенсивностью иммуносупрессии и рецидивирующими кризами отторжения [203,206]. Первые регулярные сообщения, посвященные ПВН, представляют собой описание изолированных случаев полиомавирусной болезни (ПВБ), развившейся после перехода с циклоспорина на такролимус по поводу острого отторжения трансплантата почки (n=8) [206,207] или во время поддерживающей иммуносупрессии такролимусом (n=11) или циклоспорином (n=7), преимущественно в сочетании с ММФ [204,208,209]. Поэтому схемы, включающие такролимус и ММФ, некоторые авторы рассматривают как фактор риска ПВБ. В рандомизированном исследовании (n=200), посвященном этому вопросу, различий в частоте ВК-вирурии и ВК-виремии между пациентами, получавшими такролимус или циклоспорин (вирурия: 36% и 31%; виремия: 12% и 11%), а также азатиоприн или ММФ (вирурия: 33% и 38%; виремия: 13% и 9%), не было [210]. Однако при приеме такролимуса, по сравнению с циклоспорином, прослеживалась тенденция к персистенции виремии. Частота ВК-вирурии и виремии была наибольшей при использовании схем такролимус+ММФ, циклоспорин+азатиоприн и наименьшей в случае сочетания циклоспорина с ММФ [210]. В еще одном исследовании у 67 больных с полиомавирусной нефропатией также не было выявлено связи терапии такролимусом с более высоким риском развития ПВН, по сравнению с циклоспорином [211].

Трудности диагностики, частое вирусоносительство, способность вируса усугублять отторжение за счет стимуляции иммунной системы, а также тонкая грань между необходимостью снижения дозы иммунодепрессантов для контроля над вирусом и опасностью развития отторжения при этом делают полиомавирусную нефропатию аллотрансплантата важной и серьезной клинической проблемой. Поэтому для уточнения роли иммунодепрессантов при ПВН необходимы дальнейшие исследования.

5.7. Злокачественные новообразования и посттрансплантационные лимфопролиферативные заболевания (ПТЛЗ)

Злокачественные новообразования (за исключением лимфом) в течение 1-го года после пересадки почки в европейском многоцентровом исследовании на фоне лечения такролимусом и циклоспорином составили соответственно 1% (3/303) и 1,4% (2/145) [130]. За 5 лет наблюдения частота

злокачественных новообразований среди больных, получавших такролимус и циклоспорин, составила 7,0% и 7,3% [34]. В американском многоцентровом исследовании злокачественные новообразования за 1-й год исследования были выявлены у 1,0% (2/205; такролимус) и 1,5% (3/207; циклоспорин) пациентов [131], а через 5 лет наблюдения – у 13,7% (такролимус) и 12,6% (циклоспорин), без существенных различий между этими двумя группами [144]. Различий в частоте злокачественных новообразований между такролимусом и циклоспорином в микроэмульсионной лекарственной форме также выявлено не было [26,145,146].

ПТЛЗ имеют В-клеточную природу и, как известно, развиваются после трансплантации органов от серопозитивных к вирусу Эпштейн-Барр (ВЭБ) доноров серонегативным реципиентам (серонегативный статус часто встречается у маленьких детей), особенно в условиях избыточной иммуносупрессии, т. к. отсутствует адекватный контроль со стороны Т-лимфоцитов за ВЭБ-индуцированной пролиферацией В-лимфоцитов. В европейском [130] и американском [131] многоцентровых исследованиях встречаемость ПТЛЗ или лимфом была сравнима между такролимусом и циклоспорином. В европейском исследовании частота лимфом между группами составила 1,0% и 0,7% [130], а в американском исследовании ПТЛЗ (включая лимфомы) отмечались соответственно у 1,5% и 2,4% больных [131]. Сох и соавт. [212] наблюдали при приеме такролимуса симптомы вирусной инфекции Эпштейн-Барр у 37,8% детей до 5 лет (преимущественно серонегативных к ВЭБ) после трансплантации печени, а ПТЛЗ – у 18,9%, в то время как на фоне терапии циклоспорином частота ВЭБ инфекции и ПТЛЗ составляла лишь 13,2% и 2,9% ($p < 0,02$).

В исследовании R. Shapiro и соавт. [213], включавшем 69 детей после пересадки почки в период 1989–1995 гг., общая частота ПТЛЗ при приеме такролимуса была 10%, причем, если принимать в расчет только последние 40 трансплантаций, то ПТЛЗ наблюдались лишь у 2 детей (5%). Терапия ПТЛЗ была успешной у всех пациентов, случаев утраты трансплантата не было. По мнению авторов частота ПТЛЗ снижается с увеличением опыта использования такролимуса и уменьшением риска избыточной иммуносупрессии [213]. В европейском многоцентровом педиатрическом исследовании за первые 6 мес. После трансплантации ПТЛЗ было отмечено только у 1 ребенка, принимавшего такролимус, и у 2 детей, лечившихся микроэмульсией циклоспорина [173]. Согласно опыту Питсбургского университета, из 1316 пациентов, перенес-

ших пересадку почки, ПТЛЗ встречались среди взрослых в 1,2% (15/1217), а среди детей – в 10,1% (10/99) случаев. Частота ПТЛЗ среди детей после пересадки почки снижалась по мере накопления опыта работы с такролимусом (с 17% в 1989–1992 гг. до 4% в 1993–1996 гг.) [214,215].

5.8. Косметические осложнения

Косметические осложнения могут не только ухудшать качество жизни пациентов, но и увеличивать риск отторжения трансплантата вследствие несоблюдения больными режимов иммуносупрессии. Это особенно актуально для пациентов молодого возраста. Существует немало данных, полученных в ходе европейских и американских многоцентровых исследований, свидетельствующих о том, что использование такролимуса ассоциируется с более низким риском косметических осложнений (акне, гиперплазия десен, гирсутизм), по сравнению с циклоспорином как в оригинальной, так и в микроэмульсионной лекарственной формах [26,130,131,173,174].

Например, в европейском многоцентровом педиатрическом исследовании косметические осложнения на фоне лечения такролимусом и микроэмульсионным циклоспорином (с 13 по 24 месяц) составили 3,0% и 14% [173].

В европейском многоцентровом исследовании у взрослых после пересадки почки гиперплазия десен (4,1%) и гирсутизм (4,4%) встречались только среди больных, получавших микроэмульсионный циклоспорин [26]. Единственным свойственным такролимусу косметическим осложнением была алопеция, которая в этом исследовании наблюдалась у 1,4 % больных [26].

В недавнем европейском исследовании, посвященном переводу с терапии циклоспорином на такролимус, было показано, что гиперплазия десен и гипертрихоз существенно регрессируют или полностью исчезают у 73% и 72% больных соответственно через 6 месяцев после конверсии [188].

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Kino T, Hatanaka H, Hashimoto H et al. FK-506, a novel immunosuppressant isolated from a *Streptomyces*. I. Fermentation, isolation, and physico-chemical and biological characteristics. *J Antibiot* 1987;40:1249–55. Kino T, Hatanaka H, Miyata S et al. FK-506, a novel immunosuppressant isolated from a *Streptomyces*. II. Immunosuppressive effect of FK-506 in vitro. *J Antibiot* 1987; 40:1256–1265
2. Goto T, Kino T, Hatanaka H et al. FK506: historical perspectives. *Transplant Proc* 1991;23:2713–2717
3. Sawada S, Suzuki G, Kawase Y, Takaku F. Novel immunosuppressive agent, FK506. In vitro effects on the cloned T cell activation. *J Immunol* 1987;139:1797–1803
4. Peters DH, Fitton A, Plosker GL, Faulds D. Tacrolimus: a review of its pharmacology, and therapeutic potential in hepatic and renal transplantation. *Drugs* 1993;46:746–794
5. Inamura N, Nakahara K, Kino T et al. Prolongation of skin

- allograft survival in rats by a novel immunosuppressive agent, FK506. *Transplantation* 1988;45:206–209
6. Ochiai T, Nagata M, Nakajima K et al. Studies of the effects of FK506 on renal allografting in the beagle dog. *Transplantation* 1987;44:729–733
 7. Ochiai T, Gunji Y, Sakamoto K et al. Optimal serum trough levels of FK506 in renal allotransplantation of the beagle dog. *Transplantation* 1989;48:189–193
 8. Ochiai T, Sakamoto K, Gunji Y et al. Effects of combination treatment with FK506 and cyclosporine on survival time and vascular changes in renal-allograft-recipient dogs. *Transplantation* 1989;48:193–197
 9. Todo S, Ueda Y, Demetris JA et al. Immunosuppression of canine, monkey, and baboon allografts by FK 506: with special reference to synergism with other drugs and to tolerance induction. *Surgery* 1988;104:239–249
 10. Todo S, Demetris A, Ueda Y et al. Renal transplantation in baboons under FK 506. *Surgery* 1989;106:444–451
 11. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS (eds). Cellular and Molecular Immunology. 4th edn. Philadelphia: WB Saunders Company, 2000
 12. Sompayrac L. How the Immune System Works. Oxford: Blackwell Science, 1999
 13. Tocci MJ, Matkovich DA, Collier KA et al. The immunosuppressant FK506 selectively inhibits expression of early T cell activation genes. *J Immunol* 1989;143:718–726
 14. Schreiber SL, Crabtree GR. The mechanism of action of cyclosporin A and FK506. *Immunol Today* 1992;13:136–142
 15. Fruman DA, Klee CB, Bierer BE, Burakoff SJ. Calcineurin phosphatase activity in T lymphocytes
 16. Schreiber SL, Liu J, Albers MW et al. Immunophilin-ligand complexes as probes of intracellular signaling pathways. *Transplant Proc* 1991;23:2839–2844
 17. Liu J. FK506 and cyclosporin, molecular probes for studying intracellular signal transduction. *Immunol Today* 1993;14:290–295
 18. Flanagan WM, Cortes B, Bram RJ, Crabtree GR. Nuclear association of a T-cell transcription factor blocked by FK 506 and cyclosporin A. *Nature* 1991;352:803–807
 19. Adams DH, Liu Q. FK506 inhibits human lymphocyte migration and the production of lymphocyte chemotactic factors in liver allograft recipients. *Hepatology* 1996;23:1476–1483
 20. Wada T, Tomosugi N, Kobayashi K et al. Appearance of interleukin-8 in the urine predicts acute rejection of renal transplantation (letter). *Nephrol Dial Transplant* 1994;9:874–875
 21. Thomson AW, Bonham CA, Zeevi A. Mode of action of tacrolimus (FK506): molecular and cellular mechanisms. *Ther Drug Monit* 1995;17:584–591
 22. Plosker GL, Foster RH. Tacrolimus. A further update of its pharmacology and therapeutic use in the management of organ transplantation. *Drugs* 2000;59:323–389
 23. Migita K, Eguchi K, Kawabe Y et al. FK506 augments activation-induced programmed cell death of T lymphocytes in vivo. *J Clin Invest* 1995;96:727–732
 24. Migita K, Eguchi K, Kawabe Y et al. FK506 potentiates steroid induced T cell apoptosis. *Transplantation* 1997;64:1365–1369
 25. Migita K, Eguchi K. FK 506-mediated T-cell apoptosis induction. *Transplant Proc* 2001;33: 2292–2293
 26. Margreiter R for the European Tacrolimus vs Cyclosporin Microemulsion Renal Transplantation Study Group. Efficacy and safety of tacrolimus compared with ciclosporin microemulsion in renal transplantation: a randomised multicentre study. *Lancet* 2002;359:741–746
 27. Del Castillo D, for the European Tacrolimus vs Cyclosporin-Microemulsion (CyA-ME) Renal Transplantation Study Group. Analysis of primary and recurrent rejection following renal transplantation in a large, comparative, multicentre trial. *Transplant Proc* 2001;33:1259–1261
 28. Reed EF, Hong B, Ho E et al. Monitoring of soluble HLA alloantigens and anti-HLA antibodies identifies heart allograft recipients at risk of transplant associated coronary artery disease. *Transplantation* 1996;61:566–572
 29. Dunn MJ, Crisp S, Rose ML et al. Anti-endothelial antibodies and coronary artery disease after cardiac transplantation. *Lancet* 1992;339:1566–1570
 30. Wheeler C, Collins A, Dunn MJ et al. Identification of anti-endothelial cell antibodies associated with accelerated coronary artery disease after cardiac transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1994;14:188–197
 31. Kobashigawa JA, Takemoto S, Wener L et al. Development of circulating IgG class I antibodies is associated with increase in intimal thickness by intravascular ultrasound (IVUS) after heart transplant. *J Heart Lung Transplant* 2000;19:81–82 (Abstract 186)
 32. Jurcevic S, Dunn MJ, Crisp S et al. A new enzyme-linked immunosorbent assay to measure anti-endothelial antibodies after cardiac transplantation demonstrates greater inhibition of antibody formation by tacrolimus compared with cyclosporine. *Transplantation* 1998;65:1197–1202
 33. Kobashigawa JA, Moriguchi JD, Takemoto S et al. First year results of a randomized trial of tacrolimus vs Neoral cyclosporine in heart transplant patients. *J Heart Lung Transplant* 2000;19:47 (Abstract 37)
 34. Mayer AD for the European Tacrolimus Multicentre Renal Study Group. Chronic rejection and graft half-life: five-year follow-up of the European tacrolimus multicenter renal study. *Transplant Proc* 2002;34:1491–1492
 35. Jinquan T, Larsen CG, Gesser B et al. Human-IL-10 is a chemoattractant for CD8+ T-lymphocytes and inhibitor of IL-8 induced CD4+ lymphocyte migration. *J Immunol* 1993;151:4545–4551
 36. Hutchinson IV, Bagnall W, Bryce P et al. Differences in the mode of action of cyclosporine and FK 506. *Transplant Proc* 1998;30:959–960
 37. Brogan LJ, Geraghty PJ, Hutchinson IV. Interaction of immunophilin-binding immunosuppressives with the glucocorticoid receptor signaling pathway: implications for transplantation. *Transplant Proc* 2001;33:2417–2419
 38. Chen ZK, Cobbold SP, Waldmann H, Metcalfe S. Amplification of natural regulatory immune mechanisms for transplantation tolerance. *Transplantation* 1996;62:1200–1206
 39. Grace SS, Barradas MA, Mikhailidis DP et al. Cyclosporine A enhances platelet aggregation. *Kidney Int* 1987;32:889–895
 40. Muraki T, Sasaki Y, Gidding JC et al. Antithrombotic effect of FK506 versus prothrombotic effect of cyclosporine in vivo. *Transplantation* 1995;60:308–310
 41. Freudenberg R, Alexis J, Gass A et al. Antithrombotic effect of FK506 vs cyclosporine in cardiac transplant recipients: potential implications in transplant arteriopathy. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:1228–1231
 42. Hutchinson IV. The role of transforming growth factor beta in transplant rejection. *Transplant Proc* 1999;31[Suppl. 7A]:9S–13S
 43. Branton MH, Kopp JB. TGF- β and fibrosis. *Microbes Infect* 1999;1:1349–1365
 44. McCaffrey TA. TGF- β s and TGF- β receptors in atherosclerosis. *Cytokine Growth Factor Rev* 2000;11:103–114
 45. Shin GT, Khanna A, Ding R et al. In vivo expression of transforming growth factor- β 1 in humans: stimulation by cyclosporine. *Transplantation* 1998;65:313–318
 46. Mohamed MA, Robertson H, Booth TA et al. TGF- β expression in renal transplant biopsies: a comparative study between cyclosporin-A and tacrolimus. *Transplantation* 2000;69:1002–1005
 47. El-Gamel A, Awad M, Yonan M et al. Does cyclosporin promote the secretion of transforming growth factor- β 1 following pulmonary transplantation? *Transplant Proc* 1998;30:1525–1527
 48. Wang T, Donahoe PK, Zervos AS. Specific interaction of type I receptors of the TGF- β family with the immunophilin FKBP-12. *Science* 1994;265:674–676
 49. Baan CC, van Riemsdijk IC, Balk AHMM et al. Conversion from cyclosporin A to tacrolimus is safe and decreases blood pressure, cholesterol levels and TGF- β 1 type I receptor expression. *Clin Transplant* 2001;15:276–283

50. Coupes BM, Williams S, Roberts ISD et al. Differential expression of TGF- β during immunosuppression with tacrolimus and cyclosporin (CsA) in human renal allograft recipients. *J Am Soc Nephrol* 1999;10:725A (Abstract A3668)
51. Baboolal K, Jones GV, Janezic AL et al. Molecular and structural consequences of early renal allograft injury. *Kidney Int* 2002;61:686–696
52. Jette L, Beaulieu E, Leclerc JM, Beliveau R. Cyclosporin A treatment induces overexpression of p-glycoprotein in the kidney and other tissues. *Am J Physiol* 1996;270:F756–65
53. Hauser IA, Koziolok M, Hopfer U, Thevenod F. Therapeutic concentrations of cyclosporine A, but not FK506, increase p-glycoprotein expression in endothelial and renal tubule cells. *Kidney Int* 1998;54:1139–1149
54. Lo A, Burckart GJ. P-glycoprotein and drug therapy in organ transplantation. *J Clin Pharmacol* 1999;39:995–1005
55. Zanker B, Barth C, Stachowski J et al. Multidrug resistance gene MDR1 expression: a gene transfection in vitro model and clinical analysis in cyclosporine-treated patients rejecting their renal grafts. *Transplant Proc* 1997;29:1507–1508
56. Kino T, Hatanaka H, Hashimoto M et al. FK-506, a novel immunosuppressant isolated from a Streptomyces. I. Fermentation, isolation, and physico-chemical and biological characteristics. *J Antibiot* 1987;40:1249–1255
57. Tanaka H, Kuroda A, Marusawa H et al. Physicochemical properties of FK-506, a novel immunosuppressant isolated from Streptomyces tsukubaensis. *Transplant Proc* 1987;19 [Suppl. 6]:11–16
58. Honbo T, Kobayashi M, Hane K et al. The oral dosage form of FK-506. *Transplant Proc* 1987;19[Suppl. 6]:17–22
59. Venkataramanan R, Jain A, Warty VS et al. Pharmacokinetics of FK506 in transplant patients. *Transplant Proc* 1991;23:2736–2740
60. Undre NA, van Hooff J, Christiaans M et al. Pharmacokinetics of FK 506 and mycophenolic acid after the administration of a FK 506-based regimen in combination with mycophenolate mofetil in kidney transplantation. *Transplant Proc* 1998;30:1299–1302
61. Webb NJA, Stevenson PJ, Lewis MA et al. Pharmacokinetics of tacrolimus in paediatric renal transplant recipients. *Transplant Proc* 2002;34:1948–1950
62. Moller A, Iwasaki K, Kawamura A et al. The disposition of ¹⁴C-labeled tacrolimus after intravenous and oral administration in healthy human subjects. *Drug Metab Dispos* 1999;27:633–636
63. Mekki Q, Lee C, Aweeka F et al. Pharmacokinetics of tacrolimus (FK506) in kidney transplant patients. *Clin Pharmacol Ther* 1993;53:238 (Abstract PIII-130)
64. Mekki Q, Lee C, Carrier S et al. The effect of food on oral bioavailability of tacrolimus (FK506) in liver transplant patients. *Clin Pharmacol Ther* 1993;53:229 (Abstract PIII-92)
65. Bekersky I, Dressler D, Mekki QA. Effect of low- and high-fat meals on tacrolimus absorption following 5mg single oral doses to healthy human subjects. *Clin Pharmacol* 2001;41:176–182
66. Duijnhoven EM, Christiaans MH, Boots JM, van Hooff JP. Evidence that fasting does not significantly affect trough levels of tacrolimus in stable renal transplant recipients. *Transplant Proc* 2002 Aug;34(5):1723–1725
67. Christiaans M, van Duijnhoven E, Beysens T et al. Effect of breakfast on the oral bioavailability of tacrolimus and changes in pharmacokinetics at different times posttransplant in renal transplant recipients. *Transplant Proc* 1998 Jun;30(4):1271–1273
68. Venkataramanan R, Jain A, Cadoff E et al. Pharmacokinetics of FK 506: preclinical and clinical studies. *Transplant Proc* 1990;22[Suppl. 1]:52–56
69. Beysens AJ, Wijnen RMH, Beuman GH et al. FK506: monitoring in plasma or whole blood? *Transplant Proc* 1991;23:2745–2747
70. Machida M, Takahara S, Ishibashi M et al. Effect of temperature and hematocrit on plasma concentration of FK 506. *Transplant Proc* 1991; 23:2753–2754
71. Kolars C, Merion R, Awani WM, Watkins PB. First pass metabolism of cyclosporin by the gut. *Lancet* 1991;338:1488–1490
72. Lampen A, Christians U, Guengerich FP et al. Metabolism of the immunosuppressant tacrolimus in the small intestine: cytochrome P450, drug interactions, and interindividual variability. *Drug Metab Dispos* 1995;23: pp. 1315–1324
73. Lemahieu WP, Maes BD, Verbeke K, Vanrenterghem YF. Alterations of CYP3A4 and P-glycoprotein activity in vivo with time in renal graft recipients. *Kidney International* 2004;66(1):433–440
74. Karanam BV, Vincent SH, Lee Chiu SH. *Drug Metab Dispos* 1994;811
75. Iwasaki K, Shiraga T, Nagase K et al. Isolation, identification and biological activities of oxidative metabolites of FK506, a potent immunosuppressive macrolide lactone. *Drug Metab Dispos* 1993;21:971–977
76. Iwasaki K, Shiraga T, Matsuda H et al. Further metabolism of FK506 (tacrolimus). Identification and biological activities of the metabolites oxidized at multiple sites of FK506. *Drug Metab Dispos* 1995;23:28–34
77. Zhao Y, Song M, Guan D et al. Genetic polymorphisms of CYP3A5 genes and concentration of the cyclosporine and tacrolimus. *Transplantation Proceedings* 2005;37(1):178–181
78. Manzanares C. Therapeutic drug monitoring of tacrolimus: a moving matter. *Therapie* 2002;57(2):133–136
79. Lee C, Jusko W, Schaefer M et al. Pharmacokinetics of tacrolimus (FK506) in liver transplant patients. *Clin Pharmacol Ther* 1993;53:181 (Abstract PI-46)
80. Undre NA, Schaefer A, and the European Tacrolimus Multicentre Renal Study Group. Factors affecting the pharmacokinetics of tacrolimus in the first year after renal transplantation. *Transplant Proc* 1998;30:1261–1263
81. Jain AB, Fung JJ, Tzakis AG et al. Comparative study of cyclosporine and FK 506 dosage requirements in adult and pediatric orthotopic liver transplant patients. *Transplant Proc* 1991;23:2763–2766
82. Sewing K-Fr. Pharmacokinetics, dosing principles and blood level monitoring of FK506. *Transplant Proc* 1994;26:3267–3269
83. Mathis AS, Shah N, Friedman GS et al. Pharmacokinetic interaction of chloramphenicol with calcineurin inhibitors. *Am J Transplant* 2001;1[Suppl. 1]:140 (Abstract 18)
84. Vasquez E, Pollak R, Benedetti E. Clotrimazole increases tacrolimus blood levels: a drug interaction in kidney transplant patients. *Clin Transplant* 2001;15:95–99
85. Manez R, Martin M, Venkataramanan R et al. Fluconazole therapy in transplant recipients receiving FK506. *Transplantation* 1994;57:1521–1523
86. Wolter K, Wagner K, Philipp T, Fritschka E. Interaction between FK 506 and clarithromycin in a renal transplant patient. *Eur J Clin Pharmacol* 1994;47:207–208
87. McCauley J, Fung J, Jain A, Todo S, Starzl TE. The effects of FK 506 on renal function after liver transplantation. *Transplant Proc* 1990;22[Suppl. 1]:17–20
88. Shapiro R, Venkataramanan R, Warty VS et al. FK 506 interaction with danazol. *Lancet* 1993;341:1344–1345
89. Hebert MF, Lam AY. Diltiazem increases tacrolimus concentrations. *Ann Pharmacother* 1999;33:680–682
90. Furlan V, Perello L, Jacquemin E et al. Interactions between FK506 and rifampicin or erythromycin in pediatric liver recipients. *Transplantation* 1995;59:1217–1218
91. Vincent I, Furlan V, Debray D et al. Effects of antifungal agents on the pharmacokinetics and nephrotoxicity of FK 506 in paediatric liver transplant recipients. 35th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco, California, USA, 1995
92. Thompson PA, Mosley CA. Tacrolimus-phenytoin interaction. *Ann Pharmacother* 1996;30:544
93. Bolley R, Zuelke C, Kammerl M et al. Tacrolimus-induced nephrotoxicity unmasked by induction of the CYP3A4 system with St John's wort. *Transplantation* 2002;73:1009
94. Breidenbach T, Kliem V, Burg M et al. Profound drop of cyclosporin A whole blood trough levels caused by St. John's wort (*Hypericum perforatum*). *Transplantation* 2000; 69: 2229–2230
95. Hariharan S, Tomlanovich SJ, Filo RS et al.

- Pharmacokinetics (PK) and tolerability of tacrolimus and sirolimus combination therapy in stable renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2001; 1[Suppl. 1]:406 (Abstract 1074)
96. Duijnhoven EM, Boots JM, Christiaans MH et al. Increase in tacrolimus trough levels after steroid withdrawal. *Transpl Int* 2003;16(10):721-725
97. Lemahieu WP, Maes BD, Verbeke K, Vanrenterghem Y. Impact of gastric acid suppressants on cytochrome P450 3A4 and P-glycoprotein: Consequences for FK 506 assimilation. *Kidney international* 2005;67(3):1152-1160
98. Iwasaki K, Miyazaki Y, Teramura Y et al. Binding of tacrolimus (FK506) with human plasma proteins re-evaluation and effect of mycophenolic acid. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1996;94:251-257
99. Undre NA. Pharmacokinetics of tacrolimus-based combination therapies. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18[Suppl. 1]: 12-15
100. Undre NA, van Hooff J, Christiaans M et al. Pharmacokinetics (PK) of tacrolimus (TAC) and rapamycin (RAPA) following the administration of different doses of RAPA in combination with TAC in kidney transplantation. 2nd International Congress on Immunosuppression, San Diego, California, USA, 2001. Abstract P-66
101. Schubert M, Venkataramanan R, Holt DW et al. Pharmacokinetics of sirolimus and tacrolimus in pediatric transplant patients. *Am J Transplant* 2004; 4: 767-773
102. Schachter AD, Benfield MR, Wyatt RJ et al. Sirolimus pharmacokinetics in pediatric renal transplant recipients receiving calcineurin inhibitor co-therapy. *Pediatr Transplant* 2006; 10: 914-919
103. Kovarik JM, Kalbag J, Figueiredo J et al. Differential influence of two cyclosporine formulations on everolimus pharmacokinetics: a clinically relevant pharmacokinetic interaction. *J Clin Pharmacol* 2002;42:95
104. Kovarik JM, Curtis JJ, Hricik DE et al. Everolimus and calcineurin inhibitors: different pharmacokinetic drug interaction with tacrolimus vs cyclosporine in kidney transplant patients. *Transplantation* 2006; 82 (1)[Suppl 2]: 867
105. Kovarik JM, Curtis JJ, Hricik DE et al. Differential pharmacokinetic interaction of tacrolimus and cyclosporine on everolimus. *Transplant Proc* 2006; 38: 3456-3458
106. Chan L, Cibrik D, Munir L, Shaw LM. for the CRAD001AUS Study group. No Pharmacokinetic Interaction Evident In De Novo Kidney Transplant Recipients Treated With Everolimus, basiliximab and Reduced Tacrolimus Exposure For 6 Months. WTC2006—The World Transplant Congress, 22-27 July 2006, Boston, USA – Web Site (2006), p. 487, Abstr. 1246
107. Shaw LM, Holt DW, Keown P et al. Current opinions on therapeutic drug monitoring of immunosuppressive drugs. *Clin Ther* 1999;21:1632-1652
108. Undre N, van Hooff J, Christiaans M et al. Low systemic exposure to tacrolimus correlates with acute rejection. *Transplant Proc* 1999;31:296-298
109. Undre N, Stevenson P, Schafer A. Pharmacokinetics of tacrolimus: clinically relevant aspects. *Transplant Proc* 1999;31[Suppl. 7A]:21S-24S
110. Uhlmann D, Pridoehl O, Rhein T et al. Conversion to low-dose tacrolimus / sirolimus or sirolimus monotherapy after liver transplantation and calcineurin inhibitor induced nephrotoxicity results in stabilization or improvement of kidney function – a prospective study. *American Journal of Transplantation* 2005; 5[Suppl. 11]: 472, Abstr. 1238
111. Kuypers D, Evenepoel P, Maes B et al. The use of an anti-CD25 monoclonal antibody and mycophenolate mofetil enables the use of a low-dose tacrolimus and early withdrawal of steroids in renal transplant recipients. *Clinical Transplantation* 2003;17(3): 234-241
112. El-Dahshan KF, Bakr MA, Donia AF et al. Co-administration of ketoconazole to tacrolimus-treated kidney transplant recipients: a prospective randomized study. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19:1613-1617
113. Taylor PJ, Jones A, Balderson GA et al. Sensitive, specific quantitative analysis of tacrolimus (FK506) in blood by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 1996;42:279-285
114. Tredger JM. Tacrolimus monitoring. Syva Drug Monitor. *The Journal of Dade Behring Ltd* 2000;3:60-62
115. Grenier FC, J Bergmann LM, S Morrison LM et al. A whole blood FK506 assay for the IMx analyzer. *Transplant Proc* 1991;23: 2748-2749
116. Cogill JL, Taylor PJ, Westley IS et al. Evaluation of the tacrolimus II microparticle enzyme immunoassay (MEIA II) in liver and renal transplant recipients. *Clin Chem* 1998;44: 1942-1946
117. Braun F, Schutz E, Christians U et al. Pitfalls in monitoring tacrolimus (FK506). *Ther Drug Monit* 1997;19: 628-631
118. Jusko WJ, Thomson AW, Fung J et al. Consensus document: therapeutic monitoring of tacrolimus (FK-506). *Ther Drug Monit* 1995;17:606
119. Staatz CE, Taylor PJ, Tett SE. Comparison of an ELISA and an LC/MS/MS method for measuring tacrolimus concentrations and making dosage decisions in transplant recipients. *Therapeutic Drug Monitoring* 2002;24(5): 607-615
120. Cannon RD, Wong SHY, Harihan S et al. Clinical efficacy of the Abbott Tacrolimus II assay for the IMx. *Ann Clin Lab Sci* 1999;4: 299-302
121. Salm P, Rutherford DM, Taylor PJ et al. Evaluation of microparticle enzyme immunoassay against HPLC-mass spectrometry for the determination of whole-blood Tacrolimus in heart- and lung-transplant recipients. *Clin Biochem* 2000;33: 557-562
122. Poquette MA, Lensmeyer GL, Doran TC. Effective use of liquid chromatography-mass spectrometry (LC/MS) in the routine clinical laboratory for monitoring sirolimus, tacrolimus, and cyclosporine. *Therapeutic drug monitoring* 2005;27(2): 144-150
123. Chusney GD, Borrows RJ, Cairns TDH et al. Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry: A Precise and Specific Method for Routine Therapeutic Monitoring of Tacrolimus. 7th Annual Congress of The British Transplantation Society, 28 – 30 April 2004, The International Convention Centre, Birmingham, UK (2004), p. 89, Abstr. 036
124. Borrows R, Chusney G, Loucaidou M et al. Tacrolimus Monitoring in Renal Transplantation: A Comparison Between High-Performance Liquid Chromatography and Immunoassay. *Transplantation Proceedings* 2005;37(4): 1733-1735
125. Borrows R, Chusney G, Loucaidou M et al. Clinical outcomes of renal transplantation using liquid chromatographic monitoring of tacrolimus. *Therapeutic Drug Monitoring* 2006;28(2): 269-273
126. Jusko WJ, Piekoszewski W, Klintmalm GB et al. Pharmacokinetics of tacrolimus in liver transplant patients. *Clin Pharmacol Ther* 1995; 57: 281-290
127. Pereira LM, de Castro MCR, Ventura CG et al. C2 A single-point strategy for monitoring of tacrolimus, mycophenolic acid and cyclosporine in kidney transplantation. WTC2006—The World Transplant Congress, 22-27 July 2006, Boston, USA – Web Site (2006), p. 346, Abstr. 827
128. Uchida K, Tominaga Y, Haba T et al. Investigation of the optimal monitoring of mycophenolate mofetil and tacrolimus in renal transplant immunosuppressive therapy: is there really no problem with trough monitoring? *American J Transplant* 2004;4[Suppl. 8]: 237, Abstr. 287
129. Pereira L, Castro M, Mattos R et al. C2 monitoring for tacrolimus, MPA and CYA. A single approach for therapeutic drug monitoring. *Transplantation* 2004;78[Suppl.2]: 279, Abstr. P244
130. Mayer AD, Dmitrevski J, Squifflet J-P et al. Multicenter randomized trial comparing tacrolimus (FK-506) and cyclosporine in the prevention of renal allograft rejection. *Transplantation* 1997;64:436-443
131. Pirsch JD, Miller J, Deierhoi MH, Vincenti F, Filo RS for the FK-506 Kidney Transplant Study Group: A comparison of tacrolimus (FK-506) and cyclosporine for immunosuppression after cadaveric renal transplantation. *Transplantation* 1997;63:977-983

132. Fung JJ, Alessiani M, Abu-Emagd K et al. Adverse effects associated with the use of FK-506. *Transplant Proc* 1991;23:3105-3108
133. Yamada K, Sugisaki Y, Akimoto M, Yamanaka N. FK-506-induced juxtaglomerular apparatus hyperplasia and tubular damage in rat kidney – morphologic and biologic analysis. *Transplant Proc* 1992;24:1396-1398
134. Moutabarrik A, Ishibashi M, Fukunaga M et al. FK-506-induced kidney tubular cell injury. *Transplantation* 1992;54:1041-1047
135. Randhawa PS, Shapiro R, Jordan ML et al. The histopathological changes associated with allograft rejection and drug toxicity in renal transplant recipients maintained on FK506. *Am J Surg Pathol* 1993;17:60-68
136. Bennett WM, Burdmann EA, Andoh TF et al. Nephrotoxicity of immunosuppressive drugs. *Nephrol Dial Transplant* 1994;9[Suppl. 4]:141-145
137. Martin MF. Editorial: nephrotoxic effects of immunosuppression. *Mayo Clin Proc* 1994;69:191-192
138. McCauley J. The nephrotoxicity of FK-506 as compared with cyclosporine. *Nephrol Hypertens* 1993;2:662-669
139. McCauley J, Takaya S, Fung J et al. The question of FK506 nephrotoxicity after liver transplantation. *Transplant Proc* 1991;23:1444-1447
140. Textor SC, Wiesner R, Wilson DJ et al. Systemic and renal hemodynamic differences between FK506 and cyclosporine in liver transplant recipients. *Transplantation* 1993;55:1332-1339
141. Tarantino A. Rejection and other renal complications. In: Kahan BD, Ponticelli C, editors. *Principles and Practice of Renal Transplantation*. London: Martin Dunitz Ltd, 2000. p. 481-524
142. Devlin J, Williams R, Neuhaus P et al. Renal complications and development of hypertension in the European study of FK-506 and cyclosporin in primary liver transplant recipients. *Transplant Int* 1994;[Suppl 7]:22-26
143. Mayer AD for the European Tacrolimus Multicentre Renal Study Group. Four-year follow-up of the European tacrolimus multicentre renal study. *Transplant Proc* 1999;31[Suppl. 7A]: 27S-28S
144. Vincenti F, Jensik SC, Filo RS et al. A long-term comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine in kidney transplantation: evidence for improved allograft survival at five years. *Transplantation* 2002;73:775-782
145. Montagnino G, Kramer BK, Arias M for the European Tacrolimus vs. Cyclosporin Microemulsion Renal Transplantation Study Group. Efficacy and safety of tacrolimus compared with cyclosporine microemulsion in kidney transplantation: twelve-month follow-up. *Transplant Proc* 2002;34:1635-1637
146. Ruiz San Millan JC, Arias M, Kraemer BK, Montagnino G for The European Tacrolimus vs Cyclosporin Renal Transplantation Study Group. Tacrolimus versus cyclosporin microemulsion in renal transplantation: the two year follow-up results. *Transplantation* 2002;74:59 (Abstract 138)
147. Filler G, Trompeter R, Webb NJA et al. One-year glomerular filtration rate predicts graft survival in pediatric renal recipients: a randomised trial of tacrolimus vs cyclosporine microemulsion. *Transplant Proc* 2002;34:1935-1938
148. Jurewicz WA. Tacrolimus versus Cyclosporin immunosuppression: long-term outcome in renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18[Suppl. 1]: 7-11
149. Squifflet J-P, Backman L, Claesson K et al. Dose optimization of mycophenolate mofetil when administered with a low dose of tacrolimus in cadaveric renal transplant recipients. *Transplantation* 2002;72:63-69
150. Miller J, Mendez R, Pirsch JD, Jensik SC, for the FK506/MMF Dose-ranging Kidney Transplant Study Group. Safety and efficacy of tacrolimus in combination with mycophenolate mofetil (MMF) in cadaveric renal transplant recipients. *Transplantation* 2000;69:875-880
151. Wlodarczyk Z, van Hooff JP, Vanrenterghem Y et al. Tacrolimus in combination with various dosages of rapamycin in renal recipients: safety and efficacy of the first 6-month multicenter randomised trial. *Transplantation* 2002;74[Suppl.]:187 (Abstract 554)
152. Kliem V, Schaumann D, Ehlerding G et al. Long-term results after primary successful FK-506 treatment of steroid or OKT3-resistant rejection in renal transplant recipients. *Transplant Proc* 1997;29:2955-2957
153. Kliem V, Radermacher J, Hiss M et al. Conversion to tacrolimus for acute corticosteroid- and antibody-resistant rejection following kidney transplantation. *Transplant Proc* 1999; 31: 37S-40S
154. Platz KP, Muller AR, Blumhardt G et al. Nephrotoxicity following orthotopic liver transplantation. *Transplantation* 1994;58:170-178
155. Singh N, Gayowski T, Marino IR. Hemolytic uremic syndrome in solid-organ transplant recipients. *Transplant Int* 1996;9:68-75
156. Schmidt RJ, Venkat KK, Dumler F. Hemolytic-uremic syndrome in a renal transplant recipient on FK-506 immunosuppression. *Transplant Proc* 1991;23:3156-3157
157. Kaufman DB, Kaplan B, Kanwar YS et al. The successful use of tacrolimus (FK-506) in a pancreas/kidney transplant recipient with recurrent cyclosporine-associated hemolytic uremic syndrome. *Transplantation* 1995;59:1737-1739
158. Abdalla AH, Al-Sulaiman MH, Al-Khader AA. FK-506 as an alternative in cyclosporin-induced hemolytic uremic syndrome in a kidney transplant recipient. *Transplant Int* 1994;7:382-384
159. Starzl TE. *Experience in renal transplantation*. Philadelphia: Saunders, 1964, p. 117
160. Boudreaux JP, McHugh L, Canafax DM et al. The impact of cyclosporine and combination immunosuppression on the incidence of posttransplant diabetes in renal allograft recipients. *Transplantation* 1987;44:376-381
161. Roth D, Milgrom M, Esquenazi V et al. Posttransplant hyperglycemia. Increased incidence in cyclosporine-treated renal allograft recipients. *Transplantation* 1989;47:278-281
162. Krentz AJ, Dmitrevski J, Mayer D, Nattrass M. Effects of immunosuppressive agents on glucose metabolism. *Clin Immunother* 1995;4:103-123
163. Jindal RM, Sidner RA, Milgrom ML. Post-transplant diabetes mellitus. The role of immunosuppression. *Drug Saf* 1997;16:242-257
164. Mihatsch MJ, Kyo M, Morozumi K et al. The side effects of cyclosporine-A and tacrolimus. *Clin Nephrol* 1998;49: 356-363
165. Drachenberg CB, Klassen DK, Weir MR et al. Islet cell damage associated with tacrolimus and cyclosporine: Morphological features in pancreas allograft biopsies and clinical correlation. *Transplantation* 1999;68: 396-402
166. Knoll GA, Bell RC. Tacrolimus versus cyclosporin for immunosuppression in renal transplantation: Meta-analysis of randomised trials. *BMJ* 1999;318(7191): 1104-1107
167. Weir MR, Fink JC. Risk for posttransplant diabetes mellitus with current immunosuppressive medications. *Am J Kidney Dis* 1999;34:1-13
168. World Health Organization. Diabetes Mellitus. Report of a WHO Study Group. World Health Organization Technical Report Series 727, Geneva, 1985
169. Cavaille-Coll MW, Elashoff MR. Commentary on a comparison of tacrolimus and cyclosporine for immunosuppression after cadaveric renal transplantation. *Transplantation* 1998;65:142-145
170. Duijnhoven EM, Boots JMM, Christiaans MHL et al. Influence of tacrolimus on glucose metabolism before and after renal transplantation: A prospective study. *J Am Soc Nephrology* 2001;12: 583-588
171. Nam JH, Mun JI, Kim SI et al. b-cell dysfunction rather than insulin resistance is the main contributing factor for development of postrenal transplantation diabetes mellitus. *Transplantation* 2001;71:1417-1423
172. Schwimmer J, Zand MS. Management of diabetes mellitus after solid organ transplantation. *Graft* 2001;4:256-65
173. Trompeter R, Filler G, Webb NJA et al. Randomized

- trial of tacrolimus versus cyclosporine microemulsion in renal transplantation. *Pediatr Nephrol* 2002;17:141–149
174. Kramer B, Montagnino G, Castillo D et al. Efficacy and safety of tacrolimus compared with cyclosporin A microemulsion in renal transplantation: 2 year follow-up results. *Nephrol Dial Transplant* 2005;20:968–973
 175. Hooff JP, Christiaans MHL, van Duijnhoven EM. Evaluating mechanisms of post-transplant diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19[Suppl. 6]: vi8-vi12
 176. Jindal RM, Salmela K, Vanrenterghem Y et al. European Tacrolimus/MMF Transplantation Study Group. Reduction of high cholesterol levels by early withdrawal of steroids from a tacrolimus-based triple regimen. *Am J Transplant* 2002;2[Suppl. 3]:190 (Abstract 206)
 177. Pascual J, van Hooff JP, Salmela K et al. Long-term efficacy and safety of steroid withdrawal in tacrolimus-treated renal transplant recipients: results of a 3-year follow-up. *Am J Transplant* 2004; 4[Suppl. 8]: 576-577, Abstr. 1524
 178. Rostaing L et al. Corticosteroid-free immunosuppression with tacrolimus, mycophenolate mofetil, and daclizumab induction in renal transplantation. *Transplantation* 2005; 79: 807-814
 179. Shapiro R, Jordan M, Scantlebury V et al. FK-506 in clinical kidney transplantation. *Transplant Proc* 1991;23:3056-3067
 180. Schleibner S, Krauss M, Wagner K et al. FK-506 versus cyclosporin in the prevention of renal allograft rejection – European pilot study: six-week results. *Transplant Int* 1995;8:86-90
 181. Laskow DA and FK506 Kidney Transplant Study Group. Hypertension in renal transplant recipients: 2-year results from the FK506 multicenter, randomized comparative trial. The International Congress on Immunosuppression, Orlando, Florida, USA, 1997. Abstract 77
 182. Radermacher J, Meiners M, Bramlage C et al. Pronounced renal vasoconstriction and systemic hypertension by cyclosporine compared to FK-506 in renal transplant patients. *Transplant Int* 1998;11:3-10
 183. Benigni A, Mongi M, Penco N et al. The acute affect of FK-506 and cyclosporine on endothelial function and renal vascular resistance. *Transplantation* 1992;54: 775-780
 184. Jensik SC and the FK 506 Kidney Transplant Study Group. Tacrolimus (FK 506) in kidney transplantation: three-year survival results of the US multicenter, randomized, comparative trial. *Transplant Proc* 1998;30:1216–1218
 185. Claesson K, Mayer AD, Squifflet J-P et al. Lipoprotein patterns in renal transplant patients: a comparison between FK 506 and cyclosporine A patients. *Transplant Proc* 1998; 30:1292–1294
 186. Kramer BK, Zulke C, Kammerl MC et al. Cardiovascular risk factors and estimated risk for CAD in a randomized trial comparing calcineurin inhibitors in renal transplantation. European Tacrolimus vs. Cyclosporine Microemulsion Renal Transplantation Study Group. *Am J Transplant* 2003; 3(8):982-987
 187. Squifflet J-P, Vanrenterghem Y, van Hooff JP et al. and the European Tacrolimus/MMF Transplantation Study Group. Safe withdrawal of corticosteroids or mycophenolate mofetil: results of a large, prospective, multicentre, randomised study. *Transplant Proc* 2002;34:1584–1586
 188. Margreiter R, Pohanka E, Sparacino V et al. Open prospective multicenter study of conversion to tacrolimus therapy in renal transplant patients experiencing ciclosporin-related side-effects. *Transplant International* 2005; 18(7): 816-823
 189. Johnson C, Ahsan N, Gonwa T et al. Randomized trial of tacrolimus (Prograf) in combination with azathioprine or mycophenolate mofetil versus cyclosporine (Neoral) with mycophenolate mofetil after cadaveric kidney transplantation. *Transplantation* 2000; 69:834–841
 190. Charpentier B for the European Tacrolimus vs Microemulsified Cyclosporin Study Group. A three arm study comparing immediate tacrolimus therapy with ATG induction therapy followed by either tacrolimus or cyclosporine in adult renal transplant recipients. *Transplant Proc* 2002;34:1625–1626
 191. Burke GW, Ciancio C, Blomberg BB et al. Randomized trial of three different immunosuppressive regimens to prevent chronic renal allograft rejection. *Transplantation Proceedings* 2002; 34(5): 1610-1611
 192. Atkison P, Joubert G, Barren A et al. Hypertrophic cardiomyopathy associated with tacrolimus in paediatric transplant patients. *Lancet* 1995; 345:894-896
 193. Williams R, Neuhaus P, Bismuth H et al. Two-year data from the European multicentre tacrolimus (FK506) liver study. *Transpl Int* 1996;9[Suppl.1]:10/1–7
 194. Mor E, Sheiner PA, Schwartz ME et al. Reversal of severe FK 506 side effects by conversion to cyclosporine-based immunosuppression. *Transplantation* 1994;58: 380-382
 195. Hytirogiu P, Lee R, Sharma K et al. FK-506 versus cyclosporine as primary immunosuppressive agent for orthotopic liver allograft recipients. *Transplantation* 1993;56:1389-1394
 196. Fisher A, Mor E, Hytiroglou P et al. FK-506 hepatotoxicity in liver allograft recipients. *Transplantation* 1995;59:1631-1632
 197. Lufft V, Kliem V, Behrend M et al. Incidence of Pneumocystis carinii pneumonia after renal transplantation. *Transplantation* 1996;62:421-423
 198. Eberhard OK, Kliem V, Oldhafer K et al. How best to use tacrolimus (FK-506) for treatment of steroid- and OKT3-resistant rejection after renal transplantation. *Transplantation* 1996;61:1345-1349
 199. Jordan ML, Shapiro R, Jensen CWB et al. FK-506 conversion of renal allografts failing cyclosporine immunosuppression. *Transplant Proc* 1991;23:3078-3081
 200. Yang H, Gonwa T, Rice K et al. Sirolimus vs mycophenolate mofetil – results of the first US multicenter kidney transplant study with tacrolimus combination therapy. *Transplantation* 2002;74[Suppl.]:188 (Abstract 557)
 201. Pascual J, Vanrenterghem Y, van Hooff J et al. Safe withdrawal of MMF or steroids following 3 months of tacrolimus triple therapy: results of a large, prospective, multicentre study. *Transplantation* 2002;74:427 (Abstract 2105)
 202. Pappo O, Demetris AJ, Raikow RB, Randhawa PS. Human polyoma virus infection of renal allografts: histopathologic diagnosis, clinical significance, and literature review. *Mod Pathol* 1996;9:105-109
 203. Randhawa PS, Finkelstein S, Scantlebury V et al. Human polyoma virus-associated interstitial nephritis in the allograft kidney. *Transplantation* 1999;67:103-109
 204. Howell DN, Smith SR, Butterly DW et al. Diagnosis and management of BK polyomavirus interstitial nephritis in renal transplant recipients. *Transplantation* 1999;68:1279-1288
 205. Drachenberg CB, Beskow CO, Cangro CB et al. Human polyoma virus in renal allograft biopsies: morphological findings and correlation with urine cytology. *Hum Pathol* 1999;30:970-977
 206. Binet I, Nicleleit V, Hirsch HH et al. Polyomavirus disease under new immunosuppressive drugs: a cause of renal graft dysfunction and graft loss. *Transplantation* 1999;67:918-922
 207. Nicleleit V, Klimkait T, Binet IF et al. Testing for polyomavirus type BK DNA in plasma to identify renal-allograft recipients with viral nephropathy. *N Engl J Med* 2000;342:1309-1315
 208. Mathur VS, Olson JL, Darragh TM, Yen TSB. Polyomavirus-induced interstitial nephritis in two renal transplant recipients: case reports and review of the literature. *Am J Kidney Diseases* 1997;29(5): 754-758
 209. Kim HC, Hwang EA, Kang MJ et al. BK virus infection in kidney transplant recipients. *Transplant Proceedings* 2004;36(7):2113-2115
 210. Brennan DC, Agha I, Bohl DL et al. Incidence of BK with Tacrolimus Versus Cyclosporine and Impact of Preemptive Immunosuppression Reduction. *Am J Transplant* 2005;5(3): 582-594
 211. Ramos E, Drachenberg CB, Papadimitriou JC et al. Clinical course of polyoma virus nephropathy in 67 renal

transplant patients. *J Amer Society Nephrology* 2002;13(8): 2145-2151

212. Cox LK, Lawrence-Miyasaki LS, Garcia-Kennedy R et al. An increased incidence of Epstein-Barr virus infection and lymphoproliferative disorder in young children on FK-506 after liver transplantation. *Transplantation* 1995;59:524-529

213. Shapiro R, Scantlebury VP, Jordan ML et al. FK506 in pediatric kidney transplantation – primary and rescue experience. *Pediatr Nephrol* 1995;9:43–48

214. Shapiro R, Scantlebury VP, Jordan ML et al. Pediatric renal transplantation under tacrolimus-based immunosuppression. *Transplantation* 1999;67:299–303

215. Shapiro R, Nalesnik M, McCauley J et al. Posttransplant lymphoproliferative disorders in adult and pediatric renal transplant patients receiving tacrolimus-based immunosuppression. *Transplantation* 1999;68:1851–1854

Поступила в редакцию 07.05.2007 г.

Принята в печать 07.06.2007 г.

© О.Ю.Подгаецкая, В.П.Валюхов, Б.Г.Лукичев, Б.В.Юрин, 2007
УДК 616.61-008.64-036.92:612.461.267

О.Ю. Подгаецкая, В.П. Валюхов, Б.Г. Лукичев, Б.В. Юрин

О ПРИРОДЕ УРЕМИЧЕСКОГО ЗАПАХА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ. ПЕРСПЕКТИВЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АММИАКА В ВЫДЫХАЕМОМ ВОЗДУХЕ

O.Yu. Podgaetskaya, V.P. Valyukhov, B.G. Lukichev, B.V. Yurin

ON THE NATURE OF UREMIC SMELL IN CHRONIC RENAL FAILURE. PERSPECTIVES OF DETERMINATION OF AMMONIA IN EXHALED AIR

Кафедра пропедевтики внутренних болезней Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербургский государственный политехнический университет, Россия

Ключевые слова: аммиак, уремия, гемодиализ.

Key words: ammonia, uremia, hemodialysis.

Традиционно уремический запах изо рта считается характерным признаком терминальной почечной недостаточности. Однако в настоящее время органолептическое его определение утратило свое значение, за исключением, пожалуй, экстремальных условий. В то же время анализ современной литературы показывает оживление интереса к данному вопросу, так в ряде публикаций [1,2,3] имеются сведения о результатах исследования концентрации аммиака в выдыхаемом воздухе у больных с хронической почечной недостаточностью (ХПН) различными физическими методами.

Задачами настоящего обзора литературы являются:

1. Выяснение современного состояния вопроса о физиологических основах природы аммиачного запаха при уремии.

2. Обобщение принципиальных требований к методу определения концентрации аммиака в выдыхаемом воздухе.

Побудительным мотивом к написанию этой статьи послужило появление ряда разрозненных публикаций, касающихся разработки методов определения концентрации аммиака в выдыхаемом воздухе [4–9].

Естественно, что для разработки метода определения концентрации аммиака в выдыхаемом воздухе у больных с ХПН необходимо учитывать ряд патофизиологических особенностей, знание которых может оказать существенную помощь разработчикам приборов, в последующем и методов их клинического применения.

Нам представляется целесообразным описать некоторые патофизиологические особенности метаболизма аммиака при ХПН. Основным источником аммиака в организме является катаболизм аминокислот и распад других азотсодержащих соединений в тканях (желудочно-кишечный тракт, скелетная мускулатура, почки, легкие). Нарушение баланса аммиака приводит к повышению его концентрации в крови и проявлению токсических свойств, не компенсируемых организмом [10]. В норме в организме постоянно поддерживается равновесие между образованием аммиака и его обезвреживанием, поэтому концентрация аммиака в крови остается низкой (20–40 мкмоль/л) за счет защитных механизмов временного и окончательного пути обезвреживания, обеспечивающих его связывание [11,12].

Основной и окончательный путь обезвреживания аммиака – образование мочевины в перипортальных гепатоцитах, позволяющий вывести значительные количества аммиака из организма. Мочевина – это основной конечный продукт азотистого обмена – составляет 90% от всех азотсодержащих компонентов мочи [13]. Печень является центральным органом метаболизма азота и аммиака, где в орнитиновом цикле происходит связывание аммиака с образованием мочевины. Считается, что до 80% мочевины выделяется с мочой, около 20% мочевины поступает в ЖКТ, где разлагается уреазоположительными бактериями до аммиака [14,15].

Механизмы временного обезвреживания амми-

ака подразумевают образование веществ, выполняющих транспортную функцию доставки аммиака в нетоксичной форме из тканей в печень [10,16]. Ведущая роль по выполнению этой функции принадлежит аминокислоте глутамину, межорганному транспортеру азота в организме [16,17,18]. Примерно 1/3 всего азота транспортируется в крови в виде глутамина. Глутамин – главный субстрат для уреогенеза в печени и аммонийногенеза в почках. Посредством облегченной диффузии он проникает через клеточную мембрану в кровь и далее вступает в цикл синтеза мочевины в печени, реакции образования аммонийных солей, выделяемых с мочой и стулом [17].

Способность глутамина синтезироваться во многих тканях делает его одной из наиболее распространенных свободных аминокислот в организме человека [17,19]. Известна роль печени [20,21], почек [20–23], легких [21,24,25] в метаболизме данной аминокислоты. В перечисленных органах наиболее выражена активность глутамин-синтетазы, участвующей в синтезе глутамина и регуляции функционирования орнитинового цикла посредством постоянного притока аммиака по воротной вене в печень [21]. Однако основным эндогенным источником глутамина являются мышцы [26–28]. Установлено, что мышечные клетки выполняют роль своеобразного депо, из которого данная аминокислота может через кровь перераспределяться в другие ткани.

Глутамин участвует в поддержании кислотно-щелочного гомеостаза [17,20,29,30]. Доказано, что в портальных гепатоцитах и в эпителии почечных канальцев происходит превращение аммиака из глутамина под действием глутаминазы [21,31]. Образовавшийся аммиак включается в синтез мочевины в печени и образование аммонийных солей, которые в почках участвуют в регуляции кислотно-основного гомеостаза, как защитный механизм организма от ацидоза и избыточного выведения ионов натрия и калия [12,20,32]. За сутки с мочой выводится 30–50 ммоль аммиака в виде солей аммония [33].

Общеизвестна роль легких в регуляции кислотно-основного равновесия [34,35]. Одним из звеньев этого процесса является обмен аммиака в легочной ткани [17,21]. Аммиак и глутамат поступают в легочную ткань из малого круга кровообращения, кроме того глутамин непосредственно синтезируется в легочной ткани за счет высокой активности в ней глутамин-синтетазы. Установлено, что синтез (глутаминаза экспрессируется) глутаминазы происходит в нормальном эпителии бронхов, альвеолярных клетках II типа

[17,21,23]. Доказано, что активность глутаминазы, может увеличиваться в несколько раз по мере прогрессирования ацидоза, при недостатке АТФ (результат гиперинсулинизма и инсулинорезистентности, нарушение синтеза эритропоэтина) [21,30]. Данные клетки ответственны за регуляцию баланса между положительными и отрицательными ионами в тканях посредством увеличения продукции аммиака, который нейтрализует избыток кислоты и тем самым обеспечивает защиту клеток от повреждения [21,36].

Непосредственное участие легких в обмене аммиака и, следовательно, участие его в компенсаторных реакциях организма при уремии является доказанным. Были проведены исследования с радиоактивным изотопом азота ^{13}N . Опыт проводился с крысами, которым внутривенно струйно через *vena femoralis* вводили ^{13}N . Было установлено, что легкие очищают кровь на 30% от данного азота путем различных химических превращений. Из них 18–25% азота приходилось на синтез аммиака, 75% – на образование глутамина, 1% – на глутамат и аспартат. Таким образом, еще раз современным методом подтверждается роль легких в азотистом балансе [37].

Достаточно давно обсуждается вопрос о повреждающем действии аммиака на легочную ткань, особенно у пациентов с терминальной ХПН [38–40]. Однако вопрос о концентрации аммиака, при которой заканчивается защитная роль аммиака и начинается его повреждающее действие на легочную ткань, остается до настоящего времени открытым и, вероятно, разработка совершенных методов определения концентрации аммиака в выдыхаемом воздухе позволит ответить на этот вопрос.

Дополнительным источником аммиака в выдыхаемом воздухе является микрофлора респираторного тракта, обладающая уреазной активностью [40–44]. В этом плане представляют интерес результаты исследования концентрации аммиака, полученного эндотрахеально и непосредственно при выдыхании через рот у пациентов без почечной патологии. Было определено соотношение роли ЖКТ и дыхательной системы в выведении из организма аммиака и установлена ведущая роль в этом процессе ЖКТ. Наличие аммиака в выдыхаемом непосредственно из трахеи воздухе не только не отрицалось, но, наоборот, выдвигалась гипотеза о возрастании роли дыхательной системы в элиминации продуктов распада азотистого обмена при патологических состояниях легких [45].

Следует иметь в виду, что аммиак при терминальной ХПН попадает в выдыхаемый воздух не

только из легких, но и при отрыжке из желудка. Общеизвестно, что при ХПН в слизистой желудка под влиянием уреазы происходит расщепление мочевины до аммиака и углекислого газа [46].

Особый интерес представляют попытки клинического использования приборов для определения концентрации аммиака в выдыхаемом воздухе. В 2001 году в клинике нефрологии Калифорнийского университета в Лос Анжелесе [1] проведено определение концентрации аммиака в выдыхаемом воздухе методом спектрального исследования газообразных сред и вычисление концентрации аммиака в выдыхаемом воздухе у пациентов, получающих хронический гемодиализ. Получена достоверная корреляционная зависимость между уровнем креатинина крови и концентрацией аммиака в выдыхаемом воздухе. Авторами предпринята попытка изучения динамики концентрации аммиака в выдыхаемом воздухе в зависимости от длительности сеанса гемодиализа и установлена полная идентичность кривой снижения уровня креатининемии и изучаемого параметра. Полученные данные позволили предположить возможность мониторинга концентрации аммиака в выдыхаемом воздухе с целью определения необходимой длительности гемодиализа. К сожалению, несмотря на достаточно большое время с момента публикации цитируемой работы, в доступной нам литературе не нашлось сведений о продолжении аналогичных исследований.

О требованиях к приборному определению аммиака в выдыхаемом воздухе. В ряде работ сформулированы требования к приборному обеспечению определения микроконцентраций аммиака в выдыхаемом воздухе [3–5]. Исследование микроконцентраций аммиака в выдыхаемом воздухе является сложной инструментальной задачей, требующей сочетания высоких аналитических параметров (селективность и чувствительность) в сочетании с быстроедействием измерений. Необходимо, чтобы используемый инструментальный метод обладал определенной совокупностью аналитических характеристик:

1. Требуется высокая селективность и нечувствительность метода к содержанию в анализируемой пробе основных атмосферных компонентов (H_2O , O_2 , N_2 и CO_2).

2. Предпочтительно прямое детектирование веществ в пробе выдыхаемого воздуха без предварительного концентрирования или обогащения.

3. Используемый подход должен быть достаточно универсален и применим для детектирования различных молекулярных соединений, в том числе и для одновременного многокомпонентного

азоанализа [3]. Для определения микросостава выдыхаемого воздуха могут быть использованы следующие методы исследования: газовая хроматография, масс-спектрометрия, совмещенная с газохроматографическим разделением, электрохимические сенсоры, УФ-хемоллюминесценция и ИК-спектроскопия. Последняя включает фурьеспектроскопию, оптикоакустическую спектроскопию и лазерную спектроскопию. Каждый из перечисленных методов имеет свои достоинства и недостатки, учет которых необходим особенно для решения медицинских вопросов. В ряде публикаций [3–5,9] продемонстрированы результаты применения диодной лазерной спектрометрии для вычисления концентрации аммиака в выдыхаемом воздухе. С помощью разработанного лазерного анализатора была экспериментально продемонстрирована возможность детектирования эндогенно-образуемого аммиака в выдыхаемом человеком воздухе методами ДЛС. Использование большинства из перечисленных методов ограничено необходимостью сложного и громоздкого оборудования и необходимостью наличия высококвалифицированного персонала.

Заслуживающим внимания, на наш взгляд, является метод молекулярных ядер конденсации (МоЯК), который успешно применяется в газоанализаторах «Каскад-Г» и «Каскад-5» для измерения на уровне предельно допустимых концентраций люизита и иприта на заводах по уничтожению химического оружия [46]. Концентрационная чувствительность метода достигает $10^{-6} - 10^{-10}$ г/м³. Уникальная чувствительность метода основана на физических свойствах некоторых молекул образовывать ядра конденсации, на которые воздействует проявитель (весьма труднолетучее органическое вещество, способное специфически взаимодействовать с ядрами конденсации), приводящий к образованию необратимо растущих зародышей аэрозольных частиц. Далее в пересыщенном паре диизобутилфталата происходит стадия укрупнения зародышей конденсации с образованием частиц монодисперсного аэрозоля, концентрация которых измеряется фотоэлектрическим нефелометром. Газоанализатор МоЯК на аммиак может измерять концентрацию до $10^{-6} - 10^{-7}$ г/см³ без предварительного концентрирования или обогащения. Однако остаются неисследованными вопросы пробоотбора, селективности и нечувствительности метода к содержанию в анализируемой пробе основных атмосферных компонентов (H_2O , O_2 , N_2 , CO_2).

Заключение. Представленный литературный обзор, по мнению авторов, показывает повышение интереса к возможности использования мониторин-

га концентрации аммиака в выдыхаемом воздухе у пациентов с ХПН. Несмотря на то, что методы определения аммиака в выдыхаемом воздухе не получили в настоящее время широкого распространения в клинической практике, нам представляется весьма перспективной их дальнейшая разработка и усовершенствование, поскольку эти методы – неинвазивный и бескровный способ немедленного, пусть на первых порах косвенного, определения степени азотемии, но нам представляется в ближайшей перспективе, что после серьезной доработки метод может быть использован для вышеуказанной цели.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Narasimhan LR, Goodman W. Correlation of breath ammonia with blood urea nitrogen and creatinine during hemodialysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)* 2001; 98 (8): 4617-4621
2. Davies S, Spanel P, Smith D. Quantitative analysis of ammonia on the breath of patients in end-stage renal failure. *Kidney Int* 1997; 52(1): 223-228
3. Степанов ЕВ. Спектральные свойства газообразных биомаркеров и выбор оптимальной аналитической линии при интерференции спектров детектируемых газов. Труды Института общей физики им. А.М.Прохорова РАН. Наука, М., 2005; 61: 107-133
4. Moskalenko KL, Nadezhdinskii AI, Stepanov EV. Tunable diode laser spectroscopy application for ammonia and methane content measurements in human breath. *Proc. SPIE* 1993; 1: 448-452
5. Stepanov EV, Kouznetsov AI. Applications of tunable diode laser spectroscopy for the detection of exhaled endogenous gases: CO, NH₃, CH₄, N₂O, CO₂. *Proc SPIE* 1996; 2676: 272-282
6. Spanel P, Davies S, Smith D. Quantification of ammonia in human breath by the selected ion flow tube analytical method using H₃O⁺ and O₂⁺ precursor ions. *Rapid Commun Mass Spectrometry* 1998; 12: 763-766
7. Abbott SM, Spanel P, Smith D. Quantification of acetonitrile in exhaled breath and urinary headspace using selected ion flow tube mass spectrometry. *Int J Mass Spectrometry* 2003; 655-665
8. Mutlu GM, Garey KW, Robbins RA et al. Collection and analysis of exhaled breath condensate in humans. *Am J Respiratory Critical Care Med* 2001; 164: 731-737
9. Diskin AM, Spanel P, Smith D. Increase of acetone and ammonia in urine headspace and breath during ovulation quantified using selected ion flow tube mass spectrometry. *Physiol Measurement* 2003; 24(1):191-199
10. Щербак ИГ. Биологическая химия. СПбГМУ, СПб., 2005; 318-322
11. Северин ЕС. Биохимические основы патологических процессов. Медицина, М., 2000; 75-81
12. Северин ЕС, Николаев АЯ. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами. ГЭОТАР-МЕД, БИНОМ, М., СПб., 2001; 235-242
13. Наточин ЮП. Основы физиологии почки. Медицина, Л., 1982; 168-172
14. Журавель СВ. Острая печеночная недостаточность. *Гепатология* 2004; 6(6): 13-15
15. Надинская МЮ. Печеночная энцефалопатия. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии* 1998; 2: 25-32
16. Newsholme P et al. Glutamine and glutamate as vital metabolites. *Brazilian J Med Biol Research* 2003; 36(2): 153-163
17. Ложкин СН, Тиканадзе АД, Тюрюмина МИ. Глутамин и его роль в интенсивной терапии. *Вестник интенсивной терапии* 2003; 4: 1-4
18. Welbourne TC. Interorgan glutamine flow in metabolic acidosis. *AJP – Renal Physiology* 1987; 253: 1069-1076
19. Вернерман Я, Хаммарквист Ф. Глутамин – необходимое питательное вещество для больных, получающих интенсивную терапию. *Int J Colorectal Dis (Международный журнал заболеваний толстой и прямой кишки)* 1999; 14: 137-142
20. Poll MCG, Soeters PB, Deutz NEP et al. Renal metabolism of amino acids: its role in interorgan amino acid exchange. *Am J Clin Nutrition* 2004; 79(2): 185-197
21. Hunt JF, Erwin E, Palmer L et al. Expression and activity of pH-regulatory glutaminase in human airway epithelium. *Am J Respiratory Critical Care Med* 2002; 165: 101-107
22. Olde Damink SW, Jalan R, Redhead DN et al. Interorgan ammonia and amino acid metabolism in metabolically stable patients with cirrhosis and a TIPSS. *Hepatology* 2002; 36: 1163-1171
23. Dejong CHC, Deutz NEP, Soeters PB. Ammonia and glutamine metabolism during liver insufficiency: the role of kidney and brain in interorgan nitrogen exchange. *Scand J Gastroenterol* 1996; 218: 61-77
24. Souba WW, Herskowitz K, Plumley DA. Lung glutamine metabolism. *J Parenteral and Enteral Nutrition (JPEN)* 1990; 14: 68-70
25. Plumley DA, Austgen TR, Salloum RM, Souba WW. Role of the lungs in maintaining amino acid homeostasis. *J Parenteral and Enteral Nutrition (JPEN)* 1990; 14: 569-573
26. Lacey JM, Wilmore DW. Is glutamine a conditionally essential amino acid? *Nutrition Reviews* 1990; 48:297-309
27. Steven WM, Olde Damink, Blaauw I et al. Effects in vivo of decreased plasma and intracellular muscle glutamine concentration on whole-body and hindquarter protein kinetics in rats. *Clin Sci* 1999; 96: 639-646
28. Moinard C, Chauveau B, Walrand S et al. Phagocyte functions in stressed rats: comparison of modulation by glutamine, arginine and ornithine 2-oxoglutarate. *Clin Sci* 1999; 97: 59-65
29. Tomas Welbourne T, Wilfred Claville W, Marlyn Langford M. An oral glutamine load enhances renal acid secretion and function. *Am J Clin Nutrition* 1998;67:660-663
30. Curthoys NP, Watford M. Regulation of glutaminase activity and glutamine metabolism. *Annual Review of Nutrition* 1995; 15: 133-159
31. Elgadi KM, Meguid RA, Qian M et al. Cloning and analysis of unique human glutaminase isoforms generated by tissue-specific alternative splicing. *Physiol Genomics* 1999; 31: 51-62
32. Moret C, Dave M, Schulz N et al. Regulation of renal amino acid transporters during metabolic acidosis. *AJP – Renal Physiology* 2006; 1:113-117
33. Наточин ЮВ. Почки. Справочник врача. Санкт-Петербург, СПб., 1997; 8
34. Гриппи МА. Патофизиология легких. Бином, Невский Диалект, М., СПб., 2000; 161-169 Пер с англ Шапкайца ЮМ
35. Сыромятникова НВ, Гончарова ВА, Котенко ТВ. Метаболическая активность легких. Медицина, Л., 1987; 115-141
36. Owen W, Griffith PD. Glutaminase and the control of airway pH. *Am J Respiratory Critical Care Med* 2002; 165(1): 1-2
37. Cooper AJ, Freed BR. Metabolism of [13]ammonia in rat lung. *Neurochemistry International* 2005; 47 (1-2): 103-118
38. Tang X, Wang Y, Yang L, Yuan Y. The influence of peritoneal dialysis on the pulmonary function of patients with end-stage renal disease. *West China University of Medical Sciences* 2002; 33(1): 123-124,146
39. Рескин ИЗ. Состояние верхних дыхательных путей при уремии. Дисс. канд. мед. наук, Барнаул, 1965
40. Senatore M, Buemi M, Somma DA et al. Respiratory function abnormalities in uremic patients. *Giornale Italiano di Nefrologia* 2004; 21(1): 29-33
41. Westhengen R, Weening JJ, Krediet RT. Pneumonia and glomerulonephritis caused by *Mycoplasma pneumoniae*. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13(12): 3208-3211

42. Qian X, Zhu Y, Xu W. 127 cases of pulmonary fungal infection. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi* 2000; 23(7): 417-419

43. Niwattayakul K, Homvijitkul J, Niwattayakul S et al. Hypotension, renal failure, and pulmonary complications in leptospirosis. *Renal Failure* 2002; 24(3): 297-305

44. Белков СА, Романов ВЕ, Винокурова ОЛ. Течение легочного воспаления у больных с хронической почечной недостаточностью. *Военно-медицинский Журнал* 2004; 325(1): 77

45. Wells K, Vaughan J, Pajewski TN et al. Exhaled breath condensate pH assays are not influenced by oral ammonia. *Thorax* 2005; 60(1): 27-31

46. Коган ЯИ. Метод молекулярных ядер конденсации и его аналитическое использование. *Журнал аналитической химии* 1992, (47)10-11: 1794-1803

Поступила в редакцию 16.04.2007 г.

Принята в печать 07.06.2007 г.

© Е.Г.Кузнецова, Р.Р.Шиляев, О.А.Громова, О.Ю.Фадеева, 2007
УДК 616.61-053.2-02]:577.170.49:612.118.24

Е.Г. Кузнецова, Р.Р. Шиляев, О.А. Громова, О.Ю. Фадеева

ТОКСИЧНЫЕ МИКРОЭЛЕМЕНТЫ И ИХ РОЛЬ В РАЗВИТИИ НЕФРОПАТИЙ У ДЕТЕЙ

E.G. Kuznetsova, R.R. Shilyaev, O.A. Gromova, O.Yu. Fadeeva

TOXIC MICROELEMENTS AND THEIR ROLE IN THE DEVELOPMENT OF NEPHROPATHIES IN CHILDREN

Кафедра детских болезней педиатрического факультета, кафедра фармакологии Ивановской государственной медицинской академии, Россия

Ключевые слова: токсичные микроэлементы, почки, дети.

Key words: toxic microelements, kidneys, children.

Процессы ухудшения экологической обстановки и загрязнения окружающей среды привели к изменению природного спектра содержания микроэлементов (МЭ) в тканях и органах, причем если даже такие изменения не являются причиной заболеваний, они представляют тот фон, на котором развивается болезнь и который отягощает ее течение и снижает возможности терапии [1]. Загрязнение окружающей среды токсичными металлами в первую очередь сказывается на детях, так как их интенсивное накопление начинается уже в плаценте. Дети оказываются наиболее незащищенными к воздействию тяжелых металлов в связи с их приближенностью к среде обитания и недостаточной функциональной зрелостью органов защиты [2, 3].

Почки являются основным органом, экскретирующим токсины, поглощенные организмом. Известно, что токсичные металлы накапливаются преимущественно в клетках проксимальных канальцев, вызывая структурные и функциональные повреждения, в результате которых нарушаются процессы реабсорбции и секреции. Внутриклеточные механизмы токсичности элементов недостаточно изучены. Наиболее общими проявлениями их нефротоксичности являются оксидативный стресс, связанный с накоплением свободных радикалов, механизмы апоптоза и некроза [4].

Основными механизмами развития патологии почек при воздействии различных нефротоксинов являются прямое их воздействие на эндотелий клубочков, на мезангиальные клетки, тубулярный эпителий и на базальные мембраны, как гломерулярные, так и тубулярные. Возможно отложение тя-

желых металлов и других соединений в виде депозитов в мезангии клубочков. Уязвимость канальцев для нефротоксинов связана с их естественной нормальной функцией. Токсиканты и их метаболиты могут аккумулироваться в интерстициальной ткани, где в зависимости от их химических свойств они могут способствовать развитию воспалительного процесса через активацию медиаторов воспаления и аллергии. Химические агенты, абсорбированные при пиноцитозе, концентрируются в лизосомах, где подвергаются гидролитическому расщеплению, однако некоторые токсиканты ингибируют протеолитический процесс, что приводит к их аккумуляции и повреждению тубулярного эпителия. При этом возможно сочетание повреждения эпителия канальцев, особенно проксимальных, с гломерулярным повреждением, а при длительном воздействии – развитие тубулоинтерстициальной нефропатии. В результате воздействия нефротоксинов-гаптенов возможно развитие иммунологически индуцированной гломерулярной болезни. При этом токсические агенты входят в состав циркулирующих иммунных комплексов и откладываются на гломерулярной базальной мембране. Развивается мембранозный гломерулонефрит. Влияние ионов тяжелых металлов на клеточные регуляторные процессы многообразно, и не существует единого механизма взаимодействия их с клеткой. Спектр экологических воздействий на молекулярном, тканевом, клеточном и системном уровнях во многом зависит от концентрации и длительности экспозиции токсического вещества, комбинации его с другими факторами, предшествующего состояния здоровья ребенка и его иммунологической ре-

активности. Важное значение имеет генетически обусловленная чувствительность к влиянию тех или иных ксе-нобиотиков [5, 6].

Тяжелые металлы (кадмий, ртуть, свинец, хром и платина) являются главными факторами загрязнения окружающей среды, проявляют свою токсичность в очень малых дозах и имеют длительный период полувыведения [7]. Свинец вызывает повышенный интерес как приоритетный загрязнитель окружающей среды. Для всех регионов России свинец является основным токсичным элементом из группы тяжелых металлов. Порог токсичности равен 1 мг/сут. [8]. Основные источники свинца в окружающей среде связаны с производством. Максимальное загрязнение атмосферного воздуха свинцом характерно для районов вокруг свинцово-плавильных заводов и в непосредственной близости от дорог с интенсивным движением автотранспорта. Свинец содержится в плитах, которые используются при строительстве домов. Отмечено присутствие свинца в детских игрушках. Накопление свинца в организме человека начинается в антенатальный период (он легко проникает через плаценту) и продолжается в течение всей жизни. При свинцовой интоксикации поражаются в первую очередь органы кроветворения, нервная система и почки [8, 9, 10]. В экспериментах на крысах показано, что соединения свинца накапливаются в ядрах эпителиальных клеток проксимальных канальцев [1]. У людей, подвергавшихся воздействию свинца, в клетках почек выявляются интрануклеарные включения, содержащие этот элемент. Накопление свинца в митохондриях клеток канальцев нефронов приводит к тому, что они претерпевают как функциональные, так и ультраструктурные изменения [10]. Свинец преимущественно вызывает тубулярные и тубулоинтерстициальные изменения в почках, как острые, так и хронические. При острой свинцовой нефропатии преимущественно поражаются проксимальные канальцы и морфологически определяются ядерные включения (комплекс свинец-белок) и поврежденные митохондрии. Эти повреждения сопровождаются снижением канальцевой реабсорбции, что проявляется генерализованной аминоацидурией, глюкозурией и гиперфосфатурией. При хронической свинцовой нефропатии наблюдается медленное сморщивание почки вследствие склеротических изменений, интерстициального фиброза, атрофии почечных клубочков и гиалиновой дегенерации сосудов. Прогрессирование свинцовой нефропатии приводит к почечной недостаточности [5, 10]. В экспериментальных исследованиях показано, что некоторые соли свинца вызывают злокачествен-

ные опухоли почек у лабораторных животных [11]. Токсическое воздействие свинца усугубляет дефицит таких элементов, как кальций, фосфор, железо, цинк, медь, селен. Цинк является физиологическим антагонистом свинца, ослабляет его токсическое действие и снижает его концентрацию в тканях. Уменьшение токсического действия свинца цинком объясняется его способностью индуцировать синтез металлотионеина, который связывает избыток свинца и тем самым способствует детоксикации. Железо и медь также являются физиологическими антагонистами свинца. Свинец стимулирует выделение этих элементов с мочой, конкурируя при их реабсорбции в почках. При обследовании рабочих, имеющих длительный производственный контакт со свинцом, было выявлено поражение почек, связанное с нарушением структуры и функций проксимальных канальцев. Обнаружено повышение экскреции с мочой низкомолекулярного белка альфа₁-микроглобулина. Наличие структурных повреждений канальцев подтверждалось повышенной экскрецией с мочой лизосомального фермента N-ацетил-β-D-глюкозаминидазы и цитоплазматического фермента глутатион-S-трансферазы. Экскреция с мочой свинца, а также эссенциальных меди и цинка также была увеличена. Причем выраженность данных изменений зависела от продолжительности производственного контакта со свинцом [19].

Т.П. Макарова выявила повышение уровня свинца в сыворотке крови и в моче у детей с дизметаболической нефропатией (ДН), пиелонефритом (ПН) и тубулоинтерстициальным нефритом (ТИН), проживающих в экологически неблагоприятных условиях, сопровождаемое увеличением почечного клиренса и экскретируемой фракции, и выделила так называемый перегрузочный тип нарушения гомеостаза свинца. Было выявлено депрессивное влияние свинца на показатели клеточного и гуморального иммунитета и показано, что для детей с ПН его токсическое воздействие является кофактором непродуктивного иммунного ответа [12–15]. А.И. Сафина также отметила накопление свинца в крови и его повышенное выведение с мочой у детей с хроническим ПН. Токсическое действие свинца на эпителий канальцев проявлялось увеличением уровня ферментов и продуктов перекисидации в моче, нарушением функций проксимальных, дистальных канальцев и петли Генле, а также усилением процессов дегенерации соединительной ткани [16, 17]. У детей повреждение проксимальных канальцев под действием свинца проявляется увеличением экскреции β₂-микроглобулина и ретинолсвязывающего белка. Кроме того, свинец при на-

коплении в организме снижает активность антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы, которому принадлежит важная роль в регуляции свободнорадикальных процессов клеточного метаболизма [18].

В последние десятилетия значительно возросла концентрация кадмия в окружающей среде. Порог токсичности для кадмия равен 30 мкг/сут. Кадмий поступает в организм человека с водой, пищей, вдыхаемым воздухом. Кадмий, содержащийся в пищевых продуктах, обладает достаточно низкой биодоступностью. При хроническом воздействии кадмия даже в небольших дозах отмечается его кумуляция в почках (преимущественно в корковом слое), печени, слизистой кишечника, эритроцитах. С возрастом количество накопленного в организме кадмия увеличивается. Концентрация кадмия в крови и в моче у женщин при прочих равных условиях обычно выше, чем у мужчин. Ряд авторов объясняют это более высокой абсорбцией кадмия в желудочно-кишечном тракте, возможно связанной с наличием дефицита железа в организме. Таким образом, риск развития нефропатии, индуцированной кадмием, у женщин выше, чем у мужчин. У экс-курильщиков, которые прекратили курение более 5 лет назад, сохраняются более высокие концентрации кадмия в моче и в крови по сравнению с людьми, которые никогда не курили [20, 21]. Кадмий оказывает влияние на гомеостаз меди и цинка [22]. Из организма кадмий удаляется главным образом через почки. В норме с мочой ежедневно экскретируется менее 1-2 мг кадмия. После повышенного поступления кадмия в организм человека даже спустя несколько лет отмечается тубулярная дисфункция, глюкозурия, протеинурия. Кадмий преимущественно накапливается в корковом слое почки, что сопровождается повреждением проксимальных почечных канальцев и появлением протеинурии, аминоацидурии, глюкозурии, повышенной экскрецией калия и кальция, мочевой кислоты, энзимурии (кислая и щелочная фосфатазы, лактатдегидрогеназа, аминотрансфераза), канальцевого ацидоза. К ранним проявлениям кадмиевой нефропатии относят увеличение содержания кадмия в корковом слое почек, повышение экскреции кадмия с мочой, снижение реабсорбции аминокислот, глюкозы, фосфатов, появление протеинурии, повышенной экскреции β_2 -микроглобулина и ретинолсвязывающего протеина. Выявлена корреляционная взаимосвязь между повышением в моче уровня альфа-1-микроглобулина и экскрецией кадмия с мочой [23]. Экскреция с мочой β_2 -микроглобулина и N-ацетил- β -D-глюкозаминидазы является чувствительным индикатором кадмиевой

нефропатии. Однако увеличение выделения с мочой кальция является более ранним проявлением поражения почек кадмием [24]. Поздними проявлениями считают почечный тубулярный ацидоз, протеинурию гломерулярного генеза, нефрокальциноз, интерстициальный фиброз. Морфологические изменения при кадмиевой нефропатии неспецифичны и заключаются на начальных стадиях процесса в дегенерации канальцевого эпителия. В дальнейшем отмечается прогрессирование процесса вплоть до развития тубулярной атрофии и необратимого интерстициального фиброза. Даже очень небольшие дозы кадмия могут вызывать изменения функции почек в общей популяции. Пороговой величиной, превышение которой сопровождается нарушением функции канальцев почек, следует считать уровень выделения кадмия с мочой 2 мкг/сут. Методом сканирующей электронной микроскопии выявлено повреждение клеток почек под действием кадмия в виде уменьшения цитоплазматического матрикса, в клетках появляются везикулы, повышается число электронно-плотных лизосом, при этом снижается их протеазная активность. Вероятно, ионы кадмия во фракции, не связанной с металлотионеином, препятствуют нормальному процессу лизосомального расщепления белков, в результате чего снижается реабсорбция и деградация низкомолекулярных белков ультрафильтрата мочи, появляется протеинурия по тубулярному типу. Кроме повреждения структур тубулярного эпителия, кадмий вытесняет цинк и медь из активных центров ферментов, участвующих в реабсорбции. Существует мнение, что кадмий влияет и на проницаемость клубочков, при этом протеинурия, развивающаяся при интоксикации кадмием, имеет не только тубулярный, но и гломерулярный генез, в моче появляются протеины с более высокой молекулярной массой [1, 5, 8, 10, 25–28]. Имеются сообщения, что цинк может защищать клетки почек от токсического воздействия кадмия [29, 30].

Содержание кадмия в крови достоверно выше у больных с ХПН, чем у здоровых. Так как кадмиевая нефропатия ассоциируется с высокой экскрецией кальция и фосфатов, это способствует деминерализации костей и появлению почечных камней [1, 31]. Остеопатии при избыточном поступлении кадмия считают вторичными, возникающими после поражения почек [10]. Хроническая экспозиция вызывает специфическое повреждение генов. Кадмий вызывает апоптоз различных клеток, особенно клеток мочеполовой системы. Доказана роль кадмия в развитии рака почек у курящих [32]. В «неизмененных» тканях почек, которые непосред-

ственно прилегают к опухолевой ткани, выявляется значительное увеличенное содержания свинца и кадмия. В самой опухолевой ткани содержание кадмия низкое, в то время как содержание свинца значительно повышено [33, 34].

Для заболеваний мочевой системы характерна высокая распространенность повышенных концентраций хрома (до 53%) [35]. Хрому принадлежит важная биологическая роль в живом организме, основными проявлениями которой являются его взаимодействие с инсулином в процессах углеводного обмена, участие в структуре и функции нуклеиновых кислот. В организм соединения хрома поступают с пищей, водой и воздухом. Хотя хром является жизненно важным элементом, при избыточном поступлении в организм он может стать опасным токсикантом. Токсическое действие хрома зависит от его валентности. Физиологические свойства имеет только трехвалентный хром. Шестивалентный хром оказывает общетоксическое, нефротоксическое и гепатотоксическое действие, является канцерогеном I класса опасности. Порог токсичности хрома составляет 5 мг/день. Шестивалентный хром преодолевает все гистогематические барьеры, проникает через плазматические мембраны и накапливается в клетках. При хронической интоксикации хромом происходит ингибирование тиоловых ферментов мембран, а также ферментов аэробного гликолиза, цикла Кребса, угнетение синтеза аминокислот и белков, возникновение гипоксии в результате склерозирования биологических мембран и микроциркуляторного русла. При избытке хрома снижается иммунологическая реактивность [3, 8, 9, 25, 36]. Почечный тубулярный некроз развивается после употребления солей, содержащих хром, что было продемонстрировано на животных и у человека при острой интоксикации. Наблюдается повышение экскреции β_2 -микроглобулина и ретинолсвязывающего протеина [5]. В экспериментах на животных было показано, что увеличение выделения с мочой таких эссенциальных элементов, как цинк и медь являются чувствительными индикаторами нефротоксичности, вызванной шестивалентным хромом [37]. У больных с ХПН повышено содержание хрома в сыворотке крови вне зависимости от стадии ХПН [38]. Хром выступает в качестве фактора риска камнеобразования в геохимических провинциях [39].

Т.П. Макарова и соавт. выявили повышение уровня хрома в сыворотке крови у детей с ДН, ТИН и ПН. Повышенное содержание хрома в сыворотке крови сопровождалось повышенной мочевой экскрецией при неизменном клиренсе, что характерно для метаболического типа нарушений. Так-

же было показано отрицательное влияние хрома на показатели клеточного и гуморального иммунитета [12–15]. Для больных ПН характерно избыточное содержание хрома и в волосах [3, 35].

Мышьяк также вызывает повреждение клеток почек. Отравление возможно при вдыхании мышьяковистых соединений, а также при попадании их в организм через кожу и пищеварительный тракт. В пищевых продуктах мышьяк, как правило, содержится в органической форме и поэтому имеет малую токсичность. В отличие от пищевых продуктов в питьевой воде мышьяк присутствует в неорганической форме и является более токсичным. Мышьяк применяется в стекольной, электротехнической, химической, текстильной, лакокрасочной, угольной промышленности, при производстве цветных металлов. Среди причин бытовой интоксикации мышьяком следует отметить курение и злоупотребление виноградным вином. Поражение почек является одним из проявлений избытка мышьяка в организме. Неорганический пятивалентный мышьяк и трехвалентный мышьяк существенно различаются токсичностью и механизмами биологической активности. Метилирование этих неорганических форм в метилмышьяковистую кислоту и диметилмышьяковистую кислоту в печени повышает почечную токсичность мышьяка. Неорганический мышьяк преимущественно повреждает клеточные органеллы и в первую очередь – митохондрии. Исследования, проведенные на почках крыс, получавших длительное время неорганический пятивалентный мышьяк, показали связь повреждения почечных клеток со снижением их дыхательной функции. Генетический аппарат ядер также повреждается мышьяком. В настоящее время неясны механизмы повреждения мышьяком проксимальных канальцевых структур и снижения их функции [5, 8]. Предполагается взаимосвязь повышенной концентрации мышьяка в питьевой воде и возникновения рака почек [40].

Описаны поражения почек, вызываемые кремнием. Кремний относится к числу эссенциальных для человека и животных элементов, максимальное содержание его отмечается в коже, зубной эмали, волосах, ногтях, костях, связочном аппарате суставов, хрящах, соединительной ткани сосудов. Высокое содержание кремния в соединительной ткани связано с его присутствием в качестве структурного компонента в составе гликозаминогликанов и их белковых комплексов. Полагают, что оптимальная интенсивность поступления кремния составляет 50–100 мг/день, а порог токсичности составляет 500 мг/день. При повышенном поступлении в организм с водой или воздухом кремний

может оказывать токсическое воздействие. Концентрация кремния в питьевой воде и воздухе повышена в некоторых геохимических провинциях. При профессиональном контакте с кремнием наблюдаются протеинурия, микрогематурия, снижение фильтрационной способности и повышение содержания кремния в почках. Морфологическая картина при этом характеризуется возникновением тубулоинтерстициальных повреждений и наличием фокального гломерулонефрита. Склероз отдельных клубочков сочетается с повреждением подоцитов, развитием субэндотелиальных и субэпителиальных включений. Кремниевая нефропатия характеризуется чаще нефротическим, реже мочевым синдромом, с последующим развитием почечной недостаточности. При избытке кремния возможно развитие мочекаменной болезни [1, 8, 25, 32].

Почки являются органом-мишенью при избыточном поступлении ртути в организм. Соединения ртути высокотоксичны. Техногенные локусы избыточного присутствия в почве и в воде ртути встречаются при несоблюдении технологии утилизации ламп дневного света, при производстве красителей. Источником поступления алкилированной ртути являются фунгициды, применяющиеся при протравливании семян. В организм человека ртуть обычно поступает через легкие или желудочно-кишечный тракт. Основным источником метилированной ртути в рационе являются рыба и морепродукты. Имеются экспериментальные данные, которые показывают, что даже низкие дозы ртути могут привести к усилению иммунных реакций и значительному повреждению почек. При хроническом отравлении ртутью возникает некротический нефроз с гибелью эпителия проксимальных отделов почечных канальцев и появлением протеинурии, болевого синдрома, нарушения выделительной функции почек вплоть до анурии [3, 5, 8]. При обследовании рабочих, подвергавшихся длительному воздействию ртути на производстве, выявлено поражение почек, которое характеризовалось наличием микроальбуминурии и увеличением экскреции ретинолсвязывающего белка и повышением активности в моче глутатион-трансферазы, а также увеличением экскреции с мочой ртути и эссенциальных элементов — кальция, цинка и меди. Уровень ртути в сыворотке крови у них был повышен. А уровень экскреции с мочой ртути был взаимосвязан с уровнем микроальбуминурии и концентрацией в моче ретинолсвязывающего белка и глутатион-трансферазы [41]. В экспериментах на животных показано, что токсическое действие ртути связано также и с повреждением клубочкового аппарата. Цинк может защищать клетки почек от

токсического действия ртути [42]. По мнению М.В. Неждановой загрязнение окружающей среды свинцом и ртутью является фактором риска формирования ПН у детей. Установлено, что наличие в моче ребенка даже нормального содержания ртути приводит к повреждению почечной паренхимы, о чем свидетельствует повышенный уровень β_2 -микроглобулина в моче. Наблюдение в течение 5–6 лет за здоровыми детьми, выделяющими с мочой ртуть, показало, что у 8% из них сформировались ПН, ДН, нейрогенные дисфункции мочевого пузыря [43].

В последние годы в литературе появилось ряд публикаций, свидетельствующих о нефротоксическом действии стронция. Стронций используется в металлургии, производстве аккумуляторов и пиротехнических средств. В медицине изотопы стронция применяют в лучевой терапии костных опухолей. Сведения о характере обмена стронция в организме животных и человека противоречивы. Стронций, поступающий с пищей, относительно плохо усваивается организмом. В основном богаты стронцием растительные продукты, поэтому потребление стронция у вегетарианцев выше. Абсорбированный стронций выводится в основном с мочой и в меньшей степени с желчью. При избыточном поступлении стронция возникает так называемая «уровская болезнь». Это эндемическое заболевание, впервые обнаруженное у населения, проживающего вблизи реки Уров в Восточной Сибири, и описанное российскими врачами Н.М. Кашиным и Е.В. Беком. Заболевание возникает вследствие вытеснения ионов кальция ионами стронция из костной ткани или повышенного поступления в организм стронция на фоне дефицита кальция [8, 25]. А.И. Сафина выявила, что накопление стронция при ДН у детей способствует прогрессированию обменных нарушений и отрицательно влияет на парциальные почечные функции. У детей с ПН также повышается уровень стронция в сыворотке крови и его экскреция с мочой. Цитотоксическое действие стронция у больных ПН на эпителий канальцев проявляется увеличением уровня ферментов и продуктов перекисидации в моче, нарушением функции проксимальных, дистальных канальцев и петли Генле, усилением процессов деградации соединительной ткани. Под действием стронция усиливается экскреция мочевой кислоты, что связано с гиперпродукцией пуринов в результате цитотоксического действия металлов на нефрон [16, 17]. Т.П. Макарова также выявила повышенную концентрацию стронция в сыворотке крови детей с ДН и ТИН, сопровождаемое его повышенной экскрецией с мочой, повышением почеч-

ного клиренса и экскретируемой фракции, что соответствует перегрузочному типу нарушения гомеостаза данного элемента. У больных с ПН и МКБ было отмечено нарастание перегрузочного типа экскреции стронция [15]. Показано, что на уровне проксимальных почечных канальцев воздействие стронция определяет снижение реабсорбции фосфатов, на уровне петли Генле стронций влияет на показатели максимальной относительной плотности мочи веса, а на уровне дистальных канальцев – на процессы аммиогенеза. При максимальных концентрациях стронция в сыворотке крови установлено его влияние на состояние клубочковой части нефрона у детей с МКБ, которое реализуется развитием гиперфилтрации. Т.П. Макарова делает вывод о том, что повышенные концентрации стронция в сыворотке крови оказывают этапное повреждающее действие с последовательным вовлечением в патологический процесс всех отделов тубулярной части и гломерулярного аппарата нефрона [15]. Стронций накапливается в сыворотке крови больных с почечной недостаточностью. При длительной экспозиции стронций оказывает влияние на показатели иммунологической реактивности.

Следует отметить, что эффект воздействия нескольких токсикантов одновременно существенно отличается от влияния каждого из них в отдельности. Тяжелые металлы оказывают потенцирующее и аддитивное воздействие на тубулярный отдел нефрона. Повышение уровня токсичных микроэлементов влияет на важнейшие показатели иммунологической реактивности. Например, свинец и хром оказывают сопряженное влияние на формирование дисиммуноглобулинемии с дефицитом IgA и повышением IgG, при этом антибактериальные антитела класса IgG оказываются неэффективными, формируют ЦИК и играют патологическую роль. Также они оказывают сопряженное влияние на фагоцитарный потенциал нейтрофилов и функцию поглощения патогенов [12, 14]. При проведении комплексного обследования практически здоровых детей из промышленных городов Среднего Урала было показано, что даже относительно малое совместное содержание кадмия и свинца в организме может спровоцировать доклинические повреждения проксимальных канальцев почек [44].

На территории с высоким уровнем экологической нагрузки А.А. Вялкова обнаружила достоверное различие уровня накопления тяжелых металлов в волосах детей, больных хроническим ПН, по сравнению с практически здоровыми детьми. Для больных ПН, проживающих в техногенной геохимической провинции, характерно торпидное или латентное течение, случайное выявление заболе-

вания при проведении профосмотров, раннее формирование парциальных нарушений функций почек по тубулярному типу, у большинства больных отмечаются признаки нарушений обмена и мембранопатологического процесса. Лабораторный симптомокомплекс хронического ПН имеет нетипичные черты для данного заболевания в виде микрогематурии, повышения относительной плотности мочи, стойкой эозинофилии, моноцитоза на фоне диспротеинемии с гипогаммаглобулинемией. Для больных хроническим ПН в районе с высоким уровнем экологической нагрузки характерно сочетание патологии органов мочевой системы с заболеваниями других органов и систем (90%), дисгармоничное физическое развитие (56%) [45].

М.С. Игнатова и соавт. предлагают выделять эконефропатии в отдельную форму нефрологической патологии и разработали критерии их диагностики. При обследовании больных с эконефропатиями (дети с антенатального периода проживали в регионе, неблагополучном по содержанию солей тяжелых металлов), они выявили повышенную экскрецию с мочой кадмия, хрома, мышьяка, сурьмы, бериллия. У этих детей отмечалась повышенная чувствительность к одному или нескольким из перечисленных химических элементов, определяемая *in vitro* в реакции лейкоцитоллиза, выраженная тубулярная дисфункция (отмечалось повышение экскреции β_2 -микроглобулина, ферментурия, аминоацидурия). У 1/3 больных были обнаружены комбинированные нарушения функции почек в виде дисфункции канальцев и тенденции к снижению клубочковой фильтрации. В волосах обследованных детей отмечалось низкое содержание цинка и меди – элементов, определяющих резистентность организма к тяжелым металлам. При гистологическом исследовании почечной ткани выявлялись признаки тубулоинтерстициального нефрита и почечного дизэмбриогенеза. При электронно-микроскопическом исследовании был выявлен значительно выраженный склеротический процесс в тубулоинтерстиции с характерным диффузным поражением митохондрий нефротелия в виде вакуолизации крипт и распада матрикса. Учитывая совокупность перечисленных признаков при наличии соответствующих эпидемиологических и геохимических условий авторы предлагают выделять своеобразную форму эконефропатии с гематурией, развивающейся в связи с воздействием на протяжении всей жизни ребенка малых доз солей тяжелых металлов. Клинически заболевание близко к ДН с оксалатно-кальциевой кристаллурией. Морфологически – это тубулоинтерстициальный процесс, вплоть до тубулоинтерстициального нефри-

та с явлениями дизэмбриогенеза почечной ткани [2, 46].

Таким образом, тяжелые металлы и другие токсичные элементы приводят к формированию различных вариантов почечной патологии. Развитие нефропатий зависит от дозы и скорости поступления тяжелого металла в организм, а также от индивидуальной его гиперчувствительности [47]. Несмотря на определенные успехи, достигнутые в изучении эконефропатий у детей, несомненно важным является дальнейшее исследование влияния токсичных элементов металлов на формирование почечных дисфункций при различных уровнях поражения нефрона.

С целью усиления выведения из организма солей тяжелых металлов, в частности кадмия, и улучшения клинико-лабораторных показателей, характеризующих мембранопатологический процесс в почках, предложено использование сукцимера, димефосфона, ксидифона и препаратов из морских водорослей (альгината натрия и кламина). Использование данных препаратов приводит к снижению выраженности гематурии, кристаллурии, оксалурии, а также повышению активности Са-Mg-АТФазы, снижению активности ксантиноксидазы и сдвигу антипероксидантного индекса в сторону относительного увеличения активности антиоксидантных ферментов в крови. Наибольшая эффективность отмечается при использовании альгината натрия и, в меньшей степени, ксидифона. В отличие от ксидифона альгинат натрия выводит токсические продукты в основном через кишечник. Это приводит к уменьшению концентрации тяжелых металлов в депо и в сыворотке крови. В первую очередь выводятся тяжелые металлы, не связанные с металлотioneином, именно они и являются наиболее токсичными [2, 5, 46, 48].

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Дельва ЮВ, Нейко ЕМ. Микроэлементозы как этиология заболеваний почек. *Урол нефрол* 1990; (1): 72-75
2. Игнатова МС, Харина ЕА, Длин ВВ и др. Диагностика и лечение эконефропатий у детей. *Российский педиатрический журнал* 1999; (1): 33-38
3. Скальный АВ. *Микроэлементозы человека (диагностика и лечение)*. М., 1997
4. Saboli D. Common mechanisms in nephropathy induced by toxic metals. *Nephron Physiol* 2006; 104 (3): 107-114
5. Османов ИМ. Роль тяжелых металлов в формировании заболеваний органов мочевой системы. *Российский вестник перинатологии и педиатрии* 1996; (1): 36-39
6. Римарчук ГВ. Оздоровление детей в районах экологического неблагополучия. *Русс мед журнал* 1999; (11): 500-504
7. Barbier O, Jacquillet G, Tauc M et al. Effect of heavy metals on, and handling by, the kidney. *Nephron Physiol* 2005; 99(4): 105-110
8. Скальный АВ, Рудаков ИА. *Биоэлементы в медицине*. Мир, М., 2004

9. Авцын АП, Жаворонков АА, Риш МА, Строчкова ЛС. *Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология*. Медицина, М., 1991
10. Смоляр ВИ. *Гипо- и гипермикроэлементозы*. Здоровья, Киев, 1989
11. Ильичева СА, Бульбулян МА, Заридзе ДГ. Оценка канцерогенности свинца у работников типографий. *Медицина труда и промышленная экология* 2002; (8): 15-19
12. Макарова ТП, Мальцев СВ, Агафонова ЕВ, Валиев ВС. Роль микроэлементов в развитии пиелонефрита у детей. *Российский педиатрический журнал* 2002; (2): 24-28
13. Макарова ТП. Изменение гомеостаза цинка при заболеваниях почек у детей. *Казанский медицинский журнал* 2001; (4): 278-281
14. Макарова ТП, Мальцев СВ, Валиев ВС и др. Роль нарушений микроэлементного гомеостаза в развитии тубулоинтерстициального нефрита у детей. *Педиатрия* 2001; (6): 23-26
15. Макарова ТП. *Роль нарушений обмена микроэлементов на этапах развития нефропатий у детей*. Автореф. дисс...д-ра мед наук. Н.Новгород, 2001
16. Сафина АИ. *Влияние микроэлементов на парциальные функции почек и метаболические процессы при дизметаболической нефропатии у детей*. Автореф. дисс ...канд. мед наук. Казань, 1996
17. Сафина АИ. *Клинико-патогенетическая роль бактериальных и вирусных инфекций в развитии и прогрессировании пиелонефрита у детей*. Автореф. дисс ...д-ра мед наук. Н.Новгород, 2005
18. Збровская ИА, Банникова МВ. Антиоксидантная система организма, ее значение в метаболизме: клинические аспекты. *Вестник РАМН* 1995; (6): 53-60
19. EL-Safty IA, Afifi AM, Shouman AE, EL-Sady AK. Effects of smoking and lead exposure on proximal tubular integrity among Egyptian industrial workers. *Arch Med Res* 2004; 35(1): 59-65
20. Olsson IM, Bensryd I, Lundh T et al. Cadmium in blood and urine—impact of sex, age, dietary intake, iron status, and former smoking—association of renal effects. *Environ Health Perspect* 2002; 110(12):1185-1190
21. Vahter M, Berglund M, Akesson A, Lid C. Metals and women's health. *Environ Res* 2002; 88(3):145-155
22. Alonso ML, Benedito JL, Miranda M et al. Interactions between toxic and essential trace metals in cattle from a region with low levels of pollution. *Arch Environ Contam Toxicol* 2002; 42(2):165-172
23. Ezaki T, Tsukahara T, Moriguchi J et al. No clear-cut evidence for cadmium-induced renal tubular dysfunction among over 10,000 women in the Japanese general population: a nationwide large-scale survey. *Int Arch Occup Environ Health* 2003; 76(3):186-196
24. Wu X, Jin T, Wang Z et al. Urinary calcium as a biomarker of renal dysfunction in a general population exposed to cadmium. *J Occup Environ Med* 2001; 43(10):898-904
25. Тутельян ВА, ред. *Витамины и микроэлементы в клинической фармакологии*. Палей-М, М., 2001
26. Jurup L. Cadmium overload and toxicity. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17 [suppl 2]: 35-39.
27. Kaur J, Sharma N, Attri S et al. Kinetic characterization of Zinc transport process and its inhibition by Cadmium in isolated rat renal basolateral membrane vesicles: in vitro and in vivo studies. *Mol Cell Biochem* 2006; 283(1-2): 169-179
28. Ezaki T, Tsukahara T, Moriguchi J et al. Analysis for threshold levels of cadmium in urine that induce tubular dysfunction among women in non-polluted areas in Japan. *Int Arch Occup Environ Health* 2003; 76(3):197-204
29. Jacquillet G, Barbier O, Coughnon M et al. Zinc protects renal function during cadmium intoxication in the rat. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 290(1): 127-137
30. Barbier O, Dauby A, Jacquillet G et al. Zinc and cadmium interactions in a renal cell line derived from rabbit proximal tubule. *Nephron Physiol* 2005; 99(3): 74-84
31. Marumo F, Li JP. Renal disease and trace elements. *Nippon Rinsho* 1996; 54(1): 93-98

32. Громова ОА, Кудрин АВ. *Нейрохимия макро- и микроэлементов. Новые подходы к фармакотерапии*. Алев-В, М., 2001
33. Cerulli N, Campanella L, Grossi R et al. Determination of Cd, Cu, Pb and Zn in neoplastic kidneys and in renal tissue of fetuses, newborns and corpses. *J Trace Elem Med Biol* 2006; 20(3):171-179
34. Kwiatek WM, Drewniak T, Gajda M et al. Preliminary study on the distribution of selected elements in cancerous and non-cancerous kidney tissues. *J Trace Elem Med Biol* 2002; 16(3):155-160
35. Одинаева НД, Яцык ГВ, Скальный АВ. Нарушения минерального обмена у детей. *Российский педиатрический журнал* 2001; (4): 6-10
36. Ребров ВГ, Громова ОА. *Витамины и микроэлементы*. АЛЕВ-В, М., 2003
37. Chmielnicka J, Swietlicka E, Nasiadek M. Essential elements as early indicators of hexavalent chromium nephrotoxicity. *Ecotoxicol Environ Saf* 2002; 53(1):20-26
38. Malecka J, Grzeszczak W, Zukowska-Szczechowska EA et al. Concentration of chromium in blood serum of patients with chronic renal failure. *Pol Arch Med Wewn* 1995; 25-31
39. Мамбеталлин ЕС. *Действие соединений хрома и других нефротоксичных веществ на мочеполовую систему человека*. Автореф. ...дисс д-ра мед наук. Москва, 1992
40. Abernathy CO, Thomas DJ, Calderon RL. Health effects and risk assessment of arsenic. *J Nutr* 2003; 133[suppl 1]:1536-1538
41. El-Safty IA, Gadallah M, Shafik A, Shouman AE. Effect of mercury vapour exposure on urinary excretion of calcium, zinc and copper: relationship to alterations in functional and structural integrity of the kidney. *Toxicol Ind Health* 2002; 18(8):377-388
42. Afonne OJ, Orisakwe OE, Obi E et al. Nephrotoxic actions of low-dose mercury in mice: protection by zinc. *Arch Environ Health* 2002; 57(2):98-102
43. Нежданова МВ. *Течение и исход пиелонефрита у детей в условиях загрязнения окружающей среды свинцом и ртутью*. Автореф. дисс...д-ра мед наук. Москва, 2005.
44. Кацнельсон БА, Хрущева НА, Журавлева НС и др. Связь между донозологическим поражением почек и уровнем кадмия и свинца в моче у детей дошкольного возраста – жителей Среднего Урала. Сборник тезисов VI съезда Научного общества нефрологов России: 2006, 26-27
45. Вялкова АА, Попова ЛЮ, Гордиенко ЛМ и др. Региональные особенности нефропатий у детей промышленного города. *Омский научный вестник* 2002; июнь: 129-130
46. Османов ИМ, Длин ВВ. Экологически детерминированные заболевания почек у детей. *Российский вестник перинатологии и педиатрии* 2004; (2): 52-54
47. Длин ВВ, Османов ИМ, Юрьева ЭА, Новиков ПВ. *Дизметаболическая нефропатия, мочекаменная болезнь и нефрокальциноз у детей*. Оверлей, М., 2005
48. Длин ВВ, Османов ИМ, Юрьева ЭА и др. Эффективность энтеросорбентов при лечении нефропатий у детей из региона, загрязненного солями тяжелых металлов. *Педиатрия* 1998; (2): 63-66
49. Лучанинова ВН, Транковская ЛВ. Комплексная оценка состояния здоровья детей на фоне техногенной нагрузки. *Российский педиатрический журнал* 2004; (1): 29-33

Поступила в редакцию 14.03.2007 г.

Принята в печать 07.06.2007 г.

© М.Лазарова, Д.Паскалев, Б.Киёмени, 2007
УДК 616.988-002.51

М. Лазарова, Д. Паскалев, Б. Киёмени

ТАИНСТВЕННАЯ СУЩНОСТЬ БАЛКАНСКОЙ ЭНДЕМИЧЕСКОЙ НЕФРОПАТИИ

M. Lazarova, D. Paskalev, B. Kiemeni

MYSTERIOUS ESSENCE OF BALKAN EPIDEMIC NEPHROPATHY

Клиника нефрологии и диализа университетской больницы «Св. Марина» медицинского университета им. проф. П. Стоянова, Варна, Болгария

Ключевые слова: балканская эндемическая нефропатия, этиология, эпидемиология, патогенез, клиника, диагностика, лечение.

Key words: Balkan endemic nephropathy, etiology, epidemiology, pathogenesis, clinical picture, diagnostics, treatment.

В середине XX столетия появилось множество публикаций, в которых описывалась своеобразная почечная патология, развивающаяся в определенных районах Балкан. С тех пор в этом направлении проведено много исследований разными специалистами, но часть вопросов остается без ответов: в отношении природы заболевания и, особенно, его точной этиологии. Хотя этиология все еще неясна, предполагается, что данная болезнь – результат длительного воздействия экологических токсинов или следствие генетической предрасположенности [1].

В конечном счете в 1964 году на конференции экспертов WHO в Дубровнике, эта нефропатия была признана независимой нозологией, получившей название «балканская эндемическая нефропатия» (БЭН) [2]. БЭН не воспалительное заболевание почек, характеризующееся постепенным развитием, проявляющееся, главным образом, у сельских жителей и приводящее к хронической почечной недостаточности. Оно часто сопровождается опухолями мочевых путей [3,4].

Патоморфология

Патологические и гистоморфологические особенности БЭН зависят от стадии болезни. В начальной стадии патологические изменения в основном представлены в наружных отделах коры почек, и характеризуются расширением мезангия в клубочках и утолщением базальной мембраны. В проксимальных канальцах наблюдается дистрофия. В субклинической стадии изменения в клубочках аналогичны описанным выше, но более выражены. Базальная мембрана дистальных канальцев также вовлекается в патологический процесс. Она утолщается, но в меньшей степени, чем

базальная мембрана проксимальных канальцев. Интерстициальные изменения характеризуются начинающимся внеклеточным склерозом. Сосудистые повреждения приводят к утолщению стенок и асимметричному сужению просвета. В следующей стадии почки резко уменьшаются в размере и по массе до 40 г (нормальная масса почки у мужчин: 125–170 г, женщин: 115–155 г). Изменения клубочков имеют тот же самый тип, но значительно более выражены. Большинство канальцев в коре атрофируются и полностью теряют эпителиальную выстилку. Разрушенные клубочки и канальцы быстро заменяются соединительной тканью [4].

Эпидемиология БЭН

БЭН встречается среди жителей юго-восточной Европы: Болгарии, Румынии, Хорватии, бывшей Югославии, Боснии и Герцеговины. Все эндемические очаги расположены в долинах или на равнинах, окруженных холмами. Они в основном встречаются в поселениях, находящихся вдоль притоков реки Денубе. Очаги БЭН формируют на карте мозаичную картину, чередуясь через 2–3 км с неэндемичными районами. Они покрывают территорию 20 000 км² в пределах 500-километрового расстояния с востока на запад [6] (рис. 1).

Эндемичные поселения выявлены и, согласно степени распространенности заболевания, классифицированы как гипозндемические, мезозндемические и гиперэндемические очаги. Самый поразительный аспект БЭН – ее устойчивое географическое распределение. В течение последних 50 лет не выявлено никаких новых эндемических очагов.

В последние десятилетия сообщалось о выявлении случаев БЭН в больших городах и также в неэндемических областях. Это, как полагают, яв-

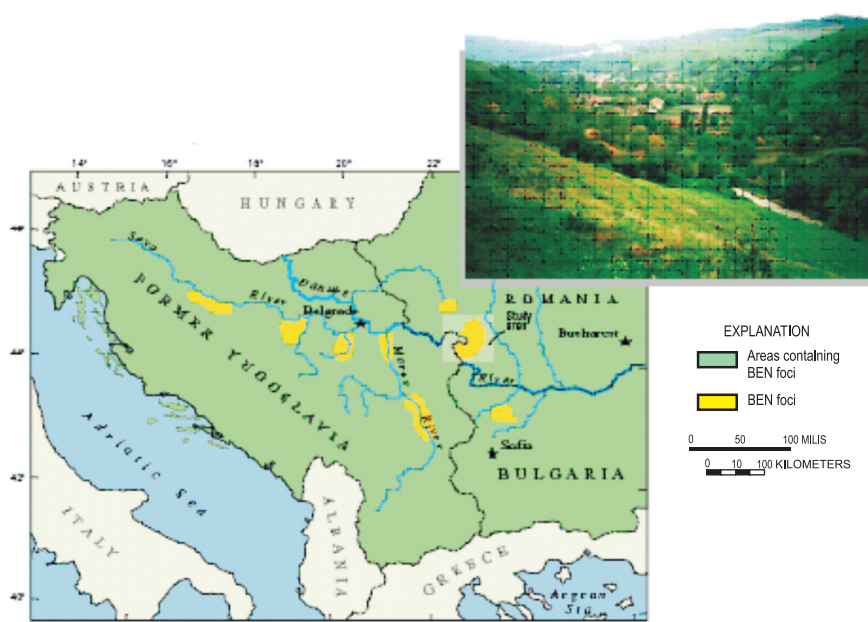


Рис. 1. Карта, иллюстрирующая распространение БЭН, и вид типичного эндемичного по БЭН поселения.



Рис. 2. Растение из семейства *Aristolochia*.

ляется результатом миграции населения. БЭН развивается у мигрантов из эндемических семей, которые обосновываются в неэндемических районах. Есть также сообщения о случаях БЭН у людей, родившихся в неэндемических местах, но от родителей, страдавших этой болезнью. Иммигранты имеют вероятность заболеть БЭН после 15–20 лет проживания в эндемической области [2]. Точное число пациентов никогда не было известно. При этом следует иметь в виду, что ранние и скрытые стадии БЭН остаются нераспознанными. По крайней мере, 25 000 человек могут страдать БЭН или у них может подозреваться наличие болезни, в то время как общее количество людей, которые могут заболеть в эндемических очагах, может превысить 100 000 [6,7].

Заболевание начинается в детстве, но каких-либо клинических признаков в начальной стадии нет. БЭН характеризуется длительным скрытым периодом и клинические проявления возникают во взрослом возрасте от 30 до 50 лет. Женщины болеют чаще мужчин [8]. Согласно результатам нескольких исследований в последние десятилетия наблюдается уменьшение заболеваемости БЭН. Кроме этого, средний возраст заболевших увеличился до 60–80 лет и ни у одного из них заболевание не обнаруживалось ранее 51 года [9].

Этиология

Существует множество гипотез об этиологии БЭН, но ни одна из них не может быть принята с полной уверенностью. Разнообразие аргументов «против» и «за», касающихся каждой гипотезы, по-

Таблица 1

«За» и «против» в пользу разных гипотез об этиологии БЭН

Гипотеза/Аргументы	За	Против
Генетические факторы	- БЭН имеет «семейный» характер - БЭН развивается у эмигрантов	БЭН развивается у иммигрантов
Аristoloxовая кислота (АК)	- АК канцерогенна - Потребление продуктов, содержащих АК, ведет к повреждениям почек, похожих на те, которые наблюдаются при БЭН	Растения семейства <i>Aristolochia</i> широко распространены, в тех регионах, в которых никогда не наблюдалось случаев БЭН
Микотоксины	- Высокий уровень ОТА в крови пациентов с БЭН - ОТА канцерогенен, высокая частота опухолей мочевых путей в эндемичных областях	- Высокий уровень ОТА отмечается у части здоровых людей - ОТА часто встречается в продуктах во многих регионах мира [где не наблюдается БЭН - перев.]
Плиоценовые лигниты	Химический анализ питьевой воды [в эндемичных по БЭН регионах - перев.] выявляет высокое содержание канцерогенных веществ	Не все эндемичные по БЭН области расположены в регионах залежей бурого угля
Вирусы	Вирусные частицы выявляют в почках пациентов с БЭН	Антитела против «подозрительных» вирусов часто находят у здоровых людей

звояет предположить, что вероятно БЭН является результатом взаимодействия различных факторов (табл. 1).

Согласно существующим концепциям БЭН – экологически обусловленная болезнь. Главные предполагаемые агенты – кислота *Aristolochic*, микотоксины, плиоценовые лигниты и вирусы. *Aristolochia* – большой род растений с более чем 500 разновидностями, принадлежащий семейству *Aristolochiaceae* или *Birthwort* (рис. 2). Многие представители семейства *Aristolochia* содержат токсины – кислоту *Aristolochia*, которая, как известно, является канцерогенной и нефротоксичной. Хроническая почечная недостаточность выявлялась у китайцев, которым проводилось лечение травами семейства *Aristolochia*. В старину эти растения использовались в акушерстве и при обработке ран после укусов змей. В настоящее время те же самые травы применяются для терапии артрита, подагры, ревматизма и гноящихся ран.

О так называемой «китайской травяной нефропатии» (Chinese herbs nephropathy – CHN), связанный с приемом китайских растительных средств, сообщалось из одной клиники в Бельгии, где у серии пациентов, лечившихся травами от избыточного веса зарегистрирована ХПН. Оказалось, что *Stephania tetrandia* был по неосторожности заменен на *Aristolochia fangchi*, содержащий аристолоховую кислоту (АК). В большинстве случаев почечная недостаточность прогрессирует несмотря на прекращение приема компонентов, содержащих АК. Во время сбора урожая также наблюдались случаи загрязнения зерен пшеницы семенами *Aristolochia*, иногда это игнорировалось и полученная мука использовалась по назначению. Есть ясные свидетельства того, что АК играет важную роль в развитии АК-ассоциированного уроэпителиального рака. АК-ДНК – подходящий биомаркер экспозиции АК и маркер риска рака. Представители семейства *Aristolochia* произрастают во всем мире, но никогда не было зарегистрировано случаев БЭН или подобных БЭН заболеваний вне эндемических очагов. Этот факт не в состоянии объяснить одну из определенных особенностей БЭН – ее географическое распространение [10,11]. Одними из наиболее возможных экологических агентов, вызывающих развитие БЭН считаются микотоксины, продуцируемые грибами в заплесневелых хлебных злаках. Грибы родов *Penicillium* и *Aspergillus* вырабатывают определенный токсин, известный, как Ochratoxin (ОТА). ОТА – относительно частый конкомитант пищевых продуктов во многих странах с умеренным континентальным и субтропическим климатом и может спорадически

быть найден в сыворотке крови здоровых людей. Эта гипотеза также оставляет неясным факт, является ли ОТА причиной заболевания или только ко-фактором, который требуется, но недостаточен для развития непосредственно БЭН. Высокие уровни ОТА в крови были установлены у пациентов с БЭН, но это, возможно, следствие накопления токсина в результате нарушения экскреторной функции почек этиологическим агентом. Если бы ОТА был единственным этиологическим фактором БЭН, можно было ожидать сообщений о случаях БЭН или подобных БЭН болезней во многих странах, где потребляется пища, загрязненная ОТА, например в Великобритании и Италии. Пациенты с БЭН, ассоциированным с ОТА, были обследованы в плане выявления опухолей мочевых путей [6]. Частота этих заболеваний в такой ситуации оказалась достоверно выше и у мужчин, и у женщин. Установлено, что ОТА – генотоксичен вследствие вмешательства в окислительный метаболизм. Полагают, что это его свойство играет центральную роль в ОТА-опосредованном карциногенезе. [12]. Также предполагается, что плиоценовые лигниты, имеют значение в развитии БЭН. Плиоценовые лигниты возраста – 1.6–5.3 миллионов лет – самые молодые лигниты на Балканах. Эти лигниты имеют сложный органический состав, содержащий распавшиеся растения, из которых образуется лигнит. Вода размывает пласты лигнита, в результате он попадает в питьевую воду мелких колодцев ферм [13]. Химические исследования такой питьевой воды указывают на присутствие ароматических аминов, которые, как известно, являются канцерогенными и вызывают уроэпителиальный рак [13,14]. Частота опухолей мочевого пузыря в эпидемических по БЭН очагах также увеличена по сравнению с неэндемическими селами и городами. Наличие географической корреляции между распространенностью БЭН и уроэпителиальных опухолей подтверждает предположение, что эти болезни имеют общую этиологию [15]. «Лигнитовая» этиология, если и возможна, не может охватить эндемичные районы, не содержащие залежей этих ископаемых.

Рассматривается также вирусная этиология БЭН. Как полагают, ответственными за БЭН могут быть вирус лихорадки Западного Нила, вирусы папилломы, коронавирусы и аренавирусы. Антитела против некоторых из этих вирусов были выявлены и у здоровых людей, что, фактически, ставит вирусную этиологию под большое сомнение [6]. В эндемичных по БЭН областях были исследованы и некоторые другие экологические факторы. Брались образцы почвы, питьевой воды и

Таблица 2

Клинические проявления, соответствующие определенным стадиям БЭН

Стадия	Клинические признаки
Начальная	-незначительные боли в поясничной области - нормохромная или гипохромная анемия (постоянный симптом, вызванный снижением синтеза эритропоэтина) -гематурия при наличии опухолей
Субклиническая	- непостоянная тупая боль в поясничной области с периодами усиления болевых ощущений - пальмарная и плантарная ксантохромия (желтая пигментация кожи в ладонных и подошвенных областях) - нормохромная или гипохромная анемия - гематурия при наличии опухолей и литиаза - протеинурия тубулярного типа (менее 1г/24 ч) - бледность кожных покровов
Стадия компенсации с наличием явных «ренальных» проявлений	-усталость после физической нагрузки, сопровождающаяся медленным восстановлением -увеличение потребления жидкости (полидипсия) и полиурии -выраженная бледность, выраженная кожных покровов -сухость кожи с снижением тургора -интенсивная пальмарная и плантарная ксантохромия -нормохромная или гипохромная анемия -гематурия при опухолях и литиазе (опухоли обычны в этой стадии) -протеинурия тубулярного типа -артериальная гипертензия: редкий симптом (~ 20 %) - отеки обычно не наблюдается
Стадия декомпенсации с наличием признаков хронической почечной недостаточности	-превалируют признаки хронической почечной недостаточности

продовольствия. В этих образцах были установлены более высокие концентрации: свинца, кадмия, марганца, меди, кальция, алюминия, хрома, ванадия, серебра и цинка. В органах умерших от БЭН также выявлялись высокие концентрации алюминия, олова, никеля, хрома и марганца. Однако непонятно, какой из этих элементов или какие их комбинации могут привести к развитию БЭН [4].

Семейный характер БЭН дает основания для того, чтобы рассмотреть роль генетических факторов в его этиологии. Полагают, что заболевание является результатом взаимодействия между изменением в геноме в результате генной мутации и рядом модифицирующих факторов. В свою очередь, внешние факторы могут повлиять на генные трансформации. Генетические изменения при БЭН предопределяют состояние мезенхимы почек, которая теряет способность к адекватной дифференцировке во время постнатального периода. Нарушения дифференцировки мезенхимы приводят функциональному и морфологическому истощению почек. Такие почки становятся благоприятной мишенью для развития хронических нефропатий под влиянием модифицирующих факторов [4].

Существуют и другие предположения о генетической природе БЭН. Полагают, что за ее развитие ответственен рецессивный ген, который активируется экзогенным фактором или комплексом факторов, которые свойственны эндемичным районам [4]. Современные представления полагают,

что БЭН – результат нарушений эмбриогенеза. Думается, что голодание, вспышки гриппа и некоторые другие факторы в течении беременности в военное время могут привести к эмбриогенетическим нарушениям. Они представлены уменьшенным числом нефронов, что повышает вероятность развития БЭН [9]. Цитогенетические исследования культур лимфоцитов периферической крови установили изменения в длинном плече хромосомы 3. Изменения включают сокращение банды 3q 25 с более прочным слиянием подбандов 3q26.1 и 3q26.3.

Это приводит к асинхронизации характеристик банды в виде микроструктурной хромосомальной реконструкции-делеции 24.2. Такой специфический кариотип может использоваться как ценный диагностический маркер для раннего диагноза БЭН среди детей и молодых людей [16,17].

Клинические особенности БЭН

Как уже указывалось выше, в начальный период клинические признаки скудны или отсутствуют. Необратимое прогрессирование заболевания приводит к появлению болей в поясничной области, раннему развитию анемии, отчетливой протеинурии, бледности и желтизны кожных покровов. Часто встречаются уроэпителиальные опухоли. Выраженность симптомов постепенно нарастает, но в конечном итоге начинают преобладать проявления ХПН [4,18,19,20] (подробнее см. табл. 2).

Диагноз БЭН

Диагноз БЭН очень труден в начальной, почти

асимптоматической стадии, тогда как последующие фазы заболевания распознать легче, вследствие появления, указанных выше, клинических особенностей. Существуют диагностические критерии, лабораторные данные и другие показатели, которые должны приниматься во внимание при постановке диагноза БЭН (табл. 3). Тем не менее, позитивная диагностика БЭН отнюдь не проста. При этом географический критерий имеет очень важное значение, поскольку все остальные клинические проявления или лабораторные данные не патогномоничны. Дифференциальный диагноз включает, главным образом, такие хронические болезни почек, как хронический гломерулонефрит, хронический пиелонефрит и аналгетическая нефропатия [9].

Уроэпителиальные опухоли при БЭН

До 40% пациентов с БЭН имеют опухоли мочевых путей. [1] Это наводит на мысль о тесной связи между такими заболеваниями. Причем, наиболее вероятно, что высокая частота уроэпителиальных опухолей (УО) при БЭН не простое совпадение. Есть интересная закономерность в отношении их локализации: наиболее часто встречаются опухоли почечных лоханок, вслед за ними идут опухоли мочеточника и наиболее редко опухоли мочевого пузыря [20]. Приблизительно 20% опухолей имеют множественную локализацию [2]. Наблюдения за мигрантами, переехавшими из эндемичных в неэндемичные районы, показали, что распространенность соответствующих локализаций УО у них такая же, как и в эндемичных регионах [4]. В целом, частота УО в неэндемичных по БЭН областях ниже, чем в эндемичных. При этом по мировым статистикам характер локализации этих новообразований другой: наиболее часто встречаются опухоли мочевого пузыря, затем опухоли

мочеточников и почек. УО обычно выявляются среди пациентов с ХПН и редко среди пациентов с начальной стадией заболевания [20]. Опухоли мочевых путей часто описываются у пациентов с БЭН на гемодиализе. Соотношение мужчины/женщины с УО при БЭН отличается от наблюдающегося в общей популяции. В целом УО мужчины заболевают в три – пять раз чаще женщин, тогда как в районах эндемичных по БЭН половые различия стираются. При этом в данных регионах у женщин такая патология встречается даже с немного большей частотой, чем у мужчин [6].

Средний возраст выявления УО, ассоциированных с БЭН, составляет приблизительно 50–60 лет. Жители неэндемичных районов обычно заболевают уроэпителиальными опухолями десятию годами ранее. Пик заболеваемости новообразованиями мочевого пузыря у пациентов с БЭН приходится на возраст старше 70 лет. Это связывают с необходимостью более длительного времени индукции для развития таких опухолей. Пациенты с БЭН на гемодиализе живут дольше, что также может являться predisposing фактором к приобретению УО или злокачественных новообразований других видов [21].

Лечение БЭН

Поскольку конкретный этиологический агент БЭН не установлен, этиотропное лечение данного состояния невозможно. Терапия включает профилактику, общее наблюдение и симптоматическое лечение. Профилактика БЭН предполагает: уменьшение численности населения в эндемичных регионах за счет переезда их жителей в раннем возрасте в неэндемичные области, по возможности снижение влияния потенциальных этиологических факторов, предотвращение близкородственных браков или браков между партнерами из семей, в

Таблица 3

Критерии диагностики БЭН

Диагностические критерии	*географический – рождение в эндемичных областях и люди, родившиеся в другом месте, но проживающие в течение длительного периода времени в эндемичных районах *семейный – люди, у которых в семье есть больные с БЭН *БЭН чаще встречается среди сельских жителей *БЭН чаще развивается у женщин *скрытое начало заболевания *прогрессивное развитие ХПН
Лабораторные данные	*нормохромная или гипохромная анемия *протеинурия тубулярного типа *нарушение функции почек: снижения способности к концентрированию мочи вслед за уменьшением СКФ *гематурия при опухолях и литиазе *лейкоцитурия при присоединении вторичной инфекции
Результаты других исследований	*обзорная рентгенограмма и экскреторная урография – уменьшение объема почек в конечных стадиях и наличие уроэпителиальных опухолей *ультрасонография – сморщивание почек в поздних стадиях *биопсия почек: патологические изменения характерные для соответствующей стадии болезни

которых наблюдались случаи БЭН. Общие рекомендации по лечению включают необходимость ограничения физических нагрузок, частых периодов отдыха; соблюдения низкосолевой, малобелковой диеты и ограничения жидкости в зависимости от стадии болезни. Цель симптоматического лечения состоит в том, чтобы остановить прогрессию БЭН. Поскольку нормохромная или гипохромная анемия появляется с самого начала развития БЭН, это также следует учитывать. Гипертензия, ассоциированная с БЭН, плохо корректируется стандартной антигипертензивной терапией. При развитии терминальной почечной недостаточности пациенты с БЭН получают заместительную почечную терапию гемодиализом или перитонеальным диализом.

Больным с БЭН предпринимались попытки трансплантации донорской почки [5], как от живых, так и умерших доноров. Случаев развития БЭН в трансплантате к настоящему времени не описано.

Заключение

Этиология заболевания остается главной проблемой БЭН [6]. Хотя традиционно эта патология описана в балканском регионе, она привлекает внимание исследователей из разных стран. БЭН остается своего рода вызовом нефрологическому сообществу. Необходимы дальнейшие исследования для выявления причин и этиопатогенетических механизмов данного заболевания. Если их удастся обнаружить, то появится шанс для разработки этиотропной и патогенетической терапии.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ganey VS, Petropolus EA. Balkan endemic nephropathy and its putative environmental and genetic causes. 6th International Conference on Environmental Science and Technology. Samos, Greece, 1999; 1:1
2. Dimitrov T. *Balkan endemic nephropathy*. Publishing House of the Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, 1984; 12-50
3. Ganey VS, Petropolus EA, Simeonov VA et al. Balkan endemic nephropathy and genetic variants of glutathione S-transferases. *Nephrology J* 2004; 17(3):39-398
4. Dimitrov T. Balkan endemic nephropathy in Bulgaria. *Medicine and Biology* 2002;9(1):7-14
5. Tatu CA, Orem WH. Environment, medical geology and the etiology of Balkan endemic nephropathy. 3rd Congress of Nephrology in Internet. CIN'2003;1:1-5
6. Finkelman RB, Tatu CA, Orem WH. The etiology of Balkan endemic nephropathy: still more questions than answers. *Environmental Health Perspectives* 1998; 106(11):689-700
7. Tatu CA, Orem WH. Health effects of toxic organic compounds from coal – the case of Balkan endemic nephropathy. *USGS Facts Sheet* 2001; 4(1):1-4
8. Feder GL, Finkelman RB, Lerch HE et al. Environment, geochemistry and the etiology of Balkan endemic nephropathy: lessons from Romania. *Medicine and Biology* 2002;9(1):39-48
9. Nenov V, Nenov D. Balkan Nephropathy: Renal hypoplasia/dysplasia with a Fanconi syndrome? *Actual Nephrology* 2004; 4(3):17-23
10. Grollman AP, Chen JJ, Kos J et al. Endemic nephropathy: the case for chronic poisoning by Aristolochia. *Croat Med J* 2005; 46(1): 116-125
11. Volker M. Aristolochia acid: a potent human carcinogenic found in traditional herbal remedies. *ECNIS News* 2006; 2: 11-14
12. Manderville RA, Pfohl-Leszkowicz A. Ochratoxin A: An review on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. *Mol Nutr Food Res* 2006; 51 (1): 61-99
13. Stefanovic V, Toncheva D, Atanasova S, Polenakovic M. Etiology of Balkan endemic nephropathy and associated urothelial cancer. *Am J Nephrol* 2006; 26(1): 1-11
14. Dimitrov P, Ganey VS, Long DT et al. Evaluation of the hypothesis that Balkan endemic nephropathy is caused by drinking water exposure to contaminants leaching from Pliocene coal deposits. *J Exposure Science Environmental Epidemiol* 2006; 16 (6): 515-524
15. Stefanovic V, Cukuranovic R, Ignjatovic M. Urinary tract tumors and Balkan nephropathy in the South Morava River basin. *Kidney Int* 1991; 34 [suppl]: 80-84
16. Toncheva D, Dimitrov T, Tzoneva M. Cytogenetic studies in Balkan endemic nephropathy. *Nephron* 1988;48(1):18-21
17. Dimitrakov D. Balkan endemic nephropathy. In: *Clinic and therapy of internal diseases*. Plovdiv 2006; 129-132
18. Stefanovic V. Analgesic nephropathy, Balkan endemic nephropathy and Chinese herbs nephropathy: separate tubulointerstitial kidney diseases associated with urothelial malignancy. *Medicine and Biology* 2002; 9(1): 1-6
19. Schiller A, Petrica L, Velciov S et al. Balkan endemic nephropathy in Romania. *Medicine and Biology* 2002; 9(1): 15-25
20. Maric I, Bikvic D, Bogdanovic M et al. Cross-sectional study in the Balkan endemic nephropathy village of Vreoci (Serbia). *BANTAO Journal* 2006; 4(2): 5-8
21. Stefanovic V. Balkan endemic nephropathy: a need for novel aetiological approaches. *Q J Med* 1998;91: 467-463

Перевод с английского Ю.А. Дорожкина

Поступила в редакцию 28.03.2007 г.

Принята в печать 07.06.2007 г.

© Л.Т.Пименов, Н.С.Киришина, 2007
УДК 616.12-005.3-036.12]:616.61+616.155.194

Л.Т. Пименов, Н.С. Киришина

КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧЕК И АНЕМИЯ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

L.T. Pimenov, N.S. Kirshina

CLINICO-FUNCTIONAL STATE OF THE KIDNEYS AND ANEMIA IN PATIENTS WITH CHRONIC HEART FAILURE

Кафедра врача общей практики и внутренних болезней с курсом клинической иммунологии Ижевской государственной медицинской академии; Республиканский клинико-диагностический центр, г. Ижевск, Удмуртия, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ РАБОТЫ. Исследование клинико-функционального состояния почек, распространенности и тяжести анемии среди больных с хронической сердечной недостаточностью (ХСН). **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** 77 больным (средний возраст $60,4 \pm 1,2$ лет) с ХСН I-IV ФК (NYHA, 1994) проведена оценка фильтрационной способности почек по скорости клубочковой фильтрации (СКФ) с использованием формулы Кокрофта-Голта, активности N – ацетил – β – D – гексозаминидазы (НАГ) в утренней порции мочи – как показателя функциональной активности канальцев, определяли наличие микроальбуминурии (МАУ), отражающей функцию эндотелия и клубочкового аппарата в целом. Наличие анемии устанавливали по общепринятым критериям. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Достоверное повышение НАГ характерно для низких ФК ХСН (ФК I-II). На начальных этапах ХСН у пациентов имеет место незначительное снижение СКФ, по мере прогрессирования ХСН фильтрация значительно снижается, одновременно нарастает МАУ. Концентрация в крови гемоглобина и показателя гематокрита также снижается при прогрессировании ХСН. Анемия носит железоперераспределительный характер. Связь между концентрацией гемоглобина и показателями функционального состояния почек не выявлена. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** НАГ – маркер раннего поражения канальцевого аппарата почек. Канальцевое поражение у больных ХСН предшествует клубочковому повреждению почек. Наличие анемии у больных ассоциируется с тяжестью ХСН.

Ключевые слова: хроническая сердечная недостаточность, почки, анемия, микроальбуминурия, N – ацетил – β – D – гексозаминидаза.

ABSTRACT

THE AIM of the investigation was to study the clinico-functional state of the kidneys, prevalence and severity of anemia among patients with chronic heart failure (CHF). **PATIENTS AND METHODS.** In 77 patients (mean age 60.4 ± 1.2 years) with CHF I-IV FC (NYHA, 1994) an assessment of the filtration function of the kidneys by the glomerular filtration rate (GFR) was made using the Cockcroft-Gault formula, activity of N – acetyl – β -D- hexoaminidase in (NAH) the morning portion of urine – as an index of functional activity of tubules. The presence of microalbuminuria (MAU) was determined that reflected the function of the endothelium and the glomerular apparatus as a whole. The presence of anemia was established by the conventional criteria. **RESULTS.** A reliably elevated hexoaminidase is characteristic of low FC CHF (FC I-II). At the initial stages of CHF the patients demonstrate the inconsiderably decreased GFR, during progressing of CHF the filtration is considerably decreased and simultaneously MAU is growing. The concentration of blood hemoglobin and hematocrit index is also decreasing with progression of CHF. Anemia is of iron-redistributing character. No association of the concentration of hemoglobin and indices of the functional state of the kidneys was found. **CONCLUSION.** Hexoaminidase is a marker of early lesion of the tubular apparatus of the kidneys. The tubular lesion in CHF patients precedes the glomerular injury of the kidneys. The presence of anemia in patients is associated with the degree of CHF.

Key words: chronic heart failure, kidneys, anemia, microalbuminuria, N – acetyl – β - D- hexoaminidase.

ВВЕДЕНИЕ

Распространенность хронической сердечной недостаточности (ХСН) продолжает расти во всем мире, в разных странах от нее страдает от 0.4 до 2% населения. Среди лиц старше 50 лет частота ХСН возрастает до 6–10% [1]. Несмотря на успехи, достигнутые в профилактике и лечении, ХСН ассоциируется с высокими показателями заболеваемости и смертности. В последнее время большое внимание уделяется ее взаимосвязи с поражением почек в рамках т.н. кардиоренального континуума [2]. Почки не просто являются органом-мишенью

сердечной недостаточности, но играют значительную роль и в патогенезе и в прогрессировании этого недуга (почка «как жертва и причина ХСН»). Важным направлением является своевременное выявление и терапия состояний, усугубляющих тяжесть ХСН, в частности – анемии [3]. Ее частота в популяции составляет 10–30%, а при тяжелой ХСН, особенно у больных с сопутствующей почечной недостаточностью, частота анемии может достигать 50–80% [4, 5]. Особенно активно эта проблема обсуждается в последнее время.

Целью работы явилось исследование клинико-

функционального состояния почек и распространенности анемии среди больных с ХСН в зависимости от функционального класса (ФК).

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 77 больных, страдающих ХСН, средний возраст составил $60,4 \pm 1,2$ лет. Распределение больных по этиологии ХСН: ишемическая болезнь сердца (ИБС) + гипертоническая болезнь (ГБ) – 36 больных (47%), ИБС – 11 больных (14%), ГБ – 23 больных (30%), ревматические пороки сердца вне активности ревматизма – 7 больных (9%). Пациенты с заболеваниями почек и/или эндокринной патологией в исследование не включались. Все обследуемые были разделены на группы в зависимости от функционального класса ХСН по классификации NYHA (1994).

Первую группу составили больные с I функциональным классом ФК ХСН – 22 человека, 45 больных были с сердечной недостаточностью II ФК (вторая группа), с признаками сердечной недостаточности III-IV ФК – 10 человек (3-я группа). Группу контроля составили 17 практически здоровых лиц в среднем возрасте $60,1 \pm 1,3$ лет.

Проводилась оценка фильтрационной способности почек – вычисляли скорость клубочковой фильтрации (СКФ) по уровню креатинина в сыворотке крови с использованием формулы Кокрофта-Голта [2]. У всех больных определяли наличие микроальбуминурии (МАУ), отражающей, как известно, функцию эндотелия и клубочкового аппарата в целом [6]. Определяли также активность N – ацетил – β – D – гексозаминидазы (НАГ) в утренней порции мочи – как показатель функциональной активности канальцев [7].

Производили учет суточного диуреза (вычислялись средние показатели минутного диуреза в дневные и ночные часы), расчет отношений дневной диурез/ночной диурез (ДД/НД), оценивали диапазон колебаний относительной плотности мочи по данным пробы Зимницкого.

Наличие анемии устанавливали по общепринятым критериям, используя следующие показатели: количество эритроцитов, концентрацию гемоглобина, значения гематокрита, эритроцитарных индексов (MCV, MCH, MCHC). Оценивали показатели обмена железа – сывороточное железо (СЖ), общую железосвязывающую способность сыворотки (ОЖСС), коэффициент насыщения трансферрина железом (КНТ) и ферритин в сыворотке крови.

Статистическую обработку проводили с использованием компьютерной программы «Statistica for Windows 6.0». Достоверными считали различия при $p < 0,05$. Данные представлены в виде $\bar{X} \pm m$, где $\bar{X}$ – среднее значение величины, m – ее стандартная ошибка.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Уровень сывороточного креатинина у пациентов с ХСН I ФК составил $85,5 \pm 4,2$ мкмоль/л, со II ФК – $89,9 \pm 3,2$ мкмоль/л, с III-IV ФК – $107,2 \pm 8,4$ мкмоль/л, в группе контроля – $80,2 \pm 1,2$ мкмоль/л, при этом выявлены достоверные различия между показателями группы контроля и больных с III-IV ФК.

При определении СКФ были выявлены достоверные различия между данными группы контроля и больных с ХСН различной тяжести течения. Более того, СКФ достоверно снижалась по мере нарастания ФК ХСН (табл. 1).

Уровень МАУ в группе пациентов с I ФК ХСН составил $10,39 \pm 1,60$ мг/сут, в группе с II ФК МАУ составила $10,61 \pm 1,56$ мг/сут, с III-IV ФК $36,83 \pm 4,40$ мг/сут, в контрольной группе – $6,70 \pm 3,50$ мг/сут. Из приведенных данных видно, что МАУ обнаружена в группе больных с III-IV ФК ХСН, при этом различие показателей МАУ между группой больных с III-IV ФК ХСН и группой контроля оказалось достоверным ($p < 0,001$).

При исследовании активности НАГ в моче выявлено, что исследованный показатель имел максимальную активность у пациентов с I ФК

Таблица 1

Показатели скорости клубочковой фильтрации ($\bar{X} \pm m$)

Группы обследованных	ХСН I ФК, n=22	ХСН II ФК, n=45	ХСН III-IV ФК, n=10	Контрольная группа, n=17
СКФ (по формуле Кокрофта-Голта), мл/мин	$81,9 \pm 4,2^*$	$80,5 \pm 5,3^*$	$42,2 \pm 5,5^{***}$	$97,5 \pm 3,1$

* - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$

Таблица 2

Активность НАГ в моче ($\bar{X} \pm m$)

Группы обследованных	ХСН I ФК, n=22	ХСН II ФК, n=45	ХСН III-IV ФК, n=10	Контрольная группа, n=17
НАГ, мкмоль/час на 1 ммоль креатинина	$106,3 \pm 28,8^*$	$72,3 \pm 7,6^*$	$48,0 \pm 5,4$	$39,8 \pm 4,6$

* - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$

Таблица 3

Средние показатели диуреза и диапазона колебаний относительной плотности мочи по данным пробы Зимницкого ($\bar{X} \pm m$)

Группы обследованных	Суточный диурез (в мл)	Средняя скорость минутного диуреза		Диапазон колебаний относительной плотности мочи
		в дневные часы	в ночные часы	
Контрольная группа, n=17	1291,8±86,8	0,93±0,07	0,83±0,06	13,4±1,88
ХСН I ФК, n=22	1046,8±46,1*	0,64±0,03***	0,82±0,04	14,3±0,71
ХСН II ФК, n=45	972,0±37,0**	0,58±0,03***	0,8±0,04	12,5±0,67
ХСН III-IV ФК, n=10	826,2±35,0***	0,54±0,03***	0,62±0,04**	11,2±0,74

* - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$

Таблица 4

Показатели обмена железа, концентрация гемоглобина, значения гематокрита и эритроцитарных индексов ($\bar{X} \pm m$)

Показатели	По группе больных с ХСН, в целом	I ФК, n=22	II ФК, n=45	III-IV ФК, n=10	Контрольная группа, n=17
СЖ, мкмоль/л	20,1 ± 1,3	20,5 ± 1,0	20,2 ± 0,8	19,6 ± 2,1	21,9 ± 1,4
ОЖСС, мкмоль/л	77,5 ± 2,8	74,6 ± 1,5	77,7 ± 1,9	80,3 ± 4,9	79,3 ± 3,3
КНТ, %	25,3 ± 1,8	26,5 ± 2,0	26,0 ± 1,1	23,5 ± 2,5	27,9 ± 2,0
Эритроциты, $\cdot 10^{12}/л$	4,6 ± 0,1	4,8 ± 0,1	4,7 ± 0,1	4,3 ± 0,2	4,8 ± 0,3
MCV, фл	83,5 ± 1,4	83,3 ± 0,9	84,1 ± 0,9	83,0 ± 2,4	82,3 ± 1,1
MCH, пг	29,0 ± 0,7	29,4 ± 0,5	28,9 ± 0,4	28,5 ± 1,2	29,3 ± 0,5
MCHC, г/л	345,5 ± 3,2	352,6 ± 3,3	343,4 ± 1,8	343,4 ± 4,5	356,8 ± 1,7
Гематокрит, ед.	0,4 ± 0,01	0,4 ± 0,01	0,4 ± 0,01	0,4 ± 0,02	0,4 ± 0,02

Примечание. СЖ – сывороточное железо; ОЖСС – общая железосвязывающая способность сыворотки; КНТ – коэффициент насыщения трансферрина железом; MCV – средний объем эритроцита; MCH – среднее содержание гемоглобина в эритроците; MCHC – средняя концентрация гемоглобина в эритроците.

ХСН, а по мере усугубления тяжести ХСН активность фермента постепенно снижалась. Повышение уровня НАГ в моче установлено у 71% пациентов с I ФК, у 67% пациентов со II ФК и у 60% пациентов с III-IV ФК. Показатель НАГ у пациентов с I и II ФК достоверно превышал таковой в контрольной группе (табл. 2).

Снижение суточного диуреза отмечалось у всех больных, составив при I ФК 92%, II ФК – 85%, III-IV ФК – 72% от среднего значения в контрольной группе. Снижение суточного диуреза происходило в основном за счет уменьшения скорости диуреза в дневные часы ($p < 0,001$, табл. 3). Статистически достоверное снижение ночного диуреза по отношению к соответствующему показателю в контрольной группе зарегистрировано лишь у больных с III-IV ФК.

Сдвиги суточного ритма диуреза, по сравнению средних величин отношения ДД/НД, значительно более выражены при I и II ФК. Так, ДД/НД у больных с I ФК составлял $0,89 \pm 0,07$ (в контрольной группе – $1,2 \pm 0,08$; $p < 0,05$), со II ФК – $0,84 \pm 0,04$ ($p < 0,01$). У больных с III-IV ФК – $0,98 \pm 0,06$ ($p > 0,05$).

Диапазон колебаний относительной плотности мочи у большинства больных оставался в пределах нормы (7-30). Менее 7 он определялся у $7 \pm 3\%$ больных с I ФК, у $19 \pm 4\%$ – со II ФК, и у $23 \pm 5\%$ – с III-IV ФК. В целом, сдвиги во всех группах по средним величинам статистически незначимы.

В группе пациентов с I ФК концентрация ге-

моглобина составила $139,6 \pm 2,7$ г/л, со II ФК – $136,2 \pm 1,8$ г/л, с III-IV ФК – $122,0 \pm 6,4$ г/л, в контрольной группе – $139,4 \pm 4,8$ г/л. Выявлены достоверные различия между показателями в контрольной группе и у больных с III-IV ФК ($p < 0,05$). Число пациентов с уровнем гемоглобина менее 120 г/л увеличивается при прогрессировании ХСН: при I ФК – 0%, при II ФК – в 5% случаев (у 3 человек из 45), в 30% (у 3 человек из 10) при III-IV ФК.

При исследовании показателей обмена железа (СЖ, ОЖСС, КНТ) и анализе количества эритроцитов, значений гематокрита и эритроцитарных индексов достоверных различий между больными с ХСН по группе в целом и группой контроля выявлено не было (табл. 4).

Вместе с тем, наблюдалось снижение гематокрита у больных с III-IV ФК до 0,35, тогда как у пациентов с I и II ФК он составлял 0,40 ($p < 0,05$).

При определении уровня сывороточного ферритина выявлены достоверные различия между показателями в группе контроля и у пациентов II, III-IV ФК. В контрольной группе уровень ферритина в сыворотке составлял $51,0 \pm 18,1$ нг/мл, у больных с ХСН II ФК – $87,5 \pm 17,5$ ($p < 0,05$), III-IV ФК – $152,0 \pm 20,3$ ($p < 0,01$).

Исследована корреляция между показателями гемоглобина и функционального состояния почек (СКФ, МАУ, НАГ). Достоверная взаимосвязь не установлена (табл. 5).

Анализ связей между показателями гемоглобина и функционального состояния почек

Показатели	I ФК, n=22		II ФК, n=45		III-IV ФК, n=10	
	r	p	r	p	r	p
Гемоглобин и НАГ	0,77	> 0,05	- 0,02	> 0,05	- 0,46	> 0,05
Гемоглобин и МАУ	0,25	> 0,05	- 0,13	> 0,05	- 0,82	> 0,05
Гемоглобин и СКФ	0,42	> 0,05	0,07	> 0,05	0,11	> 0,05

НАГ – N – ацетил – β – D – гексозаминидаза, МАУ – микроальбуминурия
СКФ – скорость клубочковой фильтрации.

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что определение активности ферментов в моче может служить важным критерием степени повреждения канальцевого аппарата почек при различных патологических процессах [8]. В зависимости от степени повреждения в мочу последовательно выделяются ферменты с различной внутриклеточной локализацией. Так, при незначительной и средней степени повреждения почек в моче повышается активность ферментов, связанных с щеточной каймой (цитоплазматических и лизосомальных). При значительном повреждении почек происходит повышение содержания митохондриальных ферментов в моче, что, как правило, соответствует некрозу клеток [9]. НАГ – лизосомальный фермент, повышенная активность которого характерна для поражения проксимальных канальцев [10]. Максимальное повышение его активности при I ФК ХСН соответствует незначительным почечным повреждениям, снижение активности НАГ при прогрессировании ХСН можно расценить как нарастающее повреждение канальцевого аппарата почек.

Тест на МАУ рассматривается сегодня как ранний маркер поражения почек, клубочкового аппарата и дисфункции эндотелия [11]. Анализ полученных данных показал, что у больных с ХСН на фоне отсутствия белка в разовой утренней порции мочи, определяемого обычными методами, имеет место повреждение клубочкового аппарата почек, о чем и свидетельствует выявленная МАУ. Степень МАУ коррелирует с нарастанием ФК ХСН (III–IV ФК). Учитывая достоверное повышение активности НАГ, в сравнении с контрольной группой, уже при I ФК ХСН, а выявление МАУ только у больных с III–IV ФК можно предполагать, что у больных с ХСН канальцевое поражение предшествует повреждению клубочков.

В известной мере этому соответствуют и результаты анализа СКФ. При определении СКФ выявлено, что степень снижения СКФ коррелирует с нарастанием ФК ХСН: при I–II ФК – незначительно, при III–IV ФК – достоверно, что можно,

вероятно, объяснить включением на ранних стадиях ХСН внутривисцеральных компенсаторных механизмов, направленных на поддержку фильтрации. Не исключена в этом смысле роль ренин-ангиотензин-альдостероновой системы. Известно, что ангиотензины – основные медиаторы почечной вазоконстрикции, оказывают активное сосудосуживающее действие не только на афферентные, но и на эфферентные артериолы и, тем самым, поддерживают давление, необходимое для гломерулярной фильтрации [12].

Между величиной СКФ и уровнем сыровоточного креатинина (СК) выявлены определенные взаимоотношения: нарастание СК по мере снижения СКФ, однако данная взаимосвязь не линейна. При умеренном уменьшении СКФ (пациенты с I–II ФК ХСН) СК увеличивается незначительно и начинает резко возрастать только у пациентов с III–IV ФК, когда СКФ снижается до 42 мл/мин. Этот факт еще раз подтверждает мнение, что СКФ, а не СК, является показателем повреждения почек, особенно на ранних стадиях ХСН.

При нарастании симптомов сердечной недостаточности наблюдалось снижение суточного диуреза. Закономерное преобладание НД над ДД отмечалось лишь на ранних этапах развития сердечной недостаточности. Несмотря на наступающую олигурию, диапазон колебаний относительной плотности мочи наблюдался в пределах нормы. Вместе с тем, у больных с III–IV ФК наблюдалось учащение случаев, с уменьшенным диапазоном колебаний относительной плотности мочи.

Концентрация гемоглобина у пациентов с ХСН достоверно снижается по мере нарастания сердечной недостаточности: от 139,6 г/л у больных с I ФК до 122,0 г/л у пациентов с III–IV ФК. По мере прогрессирования сердечной недостаточности увеличивается число пациентов с концентрацией гемоглобина менее 120 г/л. Считается, что уровень гематокрита является независимым фактором смертности при ХСН [13, 14]. Снижение гематокрита на 1% увеличивает смертность на 2% в течение года [13, 15]. Среди пациентов с ХСН снижение гематокрита наблюдалось при III–IV ФК. Таким образом, у пациентов с III–IV ФК (среднее значение гематокрита составило 0,35) возрастает риск смерти по сравнению с пациентами с I и II ФК (гематокрит – 0,40).

Учитывая нормальные показатели обмена железа (СЖ, КНТ, ОЖСС), повышенный уровень ферритина у пациентов с III–IV ФК и нарастающее снижение концентрации гемоглобина по мере усугубления

губления ХСН, можно предположить, что анемия в этих случаях относится к железоперераспределительным, которая обусловлена нарушением перемещения железа из депо в плазму крови и далее к эритрокариоцитам. При обследовании больных с ХСН мы не обнаружили взаимосвязи между функциональным состоянием почек и уровнем гемоглобина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. N – ацетил – β – D – гексозаминидаза – маркер раннего поражения канальцевого аппарата почек, ее достоверное повышение характерно для низких ФК ХСН (ФК I – II). Иными словами, канальцевое поражение у больных ХСН предшествует клубочковому повреждению почек. На начальных этапах ХСН у пациентов имеет место незначительное снижение скорости клубочковой фильтрации, по мере прогрессирования ХСН фильтрация значительно снижается, одновременно прогрессирует микроальбуминурия.

2. Концентрация в крови гемоглобина и показателя гематокрита также снижается по мере прогрессирования ХСН. Анемия носит железоперераспределительный характер. Связь между концентрацией гемоглобина и показателями функционального состояния почек не выявлена.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Шишкин АН, Бирюкова ЕН, Чупалова ТВ и др. Микроальбуминурия у больных с сердечной недостаточностью. *Нефрология* 2002; 6 (4): 45-49
2. Кобалава ЖД, Дмитрова ТБ. Кардиоренальный синдром. *Русский медицинский журнал* 2003; 11 (12): 20-28

3. Шилов АМ, Мельник МВ, Сарычева АА. Анемии при сердечной недостаточности. *Русский медицинский журнал* 2003; 11(9): 40-42
4. Преображенский ДВ, Воробьев ПА, Некрасова НИ и др. Анемия у больных с хронической сердечной недостаточностью: распространенность и клиническое значение. *Клиническая геронтология* 2005; 10: 40-43
5. O'Meara E, Murphy C, McMurray JJ. Anemia and heart failure. *Curr Heart Fail Rep* 2004; 1(4): 176-82
6. Mattix H, Hsu C, Curhan G. Use of the albumin/creatinine ratio to detect microalbuminuria: Implications of sex and race. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 1034 –1039
7. Jager A, Kostense PJ, Ruhe HG et al. Microalbuminuria and peripheral arterial disease are independent predictors of cardiovascular and all-cause mortality, especially among hypertensive subjects: Five-year follow-up of the Hoorn Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 617–624
8. Damsgaard EM, Froland A, Jorgensen OD, Mogensen CE Microalbuminuria as predictor of increased mortality in elderly people. *BMJ* 1990; 300: 297
9. Намазова ОС. Исследование ферментов мочи в диагностике поражений почек. *Педиатрия* 1996; 3: 83-86
10. Шараев ПН, Габдрахманова НК, Стрелкова ТН, Сахабутдинова ЕП. Способ определения активности – ацетил – β – D – гексозаминидазы в моче. *Клин лаб диагностика* 2004; 5: 40-42
11. Гринштейн ЮИ, Шабалин ВВ. Доклиническая диагностика поражения почек при гипертонической болезни. *Тер арх* 2004; 4: 40-43
12. Сычева ЮА, Кирсанов АИ. Нарушение функции почек и их коррекция периндоприлом у больных ишемической болезнью сердца с сердечной недостаточностью. *Нефрология* 2003; 7(2): 62-66
13. Анемия – скрытая эпидемия. «МегаПро», М., 2004; 27-32
14. Anand IS. Pathogenesis of anemia in cardiorenal disease. *Rev Cardiovasc Med* 2005; 6: 13-21
15. McCullough PA, Lepor NE. Piecing together the evidence on anemia: the link between chronic kidney disease and cardiovascular disease. *Rev Cardiovasc Med* 2005; 6: 4-12

Поступила в редакцию 06.03.2007 г.

Принята в печать 07.06.2007 г.

© М.М.Волков, В.А.Добронравов, В.И.Ларионова, П.В.Глазков, 2007
УДК 616.61-008.64-036.12-085.38:611.73

М.М. Волков, В.А. Добронравов, В.И. Ларионова, П.В. Глазков

ФАКТОРЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ СО СНИЖЕНИЕМ МИНЕРАЛЬНОЙ ПЛОТНОСТИ КОСТЕЙ РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛОВ СКЕЛЕТА У БОЛЬНЫХ НА ГЕМОДИАЛИЗЕ

M.M. Volkov, V.A. Dobronravov, V.I. Larionova, P.V. Glazkov

FACTORS ASSOCIATED WITH THE DECREASED MINERAL DENSITY OF BONES OF DIFFERENT PARTS OF THE SKELETON IN HEMODIALYSIS PATIENTS

Кафедра пропедевтики внутренних болезней, Научно-исследовательский институт нефрологии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им.акад. И.П.Павлова, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Определить факторы, связанные с развитием остеопении и остеопороза разных отделов скелета у пациентов на хроническом гемодиализе (ГД), помимо показателей фосфорно-кальциевого обмена. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия (ДЭРА) 3 отделов скелета с оценкой минеральной плотности костей (МПК) по Z-критерию выполнена у 58 больных (м/ж – 29/29, средний возраст 49,8±13,3 ($\bar{X} \pm SD$) лет, получающих хронический бикарбонатный гемодиализ в среднем 74,3±70,1 мес. У 30 пациентов изучен генетический полиморфизм рецептора витамина D₃. Оценивали длительность менопаузы у женщин, наличие вирусного гепатита В и С, интенсивность курения, злоупотребление алкоголем, физическую активность, терапию глюкокортикостероидами (ГКС) и цитостатиками (ЦС), наличие трансплантаций почек в анамнезе. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** На МПК поясничных позвонков влияет генетический полиморфизм рецептора витамина D₃ TAQI: при генотипе tt МПК была выше по сравнению с Tt и TT ($F=3,39$, $p_{\text{anova}}=0,049$). Также определялась прямая связь МПК с количеством лейкоцитов крови ($R_s=0,33$; $p=0,015$). МПК проксимального отдела бедра была выше у пациентов с большей массой тела ($R_s=0,57$; $p<0,001$), большим числом лейкоцитов крови ($R_s=0,35$; $p=0,012$). МПК предплечья зависело от множества факторов. Выявлена обратная связь с длительностью ГД ($R_s=-0,49$; $p<0,001$), длительностью терапии ГКС ($R_s=-0,34$; $p=0,028$), и ЦС ($R_s=-0,54$; $p<0,001$), аллотрансплантациями почек в анамнезе ($R_s=-0,41$; $p=0,002$), наличием вирусного гепатита В, С или их сочетанием ($R_s=-0,35$; $p=0,009$), высоким уровнем АЛТ крови ($R_s=-0,39$; $p=0,004$) и позитивная: с уровнем холестерина ($R_s=0,45$; $p<0,001$) и альбумина крови ($R_s=0,37$; $p=0,012$). С длительностью ГД были связаны количество лейкоцитов крови ($R_s=-0,30$; $p<0,001$), наличие вирусного гепатита ($R_s=0,54$; $p<0,001$). **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Выявлена связь МПК позвонков с генетическим полиморфизмом рецептора витамина D₃. МПК предплечья коррелирует с большим числом факторов: длительностью лечения гемодиализом, проводимой терапией ГКС и ЦС, наличием трансплантаций почки в анамнезе, некоторыми лабораторными показателями нутриционного статуса.

Ключевые слова: гемодиализ, почечные остеодистрофии, минеральная плотность костей, двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия, гиперпаратиреоз, генетический полиморфизм рецептора витамина D₃.

ABSTRACT

THE AIM of the investigation was to determine factors associated with the development of osteopenia and osteoporosis of different parts of the skeleton in chronic hemodialysis patients besides the indices of phosphoro-calcium metabolism. **PATIENTS AND METHODS.** Dual X-ray absorptiometry of 3 parts of the skeleton with the estimation of the bone mineral density (BMD) by Z-criterion was fulfilled in 58 patients (m/w – 29/29, mean age 49.8±13.3 years ($\bar{X} \pm SD$) treated by chronic bicarbonate hemodialysis (HD) on average for 74.3±70.1 months. Genetic polymorphism of the vitamin D₃ receptor was studied in 30 patients. Under estimation there were the duration of menopause in women, the presence of viral hepatitis B and C, intensity of smoking, alcohol abuse, physical activity, therapy with glucocorticosteroids (GCS) and cytostatics (CS), history of transplantation of the kidneys. **RESULTS.** BMD of the lumbar vertebra is influenced by genetic polymorphism of the vitamin D₃ receptor TAQI: in tt genotype BMD was higher as compared with Tt and TT ($F=3.39$, $p_{\text{anova}}=0.049$). In addition, a direct correlation between BMD and the number of blood leukocytes ($R_s=0.33$; $p=0.015$) was also determined. BMD of the proximal part of the femur was higher in patients with greater body mass ($R_s=0.57$; $p<0.001$), greater number of leukocytes ($R_s=0.35$; $p=0.012$). BMD of the forearm was dependent on many factors. The negative feedback was found with the duration of HD ($R_s=-0.49$; $p<0.001$), duration of GCS therapy ($R_s=-0.34$; $p=0.028$), and CS therapy ($R_s=-0.54$; $p<0.001$), allotransplantations of the kidneys in anamnesis ($R_s=-0.41$; $p=0.002$), the presence of viral hepatitis B and C or their combination ($R_s=-0.35$; $p=0.009$), high level of blood ALT ($R_s=-0.39$; $p=0.004$) and positive: with the cholesterol level ($R_s=0.45$; $p<0.001$) and blood albumin ($R_s=0.37$; $p<0.012$). The number of blood leukocytes and the presence of viral hepatitis ($R_s=0.54$; $p<0.001$) were associated with the duration of HD. **CONCLUSION.** A relationship was revealed between BMD of the vertebra and the genetic polymorphism of the vitamin D₃ receptor. BMD of the forearm correlated with a great number of factors: duration of hemodialysis treatment, GCS and CS therapy, the presence of allotransplantations of the kidneys in anamnesis, certain laboratory indices of the nutritional status.

Key words: hemodialysis, renal osteodystrophies, mineral density of bones, dual X-ray absorptiometry, hyperparathyroidism, genetic polymorphism of the vitamin D₃ receptor.

ВВЕДЕНИЕ

У всех больных, находящихся на лечении гемодиализом (ГД), имеется тот или иной вариант почечной остеодистрофии: фиброзный остеоит, легкая гиперпаратиреоидная болезнь костей, смешанная уремическая остеодистрофия, адинамическая болезнь костей, остеомалация [1]. Любая из этих форм может проявляться снижением минеральной плотности костей (МПК). Низкая МПК ассоциируется со снижением выживаемости [2,3], сердечно-сосудистой кальцификацией [4–7], переломами костей [8]. У гемодиализных пациентов на МПК может влиять множество факторов. Кроме показателей фосфорно-кальциевого обмена имеются неполные и противоречивые сведения о влиянии других факторов – генетического полиморфизма рецепторов витамина D [9–16], воспаления [17], состояния питания [3, 17], наличия трансплантаций почки в анамнезе [18–20] длительности менопаузы у женщин [21] и других.

Поэтому **целью** данной работы является определение факторов, связанных с развитием остеопении и остеопороза разных отделов скелета, помимо показателей фосфорно-кальциевого обмена у пациентов на хроническом гемодиализе (ГД).

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 58 больных, получающих хронический бикарбонатный ГД в течение $74,3 \pm 70,1$ мес. Средний возраст пациентов составлял $49,8 \pm 13,3$ лет, мужчин и женщин было по 29 человек. Больные хроническим гломеруло-нефритом составляли 63,8%. Хронические вирусные гепатиты В, С или их сочетание были диагностированы у 39,7% пациентов. Терапия ГКС проводилась в анамнезе у 22,7%, ЦС – у 16,0% пациентов. Аллотрансплантации почки были выпол-

нены только у 8,8% наблюдаемых пациентов. Основные показатели пациентов представлены в табл.1.

У всех пациентов помимо обычных клинических и биохимических показателей была выполнена двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия (ДЭРА) на аппарате Hologic QDR 4500C с определением средних значений МПК трех отделов скелета: поясничных позвонков, проксимального отдела бедра и предплечья. Для оценки МПК использован Z-критерий, который, в отличие от T-критерия, не зависит от возраста, пола пациентов. Значения МПК более -1 считались нормой, от -1 до -2,5 – остеопенией, менее -2,5 – остеопорозом.

У 30 пациентов определен генетический полиморфизм рецептора витамина D₃ (полиморфизмы BSM1, APA1, TAQ1).

Учитывались возможные факторы риска остеопении: наличие менопаузы и длительность аменореи у женщин, табакокурение (среднее количество сигарет в день и длительность курения в годах), физическая активность (ходьба в километрах в день в среднем), терапия ГКС, ЦС (длительность и средние дозы), наличие трансплантаций почек в анамнезе.

Математическую обработку данных проводили с использованием лицензионного пакета прикладных статистических программ SPSS v.11.0. Применяли методы параметрический (сравнение показателей по t-критерию, множественный линейный регрессионный анализ, однофакторный дисперсионный анализ) и непараметрической статистики (ранговые корреляции Спирмена, U-тест Манна-Уитни). Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы (об отсутствии различий и влияний) принимали равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Обнаружена связь между МПК поясничных позвонков и TAQ1 – полиморфизмом рецептора витамина D₃: у пациентов генотипом tt МПК оказалась выше по сравнению с Tt и TT (рис. 1).

Различий в МПК с другими типами генетического полиморфизма рецептора витамина D₃ не выявлено. Выявлена прямая связь между МПК позвонков и количеством лейкоцитов периферической крови ($R_s=0,33$; $p=0,015$).

При анализе влияния факторов на МПК бедра обнаружена прямая зависимость от числа лейкоцитов крови ($R_s=0,34$; $p=0,013$). Эти данные подтверждаются методом однофакторного дисперсионного анализа (рис. 2).

В свою очередь, количество лейкоцитов крови было связано обратной зависимостью ($R^2=0,21$,

Таблица 1
Клинико-лабораторная характеристика пациентов

Показатели больных (n=58)	$\bar{X} \pm SD$	Пределы колебаний
Возраст, годы	$49,8 \pm 13,3$	19-70
Масса тела, кг	$69,2 \pm 15,1$	41-123
Длительность ГД, мес.	$74,3 \pm 70,1$	3-264
КТ/V по Daugirdas	$1,33 \pm 0,29$	0,84-2,66
Гемоглобин, г/л	$91,2 \pm 20,7$	57,5-162,9
Лейкоциты крови, 10^9 /л	$5,85 \pm 1,60$	3,00-9,40
АЛТ, Е/л	$19,2 \pm 11,0$	8,00-67,7
Фосфор до ГД, ммоль/л	$1,92 \pm 0,63$	0,72-3,42
Кальций до ГД, ммоль/л	$2,22 \pm 0,25$	1,5-2,9
Кальций x фосфор, ммоль ² /л ²	$4,30 \pm 1,46$	1,74-7,59
Щелочная фосфатаза, МЕ/л	$136,0 \pm 119,9$	45,1-705,2
Паратгормон, пг/мл	532 ± 438	30-2144
Холестерин, ммоль/л	$4,90 \pm 1,17$	2,81-7,56
Альбумин, г/л	$34,3 \pm 4,3$	20,3-46,4

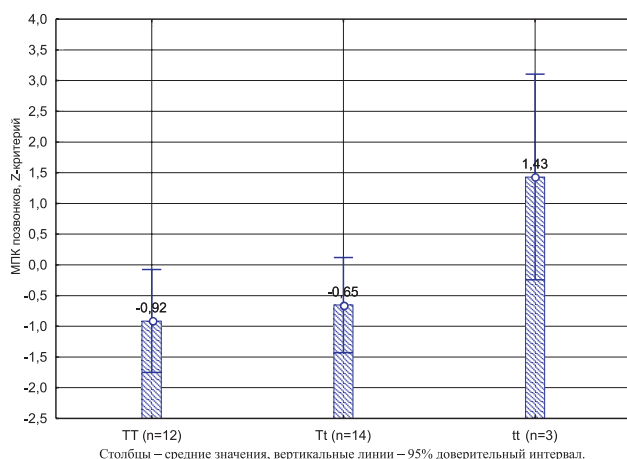


Рис. 1. Влияние генетического полиморфизма TAQ1 на МПК позвонков ($F=3,39$; $p_{\text{anova}}=0,049$).

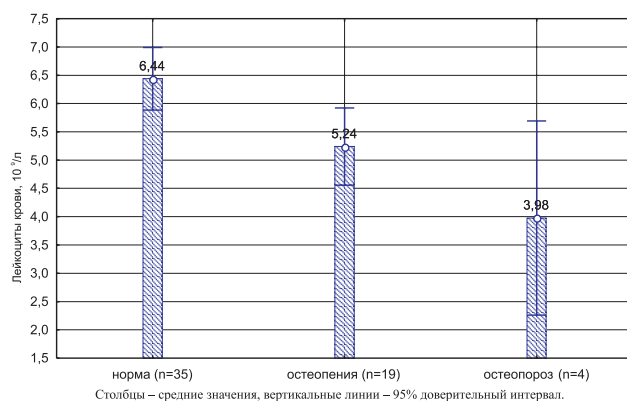


Рис. 2. Связь между МПК бедра и количеством лейкоцитов крови ($F=6,32$; $p_{\text{anova}}=0,0037$).

$F=19,7$; $p<0,001$) с длительностью ГД ($t=-4,22$; $p<0,001$) и уровнем паратгормона ($t=-3,88$; $p<0,001$).

С МПК предплечья связаны значительно большее количество показателей по сравнению с позвонками и проксимальным отделом бедра (табл. 2).

Можно выделить несколько факторов или групп признаков, связанных со снижением МПК предплечья. С длительностью диализного лечения тесно связаны такие показатели как наличие вирусного гепатита ($R_s=0,54$; $p<0,001$), уровень АЛТ ($R_s=0,32$;

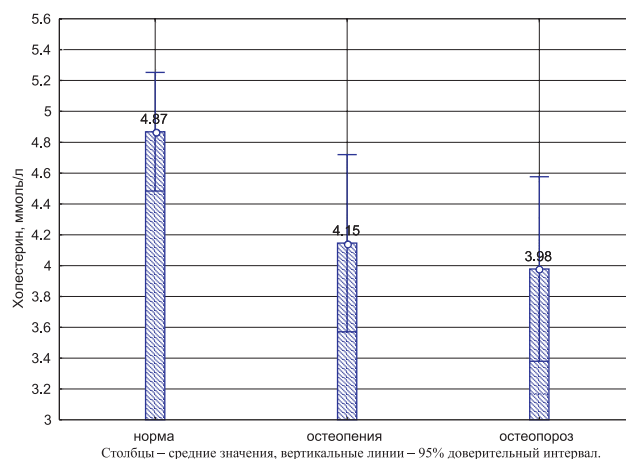


Рис. 3. Зависимость между уровнем холестерина сыворотки и МПК предплечья ($F=4,15$; $p_{\text{anova}}=0,021$).

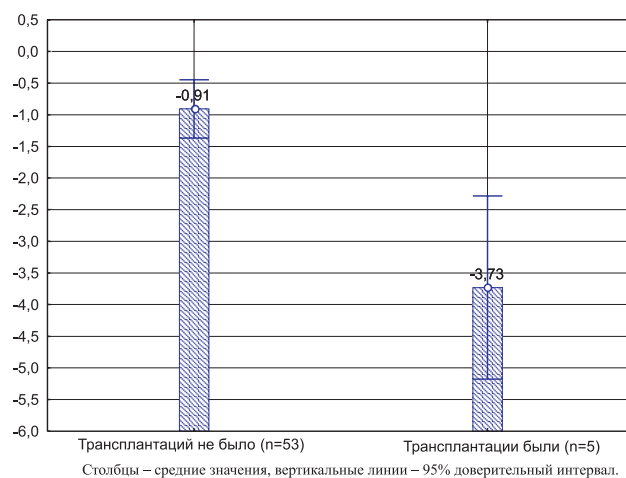


Рис. 4. Влияние трансплантаций почек в анамнезе на МПК предплечья ($t=3,73$; $p<0,001$).

$p<0,001$), а также количество лейкоцитов крови ($R_s=-0,32$; $p>0,001$). Так продолжительность диализной терапии в группе пациентов без гепатита составляла $48,5\pm 47,1$ мес. и была намного меньше, чем в группе пациентов с тем или иным вариантом хронического вирусного гепатита ($124,4\pm 68,7$ мес.; M-W U-test: $Z=8,82$; $p<0,001$). Наличие трансплантации почек тесно связано с длительной терапией ГКС ($R_s=0,59$; $p<0,001$) и цитостатиками ($R_s=0,94$; $p<0,001$). С другой стороны, ХС был выше у пациентов ($R^2=0,076$; $F=7,41$; $p<0,001$) с большей массой тела ($t=2,84$; $p=0,005$) и более высоким альбумином крови ($t=2,55$; $p=0,012$).

Зависимость между уровнем холестерина сыворотки и МПК показана на рис. 3: у лиц с более высокими значениями холестерина была выше МПК.

У пациентов с аллотрансплантацией почек в анамнезе МПК предплечья была ниже (рис. 4).

Факторы, влияющие на МПК предплечья (корреляционный анализ)

Показатель	R_s	t	p
Длительность ГД, мес	-0,49	4,14	<0,001
Наличие хр. вирусного гепатита (0-нет, 1-есть)	-0,35	2,70	0,009
Уровень АЛТ, МЕ/л	-0,39	2,99	0,004
Количество лейкоцитов крови (10^9 /л)	0,31	2,29	0,026
Трансплантация почки в анамнезе (0-нет, 1-есть)	-0,41	3,26	0,002
Длительность терапии ЦС, мес	-0,54	4,05	<0,001
Длительность терапии ГКС, мес	-0,34	2,28	0,028
Альбумин крови, г/л	0,37	2,61	0,012
Холестерин крови, ммоль/л	0,45	3,65	<0,001

Таблица 2

ОБСУЖДЕНИЕ

В исследуемой группе диализных пациентов со значительными вариациями уровня паратгормона (ПТГ), что позволяло предполагать различные формы почечной остеодистрофии, рассматривались другие факторы, способные повлиять на МПК разных отделов скелета.

На МПК поясничных позвонков оказывает влияние генетический полиморфизм рецептора витамина D₃. При связывании с рецептором паращитовидных желез витамин D подавляет синтез ПТГ, поэтому особенности структуры рецептора витамина D могут оказывать влияние на уровень ПТГ и течение почечной остеодистрофии. Мы изучали влияние на МПК скелета генетических полиморфизмов BSMI (генотипы BB, Bb, bb), ARAI (AA, Aa, aa) и TAQI (TT, Tt, tt). Из всех этих полиморфизмов мы обнаружили влияние TAQI, причем только на поясничный отдел позвоночника. При генотипе tt минеральная плотность позвонков была максимальной, при TT – минимальной. Влияние генотипов BSMI и ARAI мы не выявили. Литературные данные о значимости генетического полиморфизма рецептора витамина D неоднозначны и весьма противоречивы. Эта противоречивость обусловлена, вероятно, сложным характером взаимодействия генетических и средовых факторов, в частности, проводимой терапии. Есть данные об отсутствии влияния полиморфизмов BSMI, ARAI, TAQI, FOKI на гистологию костей [22]. Большинство же исследователей находили влияние генетического полиморфизма [9], хотя и не всегда сильное [10]. При изучении влияния различных генетических полиморфизмов обнаружено, что BB-генотип BSMI приводит к более быстрой потере костной массы у больных на ГД [11], а генотип bb оказывает протективный эффект [11,12] и сочетается с более высокой МПК проксимального отдела бедра [13]. Однако есть данные о более выраженном гиперпаратиреозе у пациентов с аллелем b [14]. Данные о влиянии полиморфизма ARAI на МПК неоднозначны. Так показана связь генного полиморфизма ARAI с функцией паращитовидных желез у больных на ГД [15]. Влияние полиморфизма ARAI на МПК поясничных позвонков показал NH Bell с соавт. [16], не подтвержденное другими исследователями [13]. В отношении генного полиморфизма TAQI есть данные о более высоких значениях МПК в межмышечковой области проксимального отдела бедра у пациентов с TT генотипом по сравнению с другими [13]. По нашим данным, складывается впечатление, что генный полиморфизм рецептора витамина D оказывает определенное влияние на МПК, причем только на осевой скелет.

В группе обследованных нами больных трансплантации почки в анамнезе приводили к негативному влиянию на МПК. Также обнаружено существенное неблагоприятное влияние длительной терапии ГКС и ЦС, которая проводилась во время функционирования почечного трансплантата и у части больных в додиализном периоде. Выявлено негативное влияние этой терапии на кости предплечья, но не на поясничный отдел позвоночника и проксимальный отдел бедренной кости. По литературным данным, после трансплантации почки снижалось МПК разных отделов скелета: только области бедра [18], шейки бедра и лучевой кости [19, 20].

Низкая МПК в обследованной группе больных сочеталась с низкими уровнями холестерина и альбумина сыворотки – показателями, в определенной мере отражающими нутриционный статус. Более низкие значения МПК наблюдали у пациентов с признаками мальнутриции: меньшей окружностью плеча и силой кисти [3].

У пациентов при наличии вирусных гепатитов В или С МПК была ниже. Обнаружена также обратная связь между порозностью костей и уровнем АЛТ. Мы показали, что МПК существенно зависит от длительности гемодиализной терапии. В группах пациентов с гепатитами и без гепатитов длительность ГД различалась значительно. Это позволяет предполагать, что связь между наличием гепатита с уровнем МПК может быть обусловлена разной длительностью диализного лечения в группах больных с наличием и отсутствием хронического гепатита, однако данная проблема нуждается в дальнейшем исследовании. Литературные данные по этому вопросу скудны: имеются лишь сведения об отсутствии различий в МПК в группах HCV-позитивных и негативных больных [23].

Мы обнаружили обратную зависимость между выраженностью лейкопении и снижением МПК. Этот факт можно объяснить тем, что при длительных сроках лечения гемодиализом наблюдается существенное снижение и лейкоцитов крови и МПК.

Не выявлено влияния на МПК интенсивности и длительности табакокурения, злоупотребления алкоголем, физической активности пациентов.

В литературе имеются сведения о неблагоприятном влиянии на МПК длительной менопаузы у женщин [21]. Мы этого влияния не обнаружили, так как для оценки МПК использовали Z-критерий, который не зависит от пола и возраста пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На МПК предплечья (по сравнению с проксимальным отделом бедра и поясничным отделом

позвоночника) оказывает влияние значительно большее число факторов, причем сами факторы различаются. МПК поясничных позвонков зависит от генетического полиморфизма рецептора витамина D. МПК предплечья снижается при длительном диализном лечении, длительной терапии ГКС и ЦС, наличии трансплантаций почек в анамнезе, некоторых лабораторных признаках мальнутриции. Неблагоприятное влияние хронического вирусного гепатита и лейкопении, вероятно, не имеет самостоятельного значения, а обусловлено их сочетанием с длительными сроками диализного лечения.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Moe S, Drueke T, Cunningham J et al. Definition, evaluation, and classification of renal osteodystrophy: A position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 2006; 69: 1945–1953
2. Taal MW, Roe S, Masud T et al. Total hip bone mass predicts survival in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int* 2003; 63(3): 1116–1120
3. Matsubara K, Suliman ME, Qureshi A et al. Factors associated with bone mineral density in CKD patients. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20 [suppl 5]: v84
4. Tomanoski V, Taleska N, Kovaceska V et al Vascular calcifications in haemodialysis patients with different types of renal osteodystrophy- the role of calcitonin. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21[suppl 4]: iv409
5. Kirkpantur A, Altun, Yilmaz R et al. The association of bone mineral density with coronary artery calcification in maintenance hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transpl* 2006; 21[suppl 4]: iv445
6. Rodriguez GM, Naves DM, Cannata AJB. Bone metabolism, vascular calcifications and mortality: associations beyond mere coincidence. *J Nephrol* 2005; 18(4):458–463
7. Fedak D, Kuzniewski M, Sulowicz W et al. Looking for association between vascular calcifications and bone mineral density in hemodialysed patients with end stage renal disease (ESRD). *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21[suppl 4]: iv412
8. Moe SM. Vascular calcification and renal osteodystrophy relationship in chronic kidney disease. *Eur J Clin Invest* 2006; 36 [Suppl 2]: 51–62
9. Fernandez E, Fibla J, Betriu A et al. Association between vitamin D receptor gene polymorphism and relative hypoparathyroidism in patients with chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8(10):1546–1552
10. Akiba T, Ando R, Kurihara S et al. Is the bone mass of hemodialysis patients genetically determined. *Kidney Int Suppl* 1997; 62: S69–71
11. Karkoszka H, Chudek J, Strzelczyk P et al. Vitamin D receptor gene polymorphism and the rate of bone loss of the femur neck and lumbar spine in hemodialized patients with chronic renal failure. *Pol Merkuriusz Lek* 1998; 5(28): 199–202
12. Falkiewicz K, Bidzinska B, Demissie M et al. Influence of vitamin D receptor gene polymorphisms on secondary hyperparathyroidism and bone density after kidney transplantation. *Transplant Proc* 2005; 37(2): 1023–1025
13. Langdahl BL, Gravholt CH, Brixen K, Eriksen EF. Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and bone mass, bone turnover and osteoporotic fractures. *Eur J Clin Invest* 2000; 30(7): 608–617
14. Nagaba Y, Heishi M, Tazawa H et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms affect secondary hyperparathyroidism in hemodialyzed patients. *Am J Kidney Dis* 1998; 32(3): 464–469
15. Yokoyama K, Shigematsu T, Tsukada T et al. Apa I polymorphism in the vitamin D receptor gene may affect the parathyroid response in Japanese with end-stage renal disease. *Kidney Int* 1998; 53(2): 454–458
16. Bell NH, Morrison NA, Nguyen TV et al. ApaI polymorphisms of the vitamin D receptor predict bone density of the lumbar spine and not racial difference in bone density in young men. *J Lab Clin Med* 2001; 137(2): 133–140
17. Joki N, Hase H, Imamura Y. Bone mineral density and vascular calcification. *Clin Calcium* 2005; 15(7): 131–136.
18. Barnas U, Schmidt A, Seidl G et al. A comparison of quantitative computed tomography and dual X-ray absorptiometry for evaluation of bone mineral density in patients on chronic hemodialysis. *Am J Kidney Dis* 2001; 37(6): 1247–1252
19. Kusec V, Smalcelj R, Cvijetic S. Parathyroid hormone and bone mass after kidney transplantation. *Acta Med Croatica* 2002; 56(1): 17–20
20. Stein MS, Packham DK, Ebeling PR et al. Prevalence and risk factors for osteopenia in dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1996; 28(4): 515–522
21. Михеева ЮС, Румянцев АШ, Есаян АМ, Балашов АТ. Факторы риска развития остеопении и остеопороза у больных на хроническом гемодиализе. *Нефрология* 2003; 7(4): 34–39
22. Kiyotaka K, Jiro U, Hironaka K et al. Association between vitamin D receptor gene polymorphisms and renal osteodystrophy in patients on maintenance hemodialysis. *Yonago Acta medica* 2000; 43: 27–38
23. Yucel AE, Kart-Koseoglu H, Isiklar I et al. Bone mineral density in patients on maintenance hemodialysis and effect of chronic hepatitis C virus infection. *Ren Fail* 2004; 26(2): 159–164

Поступила в редакцию 09.04.2007 г.

Принята в печать 07.06.2007 г.

© А.Ж.Карабаева, А.М.Есаян, И.Г.Каюков, М.М.Тимофеев, О.В.Волкова, А.Д.Христенко, 2007
УДК 616.61-008.64-036.12-085.38-08]:577.175.532+611.018.74

А.Ж. Карабаева, А.М. Есаян, И.Г. Каюков, М.М. Тимофеев, О.В. Волкова, А.Д. Христенко

ВЛИЯНИЕ ТЕРАПИИ СПИРОНОЛАКТОНОМ НА УРОВЕНЬ АЛЬДОСТЕРОНА И ДИСФУНКЦИЮ ЭНДОТЕЛИЯ У БОЛЬНЫХ НА ПРОГРАММНОМ ГЕМОДИАЛИЗЕ

A.Zh. Karabaeva, A.M. Essaian, I.G. Kayukov, M.M. Timofeev, O.V. Volkova, A.D. Khristenko

THE INFLUENCE OF SPIRONOLACTONE THERAPY ON THE LEVEL OF ALDOSTERONE AND DYSFUNCTION OF THE ENDOTHELIUM IN PROGRAMMED HEMODIALYSIS PATIENTS

Кафедра нефрологии и диализа факультета последипломного обучения Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, городская клиническая больница № 15, Санкт-Петербург, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ: оценить влияние терапии спиронолактоном на уровень альдостерона крови и состояние функции эндотелия у больных с хронической болезнью почек (ХБП) V стадии на программном гемодиализе. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Обследовано 83 пациента с ХБП V стадии на программном гемодиализе. Проведено определение уровня альдостерона в плазме крови, оценка функционального состояния эндотелия с помощью биохимических маркеров – ингибитора активатора плазминогена 1 типа (PAI-1), тканевого активатора плазминогена (t-PA), эндотелина-1 до и после 6-месячного курса терапии спиронолактоном. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** У всех больных исходно имелось значительное повышение уровня альдостерона плазмы крови – $478 \pm 99,96$ пг/мл (норма – до 160 пг/мл). На фоне терапии спиронолактоном отмечено достоверное снижение уровня альдостерона до $346,45 \pm 58,1$ пг/мл ($p=0,009$), достоверное снижение активности маркеров эндотелиальной дисфункции: эндотелина-1 с $0,63 \pm 0,09$ фмоль/мл до $0,23 \pm 0,03$ ($p=0,002$), PAI-1 с $5,69 \pm 0,24$ до $3,06 \pm 0,25$ У/мл ($p<0,001$); повышение уровня t-PA с $5,03 \pm 0,3$ до $5,64 \pm 0,3$ нг/мл. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ:** терапия спиронолактоном у больных на программном гемодиализе приводит к снижению уровня альдостерона крови и улучшению состояния эндотелиальной функции.

Ключевые слова: хроническая почечная недостаточность, гемодиализ, эндотелиальная дисфункция, альдостерон, спиронолактон.

ABSTRACT

THE AIM of the investigation was to assess the influence of spironolactone therapy on the level of blood aldosterone and state of the epithelium functioning in program hemodialysis patients with V stage chronic kidney disease (CKD). **PATIENTS AND METHODS.** In examination of 83 program hemodialysis patients with V stage CKD the following parameters were studied: the level of blood plasma aldosterone, the functional state of the epithelium assessed using biochemical markers - 1 type plasminogen activator inhibitor (PAI-1), tissue plasminogen activator (t-PA), endothelin-1 before and after a 6-month course of spironolactone therapy. **RESULTS.** All the patients initially had a considerably elevated level of blood aldosterone - 478 ± 99.96 pg/ml (norm – up to 160pg/ml). Against the background of spironolactone therapy a considerably decreased level of aldosterone to 346.45 ± 58.1 pg/ml ($p=0.009$) was noted and a considerably decreased activity of the endothelium dysfunction markers: endothelin-1 from 0.63 ± 0.09 fmol/ml to 0.23 ± 0.03 ($p=0.002$), PAI-1 from 5.69 ± 0.24 to 3.06 ± 0.25 U/ml ($p<0.001$); elevated level of t-PA from 5.03 ± 0.3 to 5.64 ± 0.3 ng/ml. **CONCLUSION.** The spironolactone therapy in program hemodialysis patients results in lower level of aldosterone in blood and better state of the endothelial function.

Key words: chronic renal failure, hemodialysis, endothelial dysfunction, spironolactone.

ВВЕДЕНИЕ

Пациенты с терминальной стадией почечной недостаточности, получающие лечение программным гемодиализом, имеют высокий риск развития сердечно-сосудистой патологии, что значительно сокращает продолжительность их жизни [1]. Проспективные исследования среди пациентов с умеренным нарушением функции почек показали, что снижение скорости клубочковой фильтрации ассо-

циируется с повышенной сердечно-сосудистой заболеваемостью и смертностью [2, 3]. Снижение почечной функции характеризуется закономерной гиперактивацией ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС), которая играет особую роль в регуляции сосудистого тонуса и пролиферативной активности клеток меди. Этот эффект реализуется через гиперпродукцию альдостерона и ангиотензина II (А II).

В настоящее время альдостерон рассматривается (как в совокупности с А II, так и самостоятельно) в качестве основного фактора, определяющего повреждение почек и сердечно-сосудистой системы [4–6]. Свое действие альдостерон оказывает через стимуляцию специфических минерал-кортикоидных рецепторов (МР). Исследованиями последнего десятилетия идентифицированы, помимо классических эпителиальных, и неэпителиальные МР, локализованные в миокарде, сосудах, центральной нервной системе [7]. Именно с воздействием на эти неэпителиальные МР связано воздействие альдостерона на патологию сердечно-сосудистой системы.

В образовании А II, как известно, ключевую роль играет ангиотензин I-превращающий фермент (АПФ), присутствующий в эндотелиальных клетках, что обеспечивает образование А II на поверхности эндотелия. Выраженное вазоконстрикторное действие А II реализуется стимуляцией специфических рецепторов, локализованных на эндотелиальных и гладкомышечных клетках, что приводит к гиперпродукции мощного вазоконстриктора эндотелина-1 и главного ингибитора фибринолитической системы PAI-1. Кроме того, А II усиливает апоптоз эндотелиоцитов и вызывает миграцию и пролиферацию гладких миоцитов, что имеет большое значение в сосудистом ремоделировании. Вышеуказанные изменения приводят к состоянию хронической активации эндотелия, трансформирующейся в дальнейшем в дисфункцию эндотелия (ДЭ), непременным условием развития которой также является гиперактивация РААС.

В многочисленных эпидемиологических исследованиях ДЭ оценивалась поднятыми плазменными уровнями PAI-1, фактора Виллебранда, клеточных молекул адгезии, изменением эндотелий-зависимой вазодилатации сосудов предплечья в ответ на стимуляцию ацетилхолином, либо наличием сужений артерий сетчатки [8–11].

С целью коррекции указанных нарушений пациентам с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) к стандартной терапии добавляют блокатор альдостероновых рецепторов спиронолактон. Как показано в рандомизированное плацебо-контролируемое исследование RALES Mortality Trial [12], обнаружена значительно более низкая смертность в группе больных, леченных спиронолактоном, по сравнению с контрольной группой. Смертность от всех причин в группе больных, леченных спиронолактоном, была на 27% ниже, чем среди больных, получавших плацебо (95%-й доверительный интервал от 14 до 37%; $P=0,0001$). Смертность от сер-

дечных причин снизилась на 31%, общее число госпитализаций – примерно на 17%, а госпитализаций в связи с декомпенсацией ХСН – примерно на 36%. Общее число случаев смерти и госпитализаций при добавлении спиронолактона уменьшилось примерно на 22% ($P<0,0002$).

Проведены также исследования, изучающие применение спиронолактона у пациентов на хроническом гемодиализе, согласно которым у пациентов с олигоанурией допустимо применение малых доз спиронолактона без риска получения значимой гиперкалиемии. Малые дозы препарата, не оказывая значительного влияния на уровень калия, способствуют блокированию неблагоприятных эффектов альдостерона в неэпителиальных тканях [13, 14]. Однако исследования эти немногочисленны и выполнены на небольшом числе пациентов, остаются неуточненными механизмы влияния альдостерона на течение ХБП и ее осложнений у пациентов с терминальной стадией почечной недостаточности, получающих лечение программным гемодиализом. В связи с этим целью нашего исследования явилась оценка влияния терапии спиронолактоном на уровень альдостерона крови и состояние функции эндотелия у больных с ХБП V стадии на программном гемодиализе.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Нами обследовано 83 пациента с ХБП V стадии, получающих лечение программным гемодиализом. Характеристика обследованных представлена в табл. 1.

Как видно из табл. 1, большинство больных (66,3%) страдает различными формами хронического гломерулонефрита. Средняя длительность терапии гемодиализом составила $7,8 \pm 0,5$ лет. Из 83 пациентов у 67 (80,7%) течение основного заболевания осложнилось развитием артериальной гипертензии. При этом средняя длительность гипертензии составила $13,3 \pm 1$ лет. У обследованных определялись концентрация альдостерона плазмы (КАП, иммуноферментный анализ), уровень PAI-1 (метод хромогенных субстратов), t-PA и эндотелина-1 (иммуноферментный анализ) до и после 6-месячного курса терапии спиронолактоном в дозе

Таблица 1
Контингент обследованных (n=83)

Диагноз	Число больных	Возраст, лет	М/Ж
ХГН	55	48 ± 2	28/27
ПН	9	43 ± 5	8/1
Сахарный диабет	4	42 ± 4	1/3
Поликистоз почек	11	50 ± 3	4/7
ГБ	4	49 ± 1	2/2

Таблица 2

Уровни КАП, PAI-1, t-PA, эндотелина-1 до и после лечения спиронолактоном, $\bar{X} \pm m$

Показатель	Норма	До терапии спиронолактоном	После 6-мес терапии спиронолактоном	Достоверность различий (p)
КАП, пг/мл	до 160	478,0 ± 99,96	346,45 ± 58,1	p = 0,009
PAI-1, У/мл	до 3,5	5,69 ± 0,24	3,06 ± 0,25	p < 0,001
t-PA, нг/мл	1-12	5,03 ± 0,3	5,64 ± 0,3	p < 0,01
Эндотелин-1, фмоль/мл	0,26±0,05	0,63 ± 0,09	0,23 ± 0,03	p = 0,002

25 мг/сут на фоне терапии ингибиторами АПФ и β-блокаторами. Забор венозной крови для измерения указанных показателей производился утром до сеанса гемодиализа. Статистическая обработка данных производилась с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 6.0. Различия признавали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сравнительная оценка указанных параметров представлена в табл. 2. Как видно из данных таблицы, у всех больных исходно имелось значительное повышение уровня КАП до $478 \pm 99,96$ пг/мл, PAI-1 до $5,69 \pm 0,24$ У/мл, эндотелина-1 до $0,63 \pm 0,09$ фмоль/мл, значения t-PA были в пределах нормы ($5,03 \pm 0,3$ нг/мл). На фоне терапии спиронолактоном отмечено достоверное снижение КАП до $346,45 \pm 58,1$ пг/мл ($p = 0,009$), достоверное снижение активности маркеров эндотелиальной дисфункции: эндотелина-1 до $0,23 \pm 0,03$ фмоль/мл ($p = 0,002$), PAI-1 до $3,06 \pm 0,25$ У/мл ($p < 0,001$); повышение уровня t-PA до $5,64 \pm 0,3$ нг/мл. Корреляционный анализ позволил выявить достоверную отрицательную взаимосвязь КАП с возрастом пациентов ($r = -0,31$, $p = 0,006$) и достоверную взаимосвязь между уровнем PAI-1 и длительностью АГ ($r = 0,28$, $p = 0,024$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что у пациентов с V стадией ХБП показатели КАП, PAI-1, эндотелина-1 значительно выше нормальных величин. Уровни t-PA находились в пределах нормальных величин. Наши результаты согласуются с представлениями о существенной роли РААС и дисфункции эндотелия в прогрессировании повреждений почек. Патогенетическая роль альдостерона в развитии почечных и кардиальных повреждений установлена в многочисленных экспериментальных клинических исследованиях [4, 6, 15, 16]. Показано, что адреналэктомия замедляет прогрессирование нефропатии у крыс с частичным удалением почечной ткани, несмотря на адекватную заместительную терапию глюкокортикоидами, а введение альдостерона и соли как интактным крысам [17], так и животным

с односторонней нефрэктомией [18, 19] способствовало развитию гипертензии, протеинурии, гломерулярных и тубулоинтерстициальных повреждений в виде фиброза и аккумуляции коллагена в интерстиции [20]. Кроме того, введение экзогенного альдостерона препятствовало реализации ренопротекторного эффекта блокады А II у спонтанно гипертензивных крыс с частичной аблацией почечной паренхимы [21] и у крыс линии SHRSP [22]. Как полагают в настоящее время, альдостерон проявляет прямое воздействие на гладкомышечные клетки сосудов и кардиомиоциты, индуцируя фиброз и гипертрофию этих тканей. Более того, данный минералкортикоидный гормон участвует в процессе фиброгенеза за счет прямого воздействия на соответствующие рецепторы, локализованные в цитозоле сосудистых фибробластов [4].

Другим механизмом, с помощью которого альдостерон вызывает повреждение органов-мишеней, включая миокард и почки, может быть его воздействие на систему активаторов плазминогена. Этот эффект РААС является одним из основных путей защиты от развития интраваскулярного тромбоза и играет важную роль в ремоделировании сосудов и тканей. Внутрисосудистый фибринолитический баланс в значительной мере определяется конкурирующим воздействием активаторов плазминогена и его ингибиторов, наиболее важными из которых являются PAI-1 и t-PA. Активаторы и ингибиторы плазминогена локально синтезируются в сосудистом эндотелии. Гиперпродукция альдостерона ведет к усилению экспрессии PAI-1, это содействует подавлению системы фибринолиза и развитию повреждений микроциркуляторного русла [5, 23, 24], что в конечном итоге способствует альтерации и фиброзированию тканей.

Одним из важных механизмов развития и прогрессирования повреждений миокарда и сосудов является развитие дисфункции эндотелия. Альдостерон, увеличивая экспрессию PAI-1 в эндотелиальных клетках, гладкомышечных клетках сосудов, клетках проксимального тубулярного эпителия и мезангиальных клетках способствует развитию и прогрессированию эндотелиальной дисфункции [25, 26].

Результаты нашего исследования выявили достоверное снижение уровня альдостерона, РАI-1, эндотелина-1 и достоверное повышение уровня t-РА после 6-месячной терапии спиронолактоном.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Развитие и прогрессирование хронической болезни почек ассоциируется со сложными изменениями различных компонентов РААС. При этом результаты многочисленных экспериментальных и клинических исследований подтверждают, что альдостерон является независимым фактором развития и прогрессирования почечных и сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с ХБП. Дисфункции эндотелия и нарушения в фибринолитической системе способствуют повышенному риску развития сосудистых катастроф у пациентов с ХБП, однако уточнение их роли в этих процессах требует дальнейшего изучения. Терапия спиронолактоном, блокируя неблагоприятные эффекты альдостерона, приводит к улучшению функционального состояния эндотелия и фибринолитической системы.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Collins AJ, Schuling L, Ma JZ, Herzog CH. Cardiovascular disease in end-stage renal disease patients. *Am J Kidney Dis* 2001; 38: S26 – S29
- Schillaci G, Reboldi G, Verdecchia P. High-normal serum creatinine concentration is a predictor of cardiovascular risk in essential hypertension. *Arch Intern Med* 2001; 161:886–891
- Garg AX, Clark FC, Haynes RB, House AA. Moderate renal insufficiency and the risk of cardiovascular mortality: results from the NHANES I. *Kidney Int* 2002; 61:1486–1494
- Epstein M. Aldosterone as a mediator of progressive renal dysfunction: evolving perspectives. *Intern Med* 2001; 40(7): 573–583
- Epstein M. Aldosterone receptor blockade and the role of eplerenone: evolving perspectives. *Nephrol Dial Transpl* 2003; 18(10): 1984–1992
- Weber KT. Aldosterone in congestive heart failure. *N Engl J Med* 2001; 345: 1689 – 1697
- Fuller PJ, Young MJ. Mechanisms of mineralocorticoid action. *Hypertension* 2005; 46: 1227–1246
- Weyer C, Yudkin JS, Stehouwer CD et al. Humoral markers of inflammation and endothelial dysfunction in relation to adiposity and in vivo insulin action in Pima Indians. *Atherosclerosis* 2002; 161: 233–242
- Festa A, D'Agostino R Jr, Tracy RP, Haffner SM. Elevated levels of acute-phase proteins and plasminogen activator inhibitor-1 predict the development of type 2 diabetes: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes* 2002; 51: 1131–1137
- Meigs JB, Hu FB, Rifai N, Manson JE. Biomarkers of endothelial dysfunction and risk of type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 2004; 291: 1978–1986
- Rossi R, Cioni E, Nuzzo A et al. Endothelial-dependent vasodilation and incidence of type 2 diabetes in a population of healthy postmenopausal women. *Diabetes Care* 2005; 28: 702–707
- Pitt B, Zannad F, Remme WJ et al. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med* 1999; 341:709–717
- Gross E, Rothstein M, Dombek S, Juknis HI. Effect of Spironolactone on Blood Pressure and the Renin-Angiotensin-Aldosterone System in Oligo-Anuric Hemodialysis Patients. *Am J Kidney Dis* 2005; 46(1): 94–101
- Saudan P, Mach F, Perneger Th et al. Safety of low-dose spironolactone administration in chronic haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 2359–2363
- Arima S, Kohagura K, Xu HL et al. Nongenomic vascular action of aldosterone in glomerular microcirculation. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14 (9): 2253–2255
- Norris K, Vaughn C. The role of rennin-angiotensin-aldosterone system in chronic kidney disease. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2003; 1 (1): 51–63
- Nishiyama A, Yao L, Nagai Y et al. Possible contributions of reactive oxygen species and mitogen-activated protein kinase to renal injury in aldosterone/salt-induced hypertensive rats. *Hypertension* 2004; 43: 841–848
- Blasi ER, Rocha R, Rudolph AE et al. Aldosterone/salt induces renal inflammation and fibrosis in hypertensive rats. *Kidney Int* 2003; 63: 1791–1800
- Peng H, Carretero OA, Raji L et al. Antifibrotic effects of N-acetyl-seryl-aspartyl-Lysyl-proline on the heart and kidney in aldosterone-salt hypertensive rats. *Hypertension* 2001; 37: 794–800
- Nishiyama A, Abe Y. Molecular mechanisms and therapeutic strategies of chronic renal injury: renoprotective effects of aldosterone blockade. *J Pharmacol Sci* 2006; 1: 9–16
- Greene EL, Kren S, Hostetter TH. Role of aldosterone in the remnant kidney model in the rat. *J Clin Invest* 1996; 98: 1063–1068
- Rocha R, Chander PN, Khanna K et al. Mineralocorticoid blockade reduces vascular injury in stroke-prone hypertensive rats. *Hypertension* 1998; 31: 451–458
- Brown NJ, Kim K-S, Chen Y-Q et al. Synergistic Effect of Adrenal Steroids and Angiotensin II on Plasminogen Activator Inhibitor-1 Production1. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2000; 85 (1): 336–344
- Connell JMC, Davies E. The new biology of aldosterone. *Journal of Endocrinology* 2005; 186: 1–20
- Cases A, Bragulat E, Serradell M et al. Endothelial dysfunction in chronic renal failure. *Nephrologia* 2003; 23(4): 42–51
- Landray MJ, Wheeler DC et al. Inflammation, Endothelial dysfunction and platelet activation in patients with chronic kidney disease: the chronic renal impairment in Birmingham (CRIB) Study. *Am J Kidney Dis* 2004; 43 (2): 244–253

Поступила в редакцию 21.02.2007 г.

Принята в печать 07.06.2007 г.

© И.В.Мухин, 2007
УДК 616.611-002-036.12:616.839.1]-036.8

И.В. Мухин

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОСПЕКТИВНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОГНОСТИЧЕСКОГО ЗНАЧЕНИЯ ГИПЕРСИМПАТИКОТОНИИ У НОРМОТЕНЗИВНЫХ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ МЕЗАНГИАЛЬНЫМ ПРОЛИФЕРАТИВНЫМ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТОМ

I.V. Mukhin

RESULTS OF PROSPECTIVE INVESTIGATION OF THE PROGNOSTIC VALUE OF HYPERSYMPATHICOTONIA FOR NORMOTENSIVE PATIENTS WITH CHRONIC MESANGIAL PROLIFERATIVE GLOMERULONEPHRITIS

Кафедра пропедевтической терапии и клинической кардиологии Донецкого государственного медицинского университета, Украина

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ РАБОТЫ заключалась в оценке прогностического значения симпатической гиперактивности у нормотензивных больных мезангиальным пролиферативным гломерулонефритом (МП ХГН). **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** В исследование было отобрано 23 пациента с МП ХГН. При включении в исследование всем пациентам была выполнена пункционная биопсия почки. На этапе включения в исследование, а в последующем ежегодно на протяжении 5 лет исследовали: клинический анализ крови и мочи, суточную протеинурию, по формуле Cockcroft-Gault подсчитывали СКФ, выполняли холтеровское мониторирование ЭКГ с анализом вариабельности ритма сердца. Конечными точками считали: возникновение АГ, появление признаков ХПН, развитие острых сердечно-сосудистых и цереброваскулярных событий. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** У пациентов с гиперактивностью симпатической нервной системы, артериальная гипертензия развивалась не только в среднем на один год раньше, но и частота формирования ее на четвертый год наблюдения в 3 раза (27,3% против 8,3%) превосходила аналогичный показатель в группе сравнения. Суммарная частота гипертензии к концу пятилетнего наблюдения у лиц с симпатической гиперактивностью составила 72,7%, тогда как в группе сравнения – лишь 46,7%. При наличии симпатической гиперактивации наблюдалось более раннее, чем в группе сравнения, снижение функции почек (18,2% против 8,3%). Суммарная частота хронической почечной недостаточности у лиц с гиперсимпатикотонией по истечении 5-летнего наблюдения составила 36,4%, тогда как в группе сравнения – только 8,3%. Частота смертельного инфаркта миокарда в группе больных с наличием симпатической гиперактивности оказалась выше, чем без таковой (9,1% против 0%).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Наличие ГНС у нормотензивных пациентов с МП ХГН потенциально способствует развитию кардиоваскулярных нарушений и более быстрому прогрессированию развития почечной дисфункции.

Ключевые слова: хронический мезангиальный пролиферативный гломерулонефрит, гиперактивность симпатической нервной системы, прогностическое значение.

ABSTRACT

THE AIM of the work was to assess the prognostic significance of sympathetic hyperactivity in normotensive patients with mesangial proliferative glomerulonephritis (MP CGN). **PATIENTS AND METHODS.** The investigation included 23 patients with MP CGN. Puncture biopsy of the kidney was fulfilled in all the patients at inclusion in the investigation. At this stage and later annually during 5 years the following parameters were studied: clinical analysis of blood and urine, daily proteinuria, GFR was calculated by the Cockcroft-Gault formula, Holter monitoring of ECG was fulfilled with an analysis of the heart rate variability. The end points were considered to be: emergence of AH, appearance of CGN symptoms, development of acute cardiovascular and cerebrovascular events. **RESULTS.** In patients with hyperactivity of the sympathetic nervous system arterial hypertension was developing on average not only one year earlier, but also the frequency of its formation in the fourth year of observations was 3 times as high (27.3% against 8.3%) as the same index in the group of comparison. By the end of the fifth year of observations the summary frequency of hypertension in patients with sympathetic hyperactivity was 72.7%, while in the group of comparison it was as low as 46.7%. In patients with sympathetic hyperactivity the decreased function of the kidneys (18.2% against 8.3%) was observed earlier than in the group of comparison. The summary frequency of chronic renal failure in patients with hypersympathicotonia was 36.4% by the end of the fifth year of observation, while in the group of comparison it was only 8.3%. The incidence of lethal myocardial infarction in patients with sympathetic hyperactivity proved to be higher that without it (9.1% against 0%). **CONCLUSION.** The presence of HSHS in normotensive patients with MP CGN potentially facilitates the development of cardiovascular disorders and more rapid progression of the development of renal dysfunction.

Key words: chronic mesangial proliferative glomerulonephritis, hyperactivity of the sympathetic nervous system, prognostic value.

ВВЕДЕНИЕ

Пациенты, страдающие хроническими формами гломерулонефрита (ХГН) составляют от 40 до

70% больных нефрологических центров [1]. Удельный вес ХГН в структуре хронической почечной недостаточности (ХПН) достигает 55%, «конку-

рируя» с диабетической нефропатией [2].

В последние годы сформулирована концепция хронической болезни почек (ХБП) и разработаны базисные подходы ренопротекции [1, 3, 4]. В настоящее время прогрессия ХБП рассматривается с позиции многофакторности. Наиболее изученными из них являются гемодинамические, аутоиммунные и метаболические [5]. Одним из недостаточно изученных факторов прогрессии ХБП является гиперактивность симпатической нервной системы (ГСНС), роль которой доказана в поражении почек при эссенциальной артериальной гипертензии (АГ) [4, 6, 7].

Целью работы заключалась в оценке прогностического значения ГСНС у нормотензивных больных мезангиальным пролиферативным гломеруло-нефритом (МП ХГН).

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования представлен на рис. 1. В исследование было отобрано 23 пациента МП ХГН. Критериями включения в исследование служили: ГСНС, не нефротический уровень протеинурии, МП ХГН, нормальные цифры артериального

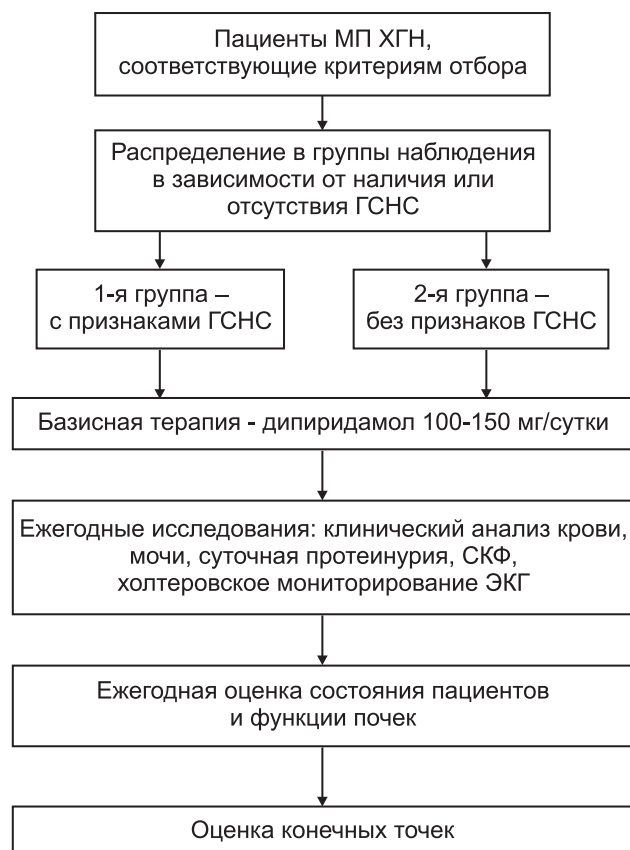


Рис. 1. Дизайн исследования.

Таблица 1

Характеристика обследованных больных

Характеристика	Группы больных	
	1-я (n=11)	2-я (n=12)
Средний возраст больных, ($\bar{X} \pm m$, лет)	36,5 $\pm$ 1,25	35,8 $\pm$ 2,09
Пол (м / ж), абс.	7 / 4	8 / 5
Критерий достоверности различий (χ^2) и доверительный уровень (p)	$\chi^2=0,1$, p=0,7	
Средний возраст в начале заболевания, ($\bar{X} \pm m$, годы)	31,2 $\pm$ 2,08	30,5 $\pm$ 1,95
Средняя продолжительность заболевания, ($\bar{X} \pm m$, годы)	5,4 $\pm$ 0,92	6,2 $\pm$ 0,16
Гематурия, (абс., %)	3 (27,3%)	5 (41,7%)

Примечания: различия между аналогичными показателями 1-й и 2-й групп больных статистически не достоверны.

давления (АД). Критериями исключения были: нефротический синдром, АГ, хроническая почечная недостаточность (ХПН), другие морфологические варианты ХГН, наличие в анамнезе или статусе острой или хронической сердечно-сосудистой либо цереброваскулярной патологии. В исследование не включали пациентов, получавших глюкокортикоиды, иммунодепрессанты, антикоагулянты – препараты, которые могли бы оказывать влияние на темпы прогрессирования ХГН.

О наличии ГСНС судили на основании: клинических проявлений, величины скорости клубочковой фильтрации (СКФ), показателей вариабельности сердечного ритма (снижение SD, RSSD, HF и индекса Баевского), определяемых посредством мониторирования ЭКГ (холтеровский монитор «Cardiotens», Венгрия).

Характеристика больных представлена в табл. 1. Распределение в группы наблюдения проводили по принципу максимальной однотипности. Все пациенты получали только дипиридамолом 100-150 мг/сутки.

При включении в исследование всем пациентам была выполнена пункционная биопсия почки. На этапе включения в исследование, а в последующем ежегодно на протяжении 5 лет исследовали: клинический анализ крови и мочи, суточную протеинурию, по формуле Cockcroft-Gault подсчитывали СКФ, выполняли холтеровское мониторирование ЭКГ с анализом вариабельности ритма сердца.

Конечными точками считали: возникновение АГ, появление признаков ХПН, развитие острых сердечно-сосудистых и цереброваскулярных событий.

Подсчитывали критерии Стьюдента и хи-квадрат (χ^2). Статистически значимые различия определяли при p<0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Как следует из табл. 1, группы больных статистически не различались ни по возрасту и полу, ни по длительности заболевания и среднему возрас-

Таблица 2
Частота клинических проявлений ГСНС у пациентов 1-й группы

Клинические проявления ГСНС	Частота
Повышенная физическая активность	3(27,3%)
Холерический тип нервной деятельности	2(18,2%)
Дизсомния	3(27,3%)
Ночной храп	2(18,2%)
Синдром ночного апноэ	1(9,1%)
Патологическая утомляемость	1(9,1%)
Сниженная толерантность к холоду	3(27,3%)
Дизритмия мочеиспусканий	5(45,5%)
СКФ > 125 мл/минуту	11(100%)

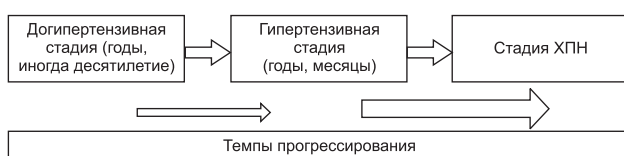


Рис. 2. Схематичное представление естественного стадийного течения МП ХГН.

ту в дебюте заболевания, ни по частоте микрогематурии.

В табл. 2 приведена частота клинических проявлений ГСНС, из которой следует, что наиболее частыми проявлениями ГСНС были: дизритмия мочеиспусканий и СКФ более 125 мл/минуту.

На рис. 2 представлена схема стадийного те-

Таблица 3
Сроки развития конечных точек

Конечные точки	Группы больных	
	1-я (n=11)	2-я (n=12)
Развитие АГ, абс(%):		
Через 1 год	-	-
Через 2 года	1(9,1%)	-
Через 3 года	1(9,1%)	1(8,3%)
Через 4 года	3(27,3%)	1(8,3%)
Через 5 лет	3(27,3%)	3(25,0%)
Появление ХПН, абс(%):		
Через 1 год	-	-
Через 2 года	-	-
Через 3 года	-	-
Через 4 года	2(18,2%)	-
Через 5 лет	2(18,2%)	1(8,3%)
Не фатальный инфаркт миокарда, абс(%):		
Через 1 год	-	-
Через 2 года	-	-
Через 3 года	-	-
Через 4 года	-	1(8,3%)
Через 5 лет	1(9,1%)	-
Фатальный инфаркт миокарда, абс(%):		
Через 1 год	-	-
Через 2 года	-	-
Через 3 года	-	-
Через 4 года	-	-
Через 5 лет	1(9,1%)	-
ТИА, абс(%):		
Через 1 год	-	-
Через 2 года	-	-
Через 3 года	-	-
Через 4 года	-	-
Через 5 лет	1(9,1%)	1(8,3%)

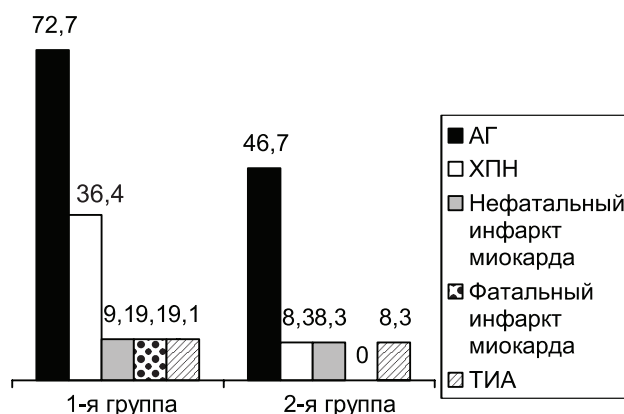


Рис. 3. Суммарная частота конечных точек (%).

чения МП ХГН, позволяющая понять появление «новых» симптомов заболевания по мере прогрессирования ХГН.

В табл. 3 приведены средние сроки развития конечных точек. Так, при наличии ГСНС АГ возникала на год раньше, чем без таковой. Частота АГ возрастала в 1-й группе, начиная с 4-летнего этапа наблюдения. Анализ частоты возникновения и темпов формирования ХПН показал, что в 1-й группе признаки снижения функции почек появились не только раньше, но и в 2 раза чаще, чем в группе сравнения (18,2% против 8,3%).

На рис. 3 изображена суммарная частота конечных точек, из которой следует, что через 5 лет от начала исследования, АГ имели 72,7% больных 1-й и 46,7% – 2-й группы (различия составили 26%). Через 5 лет от начала наблюдения, ХПН имела место у 36,4 и 8,3% (различия составили 28,1%) больных соответственно. Частота острых сердечно-сосудистых и церебральных событий в обеих группах больных оказалась примерно одинаковой, за исключением фатального инфаркта миокарда (9,1% в группе с ГСНС против 0% – в группе сравнения).

ОБСУЖДЕНИЕ

ГСНС присуща большинству хронических почечных заболеваний [8]. Появляется она уже на ранних стадиях ХБП, а частота увеличивается по мере прогрессирования болезни и снижения СКФ. ГСНС коррелирует со смертностью от сердечно-сосудистых заболеваний и концентрацией норадреналина крови [9–12]. У больных с финальной стадией ХБП между уровнем норадреналина в крови и смертностью от сердечно-сосудистых причин установлена прямая корреляция [13].

Длительное время причины развития ГСНС оставались не изученными. В после-

дние годы было установлено, что одной из причин ГСНС является ишемия почечной ткани [14]. При этом почка является для симпатической нервной системы не только мишенью, но и сенсорным органом, который оказывает существенное влияние на функциональное состояние ее центральных структур. Аfferентная импульсация, поступающая в ЦНС, обусловлена изменением состава и гидростатического давления интерстициальной жидкости [15].

Потенциальными причинами ГСНС являются метаболические и нейрогуморальные факторы, частота которых увеличивается после развития АГ и особенно появления первых признаков ХПН. К ним относят: гиперурикемию, оксидативный стресс, угнетение синтеза оксида азота, активацию почечной ренин-ангиотензиновой системы [14–16].

В патогенезе ГСНС при ХБП принимает участие гормон жировой ткани лептин, увеличение концентрации которого в крови характерно для гипертензивных больных с ожирением [17]. Показана его способность активировать вентромедиальные ядра гипоталамуса с последующим повышением активности симпатических почечных нервов и увеличением экскреции мочой норадреналина [11]. Полагают, что прогрессирование ХБП способствует нарушению почечного метаболизма лептина, достигающее критических значений при ХПН [17, 18].

Длительно существующая ГСНС, рассматривается в настоящее время в качестве патогенетической основы возникновения и прогрессирования сердечно-сосудистых заболеваний у больных ХБП, в особенности при сниженной функции почек [18]. Следствием ГСНС является не только системная АГ, но и ускорение прогрессии хронических сердечно-сосудистых заболеваний и увеличение риска возникновения острых сосудистых катастроф [11, 19].

Гиперактивность центральных симпатических структур, ведущая к повышению периферического сосудистого сопротивления (центральный механизм) и увеличение канальцевой реабсорбции натрия (почечный механизм), являются значимыми факторами формирования системной АГ при ХБП [19].

Неблагоприятные экстраренальные последствия ГСНС включают: электрическую нестабильность миокарда, гипертрофическое ремоделирование сердца и сосудов, нарушение функции левого желудочка, эндотелиальную дисфункцию [1, 20]. Клиническими проявлениями этих процессов является возникновение аритмий, прогрессирование сердечной недостаточности и атеросклероза, развитие инфаркта миокарда и сосудистых тромбозов.

У большинства гипертензивных пациентов ХБП с ГСНС ведущую роль в развитии ХПН играет спазм выносящей артериолы клубочка с формированием внутриклубочковой гипертензии, являющейся непосредственной причиной повреждения фенестрированного эндотелия, подоцитов и мезангиальных клеток [8, 21]. Следствием этого является с одной стороны увеличение СКФ, появление (усиление) протеинурии, гиперфильтрации, а с другой – нефросклеротические процессы, приводящие к потере нефронов [22]. Внутриклубочковая гипертензия ведет к прямой «передаче» системного АД клубочковым капиллярам и оказывает дополнительное повреждающее влияние на них.

Длительная стимуляция симпатических терминалей клубочковых артериол приводит к активации роста, гипертрофии, миграции гладкомышечных клеток и адвентициальных фибробластов – морфологических признаков ремоделирования сосудистой стенки и активации процессов артериосклероза [21, 23].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наиболее частыми клиническими проявлениями ГСНС у нормотензивных пациентов МП ХГН были: увеличение СКФ более 125 мл/минуту (100%), дизритмия мочеиспусканий (45,5%), повышенная физическая активность (27,3%), дизсомния (27,3%), сниженная толерантность к холоду (27,3%).

При наличии ГСНС, АГ развивалась раньше, чем без таковой. Частота формирования АГ на 4-й год наблюдения в 3 раза (27,3% против 8,3%) превосходила аналогичный показатель у больных ХГН без ГСНС. Суммарная частота АГ к концу пятилетнего наблюдения у пациентов с симпатической гиперактивностью составила 72,7%, в группе сравнения – 46,7% (разница – 26,0%).

При наличии ГСНС наблюдалось более раннее по сравнению с группой сравнения снижение функции почек (18,2% против 8,3%). Суммарная частота ХПН у лиц с ГСНС по истечении 5 лет наблюдения составила 36,4%, в группе сравнения – 8,3% (разница – 28,1%).

Частота фатального инфаркта миокарда в группе с ГСНС оказалась выше, чем без таковой (9,1% против 0).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Mashio G, Marcantoni C. Hypertension and progression of renal disease. *J Nephrol* 2000; 13: 905-918
2. Смирнов АВ, Добронравов ВА, Бодур-Ооржак АШ и др. Эпидемиология и факторы риска хронических болезней почек: региональный уровень общей проблемы. *Тер арх* 2005; 6: 27-32

3. Иванов Д. Хронічне захворювання нирок. Діагностика та лікувальна тактика за даними доказової медицини. *Ліки України* 2005; 5: 19-21
4. Epstein M, Tobe S. What is the optimal strategy to intensify blood pressure control and prevent progression of renal disease? *Current Hypertension Reports* 2001; 3: 422-428
5. National Kidney Foundation. Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification and Stratification. Executive Summary. New York; 2002: 94 p
6. Кузьмин ОБ, Пугаева МО, Чуб СВ, Ландарь ЛН. Почечные механизмы эссенциальной гипертензии. *Нефрология* 2005; 9 (2): 23-29
7. Campese VM. Neurogenic factors and hypertension in renal disease. *Kidney Int* 2000; 57 [Suppl 75]: S2-S6
8. Иванов ДД. Пригнічення гіперактивності симпатичної системи - шлях до гальмування прогресування хронічного захворювання нирок. *Ліки України* 2005; 9: 87-89
9. Иванов ДД. Лечение гипертензии и органопротекция. Ренальная органопротекция. *Мистецтво лікування* 2005; 9: 48-55
10. Campese VM, Krol E. Neurogenic factors in renal hypertension. *Curr Hypertens Rep* 2002; 4 (3): 256-260
11. Erami C, Zhang H, Tanoue A et al. Adrenergic catecholamine trophic activity contributes to flow-mediated arterial remodeling. *Am J Physiol* 2005; 289 (2): H744-H753
12. Zoccali C, Mallamaci F, Parlongo S et al. Plasma norepinephrine predict survival and incident cardiovascular events in patients with end stage renal disease. *Circulation* 2002; 105(11): 1354-1359
13. Ridaï N, Luno J, Garcia de Vinuesa S et al. Prevalence of hypertension in renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2001; [Suppl 1]: 12-17
14. Campese VM, Shaohua Ye, Huinqin Zhong et al. Reactive oxygen species stimulate central and peripheral sympathetic nervous system. *Am J Physiol* 2004; 287(2): H695-H703
15. Eppel GA, Malpas SC, Denton KM, Evans RG. Neural control of renal medullary perfusion. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2004; 31 (5-6): 387-396
16. Ye S, Nosrati S, Campese VM. Nitric oxide (NO) modulates the neurogenic control of blood pressure in rats with chronic renal failure. *J Clin Invest* 1997; 99 (3): 540-548
17. Eikelis N, Schlaich M, Aggarwal A et al. Interaction between leptin and human sympathetic nervous system. *Hypertension* 2003; 41 (5): 1072-1079
18. Hansberg M, Kosch M, Harmelink P et al. Sympathetic nerve activity in end stage renal disease. *Circulation* 2002; 106 (15): 1974-1979
19. Klein IH, Ligtenberg G, Neumann J et al. Sympathetic nerve activity inappropriately increased in chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14(12): 3239-3244
20. Modlinger PC, Wilcox CS, Aslam S. Nitric oxide, oxidative stress and progressive of chronic renal failure. *Semin Nephrol* 2004; 24 (4): 354-365
21. Tinucci T, Abrahao SB, Santello JL, Mion D. Mild chronic renal insufficiency induces sympathetic overactivity. *J Hum Hypertens* 2001; 15 (6): 401-406
22. Ruggenenti P, Perna A, Loziga G et al. Blood-pressure control for renoprotection in patients with non-diabetic chronic renal disease (REIN 2): multicentre, randomized controlled trial. *Lancet* 2005; 365 (9463): 939-946
23. Rump LC. The role of sympathetic nervous activity in chronic renal failure. *J Clin Basic Cardiol* 2001; 4: 179-181

Поступила в редакцию 20.02.2007 г.

Принята в печать 07.06.2007 г.

© М.М.Волков, И.М.Зубина, Е.Н.Левыкина, В.Н.Спиридонов, Е.Д.Суглобова, 2007
УДК 616.61-008.64-036.12-085.38:615.451.13]:615.844.6

М.М.Волков, И.М.Зубина, Е.Н.Левыкина, В.Н.Спиридонов, Е.Д.Суглобова

ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ФОСФАТОВ В ОТРАБОТАННОМ ДИАЛИЗИРУЮЩЕМ РАСТВОРЕ

M.M.Volkov, I.M.Zubina, E.N.Levykina, V.N.Spiridonov, E.D.Suglobova

EXPERIENCE WITH USING CAPILLARY ELECTROPHORESIS FOR DETERMINATION OF THE CONCENTRATION OF PHOSPHATES IN THE USED DIALYZING SOLUTION

Научно-исследовательский институт нефрологии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им.акад. И.П. Павлова, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ РАБОТЫ. Оценка возможности применения метода капиллярного электрофореза для определения концентрации фосфатов в отработанном диализирующем растворе в процессе процедуры гемодиализа (ГД) как показателя Са-Р обмена. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Обследована группа больных из 7 человек (4 мужчины и 3 женщины; средний возраст – 54,5 ± 3,5 года), которые получали заместительную почечную терапию регулярным гемодиализом по поводу хронической почечной недостаточности (ХПН). Каждый больной получил на момент обследования в среднем 930 ± 240 сеансов гемодиализа. Больные условно были разделены на две группы по содержанию паратиреоидного гормона (ПТГ): I группа (3 человека) – с низким содержанием ПТГ, II группа (4 человека) – с высоким содержанием ПТГ. Для определения фосфатов использовали метод капиллярного электрофореза на приборе «Капель-103Р», предоставленном НПФ АП «Люмэкс». **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Уровень выводимого фосфата поддерживается практически постоянным на всем протяжении сеанса. По данным корреляционного анализа наиболее значимыми являются взаимосвязи суммарных показателей элиминации фосфата с концентрациями белковых компонентов плазмы крови, а также с активностью щелочной фосфатазы, которая характеризует степень резорбции костной ткани. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Полученные данные о скорости элиминации фосфата имеют большое клиническое значение. Однако применение метода капиллярного электрофореза в данном эксперименте представляется слишком трудоемким и нерентабельным в отношении проведения массового обследования.

Ключевые слова: гемодиализ, фосфаты, капиллярный электрофорез.

ABSTRACT

THE AIM of the work was to assess the potential of using the method of capillary electrophoresis for determining the concentration of phosphates in the used dialyzing solution in the process of a hemodialysis (HD) procedure as an index of Ca-P metabolism. **PATIENTS AND METHODS.** A group of 7 patients (4 men and 3 women, mean age 54.5 ± 3.5 years) was examined. They received substitution renal therapy with regular hemodialysis for chronic renal failure (CRF). Every patient received on average 930 ± 240 sessions of HD at the moment of examination. The patients were divided into two groups according to the content of parathyroid hormone (PTH): I group (3 patients) with low content of PTH, II group (4 patients) with high content of PTH. Phosphates were determined by the method of capillary electrophoresis with the device "Kapel-103 P" granted by company "Lumeks". **RESULTS.** The level of excreted phosphate was maintained practically constant during the whole session. The correlation analysis has shown that of greatest significance are the interrelations of summary indices of elimination of phosphate with the concentrations of blood plasma protein components, as well as with activity of alkali phosphatase that characterizes the degree of bone tissue resorption. **CONCLUSION.** The obtained data of the phosphate elimination rate are of great clinical value. However the application of the method of capillary electrophoresis in this experiment seems to be too laborious and uneconomic for using in mass examinations.

Key words: hemodialysis, phosphates, capillary electrophoresis.

ВВЕДЕНИЕ

Гемодиализ наряду с другими методами детоксикационной экстракорпоральной терапии – гемофильтрации и гемодиофильтрации – является безальтернативным вариантом замещающей почечной функции у больных с терминальной стадией хронической почечной недостаточности. Однако заместительная почечная терапия (ЗПТ) вызывает целый ряд осложнений, приводящих к серьез-

ным нарушениям физиологических и антропометрических характеристик организма человека [1].

В 2000 г. в программной совместной работе ведущих мировых специалистов в области нефрологии и диализа «Millenium» одной из основных проблем, требующих первоочередного решения, была признана коррекция Са-Р обмена у больных с терминальной почечной недостаточностью, получающих ЗПТ [2].

Еще в начальных стадиях ХПН согласно теории Бриккера-Златопольского вследствие повреждения и гибели части нефронов возникает сначала транзиторная гиперфосфатемия, приводящая к снижению концентрации Са за счет непосредственного связывания последнего, а также – опосредовано – через подавление гидроксилирования $25(\text{ОН})\text{D}_3$ [3]. Таким образом, ретенция фосфата и уменьшение концентрации кальция стимулирует синтез и секрецию ПТГ. В результате действия ПТГ нормализуется уровень фосфатов и кальция (ионизированного), но при более высоких значениях ПТГ. По мере нарастания ХПН увеличивается задержка фосфатов, и гиперфосфатемия становится постоянной. Вследствие прогрессирования нефросклероза уменьшается образование активной формы витамина D_3 – кальцитриола, что способствует развитию гипокальциемии на фоне гиперфосфатемии. Возникающие нарушения регуляции Са-Р обмена являются предикторами развития вторичного гиперпаратиреоза, сопровождающегося образованием мягких кальцификатов и кальцификации мелких и крупных сосудов. В больших популяционных исследованиях установлена связь между концентрацией ПТГ сыворотки и смертности больных на ГД [4,5].

Частый забор крови для контроля показателей гемодиализа усугубляет анемию. Именно поэтому возможность мониторинга самого процесса диализа по количеству выводимого определяемого компонента становится весьма актуальной. Кроме того, известно, что в силу строения мембран диализаторов (они, как правило, несут на себе отрицательный заряд) элиминация фосфатов снижена. Хотя целевой концентрацией $[\text{PO}_4^{3-}]$ является 1,75 ммоль/л, содержание этого аниона в плазме крови больных в массе своей заведомо превышает этот показатель, и получающийся ионный градиент должен быть достаточно велик [6].

Количественное определение фосфатов в отработанном диализирующем растворе при отборе проб в динамике позволяет дать рекомендации по режиму профилирования гемодиализной процедуры. Оценка суммарного содержания выводимых фосфорсодержащих компонентов может также изменить диетологические предписания, разработанные для пациентов, получающих лечение хроническим гемодиализом.

Классическим методом лабораторного контроля концентрации фосфатов в биологических жидкостях его определение по восстановлению фосфорномолибденовой кислоты, однако чувствительность этой методики может быть и недостаточной для регистрации иона при соответствующих величинах его концентрации в отработанном диализа-

те. Поэтому была предпринята попытка применения метода капиллярного электрофореза, в настоящее время считающегося одним из наиболее перспективных сепарационных методов.

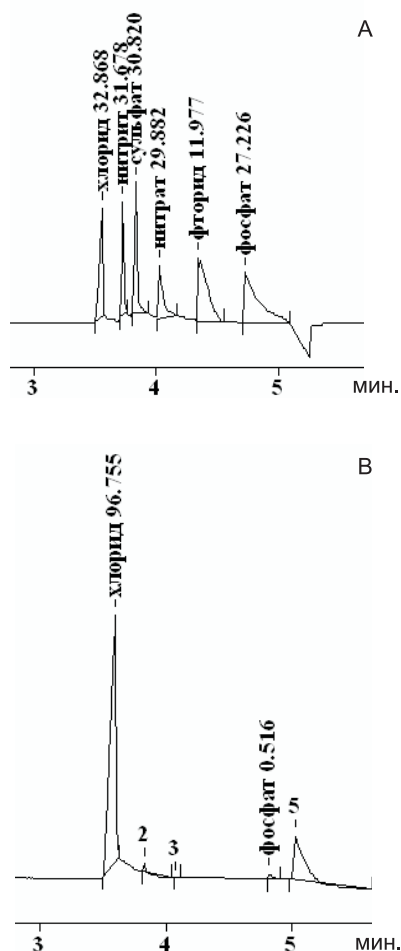
ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Обследована группа больных из 7 человек (4 мужчины и 3 женщины; средний возраст – $54,5 \pm 3,5$ года), которые получали заместительную почечную терапию регулярным гемодиализом по поводу хронической почечной недостаточности (ХПН). Каждый больной получил на момент обследования в среднем 930 ± 240 сеансов гемодиализа. К осложнению ХПН привели следующие заболевания: хронический гломерулонефрит – в 3 случаях, хронический пиелонефрит – в 2 случаях и поликистоз почек с вторичным пиелонефритом – в 2 случаях. Больные условно были разделены на две группы по содержанию паратиреоидного гормона: I группа (3 человека) – с низким содержанием, II группа (4 человека) – с высоким содержанием ПТГ.

Для определения фосфатов использовали метод капиллярного электрофореза на приборе «Капель-103Р», предоставленном НПФ АП «Люмэкс». Капиллярный электрофорез представляет собой метод разделения, реализуемый в капиллярах и основанный на различиях в электрофоретической подвижности заряженных частиц как в водных, так и в неводных буферных электролитах [7]. При работе нами была принята за основу сертифицированная методика определения анионов в сточных водах, разработанная НПФ АП «Люмэкс». Для адаптации ее к биологической жидкости, в нашем случае плазме крови, выполнялась пробоподготовка, заключавшаяся в экспериментально подобранном разведении проб. По сравнению с обычно применяемыми методами анализа анионов в биологических жидкостях, такими как титрование, потенциометрия, капиллярный электрофорез обеспечивает необходимую точность и позволяет отказать от длительного процесса пробоподготовки, а также использования специфической аппаратуры, если речь идет о решении подобных задач методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Метод измерения концентраций основан на получении электрофореграмм биологических жидкостей и сравнении их с калибровочными электрофореграммами смеси индивидуальных анионов на приборе капиллярного электрофореза.

В качестве ведущего электролита использовали буферный раствор следующего состава:

1,4 см³ раствора оксида хрома (VI) 0,05М, 2,0 см³ диэтаноламина 0,1М, 0,1 см³ глюконата кальция 0,025М, 4,5 см³ дистиллированной воды. К



Электрофореграммы модельных и реальных растворов. А – стандартный калибровочный раствор с концентрациями: хлорида, нитрита, сульфата, нитрата, фосфата по 30 мг/дм³ и фторида – 15 мг/дм³; Б – отработанный диализирующий раствор, разбавленный в 10 раз.

тщательно перемешанным компонентам добавляли 2,0 см³ гексадецилтриметиламмония гидроксида 0,01М. Сразу после смешения раствор фильтровали через мембранный фильтр в пластиковую посуду с закрывающейся крышкой. Раствор хранили при комнатной температуре и использовали в течение 1 недели.

Ежедневная промывка капилляра заключалась в последовательной промывке кислотой, водой, щелочью и снова водой по 2–3 минуты и затем раствором ведущего электролита в течение 7 минут.

Источником измерений служил отработанный диализирующий раствор, который отбирался из сливного отверстия АИП. Задачей исследования служила динамика изменения концентрации фосфатов за сеанс гемодиализа. Поэтому забор проб нами производился с определенной периодичностью. На первых этапах исследования мы брали пробы в момент подключения пациента к аппарату и затем через каждый час до окончания сеанса. В первые минуты после подключения в большинстве случаев происходит резкое изменение концентрации фосфата в пробе. Поэтому в дальнейшей работе мы отбирали пробы в следующем порядке: первую – до подключения к аппарату; вторую – в момент подключения и далее через каждые 10 минут в течение получаса, затем, как и в предыдущие разы, через каждый час.

Пробоподготовка образца диализирующего раствора заключалась в 50- либо 10-кратном разбавлении его дистиллированной водой и центрифугировании в течение 5–6 минут.

Пример электрофореграмм представлен на рисунке.

Следует отметить, к сожалению, что прибор «Капель 103Р» (из серии приборов «Капель», успешно применяемых для проведения серийных анализов) мало пригоден к исследовательской работе. Сам по себе метод оказался малоэффективным в рамках поставленной нами задачи; показания сильно зависят от температуры окружающей среды, но даже и при постоянной температуре время выхода электрофоретических пиков сдвигается в ходе работы прибора. Для быстрого анализа также есть ограничения: для отработки одной пробы (фактически это два последовательных опыта) требуется не менее 15–18 минут.

Таблица 1 РЕЗУЛЬТАТЫ

Выход фосфата в течение сеанса гемодиализа

Показатели	Среднее статистическое отклонение
Концентрация фосфата в 0 интервале времени	9,66 ± 4,30 мг/л
Концентрация фосфата в 30 минуту	14,74 ± 2,32 мг/л
Концентрация фосфата в 60 минуту	13,10 ± 2,16 мг/л
Концентрация фосфата в 120 минуту	14,53 ± 2,31 мг/л
Концентрация фосфата в 180 минуту	12,80 ± 1,25 мг/л
Интегральный выход фосфата за 0,5 часа	366,00 ± 82,02 мг*с/л
Интегральный выход фосфата за 1 час	783,64 ± 130,27 мг*с/л
Интегральный выход фосфата в интервале между 1 и 2 часом	828,86 ± 129,07 мг*с/л
Интегральный выход фосфата в интервале между 2 и 3 часом	819,86 ± 104,02 мг*с/л
Интегральный выход фосфата за 3 час	2432,36 ± 355,92 мг*с/л

Данные по количеству фосфата, выводимого в определенный момент времени в течение сеанса гемодиализа, приведены в табл. 1. Как следует из таблицы, уровень выводимого фосфата поддерживается практически постоянным на всем протяжении сеанса.

Для оценки значимости полученных данных проведен корреляционный анализ с некоторыми биохимическими показателями. Результаты корреляционного анализа представлены в табл. 2. Как видно из таб-

Таблица 2

Корреляционное взаимодействие между суммарным выводом фосфатов и биохимическими показателями

Показатели	Коэффициенты корреляции Пирсона r(p)			
	общий белок, г/л	альбумин, г/л	ПТГ, пг/мл	щелочная фосфатаза, нМ/с
Концентрация фосфата в 0 интервале времени	-0,0960; p=0,838	-0,0617; p=0,895	0,6005; p=0,154	0,6281; p=0,131
Концентрация фосфата в 30-ю минуту	-0,7349; p=0,060	-0,4478; p=0,314	0,6220; p=0,136	0,5632; p=0,188
Концентрация фосфата в 60-ю минуту	-0,8897*; p=0,007	-0,7182; p=0,069	0,6286; p=0,131	0,6175; p=0,140
Концентрация фосфата в 120-ю минуту	-0,7410; p=0,057	-0,4105; p=0,360	0,3162; p=0,490	0,1813; p=0,697
Концентрация фосфата в 180-ю минуту	-0,6968; p=0,082	-0,4140; p=0,356	0,1746; p=0,708	0,1407; p=0,763
Интегральный выход фосфата за 0,5 часа	-0,3877; p=0,390	-0,2388; p=0,606	0,7368; p=0,059	0,7335; p=0,061
Интегральный выход фосфата за 1 час	-0,6623; p=0,105	-0,4491; p=0,312	0,7869*; p=0,036*	0,7663*; p=0,044*
Интегральный выход фосфата в интервале между 1 и 2 часом	-0,8454*; p=0,017*	-0,5817; p=0,171	0,4860; p=0,269	0,4080; p=0,364
Интегральный выход фосфата в интервале между 2 и 3 часом	-0,7452; p=0,055	-0,4229; p=0,344	0,2737; p=0,552	0,1716; p=0,713
Интегральный выход фосфата за 3 час	-0,8452*; p=0,017*	-0,5499; p=0,201	0,5999; p=0,154	0,5275; p=0,224

* обозначает достоверную корреляцию.

лицы, наиболее значимыми являются взаимосвязи суммарных показателей элиминации фосфата с концентрациями белковых компонентов плазмы крови, а также с активностью щелочной фосфатазы, которая характеризует степень резорбции костной ткани.

ОБСУЖДЕНИЕ

Равномерный выход фосфатов в течение всей гемодиализной сессии на первый взгляд подтверждает представление о преимуществах длительных «отмывочных» процедур. Действительно, несмотря на массивированный вывод анионов их концентрация в плазме, тем не менее, остается настолько высокой, что на протяжении двух-трех часов суммарное содержание в отработанном диализате фактически не изменяется. Однако при корреляционном анализе достоверными оказались взаимосвязи интегрального вывода фосфатов за первый час процедуры гемодиализа и концентрации ПТГ и активности щелочной фосфатазы в плазме крови пациентов.

Сильные отрицательные корреляционные связи между выходом фосфатов и общей концентрацией белка в плазме крови не вполне понятны. Можно предполагать, что многозарядные анионы удерживаются в гидратной белковой оболочке, а в дальнейшем используются в анаболических системах, однако подобная гипотеза требует аккуратного экспериментального подтверждения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данные по элиминации фосфатов из организма пациента гемодиализа оказались в достаточной мере неожиданными. Возможно, они будут служить основой дальнейших исследований в области клинической лабораторной диагностики гемодиализа.

Выражаем глубокую благодарность руководству НПФ «Люмэкс», и в особенности Наталье Викторовне Комаровой, за предоставленную возможность ознакомиться с новыми лабораторными технологиями.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Nikolov I, Joki N, Druke T, Massy Z. Beyond phosphate – role of uraemic toxins in cardiovascular calcification. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21(12): 3355-3357
2. Greca G, Klinkmann H, Valdtrabano F, Zucchelli P. From pathophysiology to clinical hemodialysis at the beginning of the next millennium. Introduction. *Kidney Int* 2000; 13(3): S1-S2
3. Slatopolsky E. The role of calcium, phosphorus and vitamin D metabolism in the development of secondary hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13(3): S3-S8
4. Silver J. Molecular mechanisms of secondary hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15[Suppl 5]: S2-S7
5. Silver J, Yalcindag C, Sela-Brown A, Kilav R, Naveh-Mani T. Regulation of the parathyroid hormone gene by vitamin D, calcium and phosphate. *Kidney Int* 1999; 56 [Suppl 73]: S2-S7
6. Стецюк ЕА, Третьяков БВ, Калашников СВ. Коррекция гиперфосфатемии на гемодиализе. *Нефрология* 2004; 8(2):66-70
7. Комарова НВ, Каменцев ЯС. *Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «Капель»*. ООО «Веда», СПб, 2006; 6

Поступила в редакцию 03.04.2007 г.

Принята в печать 07.06.2007 г.

© А.Ю.Юлдашев, Р.Р.Рахманов, А.А.Юлдашев, М.В.Таринова, 2007
УДК 616-005.1:616.611]-092.4

А.Ю. Юлдашев, Р.Р. Рахманов, А.А. Юлдашев, М.В. Таринова

ГИСТОФИЗИОЛОГИЯ ПОВЕРХНОСТНЫХ И ЮКСТАМЕДУЛЛЯРНЫХ СОСУДИСТЫХ КЛУБОЧКОВ ПОЧЕК ПОСЛЕ ОСТРОЙ МАССИВНОЙ КРОВОПОТЕРИ

A.Yu. Yuldashev, R.R. Rakhmanov, A.A. Yuldashev, M.V. Tarinova

HISTOPHYSIOLOGY OF THE SUPERFICIAL AND JUXTAMEDULLARY VASCULAR RENAL GLOMERULI AFTER ACUTE MASSIVE BLOOD LOSS

Кафедра гистологии и медицинской биологии Ташкентской медицинской академии, Узбекистан

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ: изучить состояние ЮГА и капилляров поверхностных и юкстамедуллярных сосудистых клубочков после острой массивной кровопотери. **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** Экспериментально у 60 беспородных белых крыс-самцов массой 120 – 140 грамм до и после острого массивного кровопускания (в среднем 3,0 см³ или 2,5 % от массы тела) через 1, 2 и 24 часа морфологически изучены степень открытия капилляров (СОКК) поверхностных и юкстамедуллярных сосудистых клубочков, ультраструктура юктагломерулярного аппарата (ЮГА). **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Через 1 – 2 часа после кровопотери уменьшение объема циркулирующей крови обуславливает спазм афферентной и расширение эфферентной артериол, капилляры поверхностных и юкстамедуллярных сосудистых клубочков имеют в основном I и II СОКК (до 20%); среднее значение СОКК в обеих зонах коры выравнивается. ЮГА находится в состоянии функционального напряжения. Через 24 часа после кровопотери СОКК и структура ЮГА почти нормализуются. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** На основании полученных результатов делается заключение, что деятельность поверхностных и юкстамедуллярных сосудистых клубочков в физиологических условиях и после острого массивного кровопускания регулируется деятельностью ЮГА.

Ключевые слова: почки, кора, капилляры клубочка, кровопотеря, ЮГА, кровоток, ультраструктура.

ABSTRACT

THE AIM of the investigation was to study the state of juxtaglomerular apparatus (JGA) and capillaries of the superficial and juxtamedullary vascular renal glomeruli after acute massive blood loss. **MATERIAL AND METHODS.** The degree of opening the capillaries (DOCC) of the superficial and juxtamedullary vascular glomeruli, the ultrastructure of JGA were studied morphologically in experiments in 60 outbred white male rats with body mass 120-140g before and after acute massive blood-letting (on average 3.0 cm³ or 2.5% of the body mass) in 1, 2 and 24 hours. **RESULTS.** Within 1-2 hours after blood loss the lessening of the circulating blood volume causes a spasm of the afferent and dilatation of the efferent arterioles, the capillaries of the superficial and juxtamedullary vascular glomeruli have mainly I and II DOCC (up to 20%); the average value of DOCC in both cortex zones smoothes down. JGA is in the state of functional stress. Within 24 hours after blood loss DOCC and JGA structure become almost normal. **CONCLUSION.** The data obtained suggest that activity of the superficial and juxtamedullary vascular glomeruli under physiological conditions and after acute massive blood-letting is regulated by activity of JGA.

Key words: kidneys, cortex, glomerular capillaries, blood loss, JGA, blood flow.

ВВЕДЕНИЕ

Как клинические, так и экспериментальные исследования указывают на существование значительного почечного функционального резерва после различных функциональных нагрузок, который определяется как разность между максимальной (стимулированной) и базальной клубочковой фильтрацией [1]. У здоровых лиц прирост клубочковой фильтрации при функциональных нагрузках колеблется от 10 до 60%, что отражает сохранность почечного функционального резерва и нормальное давление в почечных капиллярах [2]. Предельное повышение состояния клубочковой фильтрации может быть достигнуто удалением контрлатерального органа, нагрузкой белком [1, 3,

4, 5], введением аминокислот [6], глюкагона [7]. Наоборот, предельное снижение клубочковой фильтрации достигается при пороговом снижении АД и объема циркулирующей крови.

Учитывая отсутствие морфологического эквивалента крайних состояний функционирования почки, ее клубочков, ЮГА после различных состояний, нами поставлена цель – изучить состояние ЮГА, капилляров сосудистых клубочков поверхностных и юкстамедуллярных нефронов после острой массивной кровопотери.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

У белых беспородных крыс-самцов массой 120 – 140 грамм, находящихся под общим эфирным

Таблица 1

Распределение сосудистых клубочков поверхностных и юкстамедуллярных нефронов по степени открытия капилляров (n = 10, $\bar{X} \pm m$, %)

Зоны коры	Классы клубочков				Среднее значение
Поверхностная	27,1 $\pm$ 1,7	34,0 $\pm$ 1,8	25,6 $\pm$ 1,4	13,3 $\pm$ 1,2	18,8 $\pm$ 0,4
Внутренняя	34,6 $\pm$ 1,6	42,0 $\pm$ 1,2	23,4 $\pm$ 1,4	–	15,2 $\pm$ 0,3

наркозом, осуществлена пункция сердца и забрано в шприц в среднем 3,0 см³ крови (2,5% от массы тела).

У контрольных животных осуществлялась лишь пункция сердца.

Забой опытных (n=30) и контрольных (n=30) животных произведен одновременно через 1; 2 и 24 часа после острой массивной кровопотери. Во всех сериях экспериментов правая почка разрезалась через середину от выпуклой поверхности к области ворот. Затем параллельно плоскости разреза вырезалась пластинка толщиной 1,5 мм и корковое вещество отделялось от мозгового. В последующем корковая часть разрезалась на 3 равные части: внутреннюю, промежуточную и поверхностную. Ткань коры почки, соответствующая поверхностным и юкстамедуллярным нефронам, фиксировали в 2,5% растворе глутаральдегида (20 мин.) и 1% растворе осмиевой кислоты (1 ч).

После стандартной проводки ткань заливалась в аралдит. Полутонкие срезы толщиной 1 – 2 мкм для морфометрии капилляров сосудистых клубочков окрашивали основным фуксином и метиленовым синим. Ультратонкие срезы контрастировали уранил ацетатом и цитратом свинца и просматривали в электронном микроскопе JEM-100S. Морфометрию площади сосудистых клубочков и площади открытых капилляров осуществляли с помощью полуавтоматического анализатора изображений «Интеграл – 2М». На основании полученных результатов вычисляли степень открытия капилляров сосудистых клубочков (СОКК):

$$\text{СОКК} = \frac{S_1}{S_2} \times 100 \%$$

S_1 – площадь открытых капилляров сосудистого клубочка;

S_2 – площадь сосудистого клубочка.

По величине СОКК выделены 5 классов клубочков с шагом 10%: I – (0,0 – 9,9%); II – (10,0 – 19,9%); III – (20,0 – 29,9%); IV – (30,0 – 39,9%); V – (40,0% и более).

Данные количественных исследований обработаны методами вариационной статистики [9]. Значения достоверны при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У контрольных животных (табл. 1) по СОКК наиболее многочисленными являются сосудистые клубочки II класса как поверхностных, так и юкстамедуллярных нефронов. Среди поверхностных нефронов каждый четвертый сосудистый клубочек

относится к I и III классам, 13,3 $\pm$ 1,2% – к IV классу, V класс практически не выявляется. Среди юкстамедуллярных сосудистых клубочков каждый третий – I класса, четвертый – класса III; IV и V класса не обнаружены. В результате такого состояния сосудистых клубочков в физиологических условиях на 24% в среднем больше крови протекает по сосудам поверхностной зоны коры почек.

Через час после острой массивной кровопотери наблюдается существенная перестройка деятельности изучаемых сосудистых клубочков. Как видно из табл. 2, резкое уменьшение объема циркулирующей крови вызывает спазм капилляров поверхностных сосудистых клубочков: в 1,9 раза возрастает доля наименее функционирующих клубочков I класса, в 2,4 раза уменьшается доля клубочков III класса; IV класс практически не обнаруживается.

Во внутренней зоне коры почки отмечается увеличение сосудистых клубочков I класса (в 1,29 раза), уменьшение III класса (в 1,56 раза) и появление IV класса. В результате этого среднее значение СОКК в сосудистых клубочках поверхностных и юкстамедуллярных нефронов становится почти одинаковым.

Через два часа после острой массивной кровопотери более половины поверхностных сосудистых клубочков имеют 10,0 – 19,9% СОКК (II класс), т.е. в течение часа вдвое уменьшается доля клубочков I класса. По СОКК вдвое возрастают клубочки III класса. Среди юкстамедуллярных нефронов по СОКК в 1,45 раза уменьшаются нефроны I класса, в 2,27 раза возрастают III класса по сравнению с предыдущим сроком опыта. При сравнении сосудистых клубочков юкстамедуллярных нефронов у контрольных и опытных животных после кровопускания уменьшаются I (в 1,57 раза), возрастают III (в 1,45 раза); II класс достоверно не различается. Среднее значение СОКК у опытных крыс в 1,12 раз больше, чем у контрольных, т.е. кровотоков во внутренней зоне несколько преобладает над таковым в поверхностной зоне коры почки.

Если первые часы после массивного кровопускания рассматривать как аварийную структурно-

Распределение сосудистых клубочков поверхностных и юкстамедуллярных нефронов по степени открытия капилляров после острой массивной кровопотери ($\bar{X} \pm m$, %, $n=10$)

Часы после кровопускания	Классы клубочков				Среднее значение
	I	II	III	IV	
Контроль	27,1 $\pm$ 1,7 34,6 $\pm$ 1,6	34,0 $\pm$ 1,8 42,0 $\pm$ 1,2	25,6 $\pm$ 1,4 23,4 $\pm$ 1,4	13,3 $\pm$ 1,2 –	18,8 $\pm$ 0,4 15,2 $\pm$ 0,3
1	50,3 $\pm$ 1,2* 32,1 $\pm$ 1,3	39,0 $\pm$ 1,6* 50,3 $\pm$ 1,2*	10,07 $\pm$ 1,4* 15,0 $\pm$ 1,5*	– 2,6 $\pm$ 0,3*	13,6 $\pm$ 0,3* 13,8 $\pm$ 0,4*
2	24,0 $\pm$ 1,4 22,0 $\pm$ 1,6*	56,5 $\pm$ 2,0* 44,0 $\pm$ 1,8	19,5 $\pm$ 2,0* 34,0 $\pm$ 1,7	– –	14,5 $\pm$ 0,4* 16,2 $\pm$ 0,5
24	12,5 $\pm$ 1,5* 29,7 $\pm$ 1,6*	49,0 $\pm$ 1,7* 51,5 $\pm$ 1,2*	29,0 $\pm$ 1,2* 12,5 $\pm$ 1,0*	9,5 $\pm$ 0,7* 6,3 $\pm$ 0,5*	18,6 $\pm$ 0,3 12,4 $\pm$ 0,3*

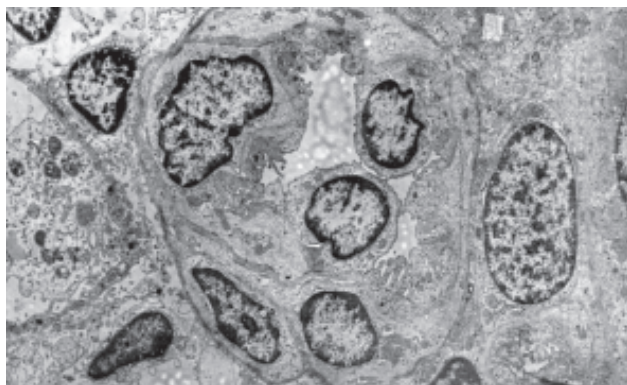
Примечание: В числителе – доля поверхностных, в знаменателе – юкстамедуллярных сосудистых клубочков соответствующих нефронов; * – значения у опытных и контрольных животных достоверно различаются ($p < 0,05$).

функциональную адаптацию, то она протекает при синхронизации деятельности юкстамедуллярных поверхностных сосудистых клубочков.

Через 24 часа после кровопускания СОКК поверхностных сосудистых клубочков свидетельствует об уменьшении I (в 2,2 раза в среднем) и IV (в 1,4 раза), увеличении II (в 1,44 раза) и III (в 1,13 раз) по сравнению с контролем, т.е. происходит в определенной мере синхронизация деятельности рассматриваемых сосудистых клубочков, хотя среднее значение СОКК нормализуется.

Среди юкстамедуллярных сосудистых клубочков почки опытных крыс уменьшаются I (в 1,16 раза), III (в 1,87 раза) и возрастают II (в 1,23 раза); появляются IV класса клубочки (табл. 2), т.е. увеличивается гетерогенность состояния сосудистых клубочков, среднее значение СОКК достигает контрольного уровня.

Таким образом, через сутки после острого массивного кровопускания наблюдается почти полная нормализация кровотока, однако она осуществле-



Сужение просвета афферентной артериолы, капилляров поверхностных сосудистых клубочков через 1 час после массивной кровопотери. Увеличение 8000.

на при спазмировании и синхронизации поверхностных и значительной гетерогенности юкстамедуллярных сосудистых клубочков.

Электронномикроскопически в первые часы после кровопускания афферентная артериола поверхностных сосудистых клубочков резко спазмируется. Эндотелий, утолщаясь, уменьшает просвет сосуда. Эфферентная артериола, наоборот, расширяется, эндотелий уплощается. Существенное снижение притока крови уменьшает диаметр сосудистых клубочков, капилляры спадаются, их просвет почти полностью закрывается (рис. 1). Эндотелий, сокращаясь, выступает в его просвет. Базальная мембрана утолщается. Подоциты становятся крупнее, их цитоплазма

просветляется, цистерны гранулярного ретикула расширяются. В расширенных капиллярах юкстамедуллярных сосудистых клубочков эндотелиальные клетки уплощены, уплотнены, содержат многочисленные поры; базальная мембрана под ними утолщается и разрыхляется. Подоциты уплощаются, цитоплазма просветляется, цитопедиклы укорачиваются.

Юктагломерулярные клетки в стенке обеих артериол поверхностных сосудистых клубочков не содержат секреторных гранул, митохондрии просветляются, они с редуцированными кристами. Профили гранулярного эндоплазматического ретикула многочисленны, их цистерны расширены, содержат материал умеренной электронной плотности. Юктавазкулярные клетки уплотняются, содержат единичные мелкие секреторные гранулы, много рибосом и полисом, ядра неправильной формы с инвагинациями, митохондрии набухшие с единичными кристами; комплекс Гольджи увеличен. В мезангиальных клетках также выявляются единичные мелкие секреторные гранулы. Клетки плотного пятна просветляются, органелл мало; митохондрии набухшие, цистерны гранулярного ретикула расширяются, их профили часто контактируют с митохондриями. Через 24 часа после кровопускания ультраструктура клеток ЮГА восстанавливается почти до исходного, как у контрольных крыс, состояния.

Таким образом, в ранние сроки после кровопускания выраженное уменьшение объема циркулирующей крови вызывает закономерную активацию деятельности ЮГА, спазм артериол и капилляров поверхностных и юкстамедуллярных

сосудистых клубочков; через сутки уменьшение и перераспределение кровотока почти не выявляются, структура поверхностной и внутренней зон коры почки почти нормализуется.

ОБСУЖДЕНИЕ

В физиологических условиях существование I – IV классов СОКК поверхностных и юкстамедуллярных сосудистых клубочков, гетерогенное состояние клеток ЮГА рассматривается как закономерное состояние структурно-функциональных единиц внутренних органов, перемежающаяся активность, обеспечивающая оптимальную адаптацию к различным нагрузкам, воздействиям [10]. Изменение СОКК сосудистых клубочков, степени активности эндокринных клеток – взаимосвязанная адаптивная реакция, которая обеспечивает гомеостатическую функцию почки.

Острое, до 40%, уменьшение объема циркулирующей крови, падение артериального давления вызывают дегрануляцию и функциональное напряжение юкстамедуллярных, активацию юкставаскулярных и мезангиальных клеток, сужение афферентной и расширение эфферентной артериол, сужение капилляров сосудистых клубочков на 80 – 90%. Однако появление среди юкстамедуллярных сосудистых клубочков IV класса свидетельствует о перераспределении циркулирующей внутри почки крови, относительно преимущественно му его току через зону низкого давления.

Спустя сутки восстановление в определенной степени объема циркулирующей крови, артериального давления вновь способствуют расширению почечных сосудов, асинхронному функционированию клеток ЮГА, всех сосудистых клубочков, установлению корково-медуллярного градиента СОКК.

Сетевой принцип организации сосудистых клубочков почки [2], как и в других органах [11, 12], имеет повышенную надежность и высокую экономичность. Множество ячеистых модулей – потребителей кислорода и нутриентов – осуществляя также фильтрацию крови, как в поверхностных, так и в глубоких сосудистых клубочках, благодаря перемежающейся активности обеспечивает оптимальное функционирование, восстановление и интеграцию между ними, поддерживает оптимальное функционирование и восстановление каждой из зон. Эволюция, онтогенез и процесс системогенеза почки [13, 14] сформировали многоуровневую

регуляцию и интеграцию деятельности его структур и, как следствие, ее полифункциональность, которая предъявляет высокие требования к структуре и функции сосудистых клубочков различных генераций, клеток ЮГА. Дальнейшие целенаправленные эксперименты позволят углубить созданные представления о структуре и функции почек.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Деятельность поверхностных и юкстамедуллярных сосудистых клубочков почки тесно взаимосвязана и регулируется ЮГА.

Перемежающаяся СОКК поверхностных и глубоких сосудистых клубочков в физиологических условиях и после острого массивного кровопускания свидетельствует о значительных функциональных резервах почки для поддержания гомеостаза внутренней среды организма.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Bosch JP, Saccaggi A, Laner A et al. Renal functional reserve in humans. *Am J Med* 1983; 75 (4): 943 – 950
2. Волощенко АА, Талалаев СВ. Новый подход к выяснению гистофизиологических процессов в почечных клубочках. *Нефрология* 1999; 3 (2): 30 – 33
3. Кучер АГ, Есаян АМ, Шишкина ЛИ и др. Влияние нагрузок растительным животным белком на функциональное состояние почек у здоровых людей. *Нефрология* 1997; 1 (2): 79 – 84
4. De Santo NG, Anastasio P, Cirillo et al. Sequential analysis of variation in glomerular filtration rate to calculate the haemodynamic response to meal meat. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10 [Suppl 9]: 1629 – 1636
5. Гоженко АИ, Куксань НИ, Гоженко ЕА. Методика определения почечного функционального резерва. *Нефрология* 2001; 5 (4): 70 – 73
6. Beuknof HR, ter Wee PR, Sluiter WJ, Donker AJM. Renal reserve filtration capacity before and after kidney donation. *Am J Nephrol* 1985; 5 (1): 267 – 270
7. Zuccala A, Zucchellii P. Use and misuse of renal functional reserve concept in clinical nephrology. *Nephrol Dial Transplant* 1990; 5 [Suppl 2]: 410 – 417
8. Рябов СИ, Наточин ЮВ. *Функциональная нефрология*. Лань, СПб., 1997; 5 – 27
9. Лакин ГФ. *Биометрия*. Высшая школа, М., 1980; 40 – 66
10. Крыжановский ГН. Некоторые закономерности осуществления биологических процессов и их роль в патологии. *Патол физиол эксперим терапия* 1974; (6): 3 – 15
11. Куприянов ВВ, Караганов ЯЛ, Козлов ВИ. *Микроциркуляторное русло*. Медицина, М., 1975; 136 – 155
12. Зуфаров КА, Юлдашев АЮ. Тонкая кишка. В: *Руководство по гистологии*. СпецЛит, СПб, 2002; 115 – 140
13. Анохин ПК. *Очерки по физиологии функциональных систем*. Медицина, М., 1975; 275 – 291
14. Юлдашев АЮ, Рахманов РР, Юлдашев МА. Принципы системогенеза и особенности нефрогенеза. *Мед журнал Узбекистана* 2005; (6): 51 – 56

Поступила в редакцию 21.03.2007 г.

Принята в печать 07.06.2007 г.

© С.В.Барабанова, Ю.В.Андреева, З.Е.Артюхина, К.Т.Овчинникова, С.В.Перекрест, В.Роджерс, Е.А.Корнева, 2007
УДК 616.5-08.832.42]:611.018.5+611.018.46-092.4

*С.В. Барабанова, Ю.В. Андреева, З.Е. Артюхина, К.Т. Овчинникова,
С.В. Перекрест, В.Роджерс, Е.А.Корнева*

КЛЕТочный СОСТАВ КРОВИ И КОСТНОГО МОЗГА КРЫС ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ЦИКЛОФОСФАМИДА И ОБЛУЧЕНИЯ КОЖИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫМИ ВОЛНАМИ КРАЙНЕ ВЫСОКОЙ ЧАСТОТЫ

*S.V. Barabanova, Yu.V. Andreeva, Z.E. Artyukhina, K.T. Ovchinnikova,
S.V. Perecrest, V. Rogers, E.A. Korneva*

CELLULAR COMPOSITION OF BLOOD AND BONE MARROW OF RATS AFTER ADMINISTRATION OF CYCLOPHOSPHAMIDE AND IRRADIATION OF SKIN WITH EXTREMELY HIGH FREQUENCY WAVES

Отдел общей патологии и патологической физиологии Научно-исследовательского института экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург, Россия, Институт биоинформационных исследований, Филадельфия, США

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬЮ ИССЛЕДОВАНИЯ являлся мониторинг клеточного состава крови и костного мозга крыс через 24 часа и 7 суток после однократной внутрибрюшинной инъекции циклофосфамида (20 и 40 мг/массы тела животного) и попытка коррекции наблюдающихся изменений при помощи облучения кожи электромагнитными волнами крайне высокой частоты (КВЧ). **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** Эксперименты проведены на 50 крысах-самцах линии Вистар. Определены изменения относительного и абсолютного количества лейкоцитов крови и миелокариоцитов костного мозга через 24 часа и 7 суток после инъекции циклофосфамида (20 и 40 мг/кг массы тела животного), КВЧ-облучения кожи (37-53 GHz, 7, 1 мм, 20 мВт) и при сочетании этих воздействий. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Показано, что однократное в/б введение циклофосфамида приводит к снижению количества нейтрофилов и лимфоцитов в крови, лимфоидных клеток и общего количества недифференцированных клеточных элементов костного мозга через 24 часа после инъекции. Через 7 суток отмечена лимфопения и увеличение количества недифференцированных клеточных элементов в костном мозге. КВЧ-облучение кожи приводит к повышению количества палочкоядерных нейтрофилов в крови, уменьшению количества палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов в костном мозге крыс через 24 часа и нивелирует циклофосфамид-индуцированное повышение количества недифференцированных клеток костного мозга через 7 суток после воздействия. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Введение циклофосфамида вызывает цитопению в крови и костном мозге крыс через 24 часа. Через 7 суток после введения циклофосфамида в костном мозге количество зрелых форменных элементов остается пониженным, но возрастает число недифференцированных клеточных форм. КВЧ-облучение кожи приводит к снижению степени интенсивности наблюдаемых изменений.

Ключевые слова: циклофосфамид, КВЧ, лимфоциты, нейтрофилы, кровь, костный мозг.

ABSTRACT

THE AIM of the research was to monitor the content of blood cells and bone marrow of rats in 24 hours and 7 days after a single intraperitoneal injection of cyclophosphamide (20 and 40 mg of body weight of the animal) and to attempt correction of the observed alterations using irradiation of the skin with extremely high frequency (EHF) waves. **MATERIAL AND METHODS.** The experiments were performed in 50 male Wister rats. The quantity of blood leukocytes and bone marrow myelocytes were determined in 24 hours and 7 days after injection of cyclophosphamide (20 and 40 mg), EHF irradiation of the skin (37-53 GHz, 7.1 mm, 20 mWt), and a combination of these factors. **RESULTS.** A single i.p. injection of cyclophosphamide was shown to result in a decreased quantity of blood neutrophils and lymphocytes, lymphoid cells and total quantity of nondifferentiated cell elements of the bone marrow in 24 hours after injection. Lymphopenia and increased number of nondifferentiated cell elements of the bone marrow were noted in 7 days after injection. EHF irradiation of skin leads to the increased quantity of band neutrophils in blood and decreased band and segmental neutrophils in bone marrow of rats in 24 hours and levels the cyclophosphamide-induced increase of the quantity of nondifferentiated cells in bone marrow in 7 days. **CONCLUSION.** Injection of cyclophosphamide causes cytopenia in blood and bone marrow of rats in 24 hours. In 7 days after injection of cyclophosphamide the quantity of mature cells remains diminished, but the number of nondifferentiated cell forms is increased. EHF irradiation of skin leads to decreased intensity of the observed alterations.

Key words: cyclophosphamide, EHF, lymphocytes, neutrophils, blood, bone marrow.

ВВЕДЕНИЕ

Препараты цитостатического действия широко применяются при комплексной терапии нефро-

логических, онкологических и аутоиммунных заболеваний [1]. Одной из существенных проблем, которые возникают при проведении данной терапии,

является неизбежное повреждающее действие цитостатиков на все быстроделяющиеся клетки, в том числе и иммунокомпетентные. Применение циклофосфида (ЦФ) приводит к значительному снижению количества лимфоцитов в крови, подавлению их функциональной активности и оказывает токсическое воздействие на костный мозг [2,3,4]. Последствиями лейкопении являются инфекционные осложнения, которые развиваются в основном в период наибольшего снижения количества лейкоцитов в крови пациентов.

Известно, что применение ЦФ в основном приводит к повреждению или гибели кроветворных клеток, находящихся на поздних стадиях развития. Поскольку препарат не обладает кумулятивным угнетающим действием на костномозговое кроветворение, после прекращения химиотерапии численность популяций костномозговых клеток восстанавливается за счет костномозгового резерва стволовых клеток и клеток-предшественников.

Поскольку показано, что КВЧ-облучение способствует нормализации функционального состояния клеток крови при разных формах патологии [5] и КВЧ-терапия используется в настоящее время при лечении заболеваний различной этиологии: неврологических [6,7], кардиологических [8], онкологических [9] и ряда других, представлялось целесообразным провести анализ изменений количества клеток крови и дифференцированных клеточных элементов костного мозга, вызываемых введением циклофосфида и попытаться воздействовать на интенсивность этих изменений, применив КВЧ-облучение кожи.

Целью данной работы являлось исследование влияния в/б введения циклофосфида и КВЧ-облучения кожи на клеточный состав крови и костного мозга крыс.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на 50 крысах-самцах линии «Wistar» массой 180-220 г. До введения в эксперимент животных в течение 5 дней адаптировали к экспериментальной обстановке: каждый день в 10 часов утра крыс помещали в пластмассовые цилиндрические контейнеры, соответствующие размеру крысы. Через 2-3 дня животные привыкали к помещению в контейнер и спокойно находились в них сначала в течение 20, а затем – 30 и 40 минут.

Источником КВЧ-излучения служил генератор электромагнитного поля (модель G4-141, г. Пушкино, Россия), с диапазоном частот 37-53 GHz. Крыс подвергали КВЧ-облучению при длине волны 7,1 мм и мощности 20 мВт. Кожу крыс облучали в трех

точках: кожу обеих голени 3 мм ниже и 3 мм латеральнее центра колена и кожу на задней поверхности шеи между 7-м шейным и 1-м грудным позвонками по медиальной линии (соответственно проекциям St 36 и DU 14 акупунктурных точек). КВЧ-облучение проводили двукратно по 40 минут с 40-минутным интервалом между облучениями.

Циклофосфамид вводили однократно, внутривентрально в дозе 20 и 40 мг на кг массы тела животного сразу же после окончания первого 40-минутного КВЧ-облучения.

Все исследования были проведены на животных следующих экспериментальных групп: 1- находящиеся в контейнере, подвергнутые ложному облучению (с присоединением волноводов, но не при включенном аппарате) и однократной в/б инъекции физиологического раствора (ФР); 2 – подвергнутые ложному облучению и однократной в/б инъекции ЦФ в дозе 20 мг/кг; 3 – подвергнутые ложному облучению и получившие однократную в/б инъекцию ЦФ в дозе 20 мг/кг; 4 – подвергнутые КВЧ-облучению двукратно по 40 мин с однократной инъекцией ФР; 5 – подвергнутые КВЧ-облучению двукратно по 40 мин с введением ЦФ в дозе 20 мг/кг; 6 – подвергнутые КВЧ-облучению двукратно по 40 мин с введением ЦФ в дозе 40 мг/кг.

Относительное количество форменных элементов крови и костного мозга определяли, подсчитывая на мазках цельной крови (окрашенных по Май-Грюнвальду) количества отдельных видов клеток на каждые 100 форменных элементов крови. Для пересчета в абсолютные величины подсчитывали в камере Горяева общее количество лейкоцитов крови или миелокариоцитов.

Забор крови осуществляли из левого желудочка сердца. Для оценки морфологического состава костного мозга вычленили бедренную кость крысы, удаляли мягкие ткани и проксимальный эпифиз, в дистальный эпифиз вводили иглу и выдували с помощью резинового баллона костный мозг на предметное стекло. Костный мозг суспендировали на предметном стекле с помощью капилляра. Затем 5 мкл суспензии переносили в 200 мкл аутентичной сыворотки и тщательно перемешивали встряхиванием. Смесь костного мозга и сыворотки разбавляли 3% уксусной кислотой до получения разведения 1:1000. Полученную гомогенную костномозговую взвесь использовали для подсчета абсолютного количества ядросодержащих клеток костного мозга (миелокариоцитов) на единицу объема в камере Горяева по стандартной методике.

Приготовленные нефиксированные мазки из смеси костного мозга и сыворотки окрашивали краской Май-Грюнвальда (неразбавленной) в те-

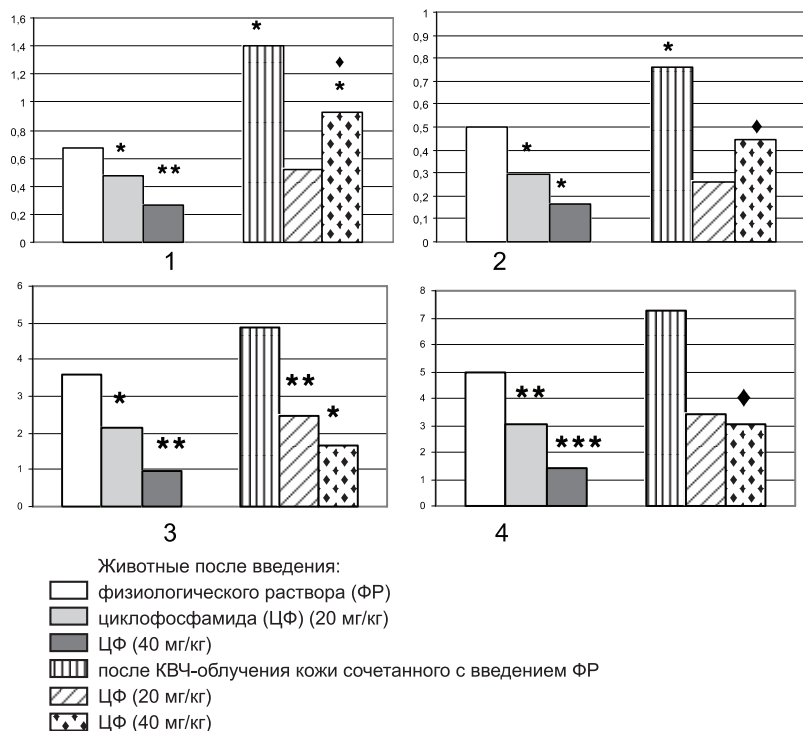


Рис. 1. Количество лейкоцитов крови крыс через 24 часа после в/б введения циклофосамида и КВЧ-облучения кожи. 1 – палочкоядерные нейтрофилы, 2 – сегментоядерные нейтрофилы, 3 – лимфоциты, 4 – общее количество лейкоцитов. По оси ординат количество клеток ($\times 10^9/\text{мл}$). * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ – по сравнению с количеством клеток после введения ФР; ♦ – $P < 0,05$ – по сравнению с количеством клеток после введения циклофосамида в дозе 40 мг/кг.

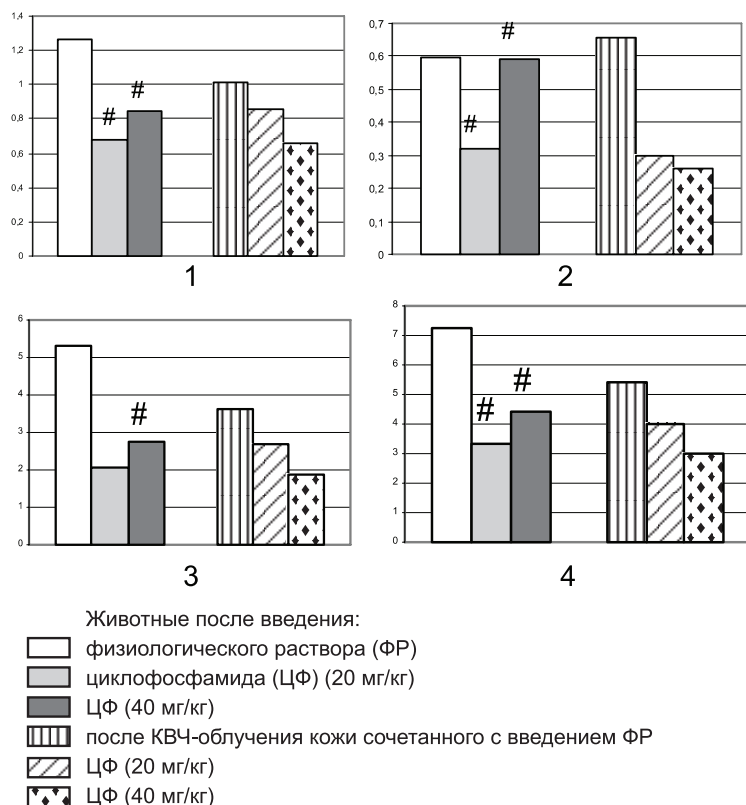


Рис. 2. Количество лейкоцитов крови крыс через 7 суток после в/б введения циклофосамида и КВЧ-облучения кожи. 1 – палочкоядерные нейтрофилы, 2 – сегментоядерные нейтрофилы, 3 – лимфоциты, 4 – общее количество лейкоцитов. По оси ординат количество клеток ($\times 10^9/\text{мл}$). # – $P < 0,05$ – по сравнению с соответствующими показателями через 24 часа после воздействия.

чение 3 минут, затем с добавлением воды 1:1 в течение 1 минуты. Промывали и высушивали. Затем окрашивали краской Романовского-Гимзе (в разведении 1: 30 с PBS) в течение 30 минут. Общую миелограмму подсчитывали путем дифференциации 400 клеток с последующим пересчетом в абсолютные величины.

Полученные результаты анализировали стандартными методами вариационной статистики (программа «Statistica»), определяя достоверность полученных изменений при помощи t-критерия Стьюдента. Для оценки взаимосвязи изменений клеточного состава крови и костного мозга применяли корреляционный анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе работы оценивали лейкоцитарный состав крови и костного мозга: количество палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов крови и костного мозга, общее количество лейкоцитов крови и миелокариоцитов костного мозга.

Кроме того, в костном мозге определяли общее число дифференцированных (зрелых форменных элементов) и недифференцированных клеточных форм (ядро-содержащих клеток, у которых отсутствуют характерные морфологические признаки зрелых форменных элементов). Проведенные исследования позволили выявить изменения клеточного состава крови и костного мозга крыс при в/б введении ЦФ и КВЧ-облучении кожи крыс.

Клеточный состав крови крыс после в/б введения ЦФ и КВЧ-облучения кожи. Через 24 часа после инъекций ЦФ в дозах 20 и 40 мг/кг наблюдали снижение числа палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, лимфоцитов и общего числа лейкоцитов крови крыс по сравнению с показателями, характерными для животных, которым вводили ФР (рис. 1).

КВЧ-облучение кожи приводило к увеличению числа палочкоядерных нейтрофилов в крови животных, которым вводили ФР или ЦФ в дозе 40 мг/кг (см. рис. 1). Общее количество лейкоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов при сочетании КВЧ-облучения и введения

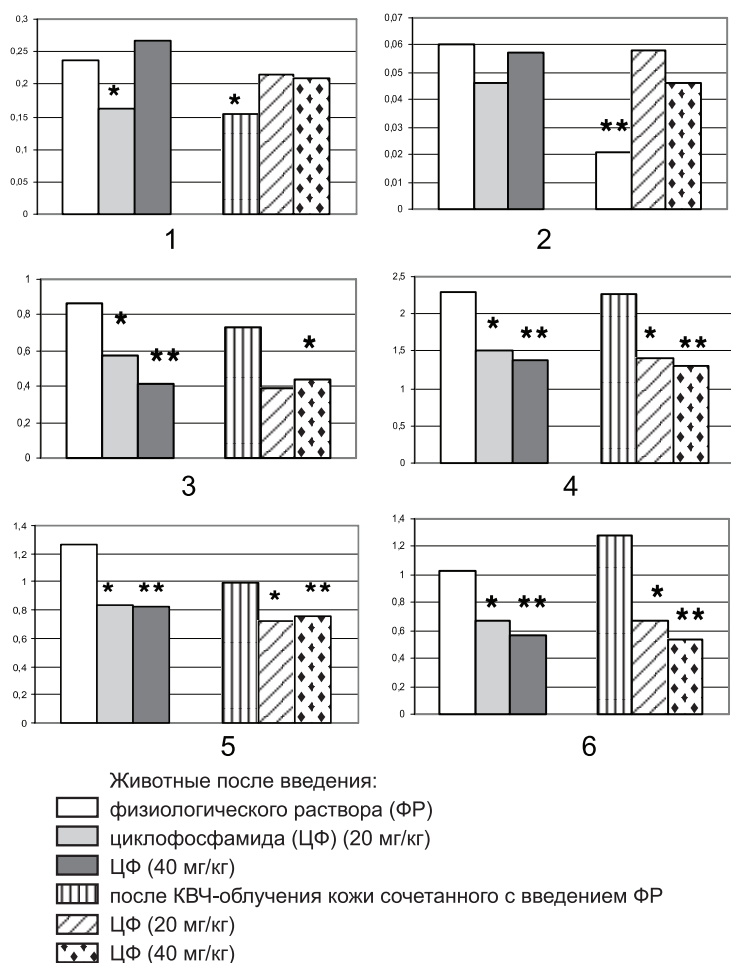


Рис. 3. Количество клеток в костном мозге крыс через 24 часа после в/б введения циклофосфамида и КВЧ-облучения кожи. 1 – палочкоядерные нейтрофилы, 2 – сегментоядерные нейтрофилы, 3 – лимфоциты, 4 – миелокарициты, 5 – дифференцированные клетки, 6 – недифференцированные клетки. По оси ординат количество клеток ($\times 10^9/\text{мл}$). * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$ – по сравнению с количеством клеток после введения ФР.

циклофосфамида в дозе 40 мг/кг было выше, чем при применении только циклофосфамида.

Через 7 суток после введения ЦФ или КВЧ-облучения кожи достоверных изменений клеточного состава крови крыс не обнаружено (рис. 2).

Количество палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, лимфоцитов и общее количество лейкоцитов через 7 суток после введения ЦФ (20 и 40 мг/кг) было выше, чем через 24 часа после этих инъекций (рис. 2).

Клеточный состав костного мозга крыс после в/б введения ЦФ и КВЧ-облучения кожи. Применение ЦФ в дозах 20 и 40 мг/кг приводило к уменьшению количества палочкоядерных нейтрофилов, лимфоцитов, общего количества миелокарицитов, дифференцированных и недифференцированных клеток костного мозга через 24 часа после введения (рис. 3).

КВЧ-облучение кожи в сочетании с введением физиологического раствора приводило к снижению

количества палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов через 24 часа после воздействия по сравнению с их числом у интактных животных. На фоне введения циклофосфамида подобного эффекта применения КВЧ-облучения не наблюдали (рис. 3).

Через 7 суток после инъекции ЦФ в дозе 20 мг/кг происходило снижение количества лимфоцитов и общего числа дифференцированных клеточных форм костного мозга крыс (рис. 4) по сравнению с их количеством у животных, которым вводили ФР. Применение ЦФ в дозе 40 мг/кг вызывало уменьшение количества лимфоцитов и общего числа дифференцированных клеток и повышало количество недифференцированных клеточных форм. При сочетании КВЧ-облучения и введения ЦФ в дозе 40 мг/кг выявлено снижение общего количества недифференцированных клеточных форм.

В костном мозге, так же как и в периферической крови, наблюдали различия между изменением количества форменных элементов через 24 часа и 7 суток после воздействия. Через 7 суток после введения ЦФ в дозе 20 мг/кг количество палочкоядерных нейтрофилов, дифференцированных и недифференцированных клеток костного мозга, общее количество лейкоцитов выше, чем через 24 часа после введения препарата. При сочетании введения ЦФ и КВЧ-облучения кожи через 7 дней также наблюдали повышение количества лимфоцитов (20 и 40 мг/кг), дифференцированных (40 мг/кг) и недифференцированных (20 и 40 мг/кг) клеточных форм и общего количества миелокарицитов (40 мг/кг) по сравнению с их количеством, характерным для результатов исследования клеточного состава костного мозга через 24 часа после воздействия (рис. 4).

Таким образом, в ходе проведенного исследования определено, что через 24 часа после введения циклофосфамида наблюдается цитопения в крови и костном мозге крыс. Через 7 суток после введения циклофосфамида количество зрелых форменных элементов в костном мозге остается пониженным, но возрастает число недифференцированных клеточных форм. КВЧ-облучение кожи приводит к снижению степени интенсивности наблюдаемых изменений.

ОБСУЖДЕНИЕ

Как выяснилось в ходе проведенного исследования, уменьшение количества лейкоцитов в крови

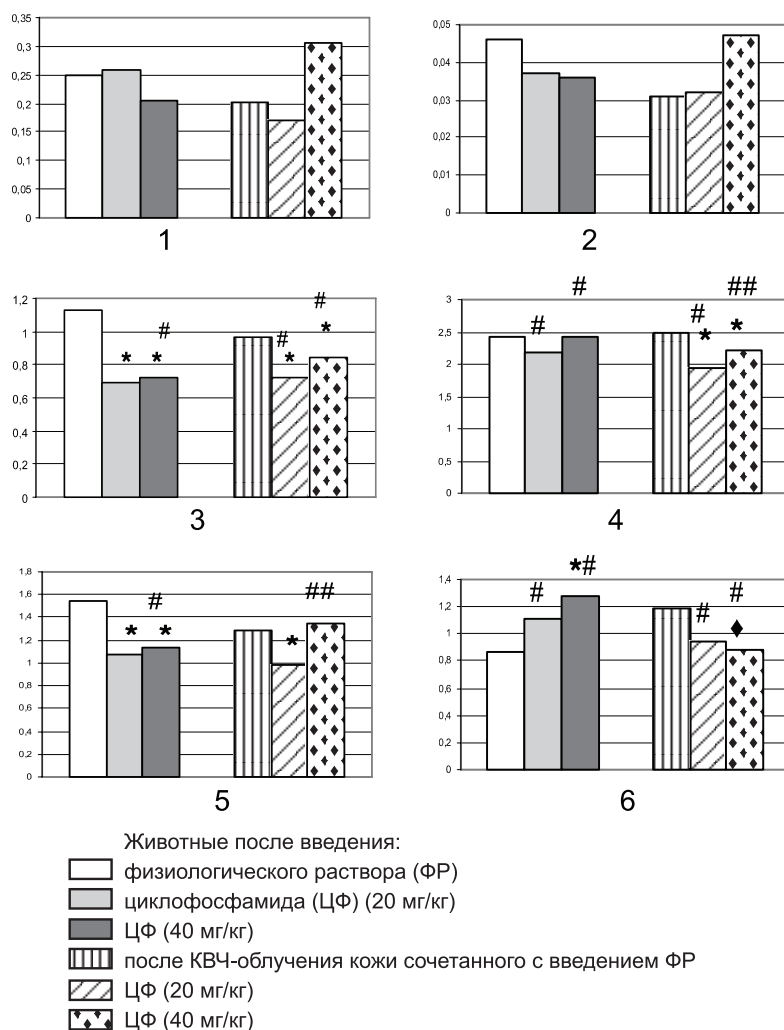


Рис. 4. Количество клеток в костном мозге крыс через 7 суток после в/б введения циклофосфамида и КВЧ-облучения кожи. 1 – палочкоядерные нейтрофилы, 2 – сегментоядерные нейтрофилы, 3 – лимфоциты, 4 – миелокарициты, 5 – дифференцированные клетки, 6 – недифференцированные клетки. По оси ординат количество клеток ($\times 10^9/\text{мл}$). * – $P < 0,05$ – по сравнению с количеством клеток после введения ФР. ◆ – $P < 0,05$ – по сравнению с количеством клеток после введения циклофосфамида в дозе 40 мг/кг; # – $P < 0,05$; ## $P < 0,01$ – по сравнению с соответствующими показателями через 24 часа после воздействия.

крыс, через 24 часа после в/б введения ЦФ (20 и 40 мг/кг) происходит в результате снижения количества клеток основного гранулоцитарного звена (палочкоядерные и сегментоядерные нейтрофилы) и лимфоидных клеток. В костном мозге при введении ЦФ в дозах 20 и 40 мг/кг выявлено уменьшение количества лимфоцитов, общего количества миелокарицитов, дифференцированных и недифференцированных клеток, а при введении ЦФ в дозе 20 мг/кг – палочкоядерных нейтрофилов. Известно, что для нейтрофилов характерна высокая скорость замещения циркулирующих клеток. Одновременное уменьшение количества нейтрофилов в крови и костном мозге может свидетельствовать об угнетении одного или более этапов развития пролиферирующего пула нейтрофильных гранулоцитов. Уменьшение числа лимфоцитов в крови

может быть связано не только с возможной гибелью клеток, находящихся в стадии пролиферации [10], но и их перераспределением между кровью и лимфоидной системой [11].

Через 7 суток после в/б введения ЦФ не обнаружено изменений клеточного состава крови, тогда как в костном мозге наблюдается выраженная лимфопения, а количество недифференцированных клеточных форм увеличивается, что свидетельствует об активации процесса гемопоэза [13]. Данный факт может отражать как развитие компенсаторной реакции на элиминацию клеток при применении цитостатика, так и аномальное увеличение пролиферативной активности клеток костного мозга. Известно, что применение циклофосфамида при противоопухолевой химиотерапии может приводить к возникновению вторичных злокачественных образований, в том числе миелом [12].

Следует отметить, что в ряде случаев зарегистрировано более высокое количество клеточных элементов в крови и костном мозге через 7 суток после воздействий, по сравнению с их количеством, регистрируемым через 24 часа после воздействия. Гипермиелопоез через 7-10 суток после однократного введения цитостатических препаратов, в том числе цитоксана, показан при исследованиях морфологических изменений костного мозга [13].

Через 24 часа после КВЧ-облучения кожи, сочетанного с введением физиологического раствора, повышается количество палочкоядерных нейтрофилов в крови и уменьшается количество палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов в костном мозге крыс, что может свидетельствовать о стимулирующем влиянии КВЧ-облучения кожи на процесс миграции нейтрофилов из костного мозга в кровяное русло, хотя статистически значимой корреляции между этими изменениями выявлено не было. Не исключено, что возрастание количества нейтрофилов в крови связано также с мобилизацией секвестрированных (находящихся в депонированном состоянии) нейтрофилов. Увеличение количества палочкоядерных форм нейтрофилов в костном мозге через 24 часа происходило также и при КВЧ-облучении кожи на фоне введения ЦФ в дозе 40 мг/кг по сравнению с эффектом действия ЦФ.

Через 7 суток применение КВЧ-облучения кожи нивелировало ЦФ-индуцированное повышение количества недифференцированных клеток костного мозга, но изменений в количестве зрелых форменных элементов крови и костного мозга не наблюдали. Вероятно КВЧ-облучение кожи снижает избыточное повышение пролиферативной активности клеток костного мозга, вызванное действием циклофосфамида.

В ряде работ показано, что клетки крови чувствительны к КВЧ-воздействию. Например, при псориазе изменяются морфо-функциональные характеристики эритроцитов, а применение КВЧ-воздействия приводит к их нормализации [5].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, введение циклофосфамида вызывает цитопению в крови и костном мозге крыс через 24 часа. Через 7 суток после введения циклофосфамида в костном мозге количество зрелых форменных элементов остается пониженным, но возрастает число недифференцированных клеточных форм. КВЧ-облучение кожи приводит к снижению степени интенсивности наблюдаемых изменений, что выражается в нивелировании ЦФ-индуцированного снижения количества нейтрофилов крови через 24 часа и повышения количества недифференцированных клеток костного мозга через 7 суток после воздействия.

Авторы выражают благодарность Фонду Р.Фокса за финансовую поддержку данного исследования.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Donadio J, Glassock R. Immunosuppressive drug therapy in lupus nephritis. *Am J Kidney Dis* 1993; 21(3): 239-250
2. Janni W, Rjosk D, Strobl B et al. Chemotherapy-associated myelosuppression in gynecological oncology. *Gynakol Geburtshilfliche Rundsch* 2001;41(3):166-73
3. Mazur L, Augustynek A, Deptala A et al. Effects of WR-2721 and cyclophosphamide on the cell cycle phase specificity of apoptosis in mouse bone marrow. *Anticancer Drugs* 2002; 13(7):751-758
4. Zandvoort A, Lodewijk ME, Klok PA et al. Slow recovery of follicular B cells and marginal zone B cells after chemotherapy: implications for humoral immunity. *Clin Exp Immunol* 2001;124(2):172-179
5. Преснухина НГ, Дерюгина АВ, Крылов ВН. Влияние электромагнитных волн миллиметрового диапазона на морфо-функциональные показатели периферической крови. *Вестник Нижегородского ун-та. Сер Биология* 2000, 1(6): 51-57
6. Ронкин МА, Бецкий ОВ, Максименко ИМ и др. О лечебном эффекте КВЧ-воздействия у неврологических больных. В: Девятков НД, Бецкой ОВ, ред. *Миллиметровые волны в медицине. Сборник статей*. Том 1. М., 1991; 92-95
7. Скопюк МИ, Соловьева АА. Эффективность и безопасность микроволновой и резонансной терапии в лечении детского церебрального паралича: двойное слепое перекрестное исследование. *Physics Alive* 1994;2(1): 91-101
8. Моисеев ВН, Константинов ИВ, Левыкина ИГ. Результаты лечения больных ишемической болезнью сердца электромагнитным излучением миллиметрового диапазона. В: Девятков НД, Бецкой ОВ, ред. *Миллиметровые волны в медицине. Сборник статей*. Том 1. М., 1991; 48-51
9. Грубник БП, Ситько СП, Шалимов АА. Опыт применения технологии «Ситько-МРТ» для реабилитации онкологических больных III-IV стадии. *Physics Alive* 1998; 6(1): 97-102
10. Латипова НС, Аляви АЛ. Хромосомные aberrации в лимфоцитах больных системной красной волчанкой в динамике цитостатической терапии. *Тер арх* 2002; (5):35-38
11. Мосягина ЕН, Владимирская ЕБ, Торубарова НА, Мызина НВ. *Кинетика форменных элементов крови*. М., 1976; 281
12. Bernard-Marty C, Mano M, Paesmans M et al. Second malignancies following adjuvant chemotherapy: 6-year results from a Belgian randomized study comparing cyclophosphamide, methotrexate and 5-fluorouracil (CMF) with an anthracycline-based regimen in adjuvant treatment of node-positive breast cancer patients. *Ann Oncol* 2003; 14:693-698
13. Дыгай АМ, Жданов ВВ, Поженко НС и др. Участие костномозговых фибробластов в восстановлении гранулоцитопоза при цитостатических миелосупрессиях. *Бюлл эксперим биол мед* 2000; 129(5): 528-531

Поступила в редакцию 15.03.2007 г.

Принята в печать 07.06.2007 г.

© С.Х.Аль-Шукри, М.Г.Рыбакова, И.А.Корнеев, Г.М.Нутфулина, Е.С.Завьялова, 2007
УДК 616.62-006.6-073.96

*С.Х. Аль-Шукри, М.Г. Рыбакова, И.А. Корнеев, Г.М. Нутфулина,
Е.С. Завьялова*

ПРИМЕНЕНИЕ КОМПЬЮТЕРНОГО КАРИОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ПЕРЕХОДНО-КЛЕТОЧНЫХ КАРЦИНОМ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

S.Kh. Al-Shukri, M.G. Rybakova, I.A. Korneev, G.M. Nutfulina, E.S. Zaviyalova

USE OF A COMPUTED KARYOMETRIC ANALYSIS FOR STUDYING TRANSITIONAL CELL CARCINOMAS OF THE URINARY BLADDER

Кафедры урологии и патологической анатомии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени акад. И.П. Павлова, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ: Изучить кариометрические особенности клеток переходно-клеточных карцином мочевого пузыря, сопоставить их с клиническими данными, глубиной инвазии и степенью дифференцировки рака. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Ретроспективно изучены материалы клинического обследования 12 больных переходно-клеточным раком мочевого пузыря. Глубина инвазии рака Tis, Ta, T1, T2, T3 и Tx была выявлена в 1(7%), 4(29%), 1(7%), 1(7%), 1(7%) и 6(43%), а степень дифференцировки G1, G2 и G3 – в 8(57%), 4(29%) и 2(14%) препаратах соответственно. В послеоперационном периоде рецидивы были выявлены у 6(50%) человек, средняя продолжительность безрецидивного промежутка составила 4±1 мес. 3(25%) пациентов умерли от прогрессирования рака. При увеличении 250х изображение 10 полей зрения опухолевой ткани было подвергнуто компьютерной обработке при помощи программы «ВидеоТест Морфо 4.0», рассчитаны 162 признака клеточных ядер. **РЕЗУЛЬТАТЫ:** Кариометрические показатели были связаны с полом ($p=0,05$) и возрастом больных ($p=0,004$), размерами ($p=0,009$), множественностью ($p=0,013$), глубиной инвазии ($r=0,73$; $p=0,04$) и степенью дифференцировки ($p=0,011$) новообразований. Выживаемость больных без прогрессирования рака оказалась связана с 92 морфометрическими параметрами ($p<0,05$). Ни один из исследованных признаков не указывал на рецидивирующее течение заболевания. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ:** Кариометрические особенности клеток переходно-клеточных карцином мочевого пузыря соответствуют клинической картине заболевания и морфологическим особенностям опухолей, а также указывают на вероятность прогрессирования рака после хирургического лечения.

Ключевые слова: переходно-клеточная карцинома мочевого пузыря, кариометрия, прогноз.

ABSTRACT

THE AIM of the investigation was to study karyometric features of the cells of transitional cell carcinomas of the urinary bladder, to compare them with clinical data, invasion depth and the degree of cancer differentiation. **PATIENTS AND METHODS.** Materials of clinical examinations of 12 patients with transitional cell carcinoma of the urinary bladder were studied retrospectively. The carcinoma invasion depth Tis, Ta, T1, T2, T3 and Tx was detected in 1(7%), 4 (29%), 1(7%), 1(7%), 1(7%) and 6(43%), the differentiation degree G1, G2 and G3 – in 8(57%), 4(29%) and 2(14%) preparations respectively. In the postoperative period recurrences were noted in 6(50%) patients, the average duration of the recurrence-free period was 4±1 month. 3(25%) patients died of cancer progression. Under 250x magnification the picture of 10 fields of vision of the tumor tissue were processed with a computer using the program "Video Test Morpho 4.0", 162 signs of cell nuclei were calculated. **RESULTS.** Karyometric indices were associated with the gender ($p=0.05$) and age of the patients ($p=0.004$), sizes ($p=0.009$), multiplicity ($p=0.013$), invasion depth ($r=0.73$; $p=0.04$) and differentiation degree ($p=0.011$) of the neoplasms. Survival of the patients without progressing carcinomas proved to be associated with 92 morphometrical parameters ($p<0.05$). None of the signs studied pointed to the recurrent course of the disease. **CONCLUSION.** Karyometric features of the cells of the transitional cell carcinomas of the urinary bladder correspond to the clinical picture of the disease and morphometrical features of the tumors, and also point to the probability of progressing carcinoma after surgical treatment.

Key words: transitional cell carcinoma of the urinary bladder, karyometry, prognosis.

ВВЕДЕНИЕ

Переходно-клеточные карциномы мочевого пузыря составляют 3-6% от всех новообразований человека и в структуре онкологической заболеваемости занимают 11-е место с частотой 10 – 15 случаев на 100 000 человек в год [1]. Число больных первично диагностированным раком мочево-

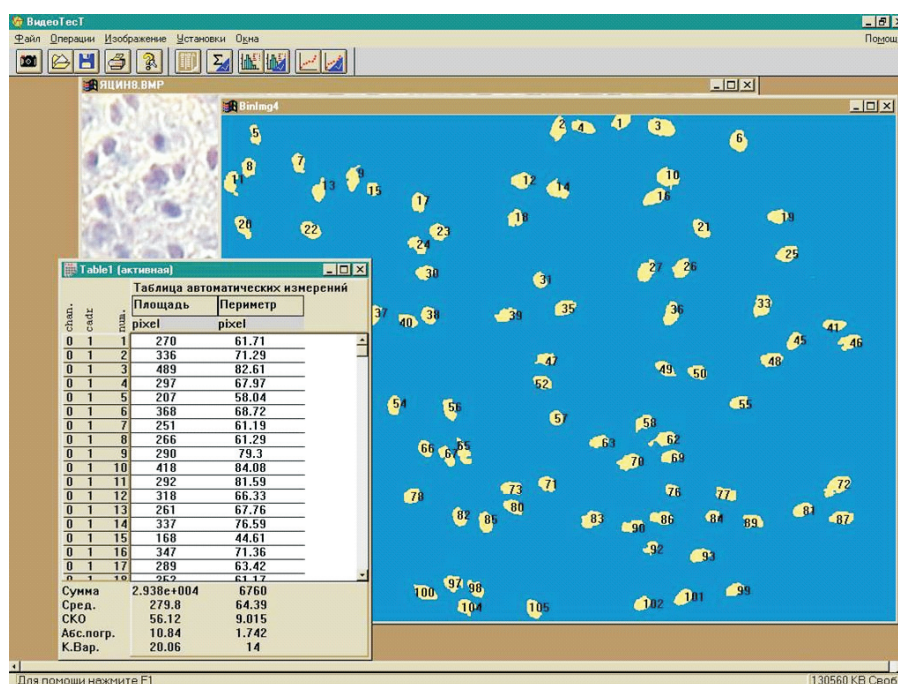
го пузыря непрерывно возрастает, что, по-видимому, обусловлено увеличением экспозиции к канцерогенным веществам и улучшением диагностики ранних стадий болезни [2]. В настоящее время установлено, что отдаленные результаты лечения больных, принадлежащих к одним и тем же классификационным подгруппам и получавших одина-

ковое лечение, существенно различаются. Очевидно, что термин «карцинома мочевого пузыря» объединяет группу разнородных по своей биологической активности опухолей, а современная классификация по системе TNM и G, предложенная Международным Противораковым Союзом, не позволяет полноценно прогнозировать их биологическое поведение [3]. В связи с этим многие исследовательские группы занимаются поиском дополнительных прогностических факторов, позволяющих уточнить злокачественный потенциал новообразований и выбрать адекватный метод лечения. Одним из направлений этих исследований является компьютерная морфометрия, которая позволяет получить представление о пролиферативной активности опухоли на основании количественной оценки параметров ядер опухолевых клеток. В отечественной литературе нами не обнаружено подобных работ, а единичные зарубежные публикации на эту тему противоречивы и опираются на методики, не получившие широкого распространения в России [4,5,6]. Целью настоящего исследования явилось изучение карцином мочевого пузыря при помощи компьютерной морфометрии, а также сопоставление полученных данных с гистологическими и клиническими характеристиками рака.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Ретроспективно изучены материалы клинического обследования 12 больных переходно-клеточным раком мочевого пузыря, в связи с которым им было проведено 14 трансуретральных резекций (7 (50%) – первичных и 7 (50%) – по поводу рецидивов) в клинике урологии СПбГМУ им.акад. И.П. Павлова в 1995–2001 гг. Соотношение мужчин и женщин составило 5:1, средний возраст пациентов – 61 ± 3 год. В 6 (43%) случаях опухоли были одиночные, в 8 (57%) – множественные, их размеры варьировали от 1 до 4,5 см и в среднем составили $2 \pm 0,4$ см, у 9 (64%) больных карциномы располагались в области мочепузырного треугольника.

Операционный материал был подвергнут обзорному гистологическому анализу на срезах тол-



Микрофото, увеличение $\times 250$. Переходно-клеточный рак мочевого пузыря, окраска гематоксилином и эозином. В рабочем окне программы «ВидеоТест Морфо» определяются выделенные ядра опухолевых клеток.

щиной 5–7 мкм, окрашенных гематоксилином и эозином при увеличении $40\times$. Глубина инвазии рака Tis, Ta, T1, T2, T3 и Tx была выявлена в 1 (7%), 4 (29%), 1 (7%), 1 (7%), 1 (7%) и 6 (43%), а степень дифференцировки G1, G2 и G3 – в 8 (57%), 4 (29%) и 2 (14%) препаратах соответственно.

После операции больные находились под регулярным диспансерным наблюдением в течение 60–99 мес. (в среднем – 75 ± 3 мес.), рецидивы были выявлены у 6 (50%) человек, средняя продолжительность безрецидивного промежутка составила 4 ± 1 мес. 3 (25%) пациента умерли от интоксикации на фоне множественного метастазирования рака.

Методика морфометрического анализа

При увеличении $250\times$ изображение 10 полей зрения опухолевой ткани в приготовленных по стандартной методике и окрашенных гематоксилином и эозином срезах толщиной 5–7 мкм через видеокамеру было трансформировано в цифровой формат и далее подвергнуто компьютерной обработке при помощи программы «ВидеоТест Морфо 4.0» (см. фото). При этом были контрастированы границы клеточных ядер и для каждого из них рассчитаны 18 параметров (площадь, периметр, длина, ширина, средняя хорда, округлость, удлиненность, проекция ядра на оси X и Y мерной шкалы поля зрения, средний габарит, фактор круга, фактор эллипса, эквивалентный диаметр, максимальная и минимальная оси эллипса, а также минимальный, средний и максимальный диаметры Фере), ха-

рактизирующих форму и размер ядра. Для каждого параметра ядер в поле зрения были рассчитаны показатели распределения: среднее, минимальное и максимальное значения, коэффициент вариации, стандартное отклонение, сумма, медиана, геометрическое и гармоническое средние значения. Таким образом в каждом поле зрения были рассчитаны значения 162 признаков клеточных ядер. Достоверность связей между клиническими и морфометрическими параметрами оценивали с помощью коэффициента корреляции Пирсона, критерия Стьюдента, рангового критерия Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При анализе полученных данных были выявлены закономерности строения ядер опухолевых клеток, соответствующие значениям клинических и морфологических признаков.

Более крупные ядра переходно-клеточных карцином были обнаружены у мужчин ($r=0,53$; $p=0,05$). У пациентов старшего возраста ядра имели более округлую форму ($r=0,71$; $p=0,004$), меньшую длину ($p=0,58$; $r=0,029$), периметр ($r=0,56$; $p=0,038$), а также размеры максимальной оси эллипса ($r=0,55$; $p=0,041$) и габариты ($r=0,54$; $p=0,045$).

Выявлены различия размеров и формы ядер в зависимости клинических характеристик новообразований. Так, для опухолей больших размеров были характерными большая площадь ($r=0,67$; $p=0,024$), минимальный диаметр Фере ($r=0,68$; $p=0,022$), минимальная средняя ось эллипса ($r=0,73$; $p=0,01$), ширина ($r=0,74$; $p=0,009$), средняя хорда ($r=0,67$; $p=0,023$), эквивалентный диаметр ($r=0,68$; $p=0,017$), фактор эллипса ($r=0,65$; $p=0,032$) и габарит ядра ($r=0,61$; $p=0,046$). Большие значения площади ($t=2,33$; $p=0,038$), периметра ($t=2,68$; $p=0,02$), длины ($t=2,58$; $p=0,024$), габарита ($t=2,51$; $p=0,027$), максимального и среднего диаметров Фере ($t=2,54$; $p=0,027$ и $t=2,68$; $p=0,02$ соответственно), максимальной средней оси эллипса ($t=2,52$; $p=0,027$), проекции ядра на ось X и Y ($t=2,24$; $p=0,045$ и $t=2,89$; $p=0,013$ соответственно), эквивалентного диаметра ($t=2,21$; $p=0,047$) были обнаружены в множественных опухолях. Для ядер карцином, расположенных на задней стенке мочевого пузыря, были характерными эллипсоидная форма ($t=2,95$; $p=0,012$) и меньшая округлость ($t=2,2$; $p=0,048$).

Обнаружены различия строения ядер переходно-клеточных карцином с различной глубиной инвазии и степенью дифференцировки. Вростанию в стенку мочевого пузыря соответствовало увеличение минимального значения средней величины хорды ядра ($r=0,73$; $p=0,04$), а нарастанию анапла-

зии – увеличение степени эллипсоидности ядер ($t=3,31$; $p=0,011$) и большей неоднородности (SD) этого показателя ($t=3,3$; $p=0,011$).

92 морфометрических параметра оказались достоверно связанными с выживаемостью больных от опухолевой прогрессии ($p<0,05$), при этом большим размерам ядер соответствовала меньшая продолжительность жизни после оперативного лечения. Ни один из исследованных признаков не указывал на рецидивирующее течение заболевания ($p=n.s.$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что в процессе деления клеток меняется размер и форма ядер. Кроме того, известно, что новообразования, в которых находится большее число делящихся клеток, являются быстрорастущими и быстро прогрессирующими. В связи с этим для оценки агрессивности опухоли предлагали определять число митозов и рассчитывать величину митотического индекса [7]. Широкому применению этой методики препятствовала низкая воспроизводимость полученных результатов, обусловленная невысокой точностью измерений и субъективизмом оценки. Используемая в нашей работе методика компьютерной морфометрии дает возможность преодолеть эти недостатки и предоставить точную объективную характеристику большого числа ядер опухолевых клеток [8].

Для понимания закономерности изменений формы и размеров ядер опухолевых клеток у пациентов мужчин и женщин разного возраста требуется продолжение исследований. Известно, что карциномы мочевого пузыря встречаются у мужчин чаще, чем у женщин, что, возможно, обусловлено различиями содержания половых гормонов. Гормональный статус человека претерпевает существенные изменения с возрастом. Не исключено, что гормональная чувствительность клеток уротелия проявляется и на светооптическом уровне в виде особенностей клеточного строения и формы ядер.

Выявленные в нашей работе особенности изменения клеточных ядер переходно-клеточных карцином, сопровождающие увеличение глубины инвазии и утрату дифференцировки, подтверждают представление о более агрессивном поведении новообразований с большим числом делящихся клеток различной формы и размеров.

Наибольший интерес представляют морфометрические особенности опухолей мочевого пузыря, связанные с выживаемостью больных в послеоперационном периоде. Принимая во внимание большее число признаков, которые, с одной стороны,

оказались тесно связаны с прогрессированием рака, а, с другой стороны, не зависели от традиционных классификационных характеристик – глубины инвазии и степени дифференцировки, на основании полученных данных можно предположить независимое прогностическое значение морфометрических параметров клеточных ядер. Продолжение работ в этом направлении может позволить уточнить факторы, дополняющие прогностическое значение существующих в настоящее время классификационных категорий – pT и G. К аналогичному выводу пришли и другие исследователи, проводившие изыскания в этой области [9–12].

Авторы выражают глубокую благодарность к.м.н. В.В.Козлову за помощь в статистической обработке результатов обследования больных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, обнаруженные в нашей работе закономерности изменений формы и размеров ядер опухолевых клеток позволяют подтвердить высокую информативность компьютерной морфометрии и рекомендовать продолжение исследований для уточнения ее прогностической ценности.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Матвеев БП, ред. *Клиническая онкоурология*. Вердана, М; 2003
2. Plesko I, Obsitnikova A, Cuninkova M et al. Increasing occurrence of urological cancers. *Neoplasma* 2004; 51: 248-254
3. Аль-Шукри СХ, Ткачук ВН. *Опухоли мочеполовых органов*. СПб: Питер; 2000
4. Aoyama T, Fujikawa K, Sasaki M. Prognostic criteria in patients with renal pelvic and ureteral cancers—clinical value of volume weighted mean nuclear volume. *Hinyokika Kyo* 1996; 42(11): 841-845
5. Van der Poel HG, Van Cauberghe RD, Boon ME et al. Kariometry in recurrent superficial transitional cell tumors of the bladder. *Urol Res* 1992; 20(5): 375-381
6. Ramos D, Ruiz A, Morell L et al. Prognostic value of morphometry in low grade papillary urothelial bladder neoplasms. *Anal Quant Cytol Histol* 2004; 26(5): 285-294
7. Lipponen PK, Kosma VM, Collan Y et al. Potential of nuclear morphometry and volume-corrected mitotic index in grading transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Eur Urol* 1990; 17(4): 333-337
8. Wojcik EM, Miller MC, O'Dowd GJ, Veltri RW. Value of computer-assisted quantitative nuclear grading in differentiation of normal urothelial cell from low and high grade transitional cell carcinoma. *Anal Quant Cytol Histol* 1998; 20(1): 69-76
9. Lipponen PK, Eskelinen MJ, Jauhainen K et al. Prediction of superficial bladder cancer by nuclear image analysis. *Eur J Cancer* 1992; 29A(1): 61-65
10. Fukuzawa S, Hashimura T, Sasaki M et al. Nuclear morphometry for improved prediction of the prognosis of human bladder carcinoma. *Cancer* 1995; 76(10): 1790-1796
11. Pich A, Chiusa L, Comino A, Navone R. Cell proliferation indices, morphometry and DNA flow cytometry provide objective criteria for distinguishing low and high grade bladder carcinomas. *Virchows Arch* 1994; 424(2): 143-148
12. Yang QB, Xia YZ, Wang ZY et al. Morphometric diagnosis of bladder tumor. *Oncology* 1991; 48(3): 188-193

Поступила в редакцию 26.02.2007 г.

Принята в печать 07.06.2007 г.

© Н.М.Степанова, 2007
УДК 616.62-002-036.12-07

Н.М. Степанова

ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИЙ МОЧЕВОЙ СИСТЕМЫ: ХРОНИЧЕСКИЙ ЦИСТИТ – РЕАЛЬНОСТЬ ИЛИ МИФ?

N.M.Stepanova

THE DIAGNOSTICS OF THE URINARY TRACT INFECTIONS: CHRONIC CYSTITIS – REALITY OR MYTH?

Институт нефрологии Академии медицинских наук Украины, Киев

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬЮ работы была попытка выявить критерии дифференциальной диагностики хронического пиелонефрита и хронического цистита на основании ретроспективного изучения основных анамнестических данных и клинико-лабораторных симптомов инфекций мочевых путей (ИМС). **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Проведен ретроспективный анализ медицинской документации 450 женщин с ИМС. Критерием включения пациенток в исследование было наличие хронической ИМС (> 1 года) без нарушения функции почек и признаков обструкции. Женщины были разделены на 2 группы. I группу составили пациентки с хроническим пиелонефритом (ХПН) (n=370), II – с хроническим циститом (ХЦ) (n=80). Всем пациенткам с ХЦ было проведено скинтиграфическое исследование с РФП разного механизма элиминации: 1) реносцинтиграфия с ^{99m}Tc-ДМСА – рассматривались в качестве «золотого стандарта», 2) реносцинтиграфия с ^{99m}Tc-пирофосфатом – для оценки точности диагностического метода. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Сравнительный анализ различия абсолютных частот ассоциированных с ПН признаков показал, что только 2 из них достоверно отличались в исследуемых группах. Однако выявленные различия между больными с ХПН и ХЦ были количественные, но не качественные. Реносцинтиграфия с ^{99m}Tc-пирофосфатом показала, что у 59 (74%) пациенток, которым был установлен диагноз ХЦ, определялись классические признаки пиелонефрита – шрамы. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** На основе использования данных анамнеза и клинико-лабораторных характеристик ИМС, которыми пользуется врач в ежедневной клинической практике, невозможно установить топик процесса (цистит или пиелонефрит). Реносцинтиграфия с ^{99m}Tc-пирофосфатом является объективным методом диагностики ИМС: чувствительность метода составляет 98%, специфичность 62%. Данные скинтиграфического исследования демонстрируют наличие признаков ПН у 100% больных с частым рецидивированием ХЦ; у 95% пациенток, перенесших всего 2 эпизода цистита в течение года, вовлечение почек в воспалительный процесс отсутствует.

Ключевые слова: инфекция мочевой системы, пиелонефрит, цистит, топическая диагностика, реносцинтиграфия.

ABSTRACT

THE AIM of the work was an attempt to reveal criteria of differential diagnostics of chronic pyelonephritis and chronic cystitis on the basis of a retrospective study of the main anamnestic data and clinico-laboratory symptoms of the urinary tract infections (UTI). **PATIENTS AND METHODS.** A retrospective analysis of medical documentation of 450 UTI women was made. The presence of chronic UTI (> 1 year) without impaired functions of the kidneys and symptoms of obstruction was taken as a criterion of inclusion of the patients in the investigation. The women were divided into two groups. The first group consisted of women with chronic pyelonephritis (CPN) (n=370), the second group – with chronic cystitis (CC) (n=80). Scitigraphic investigation was performed in all CC patients with RFP of different mechanism of elimination: 1) renoscintigraphy with ^{99m}Tc -DMSA – was considered as a “golden standard”. 2) renoscintigraphy with ^{99m}Tc-pyrophosphate – for the assessment of accuracy of the diagnosis method. **RESULTS.** A comparative analysis of differences of absolute frequencies associated with signs of PN has shown that only 2 of them differed considerably in the groups under study. However, the distinctions, found between patients with CPN and CC were of quantitative rather than qualitative character. Renoscintigraphy with ^{99m}Tc-pyrophosphate has shown that in 59 patients (74%) with the diagnosis CC there were classical signs of pyelonephritis – “scars”. **CONCLUSION.** On the basis of using the data of anamnesis and clinico-laboratory characteristics of UTI which are used by physicians in their every-day clinical practice it is not possible to establish the topic of the process (cystitis or pyelonephritis). Renoscintigraphy with ^{99m}Tc-pyrophosphate is an objective method of diagnosing UTI: the sensitivity of the method is 98%, the specificity – 62%. The scitigraphic investigation data demonstrate the presence of signs of PN in 100% of patients with frequent relapses of CC; in 95% of the patients who had only 2 episodes of cystitis during a year there was no involvement of the kidneys in the inflammatory process.

Key words: infection of the urinary tract system, pyelonephritis, cystitis, topic diagnostics, renoscintigraphy.

ВВЕДЕНИЕ

Термин «инфекция мочевой системы» (ИМС) является собирательным понятием, включающим инфекцию почек, мочевого пузыря и уретры. Как предварительный диагноз этот термин приемлем

в качестве отправной точки при планировании алгоритма топической диагностики. Однако зачастую довольно сложно различить эти заболевания, даже с помощью лабораторных и инструментальных методов исследования [1,2,3]. Некоторые авторы

выдвигают теорию вовлечения всех структур системы мочевого выделения, в той или иной степени, при любом локальном инфекционном процессе в мочевой системе [1,4,5].

Острый пиелонефрит может остаться нераспознанным, а обострения хронического процесса могут протекать незамеченными или трактоваться неправильно (ОРЗ, обострение гинекологической патологии, люмбаго). В итоге диагноз пиелонефрит (ПН) нередко устанавливается случайно, при обследовании по поводу другого заболевания, или же при развитии артериальной гипертензии или уремии [5]. Трудности диагностики обусловлены и тем, что появление манифестных, и в то же время необратимых, признаков болезни происходит через годы субклинического течения ПН. Поэтому дифференцировать пиелонефрит и рецидивирующий цистит во многих случаях предельно сложно, а дифференцировать необходимо, поскольку именно нозологической формой ИМС определяется объем, длительность и условия проведения антибактериального лечения.

Целью нашей работы была попытка выявить критерии дифференциальной диагностики хронического пиелонефрита и хронического цистита на основании ретроспективного изучения основных анамнестических данных и клинико-лабораторных симптомов ИМС.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

1) провести ретроспективный анализ основных анамнестических данных и клинико-лабораторных симптомов ИМС;

2) оценить точность реносцинтиграфии с ^{99m}Tc -пирофосфатом в диагностике ИМС.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Нами был проведен ретроспективный анализ медицинской документации 450 женщин с ИМС, находившихся на лечении в Институте нефрологии АМН Украины и Киевском научно-практическом центре нефрологии и диализа с 2000 по 2006 год. Возраст пациенток колебался от 16 до 73 лет и в среднем составил $33 \pm 2,6$ лет. Длительность заболевания была от 1 до 18 лет ($10,2 \pm 8,5$ лет в среднем).

Критерием включения пациенток в исследование было наличие хронической ИМС (> 1 года) без нарушения функции почек (СКФ в среднем составила $103,98 \pm 4,25$) и признаков обструкции.

Нозологическая диагностика ИМС базировалась на оценке данных анамнеза, клинико-лабораторных проявлений болезни и результатов ультразвукового исследования почек. Вовлечение почек

в патологический процесс исключали при отсутствии температурной реакции.

Клинико-лабораторное обследование включало: общий анализ крови и мочи; биохимическое исследование крови с определением уровней креатинина, мочевины, электролитов, общего белка и его фракций. Для исследования гематологических и биохимических показателей крови использовали анализаторы «ABX Micros-60» (Франция) и «Flexor junior» (Нидерланды). Микробиологическое обследование включало количественное определение микрофлоры в 1 мл мочи, идентификацию микроорганизмов осуществляли по Bergey. Чувствительность бактерий к антибиотикам определяли методом дисков [6]. Исследование мочи, соскобов со слизистых оболочек цервикального канала, уретры и влагалища включало также выделение *M. hominis*, *U. Ureal.* и грибов рода *Candida* по стандартным методикам. Детекцию ДНК *Chlamydia trachomatis* в клиническом материале проводили амплификационным методом в ПЦР с использованием оборудования производства фирм «ДНК-технология» и «Амплисенс» (Россия).

После обследования хронический неосложненный пиелонефрит был верифицирован у 156 (34,6%) пациенток, хронический осложненный пиелонефрит – у 214 (47,5%) женщин. Среди последних преобладали пациентки с нефроптозом – 142 (66,3%), пожилого возраста (>65 лет) – 39 (18%); повышение артериального давления констатировано у 121 (56,5%) больной, мелкие конкременты (до 1 см) и/или солитарные кисты почек – у 12 (5,6%).

80 (18%) пациенткам был установлен диагноз хронического цистита (ХЦ), из них 58 (72,5%) с рецидивирующим течением (больше 2 рецидивов в течение 6 месяцев или 3 обострения в течение года) и 22 (27,5%) женщины, перенесших два эпизода цистита в течение года.

Для ретроспективного анализа женщины были разделены на 2 группы. I группу составили пациентки с хроническим пиелонефритом (ХПН) (n=370), II – с ХЦ (n=80). По возрасту, длительности заболевания и частоте рецидивирования больные обеих групп практически не отличались. Так, средний возраст пациенток I группы был $39,2 \pm 13,4$ года, а II – $29,7 \pm 12,4$ ($p=0,1$ по Манну-Уитни), длительность заболевания и частота рецидивирования составили соответственно $11,3 \pm 8,8$ и $7,5 \pm 5,7$ лет ($p=0,4$); $2,1 \pm 1$ и $2,45 \pm 2$ раза в год ($p=0,38$).

Динамическую реносцинтиграфию с ^{99m}Tc -пирофосфатом, для оценки точности диагностического метода, было проведено 80 пациенткам II группы. Результаты динамической (ДРСГ) и статической (СРСГ) реносцинтиграфии с ^{99m}Tc -ДМСА

Таблица 1

Исследуемые признаки, ассоциированные с ПН

Анализируемые признаки	Показатели ассоциации по Кендаллу		95% ДИ для коэффициента ассоциации
	τ	p	
Возраст пациенток	0,26	0,0000	0,72; 0,80
Длительность заболевания	0,27	0,0000	0,69; 0,74
Частота рецидивирования	0,31	0,0000	0,08; 0,22
Периодическое «беспричинное» повышение температуры тела до субфебрильных цифр	0,16	0,0000	0,79; 1,4
Повышение артериального давления	0,36	0,0000	0,47; 0,60
Начало половой жизни или смена полового партнера в течение месяца	- 0,06	0,02	0,33; 0,50
Болевой синдром	0,06	0,03	0,44; 0,58
Дизурия	- 0,12	0,0000	0,54; 0,41
Лейкоцитурия	- 0,09	0,003	0,20; 0,43
Бактериурия	0,44	0,0000	0,54; 0,63
Протеинурия	-0,07	0,01	0,78; 0,80
Лейкоцитоз	0,20	0,0000	0,27; 0,40
Увеличение СОЭ	0,06	0,04	0,44; 0,58
Наличие инфекции, передающейся половым путем	0,09	0,003	0,41; 0,73

рассматривались в качестве истинного диагноза. Два указанных диагностических метода использовались независимо, т.е. результаты применения одного метода были неизвестны в момент проведения другого. Исследования проводились с разницей в 2–3 дня.

Условия и методика проведения ДРСГ и СРСГ были стандартными: положение больного – сидя и/или лежа; продолжительность исследования 30–180 минут; запись информации на ЭВМ – 1 кадр за 30с. Активность радиофармпрепарата (РФП) на исследование рассчитывалась на массу тела пациентки и в среднем составила 1,5–2 МБк/кг для ^{99m}Tc -фосфатов и 3МБк/кг для ^{99m}Tc -ДМСА, что не превышало допустимых норм [7].

Диагноз ПН, в случае стандартного метода, устанавливали по наличию участков склероза «шрамов» в почках. О наличии ПН, при проведении реносцинтиграфии с ^{99m}Tc -пирофосфатом, судили по степени нарушений фильтрационно-эскреторных процессов и выраженности воспалительных изменений в паренхиме почек, которые устанавливали при $T_{\max}$ (мин) $> 4,0 \pm 0,8$; % выведения РФП к 20-й минуте $< 64,5 \pm 5,4$; % включения РФП через 1 час $> 3,0 \pm 0,5$.

База данных формировалась по наличию диагностического признака и принималась за «1» при его констатации и за «0» – при его отсутствии.

Для математической обработки использовали пакет компьютерных программ «Statistica» корпорации «StatSoft». Силу взаимосвязи исследуемых признаков с наличием ПН определяли с помощью анализа ассоциаций по методу Кендалла; сопостав-

ление количественных признаков проводили с помощью U-критерия по Манну-Уитни. Различия частот в группах оценивали с помощью точного критерия Фишера, использовали четырехпольную таблицу (рис.1) и рассчитывали доверительный интервал для разности относительных частот [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ

На первом этапе работы нами был проведен анализ взаимосвязи 34 различных клинико-анамнестических признаков, из которых только 14 показали достоверную ассоциативную связь с ПН (табл. 1).

Наиболее значимо ($\tau > 0,3$) с ПН ассоциированы бактериурия, повышение артериального давления и частое рецидивирование заболевания. Обратную ассоциативную связь демонстрируют такие признаки, как дизурия, лейкоцитурия, протеинурия и начало половой жизни или смена полового партнера в течение месяца. Не ассоциированными с ПН оказались следующие признаки: эритроцитурия, частое мочеиспускание, никтурия, цилиндрурия, эрадикация микроорганизмов через 3 дня после начала антибактериального лечения, повышение уровня С-реактивного белка крови, сдвиг лейкоцитарной формулы влево, наличие УЗ изменений (асимметричный размер почек, деформация ЧЛС, уменьшение толщины паренхимы), «семейный» анамнез, переохлаждение и т.д.

Следующим этапом нашей работы был сравнительный анализ различия абсолютных частот ассоциированных с ПН признаков. При этом сравнивали клинико-анамнестические данные в группах больных с ХПН ($n=370$) и ХЦ ($n=80$).

К нашему удивлению, только 2 из ассоциированных с ПН признаков достоверно отличались в исследуемых группах (табл. 2).

Исследуемые группы	Признак есть	Признака нет
Группа I	A	B
Группа II	C	D

Рис. 1. Четырехпольная таблица абсолютных частот.

Таблица 2

Частотный анализ различия исследуемых признаков в группах больных с ХПН и ХЦ

Признак	I группа (n=370)	II группа (n=80)	p	95% ДИ
Периодическое «беспричинное» повышение температуры тела до субфебрильных цифр	291 (78,6%)	12 (15%)	0,0000	0,44; 0,55
Лейкоцитоз	175 (47,3%)	16 (20%)	0,0000	0,56; 0,62
Повышение артериального давления	121 (32,7%)	21 (26,2%)	0,29	
Начало половой жизни или смена полового партнера в течении месяца	107 (28,9%)	26 (32,5%)	0,49	
Наличие инфекции, передающейся половым путем	211 (57%)	36,5 (45%)	0,08	
Ощущение тяжести (боли) в поясничной области	174 (47%)	28 (35%)	0,06	
Повышение СОЭ	123 (33,2)	22 (27,5)	0,35	
Дизурия	302 (81,6%)	72 (90%)	0,07	
Протеинурия	207 (60%)	48 (60%)	0,19	
Бактериурия	341 (92,1%)	78 (97,5%)	0,13	
Лейкоцитурия	283 (76,4%)	60 (75%)	0,77	

Операционные характеристики реносцинтиграфия с ^{99m}Tc -пирофосфатом в диагностике ХПН

Характеристика	Значение	95% ДИ
Чувствительность	0,98	0,91; 0,99
Специфичность	0,62	0,40; 0,79
Отношение правдоподобия для положительного результата	2,58	1,49; 4,45
Отношение правдоподобия для отрицательного результата	0,027	0,004; 0,194
Диагностическое отношение шансов	95,9	11,01; 834,5

К тому же, выявленные различия между больными с ХПН и ХЦ были количественные, но не качественные, поскольку с разной частотой эти признаки встречались в обеих группах. Так, пери-

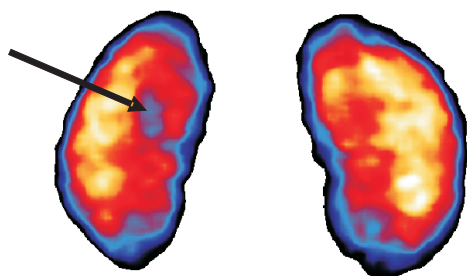


Рис. 2. СРСГ с ^{99m}Tc -ДМСА – наличие участка склероза «шрама» в правой почке.

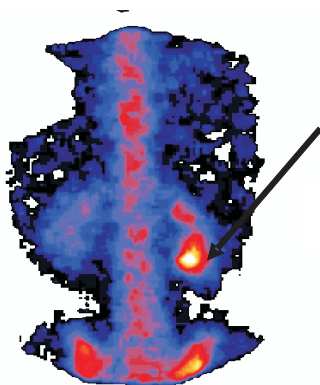


Рис. 3. ДРСГ с ^{99m}Tc -пирофосфатом – определяется высокая фиксация РФП в левой почке (6,3%).

одическое «беспричинное» повышение температуры тела до субфебрильных цифр (в анамнезе, а не на момент рецидива инфекции) наблюдалось у 15% пациенток с ХЦ, а наличие хотя бы 1 эпизода лейкоцитоза (по данным мед. документации) выявлено у 20% женщин этой группы.

Таким образом, наличие перечисленного «джентльменского набора» [9] симптомов является основой диагностики ИМС, но не дает возможности дифференцировать топику воспалительного процесса.

Кроме того, поскольку нет достоверных отличий между клинико-анамнестическими признаками ХПН и ХЦ, у нас возникла гипотеза, что у женщин с хроническим рецидивирующим течением цистита вовлечение почек в патологический процесс неизбежно.

С целью определения степени вовлечения почек в патологический процесс всем пациенткам с ХЦ было проведено скintiграфическое исследование с РФП разного механизма элиминации:

- 1) реносцинтиграфия с ^{99m}Tc -ДМСА – рассматривались в качестве «золотого стандарта»,
- 2) реносцинтиграфия с ^{99m}Tc -пирофосфатом – для оценки точности диагностического метода.

Результаты исследования показали, что у 59 (74%) пациенток, которым был установлен диагноз ХЦ, определялись классические признаки пиелонефрита – «шрамы» (рис.2). Более того, эту группу составили женщины с рецидивирующим течением (больше 2 рецидивов в течение 6 месяцев или 3 обострения в течение года) заболевания и только 1 пациентка из них болеет в течение года и перенесла всего два эпизода «цистита».

При реносцинтиграфии с ^{99m}Tc -пирофосфатом признаки воспалительного процесса в почках были обнаружены у 67 (84%) женщин (рис. 3).

Результаты анализа диагностической точности этого метода приведены в табл. 3.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами данные свидетельствуют, что ни один из перечисленных симптомов заболевания не обладает достаточной диагностической точностью, что практически исключает возможность их использования как самостоятельных критериев топической диагностики ИМС. Это подтверждают и данные современной литературы. Остановимся на основных клинико-лабораторных симптомах, которые на сегодняшний день являются решающими для диагностики ИМС.

Общепринятым и наиболее распространенным методом является определение степени бактериурии, который основан на количественном подсчете бактерий в определенном объеме мочи. Считается, что такой подход достаточно надежно позволяет провести дифференциальный диагноз между инфицированием и контаминацией, а наличие ИМС подтверждается при концентрации возбудителя $\geq 10^5$ колоний-образующих единиц в 1 мл (КОЕ/мл) свежесобранной мочи [10,11]. Чувствительность этого метода исследования при бактериурии $\geq 10^2$ КОЕ/мл составляет – 50%, а при $\geq 10^5$ КОЕ/мл – 90% (уровень доказательности C) [12,13]. Однако наблюдениями более поздних лет [13,14,15] установлено, что у женщин с симптомами ИМС и бактериурией в пределах 10^2 - 10^5 КОЕ/мл определяются те же микроорганизмы, которые ассоциируются с классическими ИМС. Более того, авторы получили тот же спектр микроорганизмов при заборе мочи при помощи уретрального катетера, в связи с чем, исследователи выдвинули предложение о снижении диагностического уровня бактериурии до 10^2 КОЕ/мл. Таким образом, до сих пор нет четкого определения диагностического уровня бактериурии, а недооценка «малой» бактериурии является наиболее частой диагностической ошибкой.

Другим трудным моментом в диагностике ИМС является лейкоцитурия. Общепринятым методом для ее оценки является «dipstick test» [13,16,17,18]. В случаях подтвержденной ИМС чувствительность метода определения лейкоцитарной эстеразы и нитрит-редуктазы составляет 68,5% и 59%, соответственно; специфичность – 73,5% и 78% [16]. Вместе с тем подсчет количества лейкоцитов в поле зрения имеет высокую специфичность (86,5%), но низкую чувствительность – 50%. Од-

нако, несмотря на высокие показатели чувствительности и специфичности для тест-полоски при определении лейкоцитурии и нитрита, ее использование как единственного метода диагностики ИМС в стационаре неоправданно. Во-первых, некоторые патогенные микроорганизмы не восстанавливают нитриты из нитратов, поэтому данный метод не информативен для выявления энтеробактерий. Во-вторых, в некоторых пищевых продуктах содержатся нитриты/нитраты, которые могут влиять на нитрит-тест, что приводит к ложноположительному результату даже при отсутствии ИМС. Кроме того, центрифугирование (для изучения осадка мочи) всегда ведет к частичной потере клеток, что может сказаться на точности результатов.

Таким образом, результатов, полученных при использовании тест-полосок и микроскопии мочи, недостаточно для диагностики ИМС.

Дизурия – чувство боли, жжения или дискомфорта при мочеиспускании. Как правило, наличие дизурии врач связывает с ИМС, не учитывая, что этот симптом может быть вызван и другими заболеваниями (опущение матки, перегиб уретры у пожилых и полных женщин, злоупотребление острой и соленой пищей, неврастения) [1,3], что приводит к гипердиагностике ИМС и необоснованного антибактериального лечения. По результатам независимых клинических исследований специфичность дизурии составляет только 25%, а дизурии в сочетании с частым мочеиспусканием – 70-80% (уровень доказательности B) [18,19].

Даже если учесть диагностическую ценность перечисленных симптомов, определить с их помощью топический диагноз ИМС невозможно. Общепринятым критерием постановки диагноза ПН является наличие признаков воспаления, таких как повышение температуры тела, уровня С-реактивного белка крови, СОЭ и лейкоцитоз (уровень доказательности C,D) [3]. Однако в последние годы прослеживается тенденция к малосимптомному течению ПН, что осложняет диагностику как его хронической, так и острой формы [1]. Так, отсутствие температурной реакции и острофазовых сдвигов в анализе крови не исключает наличие ПН, а бактериурия с дизурией могут быть единственными симптомами заболевания.

Известно, что «золотым стандартом» в диагностике ПН является реносцинтиграфия с препаратом, обладающим тропностью к кортикальному веществу почки – ^{99m}Tc -DMSA (dimercaprosuccinic acid) [20,21,22]. Считается, что этот метод позволяет идентифицировать функционирующую паренхиму, отграничивая участки рубцевания, что имеет дифференциально-диагностическое и прогностичес-

кое значение. Показано, что чувствительность реносцинтиграфии с ^{99m}Tc -DMSA в определении поражений почечной паренхимы в несколько раз выше по сравнению с ультразвуковым исследованием, которое наиболее часто используется в повседневной практике и фактически неинформативно для топической диагностики, особенно неосложненной ИМС [13]. Так, если при реносцинтиграфии обнаруживался единственный очаг снижения накопления радиофармпрепарата (так называемый почечный «шрам» или «рубец»), ультразвукография имела чувствительность 5,2 %, а специфичность 98,3%. Если распределение радиофармпрепарата было диффузно-неравномерным с несколькими очагами склероза, то ультразвукография имела чувствительность 47,2 %, а специфичность 91,8% [23].

Интересно, что практически все исследования, касающиеся применения реносцинтиграфии с ^{99m}Tc -DMSA при ИМС, проводились у детей; а данных о диагностическом использовании реносцинтиграфии с ^{99m}Tc -пирофосфатом при этих заболеваниях в современной литературе вообще нет.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Используя данные анамнеза и клинко-лабораторных характеристик ИМС, которыми пользуется врач в ежедневной клинической практике, невозможно установить топику процесса (цистит или пиелонефрит).

2. Реносцинтиграфия с ^{99m}Tc -пирофосфатом является объективным методом диагностики ИМС: чувствительность метода составляет 98%, специфичность 62%.

3. Данные скинтиграфического исследования демонстрируют наличие признаков ПН у 100% больных с частым рецидивированием ХЦ; у 95% пациенток, перенесших всего 2 эпизода цистита в течение года, вовлечение почек в воспалительный процесс отсутствует.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Дядык АИ, Колесник НА. *Инфекции почек и мочевыводящих путей*. Регион, Д., 2003; 400
2. Johnson JR, Stamm WE. Urinary tract infections in women: diagnosis and treatment. *Ann Intern Med* 1989; (111): 906-917
3. Steven E, Carol E, Karen R et al. Urinary Tract Infection. Guideline., Updated., May, 2005.

4. Березняков ИГ. *Профилактика рецидивирующих циститов у женщин*. Провизор, Х., 2002, 30-33
5. Nicolle LE. Asymptomatic bacteriuria: when to screen and when to treat. *Infect Dis Clin North Am* 2003; (17): 367-394
6. Меньшиков ВВ. *Лабораторные методы исследования в клинике*. Медицина, М., 1987; 386
7. Нормы радиационной безопасности Украины НРБУ-97. К., 1997; 59
8. Реброва ОЮ. *Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA*. Медиасфера, М., 2003; 312
9. Шулюто БИ. *Воспалительные заболевания почек*. Ренкор, СПб, 2002; 255
10. Fihn S. Acute uncomplicated urinary tract infection in women. *N Engl J Med* 2003; (349): 259-266
11. Tapsall JW, Taylor PC, Bell SM et al. Relevance of «significant bacteriuria» to aetiology and diagnosis of urinary tract infection. *Lancet* 1975; (2): 637-639
12. Kunin CM, Buesching WJ. Novel screening method for urine cultures using a filter paper dilution system. *J Clin Microbiol* 2000; (38):1187-1190
13. Kunin CM, White LV, Hua TH. A reassessment of the importance of «low-count» bacteriuria in young women with acute urinary symptoms. *Ann Intern Med* 1993; (119): 454-460
14. Stamm WE, Counts GW, Running KR et al. Diagnosis of coliform infection in acutely dysuric women. *N Engl J Med* 1982; (307): 463-468
15. Stamm WE, Wagner KF, Amsel R et al. Causes of the acute urethral syndrome in women. *N Engl J Med* 1980; (303): 409-415
16. Al-Daghistani HI, Abdel-Dayem M. Diagnostic value of various urine tests in the Jordanian population with urinary tract infection. *Clin Chem Lab Med* 2002; (40): 1048-1051
17. Lamchiaghase P, Preechaborisutkul K, Lomsomboon P et al. Urine sediment examination: a comparison between the manual method and the iQ200 automated urine microscopy analyzer. *Clin Chim Acta* 2005; (358): 167-174
18. Rehmani R. Accuracy of urine dipstick to predict urinary tract infections in an emergency department. *J Ayub Med Coll Abbottabad* 2004; (16): 4-7
19. Wilson ML, Gaido L. Laboratory diagnosis of urinary tract infections in adult patients. *Clin Infect Dis* 2004; (6):873-874
20. Atasever T, Ozkaya O, Abamor E et al. ^{99m}Tc ethylene dicycysteine scintigraphy for diagnosing cortical defects in acute pyelonephritis: a comparative study with ^{99m}Tc dimercaptosuccinic acid. *Nucl Med Commun* 2004; (25): 967-970
21. Buyukdereli G, Guney IB. Role of technetium-99m N,N-ethylenedicycysteine renal scintigraphy in the evaluation of differential renal function and cortical defects. *Clin Nucl Med* 2006; (31): 134-138
22. Kibar M, Yapar Z, Noyan A et al. Technetium-99m-N,N-ethylenedicycysteine and Tc-99m DMSA scintigraphy in the evaluation of renal parenchymal abnormalities in children. *Ann Nucl Med* 2003; (17): 219-225
23. Moorthy I, Wheat D, Gordon I. Ultrasonography in the evaluation of renal scarring using DMSA scan as the gold standard. *Pediatr Nephrol* 2004; 19(2): 153-156

Поступила в редакцию 12.03.2007 г.

Принята в печать 07.06.2007 г.

© Г.-Й.Грене, Е.Кисс, 2007
УДК 616.61-008.6-079.4-056.7

Г.-Й. Грене, Е. Кисс

НЕФРОТИЧЕСКИЙ СИНДРОМ: ГИСТОПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА. ЧАСТЬ 1: ОПРЕДЕЛЕНИЕ, КЛАССИФИКАЦИЯ, ПАТОФИЗИОЛОГИЯ, ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФОРМЫ

G.J. Grene, E. Kiss

NEPHROTIC SYNDROME: HISTOPATHOLOGIC DIFFERENTIAL DIAGNOSTICS. PART 1: DEFINITION, CLASSIFICATION, PATHOPHYSIOLOGY, GENETIC FORMS

Отдел клеточной и молекулярной патологии Германского онкологического научного центра, Гейдельберг, Германия

Ключевые слова: нефротический синдром, определение, классификация, морфология, патофизиология, диагностика.
Key words: nephritic syndrome, definition, classification, morphology, pathophysiology, diagnostics.

Точный диагноз патологии гломерулярного отдела нефрона является важным для назначения соответствующей терапии и существенным для оценки прогноза течения заболевания. Помимо самого описательного диагноза, гистопатологическая оценка биопсии почек может быть источником информации об активности и степени хронизации патологического процесса в почках.

Биоптаты почек фиксируются в формалине, заливаются в формалин и анализируются при помощи трех основных методик: световая микроскопия, иммуногистохимия и электронная микроскопия. Для получения дополнительной информации при проведении дифференцировки и уточнения диагноза могут применяться методы молекулярной диагностики. Молекулярные диагностические маркеры, с известной функцией в патологическом процессе, могут определяться в режиме реального времени посредством RT-PCR (РТ-ПЦР) метода. Молекулярные маркеры позволяют определить «отпечатки пальцев заболевания» и выявить потенциальные механизмы, обуславливающие патологию определенных заболеваний. **Если подозревается наследственное заболевание, генотипирование на мутации специфических белков может быть использовано для дифференцировки приобретенных заболеваний от генетически обусловленных** (т.е. скрининг рано развивающегося ФСГС при мутациях NPHS1, NPHS2 или ACTN4).

Протеинурия является характерным признаком почти каждой формы заболевания гломерул. Если

протеинурия превышает 40 мг/м²/ч, то в результате может развиваться гипальбуминемия, сопровождающаяся отеками. Тяжелая протеинурия (3,5 г/день/1,73 м²), отеки, гипальбуминемия и гиперлипидемия свидетельствуют о наличии нефротического синдрома (НС).

НС развивается при ряде первичных и вторичных заболеваний клубочков (табл. 1). Причины нефротического синдрома должны разграничиваться, поскольку разные гломерулярные повреждения имеют различное клиническое течение и требуют самостоятельного лечения. Двумя первичными заболеваниями почек, которые наиболее часто манифестируют в виде НС, являются болезнь минимальных изменений (БМИ) и мембранозный гломерулонефрит (МГ). Среди вторичных форм, которые наиболее часто проявляются НС, выделяют диабетический гломерулосклероз и амилоидоз (в частности AL и AA амилоидозы).

Патофизиология

Одной из важнейших функций зрелого/сформированного клубочка является фильтрация плазмы крови без высокомолекулярных протеинов, крупнее альбумина (68 кДа). Полупроницаемость гломерулярной мембраны лежит в основе гломерулярной фильтрационной единицы. Она состоит из: 1) фенестрированных эндотелиальных клеток капиллярных петель; 2) собственно гломерулярной базальной мембраны (ГБМ), богатой специфическими формами коллагена, ламинина, гепарансульфатными протеогликанами; 3) подоцитов – дифференцированных гломерулярных эпителиальных кле-

Таблица 1

Причины и состояния, связанные с нефротическим синдромом (НС)

Наследственный и врожденный НС

Идеопатический первичный НС

Болезнь минимальных изменений

Фокально-сегментарный гломерулосклероз

Мембранозный гломерулонефрит

Мембранозно-пролиферативный гломерулонефрит

Другие пролиферативные гломерулонефриты (в т.ч. мезангио-пролиферативный Ig A нефрит)

Вторичный НС. Заболевания или факторы, связанные с вышеперечисленными формами гломерулонефрита или реактивного фокально-сегментарного гломерулосклероза; сахарного диабета (диабетический гломерулосклероз) и амилоидоза.

Метаболические расстройства

Сахарный диабет

Генерализованные системные заболевания / аутоиммунные заболевания

Первичный и вторичный амилоидоз

Волчаночный нефрит, болезнь Шенляйн-Геноха, ревматоидный артрит, саркоидоз, синдром Шарпа, синдром Сьегрена, синдром Такаясу

Лекарственные/токсические факторы

Золото, героин, нестероидные противовоспалительные препараты, каптоприл, инфекция

Бактерии

Эндокардит, связанный со стафилококком, инфекция артерио-вентрикулярного шунта, сифилис

Вирусы

Гепатит В и С, СПИД, мононуклеоз, цитомегаловирус, варицелла

Паразиты: филяриоз, шистозоматоз, трипаносомиазис,

Злокачественные опухоли

Лимфомы (миелома, хронический лимфоцитарный лейкоз), Карциномы (легкого, желудка, молочной железы, почек, щитовидной железы, шейки матки, яичников), меланома

Аллергия /Атопия

Пыльцевая аллергия, сывороточная болезнь, укусы насекомых

Наследственные заболевания

Альфа-1 антитрипсин дефицит, синдром Альпорта, болезнь Фабри, преэклампсия, везикулоуретеральный рефлюкс

ток с большой клеточной протяженностью и маленькими ножковыми отростками, взаимодействующими между собой и образующими щелевую диафрагму (рис. 1). Разрушение этой единицы под воздействием внешних, иммунных или генетических факторов приводит к потере фильтрационной способности и в конечном счете к появлению некоторых или всех клинических признаков нефротического синдрома.

Подоциты формируют последний барьер на пути транспорта белков. Повреждение подоцитов типично для значительной протеинурии. Действительно большинство форм НС характеризуются альтерацией подоцитов. Ранним проявлением этого является утрата целостности ножковых отростков и щелевой диафрагмы, что ведет к сливанию отростков. Прогрессирующее тяжелое повреждение сопровождается вакуолизацией, формированием псевдоцист и отслойкой подоцитов от ГБМ. Адгезия оголенной ГБМ к боуменовской капсуле приводит к склерозированию и облитерации гломерулярных петель. Эти изменения необратимы и в конечном итоге приводят к развитию сегментарного склероза.

Ножки подоцитов имеют контрактильную систему, состоящую из актина, миозина II, α -актинина-4, талина и винкулина. Ножковые отростки соединяются с ГБМ через $\alpha 3 \beta 1$ интегрин и α - β дистрогликаны. $\alpha 3 \beta 1$ интегрин представляет собой рецептор для ламинина 10/11 в ГБМ. В щелевой диафрагме связь между соседними ножковыми отростками является измененное слипающееся соединение, состоящее из многочисленных проте-

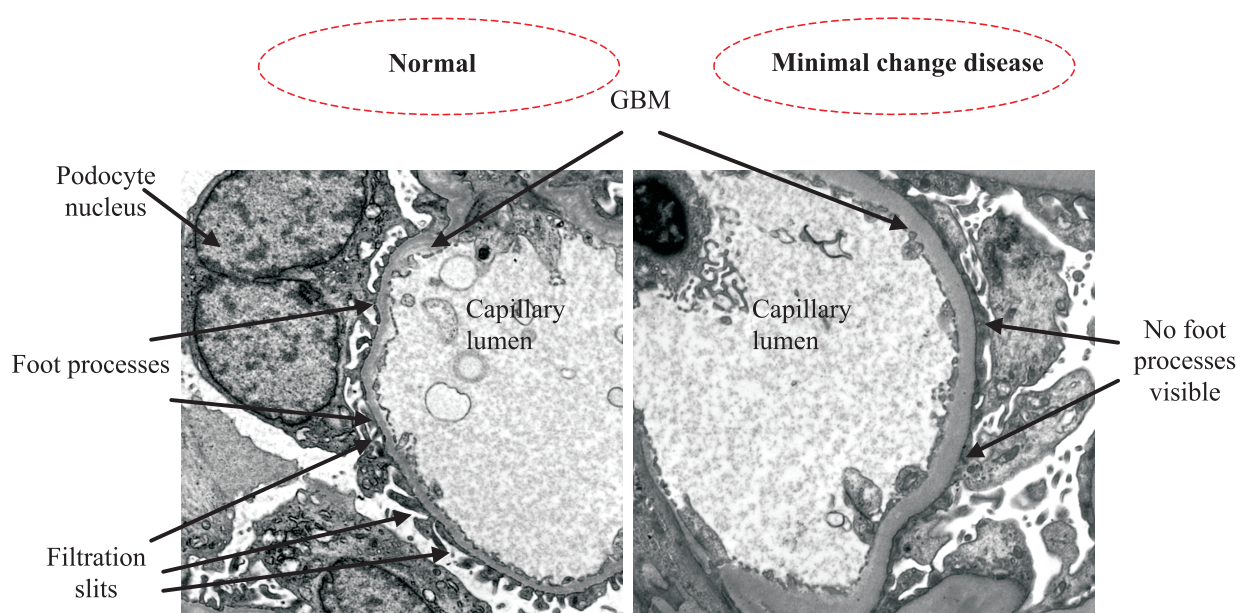


Рис. 1. Нормальный клубочек (слева): базальная мембрана капилляров клубочка, выстланная подоцитами с нормальными ножковыми отростками. Ножковые отростки сливаются при болезни минимальных изменений (справа). GBM – гломерулярная базальная мембрана.

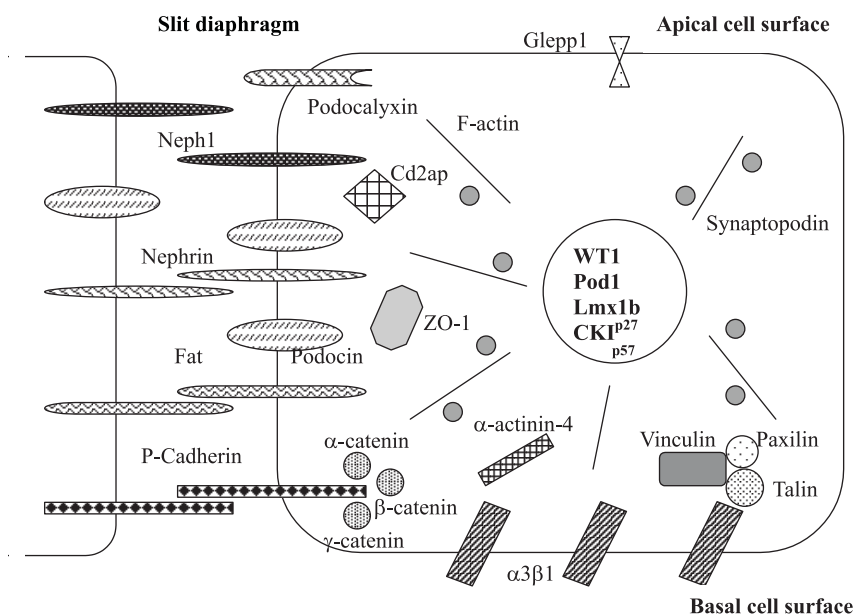


Рис. 2. Схема щелевой диафрагмы с перечнем генов, обычно экспрессирующихся зрелыми подоцитами. Межклеточные соединения и ассоциированные с ними белки: нефрин, P-кадхерин, Cd2ap, ZO-1; белки клеточной адгезии: $\alpha 3 \beta 1$ интегрин; белки фокальной адгезии: талин, винкулин, паксиллин; цитоскелет ассоциированные протеины: α -актинин-4, синаптоподин; трансмембранные рецепторные белки: подоцин, Glepp1, подокальцин; факторы транскрипции: WT1, Pod1, Lmx1b; белки клеточного цикла: p27, p57; [модифицировано по: Morello R, Lee R. *Pediatric Research*, 51:551-558, 2002]. Мутации генов этих протеинов связаны с НС.

инов, включая нефрин, P-кадхерин, CD2AP, ZO-1, FAT, подоцин и Neph1. Синаптоподин является членом класса пролин-насыщенных белков и, как α -актинин-4, взаимодействует посредством плотного контакта с MAG-1, который также экспрессируется в подоцитах.

CD2 – ассоциированный протеин служит «соединительным устройством» для нефрина и подоцина, связывая эти протеины с актиновыми филаментами цитоскелета. С другой стороны, будучи кардинальными для структурной организации щелевой диафрагмы, эти протеины участвуют в сигнальных путях клеток (нефрин и CD2 AP связаны с фосфоинозитид -3- гидроксикаиназой (PI3K) и вместе стимулируют активацию серин-треонинкиназы, АКТ).

Механизмы повреждения гломерул, которые ведут к прогрессированию протеинурии, до конца не ясны.

1) Иммунные механизмы являются центральными в патогенезе большинства типов гломерулярных заболеваний.

2) Неиммунные механизмы также могут обеспечивать нарастание повреждений. Эти процессы включают адаптационные, гемодинамические и физические факторы, которые способствуют развитию интрагломерулярной гипертензии и повышению интраваскулярного давления.

Иммунные механизмы могут быть разделены

на две категории: гуморальные и клеточно-опосредованные. Выявлены две формы антител, опосредующих повреждение: с иммунными комплексами *in situ* и с циркулирующими иммунными комплексами. Характеристики заряда и размера иммунных комплексов определяют зону их интрагломерулярной локализации и соответственно клиническую картину заболевания. Субэндотелиальные и мезангиальные депозиты индуцируют, чаще всего, нефритический мочевой осадок, субэпителиальные депозиты – типичную тяжелую протеинурию и НС. Расположение иммунных депозитов частично определяет вовлечение клеток воспаления в развитие повреждений клубочков. Иммунные комплексы с субэпителиальной стороны отделены от микроцирку-

ляции базальной мембраной, которая ограничивает активацию интраваскулярного комплемента, активацию эндотелия и доступ лейкоцитов. Напротив, иммунные комплексы субэндотелиальной и мезангиальной локализации являются более доступными для циркулирующих клеток воспаления. Это может приводить к адгезии и активации лейкоцитов. Клетки воспаления высвобождают растворимые медиаторы, такие как цитокины, протеолитические ферменты (миелопероксидаза, нейтральная серин протеаза (эластаза, катепсин G), цистеиновые протеазы, металлопротеиназы (желатиназа) или реактивные метаболиты кислорода (гидроксирадикалы, водородные пероксиды, супероксиды, гипохлорные кислоты). Эти медиаторы могут усиливать существующий иммунный ответ, напрямую повреждая гломерулярные клетки, или способствуя деградации и денатурации белков, составляющих матрикс гломерулярного фильтрационного барьера.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФОРМЫ НС

В течение нескольких последних лет были выявлены некоторые формы НС, вызываемые мутациями генов, которые кодируют структурные компоненты гломерулярного фильтра. Эти гены кодируют протеины, которые, по-видимому, являются незаменимыми для функции подоцитов. Они включают молекулы, которые располагаются в щелевой диафрагме (нефрин, подоцин), факторы транскрипции (WT1, LMX1B) и компоненты цитос-

Таблица 2

**Перечень человеческих генетических синдромов, ассоциированных с НС
и их соответствующими генетическими локусами (модифицировано *Morello et al, Pediatric Research, 51:551-558, 2002*); объяснения в тексте. NPS - Nail-Patella синдром; WAGR: опухоль
Вильома (Wilms tumor), аниридия (aniridia), урогенитальные аномалии (genitourinary
anomalies), синдром умственной отсталости (mental retardation syndrome);
AR- аутосомно рецессивный, AD- аутосомно доминантный)**

Локус	Ген	Протеин	Заболевание
19q13.1	<i>NPHS1</i>	Nephrin	Наследственный нефротический синдром, финский, AR
1q25-q31	<i>NPHS2</i>	Podocin	Стероид-устойчивый НС, AR
9q34	<i>LMX1B</i>	LMX1B	NPS, AD
19q13	<i>ACTN4</i>	α -Actinin-4	Фокально-сегментарный гломерулосклероз, AD
11p13	<i>WT1</i>	WT1	Денис-Драша (Denys-Drash) синдром, Фразье(Frasier) синдром, ВАГР (WAGR) синдром

келета (альфа-актинин-4). Описано довольно много семейных и спорадических случаев таких заболеваний.

Нефрин – основной компонент щелевой диафрагмы. Это трансмембранный белок, относящийся к иммуноглобулиновому суперсемейству. Он содержит восемь экстрацеллюлярных Ig областей и один фибронектиновый фрагмент (motif). Мутация нефринового гена (*NPHS1*) является ответственной за врожденный НС финского типа (CNF), который характеризуется тяжелой протеинурией, начинающейся уже в утробе. Частота данного заболевания 1/8200 новорожденных в Финляндии. Финские CNF-дети имеют две мутации Fin-major в экзоне 2 и Fin-minor в экзоне 26, которые являются причиной CNF в 97% случаев в Финляндии. Обе мутации ведут к образованию усеченного белка, который не экспрессируется на поверхности подоцитов. С другой стороны, у «нефинских» пациентов выявляются «индивидуальные» мутации. К настоящему времени описано более чем 60 мутаций *NPHS1*.

Заболевание прогрессирует быстро. После рождения сопровождается нефротическим синдромом. Смерть наступает в течение первых 2 лет жизни. CNF не имеет отличительных патологических признаков, но при электронной микроскопии выявляется диффузное слияние ножковых отростков подоцитов. Трансплантация почек служит единственным эффективным лечением. Однако более чем у 20% пациентов после трансплантации развивается посттрансплантационный нефротический синдром.

Подоцин является мембранным белком из семейства стоматинов. Мутация гена подоцина (*NPHS2*) вызывает аутосомно-рецессивную, стероид-устойчивую форму ФСГС, похожую на некоторые случаи «спорадического» ФСГС. Это заболевание течет более мягко, чем CNF, и проявляется развитием протеинурии, по крайней мере через несколько месяцев, а часто и через несколько лет после рождения. Исследование на мышах показало,

что CD2 – протеин-адаптор (CD2AP), который, как известно, собирает и связывает функционирующие CD2 рецепторы Т-клеток с цитоскелетом, взаимодействуя с внутриклеточными зонами С-окончаний нефрина и необходим для стабилизации щелевой диафрагмы. У мышей с дефицитом CD2AP развивается наследственный нефротический синдром со сглаживанием ножек подоцитов, увеличением продукции экстрацеллюлярного матрикса и гиперплазией клеток мезангия, что ведет к фатальной почечной недостаточности.

При исследовании гомологов нефрина было выявлено новое семейство генов, которые кодируют семейство NPH-белков. Делеция мышинного гена *NEPH1* приводит к тяжелой протеинурии и смерти мышей в течение 8 недель после рождения. Признаки повреждений, найденные в почке, были ограничены юктагломерулярными клубочками. В них наблюдали дилатацию пространства боуменовской капсулы. В то же время, субкапсулярные клубочки выглядели нормальными. Электронно-микроскопически выявлялись слияния ножковых отростков подоцитов *NPH1*-/-мышей. Проявления заболевания в этом случае менее тяжелы, чем те, которые наблюдаются при мутациях *NPHS1*. Тем не менее очевидно, что *NEPH1* имеет важное значение в поддержании целостности щелевой диафрагмы.

Две дополнительные разновидности семейства белков NPH были недавно идентифицированы у мышей *NEPH2* и *NEPH3*. Неизвестно, могут ли мутации NPH белков вызывать нефротический синдром.

Мутации *ACTN 4*, который кодирует альфа-актинин-4, т.е. актиновый филамент – поперечно-связанный протеин, были найдены в семьях с аутосомно доминантной формой ФСГС, подчеркивая роль актинового цитоскелета в функции подоцитов. Эта форма ФСГС характеризуется медленно прогрессирующей нефротической протеинурией и почечной недостаточностью.

Синдром Альпорта: классификация и вовлеченные гены

Таблица 3

Синдром	Ген
Х-хромосомный синдром Альпорта	COL 4A5
Аутосомно-рецессивный синдром Альпорта	COL 4A3 COL 4A4
Аутосомно доминантный синдром Альпорта	COL 4A3
Семейная доброкачественная гематурия	COL4A3 COL4A4 (гетерозигота)

Ген опухоли Вильмса (WT1) это цинковый палец (zinc finger) – транскрипционный фактор, который действует как в раннем периоде уретрально-почкового-метанефритического мезенхимального взаимодействия, так и в позднем периоде подоцитарного морфогенеза и существования. Несмотря на то, что потеря его функции и предрасполагает пациентов к риску развития опухоли Вильмса, мутации могут обеспечивать возникновение новообразований урогенитальной системы, наблюдающихся при Дэнис-Драш-синдроме и синдроме Фразье.

Синдром Дэнис-Драша характеризуется диффузным мезенхимальным склерозом с нефротическим синдромом, псевдогемафродитизмом у мужчин и опухолью Вильмса.

Синдром Фразье (Frasier) связан с тяжелым нефротическим синдромом, дисгенезом гонад и риском развития гонадных опухолей, особенно гонадобластомы. Морфология почек у этих пациентов часто демонстрирует ФСГС.

ВАГР(WAGR)-синдром – редкое генетическое расстройство, характеризующееся делецией *de novo* 11p13 локуса хромосомы и клинически связанное с опухолью Вильмса, аниридией, мочеполовыми аномалиями и задержкой развития.

Значимость ГБМ-специфичных экстрацеллюлярных компонентов для поддержания интактности фильтрационной единицы (комплекса) было продемонстрировано в исследованиях человеческой и мышиной моделей почечных заболеваний.

Тип коллагена 4, состоящий из двух альфа-1 и одной альфа-2 цепей, является важнейшим компонентом базальной мембраны. Несмотря на повсеместное наличие альфа-1 и альфа-2 цепей в коллагене 4 типа, альфа-3,4,5 цепи коллагена четвертого типа были найдены в специфических зонах: базальная мембрана клубочка и дистальные каналы, нейромускулярные соединения глаз, легкое, ухо и семенные каналы. Во время нефрогенеза коллаген с альфа-3,4,5 цепями проявляется на стадии развития капиллярных петель и альфа-3,4,5 тример прогрессивно замещает альфа 1,2, как доминантный компонент ГБМ-мембраны.

Мутации в 4 типе коллагена генов альфа 3 и 4

(COL4A3, COL4A4) могут иметь доминирующий негативный эффект на коллагеновую сеть и структуру ГБМ, приводя в итоге к развитию различных фенотипов (заболеваний), начиная с классического синдрома Альпорта вплоть до семейной гематурии.

Синдром Альпорта (CA). Синдром Альпорта – форма наследственного нефрита, при котором у пациентов обычно выяв-

ляется рецидивирующая гематурия, часто с развитием нейросенсорной глухоты и расстройств зрения, а также развитием терминальной почечной недостаточности во 2-й или 3-й декаде жизни. Могут встречаться формы с протеинурией и нефротическим синдромом.

Классификация

Синдром Альпорта – это генетически гетерогенное расстройство (табл. 3). Около 80-85% пациентов имеют X-связанное наследование (дефект bXq22), приводящее в результате к мутации COL4A5 гена. Большинство остальных пациентов имеют аутосомно-рецессивный синдром Альпорта, благодаря мутации или COL4A3 или COL4A4 во второй хромосоме. В незначительном меньшинстве семей проявляется аутосомно-доминантное заболевание, которые являются результатом мутации в генах COL4A3 и COL4A4.

Гетерозиготность мутации COL4A3 или COL4A4 является причиной болезни тонкой гломерулярной базальной мембраны при доброкачественной семейной гематурии.

Многие аспекты гетерогенности и фенотипической вариабельности, очевидно, являются мутационно зависимыми. Например, семьи с X-связанным синдромом Альпорта, при крупных делециях, нонсенс (nonsens) мутациях или малых мутационных изменениях решетки считывания ассоциируются с 90% риском развития ТПН до 30 лет и 90% риском развития потери слуха. Несуществующие или сплайс (splice) мутации дают 50-70% риска. Аутосомно-рецессивный синдром Альпорта является также гетерогенным, с missense мутациями ассоциированными с рядом фенотипов, начиная с болезни тонких мембран и кончая полной клинической картиной синдрома Альпорта.

Патология почек

Светооптические патогномичные повреждения при синдроме Альпорта отсутствуют. Биопсия почек на ранних этапах развития заболевания выявляет нормальные клубочки или минимальные клубочковые дефекты, проявляющиеся в нерегулярном расширении мезангия, фокальном утолщении капсулы клубочка, фокальной гиперклеточно-

стью мезангия или эндотелия, или их обоих. Эритроцитарные цилиндры могут быть найдены в канальцах или интерстиции, что считается достаточно обычным. Поздние повреждения состоят из сегментарной или диффузной мезангиальной клеточной пролиферации, увеличения матрикса и утолщения капиллярных стенок.

Тубулоинтерстициальные повреждения, характеризующиеся фокальным утолщением базальной мембраны, интерстициальным фиброзом, тубулярной экстазией и атрофией, часто имеют место. Нередко могут быть найдены пенистые интерстициальные клетки. О прогрессирующем характере заболевания говорит появление сегментарного склероза и гиалиноза в сосудистом полюсе клубочка.

Иммуногистохимически возможно выявление сегментарного или диффузного отложения C3 и IgM в мезангии и сосудистом полюсе. Позитивная диагностика Х-связанной и аутосомно-рецессивной форм синдрома Альпорта может быть установлена иммуноокрашиванием в почечных биоптатах альфа цепей 4 типа коллагена. Коллаген $\alpha 3-\alpha 5$ при флуоресценции отсутствует у большинства пациентов.

Биопсия почек является диагностически значимой при синдроме Альпорта тогда, когда электронномикроскопически наблюдается диффузное расщепления ГБМ. Однако чаще это наблюдается у мужчин с Х-связанной формой синдрома Альпорта, которая имеет тяжелую форму течения заболевания. У женщин при Х-связанном синдроме Альпорта наблюдаются преимущественно тонкие базальные мембраны, а не расщепление с прерванными волокнами коллагена, при окрашивании на $\alpha 3-\alpha 5$ цепи (мозаичное окрашивание образца).

Х-связанный синдром Альпорта (СА) может быть также диагностирован при *иммуногистохимическом* исследовании биоптатов кожи на альфа-5 цепь коллагена типа 4. Было установлено, что достоверность иммуногистохимического исследования кожи для диагностики Х-связанного СА составляет 80% у больных мужчин и в меньшем проценте случаев у женщин. Совсем недавно было показано, что использование конофокальной микроскопии для исследования эпидермальной базальной мембраны позволяет выявлять измененное распределение альфа-4 цепи у значительно большей части пациентов с Х-связанным СА. В значительной мере диагностика СА с помощью биопсии кожи основывается на использовании специфичных антител.

При *болезни тонких мембран* ультраструктурным проявлением является простое истонче-

ние базальной мембраны; прогрессирующее разрушение ГБМ, почечная недостаточность, экстраренальные проявления встречаются крайне редко. Есть предположения, что данное состояние встречается у 1% населения. Частота заболевания равномерно распределена между полами и наиболее частой формой наследования является аутосомно-доминантный тип, который редко отмечается при СА. Считается, что болезнь тонких базальных мембран очень редко ассоциируется с протеинурией.

Существенно, что у пациентов с делецией *COL4A5* при СА при проведении трансплантации почек весьма вероятно развитие в посттрансплантационном периоде анти- ГБМ-нефрита (3–7 % у трансплантированных пациентов с СА).

Синдром Нейл-Пателла (СНП) – это аутосомно-доминантное заболевание, связанное с хромосомой 9q34. Дефекты в *LMXB1* транскрипционном факторе являются ответственными за развитие данной патологии. *LMXB1* является LIM-хоумдоменинным (homedomain) транскрипционным фактором и способствует контролю за состоянием матриксных белков подоцитов. Такими же свойствами обладают гены *CD2AP*, контролирующие синтез подоцитина. Тяжелая редукция гломерулярной экспрессии $\alpha 3$ и $\alpha 4$ цепей 4-го типа коллагена и подоцитина и *CD2AP* наблюдалась при отсутствии *LMXB1* у мышей.

СНП характеризуется аномалиями ногтей и костей, ассоциируясь с вовлечением в процесс клубочков у 40% пациентов. Прогрессирование нефротического синдрома и/или терминальная почечная недостаточность встречается менее чем в 10% случаев. Типичные изменения клубочков состоят из накопления фибриллярного материала, в неравномерной по толщине гломерулярной базальной мембране. Клубки фибрилл могут располагаться и в мезангиальном матриксе. Такие нарушения наблюдаются у пациентов СНП с протеинурией и, что удивительно, могут встречаться у больных без отчетливого повышения экскреции белка с мочой.

Диагноз СНП устанавливается по рентгенологическим и клиническим признакам.

(Продолжение следует)

Перевод с английского:
В.Г. Сиповский

Поступила в редакцию 05.02.2007 г.
Принята в печать 07.06.2007 г.

© А.Ш.Румянцев, А.В.Смирнов, И.Г.Каюков, 2007
УДК 616.61:92(470.23-2)

А.Ш. Румянцев, А.В. Смирнов, И.Г. Каюков

ЭТАПЫ СТАНОВЛЕНИЯ КЛИНИЧЕСКОЙ НЕФРОЛОГИИ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

A.Sh. Rumyantsev, A.V. Smirnov, I.G. Kayukov

STAGES OF THE FORMATION OF CLINICAL NEPHROLOGY IN SAINT PETERSBURG

Кафедра пропедевтики внутренних болезней, Научно-исследовательский институт нефрологии, кафедра нефрологии и диализа Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Россия

Ключевые слова: клиническая нефрология, Санкт-Петербург, история.

Key words: clinical nephrology, Saint Petersburg, history.

Французскому историку XIX века Алексису Шарлю Анри Клерел де Токвиллю приписывают следующее изречение: «История – это картинная галерея, где мало оригиналов и много копий». Тем важнее для нас помнить не только о событиях, но и о людях, благодаря которым формируются новые направления в медицине. В своей блестящей статье академик РАН Ю.В.Наточин [1] подробно рассказал о путях становления изучения функции почек в Ленинграде-Санкт-Петербурге. Мы хотели бы остановиться на истории формирования клинической нефрологии в Санкт-Петербурге. Тема эта слишком обширна, чтобы охватить ее полностью. Поэтому в данной статье будет отражено лишь появление основных направлений клинической нефрологии в нашем городе.

Нефрология в Петербурге – Ленинграде: середина XIX – середина XX века. Основателем научной клинической школы в России справедливо считается С.П.Боткин. Его деятельность оставила глубокий след во всех разделах медицины, в том числе и нефрологии. Талантливый исследователь, блестящий врач, педагог и организатор, С.П.Боткин был глубоко убежден в необходимости основывать врачебное заключение на возможно большем количестве строго и научно наблюдаемых фактов. Организация первой в России клинической, а в последующем физиологической и, наконец, бактериологической лаборатории существенно расширила возможности дополнительных обследований и экспериментального разрешения ряда вопросов.

Именно С.П.Боткин предложил методики пальпации почек в горизонтальном и вертикальном по-

ложении пациента для диагностики нефроптоза. Он разработал способ определения протеинурии, что сделало возможной доклиническую диагностику заболеваний почек [2].

Одним из первых он сам, а впоследствии его ученики, дали клиническую характеристику ряду заболеваний почек и заложили основы классификации патологии мочевыделительной системы. Одной из отличительных особенностей врачебной школы С.П.Боткина было создание диагностического алгоритма (хотя, конечно, тогда этот термин никто не использовал). Благодаря тщательнейшему сбору анамнеза, а также учету особенностей клинической картины и доступных лабораторных исследований (уровень которых был явно недостаточным) при практическом отсутствии инструментальной диагностики удавалось распознавать гломерулонефрит, амилоидоз почек, а также хронические интерстициальные поражения почек с подтверждением этих диагнозов на секции.

Во времена С.П.Боткина сведений об артериальном давлении и возможных его изменениях еще не было. Однако Сергей Петрович придавал большое диагностическое значение гипертрофии левого желудочка, с которой он часто встречался у пациентов с заболеваниями почек [3].

Одним из талантливых учеников и соратников С.П.Боткина по праву считается М.В.Яновский. Докторская диссертация 30-летнего ученого была посвящена воздействию масляной кислоты на почки и нервную систему. В этом исследовании впервые прозвучала мысль о том, что нарушение функции почек может сопровождаться развитием полиорганной недостаточности [4]. В дальнейшем он



Сергей Петрович Боткин.

развил эту идею в статье «Об аналогии между некоторыми формами уремии и хроническими отравлениями вообще» [5], в которой, в частности, писал: «единственным надежным критерием при оценке функции почек можно считать определение мочевых продуктов в крови, но назвать яд, вызывающий уремию, к сожалению, пока нельзя». Более 120 лет прошло с момента написания этой статьи, однако высказанное в ней положение актуально до сих пор.

С именем М.В.Яновского связано введение в России в обиход клинического исследования методики бескровного измерения артериального давления. Именно по совету М.В.Яновского Н.С.Коротков в 1905 г. опубликовал результаты своих исследований в «Известиях императорской Военно-медицинской академии».

С.П.Боткин и плеяда его блестящих учеников оказали определяющее влияние на развитие всех разделов внутренних болезней. Неудивительно, поэтому, что созданное 10 мая 1921 г. Петроградское терапевтическое общество сохранило память о нем в своем названии. Петроградское терапевтическое общество имени С.П.Боткина было образовано как преемник Общества русских врачей, которое также являлось преимущественно терапевтическим. Был утвержден устав и избрано первое Правление общества в составе: А.А.Нечаев (председатель), П.В.Троицкий, Г.Ф. Ланг, Б.И. Словцов (товарищи председателя), В.И. Глинчиков (казначей), Э.Р.Гесс, М.Д.Тушинский, В.Д. Цинзерлинг, М.В. Черноуцкий (секретари). Почетным членом общества был избран академик И.П.Павлов. Пер-

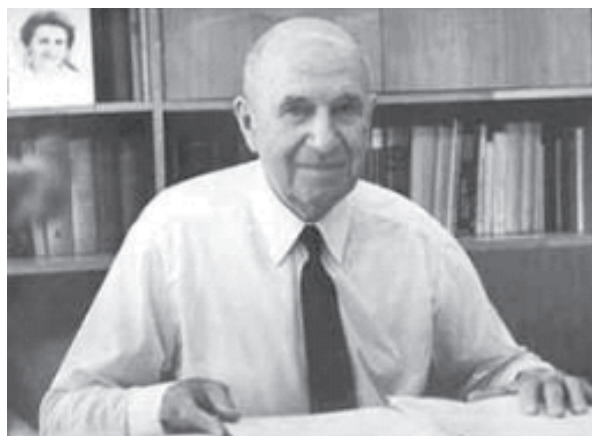


Академик М.В.Яновский.

вое научное заседание общества состоялось 28 июня 1921 г. На протяжении многих лет вопросы нефрологии обсуждались на заседаниях терапевтического общества.

Однако события развивались своим чередом. С августа 1924 г. общая терапия была исключена из числа предметов, преподававшихся в Военно-медицинской академии. М.В.Яновский подал в отставку, а в мае 1925 г. навсегда покинул Ленинград, поселившись в Кисловодске.

Далее на многие десятилетия развитие клинической нефрологии связано с Москвой, прежде всего с именем академика Е.М. Тареева. В 1929 г. он опубликовал книгу «Анемия брайтиков» [6], в которой особое внимание уделялось причинам развития анемии у больных гломерулонефритом, а также впервые в отечественной литературе появился термин «нефротический синдром». Через 7 лет увидела свет монография Е.М. Тареева «Болезни



Академик Е.М.Тареев.



Академик В.Н.Шамов.



Коллектив лаборатории «Искусственная почка».

почек», в которой были заложены основы современного понимания нефрологии, намечены пути ее развития [7].

Большой вклад в развитие отечественной нефрологии внесли и другой известный московский интернист акад. М.С. Вовси и его ученики. Некоторые из них были выходцами из Ленинграда, например, незабвенная М.Я. Ратнер.

Становление современной Ленинградской (Петербургской) нефрологической школы (50-е – 90-е годы XX века). На Северо-Западе нашей страны интерес к клинической нефрологии вновь пробудился лишь в конце 50-х – начале 60-х годов

прошлого века. В 1958 г. в Военно-медицинской академии в клинике факультетской (ныне – абдоминальной) хирургии им С.П.Федорова ВМА под руководством генерал-лейтенанта медицинской службы академика В.Н. Шамова была создана лаборатория «Искусственная почка». Лабораторию возглавил полковник медицинской службы профессор С.В. Рыжков. В 1961 г. в лаборатории был проведен первый в Ленинграде сеанс острого гемодиализа.

Однако практическое создание и реализация настоящей программы развития клинической нефрологии в нашем городе было связано с именем профессора А.Я. Ярошевского, по инициативе которого в 1962 г. было открыто первое нефрологическое отделение в Ленинграде в больнице им. М.С.Урицкого (заведующая – Е.М.Арьева).

А.Я. Ярошевский в 1946 г. пришел аспирантом на кафедру пропедевтики внутренних болезней, которой руководил видный отечественный терапевт академик М.Д.Тушинский. Глубокий интерес к проблемам регуляции кроветворения и артериальной гипертензии не мог не привести столь яркую и неординарную личность в нефрологию. Его учителя, академики М.Д.Тушинский и В.Н.Черниговский, развили присущие ему качества талантливого ученого.

В 1963 г. А.Я. Ярошевский был избран заведующим кафедрой пропедевтики внутренних болезней 1 ЛМИ. Под его руководством в клиническую практику были введены инфузионная пиелография, изотопная ренография. Им был поставлен вопрос о необходимости использования пункционной нефробиопсии, которая начала проводиться в Ленин-



Профессор А.Я.Ярошевский.



И.Г.Блозштейн осматривает пациента с патологией почек.

граде с 1963 г урологом А.Н.Шпигелем. Морфологическую диагностику осуществляла И.К. Клемина. Исследование в клинике скорости клубочковой фильтрации, почечного кровотока, канальцевой секреции и реабсорбции, осмотической концентрации мочи позволило получить представление не только о функциональном состоянии почки в целом, но и отдельных частей нефрона у больных гломерулонефритом, пиелонефритом и гипертонической болезнью. В 1965 г. впервые в мировой практике им был организован Городской нефрологический диспансер, положивший начало нефрологической службе Ленинграда. Первым заведующим нефрологическим диспансером стал И.Г. Блозштейн.

В 1966 г. по инициативе профессора А.Я. Ярошевского были открыты нефрологические койки в 1 ЛМИ, а с 1968 г. начало функционировать нефрологическое отделение (заведующая – к.м.н. Л.Д.Жданова).

По причинам технического характера в это время было невозможно проводить лечение больным с ХПН хроническим гемодиализом. Поэтому в 1968 г впервые в СССР на базе нефрологического отделения больницы им. Урицкого были предприняты первые попытки проведения перитонеального диализа.

Появление новой специальности – нефролог – требовало четкой научно-методической концепции. Оработать ее можно было только совместными усилиями всех заинтересованных лиц. В феврале 1965 г. была создана нефрологическая секция Ленинградского научного общества терапевтов им. С.П.Боткина. Председателем секции избран профессор А.Я. Ярошевский, заместителем председателя Е.М. Арьева, секретарями Б.Б.Бондаренко, В.А.Вейсман, Э.Д.Костин, Б.Б.Бондаренко одновременно являлся секретарем Всесоюзного нефрологического общества.

Ниже приводится перечень докладов на тера-

певтическом обществе и его нефрологической секции, что дает представление о том, насколько широки были интересы нефрологов нашего города.

Доклады на терапевтическом обществе 1965 г.:

Ярошевский А.Я., Арьева Е.М., Блозштейн И.Г., Бондаренко Б.Б., Клемина И.К., Кузнецова Е.М., Ежова И.С., Леви М.Б., Рощина Г.М., Савченкова Н.Т. Вопросы диагностики, клиники и терапии острого нефрита.

Богородская Т.А., Задорина В.Д., Клемина И.К., Матвеева З.В., Морозенко М.А. Изменения почек при гриппе.

Вейсман В.А. Нарушения кислотно-щелочного равновесия при болезнях почек.

Нефрологическая секция терапевтического общества 1965 г.:

Наточин Ю.В. Механизмы диуретического действия диафилина.

Клячкин Л.М., Пинчук В.М., Парис Е.И., Пелисов М.Г., Федун И.Ф., Федонюк П.М. Острая почечная недостаточность при ожоговой болезни.

Шпигель А.Н. Вопросы диагностики сочетания хронического гломеруло- и пиелонефрита.

Швалев В.Н. Современные представления о возрастном развитии иннервации почек человека в норме и патологии.

Калугина Г.В. Пункционная биопсия почек при гипертонических состояниях.

Цалов П. Эндемический волчаночный нефрит.

Лакоткина Е.А., Благословенский Г.С., Косова Е.Г. Патогенетические основы и отдаленные результаты лечения некоторых форм нефрита у детей.

Костин Э.Д. О результатах симпозиума в Берлине (май 1964), посвященного лечению хронической почечной недостаточности гемодиализом.

Демонстрации:

Кузнецова Е.М. Амилоидоз почек на почве периодической болезни.

Певзнер А.С., Костин Э.Д. Применение гемодиализа при острой почечной недостаточности после криминального аборта.

Генкель О.Н. Случай хирургического лечения гипертонии у ребенка.

Одна из лучших монографий, посвященных нефрологии, в нашей стране вышла в свет после временной кончины профессора А.Я.Ярошевского [8].

В 1970 г. на посту заведующего кафедрой пропедевтики внутренних болезней I ЛМИ его сменил профессор С.И.Рябов.

Профессор С.И.Рябов приложил много усилий для развития и реализации идей А.Я. Ярошевско-



В.А.Рабухина.



Профессор В.В.Ставская.

го. Особое внимание было обращено на хроническую почечную недостаточность. Совместно с Б.Б.Бондаренко была разработана классификация хронической почечной недостаточности. Эта классификация, которая развивала идеи, высказанные Д.Е. Окен в 1970 г., хотя и не получила официального подтверждения, на практике очень широко применялась не только на Северо-Западе, но и во многих других регионах нашей страны.

Большой интерес привлекла монография С.И. Рябова и Г.Д. Шостки, посвященная особенностям развития и лечения анемии при заболеваниях почек [С.И.Рябов, Г.Д.Шостка. Эритроциты и почка. 1985 Наука Л 1985: 222.].

Нашли свое практическое применение исследования отечественных физиологов, показавших, что функции почек многообразны и не ограничиваются только экскрецией продуктов обмена веществ [1]. Был выполнен ряд клинических исследований, подтвердивших тесную взаимосвязь нарушений метаболизма и развития осложнений при почечной недостаточности (доцент А.Д.Кожевников, ст.н.с. В.В. Козлов, ст.н.с. А.И.Куликова, профессор А.Ш. Румянцев, профессор А.В.Смирнов, в.н.с, д.м.н. Ф.А. Тугушева) [Рябов С.И., Кожевников А.Д. Почка и обмен веществ. Наука Л 1980: 168; Хроническая почечная недостаточность. Рябов С.И., ред. Медицина Л 1976: 624]. Началась детальная разработка подходов к лечебному питанию нефрологических пациентов. Были созданы технологии изготовления продуктов с пониженным содержанием белка, соли, с добавками соевого изолята (профессор А.Ф.Долгодворов, профессор А.Г.Кучер).

В практику обследования нефрологических

больных интенсивно внедрялись самые современные сонографические, функциональные и радионуклидные методы (профессор В.Л. Эммануэль, профессор И.Г. Каюков, ст.н.с. О.А. Дегтерева).

Профессором В.Я. Плоткиным было начато применение электронной микроскопии при оценке нефробиоптатов, благодаря чему была убедительно продемонстрирована роль протеинурии в прогрессировании хронической почечной недостаточности.

В 2000 г. на базе проблемной научно-исследовательской лаборатории клинической нефрологии при кафедре пропедевтики внутренних болезней был создан Научно-исследовательский институт нефрологии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. Это позволило существенно систематизировать и расширить спектр, в первую очередь прикладных исследований, результаты многих из них немедленно внедрялись в практику.

Многолетний опыт кафедры пропедевтики внутренних болезней I ЛМИ был представлен в монографиях «Гломерулонефриты» и «Болезни почек» [Гломерулонефриты. Рябов С.И., ред. Медицина Л. 1980: 240, Рябов С.И. Болезни почек. Медицина Л, 1982:432] и ряде других широко известных руководств.

В 1971 г. С.И.Рябов был избран председателем нефрологической секции терапевтического общества, секретарем стала заведующая нефрологическим отделением больницы №26 В.А.Рабухина.

В связи с развитием заместительной почечной терапии появилась необходимость заранее планировать поступление больных на лечение гемодиализом. Этот вопрос активно дискутировался на



Профессор С.И.Рябов (первый слева) и ректор 1 ЛМИ профессор В.А.Миняев (первый справа) показывают министру здравоохранения СССР академику Б.В.Петровскому (в центре) отделение хронического гемодиализа 1 ЛМИ.

съездах нефрологов, а также в журналах «Терапевтический архив», «Клиническая медицина», «Советское здравоохранение», «Советская медицина». В Ленинграде решение этого вопроса было возложено на отборочную комиссию нефрологического диспансера. Организационно-методическое руководство нефрологическим диспансером осуществляла кафедра пропедевтики внутренних болезней 1 ЛМИ. Большой вклад в организацию работы диспансера внесла профессор В.В. Ставская.

Профессором С.И.Рябовым и его сотрудниками была предложена следующая схема работы нефрологической службы города, которую удалось внедрить в жизнь и которая в течение многих лет являлась образцом для нефрологов страны.

Нефрологическая служба включала 4 звена, связанных друг с другом. Первым являлось поликлиническое звено, объединяющее межрайонные нефрологические кабинеты и городской нефрологический диспансер. Основная задача межрайонных кабинетов – первичное выявление больных, предварительное установление диагноза и назначение амбулаторного лечения. Исходно в Ленинграде было создано 4 таких кабинета, каждый обслуживал 1 млн. населения. На учет в межрайонном кабинете брали больных без признаков ХПН. При развитии ХПН или необходимости госпитализации пациентов направляли в городской нефрологический диспансер. Благодаря четко поставленной работе уже в первые годы работы диспансера частота обострений хронического гломерулонефрита снизилась в 4–5 раз.

Второе звено – нефрологические стационары. Все больные поступали в стационар с амбулаторной историей болезни. Результаты лабораторных



Профессор Б.И. Шулютко.

исследований вносились в специальную, очень подробную таблицу, которая среди ленинградских нефрологов получила название «урограммы». «Урограмма» заполнялась в течение всего срока наблюдения пациента городской нефрологической службой, иногда годы и десятилетия.

К началу 90-х годов в городе функционировали нефрологические отделения в больнице №26, Санитарно-гигиеническом медицинском институте, 1 ЛМИ, областной и железнодорожной больницах.

Третье звено – отделения гемодиализа. В ноябре 1972 г. на базе клиники пропедевтики внутренних болезней была открыта лаборатория «Искусственная почка» для лечения больных с ХПН программным гемодиализом (рис. 10). Заведующим лабораторией был назначен профессор Б.Б.Бондаренко. Затем его сменил ст.н.с. В.Н.Спирidonov. Лаборатория была оснащена отечественным аппаратом АИП–60. 22 декабря 1972 г. был проведен первый ГД больному Виленчику И.Г. с туберкулезом почек. В связи с этим хочется сказать слова благодарности зав. лабораторий «Искусственная почка» ВМА М.О. Стернину, который помогал провести этот диализ. Однако это были лишь первые шаги на трудном пути. Но дальнейшие успехи в этом новом направлении были бы невозможны без многолетних усилий, организаторского и врачебного таланта профессора Г.Д. Шостки. Не менее интересной была работа по изучению возможностей гемо- и энтеросорбции в лечении больных с хронической почечной недостаточностью, которую успешно проводил профессор Б.Г.Лукичев.

Четвертое звено – служба трансплантации. В 1976 г усилиями профессора С.И.Рябова и профессора Л.В. Поташова был открыт центр трансплантации почек на базе клиники общей хирургии 1 ЛМИ. Тогда же, в феврале 1976 г., профессорами



Академик Ю.В. Наточин.



Академик В.А.Алмазов.

А.Д. Сутыко, А.М. Грановым, А.А. Протасовым и А.Е. Борисовым была выполнена первая в нашем городе аллотрансплантация трупной почки.

Предложенная схема деятельности нефрологической службы города оказалась очень эффективной и жизнеспособной. Это позволило петербургской нефрологии с минимальными потерями не только пережить, но даже развиваться в весьма непростые перестроечные и послеперестроечные годы.

Помимо А.Я. Ярошевского, С.И. Рябова и их учеников и сотрудников в данный период времени в развитие ленинградской нефрологической школы внесли и другие известные специалисты. Большой резонанс имели работы профессора Б.И. Шулуто, долгое время возглавлявшего нефрологическое направление в Ленинградском санитарно-гигиеническом медицинском институте. Многие из его ярких и оригинальных, хотя подчас весьма спорных идей, касающихся, в частности, артериальной гипертензии, пиелонефрита и интерстициального нефрита до настоящего времени остаются предметом оживленной дискуссии.

Доктор медицинских наук Я.Ю. Багров, удачно сочетающий в себе качества замечательного ученого физиолога и вдумчивого, высокообразованного клинициста в течение многих лет курировал нефрологическое отделение железнодорожной больницы Ленинграда.

Говоря о становлении Ленинградкой-Петербургской нефрологической школы нельзя не упомянуть и некоторых людей, которые не являются в прямом смысле клиницистами-нефрологами, но вклад которых в отечественную нефрологию чрезвычайно велик. В первую очередь речь идет о выдаю-

щемся физиологе, акад. РАН Ю.В. Наточине. Ю.В. Наточин, помимо проведения фундаментальных исследований, всегда курировал и продолжает курировать прикладные разработки, которые выполнялись разными группами клиницистов, как «взрослыми» нефрологами, так и педиатрами. Выполнение этих исследований не только значительно повысило теоретический уровень отечественной нефрологии, но и дало чисто практические результаты, нашедшие широкое применение. Огромную роль Юрий Викторович играет в развитии общего медицинского и последипломного образования. Он явился инициатором создания медицинского факультета Санкт-Петербургского государственного университета, нефрологическое направление на котором является одним из приоритетных. Под его руководством проводились и проводятся школы и семинары для нефрологов, вызывающие большой интерес не только в нашем городе, но и во всей стране.

Другим выдающимся ученым, имя которого неотделимо от ленинградской нефрологии, является, безвременно ушедший из жизни акад. РАМН, В.А. Алмазов. Блестящий кардиолог и гематолог он вместе со своими учениками и сотрудниками внес огромный вклад в изучение кардиоренальных взаимоотношений – проблемы, которая в современной нефрологии выходит на первое место.

Наконец, рассматривая развитие нефрологии в Ленинграде, нельзя не отметить еще одного человека, ректора 1-го ЛМИ профессора В.А. Миняева. При разработке материалов своей докторской диссертации, посвященной проблемам здравоохранения мегаполисов, он, по-видимому, один из первых об-

ратил внимание на очень широкую распространенность заболеваний почек. Этим он не только предвосхитил современные представления о «пандемии почечных заболеваний», но и, пользуясь современным языком, включил «административный ресурс» и во многом «пролоббировал» строительство и оснащение нефрологического корпуса СПбГМУ.

Современный этап развития нефрологии в Санкт-Петербурге. В 2001 г. заведующим кафедрой пропедевтики внутренних болезней был избран профессор А.В. Смирнов. Одновременно он же был назначен директором НИИ нефрологии. Работа этих подразделений была существенно перестроена в соответствии с требованиями времени. Было значительно усилено внимание к проблемам диабетической нефропатии (профессор В.А. Добронравов), для чего понадобилось установление тесных контактов с городской эндокринологической службой, и поражениям почек сосудистого генеза. На качественно новый уровень переведена прижизненная морфологическая диагностика заболеваний почек (ст.н.с. В.Г. Сиповский). Стали внедряться самые современные схемы лечения диффузных заболеваний соединительной ткани (системная красная волчанка) и системных васкулитов (профессор А.В. Смирнов, профессор А.М. Есаян). Начата работа по компьютеризации, что уже позволило создать уникальные базы данных, подчас не имеющие аналогов в мире.

Отдельное внимание А.В. Смирновым и его сотрудниками было уделено пропаганде среди российских специалистов принципиально нового понятия – хронической болезни почек (ХБП). По этому поводу шли довольно бурные дискуссии, пока, наконец, VI Съезд Научного Общества Нефрологов России, состоявшийся 14–17 ноября 2005 г. в Москве, однозначно не поддержал необходимость широкого внедрения концепции ХБП в практику отечественного здравоохранения. На этом же съезде профессор А.В. Смирнов был избран вице-президентом общества.

В 2006 г. на базе кафедры пропедевтики внутренних болезней и НИИ нефрологии СПбГМУ было развернуто отделение трансплантации почек. Это позволило превратить нефрологическую составляющую университета (кафедра пропедевтики внутренних болезней, НИИ нефрологии, кафедра нефрологии и диализа) поистине в «производство с замкнутым циклом». Здесь больному с патологией почек могут быть на современном уровне оказаны практически все известные виды специализированной медицинской помощи.

В том же 2001 году главным нефрологом Санкт-Петербурга стала профессор М.С. Команденко,

прошедшая серьезную научную и практическую школу под руководством В.А. Алмазова, С.И. Рябова и Б.И. Шулутко. С ее деятельностью в первую очередь связано бурное развитие заместительной почечной терапии в нашем городе, постоянным открытием новых отделений гемодиализа и внедрением в практику современных организационных принципов оказания нефрологической помощи.

Идет в городе и создание или реорганизация кафедр в медицинских вузах, в деятельности которых нефрологическая компонента является или основной или занимает одно из важнейших мест (кафедра нефрологии и эфферентной терапии СПбМАПО, зав. кафедрой – профессор К.Я. Гуревич; кафедра нефрологии и диализа факультета последипломного обучения СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, зав. кафедрой – профессор А.М. Есаян; кафедра терапии медицинского факультета Санкт-Петербургского государственного университета, зав. кафедрой – профессор А.Н. Шишкин; кафедра гериатрии СПбМАПО, зав. кафедрой – профессор А.Л. Арьев). Это позволяет таким кафедрам становиться серьезными научно-педагогическими центрами, оказывающими методическую помощь многим подразделениям практического здравоохранения Санкт-Петербурга. Так, с именем профессора К.Я. Гуревича связано становление в городе службы выездных бригад заместительной почечной терапии. Профессор А.М. Есаян, возглавивший созданную в 2005 году кафедру нефрологии и диализа факультета последипломного обучения СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, вместе со своими сотрудниками разработал ряд интересных методических рекомендаций по ведению больных на разных стадиях ХБП. Коллектив, руководимый профессором А.Н. Шишкиным, известным своими разработками в области нефротического синдрома и амилоидоза, не только продолжает изучение этих направлений, но очень много делает в плане оптимизации диагностики и лечения поражений скелета при ХБП. Наконец, профессор А.Л. Арьев, сделавший себе имя на разработке подходов к реабилитации нефрологических больных, и часть его сотрудников сосредоточилась на возрастных аспектах ХБП, приобретающих сейчас все более важное значение.

Понятно, что не нам выносить решения о том, насколько исторически значимы последний (да и предпоследний) этапы для развития нефрологии в Санкт-Петербурге. Суждения об этом пусть вынесут будущие историки медицины. Тем не менее, создается впечатление, что сейчас можно проявить осторожный оптимизм в отношении перспектив. Если такие тенденции сохранятся, то есть надеж-

да, что через какое-то время качество помощи больным с заболеваниями почек может сравниться с тем, которого достигли наиболее развитые страны.

Заключение. Мы лишь кратко коснулись отдельных этапов развития клинической нефрологии в Санкт-Петербурге. Как и в любой другой области, в нефрологии «человеческий фактор» играл и играет весьма заметную роль. В связи с этим в завершение статьи хочется вспомнить слова японского монаха-философа XVIII века Ямамото Цунетомо: «Мы изучаем предания о людях прошлого, чтобы довериться их мудрости и не быть корыстолюбивыми. Когда мы отказываемся от своих пристрастий, следуем наставлениям предков и советуемся с друзьями, наши дела идут хорошо, а неудачи минуют нас» [9].

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Наточин ЮВ. История исследования функции почек в Санкт-Петербурге-Ленинграде. *Нефрология* 2007; 11 (1):

123-129

2. Боткин СП. Количественное определение белка и сахара в моче посредством поляризационного аппарата. *Московская медицинская газета* 1858; № 13

3. Клинические лекции: Читанные в Императорской Военно-медицинской академии в 1883-88 гг. Сост. ВМ.Бородулин, ВН.Сиротинин, МВ.Яновский; Ред. С.П. Боткин, Т.2. Изд.О-ва русских врачей в СПб, СПб, 1912; 719

4. Яновский МВ. *О влиянии масляной кислоты на почки и об угнетающем действии ее на нервную систему.* Дисс на степень д-ра мед. Тип. А.М.Котомина и К, СПб, 1884:37

5. Яновский МВ. Об аналогии между некоторыми формами уремии и хроническими отравлениями вообще. *Еженедельная клиническая газета* 1886; № 24

6. Тареев ЕМ. *Анемия брайтиков.* Мосполиграф, Москва, 1929; 140

7. Тареев ЕМ. *Болезни почек: Функциональная патология, клиника и лечение брайтовой болезни.* Государственное издательство биологической и медицинской литературы, М.-Л., 1936; 692

8. Ярошевский АЯ. *Клиническая нефрология.* Медицина Л., 1971; 424

9. Ямамото Ц. *Кодекс Бусидо. Хагакурэ. Сокрытое в листве.* ЭКСМО, 2006; 432

Поступила в редакцию 25.04.2007 г.

Принята в печать 07.06.2007 г.

Журнал «Нефрология» публикует сообщения по актуальным вопросам клинической и экспериментальной нефрологии и смежных областей (физиология и патология водно-солевого гомеостаза, состояние почек при других заболеваниях, методы эфферентной терапии и т.д.). Журнал представляет информацию в следующем виде:

- Передовые статьи
- Обзоры и лекции
- Оригинальные статьи
- Краткие сообщения
- Наблюдения из практики
- Методические сообщения
- Дискуссия и информация (дискуссионные статьи, рецензии, письма в редакцию, сообщения о планах проведения конференций, симпозиумов, съездов по нефрологии в России и за рубежом, отчеты о них, аннотации новых книг по нефрологии и т.д.)
- Материалы для последипломного образования по нефрологии
- Реклама.

В разделе «Передовые статьи» публикуются работы, выполненные преимущественно по заказам редакции.

Все представляемые материалы рецензируются и обсуждаются редакционной коллегией.

Общие правила. Рукопись статьи должна быть представлена в двух экземплярах, напечатанной шрифтом не менее 12 через 2 интервала на одной стороне белой бумаги формата А4 (210х295 мм) с полями в 2,5 см по обе стороны текста.

Текст и таблицы должны быть продублированы на дискете (3,5 дюйма)! Текстовый файл должен иметь расширение, соответствующее тому редактору, в котором он был набран (TXT или DOC), в нем не должно быть переносов, имена файлов должны быть латинскими. Желательно не выравнивать правую границу текста, не делать в набранном тексте никаких выделений (полужирный шрифт, курсив и т.д.). Все выделения следует отмечать в распечатке. Не надо вводить нецифровые символы (квадраты, кружки и т.д.).

Рукопись статьи должна включать: 1) титульный лист; 2) реферат; 3) ключевые слова; 4) введение; 5) пациенты и методы (материал и методы – для экспериментальных работ); 6) результаты; 7) обсуждение; 8) заключение; 9) таблицы; 10) подписи к рисункам; 11) иллюстрации; 12) библиографический список; 13) сведения об авторах.

Для обзоров, лекций, дискуссионных статей наличие реферата не требуется. Рубрикация этих работ может быть произвольной.

К статье должно быть приложено официальное направление учреждения, в котором проведена работа. На первой странице статьи должна быть виза и подпись научного руководителя, заверенная круглой печатью учреждения. На последней странице статьи должны быть подписи всех авторов.

Объем оригинальной статьи, как правило, не должен превышать 10 – 15 машинописных страниц, кратких сообщений и заметок из практики – 6 – 8 страниц, лекций и обзоров – 20 – 25 страниц.

При упоминании отдельных фамилий авторов в тексте им должны предшествовать инициалы (фамилии иностранных авторов приводятся в оригинальной транс-

крипции). В тексте статьи библиографические ссылки даются арабскими цифрами в квадратных скобках. В библиографические списки не рекомендуется включать диссертационные работы, так как ознакомление с ними затруднительно.

Титульный лист должен содержать: 1) инициалы и фамилии авторов; 2) название статьи, которое должно быть информативным и достаточно кратким; 3) полное название учреждения и отдела (кафедры, лаборатории), в котором выполнялась работа (аббревиатуры, например, НИИ, СПбГМУ и т.д., недопустимы).

Реферат печатается на отдельной странице, он должен быть структурированным и *включать четыре обязательные рубрики:* а) цель исследования; б) пациенты и методы (материал и методы – для экспериментальных работ); в) результаты; г) заключение. Объем реферата должен быть не более 200 – 250 слов. На этой же странице помещаются «ключевые слова» (от 3 до 10 слов), способствующие индексированию статьи в информационно-поисковых системах.

Оригинальные статьи должны иметь следующую структуру:

Введение. В нем формулируется цель и необходимость проведения исследования, кратко освещается состояние вопроса со ссылками на наиболее значимые публикации.

Пациенты и методы (материал и методы – для экспериментальных работ). Приводятся количественные и качественные характеристики больных или других объектов исследования (здоровые люди, экспериментальные животные, патологоанатомический материал и т.д.). Упомянуты все методы исследований, применявшиеся в работе, включая методы статистической обработки данных. При упоминании аппаратуры и новых лекарств в скобках указывайте производителя и страну, где он находится.

Результаты. Их следует представлять в логической последовательности в тексте, таблицах и на рисунках. В тексте не следует повторять все данные из таблиц и рисунков, надо упоминать только наиболее важные из них. В рисунках не следует дублировать данные, приведенные в таблицах. Подписи к рисункам и описание деталей на них под соответствующей нумерацией надо представлять на отдельной странице. Величины измерений должны соответствовать Международной системе единиц (СИ), за исключением показателей, традиционно измеряемых в других единицах.

Место, где в тексте должны быть помещены рисунок или таблица, отмечается на поле страницы квадратом, в который помещается номер рисунка или таблицы.

Обсуждение. Надо выделять новые и важные аспекты результатов исследования и по возможности сопоставлять их с данными других исследователей, не следует повторять сведения, уже приводившиеся в разделе «Введение», и подробные данные из раздела «Результаты». В обсуждение можно включить обоснованные рекомендации.

Заключение должно кратко суммировать основные итоги работы.

Объединение рубрик (например, «Результаты и обсуждение») недопустимо!

Таблицы. Каждая таблица печатается на отдельной странице через два интервала и должна иметь название и

порядковый номер соответственно первому упоминанию ее в тексте. Каждый столбец в таблице должен иметь краткий заголовок (можно использовать аббревиатуры). Все разъяснения, включая расшифровку аббревиатур, надо размещать в сносках. Указывайте статические методы, использованные для представления вариабельности данных и достоверности различий.

При представлении на диске таблицы следует записывать в отдельный файл (т.е. если статья содержит таблицы, желательно иметь два файла, текст без таблиц и отдельно таблицы). При наборе таблиц не надо использовать никакие символы, имитирующие линейки (псевдографику, дефис, символ подчеркивания).

Подписи к иллюстрациям печатаются на отдельной странице через 2 интервала с нумерацией арабскими цифрами, соответствующей номерам рисунков. Подпись к каждому рисунку состоит из его названия и «легенды» (объяснения частей рисунка, символов: стрелок и других его деталей). В подписях к микрофотографиям надо указывать степень увеличения, способ окраски или импрегнации.

Иллюстрации (рисунки, диаграммы, фотографии) представляются в двух экземплярах (фотографии – на глянцева бумага). На оборотной стороне рисунков мягким карандашом должны быть указаны: фамилия автора (только первого), номер рисунка, обозначение верха рисунка. Рисунки не должны быть перегружены текстовыми надписями.

Иллюстрации желательно продублировать на диске в форматах *PCX, *TIF, *BMP, *JPG.

Библиографический список печатается на отдельном (ых) листе (ах) через 2 интервала, каждый источник с новой строки под порядковым номером. В списке все работы перечисляются в порядке цитирования (ссылок на них в тексте), а не по алфавиту фамилий первых авторов. Порядок составления библиографического списка следующий: а) автор (ы) книги или статьи; б) название книги или статьи; в) выходные данные. При авторском коллективе до 4 человек включительно упоминаются все авторы (с инициалами после фамилии), при больших авторских коллективах упоминаются три первых автора и добавляется «и др.» (в иностранной литературе «et al.»). В некоторых случаях в качестве авторов книг выступают их редакторы или составители, после фамилии последнего из них в скобках следует ставить «ред.» (в иностранных ссылках «ed.»).

В библиографическом описании книги (после названия) приводятся название издательства, город, год издания (все через запятую), после точки с запятой – номера страниц, на которые конкретно ссылается автор. Если ссылка дается на главу из книги, сначала упоминаются авторы и название главы, после точки – с заглавной буквы ставится «В» («In») и фамилия(и) автора(ов) или выступающего в его качестве редактора, затем название книги и выходные данные ее.

В библиографическом описании статьи из журнала (после ее названия) приводится сокращенное название журнала и год издания (между ними знак препинания не ставится), затем после точки с запятой – номер отечественного журнала (для иностранных журналов – № тома, в скобках № журнала), после двоеточия помещаются цифры первой и последней (через тире) страниц. В описаниях статей из иностранных журналов, имеющих сквозную нумерацию страниц на протяжении тома, указание номера журнала необязательно.

Названия отечественных журналов в библиографическом списке следует приводить в общепринятых сокращениях, иностранных – в рекомендованных Index Medicus.

Примеры:

КНИГИ

1. Волошин АИ, Субботин ЮК. *Болезнь и здоровье: две стороны приспособления*. Медицина, М., 1998; 5-17
2. Ноздрачев АД. *Функциональная морфология сердечно-сосудистой системы*. В: Чазов ЕИ, ред. *Болезни органов кровообращения*. Медицина, М., 1997; 8-89
3. Ringsven MK, Bond D. *Gerontology and leadership skills for nurses*, 2nd ed. Delmar Publishers, Albany (N.Y.), 1996; 44-50
4. Phillips SY, Whisnant YP. Hypertension and stroke. In: Laragh YH, Brenner BM, eds. *Hypertension: pathophysiology, diagnosis and management*, 2nd ed. Raven Press, New York, 1996; 465-478

ЖУРНАЛЫ

1. Шестакова МВ, Чугунова ЛА, Шамхалова МШ и др. Диабетическая нефропатия: факторы риска быстрого прогрессирования почечной недостаточности. *Тер Арх* 1999; (6): 45-49
2. Davis LK, Angus RM, Calverley MA. Oral corticosteroids in patients with chronic obstructive pulmonare disease. *Lancet* 1999; 354 (15): 456-460
3. Zucchelli P, Zuccala A. Can we accurately diagnose nephrosclerosis? *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10 [Suppl 6]: 2-5

Сведения об авторах печатаются на отдельном листе. Включают: фамилию, имя, отчество (полностью), место работы, должность, ученую степень и звание, полный почтовый адрес, номер телефона (с указанием кода города и, если статья представляется не из России, то и страны) каждого автора. Следует указать, с кем из авторов редакция может вести переписку и по возможности указать номер его факса и E-mail.

Редакция оставляет за собой право сокращать и редактировать статьи.

Статьи, ранее опубликованные или направленные в другой журнал или сборник, не принимаются.

Работы, оформленные не в соответствии с указанными правилами, возвращаются авторам без рассмотрения.

Подписка на журнал «НЕФРОЛОГИЯ» производится по каталогу агентства «Роспечать».

Подписные индексы: для индивидуальных подписчиков – **45861**; для предприятий и организаций – **45860**; годовая подписка – **47959**.

Абонемент на газету на журнал ИНДЕКС ИЗДАНИЯ 45861 КОЛИЧЕСТВО КОМПЛЕКТОВ:		Абонемент на газету на журнал ИНДЕКС ИЗДАНИЯ 45860 КОЛИЧЕСТВО КОМПЛЕКТОВ:																																																	
НЕФРОЛОГИЯ наименование издания		НЕФРОЛОГИЯ наименование издания																																																	
<table><tr><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td><td>6</td><td>7</td><td>8</td><td>9</td><td>10</td><td>11</td><td>12</td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12													<table><tr><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td><td>6</td><td>7</td><td>8</td><td>9</td><td>10</td><td>11</td><td>12</td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12												
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																																								
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																																								
Куда почтовый индекс адрес		Куда почтовый индекс адрес																																																	
Кому фамилия, инициалы		Кому фамилия, инициалы																																																	

Доставочная карточка на газету на журнал ИНДЕКС ИЗДАНИЯ 45861 КОЛИЧЕСТВО КОМПЛЕКТОВ		Доставочная карточка на газету на журнал ИНДЕКС ИЗДАНИЯ 45860 КОЛИЧЕСТВО КОМПЛЕКТОВ																																																	
НЕФРОЛОГИЯ наименование издания		НЕФРОЛОГИЯ наименование издания																																																	
Стоимость подписки руб. коп. Количество комплектов		Стоимость подписки руб. коп. Количество комплектов																																																	
на 200 год по месяцам		на 200 год по месяцам																																																	
<table><tr><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td><td>6</td><td>7</td><td>8</td><td>9</td><td>10</td><td>11</td><td>12</td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12													<table><tr><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td><td>6</td><td>7</td><td>8</td><td>9</td><td>10</td><td>11</td><td>12</td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12												
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																																								
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																																								
Куда почтовый индекс адрес		Куда почтовый индекс адрес																																																	
Кому фамилия, инициалы		Кому фамилия, инициалы																																																	
Телефон:		Телефон:																																																	

	Абонемент на газету журнал		47959									
			индекс издания									
	НЕФРОЛОГИЯ		количество комплектов:									
	наименование издания											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Куда		почтовый индекс		адрес							
	Кому		фамилия, инициалы									

	Доставочная карточка на газету журнал		47959									
			индекс издания									
	НЕФРОЛОГИЯ											
	наименование издания											
	Стоимость подписки руб. коп.		Количество комплектов									
	на 200 год по месяцам											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Куда		почтовый индекс		адрес							
Кому		фамилия, инициалы		Телефон:								